

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL



**CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE DOURADOS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**



MARCELO VICENTE MUNIN FERREIRA

**MODIFICAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO
COM BENTONITA PARA DETECÇÃO SIMULTÂNEA DE
DOPAMINA, ÁCIDO ÚRICO E TRIPTOFANO**

DOURADOS

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
CURSO DE QUÍMICA INDUSTRIAL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE DOURADOS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MARCELO VICENTE MUNIN FERREIRA

MODIFICAÇÃO DE ELETRODOS DE PASTA DE CARBONO
COM BENTONITA PARA DETECÇÃO SIMULTÂNEA DE
DOPAMINA, ÁCIDO ÚRICO E TRIPTOFANO

Trabalho de conclusão de curso, apresentado como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Química Industrial, pela Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, sob a orientação do Professor Dr. Gilberto José de Arruda.

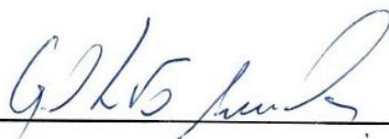
DOURADOS

2016

F442m Ferreira, Marcelo Vicente Munin
Modificação de eletrodos de pasta de carbono com bentonita para detecção simultânea de dopamina, ácido úrico e triptofano/Marcelo Vicente Munin Ferreira. Dourados, MS: UEMS, 2016.
43p. ; 30cm

Monografia (Graduação) – Química Industrial –
Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, 2016.
Orientador: Prof. Dr. Gilberto José de Arruda.

1. Eletroquímica 2. Modificação de eletrodos 3.
Detecção simultânea. I.Título. CDD 23.ed. 541.37

BANCA EXAMINADORA**Prof. Dr. Gilberto José de Arruda (Química –UEMS)**

(Orientador)

**Prof. Dr. Antonio Rogério Fiorucci (Química –UEMS)****Prof^a Dr^a Marcelina Ovelar Solaliendres (Química –UEMS)**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ter me concedido paciência, persistência e força de vontade, por também ter me ajudado até o presente momento. Dedico também à minha família, pelo apoio e incentivo e aos amigos, que sempre me incentivaram e estiveram ao meu lado, me ajudando a vencer as dificuldades encontradas no decorrer do curso.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo até aqui, por me acompanhar em todos os momentos e decisões, dando-me forças para superar todos os obstáculos, aumentando minha fé para seguir em frente fazendo acreditar que eu seria capaz.

À minha família, a qual amo, por todo apoio, conselho e incentivo. Pois souberam entender as minhas dores, medos e anseios durante a graduação, sempre me ajudando a cada passo que dou em minha vida.

Especialmente agradeço ao meu orientador Prof^o Dr^o Gilberto José de Arruda, pela atenção, paciência, bom humor e dedicação ao qual junto comigo fez possível este trabalho. Por todo o seu comprometimento a pesquisa, sinto-me honrado por partilhar do seu conhecimento do qual aprendi lições que levarei para todo o sempre.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório: Elizabete Maria Maximiano, Érica de Castro Ferro, Pâmela Caires, Ana Caroline e Thaís Silva Alves, que sempre estiveram do meu lado, ajudando em todos os momentos.

Aos demais amigos que a vida me proporcionou: Alison, Maicon, Wesley, Vinicius, Talita, Luana, Jéssica Caroline, Mouzayan, Sara, Silvia, Claudia, Belisa, Karoliny; Leonardo e todos os outros que de alguma forma me incentivaram a continuar independente do obstáculo.

Um muito obrigado a todos, que contribuíram para a minha formação profissional, ou que passaram na minha vida durante esse período que, diretamente ou não, tornaram tudo isso possível.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VIII
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	XI
RESUMO.....	XII
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Eletrodos de pasta de carbono modificados com bentonita.....	1
1.2 Propriedades da pasta de carbono utilizando grafite oxidado quimicamente..	2
1.3 Dopamina.....	3
1.4 Ácido Úrico.....	4
1.5 Triptofano.....	5
1.6 Técnicas Voltamétricas.....	5
1.6.1 Voltametria cíclica.....	6
1.6.2 Voltametria de Onda Quadrada.....	6
1.7 Curva de Calibração.....	7
2 OBJETIVOS.....	9
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	10
3.1 Preparo da soluções.....	10
3.1.2 Preparo da solução de estoque da Dopamina (DP).....	10
3.1.3 Preparo da solução de estoque de Ácido Úrico (AU).....	10
3.1.4 Preparo da solução de estoque de Triptofano (TRP).....	10
3.2 Preparo dos eletrodos de trabalho.....	10
3.2.1 Oxidação do grafite.....	10
3.2.2 Eletrodo de pasta de carbono (EPC).....	11
3.2.3 Eletrodo de pasta de carbono modificado com bentonita (EPC-BEN).....	11
3.2.4 Eletrodo de pasta de carbono utilizando grafite oxidado com ácido nítrico (HNO ₃) (EPC-OX).....	11
3.2.5 Eletrodo de pasta de carbono utilizando grafite oxidado com ácido nítrico (HNO ₃) e modificado com bentonita (EPC-OX-BEN).....	12
3.3 Célula Eletroquímica.....	12
3.4 Equipamentos.....	12
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4.1 Caracterização eletroquímica de DP.....	13

4.2 Caracterização eletroquímica de AU.....	14
4.3 Caracterização eletroquímica de TRP.....	15
4.4 Influência do pH.....	16
4.5 Detecção Simultânea.....	23
4.6 Curva de Calibração.....	23
5 CONCLUSÃO.....	27
6 REFERÊNCIAS.....	28

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

VC: Voltametria cíclica

VOQ: Voltametria de onda quadrada

VL: Voltametria linear

VPD: Voltametria de pulso diferencial

E_p : Potencial de pico

I_p : Corrente de pico

v : Velocidade de varredura

EPC: Eletrodo de pasta de carbono

EPC-BEN: Eletrodo de pasta de carbono modificado com bentonita

EPC-OX: Eletrodo de pasta de carbono com grafite oxidado com ácido nítrico

EPC-OX-BEN: Eletrodo de pasta de carbono oxidado com ácido nítrico e modificado com bentonita

DP: Dopamina

AU: Ácido Úrico

TRP: Triptofano

MRC: Material de referência certificado.

PB: Tampão fosfato-salino

EQM: Eletrodos quimicamente modificado

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Oxidação da dopamina para dopaminoquinona com a perda de dois prótons e um elétron.	4
Figura 2- Oxidação da molécula de ácido úrico	4
Figura 3- Oxidação da molécula de triptofano.	5
Figura 4- representação esquemática da voltametria de onda quadrada	7
Figura 5- VCs em Tampão PB = 0,02 mol L ⁻¹ , pH= 8, v = 100 mV s ⁻¹ , [DP] = 7,38 µg L ⁻¹ , utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX.	13
Figura 6- VCs em Tampão PB 0,02 mol L ⁻¹ , pH= 8, v = 100 mV s ⁻¹ , [AU]= 42 µg L ⁻¹ , utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX.	14
Figura 7- VCs em Tampão PB 0,02 mol L ⁻¹ , pH= 8, v = 100 mV s ⁻¹ , [TRP]= 3,99 µg L ⁻¹ , utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX.	15
Figura 8- Comparativo do aumento da corrente de pico entre os eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN e EPC-BEN-OX, [DP] = 7,38 µg L ⁻¹ , [AU]= 42 µg L ⁻¹ e [TRP]= 3,99 µg L ⁻¹ em pH=8.	16
Figura 9- A) Variação da corrente de pico (I _p) em relação á variação do pH de 5,0 à 12,0. B) Vcs obtidos utilizando EPC-BEN-OX em uma solução de [DP] = 7,38 µg L ⁻¹ em tampão PB 0,02 mol L ⁻¹	17
Figura 10- A) Variação da corrente de pico (I _p) em relação á variação do pH de 5,0 à 12,0. B) Vcs obtidos utilizando EPC-BEN-OX em uma solução de [AU]= 42 µg L ⁻¹ em tampão PB 0,02 mol L ⁻¹ .	18
Figura 11- A) Variação da corrente de pico (I _p) em relação á variação do pH de 5,0 à 12,0. B) Vcs obtidos utilizando EPC-BEN-OX em uma solução de [TRP]= 3,99 µg L ⁻¹ em tampão PB 0,02 mol L ⁻¹ .	19
Figura 12- Relação entre a variação do potencial de pico (E _p) em relação á variação do pH de 5,0 à 12,0 para uma solução de [DP] = 7,38 µg.L ⁻¹ , [AU]= 42 µg L ⁻¹ e [TRP]= 3,99 µg L ⁻¹ . Em tampão PB 0,02 mol L ⁻¹	22
Figura 13- Variação do pH de 5,0 à 12,0 em que ΔE _{p1} = AU-DP e ΔE _{p2} = TRP-AU, [DP] = 7,38 µg L ⁻¹ , [AU]= 42 µg L ⁻¹ e [TRP]= 3,99 µg L ⁻¹ . Em tampão PB 0,02 mol L ⁻¹ .	22

Figura 14- VOQ tampão PB 0,02 mol L⁻¹ em EPC, [DP] = 7,38 µg L⁻¹, [AU]= 42 µg L⁻¹, [TRP]= 3,99 µg L⁻¹, utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX. Amplitude = 5 mV, degrau de potencial = 1 mV, pH = 8 e frequência = 5 Hz. 23

