UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

RICARDO TOMITAN KUSHIKAWA

Aplicação de nanopartículas intermetálicas de NiSb e metálicas de Pt suportadas em carbono Vulcan® XC72 no desenvolvimento de um sensor eletroquímico

SÃO CARLOS

2014

Ricardo Tomitan Kushikawa

Aplicação de nanopartículas intermetálicas de NiSb e metálicas de Pt suportadas em carbono Vulcan® XC72 no desenvolvimento de um sensor eletroquímico

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em ciências.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira

São Carlos
2014

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em
acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

Dedico:

*aos meus pais, protetores, encorajadores e
companheiros, Paulo e Rose;*

*aos meus irmãos, no plural mesmo, Murilo e Ana;
à Maria Isadora, minha alegria de todos os dias;
todos aqueles que compartilharam essa jornada.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me manter forte mesmo nos meus momentos de maior fraqueza.

Meus pais, Paulo e Rose, por representarem melhor que qualquer dicionário poderia definir o significado do amor e do respeito.

Ao meu irmão Murilo e sua esposa Ana Cláudia, por todo apoio e amor; e à minha sobrinha Maria Isadora, que sempre me fez sentir um ser humano amado.

Aos meus demais familiares, por todas as orações e pensamentos positivos, em especial aos meus tios Sônia e João, por todas as caronas que facilitaram muito a minha vida.

Aos meus amigos, que são a representação da generosidade divina, pois além de uma família amada, ainda tenho cada um de vocês, membros da nossa “Família Tufão”. Em especial, duas pessoas que mais que amigas, são irmãs, que só posso descrever como bênçãos na minha vida, Geisiane e Amanda.

Meus sinceros agradecimentos pelas dicas e pares extras de olhos neste trabalho dos amigos Cida, Tone e Camis, os quais estarão presentes em todas as inúmeras histórias da época da graduação e do mestrado.

Histórias essas que com toda certeza seriam menos engraçadas, calóricas e alcoólicas sem a minha melhor amiga, que esteve presente em todos os momentos dessa conquista. Laris, você é f***. Obrigado por todas as consultas psicológicas gratuitas.

À professora Beatriz E. Goi, pelas dicas, conselhos e principalmente, pela amizade.

Aos colegas do GPES e ao professor Homero M. Gomes, com os quais compartilhei risos e conceitos químicos por estes dois anos.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação do IQSC que sempre me auxiliaram com muita boa vontade, assim como os companheiros do Departamento de Física, Química e Biologia da FCT/UNESP, técnicos de laboratório; e à Dona Margarida por todas as boas risadas.

Aos amigos que me aguentaram em São Carlos: Tamiris, Mari, Marcão, Sinara, Gabi e em especial ao Tony Dadamos que não faz ideia do quanto me ajudou.

Não menos importante, ao Professor Marcos Teixeira por todos os ensinamentos compartilhados nesses dois anos de parceria.

À CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Obrigado!

***“You're damned if you do
And you're damned if you don't
So you might as well just do
Whatever you want.”***

“Follow Your Arrow” by
Kacey Musgraves,
Shane McAnally &
Josh Osborne

***“Caminhar perto de coisas e pessoas de
verdade, desfrutar desse amor absolutamente
sem fraudes, nunca será perda de tempo.”***

Rubem Alves

RESUMO

Neste trabalho desenvolveu-se um sensor eletroquímico a partir da modificação de superfície de um eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas metálicas de Pt e intermetálicas de NiSb suportadas em carbono Vulcan® XC72. Tal modificação visou à obtenção de um sensor de baixo custo, simples e rápido para determinação do cloridrato de tetraciclina (TTC). A tetraciclina é um fármaco com propriedades antibióticas amplamente utilizado na saúde humana e animal devido sua baixa toxicidade e fácil obtenção. A modificação de superfície do eletrodo de trabalho foi realizada a partir da adição de uma suspensão das nanopartículas em dimetilformamida (DMF) (1 mg/1 mL) sobre a superfície do eletrodo previamente limpo e os estudos voltamétricos conduzidos utilizando as técnicas de voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e cronoamperometria. Como consequência dos resultados obtidos, prosseguiu-se apenas com os estudos da nanopartícula de Pt na construção de um sensor para determinação da TTC. As nanopartículas apresentam propriedades diferentes daquelas exibidas pelo mesmo material quando estes se encontram em partículas de maior tamanho como bulks, e dentre suas principais características, o aumento da área superficial provocado pela modificação do eletrodo mostrou resultados promissores na detecção e quantificação do analito. Após diversos estudos sobre o eletrólito de suporte e o pH, obteve-se a melhor resposta voltamétrica em solução de tampão fosfato 0,10 mol L⁻¹ pH 3,0 através da voltametria cíclica tanto na determinação do analito em água purificada quanto na determinação em urina sintética. O eletrodo modificado com nanopartículas de Pt apresentou resposta linear na faixa de 9,99 e 44,01 µmol L⁻¹, limite de detecção 4,28 µmol L⁻¹ e limite de quantificação 14,26 µmol L⁻¹. A aplicação do eletrodo em uma amostra de urina sintética ocorreu com sucesso, alcançando um valor de concentração com diferença de 3% para o valor real.

ABSTRACT

In this work it was developed an electrochemical sensor by the surface modification of a glassy carbon electrode with metallic Pt nanoparticles and intermetallic NiSb nanoparticles in Vulcan® XC72 carbon as the support. Such surface modification sought to obtain a low cost sensor, easy to work and quick working to determine tetracycline hydrochloride. The tetracycline is a drug with antibiotics properties widely used in human and animal treatment due to its low toxicity and easy obtainability. The surface modification of the work electrode was accomplished through the addition of a suspension of the nanoparticles in dimethylformamide (1 mg/1 mL) in the electrode surface previously cleaned and the voltammetric studies conducted with the use of techniques such as cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and chronoamperometry. As a consequence of the obtained results, only the studies with the sensor developed with Pt nanoparticles were continued for the tetracycline determination. The nanoparticles presents different properties of those shown by the same material when these are in bigger forms, such as bulks and among the main characteristic, the superficial area increase caused by the electrode modification shown promising results for the detection and quantification of the analyte. After several studies about the supporting electrolyte and the pH, it was obtained a better voltammetric response in phosphate buffer solution 0.1 mol L^{-1} and pH 3.0 for the determination of the analyte in purified water and synthetic urine. The modified electrode with metallic Pt nanoparticles had a linear response in the range 9.99 to $44.01 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ with a detection limit of $4.28 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ and quantification limit of $14.26 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. The electrode application in a synthetic urine sample was a success, reaching concentration values with a difference within 3% of the real value.

Lista de Ilustrações

- Figura 1 - Representação da estrutura molecular da tetraciclina e a indicação dos prováveis sítios de ocorrência da oxidação.....20
- Figura 2 - Representação esquemática de uma célula eletroquímica contendo os seguintes eletrodos: eletrodo auxiliar (EA), eletrodo de trabalho (ET) e eletrodo de referência (ER).....29
- Figura 3 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo modificado com nanopartículas intermetálicas de NiSb/C em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$, e janela de potencial de $-0,2 \text{ V}$ a $0,6 \text{ V}$ vs ECS e $-0,2$ a $1,0 \text{ V}$ vs ECS em (a) e (b) respectivamente.....32
- Figura 4 - Voltamograma cíclico obtido com o eletrodo modificado com nanopartículas intermetálicas de NiSb/C em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial de $-0,2 \text{ V}$ a $1,0 \text{ V}$ antes (—) e após (—) a exposição ao hexacianoferrato(III) de potássio.....33
- Figura 5 - Voltamograma cíclico do estudo de estabilidade em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ para o eletrodo modificado com NiSb/C após a exposição ao hexacianoferrato(III) de potássio.....34
- Figura 6 - Voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado com a suspensão de NiSb/C em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, (—) após a análise em hexacianoferrato(III) de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e (—) após análise em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$35
- Figura 7 - Voltamograma cíclico obtido com o eletrodo não modificado (—) e modificado com uma adição de $10 \mu\text{L}$ das nanopartículas intermetálicas de NiSb/C (—) e metálicas de Pt/C (—) em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial de $-0,2 \text{ V}$ a $0,6 \text{ V}$ vs ECS.....36
- Figura 8 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo não modificado (a) e modificado com a suspensão de Pt/C em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$ e janela de potencial de $-0,5 \text{ V}$ e $1,0 \text{ V}$, antes (—) e após (—) a exposição à solução de hexacianoferrato(III) de potássio.....37
- Figura 9 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo não modificado e modificado com a suspensão de Pt/C em $K_3[Fe(CN)_6]$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 25 \text{ mV.s}^{-1}$, e janela de potencial de $-0,2 \text{ V}$ e $0,6 \text{ V}$38

Figura 10 - Cronoamperogramas do eletrodo não modificado (■) e modificado com o seguinte número de adições de 10 µL da suspensão de Pt/C, uma (■), duas (■), três (■), quatro (■), cinco (■), seis (■) e sete (■). Medidas cronoamperométricas realizadas em $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,010 mol L⁻¹ e KCl 0,5 mol L⁻¹, duração de 1 s, intervalo de tempo menor que 0,1 s e janela de potencial de -0,1 V e 0,5 V.40

Figura 11 - Valores da área eletroativa em cm² para o eletrodo de carbono vítreo não modificado e modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C.41

Figura 12 - Estudo da influência da velocidade de varredura sobre o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C em $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,1 mol L⁻¹ em KCl 0,50 mol L⁻¹, janela de potencial de -0,2 a 0,6 V.42

Figura 13 - Representação do processo de transferência eletrônica através do logaritmo da corrente (A) do pico anódico vs o logaritmo da velocidade de varredura (V s⁻¹).44

Figura 14 - Faixa de potencial livre de processos eletroquímicos interferentes entre os pH 1,0 e 10,0 por voltametria cíclica para o eletrodo modificado com cinco adições da suspensão de Pt/C em tampão universal, janela de potencial de -0,5 V e 1,0 V e $v = 25$ mV s⁻¹.45

Figura 15 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado com cinco adições da suspensão de Pt/C em tampão universal, pH 6,0, janela de potencial de -0,2 V e 0,6 V e $v = 25$ mV s⁻¹.46

Figura 16 - Resposta voltamétrica da TTC em tampão fosfato, pH 2,45, janela de potencial de 0,6 V a 1,2 V e $v = 25$ mV s⁻¹, para o eletrodo modificado com Pt/C nas seguintes concentrações do analito: (a) branco, (b) $1,01 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (c) $3,52 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (d) $1,83 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e (e) $1,25 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.47

Figura 17 - Voltametria de pulso diferencial da TTC em tampão fosfato, pH 2,45, janela de potencial de 0,75 V e 1,2 V, amplitude de pulso 50 mV s⁻¹ e $v = 25$ mV s⁻¹, do eletrodo modificado com Pt/C nas seguintes concentrações: (a) $1,84 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, (b) $4,21 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e (c) $8,63 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.48

Figura 18 - Comparativo da resposta eletroquímica entre as técnicas voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial do eletrodo modificado com Pt/C em tampão fosfato, pH 2,45 e concentração de TTC $2,27 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Janela de potencial de 0,6 V e 1,2 V e $v = 25$ mV s⁻¹ para a voltametria cíclica. Janela de potencial de 0,75 V a 1,2 V, amplitude de pulso 0,05 V e $v = 25$ mV s⁻¹ para a voltametria de pulso diferencial.49

Figura 19 - Relação entre o potencial de pico na voltametria cíclica para os picos de oxidação da TTC ($6,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e pH, em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$	50
Figura 20 - Representação estrutural da TTC protonada.....	51
Figura 21 - Representação esquemática da oxidação da tetraciclina protonada.	52
Figura 22 - Representação esquemática do mecanismo de oxidação do intermediário formado pela hidroxilação da tetraciclina e os possíveis produtos obtidos.	53
Figura 23 - Voltamogramas cíclicos da adição de TTC em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,0, faixa de concentração entre $5,05 \times 10^{-6}$ e $1,65 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial 0,6 V a 1,2 V.....	54
Figura 24 - Voltamogramas cíclicos da adição de TTC em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,0, faixa de concentração entre $9,99 \times 10^{-6}$ e $70,75 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial 0,6 V a 1,2 V.....	55
Figura 25 - Curva analítica obtida através dos voltamogramas cíclicos da adição de TTC em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,0, faixa de concentração entre $9,99 \times 10^{-6}$ e $70,75 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial 0,6 V a 1,2 V.	55
Figura 26 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado com nanopartículas de Pt/C para determinação de TTC, onde (- -) corresponde ao branco, (—) à amostra “desconhecida” e (—) às soluções contendo a matriz e os seguintes volumes (20, 40, 60 e $80 \mu\text{L}$) de padrão $4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	57
Figura 27 - Gráfico de adição de padrão construído a partir dos valores de corrente do primeiro pico de oxidação da TTC.....	58

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Alguns dos métodos eletroquímicos para determinação de tetraciclina, indicando o eletrodo utilizado, a técnica, a região de linearidade, o limite de detecção e a referência utilizada	21
Tabela 2 - Procedência e pureza dos reagentes utilizados.....	24
Tabela 3 - Reagentes utilizados no preparo da amostra de urina sintética e suas respectivas concentrações utilizadas de acordo com o método proposto por Laube et al. ¹⁰²	30
Tabela 4 - Valores de corrente e potencial dos picos anódicos e catódicos do estudo de estabilidade em KCl 0,5 mol L ⁻¹ para o eletrodo modificado com NiSb/C após a exposição ao hexacianoferrato(III) de potássio.	34
Tabela 5 - Valores de corrente, potencial dos picos anódicos e catódicos e ΔE_p do estudo da área eletroativa do eletrodo de carbono vítreo não modificado e modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C em K ₃ [Fe(CN) ₆] 0,010 mol L ⁻¹ em solução de KCl 0,5 mol L ⁻¹	39
Tabela 6 - Valores de θ , coeficiente angular da reta, e área eletroativa em cm ² , calculada a partir da Equação de Cottrell rearranjada conforme descrito na Equação (4), do eletrodo de carbono vítreo não modificado e modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C.	41
Tabela 7 - Valores de corrente e potencial de pico anódico e catódico, do estudo da velocidade de varredura do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C em solução de K ₃ [Fe(CN) ₆] 0,1 mol L ⁻¹ em KCl 0,50 mol L ⁻¹	43
Tabela 8 - Resultados obtidos pelo eletrodo de carbono vítreo modificado com Pt/C sobre a TTC em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹	56
Tabela 9 - Valores de concentração da amostra “desconhecida” e determinado pelo eletrodo.	58