Figura 15- VCs obtidos para soluções de DP, AU e TRP, utilizando EPC-BEN-OX em tampão PB 0,02 mol L⁻¹, pH=8, amplitude = 5 mV, degrau de potencial = 1mV e frequência = 5 Hz. 24

Figura 16: Curvas analíticas de DP, AU e TRP, utilizando EPC-BEN-OX em tampão PB 0,02 mol L⁻¹, pH=8, amplitude = 5 mV, degrau de potencial = 1mV e frequência = 5 Hz. 26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valores de I_p e E_p para EPC com e sem modificação para detecção de DP	13
Tabela 2- Valores de I_p e E_p para EPC com e sem modificação aplicado para detecção de AU.	14
Tabela 3- Valores de I_p e E_p para EPC com e sem modificação aplicado para detecção de TRP.	15
Tabela 4- Valores de corrente de pico (I_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação do pH (5,0 a 12,0) para o $[DP] = 7,38 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.	20
Tabela 5- Valores de corrente de pico (I_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação do pH (5,0 a 12,0) para o $[AU] = 42 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.	20
Tabela 6- Valores de corrente de pico (I_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação do pH (5,0 a 12,0) para o $[TRP] = 3,99 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.	21
Tabela 7- Valores de corrente de pico (I_p) e de potencial de pico (E_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação da concentração em microgramas por litros ($\mu\text{g L}^{-1}$) de DP em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 8 utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.	24
Tabela 8- Valores de corrente de pico (I_p) e de potencial de pico (E_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação da concentração em microgramas por litros ($\mu\text{g L}^{-1}$) de AU em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 8. Utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.	25
Tabela 9- Valores de corrente de pico (I_p) e de potencial de pico (E_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação da concentração em microgramas por litros ($\mu\text{g L}^{-1}$) de TRP em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 8 utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.	25

RESUMO

Neste trabalho é apresentado a modificação da composição da pasta de eletrodos de carbono, com bentonita e pasta de grafite oxidado em ácido nítrico 4 mol L^{-1} , para a detecção das moléculas de dopamina, ácido úrico e triptofano, utilizando o eletrodo de pasta de carbono sem modificação (EPC) e sua respectiva comparação com os eletrodos de pasta de carbono com grafite oxidado com ácido nítrico (EPC-OX), eletrodo de grafite modificado com bentonita (EPC-BEN) e eletrodo de pasta de carbono modificado com bentonita e grafite oxidado (EPC-BEN-OX), tendo como eletrólito de suporte o tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$. Avaliou-se a resposta de cada molécula separadamente, utilizando como técnica eletroquímica eletroquímico a voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada, em que a modificação com bentonita e grafite oxidado apresentou um aumento na intensidade da corrente do pico em relação ao eletrodo de pasta de carbono sem modificação para a dopamina de 54,56%, para o ácido úrico de 56,41% e para o triptofano de 72,03%. A partir do eletrodo mais sensível em comum para as três moléculas e a diferença de potencial de pico das mesmas foi possível a detecção simultânea das moléculas.

Palavras chave: Pasta de Carbono, Dopamina, Ácido Úrico, Triptofano.

1 INTRODUÇÃO

O uso de eletrodos modificados quimicamente vem aumentando à medida que os pesquisadores têm tentado exercer um controle mais direto sobre a natureza química dos eletrodos. Entre vários materiais utilizados para a modificação dos eletrodos, as argilas ainda atraem eletroquímicos desde 1983, quando Ghosh e Bard descreveram o primeiro eletrodo de argila modificada (GHOSH, 1984), e mais tarde sua utilização em carbono (HERNANDEZ, 1988).

As argilas são materiais interessantes para a modificação do eletrodo devido à sua grande área específica, expansão e porosidade, bom suporte catalítico, bem como baixo custo, estabilidades térmicas e mecânicas (DING, 2007) (NAVRÁTILOV, 2003) (ZEN, 2004). No entanto, argila minerais não são eletronicamente condutoras. Apesar da sua fraca condutividade e seletividade, minerais de argila, bem como argilas funcionalizadas são utilizados com sucesso em aplicações no campo de sensores (KEMMEGNE-MBOUGUEN, 2014).

As aplicações desses eletrodos modificados vem sendo na detecção de alguns analitos importantes tais como guanina, epinefrina, dopamina e L-cisteína (CHU, 2007), tirosina (J. NARANG, 2013), ácido ascórbico (CHEN, 2005) , ácido úrico (CHU, 2007), triptofano (CHU, 2007) entre outras moléculas com características biológicas significativas para o corpo humano.

A dopamina (DP), ácido úrico (UA) e triptofano (TRP) são geralmente coexistem em organismo humano e são moléculas importantes para os processos fisiológicos no metabolismo. DP é um importante neurotransmissor que desempenha papel vital no sistema nervoso dos mamíferos (PONNUSAMY et al., 2014). A concentração fora da faixa ideal de DP leva a distúrbios cerebrais, como esquizofrenia e mal de Parkinson (YANG; CHEN & PALANISAMY, 2015). As técnicas eletroquímicas estão fornecendo excelente deslvolvura para a detecção de DP em organismos biológicos, devido à sua simplicidade da tecnica, a selectividade e sensibilidade (THIAGARAJAN S & CHEN, 2007).

O AU é um dos produtos finais primários do metabolismo da purina; No entanto, as concentrações fora dos padrões de UA podem levar a indicação de várias doenças tais como a hiperuricemia, gota, e a doença de Lesch-Nyan e, devido a preocupação com tais doenças a determinação do UA é muito importante (TANG; LIU & HOU, 2010).

O TRP é um dos aminoácidos essenciais no organismo humano para a produção de hormônios, neurotransmissores e outras biomoléculas. Contudo, a concentração deve ser

controlada, pois fora da faixa ideal de concentração pode conduzir a doença hepática (LUPETTI; RAMOS & FATIBELLO-FILHO, 2003).

1.1 Eletrodos de pasta de carbono modificados com bentonita

Para que se possa ter um maior controle e sensibilidade, os eletrodos quimicamente modificados (EQM) podem ser usados para vários propósitos e aplicações para designar espécies ativas controlando sua natureza físico-química na interface da solução, sendo a bentonita um possível modificador (BRITO, 1997).

O termo bentonita, que foi sugerido devido a localização do primeiro depósito comercial de uma argila plástica nos Estados Unidos. Essa argila apresentou a propriedade de aumentar várias vezes o seu volume inicial na presença de umidade. Inicialmente sugeriu-se o nome a essa argila de “taylorite” posteriormente denominada como bentonita, uma vez que a primeira denominação já era utilizada (DARLEY; GRAY, 1988). Bentonita pode ser definida como uma rocha constituída essencialmente por um argilomineral montmorilonítico (esmectítico), formado pela desvitrificação e subsequente alteração química de um material vítreo, de origem ígnea, usualmente cinza vulcânica em ambientes alcalinos de circulação restrita de água (ROSS; SHANNON, 1996)

O arranjo cristalino da bentonita é composto por um empilhamento de placas ligadas por forças polares relativamente fracas e por forças de van der Waals, e entre essas placas existem lacunas denominadas de galerias ou camadas intermediárias ou interlamelares nas quais residem cátions trocáveis como Na^+ , Ca^{2+} , Li^+ , fixos eletrostaticamente e com a função de compensar cargas negativas geradas por substituições isomórficas que ocorrem no reticulado, como por exemplo, Al^{3+} por Mg^{2+} ou Fe^{2+} , ou Mg^{2+} por Li^+ . Cerca de 80% dos cátions trocáveis estão presentes nas galerias e 20% se encontram nas superfícies laterais (PAIVA; MORALES; DÍAZ, 2007).

As propriedades da bentonita incluem moderada carga negativa superficial, conhecida como capacidade de troca de cátions, elevada área específica (área da superfície externa das partículas), em torno de $800 \text{ m}^2/\text{g}$, propriedades de intercalação de outros componentes entre as camadas e resistência à temperatura e a solventes (PAIVA; MORALES; DÍAZ, 2007).

1.2 Propriedades da pasta de carbono utilizando grafite oxidado quimicamente

A interação entre a matriz de estudo e a pasta de carbono é extremamente importante para reforçar a interação da matriz com o analito podendo ser melhorada através da criação de

grupos COOH e grupos OH na superfície do eletrodo de pasta de carbono durante a funcionalização ácida (MORAES, 2009).

As grandes propriedades catalíticas intrínsecas do grafite, representam uma boa alternativa para o desenvolvimento de métodos eletroanalíticos. As modificações promovidas por um tratamento ácido são utilizadas para funcionalizar a pasta de carbono com o intuito de melhorar a sensibilidade de detecção através da alteração das suas lamelas..

Segundo Moraes, 2009 os eletrodos de pasta de carbono têm capas de proteção, as lamelas, após o tratamento ácido sofrem significativas modificações através da remoção de suas capas de proteção e alteração de suas paredes laterais, tornando-se mais hábil para a detecção e interação com as moléculas em análise.

1.3 Dopamina

A dopamina é um neurotransmissor central, precursor metabólico da noradrenalina e adrenalina, atua em receptores específicos, presentes no sistema nervoso central, vasos mesentéricos, renais e coronárias, utilizado para o tratamento de diversos tipos de insuficiência cardiovascular e hipotensão grave, após infarto agudo do miocárdio dilata os vasos sanguíneos renais aumentando dessa forma o fluxo de sangue. No Brasil, a dopamina é comercializada em forma de ampolas de 5 mg mL^{-1} (BACKER; ALDECOA & NJIMI, 2002).

Vários trabalhos na literatura têm surgido com objetivo de explorar a modificação química da superfície de eletrodos sólidos convencionais para a determinação de neurotransmissores em fluidos extracelulares do sistema nervoso central, em virtude do fato de muitas doenças dentre elas o Mal de Parkinson e a depressão, estarem relacionadas com anormalidades no nível de dopamina nas sinapses dos neurônios (ZHANG, 2008).

O emprego de eletrodos quimicamente modificados ou então de metodologias que conciliam o emprego de eletrodos da voltametria cíclica, estão voltados para o propósito de se eliminar a interferência do ácido ascórbico (10^{-4} - $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), o qual coexiste com a dopamina (10^{-8} - $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) no fluido cerebrospinal em concentrações elevadas, e também sofre oxidação na mesma região de potenciais que a dopamina (TOLEDO et al.,2006).

Nos voltamogramas obtidos tanto para o eletrodo sem modificação quanto para o modificado, mostrou-se que a dopamina apresentou um comportamento voltamétrico em que há presença tanto do pico de oxidação sugerindo, a oxidação da dopamina para dopaminoquinona (figura 1), quanto a presença do pico de redução, que sugere a presença de uma reação química acoplada. A resposta eletroquímica da DP é devido a liberação de dois elétrons e dois prótons.

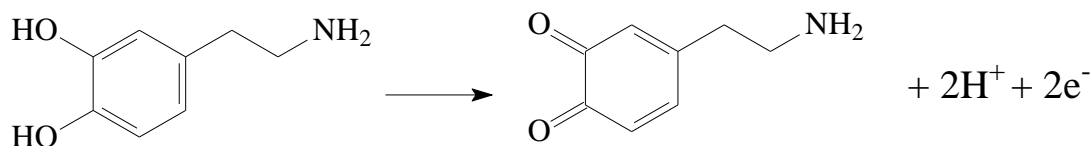


Figura 1- Oxidação da dopamina para dopaminoquinona com a perda de dois prótons e um elétron.

1.4 Ácido Úrico

Os processos relacionados à energia celular se relacionam com as purinas (principalmente ATP e ADP), na sinalização transmembrana (GTP e GDP), na sinalização intracelular (AMPC), como parte do DNA e do RNA (adenina e guanina) (HEDIGER et al., 2004). O produto final do metabolismo de purinas no ser humano é o AU, sendo este, um ácido fraco (pKa 5,8) que existe em grande quantidade como urato (sua forma ionizada) em pH fisiológico (TIN; ASSIMOS & DEAN G, 2007).

Do ponto de vista eletroanalítico, a oxidação de DP e AU estão próximas de um mesmo potencial, que resulta em sobreposição da resposta voltamétrica fazendo com que a discriminação de cada composto seja extremamente difícil (ZARE et al., 2005). Vários trabalhos na literatura apresentam diferentes tipos de modificações de eletrodos, tendo como objetivo determinar DP e AU simultaneamente (ZARE et al., 2005).

A atividade eletroquímica do AU, assim como a DP, implica na perda de dois elétrons e dois prótons (figura 2), sendo essa perda responsável pelo pico observado em métodos voltamétricos realizados nesse trabalho.

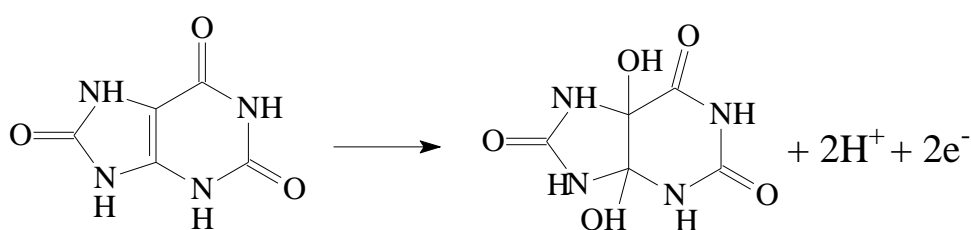


Figura 2- Oxidação da molécula de ácido úrico.

1.5 Triptofano

É um aminoácido aromático essencial ao organismo humano e animal, pois não pode ser produzido pelo mesmo, tendo que ser obtido na dieta, sendo recomendados 100 mg/kg de massa corporal por dia (ROSSI & TIRAPEGUI, 2004). Sua concentração em proteínas vegetais é a menor entre todos os aminoácidos, 1% nas proteínas de origem animal e 1,4% nas proteínas de origem vegetal (FIORUCCI & CALHEIRO, 2002). Este também apresenta

outras funções tais como: contribuição no crescimento normal e síntese protéica, influência no sono, comportamento, fadiga, ingestão alimentar, precursor da vitamina B3 (niacina) é um dos aminoácidos que estimula a secreção de insulina e hormônio do crescimento (FIORUCCI & CALHEIRO, 2002).

A determinação voltamétrica de triptofano (figura 3) já foi desenvolvido por Wang et al, 1996 usando eletrodo de pasta de carbono pré-tratada. Embora este método tenha apresentado uma melhor sensibilidade, foi longo o tempo que levou o pré tratamento. Estudos recentes vem usando multivariados métodos de tratamento para a determinação voltamétrica de aminoácidos, incluindo triptofano (SAURINA, 2000).

O triptofano, assim como a DP e o AU em sua oxidação libera dois prótons e dois elétrons, sendo estes responsáveis pela resposta eletroquímica da molécula como será observado neste trabalho (SAURINA, 2000).

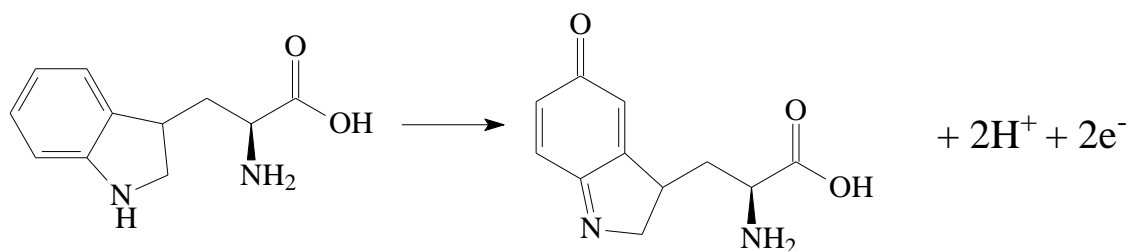


Figura 3- Oxidação da molécula de triptofano.

1.6 Técnicas Voltamétricas

Voltametria é uma técnica que relaciona o potencial, a corrente e o tempo durante a eletrólise em uma célula eletroquímica, esta composta por três eletrodos: um eletrodo de referência, um de trabalho e um contra eletrodo, também chamado de eletrodo auxiliar de potencial. Dessa maneira, é baseada na corrente gerada pela oxidação/redução de compostos em solução (BARD, 2001) (BRETT, 1994).

Existem diferentes tipos de técnicas voltamétricas: voltametria linear (VL), voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD), voltametria de onda quadrada (VOQ), entre outras. As técnicas podem ser separadas em dois grandes grupos, voltametrias lineares e voltametrias pulsadas. As voltametrias lineares recebem este nome pelo fato de variarem o potencial linearmente em função do tempo. Já as voltametrias pulsadas, variam o potencial na forma de pulsos sua corrente é medida ao final de cada pulso. Por este motivo, as técnicas pulsadas minimizam a corrente capacitiva indesejada (BARD, 2001) (BRETT, 1994).

1.6.1 Voltametria cíclica

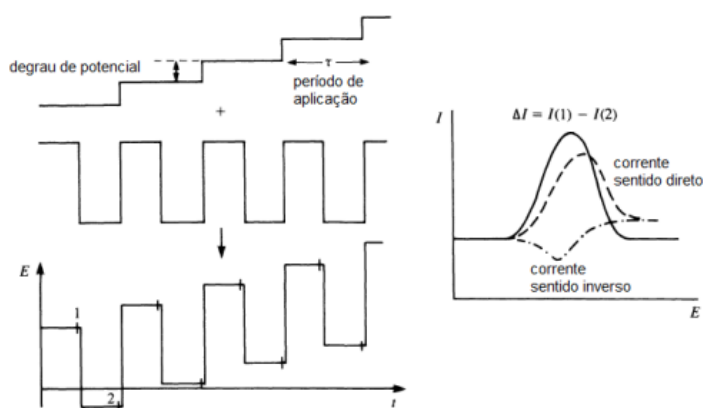
Dentro os métodos dinâmicos em química eletroanalítica, temos a voltametria cíclica (VC) como uma das mais versáteis, exceto quando em situação de química analítica pura, por exemplo, na determinação de constantes de estabilidade. Essa versatilidade, combinada com a facilidade de medida de parâmetros de interesse, faz com que ela seja largamente utilizada nomeadamente em química orgânica, química inorgânica ou bioquímica, no estudo de processos de adsorção, de transferência eletrônica em eletrodos semicondutores e em muitos outros tipos de processos dependentes do potencial (WANG, 2000).

A voltametria cíclica consiste no varredura de potencial de um eletrodo de trabalho o qual se encontra mergulhado numa solução em repouso, medindo-se a corrente resultante. Dado ser impossível medir potenciais absolutos, o potencial deste eletrodo é medido relativamente a um eletrodo de referência. O potencial aplicado entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência pode ser considerado um sinal de excitação e a corrente resultante pode ser tida como um sinal de resposta (WANG, 2000).