Lista de abreviaturas e símbolos

A	Área eletroativa do eletrodo
C_o	Concentração de espécies eletroativas
D_o	Constante de difusão para espécies eletroativas
EA	Eletrodo auxiliar
ECS	Eletrodo de calomelano saturado
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
ER	Eletrodo de referência
ET	Eletrodo de trabalho
F	Constante de Faraday
I	Corrente
I_{pa}	Corrente de pico anódico
I_{pc}	Corrente de pico catódico
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
n	Número de elétrons
R	Coeficiente de correlação
t	Tempo
TTC	Cloridrato de tetraciclina
v	Velocidade de varredura
ΔE_p	Variação de potencial de pico
θ	Coeficiente angular

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1	<i>Sensores químicos e eletrodos quimicamente modificados.....</i>	<i>15</i>
2.2	<i>Nanopartículas metálicas e sua aplicação como sensores eletroquímicos..</i>	<i>16</i>
2.2.1	Nanopartículas e suas propriedades	16
2.2.2	Nanomateriais metálicos e intermetálicos.....	18
2.2.3	Nanopartículas como sensores químicos	19
2.3	<i>Tetraciclinas e sensores para tetraciclinas.....</i>	<i>19</i>
3	OBJETIVOS	23
4	METODOLOGIA.....	24
4.1	<i>Reagentes.....</i>	<i>24</i>
4.2	<i>Nanopartículas.....</i>	<i>25</i>
4.3	<i>Preparo de soluções</i>	<i>26</i>
4.3.1	Suspensões de nanopartículas.....	26
4.3.2	Soluções diluídas de ácidos.....	26
4.3.3	Soluções de tampão universal e tampão fosfato	26
4.3.4	Soluções de cloridrato de tetraciclina	27
4.4	<i>Preparo dos eletrodos.....</i>	<i>27</i>
4.4.1	Limpeza do eletrodo de carbono vítreo.....	27
4.4.2	Modificação da superfície do eletrodo com as nanopartículas.....	27
4.5	<i>Equipamentos</i>	<i>28</i>
4.5.1	Balança.....	28
4.5.2	pHmetro	28
4.5.3	Potenciostato/Galvanostato μ -Autolab®.	28
4.6	<i>Medidas eletroquímicas</i>	<i>28</i>
4.7	<i>Aplicação do eletrodo em uma amostra de urina sintética</i>	<i>30</i>
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32
5.1	<i>Resposta voltamétrica dos eletrodos modificados com nanopartículas de Pt/C e NiSb/C.....</i>	<i>32</i>
5.2	<i>Determinação da área ativa do eletrodo</i>	<i>37</i>
5.3	<i>Estudo da velocidade de varredura em solução de hexacianoferrato(III) de potássio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$</i>	<i>42</i>

5.4	<i>Influência do pH sobre a janela de potencial.....</i>	<i>45</i>
5.5	<i>Resposta do eletrodo modificado com Pt/C para cloridrato de tetraciclina ..</i>	<i>46</i>
5.5.1	<i>Voltametria cíclica.....</i>	<i>46</i>
5.5.2	<i>Voltametria de pulso diferencial</i>	<i>48</i>
5.6	<i>Influência do pH sobre o cloridrato de tetraciclina.....</i>	<i>49</i>
5.7	<i>Curva analítica para a determinação de TTC por voltametria cíclica</i>	<i>54</i>
5.8	<i>Aplicação do eletrodo sobre uma amostra de urina sintética</i>	<i>56</i>
6	CONCLUSÃO.....	59
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

Capazes de coletar dados de um sistema estudado, os sensores químicos permitem correlacionar os resultados obtidos com outros parâmetros do ambiente ao qual foram inseridos.¹ Dentre os diversos tipos de sensores químicos existentes, estudou-se nesta dissertação um sensor eletroquímico.

O desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos aumenta de maneira expressiva, visando suprir as necessidades de diversos segmentos da indústria, como a farmacêutica, alimentícia e ambiental. Isso por se tratar de uma opção para os químicos analíticos que permite a resolução de problemas com opções de grande sensibilidade, custo moderado, portabilidade, dentre outras vantagens.

A modificação superficial de eletrodos tem como principal objetivo pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução como forma de alterar, tanto a reatividade, quanto a seletividade do eletrodo base.² Além disso, as modificações superficiais podem eliminar problemas comuns em matrizes biológicas, como o elevado potencial de oxidação ou redução do analito, interferentes presentes que possuem potencial de oxidação/redução próximo ao da espécie de interesse e também o bloqueio na superfície do eletrodo causado pela adsorção dos produtos formados pela reação eletroquímica.

É necessário que o eletrodo apresente condições ideais de funcionamento, sensibilidade, seletividade, tempo de resposta, linearidade, estabilidade e reprodutibilidade.³ Por isso, a existência de um vasto campo de estudos eletroanalíticos sobre as possíveis modificações e agentes modificadores dos eletrodos bases, como através da eletrodeposição de metais, óxidos, adsorção de espécies orgânicas, agentes biológicos, filmes poliméricos, entre outros.²⁻⁵

Novos materiais são integrados a cada dia, como, os nanomateriais, responsáveis por um dos maiores impactos no desenvolvimento de sensores graças aos avanços tecnológicos na síntese destes materiais, permitindo o controle de tamanho, forma e características físico-químicas⁶, o que os torna um campo de estudo tão promissor, capaz de fornecer vantagens sobre os sensores já existentes.

Escolheu-se o cloridrato de tetraciclina (TTC) como analito devido seu alto consumo na medicina humana e veterinária como antibiótico, pois o mesmo apresenta amplo espectro de ação, baixo custo de produção e baixa toxicidade.⁷

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Sensores químicos e eletrodos quimicamente modificados

Segundo Stradiotto et al.⁸, um sensor químico é um dispositivo que capaz de fornecer informações continuamente sobre o meio ao qual foi inserido. Tal sensor deve ser capaz de fornecer uma resposta diretamente relacionada às espécies presentes no meio analisado. Um sensor é composto de um transdutor, que converte a resposta química em um sinal detectável para um instrumento de medida e uma camada seletiva que deve separar a resposta do analito do meio ao qual está inserido. Dentre os tipos existentes de sensores químicos, como ópticos, de massa, termais, destacam-se os sensores eletroquímicos, principalmente em função da facilidade de construção, baixo custo e capacidade de detecção de analitos.

Dentre as classificações existentes de sensores eletroquímicos, neste trabalho utilizou-se um sensor voltamétrico, que utiliza uma diferença de potencial medida entre um eletrodo de trabalho e um de referência que é utilizada em um intervalo de potencial, que causará a oxidação ou redução das espécies eletroativas no meio.⁸ Como resultado, a corrente resultante é medida pela instrumentação apropriada e este valor pode ser relacionado à quantidade de espécies oxidadas ou reduzidas.

O desenvolvimento dos eletrodos de trabalho é um dos campos de maior estudo sobre sensores eletroquímicos, pois os eletrodos podem ser modificados através da inserção de uma espécie na superfície eletródica com o objetivo de melhorar suas propriedades, pois com a modificação o eletrodo possuirá as características físico-químicas do agente modificador. Quando essa inserção é feita, tais eletrodos são classificados como eletrodos quimicamente modificados (EQM) e podem ser aplicados com os mais diversos propósitos, como a catálise de reações orgânicas e inorgânicas e a transferência de elétrons entre espécies de interesse analítico.⁹

O desenvolvimento de EQM recebe atenção especial na identificação de analitos, porém apesar da grande versatilidade, em muitos casos a utilização do eletrodo é limitada graças a um fenômeno de passivação¹⁰ da superfície eletródica, principalmente pela adsorção de produtos formados na própria reação de

oxirredução ou subprodutos dessas reações, que podem se depositar sobre a superfície dos eletrodos.^{10,11} Além disso, muitos analitos tem a sensibilidade da resposta voltamétrica prejudicada devido à cinética de transferência de elétrons entre tais compostos e os materiais dos eletrodos ser muito lenta.¹¹

Outro problema que a modificação superficial do eletrodo visa solucionar é a proximidade entre potenciais de redução e oxidação de compostos que possuem características redox similares ou interferentes que possam estar presentes na matriz a ser analisada.¹²

Os EQM possuem um vasto campo de estudo, devido principalmente aos diferentes tipos de eletrodo base, como pasta de carbono^{12,13}, platina^{14,15}, ouro^{16,17}, carbono vítreo¹⁸⁻²², entre outros; e materiais utilizados na modificação superficial, como óxidos metálicos^{23,24}, polímeros condutores^{25,26} e nanopartículas metálicas²⁷⁻³⁰. Além disso, existem diversos métodos de modificação de superfície, como “spin-coating”^{31,32}, eletropolimerização^{33,34}, “Langmuir-Blodgett”^{35,36}, deposição “Layer-by-Layer”^{37,38} e formação de camadas auto-organizadas^{39,40}.

A escolha do material que será utilizado como eletrodo base, cuja superfície será modificada, é um aspecto muito importante no preparo de um eletrodo quimicamente modificado. Isso porque o eletrodo base deve apresentar propriedades eletroquímicas apropriadas e também ser um substrato adequado ao método e ao material de modificação. Por isso a escolha do eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho, devido suas excelentes propriedades elétricas e mecânicas, resistência a ataques ácidos, alta taxa de reprodutibilidade e possibilidade de trabalho em uma extensa janela de potencial.^{41,42}

2.2 Nanopartículas metálicas e sua aplicação como sensores eletroquímicos

2.2.1 Nanopartículas e suas propriedades

Materiais nanoestruturados tornaram-se um campo de estudos essenciais para o desenvolvimento de novos materiais com propriedades diferenciadas.⁴³ Com isso, destaca-se no cenário científico um novo ramo interdisciplinar da ciência, a nanociência, que vem se destacando nas últimas décadas. A nanociência se dedica ao estudo da síntese, caracterização, avaliação das propriedades e aplicação de

materiais constituídos de partículas que possuam uma, duas ou três dimensões na escala nanométrica.⁴⁴ O elevado interesse neste grupo de materiais deve-se principalmente às novas propriedades que os mesmos possuem, apenas por se diferenciarem na escala de tamanho. Tais propriedades são destacadas quando um determinado tamanho, conhecido como tamanho crítico é atingido pelo material. Este parâmetro de tamanho crítico varia de material para material (quando se analisa especificamente uma propriedade), e de propriedade para propriedade (em um mesmo material).

As propriedades das nanopartículas também são alteradas pela sua forma, sendo assim, não apenas a composição influencia as propriedades de um nanomaterial, mas também a forma das nanopartículas e o tamanho médio.

A diferença entre nanopartículas e materiais em maior escala de tamanho está na diferença na relação entre átomos na superfície e átomos no interior da partícula. Com a diminuição do tamanho da partícula, ocorre o aumento da proporção átomos na superfície/átomos no interior da partícula, fazendo com que a contribuição destes às propriedades do material seja mais expressiva. A mudança das propriedades ocorre devido ao menor número de ligações feitas pelos átomos superficiais. Essa diferença no número de ligações causa uma alteração nas propriedades do material, e já que os átomos da superfície contribuem mais nas propriedades gerais do material, fazendo com que novas características até então ausentes possam ser observadas.⁴⁵⁻⁴⁷

A redução do tamanho da partícula gera um efeito conhecido como efeito quântico de tamanho, caracterizado pela ocupação dos elétrons em níveis mais discretos de energia, diferentemente de materiais macroscópicos, os quais são constituídos por bandas, onde os elétrons se movem livremente. O surgimento deste fenômeno ocorre devido ao reduzido número de espécies que compõem uma nanopartícula, acarretando em um menor número de orbitais moleculares e, conseqüentemente, tornando mais significativas as barreiras energéticas existentes entre estes orbitais. Propriedades ópticas e eletrônicas sofrem alterações causadas pelo efeito quântico de tamanho.