A eficiência desta técnica resulta de sua característica de rapidamente fornecer informações sobre a termodinâmica de processos redox, da cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e sobre possíveis reações químicas acopladas a processos adsorptivos que podem estar envolvidos (WANG, 2000).

1.6.2 Voltametria de Onda Quadrada

Na voltametria de onda quadrada (VOQ) (do inglês, square-wave), uma onda quadrada simétrica de amplitude ΔE_p sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada (staircase) caracterizada pela amplitude ΔE_s , largura a e período τ é aplicada ao eletrodo de trabalho (SCHOLZ, 2010) como representado na figura 4



Fonte: (PACHECO., et al, 2010).

Figura 4- Representação esquemática da voltametria de onda quadrada

A corrente é amostrada duas vezes, uma ao final do pulso direto, quando a direção do pulso é igual à direção da varredura, outro ao final do pulso reverso (que ocorre no meio do “degrau” da onda staircase), onde a direção do pulso é contrária à direção da varredura. Dessa maneira a dupla amostragem da corrente garante uma minimização da contribuição da corrente capacitiva sobre a corrente total medida (PACHECO., et al, 2010).

O voltamograma resultante consiste da diferença entre estas duas correntes versus o potencial aplicado. Na figura 4 está também representado o pico de corrente resultante da voltametria de onda quadrada, onde o pico é caracterizado por um potencial $E_{1/2}$ e largura $W_{1/2}$. A maior vantagem desta técnica é a velocidade de aquisição dos dados (PACHECO., et al, 2010).

1.7 Curva de Calibração

Usada para estabelecer o grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor verdadeiro convencional, sendo muitas vezes considerada como uma maneira de estabelecer a exatidão de um sistema de medição. (VOCABULÁRIO INTERNACIONAL DE TERMOS FUNDAMENTAIS E GERAIS DE METROLOGIA, 2000).

Na realidade, a calibração é um processo que compara valores de dois ou mais sistemas de medição. O primeiro é o sistema de referência, ou laboratório, o segundo o sistema de medição que está sendo calibrado, por exemplo. No procedimento de medição química a comparação pode ser feita usando medições obtidas do mesmo material de referência certificado (MRC). Considera-se que cada quantidade do MRC utilizada é a mesma, pelo menos no que diz respeito às propriedades do analito, embora se saiba que existem incertezas até mesmo para duas quantidades de um mesmo material (HARRIS, 2008.)

No sistema de calibração, utiliza-se a regressão estatística para avaliar incertezas associadas. O modelo linear de regressão (Equação 2) assume que a variável aleatória x é conhecida e a variável dependente y é desconhecida. Através dos mínimos quadrados calcula-se as estimativas do coeficiente angular do intercepto da curva de regressão resultante. Modelo este utilizado para prever os valores de y a partir dos valores de x .

$$\text{Equação 2: } y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + e_i, i=1, \dots, n$$

Sendo y_i : valor da variável dependente (resposta) para o i -ésimo elemento da amostra; x_i : valor (conhecido) da variável independente ou preditora para o i -ésimo elemento da amostra; β_0 e β_1 são parâmetros desconhecidos; e_i : erro amostral.

No procedimento de medição química, os valores de y são utilizados para prever os valores de x , sendo assim denominada regressão inversa. Os pressupostos na obtenção da

curva de calibração são: linearidade do modelo; erro somente em y; erros aleatórios e com variância homogênea; e erros com distribuição probabilística normal (HARRIS, 2008)

2 OBJETIVOS

Estudar o comportamento eletroquímico da dopamina, ácido úrico e triptofano sobre a superfície do eletrodo de pasta de carbono modificada, com bentonita e grafite oxidado em solução de ácido nítrico 4 mol L⁻¹.

Desenvolver um método de detecção simultânea para a dopamina, o ácido úrico e o triptofano.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Preparo de soluções

O eletrólito de suporte utilizado nesse trabalho, foi o tampão PB $0,02 \text{ mol l}^{-1}$. Para sua preparação foi utilizado uma mistura de fosfato monossódico (Na_2HPO_4), fosfato dissódico (Na_2HPO_4) (VETEC), que foi diluído para $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ (solução de estoque) . Ajustou-se o pH através da adição controlada de Na_2HPO_4 em Na_2HPO_4 utilizando pHmetro.

3.1.1 Preparo da solução de estoque da Dopamina (DP)

A solução de estoque, foi preparada a partir de um padrão analítico de cloridrato de Dopamina (Sigma-Aldrich com pureza de 99,8%), dissolvendo-se 5 mg da substância em 10 mL de água destilada. A partir da solução de estoque preparou-se a solução de trabalho diretamente na célula eletroquímica na concentração desejada.

3.1.2 Preparo da solução de estoque de Ácido Úrico (AU)

A solução de estoque foi preparada a partir de um padrão analítico de Ácido Úrico (Sigma-Aldrich com pureza de 99%), dissolvendo-se 5 mg da substância em 10 mL de água destilada. A partir da solução de estoque preparou-se a solução de trabalho diretamente na célula eletroquímica na concentração desejada.

3.1.3 Preparo da solução de estoque de Triptofano (TRP)

A solução de estoque foi preparada a partir de um padrão analítico de L-Triptofano (Vetec com pureza de 98,5%), dissolvendo-se 5 mg do aminoácido em 10 mL de água destilada. A partir da solução de estoque preparou-se a solução de trabalho diretamente na célula eletroquímica na concentração desejada.

3.2 Preparo dos eletrodos de trabalho

3.2.1 Oxidação do grafite

A oxidação do grafite em HNO_3 foi feita da seguinte forma:

- Pesou 5g de grafite $<20 \mu\text{m}$ (ALDRICH®)
- Misturou-se a massa do grafite pesado com 100 mL de uma solução HNO_3 65% preparada em concentração 4 mol L^{-1} e, essa solução misturada em um

erlenmeyer de 250 mL com o grafite, onde agitou-se por 4 horas a temperatura ambiente.

- Esperou-se 24 horas para que o grafite decantasse, retirou-se a parte líquida e adicionou-se 75 mL de água destilada, sendo agitada novamente por 25 minutos.
- Filtou-se com bomba de vácuo utilizando membrana filtrante (diâmetro de poro 0,42 μm) utilizando água destilada até que o pH alcançasse valor próximo a 7.
- Secou-se em estufa por 12 horas a 100°C.

3.2.2 Eletrodo de pasta de carbono (EPC)

No preparo dos eletrodos de pasta de carbono 75:25, m:m, foram utilizados grafite em pó de 20 micron de diâmetro (ALDRICH®) e nujol (ALDRICH®) como aglutinante. O EPC foi obtido pela mistura destes constituintes individuais, em um cadinho de vidro, com auxílio de um pistilo, os constituintes foram macerados por um período de 40 minutos, para obter homogeneização.

3.2.3 Eletrodo de pasta de carbono modificado com bentonita (EPC-BEN)

No preparo do eletrodo de pasta de carbono modificado com bentonita 70:25:5, m:m:m, foi utilizado grafite em pó de 20 micron de diâmetro (ALDRICH®), nujol (ALDRICH®) como aglutinante e bentonita (Sigma-Aldrich) como modificador. O EPC-BEN foi obtido pela mistura destes constituintes individuais, em um cadinho de vidro, com auxílio de um pistilo, os constituintes foram macerados por um período de 40 minutos, para obter homogeneização.

3.2.4 Eletrodo de pasta de carbono utilizando grafite oxidado com ácido nítrico (HNO₃) (EPC-OX)

No preparo do eletrodo de pasta de carbono oxidado com ácido nítrico (HNO₃) 75:25, m:m, foi utilizado grafite em pó de 20 micron de diâmetro (ALDRICH®) oxidado quimicamente com ácido nítrico concentrado 4 mol L⁻¹ e nujol (ALDRICH®). O EPC-OX foi obtido pela mistura destes constituintes individuais, em um cadinho de vidro, com auxílio de um pistilo, os constituintes foram macerados por um período de 40 minutos, para obter homogeneização.

3.2.5 Eletrodo de pasta de carbono utilizando grafite oxidado com ácido nítrico (HNO₃) e modificado com bentonita (EPC-BEN-OX)

No preparo do eletrodo de pasta de carbono com grafite oxidado com ácido nítrico (HNO₃) e modificado com bentonita 70:25:5, m:m:m, foi utilizado grafite em pó de 20 micron de diâmetro (ALDRICH®) oxidado quimicamente com ácido nítrico concentrado 4 mol L⁻¹, nujol (ALDRICH®) como aglutinante e bentonita como modificador. O EPC-BEN-OX foi obtido pela mistura destes constituintes individuais, em um cadinho de vidro, com auxílio de um pistilo, os constituintes foram macerados por um período de 40 minutos, para obter homogeneização.

3.3 Célula Eletroquímica

Utilizou-se eletrodo de referência Ag/AgCl e como eletrodo auxiliar o eletrodo de fio de platina.

3.4 Equipamentos

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato-galvanostato AUTOLAB PGSTAT-12 (Ecochemie, Utrecht, Holanda) interfaciado a um computador e gerenciado pelo software NOVA 1.10 para aquisição e tratamento dos dados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização eletroquímica de DP

Inicialmente para caracterização dos eletrodos, optou-se pela voltametria cíclica (VC) da DP, a figura 5 apresenta os voltamogramas cíclicos (VCs) obtidos para solução com e sem DP, utilizando os eletrodos de EPC sem modificação, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX e os valores de desvio padrão e I_p estão apresentados na Tabela 1. O desvio padrão (sd), foi calculado utilizando três réplicas ($n=3$). De acordo com os dados da Tabela 1, é possível destacar o eletrodo EPC-BEN-OX como o mais sensível para a detecção da oxidação de DP e também apresenta o menor desvio relativo.

A reação não é reversível, uma vez que, o pico de oxidação dividido pelo de redução resulta em um valor que não é próximo ou igual a um, o que demonstra que o pico de redução observado é uma reação química acoplada.

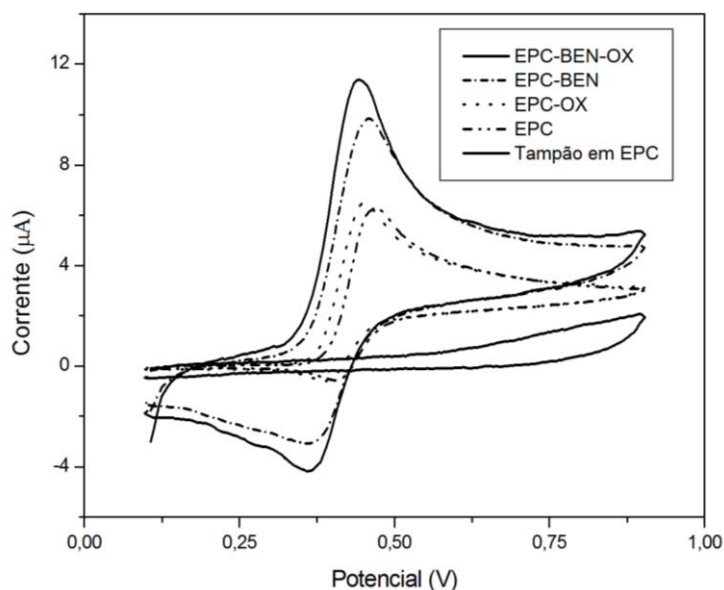


Figura 5- VCs em Tampão PB = 0,02 mol L⁻¹, pH= 8, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, [DP] = 7,38 µg L⁻¹, utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX.

Tabela 1- Valores de I_p para EPC com e sem modificação para detecção de DP.

Eletrodo	I_p oxidação(µA)	sd	I_p redução(µA)	sd
EPC	6,18	0,20	-0,57	0,09
EPC-OX	6,48	0,62	-0,58	0,11
EPC-BEN	9,85	0,58	-3,05	0,16
EPC-BEN-OX	11,33	0,09	-4,15	0,01

Como demonstrado no mecanismo do item 1.4 o pico de oxidação da DP esta associado a oxidação da mesma para dopaminoquinona, envolvendo dois elétrons e dois prótons e, o pico de redução a alguma reação química acoplada.

O aumento de I_p do EPC-BEN-OX em comparação com o EPC foi de 54, 56%.

4.2 Caracterização eletroquímica de AU

Da mesma forma como no item 4.1, utilizou-se a VC para a caracterização do AU. A figura 6 apresenta os VCs obtidos para solução com e sem AU, utilizando os eletrodos de EPC sem modificação, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX e os valores de desvio padrão (sd) e I_p estão apresentados na Tabela 2. O sd foi calculado utilizando três réplicas (n=3). De acordo com os dados da Tabela 2, é possível destacar novamente o eletrodo EPC-BEN-OX como o mais sensível para a detecção do AU e com o menor desvio padrão.

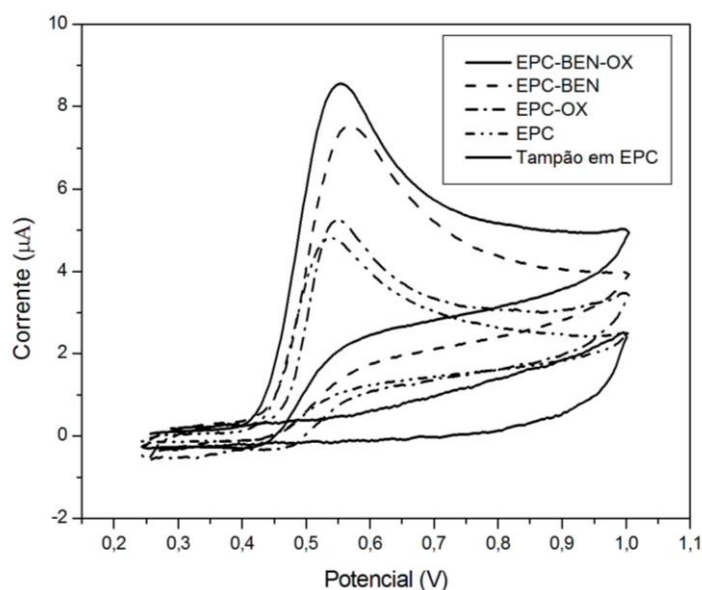


Figura 6- VCs em Tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}= 8$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $[\text{AU}] = 42 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX.

Tabela 2- Valores de I_p para EPC com e sem modificação aplicado para detecção de AU.

Eletrodo	I_p (μA)	sd
EPC	4,82	0,12
EPC-OX	6,24	0,01
EPC-BEN	7,51	0,57
EPC-BEN-OX	8,54	0,03

Como demonstrado no mecanismo do item 1.5 o pico de oxidação do AU esta associado a perda de dois elétrons e dois prótons dessa substancia.

O aumento de I_p para o AU do EPC-BEN-OX em comparação com o EPC foi de 56,41%.

4.3 Caracterização eletroquímica de TRP

Em sequência, para a caracterização eletroquímica de TRP, novamente foi utilizada a VC, a figura 7 apresenta os VCs obtidos para solução com e sem TRP, utilizando os eletrodos de EPC sem modificação, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX e os valores de desvio padrão e I_p estão apresentados na Tabela 2. O desvio padrão (sd), foi calculado utilizando três réplicas ($n=3$). De acordo com os dados da Tabela 3, é possível destacar novamente o eletrodo EPC-BEN-OX como o mais sensível para a detecção do TRP com o desvio padrão baixo, porém não o menor quando comparado ao do EPC para detecção dessa molécula.

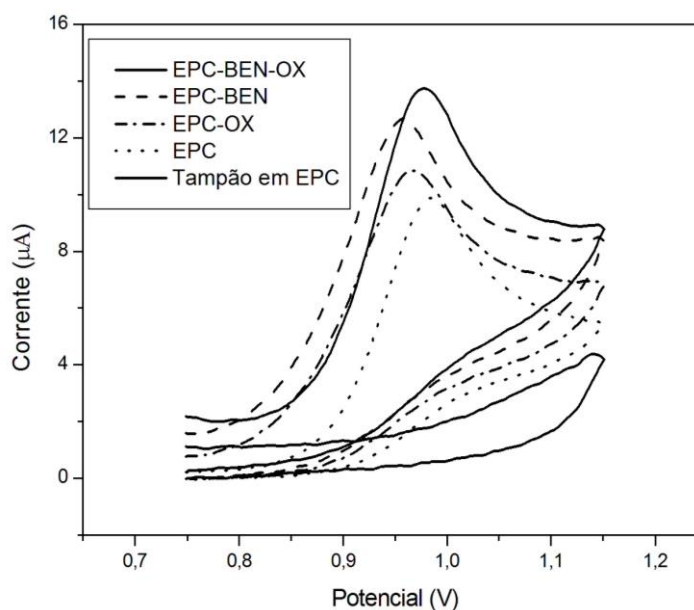


Figura 7- VCs em Tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}= 8$, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, $[\text{TRP}]= 3,99 \mu\text{g L}^{-1}$, utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX.

Tabela 3- Valores de I_p para EPC com e sem modificação aplicado para detecção de TRP.

Eletrodo	$I_p(\mu A)$	sd
EPC	9,88	0,01
EPC-OX	10,84	0,62
EPC-BEN	12,73	0,01
EPC-BEN-OX	13,72	0,04

Da mesma forma que com a DP e o AU, o pico de oxidação do TRP está associado a transferência de dois elétrons e dois prótons dessa substância, demonstrado no mecanismo do item 1.6.

O aumento de I_p para o TRP do EPC-BEN-OX em comparação com o EPC foi de 72,03%.

A partir dos dados apresentados, e da figura 8, o eletrodo EPC-BEN-OX é o mais sensível entre os eletrodos trabalhados para a detecção simultânea de DP, AU e TRP.