Com a modificação nas propriedades e o aumento no número de átomos de superfície, aumenta-se a quantidade de sítios ativos que o material possui, tornando os nanomateriais potenciais candidatos na aplicação na área de sensores, pois

confere a estes vantagens como menores níveis de detecção e quantificação, aprimoramento do transporte de massa, entre outros.⁴⁸

A composição química, a condição superficial, a qualidade da estrutura cristalina, a orientação dos eixos cristalográficos, entre outros, são parâmetros críticos de um nanomaterial, pois influenciarão cumulativamente o mecanismo de transporte de elétrons.⁶

2.2.2 Nanomateriais metálicos e intermetálicos

As nanopartículas metálicas atraem grande interesse científico principalmente por serem uma conexão entre o nível atômico e materiais do tipo bulk. A diferença principal entre um bulk e a nanopartícula fica na constante apresentação das propriedades de um bulk independente do seu tamanho, ao contrário das nanopartículas, que possuem propriedades diferentes justamente por seu menor tamanho e propriedades essas que podem mudar de acordo com a mudança do tamanho destas nanopartículas.⁴⁹

As novas propriedades apresentadas por estes materiais os tornam tão atrativos na eletroquímica. Dentre os vários fatores que podem influenciar o sinal da resposta voltamétrica estão o tamanho e a morfologia do eletrodo. O uso de nanopartículas na construção de eletrodos tem como uma das principais vantagens o aumento da área superficial do recobrimento, pois em escala nanométrica, planos cristalinos até então não acessíveis passam a estar expostos, o que melhora as propriedades do eletrodo, tornando as reações eletroquímicas mais rápidas e aumentando a resposta voltamétrica e melhorando as propriedades catalíticas.⁴⁸

As fases intermetálicas ordenadas são caracterizadas como compostos homogêneos formados por dois ou mais elementos metálicos, constituindo um material de estequiometria simples dentro de uma faixa de composição delimitada prevista por seus respectivos diagramas de fases.⁵⁰ As propriedades eletrônicas destes compostos são diferentes, principalmente pelo fato da diferente estrutura cristalográfica que os compõe.^{51,52}

É importante ressaltar que as fases intermetálicas são diferentes das ligas metálicas, pois apresentam propriedades físico-químicas definidas e estabilidade alta quando comparadas à outros materiais. As ligas metálicas são comumente formadas por uma solução sólida simples onde agregados dos elementos são

distribuídos de maneira heterogênea pelo composto, tornando mais difícil a reprodução das propriedades ao longo da amostra.⁵³

2.2.3 Nanopartículas como sensores químicos

A aplicação eletroanalítica de nanopartículas metálicas é uma área de grandes estudos⁴⁸, sendo os metais mais comumente estudados o ouro^{54,55}, prata^{56,57} e platina^{58,59}. Além disso, outros metais como paládio^{60,61}, níquel^{62,63}, cobre^{64,65} e rutênio^{66,67} são aplicados como eletrodos. Um dos principais motivos da expansão de dispositivos baseados em nanopartículas é a redução de custos já que se utiliza uma menor quantidade do mesmo metal nobre requerido na construção de um macro-eletrodo.⁴⁸

A platina é amplamente utilizada na indústria como catalisador e apesar de apresentar maior valor de custo quando comparado à prata e ao ouro, apresenta características de estabilidade e condutividade que a tornam tão atraente aos estudos eletroquímicos.⁴⁸

As nanopartículas metálicas são empregadas com diversas finalidades na eletroquímica, como na construção de sensores^{58-61,63-66}, assim como na eletrocatalise de alcoóis de baixo peso molecular, como metanol, etanol e glicerol.^{62,68-69}

2.3 Tetraciclina e sensores para tetraciclina

A tetraciclina (2-(amino-hidróxi-metilideno)-4-dimetilamino-6,10,11,12^a-tetrahidróxi-6-metil-4,4^a,5,5^a-tetrahidrotetraceno-1,3,12-triona), foi estudada neste trabalho em função de suas propriedades e utilização antropogênica.

As tetraciclina são compostos com propriedades antibióticas utilizados tanto no tratamento humano, quanto no tratamento animal, acarretando na possibilidade de presença no ambiente, no solo e na água, assim como em amostras de derivados alimentícios provenientes de animais, como o leite bovino.⁷⁰

O uso do medicamento veterinário de maneira indiscriminada pode ocasionar o acúmulo em futuras matérias-primas do setor alimentício, o que pode causar problemas na flora intestinal humana prejudicando sua ação protetora, além de alergias em pessoas sensíveis às espécies derivadas dessa família de

compostos, ou mesmo interferir no processo de produção de derivados que envolvam a cultura de microorganismos.⁷¹

Os compostos da família das tetraciclina foram utilizados como antibióticos entre as décadas de 1950 e 1970 graças à descoberta dos compostos, de ocorrência natural (tetraciclina, clortetraciclina, oxytetraciclina, demeclociclina), além de outros compostos sintetizados em laboratório através da modificação das moléculas, mantendo a característica básica da família (quatro anéis aromáticos) e alterando os grupos funcionais.⁷

Devido ao uso excessivo de compostos da família das tetraciclina, muitas espécies desenvolveram resistência a tais compostos. Entretanto, em alguns casos, as tetraciclina continuam como principal opção no tratamento contra determinadas bactérias.⁷

A estrutura molecular da tetraciclina estudada nesta dissertação é exibida na Figura 1.

Figura 1 - Representação da estrutura molecular da tetraciclina e a indicação dos prováveis sítios de ocorrência da oxidação.

A oxidação da tetraciclina em processos amperométricos apresenta dois picos definidos em potenciais próximos a 1,0 V vs ECS. A Figura 1 apresenta a estrutura da molécula de tetraciclina e os possíveis sítios de oxidação da molécula, grupo dimetilamina na posição C₄ e fenol na posição C₁₀, sendo este último efetivamente considerado o grupamento oxidado irreversivelmente.^{72,73}

Há diversos métodos propostos na literatura sobre a detecção e quantificação da tetraciclina, sendo frequentemente estudados aqueles que envolvam a eletroforese capilar⁷⁴⁻⁷⁶, cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a diversos detectores^{77,78}, cromatografia líquida^{79,80}, técnicas espectroscópicas^{81,82} e eletroquimioluminescência^{83,84}. Entretanto, tais análises exigem etapas analíticas mais complexas, com tempo de análise mais longo, elevado custo operacional e dificuldade da operação *in situ*.

As técnicas voltamétricas possuem como característica a simplicidade, a rapidez e o baixo custo de aplicação. Diversos sensores eletroquímicos para determinação da tetraciclina podem ser encontrados na literatura, como sensores voltamétricos⁸⁵⁻⁸⁷, além de outras técnicas como a polarografia de corrente alternada⁸⁸, polarografia de pulso diferencial⁸⁹, voltametria de pulso diferencial^{90,91}.

Na Tabela 1 é possível visualizar os resultados obtidos e publicados em recentes trabalhos sobre a determinação eletroquímica da tetraciclina, com enfoque nos métodos utilizados, materiais base dos eletrodos, região de linearidade de trabalho e o limite de detecção (LOD) alcançado.

Tabela 1 - Alguns dos métodos eletroquímicos para determinação de tetraciclina, indicando o eletrodo utilizado, a técnica, a região de linearidade, o limite de detecção e a referência utilizada

Eletrodo	Técnica	Região linear (mol L ⁻¹)	LOD (mol L ⁻¹)	Referência
Au	VC	2,1 x 10 ⁻⁶ - 21,0 x 10 ⁻⁶	0,19 x 10 ⁻⁶	92
Au - MWNT	VC	2,08 x 10 ⁻⁶ - 83,77 x 10 ⁻⁶	0,83 x 10 ⁻⁶	93
Au - disco rotatório	FIA-DAP	5 x 10 ⁻⁶ - 600 x 10 ⁻⁶	1 x 10 ⁻⁶	90
Au - SPGE	FIA-VC	1 x 10 ⁻⁶ - 500 x 10 ⁻⁶	0,96 x 10 ⁻⁶	94
Ni-BDD	VC	1 x 10 ⁻⁶ - 9,0 x 10 ⁻⁶	10 x 10 ⁻⁹	95
BDD anodizado	VC	0,1 x 10 ⁻⁶ - 50 x 10 ⁻⁶	0,01 x 10 ⁻⁶	96

Tabela 1 - Continua

Tabela 1- Conclusão

Eletrodo	Técnica	Região linear (mol L⁻¹)	LOD (mol L⁻¹)	Referência
Ni-GC	FIA-Amp	$5,2 \times 10^{-6} - 166,0 \times 10^{-6}$	$0,062 \times 10^{-6}$	97
GC-IL-MWNT	VL	$0,11 \times 10^{-6} - 22,0 \times 10^{-6}$	3×10^{-8}	98
GPU	VPD	$4 \times 10^{-6} - 40,0 \times 10^{-6}$	$2,8 \times 10^{-6}$	91
HMDE	DPSV	$4,1 \times 10^{-8} - 37,0 \times 10^{-8}$	$6,2 \times 10^{-6}$	86

Sendo: Au: ouro; MWNT: nanotubo de carbono de parede múltipla; SPGE: eletrodo impresso de ouro; Ni-BDD: diamante dopado com boro com níquel implantado; BDD: diamante dopado com boro; Ni-GC: carbono vítreo modificado com níquel; GC: carbono vítreo; IL: líquido iônico; EGPU: eletrodo compósito grafite-poliuretana; HMDE: eletrodo gotejante de mercúrio; VC: voltametria cíclica; FIA-DAP: análise por injeção de fluxo acoplada com detecção amperométrica de pulsos; FIA-VC: análise por injeção de fluxo acoplada com voltametria cíclica; FIA-Amp: análise por injeção de fluxo acoplada com detecção amperométrica; VL: voltametria linear; VPD: voltametria de pulso diferencial; DPSV: voltametria de redissolução de pulso diferencial.

3 OBJETIVOS

O objetivo deste presente trabalho foi o desenvolvimento de um sensor voltamétrico a partir da modificação de superfície de um eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas metálicas de Pt e intermetálicas de NiSb suportadas em carbono Vulcan® XC72 e aplicá-lo na determinação de cloridrato de tetraciclina em uma amostra de urina sintética.

4 METODOLOGIA

4.1 Reagentes

Os reagentes utilizados no preparo dos eletrodos e medidas eletroquímicas estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 - Procedência e pureza dos reagentes utilizados.

Material	Fórmula Química	Procedência	Pureza (%)
Ácido cítrico	$C_6H_8O_7$	Merck	99,5
Ácido clorídrico	HCl	Synth	PA
Ácido fosfórico	H_3PO_4	Vetec	PA
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	Synth	PA
Álcool etílico absoluto	C_2H_5OH	Neon	99,5
Alumina (<50nm)	Al_2O_3	Sigma-Aldrich	-
Cloreto de amônio	NH_4Cl	Nuclear	PA
Cloreto de cálcio	$CaCl_2 \cdot H_2O$	Quimis	PA
Cloreto de potássio	KCl	Synth	99,0 - 100,5
Cloreto de sódio	NaCl	Quimex	PA
Cloridrato de tetraciclina	$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$	Sigma-Aldrich	> 95
Dihidrogenofosfato de potássio	KH_2PO_4	Carlo Erba	ACS
Dihidrogenofosfato de sódio monohidratado	$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$	Synth	98 - 102

Tabela 2- Continua

Tabela 2- Conclusão

Material	Fórmula Química	Procedência	Pureza (%)
Diamante monocristalino (1µm)	-	Sigma-Aldrich	-
Dimetilformamida	(CH ₃) ₂ NCOH	Sigma-Aldrich	99,8
Ferricianeto de potássio	K ₄ Fe(CN) ₆	Vetec	99
Hidrogenofosfato dissódico anidro	Na ₂ HPO ₄	Synth	99
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	99
Sulfato de sódio	Na ₂ SO ₄	JT Baker	ACS
Tetraborato de sódio decahidratado	Na ₂ B ₄ O ₇ .H ₂ O	Synth	99,5 - 105,0
Uréia	(NH ₂) ₂ CO	Dinâmica	PA

4.2 Nanopartículas

As nanopartículas metálicas de Pt/C e intermetálicas de NiSb/C foram sintetizadas e caracterizadas pelo grupo de pesquisa do Prof. Dr. Antonio Carlos Dias Ângelo da UNESP de Bauru.

O preparo das nanopartículas metálicas de Pt/C foi realizado a partir da mistura de etilenoglicol e Carbono Vulcan® XC72 (80% em peso) que foi então colocada em banho ultrassônico por duas horas sob atmosfera de nitrogênio. Transferiu-se a mistura a um balão de fundo redondo e adicionou-se ácido hexacloroplatínico (IV) e manteve-se a solução por 4 horas sob aquecimento de 140 °C sob atmosfera inerte (N_{2(g)}).⁹⁹

A síntese das nanopartículas intermetálicas de NiSb/C seguiu o mesmo procedimento, sendo que o precursor de Sb foi adicionado junto ao Carbono

Vulcan® XC72 (80% em peso) e após 16 horas de síntese foi adicionado ao meio reacional o precursor de Ni. Prosseguiu-se com a reação por mais 48 horas sob aquecimento de 190 °C e atmosfera inerte.

4.3 Preparo de soluções

4.3.1 Suspensões de nanopartículas

As suspensões das nanopartículas metálicas de NiSb/C e Pt/C foram preparadas a partir da adição de 1 mL de dimetilformamida (DMF) à 1 mg da nanopartícula e posterior aplicação de banho ultrassônico por 10 minutos antes de cada adição à superfície do eletrodo.¹⁰⁰

4.3.2 Soluções diluídas de ácidos

As soluções diluídas de ácido sulfúrico e clorídrico foram preparadas através da transferência de volumes dos ácidos para balões volumétricos, completando-os com água deionizada, buscando-se soluções com concentrações de 0,1 mol L⁻¹ e 6,0 mol L⁻¹ respectivamente.

4.3.3 Soluções de tampão universal e tampão fosfato

A solução padrão de tampão universal foi preparada a partir da mistura dos seguintes reagentes cuja concentração na solução está indicada entre parênteses: tetraborato de sódio decahidratado (5,7 mmol L⁻¹), hidrogenofosfato dissódico anidro (0,02 mol L⁻¹), ácido cítrico (0,01 mol L⁻¹) e cloreto de potássio (0,5 mol L⁻¹), solubilizados em 0,5 L de água deionizada com auxílio de banho ultrassônico. O ajuste do pH (1 a 10) da solução tampão foi realizado com HCl e NaOH 6 mol L⁻¹.

Já a solução de tampão fosfato foi preparada a partir da mistura de ácido fosfórico e dihidrogenofosfato de sódio monohidratado com concentração final de fosfato igual a 0,1 mol L⁻¹. Preparou-se uma solução de pH 2,45 através da mistura de 1,15 mL de ácido fosfórico e 4,1397 g de dihidrogenofosfato de sódio monohidratado e então para os estudos necessários, ajustou-se o pH do tampão utilizando HCl e NaOH, ambos de concentração 6 mol L⁻¹.

4.3.4 Soluções de cloridrato de tetraciclina

As soluções de concentração 10 mmol L^{-1} de cloridrato de tetraciclina foram preparadas a partir da solubilização de 0,0243 g em 5 mL do eletrólito de suporte estudado no momento com auxílio de banho ultrassônico e utilizadas imediatamente. Para soluções de concentração menor, o preparo acontecia a partir da transferência de um volume determinado da solução 10 mmol L^{-1} e posterior diluição.

Para cada estudo preparou-se uma nova solução. Isso porque o produto deve ser armazenado em freezer, protegido de luz solar, pois em caso de exposição à luz excessiva pode escurecer.¹⁰¹ A partir dessas soluções, pode-se avaliar o comportamento eletroquímico da TTC nas duas soluções tampão estudadas e então construir as curvas analíticas.

4.4 Preparo dos eletrodos

4.4.1 Limpeza do eletrodo de carbono vítreo

Previamente a cada modificação da superfície, o eletrodo de carbono vítreo foi submetido a um procedimento de limpeza constituído de duas etapas, uma mecânica e outra eletroquímica.

A limpeza mecânica ocorre através do polimento em lixas d'água (600 - 1200 - 1500) com uma suspensão de pó de diamante (600 - 1200) e suspensão de alumina (1500). Após o polimento, o eletrodo foi imerso em álcool etílico absoluto e lavado abundantemente em água deionizada.

O procedimento eletroquímico consistiu da exposição do eletrodo à técnica de voltametria cíclica em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura 25 mV s^{-1} e janela de potencial de -1,0 V a +1,0 V vs ECS (eletrodo de calomelano saturado) até obtenção de um perfil voltamétrico estável.^{41,42}

4.4.2 Modificação da superfície do eletrodo com as nanopartículas

A modificação superficial dos eletrodos foi realizada a partir de múltiplas adições de $10 \mu\text{L}$ de uma suspensão de 1 mg da nanopartícula metálica de interesse (Pt/C ou NiSb/C) em 1,0 mL de DMF após 10 minutos em banho ultrassônico sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. O intervalo entre cada adição variou entre

2,5 e 3 horas, sendo que a adição seguinte acontecia sempre após a secagem do volume adicionado previamente.

4.5 Equipamentos

4.5.1 Balança

As pesagens foram realizadas utilizando-se balança analítica Ohaus Adventures, modelo AB204-S com precisão de $\pm 0,1$ mg.

4.5.2 pHmetro

As medidas de pH foram realizadas em pHmetro Metrohm, modelo 781 com eletrodo de vidro combinado com eletrodo de calomelano saturado em KCl.

4.5.3 Potenciostato/Galvanostato μ -Autolab®.

As medidas eletroquímicas foram realizadas por potenciostato/galvanostato μ -Autolab®. A obtenção de dados foi realizada através do software GPES tipo III (EcoChimie®).

4.6 Medidas eletroquímicas

O estudo do comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados foi realizado em uma célula eletroquímica de vidro convencional contendo os seguintes eletrodos:

- Eletrodo de fio de platina, utilizado como eletrodo auxiliar (EA),
- Eletrodo de calomelano saturado (ECS), como eletrodo de referência (ER),
- Eletrodo de carbono vítreo modificado como eletrodo de trabalho (ET).

Os três eletrodos foram acoplados a um potenciostato/galvanostato μ -Autolab® tipo III com controle de microcomputador conforme exibido na Figura 2.

Figura 2 - Representação esquemática de uma célula eletroquímica contendo os seguintes eletrodos: eletrodo auxiliar (EA), eletrodo de trabalho (ET) e eletrodo de referência (ER).

A caracterização eletroquímica foi realizada empregando três técnicas eletroanalíticas, a voltametria cíclica, a cronoamperometria e a voltametria de pulso diferencial.

Os eletrodos modificados foram submetidos à varredura cíclica de potenciais para a determinação dos potenciais de oxi-redução e reversibilidade dos processos redox. Para o estudo da resposta eletroquímica do eletrodo modificado utilizou-se uma solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, através da técnica de voltametria cíclica, com janela de potencial de $-0,2 \text{ V}$ a $0,6 \text{ V}$ vs ECS, para determinação da influência eletroquímica da quantidade de material depositada sobre a superfície do eletrodo.

Além disso, a técnica foi empregada na avaliação do eletrodo modificado como sensor eletroquímico para o analito cloridrato de tetraciclina através de adições múltiplas de um padrão 10 mmol L^{-1} . Previamente às medidas voltamétricas que envolvessem a TTC, as soluções do eletrólito de suporte e padrão de TTC foram deaeradas por 20 minutos com $\text{N}_{2(\text{g})}$. O limite de detecção e a sensibilidade foram calculados através das respostas eletroanalíticas quando adicionadas as alíquotas de TTC.

A cronoamperometria foi utilizada durante as medidas eletroquímicas para determinação da área eletroativa do eletrodo. Para utilização deste método, utilizou-se uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Os dados coletados foram tratados e através da Equação de Cottrell pode-se determinar a área eletroativa do eletrodo modificado com a nanopartícula metálica.

Como método comparativo à voltametria cíclica foi utilizada a técnica voltamétrica de pulso diferencial, buscando-se aquela que apresentasse maior sensibilidade ao analito em questão. Repetiu-se então o mesmo procedimento da voltametria cíclica, utilizando a mesma solução como eletrólito de suporte, a mesma concentração do analito e adições de volumes iguais.

4.7 Aplicação do eletrodo em uma amostra de urina sintética

Visando estudar o comportamento eletroquímico do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas metálicas frente amostras biológicas, utilizaram-se amostras de urina sintética na detecção de diferentes concentrações do analito em questão. A escolha de trabalhar com urina sintética deve-se ao seu fácil preparo.

A produção da urina artificial ocorreu de acordo com uma adaptação do método proposto por Laube et al.¹⁰², descrito na Tabela 3.

Tabela 3 - Reagentes utilizados no preparo da amostra de urina sintética e suas respectivas concentrações utilizadas de acordo com o método proposto por Laube et al.¹⁰².

Material	Fórmula química	Concentração (g L^{-1})
Cloreto de cálcio	$\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,103
Cloreto de sódio	NaCl	2,295
Sulfato de sódio	Na_2SO_4	2,250
Dihidrogenofosfato de potássio	KH_2PO_4	1,40
Cloreto de potássio	KCl	1,60
Cloreto de amônio	NH_4Cl	1,00
Uréia	$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$	25,00

As amostras de urina sintética produzidas e propositalmente contaminadas com cloridrato de tetraciclina foram acidificadas com ácido clorídrico 6 mol L^{-1} até obtenção de uma amostra com pH 3,0, devido a maior estabilidade do analito em pH mais ácidos¹⁰³. A determinação do analito ocorreu em solução tampão e em pH escolhidos após os estudos iniciais que determinaram a melhor resposta voltamétrica do cloridrato de tetraciclina.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Resposta voltamétrica dos eletrodos modificados com nanopartículas de Pt/C e NiSb/C

Inicialmente, avaliou-se o desempenho do eletrodo de carbono vítreo modificado com as nanopartículas intermetálicas de NiSb/C através da adição de 10 μL de uma suspensão de 1 mg da mesma em 1,0 mL de DMF.

A resposta eletroquímica dos eletrodos quimicamente modificados foi obtida através da voltametria cíclica em solução de KCl 0,5 mol L^{-1} e $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 0,010 mol L^{-1} em solução de KCl 0,5 mol L^{-1} , janela de potencial entre -0,2 V e 0,6 V vs ECS e velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .

Pode-se observar a partir do voltamograma cíclico representado na Figura 3 (a) um pico de oxidação em +0,27 V atribuído ao par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Além disso, observou-se a possibilidade da presença de um segundo par redox além do potencial estipulado como limite da região anódica (0,6 V) na janela estudada (-0,2 V a 0,6 V), o que levou a expansão da janela de potencial de trabalho para -0,2 V a 1,0 V, conforme visualizado na Figura 3 (b). Pode-se então verificar a presença de um segundo pico de oxidação em valor próximo a +0,625 V.

Figura 3 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo modificado com nanopartículas intermetálicas de NiSb/C em solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 0,010 mol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} , $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, e janela de potencial de -0,2 V a 0,6 V vs ECS e -0,2 a 1,0 V vs ECS em (a) e (b) respectivamente.

Visando verificar a existência de algum processo redox da nanopartícula depositada ou do material de suporte, os eletrodos foram analisados em uma solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ por voltametria cíclica antes e após a análise voltamétrica em hexacianoferrato(III) de potássio conforme exibido pela Figura 4, onde foi possível verificar a existência de um pico de oxidação em aproximadamente $0,7 \text{ V}$ após a análise do eletrodo por voltametria cíclica em solução de hexacianoferrato(III) de potássio.

Figura 4 - Voltamograma cíclico obtido com o eletrodo modificado com nanopartículas intermetálicas de NiSb/C em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial de $-0,2 \text{ V}$ a $1,0 \text{ V}$ antes (—) e após (—) a exposição ao hexacianoferrato(III) de potássio.

Posteriormente à constatação da presença do par redox em solução de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, investigou-se a estabilidade do mesmo expondo o eletrodo à ciclagem exaustiva em janela de potencial entre $-0,2 \text{ V}$ e $1,0 \text{ V vs ECS}$ e velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} . Após 100 ciclos, os dados foram coletados e foram discriminados na Tabela 4 e na Figura 5.

Tabela 4 - Valores de corrente e potencial dos picos anódicos e catódicos do estudo de estabilidade em KCl 0,5 mol L⁻¹ para o eletrodo modificado com NiSb/C após a exposição ao hexacianoferrato(III) de potássio.

Ciclo	$I_{pa}/\mu A$	$I_{pc}/\mu A$	E_{pa}/V vs ECS	E_{pc}/V vs ECS
1	37,21	-38,80	0,654	0,580
5	28,41	-33,55	0,651	0,580
50	19,13	-22,39	0,645	0,580
100	16,40	-19,21	0,641	0,579

Conforme observado na Tabela 4, houve decréscimo de 55,9% na intensidade da corrente no pico de oxidação e 50,5% no pico de redução.

Figura 5 - Voltamograma cíclico do estudo de estabilidade em KCl 0,5 mol L⁻¹ para o eletrodo modificado com NiSb/C após a exposição ao hexacianoferrato(III) de potássio.

A presença do par redox em 0,7 V poderia referir-se a possível formação de óxidos ou hidróxidos dos metais depositados na superfície do eletrodo ou então à possível adsorção de material da solução na superfície do eletrodo.

Para investigar a possível formação dos óxidos ou hidróxidos metálicos de Ni e Sb presentes na suspensão adicionada à superfície do eletrodo, aplicou-se a técnica de voltametria cíclica em solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, por 50 ciclos, janela de potencial entre -0,5 V a 1,0 V vs ECS em velocidade de varredura igual a 25 mV s⁻¹. Após o teste em solução alcalina, o eletrodo foi analisado em KCl 0,5 mol L⁻¹ e o

voltamograma cíclico obtido foi comparado ao resultado do eletrodo modificado após análise em solução de hexacianoferrato (III) de potássio. O comparativo dos voltamogramas pode ser observado na Figura 6.

Figura 6 - Voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado com a suspensão de NiSb/C em KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, (—) após a análise em hexacianoferrato(III) de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e (-) após análise em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Conforme exibido na Figura 6, os voltamogramas obtidos apresentam diferenças na apresentação de processos de oxidação e redução e na magnitude de corrente. Com isso e devido à instabilidade da resposta do processo oxidativo, que conforme dados da Tabela 4, teve redução do sinal de corrente em mais de 50%, a hipótese de formação de óxido na superfície do eletrodo após a análise em solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ foi descartada.

A existência dos picos do par redox pode ser atribuída à hipótese de adsorção de espécies na superfície do eletrodo já que só é possível observá-los após a utilização do eletrodo em solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Contribui a esta hipótese o fato de que em potencial próximo ao indicado pelo par redox no voltamograma, ocorre a reação de oxidação do Fe^{2+} ,¹⁰⁴ podendo-se então supor que se trata do mesmo.

A fim de verificar o comportamento eletroquímico das nanopartículas, repetiu-se o estudo em solução de hexacianoferrato(III) de potássio para o eletrodo

de carbono vítreo limpo e modificado com as nanopartículas metálicas de Pt. Todos os parâmetros das medidas eletroquímicas, como, volume da suspensão adicionado à superfície do eletrodo, concentração das soluções, janela de potencial e velocidade de varredura foram os mesmos, para análise comparativa dos resultados.

O eletrodo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C apresentou aumento significativo no valor da corrente e também aumento da reversibilidade do processo redox do par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, diferentemente do resultado obtido com a modificação com NiSb/C, que apresentou resultados semelhantes à resposta do eletrodo de carbono vítreo limpo, conforme visualizado na Figura 7.

Figura 7 - Voltamograma cíclico obtido com o eletrodo não modificado (—) e modificado com uma adição de 10 μL das nanopartículas intermetálicas de NiSb/C (—) e metálicas de Pt/C (—) em solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 0,010 mol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} , $\nu = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial de -0,2 V a 0,6 V vs ECS.

Diferentemente do eletrodo modificado com NiSb/C, tanto o eletrodo de carbono vítreo limpo quanto o modificado com nanopartículas de Pt/C não apresentaram adsorção de material em suas superfícies, o que pode ser comprovado pela Figura 8.

Figura 8 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo não modificado (a) e modificado com a suspensão de Pt/C em KCl 0,5 mol L⁻¹, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ e janela de potencial de -0,5 V e 1,0 V, antes (—) e após (—) a exposição à solução de hexacianoferrato(III) de potássio.

Devido a adsorção de material na superfície do eletrodo modificado com NiSb/C e sua contaminação, optou-se pela continuação dos estudos apenas com a nanopartícula de Pt/C no desenvolvimento de um sensor eletroquímico para cloridrato de tetraciclina.

5.2 Determinação da área ativa do eletrodo

A área geométrica do eletrodo de carbono vítreo foi cuidadosamente determinada através de medição com paquímetro, onde se determinou o diâmetro de 0,3 cm, e área superficial de 0,0707 cm². A determinação da área eletroativa do eletrodo modificado com a suspensão de Pt/C em DMF foi realizada através de medidas realizadas pela técnica de cronoamperometria. Estudou-se o efeito da quantidade de material na superfície do eletrodo através da adição de 10 μL da mesma sobre a superfície do eletrodo.

A cada modificação superficial, utilizou-se a técnica de voltametria cíclica e uma solução de KCl 0,5 mol L⁻¹ como eletrólito de suporte para determinação da possível adsorção de material na superfície do eletrodo modificado com a suspensão de nanopartículas após a utilização do mesmo em solução de K₃[Fe(CN)₆] 0,010 mol L⁻¹ em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹.

Na solução de hexacianoferrato(III) de potássio o eletrodo foi submetido à análise de voltamétrica em janela de potencial de -0,2 V a 0,6 V vs ECS, velocidade

de varredura 25 mV s^{-1} e 25 ciclos para determinação da variação da corrente entre os picos anódicos e catódicos.