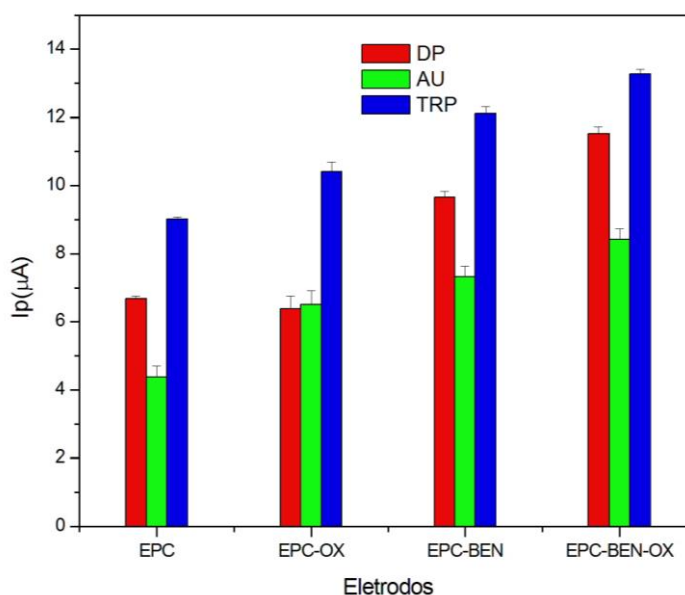


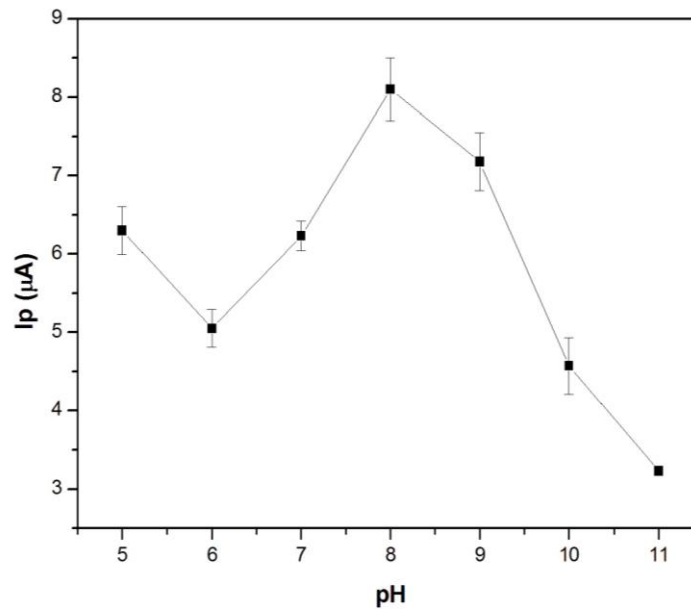
Figura 8- Comparativo do aumento da corrente de pico entre os eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN e EPC-BEN-OX, $[DP] = 7,38 \mu g L^{-1}$, $[AU] = 42 \mu g L^{-1}$ e $[TRP] = 3,99 \mu g L^{-1}$ em $pH=8$.

4.4 Influência do pH

As figuras 9, 10 e 11 apresentam a variação dos I_p s obtidos respectivamente para DP, AU e TRP, com variação de pH de 5,0 a 12,0 em tampão PB $0,02 mol L^{-1}$.

A DP em pH 12 não apresentou pico de oxidação, e acima de pH 7 não foi observado o pico de redução, o que sugere que acima desse pH não ocorre a reação química acoplada.

A)



B)

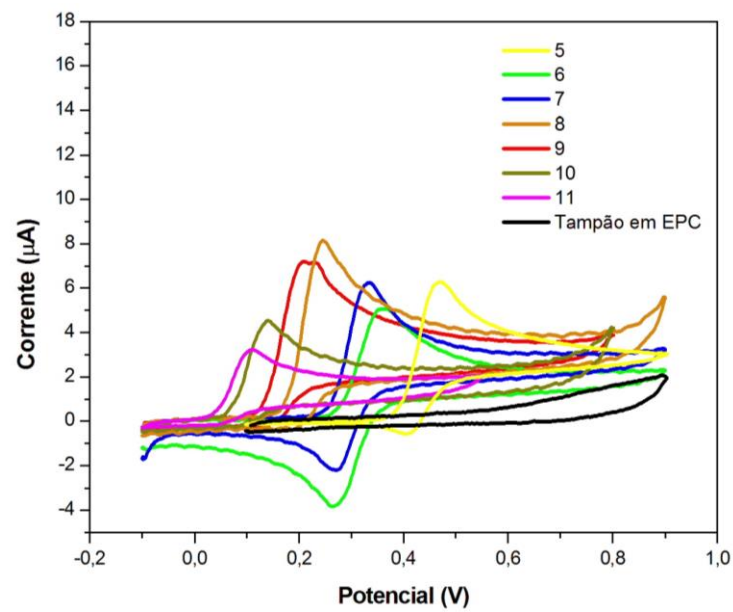
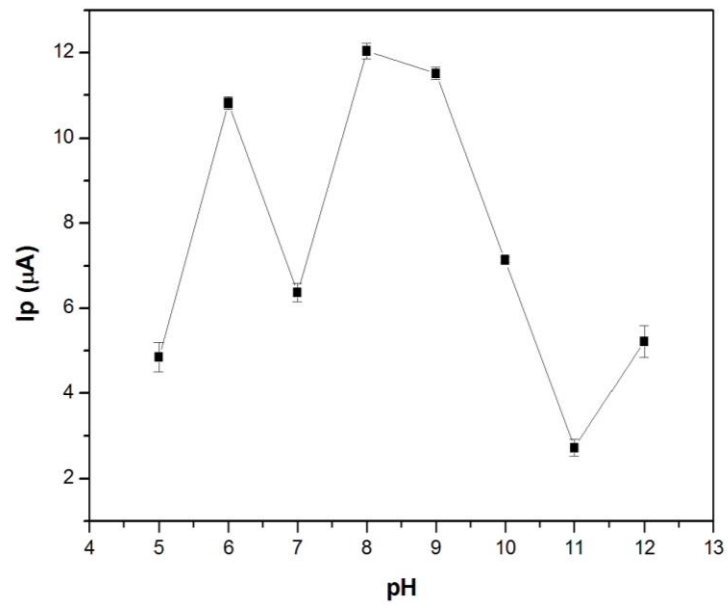


Figura 9- A) Variação da corrente de pico (I_p) em relação á variação do pH de 5,0 a 12,0. B) Vcs obtidos utilizando EPC-BEN-OX em uma solução de $[DP] = 7,38 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$

A)



B)

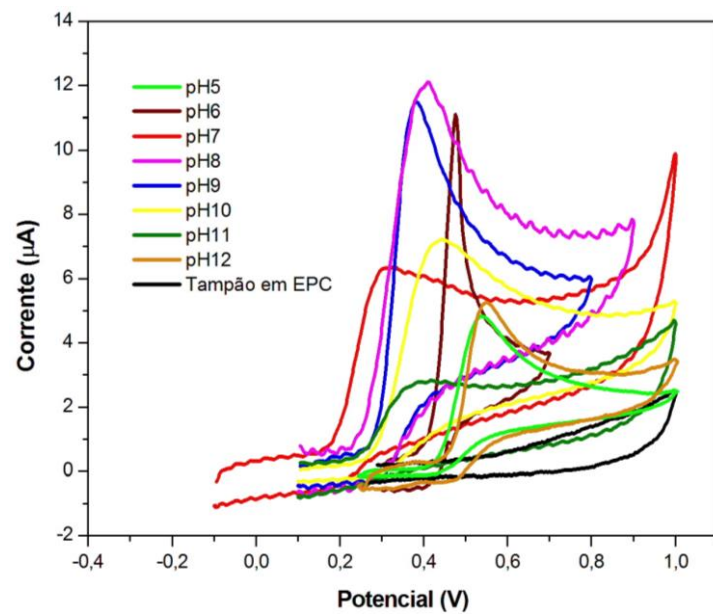
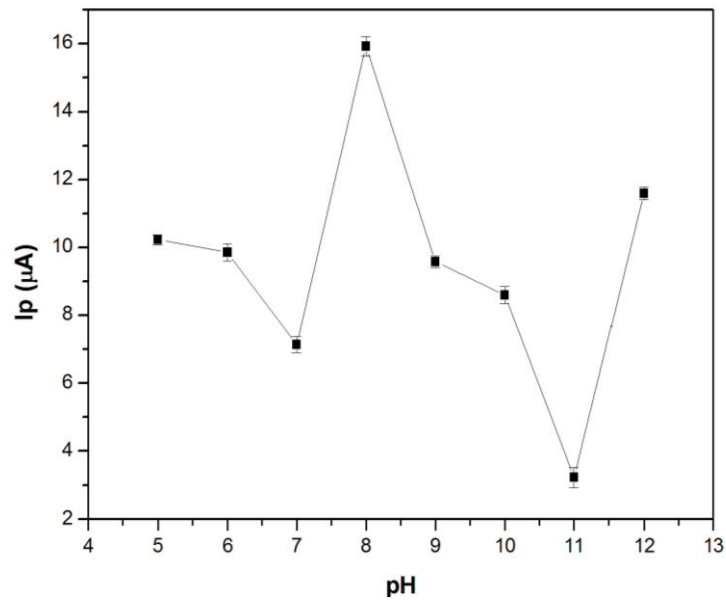


Figura 10- A) Variação da corrente de pico (I_p) em relação á variação do pH de 5,0 a 12,0. B) Vcs obtidos utilizando EPC-BEN-OX em uma solução de $[AU]= 42 \mu g L^{-1}$ em tampão PB $0,02 mol L^{-1}$.