Também utilizando a solução de hexacianoferrato(III) de potássio, pode-se determinar a área eletroativa do eletrodo modificado utilizando a cronoamperometria como técnica voltamétrica. Estabeleceu-se os seguintes parâmetros, pulso de $-0,1 \text{ V}$ a $0,5 \text{ V}$, com duração de 1 segundo.

Conforme exibido pela Figura 9, o aumento do número de adições de $10 \mu\text{L}$ da suspensão de nanopartículas metálicas de Pt/C sobre a superfície do eletrodo, favoreceu o incremento da corrente quando realizada a voltametria cíclica em solução de hexacianoferrato(III) de potássio, com exceção da modificação com 7 adições.

Figura 9 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo não modificado e modificado com a suspensão de Pt/C em $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $0,010 \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV.s}^{-1}$, e janela de potencial de $-0,2 \text{ V}$ e $0,6 \text{ V}$.

Além do incremento de corrente, a modificação com as nanopartículas de Pt/C favoreceu o aumento da reversibilidade do processo redox, que apresentava um valor de $\Delta E_p = 0,178 \text{ V}$ para o eletrodo de carbono vítreo, e o menor valor obtido foi para o eletrodo modificado com 4 adições de $10 \mu\text{L}$, onde o $\Delta E_p = 0,081 \text{ V}$. Os dados de corrente de pico anódico e catódico, assim como seus respectivos potenciais de pico podem ser melhor observados na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores de corrente, potencial dos picos anódicos e catódicos e ΔE_p do estudo da área eletroativa do eletrodo de carbono vítreo não modificado e modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C em $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,010 mol L⁻¹ em solução de KCl 0,5 mol L⁻¹.

Modificação	$I_{pa} / \mu A$	$I_{pc} / \mu A$	E_{pa} / V vs. SCE	E_{pc} / V vs. SCE	$\Delta E_p / V$
Carbono vítreo não modificado	37,97	-58,87	0,293	0,115	0,178
1 x 10 μL	82,17	-102,47	0,253	0,155	0,098
2 x 10 μL	119,67	-145,00	0,248	0,165	0,083
3 x 10 μL	140,61	-171,58	0,252	0,168	0,084
4 x 10 μL	154,59	-187,45	0,249	0,168	0,081
5 x 10 μL	161,00	-194,65	0,251	0,167	0,084
6 x 10 μL	187,40	-217,85	0,237	0,137	0,100
7 x 10 μL	131,13	-165,76	0,287	0,135	0,152

Os dados da cronoamperometria foram analisados através da Equação de Cottrell¹⁰⁵ descrita abaixo:

$$I = \frac{n F A C_o \sqrt{D_o}}{\sqrt{\pi} \sqrt{t}} \quad (1)$$

onde A é a área eletroativa do eletrodo, I o valor da corrente, t o tempo e os valores de n (número de elétrons envolvidos no processo), F (constante de Faraday), $\sqrt{\pi}$, $\sqrt{D_o}$ (constante de difusão para espécies eletroativas) são constantes e C_o (concentração de espécies eletroativas) um valor semelhante em todas as medidas, onde buscou-se sempre utilizar valores próximos e a mesma solução de KCl para evitar interferentes externos à medida.

Sendo o número de elétrons envolvidos no processo igual a 1, a constante de Faraday 96485 C mol⁻¹, e o coeficiente de difusão para espécies eletroativas (D_o) do hexacianoferrato(III) de potássio em KCl 0,5 mol L⁻¹ igual a 7,70 x 10⁻⁶ cm² s⁻¹ ^{106,107}.

Rearranjando a Equação (1) buscando o valor de A, temos:

$$A = \frac{I \sqrt{t} \sqrt{\pi}}{n F \sqrt{D_o} C_o} \quad (2)$$

e sabendo que

$$\theta = I \sqrt{t} \quad (3)$$

onde θ é o coeficiente angular do cronoamperograma de I (corrente) vs $1/\sqrt{t}$ (inverso da raiz quadrada do tempo), temos que:

$$A = \frac{\theta \sqrt{\pi}}{n F \sqrt{D_o} C_o} \quad (4)$$

Os cronoamperogramas das medidas eletroquímicas com os eletrodos modificados superficialmente com adições (entre 1 e 7) de 10 μL da suspensão de Pt/C e do eletrodo sem modificação são exibidos na Figura 10.

Figura 10 - Cronoamperogramas do eletrodo não modificado (■) e modificado com o seguinte número de adições de 10 μL da suspensão de Pt/C, uma (■), duas (■), três (■), quatro (■), cinco (■), seis (■) e sete (■). Medidas cronoamperométricas realizadas em $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 0,010 mol L^{-1} e KCl 0,5 mol L^{-1} , duração de 1 s, intervalo de tempo menor que 0,1 s e janela de potencial de -0,1 V e 0,5 V.

Os valores de θ obtidos a partir dos cronoamperogramas estão expostos na Tabela 6, assim como os valores das respectivas áreas eletroativas calculadas a partir da Equação (4) para cada modificação superficial do eletrodo de carbono vítreo, assim como para o eletrodo não modificado.

Tabela 6 - Valores de θ , coeficiente angular da reta, e área eletroativa em cm^2 , calculada a partir da Equação de Cottrell rearranjada conforme descrito na Equação (4), do eletrodo de carbono vítreo não modificado e modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C.

Eletrodo	θ ($\text{mA s}^{1/2}$)	A (cm^2)
Carbono vítreo	5,3880E-05	0,0357
1 x 10 μL	1,7148E-04	0,1133
2 x 10 μL	2,5402E-04	0,1683
3 x 10 μL	4,2383E-04	0,2812
4 x 10 μL	4,9725E-04	0,3289
5 x 10 μL	5,9405E-04	0,3936
6 x 10 μL	5,0590E-04	0,3341
7 x 10 μL	2,4939E-04	0,1657

Através dos cronoamperogramas pode-se observar um incremento no valor de θ até a adição de 50 μL da suspensão de Pt/C à superfície do eletrodo, tendo então para as adições de 60 e 70 μL apresentado comportamento inverso. O valor da área eletroativa para cada modificação está diretamente relacionado ao valor de θ e os valores de área eletroativa obtidos podem ser observados na Tabela 6 e na Figura 11.

Figura 11 - Valores da área eletroativa em cm^2 para o eletrodo de carbono vítreo não modificado e modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C.

De acordo com os dados expostos na Tabela 6, o eletrodo modificado com volume total de 50 μL da suspensão de Pt/C atingiu área eletroativa de $0,3936\text{ cm}^2$. Este valor corresponde a aproximadamente dez vezes mais que o obtido para o eletrodo não modificado ($0,0357\text{ cm}^2$) que possui área geométrica de $0,0707\text{ cm}^2$, conforme previamente determinado por medição com paquímetro.

Este aumento da área superficial pode ser atribuído as nanopartículas⁴⁸, sendo esta característica um dos principais atrativos deste material. Sendo assim, a modificação com 50 μL a escolhida para continuação do desenvolvimento do sensor voltamétrico para cloridrato de tetraciclina.

5.3 Estudo da velocidade de varredura em solução de hexacianoferrato(III) de potássio $0,10\text{ mol L}^{-1}$

Estudou-se o efeito da velocidade de varredura de potenciais, variando-a de 5 a 175 mV s^{-1} , sobre a resposta voltamétrica do eletrodo modificado com cinco adições da suspensão da nanopartícula metálica de Pt/C em uma solução de hexacianoferrato(III) de potássio $0,10\text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50\text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos estão apresentados na Figura 12.

Figura 12 - Estudo da influência da velocidade de varredura sobre o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C em $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $0,1\text{ mol L}^{-1}$ em KCl $0,50\text{ mol L}^{-1}$, janela de potencial de $-0,2$ a $0,6\text{ V}$.

Verificou-se a partir dos voltamogramas cíclicos que com o aumento da velocidade de varredura, há uma maior separação dos picos de oxidação e redução, caracterizando um valor de ΔE_p maior. A Tabela 7 exhibe os valores de correntes de pico anódico e catódico, assim como os potenciais e o respectivo ΔE_p para cada velocidade de varredura estudada.

Tabela 7 - Valores de corrente e potencial de pico anódico e catódico, do estudo da velocidade de varredura do eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 0,1 mol L⁻¹ em KCl 0,50 mol L⁻¹.

v	$I_{pa} / \mu A$	$I_{pc} / \mu A$	$E_{pa} / V \text{ vs. SCE}$	$E_{pc} / V \text{ vs. SCE}$	$\Delta E_p / V$
5	58,2	-107,8	0,257	0,145	0,112
10	90,6	-142,7	0,265	0,134	0,131
15	120,2	-163,1	0,278	0,125	0,153
25	159,8	-187,2	0,292	0,116	0,176
50	209,2	-237,8	0,310	0,103	0,207
75	246,5	-275,4	0,328	0,080	0,248
100	275,8	-308,8	0,332	0,055	0,277
125	306,8	-335,7	0,359	0,037	0,322
150	332,6	-362	0,395	0,019	0,376
175	359,0	-386,8	0,420	0,001	0,419

A partir dos dados exibidos na Tabela 7, pode-se realizar o estudo do mecanismo de transferência eletrônica, através do logaritmo dos valores de correntes de pico anódico em função do logaritmo das velocidades de varredura, conforme exibido na Figura 13.

Figura 13 - Representação do processo de transferência eletrônica através do logaritmo da corrente (A) do pico anódico vs o logaritmo da velocidade de varredura ($V s^{-1}$).

O processo adsorptivo está ligado a reações que ocorrem na superfície do eletrodo e o processo difusional ao transporte de massa através do gradiente de concentração das espécies eletroativas presentes na solução e próxima a superfície do eletrodo modificado, já que o uso do eletrólito de suporte com concentração muito maior que a do analito e a minimização do distúrbio mecânico à solução praticamente anulam o transporte por migração e convectivo respectivamente.¹⁰⁸

Para processos do tipo adsorptivo o valor do coeficiente angular θ apresenta valor próximo a 1, enquanto em processos difusionais o coeficiente apresenta valor próximo a 0,5. O valor obtido através do gráfico de $\log I$ vs. $\log v$ para o eletrodo modificado com nanopartículas de Pt/C foi de $\theta = 0,488$, valor que caracteriza o processo como difusional, para todas as velocidades de varredura estudadas.

O aumento da área superficial causado pela modificação do eletrodo com as nanopartículas coopera para que o processo de transferência eletrônica dependa exclusivamente do transporte de massa à superfície do eletrodo independente da velocidade de varredura.

5.4 Influência do pH sobre a janela de potencial

Estudou-se a influência do pH sobre o material depositado na superfície do eletrodo de carbono vítreo, através de voltametria cíclica em solução de tampão universal, janela de potencial -0,5 V a +1,5 V vs ECS, velocidade de varredura 25 mV s^{-1} e faixa de pH entre 1 e 10, variando uma unidade de pH a cada medida.

Utilizou-se o eletrodo modificado com 50 μL da suspensão de Pt/C, conduzindo os testes voltamétricos nas soluções de pH mais ácidos, até pH mais básicos.

A Figura 14 expõe os resultados obtidos para o eletrodo modificado com as nanopartículas metálicas de Pt/C, mostrando para cada pH a faixa de potencial onde a corrente não sofre alterações por processos eletroquímicos, como por exemplo da reação de redução do oxigênio.

Figura 14 - Faixa de potencial livre de processos eletroquímicos interferentes entre os pH 1,0 e 10,0 por voltametria cíclica para o eletrodo modificado com cinco adições da suspensão de Pt/C em tampão universal, janela de potencial de -0,5 V e 1,0 V e $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.

De acordo com os resultados obtidos, o eletrodo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C apresentou maior faixa de trabalho sem processos de oxidação e redução que causariam interferência no sinal de resposta do cloridrato de tetraciclina para pH 5,0 e 6,0, cuja janela de trabalho compreende o intervalo de aproximadamente -0,5 V até valores próximos a +0,8 V.

5.5 Resposta do eletrodo modificado com Pt/C para cloridrato de tetraciclina

5.5.1 Voltametria cíclica

O primeiro teste com o analito cloridrato de tetraciclina foi realizado em solução de tampão universal pH 6,0.

Preparou-se uma solução de tetraciclina de concentração 10 mmol L^{-1} que foi adicionada à célula eletroquímica, fazendo com que a concentração na mesma variasse entre $5,05 \times 10^{-6}$ e $1,65 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Conforme voltamograma cíclico exibido na Figura 15, não se observou picos referentes à oxidação da tetraciclina na faixa de concentração estudada, sendo observado um pico de redução que pode ser atribuído à alguma reação do tampão catalisada pela Pt.

Figura 15 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado com cinco adições da suspensão de Pt/C em tampão universal, pH 6,0, janela de potencial de -0,2 V e 0,6 V, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ e concentração de tetraciclina variando entre $5,05 \times 10^{-6}$ e $1,65 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Novos testes foram realizados utilizando como eletrólito de suporte o tampão fosfato, onde a tetraciclina apresentava resposta voltamétrica em pH mais ácidos.^{85,91}

Mantendo fixos os parâmetros de janela de potencial, velocidade de varredura e concentração da solução padrão de tetraciclina, adicionaram-se os mesmos volumes à célula eletroquímica, mantendo a faixa de concentração entre $5,05 \times 10^{-6}$ e $1,65 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

Ao contrário do obtido para o tampão anterior, foi possível observar resposta voltamétrica do analito a partir da primeira adição, com a presença de dois picos de oxidação, próximos a 0,95 V e 1,15 V vs ECS. Os picos de oxidação apresentaram-se definidos até concentrações próximas a $1,25 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, não sendo possível separá-los acima dessas concentrações, conforme visualizado na Figura 16.

Figura 16 - Resposta voltamétrica da TTC em tampão fosfato, pH 2,45, janela de potencial de 0,6 V a 1,2 V e $\nu = 25$ mV s⁻¹, para o eletrodo modificado com Pt/C nas seguintes concentrações do analito: (a) branco, (b) $1,01 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (c) $3,52 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, (d) $1,83 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ e (e) $1,25 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

5.5.2 Voltametria de pulso diferencial

Por se tratar de uma técnica mais sensível¹⁰⁹, realizou-se a medida em voltametria de pulso diferencial para as mesmas condições da voltametria cíclica buscando respostas para concentrações menores que $5,05 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Realizou-se o teste para amplitudes 50 e 100 mV e velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .

Entretanto, conforme exibido na Figura 17, só foi possível visualizar os picos de oxidação da TTC a partir de concentrações acima de $3,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, concentração essa quase 100 vezes maior que o obtido por voltametria cíclica.

Figura 17 - Voltametria de pulso diferencial da TTC em tampão fosfato, pH 2,45, janela de potencial de 0,75 V e 1,2 V, amplitude de pulso 50 mV s^{-1} e $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, do eletrodo modificado com Pt/C nas seguintes concentrações: (a) $1,84 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, (b) $4,21 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) $8,63 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Comparou-se então a resposta das duas técnicas voltamétricas, a voltametria de pulso diferencial e a voltametria cíclica, empregadas na determinação do cloridrato de tetraciclina.

Manteve-se o mesmo eletrólito de suporte, assim como a quantidade de analito adicionado à célula eletroquímica. Para a voltametria cíclica utilizou-se a velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} e a janela de potencial de 0,6 V a 1,2 V vs ECS. No caso da voltametria de pulso diferencial, empregou-se uma janela de 0,75

V a 1,2 V vs ECS, velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} e amplitude de pulso igual a 0,50 V. A comparação gráfica das duas técnicas pode ser visualizada na Figura 18.

Figura 18 - Comparativo da resposta eletroquímica entre as técnicas voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial do eletrodo modificado com Pt/C em tampão fosfato, pH 2,45 e concentração de TTC $2,27 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Janela de potencial de 0,6 V e 1,2 V e $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ para a voltametria cíclica. Janela de potencial de 0,75 V a 1,2 V, amplitude de pulso 0,05 V e $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ para a voltametria de pulso diferencial.

A partir do observado no gráfico exibido na Figura 18, determinou-se que a voltametria cíclica foi a técnica com maior sensibilidade ao analito, permitindo a determinação do mesmo em concentrações mais baixas, contrariando a ideia já citada no início deste tópico. Por esta razão, utilizou-se então a voltametria cíclica como técnica voltamétrica na determinação da TTC.

5.6 Influência do pH e a oxidação do cloridrato de tetraciclina

Foi então realizado o estudo do efeito da concentração hidrogeniônica sobre a resposta voltamétrica, em relação à intensidade de corrente e definição dos picos redox, do cloridrato de tetraciclina no eletrodo modificado com a nanopartícula de Pt/C.

A dependência do pH foi avaliada por medidas de voltametria cíclica em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, no intervalo de pH entre 1 e 7. Foi utilizada a mesma concentração de tetraciclina ($6,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) para todas as medidas, e velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .

Com o aumento do pH, ambos os picos de oxidação são deslocados para potenciais menores conforme representado na Figura 19.

Figura 19 - Relação entre o potencial de pico na voltametria cíclica para os picos de oxidação da TTC ($6,02 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e pH, em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

O potencial de oxidação do primeiro pico apresentou apenas uma região linear, cuja relação é representada pela Equação (5):

$$E_p = 1092,0 \text{ mV} - 0,060 \text{ pH}, \text{ onde } R = 0,996 \text{ e } n = 13 \quad (5)$$

Já para o potencial de oxidação do segundo pico, há duas regiões lineares, no intervalo entre pH 2,0 e pH 4,0 representada pela Equação (6) e de pH 4,0 a pH 7,0 representada pela Equação (7):

$$E_p = 1174,6 \text{ mV} - 0,029 \text{ pH}, \text{ onde } R = 0,973 \text{ e } n = 4 \quad (6)$$

$$E_p = 1354,3 \text{ mV} - 0,071 \text{ pH}, \text{ onde } R = 0,996 \text{ e } n = 7. \quad (7)$$

A inclinação das retas representadas pelas Equações (5) e (7) mostra deslocamentos de potencial de pico anódico próximos a 59 mV por unidade de pH, sugerindo um mecanismo de oxidação que envolve o mesmo número de elétrons e prótons.

Para a Equação (6), a inclinação da reta apresenta mudanças no mecanismo de oxidação já que seu valor próximo a 29 mV pH⁻¹ sugere que para cada próton envolvido no mecanismo, há dois elétrons envolvidos (1H⁺/2e⁻).

Para os pH 1,0 e 1,5, houve incremento de corrente com o aumento da concentração do analito, porém os picos eram pouco definidos. Na faixa de pH entre 2,0 e 7,0 houve incremento de corrente e os picos eram definidos, porém com o aumento do pH, só havia resposta voltamétrica em concentrações maiores.

Na faixa de pH acima de 4,0 ocorreu o surgimento de um precipitado branco na solução de TTC 1,0 x 10⁻² mol L⁻¹. Isso pode ser atribuído à baixa estabilidade das tetraciclinas em pH mais elevado⁸⁶ devido a rápida reação com radicais hidroxila.⁸²

Dentre a faixa de melhor resposta (pH entre 2,0 e 3,5), foi escolhido a solução de pH 3,0, pois foi a que apresentou melhor definição dos picos até valores maiores de concentração, onde a resposta não foi tão eficiente dentre os outros pH estudados.

O comportamento eletroquímico da TTC pode ser atribuído ao fato que para pH mais ácidos, o analito encontra-se protonado. A maior probabilidade é que a protonação ocorra no nitrogênio do grupamento amínico, já que este é menos básico que o nitrogênio do grupamento amídico, ambos grupamentos no anel aromático D, conforme representação da molécula protonada indicada na Figura 20.

Figura 20 - Representação estrutural da TTC protonada.

Conforme mencionado anteriormente neste trabalho, a oxidação da tetraciclina acontece no grupamento fenol^{72,73}, presente no anel aromático A, conforme representado na Figura 20.

A partir dos dados disponíveis na literatura, assume-se que a oxidação da tetraciclina aconteça em duas etapas. Primeiramente, o anel aromático A sofre uma reação de hidroxilação¹¹⁰⁻¹¹², seguida da oxidação das hidroxilas formando uma benzoquinona¹¹³. A adição da hidroxila pode ocorrer em duas posições no anel aromático, na posição orto e na posição para. Isso devido à presença do grupo hidroxila na estrutura da tetraciclina, que é considerado um grupamento altamente ativador.¹¹³

Figura 21 - Representação esquemática da oxidação da tetraciclina protonada.

O mecanismo proposto para a oxidação entre a espécie que já sofreu hidroxilação (hidroquinona) e o produto final (benzoquinona) é descrito na Figura 22.

Figura 22 - Representação esquemática do mecanismo de oxidação do intermediário formado pela hidroxilação da tetraciclina e os possíveis produtos obtidos.

5.7 Curva analítica para a determinação de TTC por voltametria cíclica

Após a determinação do eletrólito de suporte e do melhor pH para determinação da TTC com o eletrodo modificado com Pt/C pela técnica de voltametria cíclica, foram realizados testes adicionando diferentes volumes de um padrão $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de TTC variando a concentração de analito da célula eletroquímica entre $5,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $1,63 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A resposta voltamétrica do eletrodo modificado ao cloridrato de tetraciclina em solução de tampão fosfato, pH 3,0 pode ser observada na Figura 23.

Figura 23 - Voltamogramas cíclicos da adição de TTC em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,0, faixa de concentração entre $5,05 \times 10^{-6}$ e $1,65 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$, janela de potencial 0,6 V a 1,2 V.

Para obtenção da curva analítica para a TTC, apesar da resposta voltamétrica até concentrações na faixa de $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, optou-se por trabalhar com uma faixa de concentração menor, na escala de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, preparando-se então um padrão $1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de TTC e realizando adições sucessivas de $10 \mu\text{L}$, sendo possível observar a resposta voltamétrica na Figura 24.

Figura 24 - Voltamogramas cíclicos da adição de TTC em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 3,0, faixa de concentração entre $9,99 \times 10^{-6}$ e $70,75 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, $v = 25$ mV s⁻¹, janela de potencial 0,6 V a 1,2 V.

A partir dos voltamogramas exibidos na Figura 24, pode-se construir a curva analítica para a TTC exibida na Figura 25.

Figura 25 - Curva analítica obtida através dos voltamogramas cíclicos da adição de TTC em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 3,0, faixa de concentração entre $9,99 \times 10^{-6}$ e $70,75 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, $v = 25$ mV s⁻¹, janela de potencial 0,6 V a 1,2 V.

Através da curva analítica exibida na Figura 25, pode-se determinar parâmetros como a região linear de trabalho, o limite de detecção, expresso pela Equação 8¹¹⁴, e o limite de quantificação (LOQ) do eletrodo, conforme Equação 9¹¹⁴. Um resumo destes dados pode ser observado na Tabela 8.

$$LOD = \frac{3 \sigma}{b} \quad (8)$$

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{b} \quad (9)$$

Tabela 8 - Resultados obtidos pelo eletrodo de carbono vítreo modificado com Pt/C sobre a TTC em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹.

	Pico de oxidação	
	1º Pico	2º Pico
Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$	9,99 - 44,01	9,99 - 44,01
LOD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	4,28	6,12
LOQ / $\mu\text{mol L}^{-1}$	14,26	20,40
Sensibilidade / $\mu\text{A L } (\mu\text{mol})^{-1}$	1,268	1,589

O eletrodo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C apresentou valores satisfatórios de LOD e LOQ, assim como uma faixa de trabalho linear que permite a determinação de baixas concentrações do analito em uma amostra.

5.8 Aplicação do eletrodo em uma amostra de urina sintética

Após definição das condições experimentais para determinação de TTC utilizando o eletrodo modificado com nanopartículas metálicas de Pt/C, buscou-se aplicar o eletrodo em uma amostra de urina sintética produzida conforme exposto no procedimento experimental deste trabalho.

A urina produzida foi intencionalmente contaminada com o analito em questão e então pode-se determinar a concentração presente na matriz contaminada através da técnica de adição de padrão, onde se adicionou alíquotas de um padrão $4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Preparou-se uma matriz contaminada com TTC $4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e então adicionou-se 100 μL da mesma ao eletrólito de suporte usado nas medidas voltamétricas. Com isso, a solução apresentava concentração de contaminante igual a $19,90 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. O padrão preparado ($4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) foi adicionado em alíquotas de 20 μL e todas as medidas foram conduzidas sob atmosfera de $\text{N}_{2(g)}$. A Figura 26 apresenta os voltamogramas cíclicos resultantes do método de adição de padrão utilizado para determinação do cloridrato de tetraciclina.

Figura 26 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado com nanopartículas de Pt/C para determinação de TTC, onde (- -) corresponde ao branco, (—) à amostra “desconhecida” e (—) às soluções contendo a matriz e os seguintes volumes (20, 40, 60 e 80 μL) de padrão $4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A partir dos dados de corrente obtidos na Figura 26, pode-se construir o gráfico exposto na Figura 27, onde é possível determinar a concentração da amostra “desconhecida” a partir do método de adição de padrão. Para construção do gráfico, utilizou-se os valores de corrente obtidos a partir do primeiro pico de oxidação da TTC, pois o mesmo apresentou menor valor de limite de quantificação.

Figura 27 - Gráfico de adição de padrão construído a partir dos valores de corrente do primeiro pico de oxidação da TTC.

A aplicação do eletrodo ocorreu em forma de triplicata e o valor da concentração da amostra “desconhecida” e o valor médio detectado pelo eletrodo modificado com nanopartículas de Pt/C podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores de concentração da amostra “desconhecida” e determinado pelo eletrodo.

Analito	Concentração adicionada à urina sintética ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Concentração média determinada pelo eletrodo modificado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Desvio padrão	Recuperação (%)
TTC	19,90	20,42	0,145	102,6

Como é possível observar na Tabela 9, o eletrodo modificado com Pt/C apresentou viabilidade como sensor para TTC, alcançando valores satisfatórios quando utilizado na detecção e quantificação do analito em uma amostra de urina sintética.

6 CONCLUSÃO

O eletrodo de carbono vítreo modificado superficialmente com as nanopartículas intermetálicas de NiSb/C apresentou adsorção de compostos em sua superfície, o que inviabilizou estudos mais profundos sobre sua utilização como sensor eletroquímico.

Já os resultados experimentais obtidos para o eletrodo de carbono vítreo modificado com as nanopartículas metálicas de Pt se mostraram promissores na confecção de um sensor voltamétrico para determinação de tetraciclina. A modificação superficial do eletrodo com nanopartículas provocou um aumento considerável na área superficial eletroativa do eletrodo, que sem a modificação não apresenta resposta voltamétrica ao analito em questão. Após estudos voltamétricos e amperométricos, determinou-se a adição de 50 μL da suspensão modificadora sobre a superfície do eletrodo limpo como o melhor resultado, considerando a área eletroativa como parâmetro.

Após a otimização dos parâmetros experimentais do eletrodo sobre o cloridrato de tetraciclina, determinou-se o tampão fosfato 0,10 mol L^{-1} em pH 3,0 como eletrólito de trabalho e a voltametria cíclica como técnica para determinação do analito. As melhores condições experimentais selecionadas para determinação do analito através das medidas voltamétricas foram: janela de trabalho de 0,6 a 1,2 V vs ECS e velocidade de varredura igual a 25 mV s^{-1} .

O cloridrato de tetraciclina apresentou dois picos de oxidação que se mostraram processos irreversíveis e apesar de ambos apresentarem linearidade na faixa entre 9,99 e 44,01 $\mu\text{mol L}^{-1}$, escolheu-se utilizar apenas o primeiro pico de oxidação na quantificação do analito, pois o mesmo apresentou menores valores de limite de detecção, 4,28 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e limite de quantificação, 14,26 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A aplicação do eletrodo modificado em uma amostra de urina sintética intencionalmente contaminada com o analito estudado foi bem sucedida, obtendo-se resultados satisfatórios na quantificação do mesmo.