A)



B)

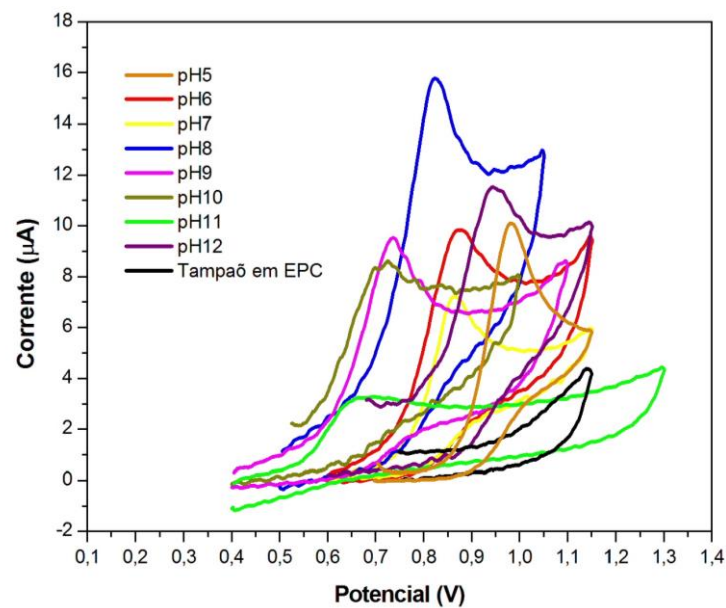


Figura 11- A) Variação da corrente de pico (I_p) em relação á variação do pH de 5,0 a 12,0. B) Vcs obtidos utilizando EPC-BEN-OX em uma solução de $[TRP] = 3,99 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.

O pH que apresentou o valor mais elevado de corrente de pico foi então utilizado para fins analíticos, neste caso o 8, sendo que isso pode ser observado também nas Tabelas 4, 5 e 6.

Tabela 4- Valores de corrente de pico (I_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação do pH (5,0 a 12,0) para o $[DP] = 7,38 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.

pH	$I_p (\mu\text{A})$	sd	I_p redução(μA)
5	6,30	0,30	-0,62
6	5,05	0,24	-3,86
7	6,23	0,19	-2,15
8	8,10	0,40	--
9	7,18	0,37	--
10	4,57	0,36	--
11	3,23	0,05	--
12	--	--	--

Tabela 5- Valores de corrente de pico (I_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação do pH (5,0 á 12,0) para o $[AU]= 42 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.

pH	$I_p (\mu\text{A})$	sd
5	4,85	0,35
6	10,82	0,14
7	6,37	0,21
8	12,04	0,18
9	11,51	0,14
10	7,14	0,06
11	2,72	0,20
12	5,22	0,37

Tabela 6- Valores de corrente de pico (I_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação do pH (5,0 á 12,0) para o $[TRP]= 3,99 \mu\text{g L}^{-1}$ em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.

pH	$I_p(\mu\text{A})$	sd
5	10,23	0,14
6	9,86	0,46
7	7,14	0,24
8	15,92	0,28
9	9,58	0,07
10	8,6	0,45
11	3,24	0,30
12	11,6	0,18

Com base nos dados apresentados é possível destacar o pH 8, como já citado, como o melhor para as três substancias, levando em conta, nesse pH o valor de I_p coincide nas três substancias como o maior valor de corrente. Dessa forma ajustou-se o pH do tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, para que a determinação simultânea pudesse ter a máxima sensibilidade para tais moléculas.

A variação de E_p mostrou-se levemente decrescente de acordo com o aumento do pH, exeto para a DP que em pH 8 apresentou um E_p em valores mais altos. Porém em pH 8 foi possível analisar a DP sem a interferências ou sobreposição dos demais picos, já que tanto o AU quanto o TRP apresentaram picos em potenciais de valores distintos uns dos outros (figura 12).

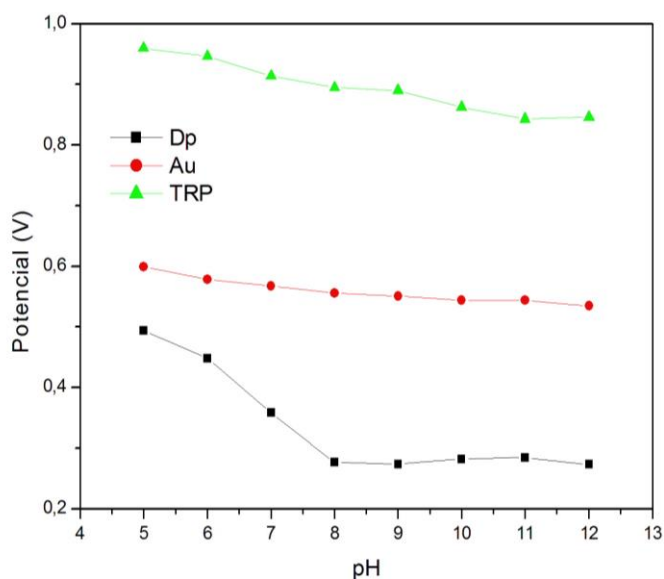


Figura 12- Relação entre a variação do potencial de pico (E_p) em relação á variação do pH de 5,0 a 12,0 para uma solução de $[DP] = 7,38 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $[AU] = 42 \mu\text{g L}^{-1}$ e $[TRP] = 3,99 \mu\text{g L}^{-1}$. Em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$

Na figura 13 a diferença entre os valores de E_p do AU e da DP configuram o ΔE_{p1} e a diferença entre o E_p do TRP e do AU configuram o ΔE_{p2} . Isto para que seja possível demonstrar que a maior diferença entre os valores de E_p das três moléculas ocorreu em pH igual a 8.

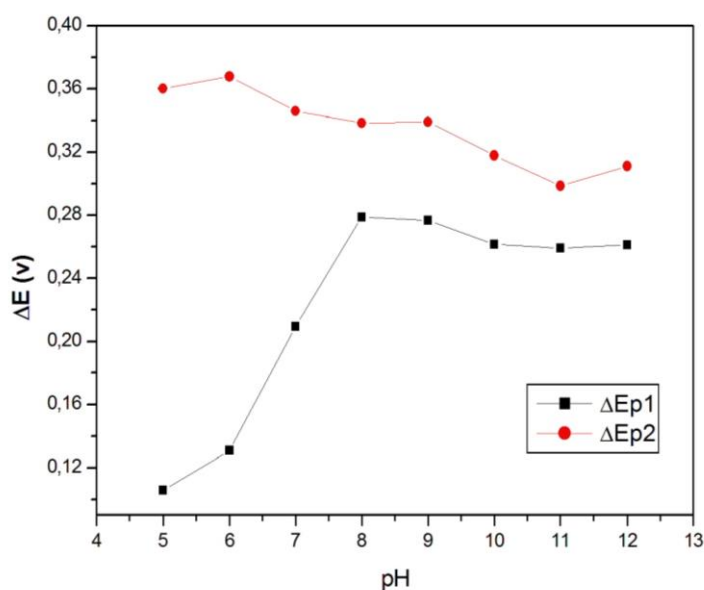


Figura 13- Variação do pH de 5,0 à 12,0 em que $\Delta E_{p1} = AU-DP$ e $\Delta E_{p2} = TRP-AU$, $[DP] = 7,38 \mu\text{g L}^{-1}$, $[AU] = 42 \mu\text{g L}^{-1}$ e $[TRP] = 3,99 \mu\text{g L}^{-1}$. Em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$.

Conclui-se então que em pH 8 é possível determinar as moléculas onde nesse valor ocorre, em comum, o valor de corrente mais alto e diferença de potencial satisfatória para que não ocorra interferência de um pico sobre o outro.

4.5 Determinação Simultânea

Entre os eletrodos estudados, o com maior capacidade para desenvolver um método de detecção simultânea foi o CPE-BEN-OX, pois apresentou a maior corrente de pico quando em contato com as três substâncias de analisadas.

Os dados foram obtidos em VOQ conforme figura 14. É possível observar que os picos não aparecem no mesmo potencial, dessa forma podemos identificar cada uma das três substâncias estudadas podendo assim determina-las simultaneamente. .

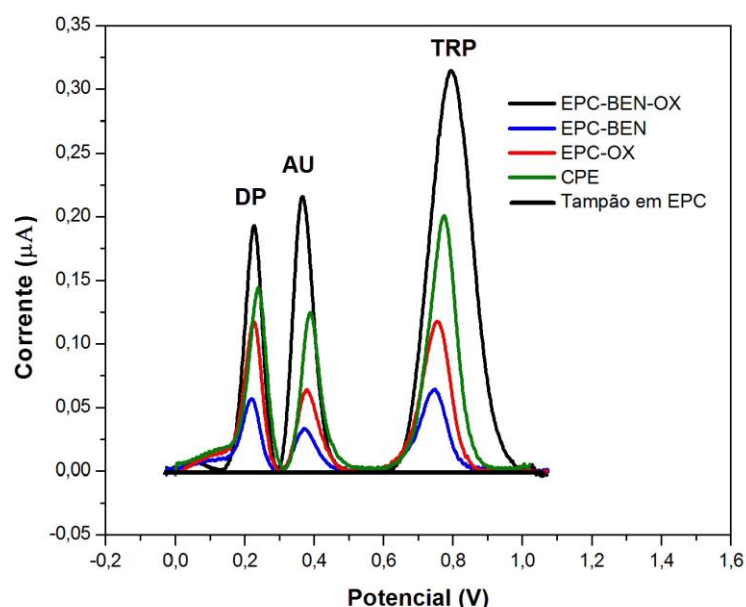


Figura 14- VOQ tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ em EPC, $[\text{DP}] = 7,38 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{AU}] = 42 \text{ mg L}^{-1}$, $[\text{TRP}] = 3,99 \text{ mg L}^{-1}$, utilizando eletrodos de EPC, EPC-OX, EPC-BEN, EPC-BEN-OX. Amplitude = 5 mV, degrau de potencial = 1 mV, pH = 8 e frequência = 5 Hz.