Em virtude de sua sensibilidade, estabilidade, simplicidade de trabalho e baixo custo de construção, o sensor construído com nanopartículas metálicas de Pt/C foi altamente eficiente na determinação do analito estudado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006.
- [2] PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1012-1021, 2002.
- [3] YANG, H.; CHUNG, T. D.; KIM, Y. T.; CHOI, C. A.; JUN, C. H.; KIM, H. C. Glucose sensor using a microfabricated electrode and electropolymerized bilayer films. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 17, n. 3, p. 251-259, 2002.
- [4] COX, J. A.; JAWORSKI, R. K.; KULESZA, P. J. Eletroanalysis with electrodes modified by organic films. **Electroanalysis**, v. 3, p. 869-877, 1991.
- [5] ZEN, J.-M.; KUMAR, A. S.; TSAI, D.-M. Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry. **Electroanalysis**, v. 15, n. 13, p. 1073-1087, 2003.
- [6] CHEN, A. C.; CHATTERJEE, S. Nanomaterials based electrochemical sensors for biomedical applications. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 12, p. 5425-5438, 2013.
- [7] PEREIRA-MAIA, E. C.; SILVA, P. P.; ALMEIDA, W. B. D.; SANTOS, H. F. D.; MARCIAL, B. L.; RUGGIERO, R.; GUERRA, W. Tetraciclinas e gliciliclinas: uma visão geral. **Química Nova**, v. 33, n. p. 700-706, 2010.
- [8] STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical sensors: A powerful tool in analytical chemistry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 159-173, 2003.
- [9] COX, J. A.; TESS, M. E.; CUMMINGS, T. E. Electroanalytical methods based on modified electrodes: A review of recent advances. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 173-223, 1996.
- [10] ROSATTO, S. S.; FREIRE, R. S.; DURAN, N.; KUBOTA, L. T. Amperometric biosensors for phenolic compounds determination in the environmental interest samples. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 77-86, 2001.
- [11] WANG, J. Modified electrodes for electrochemical sensors. **Electroanalysis**, v. 3, n. 4-5, p. 255-259, 1991.
- [12] KALCHER, K.; KAUFFMANN, J. M.; WANG, J.; ŠVANCARA, I.; VYTRÁS, K.; NEUHOLD, C.; YANG, Z. Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: A review with particular emphasis on the period 1990–1993. **Electroanalysis**, v. 7, n. 1, p. 5-22, 1995.

- [13] JANEGITZ, B. C.; FIGUEIREDO, L. C. S.; VICENTINI, F. C.; RIBEIRO, M. F. M.; SUAREZ, W. T.; FATIBELLO, O.; METTERS, J. P.; BANKS, C. E. Development of a carbon nanotube paste electrode modified with zinc phosphate for captopril determination in pharmaceutical and biological samples. **Analytical Methods**, v. 6, n. 5, p. 1324-1329, 2014.
- [14] IBRAHIM, M. A. Electrochemical oxidation of methanol at Pt modified electrode in carbonate solution. **Journal of Fuel Cell Science and Technology**, v. 11, n. 2, p. 021006, 2013.
- [15] MASEK, A.; CHRZESCIJANSKA, E.; ZABORSKI, M. Electrooxidation of morin hydrate at a Pt electrode studied by cyclic voltammetry. **Food Chemistry**, v. 148, n. p. 18-23, 2014.
- [16] FREIRE, R. S.; KUBOTA, L. T. Application of self-assembled monolayer-based electrode for voltammetric determination of copper. **Electrochimica Acta**, v. 49, n. 22-23, p. 3795-3800, 2004.
- [17] POSSARI, R.; CARVALHAL, R. F.; MENDES, R. K.; KUBOTA, L. T. Electrochemical detection of cysteine in a flow system based on reductive desorption of thiols from gold. **Analytica Chimica Acta**, v. 575, n. 2, p. 172-179, 2006.
- [18] FIGUEIREDO, L. C. S.; SILVA, T. A.; VICENTINI, F. C.; FATIBELLO, O. Simultaneous voltammetric determination of dopamine and epinephrine in human body fluid samples using a glassy carbon electrode modified with nickel oxide nanoparticles and carbon nanotubes within a dihexadecylphosphate film. **Analyst**, v. 139, n. 11, p. 2842-2849, 2014.
- [19] ZHANG, L.; YUAN, S. M.; LU, X. J. Amperometric nonenzymatic glucose sensor based on a glassy carbon electrode modified with a nanocomposite made from nickel(II) hydroxide nanoplates and carbon nanofibers. **Microchimica Acta**, v. 181, n. 3-4, p. 365-372, 2014.
- [20] ZHOU, X. B.; HE, Z. F.; LIAN, Q. W.; LI, Z.; JIANG, H.; LU, X. Q. Simultaneous determination of dihydroxybenzene isomers based on graphene-graphene oxide nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 193, p. 198-204, 2014.
- [21] DE AZEVEDO, L. F. M.; TREVISAN, M. G.; GARCIA, J. S.; LUCHO, A. M. S. Electrochemical oxidation, adsorption and quantification of 1,2-benzopyrone employing a glassy carbon electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 3, p. 469-477, 2014.
- [22] ARAUJO, E. G.; DOS SANTOS, A. J.; DA SILVA, D. R.; SALAZAR, R.; MARTINEZ-HUITLE, C. A. Cysteic acid-modified glassy carbon electrode for monitoring oxalic acid (OA) concentration during its electrochemical oxidation at Ti/Pt anode. **Electroanalysis**, v. 26, n. 4, p. 748-755, 2014.

- [23] MACHINI, W. B. S.; MARTIN, C. S.; MARTINEZ, M. T.; TEIXEIRA, S. R.; GOMES, H. M.; TEIXEIRA, M. F. S. Development of an electrochemical sensor based on nanostructured hausmannite-type manganese oxide for detection of sodium ions. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 181, p. 674-680, 2013.
- [24] LI, J. H.; LIU, J. L.; TAN, G. R.; JIANG, J. B.; PENG, S. J.; DENG, M.; QIAN, D.; FENG, Y. L.; LIU, Y. C. High-sensitivity paracetamol sensor based on Pd/graphene oxide nanocomposite as an enhanced electrochemical sensing platform. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 54, p. 468-475, 2014.
- [25] BASKAR, S.; CHANG, J.-L.; ZEN, J.-M. Simultaneous detection of NADH and H₂O₂ using flow injection analysis based on a bifunctional poly(thionine)-modified electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 33, n. 1, p. 95-99, 2012
- [26] DUTTA, R. R.; PUZARI, P. Amperometric biosensing of organophosphate and organocarbamate pesticides utilizing polypyrrole entrapped acetylcholinesterase electrode. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 52, p. 166-172, 2014.
- [27] CITTADINI, M.; BERSANI, M.; PERROZZI, F.; OTTAVIANO, L.; WLODARSKI, W.; MARTUCCI, A. Graphene oxide coupled with gold nanoparticles for localized surface plasmon resonance based gas sensor. **Carbon**, v. 69, p. 452-459, 2014.
- [28] YUAN, C. X.; FAN, Y. R.; TAO-ZHANG; GUO, H. X.; ZHANG, J. X.; WANG, Y. L.; SHAN, D. L.; LU, X. Q. A new electrochemical sensor of nitro aromatic compound based on three-dimensional porous Pt-Pd nanoparticles supported by graphene-multiwalled carbon nanotube composite. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 58, p. 85-91, 2014.
- [29] NEIVA, E. G. C.; BERGAMINI, M. F.; OLIVEIRA, M. M.; MARCOLINO, L. H.; ZARBIN, A. J. G. PVP-capped nickel nanoparticles: synthesis, characterization and utilization as a glycerol electrosensor. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 196, p. 574-581, 2014.
- [30] SUEMATSU, K.; SHIN, Y.; HUA, Z. Q.; YOSHIDA, K.; YUASA, M.; KIDA, T.; SHIMANO, K. Nanoparticle Cluster Gas Sensor: Controlled Clustering of SnO₂ Nanoparticles for Highly Sensitive Toluene Detection. **Acs Applied Materials & Interfaces**, v. 6, n. 7, p. 5319-5326, 2014.
- [31] KHONDOKER, M. A. H.; YANG, S. Y.; MUN, S. C.; KIM, J. Flexible and conductive ITO electrode made on cellulose film by spin-coating. **Synthetic Metals**, v. 162, n. 21-22, p. 1972-1976, 2012.
- [32] DAHMAN, H.; RABAOUI, S.; ALYAMANI, A.; EL MIR, L. Structural, morphological and optical properties of Cu₂SnS₃ thin film synthesized by spin coating technique. **Vacuum**, v. 101, p. 208-211, 2014.
- [33] MARTIN, C. S.; TEIXEIRA, M. F. S. A novel Mn-containing conducting metallopolymer obtained by electropolymerization in aqueous solution of a tetranuclear oxobridged manganese complex. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 27, p. 7133-7136, 2011.

- [34] HESS, E. H.; WARYO, T.; SADIK, O. A.; IWUOHA, E. I.; BAKER, P. G. L. Constitution of novel polyamic acid/polypyrrole composite films by in-situ electropolymerization. **Electrochimica Acta**, v. 128, p. 439-447, 2014.
- [35] GUIMARÃES, J. A.; FERRAZ, H. C.; ALVES, T. L. M. Langmuir–Blodgett films of cholesterol oxidase and S-layer proteins onto screen-printed electrodes. **Applied Surface Science**, v. 298, n. 0, p. 68-74, 2014.
- [36] RODRIGUES, D.; CAMILO, F. F.; CASELI, L. Cellulase and alcohol dehydrogenase immobilized in Langmuir and Langmuir-Blodgett films and their molecular-level effects upon contact with cellulose and ethanol. **Langmuir**, v. 30, n. 7, p. 1855-1863, 2014.
- [37] KARIM, M. N.; LEE, J. E.; LEE, H. J. Amperometric detection of catechol using tyrosinase modified electrodes enhanced by the layer-by-layer assembly of gold nanocubes and polyelectrolytes. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 61, p. 147-151, 2014.
- [38] SILVA, J. S.; DE BARROS, A.; CONSTANTINO, C. J. L.; SIMOES, F. R.; FERREIRA, M. Layer-by-layer films based on carbon nanotubes and polyaniline for detecting 2-chlorophenol. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 14, n. 9, p. 6586-6592, 2014.
- [39] VERICAT, C.; VELA, M. E.; BENITEZ, G.; CARRO, P.; SALVAREZZA, R. C. Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: new challenges for a well-known system. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 5, p. 1805-1834, 2010.
- [40] SHERVEDANI, R. K.; REZVANINIA, Z.; SABZYAN, H. and BOEINI, H. Z. Characterization of gold-thiol-8-hydroxyquinoline self-assembled monolayers for selective recognition of aluminum ion using voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 825, p. 34-41, 2014.
- [41] ZITTEL, H. E.; MILLER, F. J. A glassy-carbon electrode for voltammetry. **Analytical Chemistry**, v. 37, n. 2, p. 200-8, 1965.
- [42] CAVALHEIRO, É.; BRETT, C. A.; OLIVEIRA-BRETT, A.; FATIBELLO-FILHO, O. Bioelectroanalysis of pharmaceutical compounds. **Bioanalytical Reviews**, v. 4, n. 1, p. 31-53, 2012.
- [43] ANDRIEVSKI, R. A. Size-dependent effects in properties of nanostructured materials. **Reviews on Advanced Materials Science**, v. 21, n. 2, p. 107-133, 2009.
- [44] ZARBIN, A. J. G. Química de (nano)materiais. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1469-1479, 2007.
- [45] GLINCHUK, M. D.; KHIST, V. V.; ELISEEV, E. A.; MOROZOVSKA, A. N. Oxide nanomaterials with properties absent in bulk (Author Review). **Powder Metallurgy and Metal Ceramics**, v. 52, n. 1-2, p. 32-38, 2013.

- [46] EL-SAYED, M. A. Some interesting properties of metals confined in time and nanometer space of different shapes. **Accounts of Chemical Research**, v. 34, n. 4, p. 257-264, 2001.
- [47] BIJU, V.; ITOH, T.; ANAS, A.; SUJITH, A.; ISHIKAWA, M. Semiconductor quantum dots and metal nanoparticles: syntheses, optical properties, and biological applications. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 391, n. 7, p. 2469-2495, 2008.
- [48] CAMPBELL, F.; COMPTON, R. The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 1, p. 241-259, 2010.
- [49] HAICK, H. Chemical sensors based on molecularly modified metallic nanoparticles. **Journal of Physics D-Applied Physics**, v. 40, n. 23, p. 7173-7186, 2007.
- [50] OKAMOTO, H.; MASSALSKI, T. B. Binary alloy phase diagrams requiring further studies. **Journal of Phase Equilibria**, v. 15, n. 5, p. 500-521, 1994.
- [51] PINTO, L.M.C.; ÂNGELO, A.C.D. Caracterização cristalográfica das fases intermetálicas ordenadas Pt-M. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, v. 26, n. 2, p. 89-93, 2007.
- [52] ÂNGELO, A.C.D. Micro produção de energia elétrica: solução para o Brasil? **Jornal da Ciência**, Brasil, v. 2060, 2002. Disponível em: <<http://www.jornaldaciencia.org.br/Detailhe.jsp?id=3003>>. Acesso em: 09 jun. 2009.
- [53] PINTO, Leandro Moreira de Campos. **A teoria do funcional da densidade na caracterização de fases intermetálicas ordenadas**. 2009. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências, Bauru, 2009.
- [54] GARG, N.; MOHANTY, A.; LAZARUS, N.; SCHULTZ, L.; ROZZI, T. R.; SANTHANAM, S.; WEISS, L.; SNYDER, J. L.; FEDDER, G. K.; JIN, R. Robust gold nanoparticles stabilized by trithiol for application in chemiresistive sensors. **Nanotechnology**, v. 21, n. 40, p. 405501, 2010.
- [55] PENG, G.; TISCH, U.; ADAMS, O.; HAKIM, M.; SHEHADA, N.; BROZA, Y. Y.; BILLAN, S.; ABDAL-BORTNYAK, R.; KUTEN, A.; HAICK, H. Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles. **Nature Nanotechnology**, v. 4, n. 10, p. 669-673, 2009.
- [56] GIOVANNI, M.; PUMERA, M. Size dependant electrochemical behavior of silver nanoparticles with sizes of 10, 20, 40, 80 and 107 nm. **Electroanalysis**, v. 24, n. 3, p. 615-617, 2012.
- [57] CAMPBELL, F. W.; BELDING, S. R.; BARON, R.; XIAO, L.; COMPTON, R. G. Hydrogen peroxide electroreduction at a silver-nanoparticle array: investigating nanoparticle size and coverage effects. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 21, p. 9053-9062, 2009.

[58] HE, J. H.; GAO, Z. Q.; SONG, Z. R. Determination of ascorbic acid based on a platinum nanoparticles modified Au electrode. **Micro-Nano Technology Xiv, Pts 1-4**, v. 562-565, p. 813-816, 2013.

[59] MA, J. W.; GAGO, A. S.; ALONSO-VANTE, N. Performance study of platinum nanoparticles supported onto MWCNT in a formic acid microfluidic fuel cell system. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 160, n. 8, p. F859-F866, 2013.

[60] HUANG, J.; LIU, Y.; HOU, H.; YOU, T. Simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid and ascorbic acid using palladium nanoparticle-loaded carbon nanofibers modified electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, n. 4, p. 632-637, 2008.

[61] MALEKI, N.; SAFAVI, A.; FARJAMI, E.; TAJABADI, F. Palladium nanoparticle decorated carbon ionic liquid electrode for highly efficient electrocatalytic oxidation and determination of hydrazine. **Analytica Chimica Acta**, v. 611, n. 2, p. 151-155, 2008.

[62] STRADIOTTO, N. R.; TOGHILL, K. E.; XIAO, L.; MOSHAR, A.; COMPTON, R. G. The fabrication and characterization of a nickel nanoparticle modified boron doped diamond electrode for electrocatalysis of primary alcohol oxidation. **Electroanalysis**, v. 21, n. 24, p. 2627-2633, 2009.

[63] WANG, S.-F.; XIE, F.; HU, R.-F. Carbon-coated nickel magnetic nanoparticles modified electrodes as a sensor for determination of acetaminophen. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 123, n. 1, p. 495-500, 2007.

[64] WANG, Y.; WEI, W.; ZENG, J.; LIU, X.; ZENG, X. Fabrication of a copper nanoparticle/chitosan/carbon nanotube-modified glassy carbon electrode for electrochemical sensing of hydrogen peroxide and glucose. **Microchimica Acta**, v. 160, n. 1-2, p. 253-260, 2008.

[65] VALENTINI, F.; BIAGIOTTI, V.; LETE, C.; PALLESCHI, G.; WANG, J. The electrochemical detection of ammonia in drinking water based on multi-walled carbon nanotube/copper nanoparticle composite paste electrodes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 128, n. 1, p. 326-333, 2007.

[66] CHATRAEI, F.; ZARE, H. R. A comparative study of the electrochemical characteristics and simultaneous determination of dopamine, acetaminophen, and aspirin at a ruthenium oxide nanoparticles modified glassy carbon electrode versus a bare one. **Analytical Methods**, v. 4, n. 9, p. 2940-2947, 2012.

[67] KIM, Y. T.; TADAI, K.; MITANI, T. Highly dispersed ruthenium oxide nanoparticles on carboxylated carbon nanotubes for supercapacitor electrode materials. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 46, p. 4914-4921, 2005.

[68] NIRMALA GRACE, A.; PANDIAN, K. Pt, Pt-Pd and Pt-Pd/Ru nanoparticles entrapped polyaniline electrodes – A potent electrocatalyst towards the oxidation of glycerol. **Electrochemistry Communications**, v. 8, n. 8, p. 1340-1348, 2006.

- [69] LI, S. W.; YU, X. L.; ZHANG, G. J.; MA, Y.; YAO, J. N.; DE OLIVEIRA, P. Green synthesis of a Pt nanoparticle/polyoxometalate/carbon nanotube tri-component hybrid and its activity in the electrocatalysis of methanol oxidation. **Carbon**, v. 49, n. 6, p. 1906-1911, 2011.
- [70] LEAL, Rafael Marques Pereira. **Ocorrência e comportamento ambiental de resíduos de antibióticos de uso veterinário**. 2012. 134 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 2012.
- [71] DENOBILE, M.; NASCIMENTO, E. S. Validação de método para determinação de resíduos de antibióticos oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina e doxiciclina, em leite, por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 2, p. 209-218, 2004.
- [72] KAZEMIFARD, A. G.; MOORE, D. E. Evaluation of amperometric detection for the liquid-chromatographic determination of tetracycline antibiotics and their common contaminants in pharmaceutical formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 16, n. 4, p. 689-696, 1997.
- [73] CHATTEN, L. G.; FLEISCHMANN, M.; PLETCHER, D. Anodic-oxidation of some tetracyclines. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 407-413, 1979.
- [74] SUÁREZ, B.; SANTOS, B.; SIMONET, B. M.; CÁRDENAS, S.; VALCÁRCEL, M. Solid-phase extraction-capillary electrophoresis-mass spectrometry for the determination of tetracyclines residues in surface water by using carbon nanotubes as sorbent material. **Journal of Chromatography A**, v. 1175, n. 1, p. 127-132, 2007.
- [75] DENG, B.; XU, Q.; LU, H.; YE, L.; WANG, Y. Pharmacokinetics and residues of tetracycline in crucian carp muscle using capillary electrophoresis on-line coupled with electrochemiluminescence detection. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 2350-2354, 2012.
- [76] IBARRA, I. S.; RODRIGUEZ, J. A.; MIRANDA, J. M.; VEGA, M.; BARRADO, E. Magnetic solid phase extraction based on phenyl silica adsorbent for the determination of tetracyclines in milk samples by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 16, p. 2196-2202, 2011.
- [77] NEBOT, C.; GUARDDON, M.; SECO, F.; IGLESIAS, A.; MIRANDA, J. M.; FRANCO, C. M.; CEPEDA, A. Monitoring the presence of residues of tetracyclines in baby food samples by HPLC-MS/MS. **Food Control**, v. 46, n. 0, p. 495-501, 2014.
- [78] YANG, X.-Q.; YANG, C.-X.; YAN, X.-P. Zeolite imidazolate framework-8 as sorbent for on-line solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of tetracyclines in water and milk samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1304, p. 28-33, 2013.

- [79] TÖLGYESI, Á.; TÖLGYESI, L.; BÉKÉSI, K.; SHARMA, V. K.; FEKETE, J. Determination of tetracyclines in pig and other meat samples using liquid chromatography coupled with diode array and tandem mass spectrometric detectors. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1332-1339, 2014.
- [80] ZHOU, Q.; ZHANG, Y.; WANG, N.; ZHU, L.; TANG, H. Analysis of tetracyclines in chicken tissues and dung using LC–MS coupled with ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis. **Food Control**, v. 46, p. 324-331, 2014.
- [81] SIVAKESAVA, S.; IRUDAYARAJ, J. Rapid determination of tetracycline in milk by FT-MIR and FT-NIR spectroscopy. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 3, p. 487-493, 2002.
- [82] GHASEMI, J. B.; JALALVAND, A. R. Multi-wavelength spectrophotometric determination of the protolytic constants of tetracycline hydrochloride in some nonaqueous-water mixed solvents: A solvatochromism study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 78, n. 1, p. 277-286, 2011.
- [83] KUONG, C.-L.; YU, T.-J.; CHEN, Y.-C. Microwave-assisted sensing of tetracycline using europium-sensitized luminescence fibers as probes. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 395, n. 5, p. 1433-1439, 2009.
- [84] LIU, L.; CHEN, G.; FISHMAN, M. L. A single sorbent for tetracycline enrichment and subsequent solid-matrix time-resolved luminescence. **Analytica Chimica Acta**, v. 528, n. 2, p. 261-268, 2005.
- [85] HOU, W.; WANG, E. Liquid chromatographic determination of tetracycline antibiotics at an electrochemically pre-treated glassy carbon electrode. **Analyst**, v. 114, n. 6, p. 699-702, 1989.
- [86] NI, Y. N.; LI, S. Z.; KOKOT, S. Simultaneous voltammetric analysis of tetracycline antibiotics in foods. **Food Chemistry**, v. 124, n. 3, p. 1157-1163, 2011.
- [87] GUO, G. P.; ZHAO, F. Q.; XIAO, F.; ZENG, B. Z. Voltammetric determination of tetracycline by using multi-wall carbon nanotube - ionic liquid film coated glassy carbon electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 4, n. 9, p. 1365-1372, 2009.
- [88] CAPLIS, M. E.; RAGHEB, H. S.; SCHALL, E. D. Determination of tetracycline antibiotics by alternating-current polarography. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, n. 5, p. 694-&, 1965.
- [89] SABHARWAL, S.; KISHORE, K.; MOORTHY, P. N. Determination of tetracycline hydrochloride in presence of anhydrotetracycline by differential pulse polarography. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 77, n. 1, p. 78-80, 1988.
- [90] PALAHARN, S.; CHAROENRAKS, T.; WANGFUENGKANAGUL, N.; GRUDPAN, K.; CHAILAPAKUL, O. Flow injection analysis of tetracycline in pharmaceutical formulation with pulsed amperometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 499, n. 1-2, p. 191-197, 2003.

- [91] CALIXTO, C. M. F.; CERVINI, P.; CAVALHEIRO, E. T. G. Determination of tetracycline in environmental water samples at a graphite-polyurethane composite electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 5, p. 938-943, 2012.
- [92] WANG, H.; ZHAO, H.; QUAN, X. Gold modified microelectrode for direct tetracycline detection. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, v. 6, n. 3, p. 313-319, 2012.
- [93] WANG, H.; ZHAO, H.; QUAN, X.; CHEN, S. Electrochemical determination of tetracycline using molecularly imprinted polymer modified carbon nanotube-gold nanoparticles electrode. **Electroanalysis**, v. 23, n. 8, p. 1863-1869, 2011.
- [94] MASAWAT, P.; SLATER, J. M. The determination of tetracycline residues in food using a disposable screen-printed gold electrode (SPGE). **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 124, n. 1, p. 127-132, 2007.
- [95] GUO, G. P.; ZHAO, F. Q.; XIAO, F.; ZENG, B. Z. Voltammetric determination of tetracycline by using multi-wall carbon nanotube - ionic liquid film coated glassy carbon electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 4, n. 9, p. 1365-1372, 2009.
- [96] WANGFUENGGANAGUL, N.; SIANGPROH, W.; CHAILAPAKUL, O. A flow injection method for the analysis of tetracycline antibiotics in pharmaceutical formulations using electrochemical detection at anodized boron-doped diamond thin film electrode. **Talanta**, v. 64, n. 5, p. 1183-1188, 2004.
- [97] OUNGPIPAT, W.; SOUTHWELLKEELY, P.; ALEXANDER, P. W. Flow-injection detection of tetracyclines by electrocatalytic oxidation at a nickel-modified glassy-carbon electrode. **Analyst**, v. 120, n. 5, p. 1559-1565, 1995.
- [98] GUO, G. P.; ZHAO, F. Q.; XIAO, F.; ZENG, B. Z. Voltammetric determination of tetracycline by using multi-wall carbon nanotube - ionic liquid film coated glassy carbon electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 4, n. 9, p. 1365-1372, 2009.
- [99] SILVA, Marcelo Rodrigues da. **Síntese, caracterização e avaliação eletroquímica de nanopartículas intermetálicas ordenadas PtSb e PtSn**. 2008. 135 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências, Bauru, 2008.
- [100] TEIXEIRA, M. F. S.; LIMA, A. S.; SILVA, E. R.; SILVA, M. R.; ANGELO, A. C. D. Avaliação de nanopartículas metálicas suportadas em carbono como modificadores na construção de sensores eletroquímicos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DA ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA, 17., 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: [s.n], 2009. v. EC 053. p. 1-3.
- [101] MARTINDALE The extra pharmacopoeia. London: Pharmaceutical Press, 1989. p. 313-323.

- [102] LAUBE, N.; MOHR, B.; HESSE, A. Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines. **Journal of Crystal Growth**, v. 233, n. 1-2, p. 367-374, 2001.
- [103] VEGA, D.; AGUI, L.; GONZALEZ-CORTES, A.; YANEZ-SEDENO, P.; PINGARRON, J. M. Voltammetry and amperometric detection of tetracyclines at multi-wall carbon nanotube modified electrodes. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 389, n. 3, p. 951-958, 2007.
- [104] HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. Tradução de Júlio Carlos Afonso e Oswaldo Esteves Barcia. 8. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 918 p.
- [105] BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Electroquímica princípios, métodos e aplicações**. New York, Oxford University Press, 1993. 471 p.
- [106] BAUR, J. E., 19 - Diffusion coefficients. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007, p. 829-848.
- [107] VONSTACKELBERG, M.; PILGRAM, M.; TOOME, V. Bestimmung von diffusionskoeffizienten einiger ionen in wässriger lösung in gegenwart von fremdelektrolyten. **Zeitschrift Fur Elektrochemie**, v. 57, n. 5, p. 342-350, 1953.
- [108] HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. Tradução de Celio Pasquini. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1055 p.
- [109] SOUZA, D. D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. p. 81-89, 2003.
- [110] DANG, X. P.; HU, C. G.; WEI, Y. L.; CHEN, W. H.; HU, S. S. Sensitivity improvement of the oxidation of tetracycline at acetylene black electrode in the presence of sodium dodecyl sulfate. **Electroanalysis**, v. 16, n. 23, p. 1949-1955, 2004.
- [111] JEONG, J.; SONG, W. H.; COOPER, W. J.; JUNG, J.; GREAVES, J. Degradation of tetracycline antibiotics: Mechanisms and kinetic studies for advanced oxidation/reduction processes. **Chemosphere**, v. 78, n. 5, p. 533-540, 2010.
- [112] BORISOVA, D. A.; VEDENYAPINA, M. D.; KRYLOVA, I. V.; RAKISHEV, A. K.; WEICHGREBE, D.; STOPP, P.; ROSENWINKEL, K. H.; VEDENYAPIN, A. A. Electrochemical oxidation of tetracycline on a boron doped diamond electrode within the stability potentials of water. **Russian Chemical Bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2590-2594, 2013.
- [113] BRUICE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. v. 2.

[114] MOCAK, J.; BOND, A. M.; MITCHELL, S.; SCOLLARY, G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques (technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 297-328, 1997.