4.6 Curva de calibração

Partindo-se das condições otimizadas anteriormente pode-se obter uma curva analítica utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX, na VOQ em relação a corrente de pico e a variação na concentração das substâncias DP, AU e TRP (figura 15). Pode-se perceber que com o aumento na concentração das três substâncias aumenta-se também a corrente de pico demonstrando assim que as duas grandezas são diretamente proporcionais. A faixa de concentração e os valores de corrente de pico são apresentados nas tabelas 7,8 e 9.

Devido a presença dessas substancias serem apresentadas comercialmente em função de gramas por litro e não de mols por litro e, tendo os valores das massas molares (MM) dos padrões, sendo eles DP= 189,64 g mol⁻¹; AU= 204,22 g mol⁻¹ e TRP= 168,11 g mol⁻¹, os valores foram apresentados em gramas.

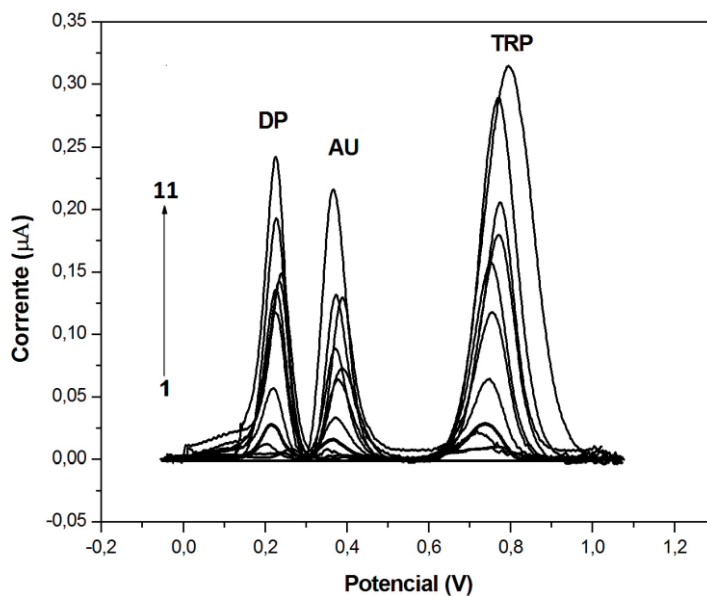


Figura 15- VQOs obtidos para soluções de DP, AU e TRP, utilizando EPC-BEN-OX em tampão PB 0,02 mol L⁻¹, pH=8, amplitude = 5 mV, degrau de potencial = 1mV e frequência = 5 Hz.

Tabela 7- Valores de corrente de pico (I_p) e de potencial de pico (E_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação da concentração em microgramas por litros ($\mu\text{g L}^{-1}$) de DP em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 8 utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	I_p (μA)	Sd
7,79	0,01	$3,56 \cdot 10^{-4}$
14,98	0,04	$4,33 \cdot 10^{-4}$
29,96	0,01	0,01
59,92	0,02	0,01
120,61	0,05	0,01
250,32	0,10	0,01
280,3	0,11	0,01
398,24	0,15	0,01
500,6	0,19	$1,91 \cdot 10^{-4}$
663,7	0,25	0,02
948,2	0,36	0,011

Tabela 8- Valores de corrente de pico (I_p) e de potencial de pico (E_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação da concentração em microgramas por litros ($\mu\text{g L}^{-1}$) de AU em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 8. Utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	I_p (μA)	Sd
94,98	0,01	$1,16 \cdot 10^{-4}$
189,96	0,01	$1,28 \cdot 10^{-4}$
381,6	0,01	$3,20 \cdot 10^{-4}$
763,21	0,01	0,01
1528,1	0,03	0,01
3056,2	0,06	0,01
4202,7	0,09	0,01
5043,3	0,12	0,01
6112,4	0,14	0,01
7649	0,18	0,02
10086,6	0,24	0,01

Tabela 9- Valores de corrente de pico (I_p) e de potencial de pico (E_p) (média de 3 réplicas), com seus desvios, em relação a variação da concentração em microgramas por litros ($\mu\text{g L}^{-1}$) de TRP em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$ e pH 8 utilizando o eletrodo EPC-BEN-OX.

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	I_p (μA)	Sd
68,4	0,01	$1,06 \cdot 10^{-5}$
136,8	0,01	$2,42 \cdot 10^{-4}$
273,6	0,02	0,01
549,3	0,03	$9,56 \cdot 10^{-4}$
1100,7	0,06	$6,11 \cdot 10^{-4}$
2251,5	0,12	$5,80 \cdot 10^{-4}$
3063,3	0,15	0,01
3982,2	0,19	0,01
4503,1	0,22	0,02
6126,6	0,29	0,03
10211	0,48	0,01

Os parâmetros estudados para essas curvas são o intervalo de concentração (em g L^{-1}) e o limite de detecção (LD) obtidos para o EPC-BEN-OX. A sensibilidade do método foi definida pelos limites de detecção. O LD é a menor concentração da espécie de interesse que pode ser detectada pela técnica instrumental (RIBANI et al., 2004). Foi adotado no trabalho $\text{LD} = 3\text{sD}/B$, sendo LD = limite de detecção, e B = coeficiente angular da reta (MILLER; MILLER, 1993), sendo as retas representadas na figura 16.

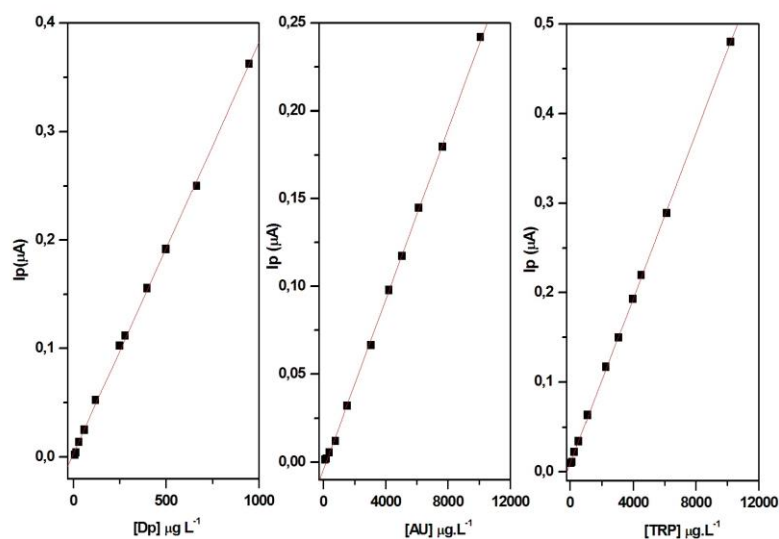


Figura 16: Curvas analíticas de DP, AU e TRP, utilizando EPC-BEN-OX em tampão PB $0,02 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=8$, amplitude = 5 mV, degrau de potencial = 1mV e frequência = 5 Hz.

Entre as características de desempenho dos sistemas analíticos as mais importante são aquelas relacionadas a capacidade de detectar.

Obteve-se a partir da curva de calibração apresentada na figura 7 um LD = $6,20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para a dopamina, LD = $81,75 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para o ácido úrico e LD = $44,32 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para o triptofano.

5 CONCLUSÃO

O estudo voltamétrico realizado das moléculas de DP, AU e TRP permite nos concluir que:

- A Dopamina, o Ácido Úrico e Triptofano apresentam atividades eletroativas em sua forma estrutural básica, utilizando eletrodo de pasta de carbono com e sem modificações;
- A utilização do grafite oxidado com HNO_3 no eletrodo de pasta de carbono modificado com bentonita, melhora a resposta eletroquímica das três substâncias estudadas, aumentando sua corrente e simetria do pico;

6 REFERÊNCIAS

- BACKER D.; ALDECOA C.; NJIMI H. **Dopamine versus norepinephrine in the treatment of septic shock: a meta-analysis.** 2012. 32 f. Tese (Doutorado) - Curso de Norepinephrine Administration In Septic Shock, Talanta, Epub, 2002
- BARD, A. J. **Métodos eletroquímicos: fundamentos e aplicações.** *Second ed., Nova York: John Wiley & Sons, INC., 833p., 2001.*
- BARD, A.J. & FAULKNER, L.R., **Electrochemical Methods; Fundamentals and Application.** Second ed. 200, New York: John Wiley & Sons, INC. 833, 2009.
- BRETT, C. M. A. **Eletroquímica: princípios, métodos e aplicações.** 2 ed., Nova York: Oxford University Press Inc., 427p., 1994.
- BRITO, M. F. **Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem.** *Quím. Nova*, v.20, n.2, p. 191-195, 1997.
- CAREW, J.R.; ALSTER, F.A.; FOSS, D.C.; SCANES, C.G., **Effect of a tryptophan deficiency on thyroid.** *Journal of Nutrition*, 113 (9), pp. 1756-1765, 1983
- CHEN, S.-M.; LU, M.-F.; LIN, K.-C. **Performing enzyme-free H₂O₂ biosensor and simultaneous determination for AA, DA, and UA by MWCNT–PEDOT film.** *Electroanal. Chem*, 579, 163–174, 2005.
- CHU, H.W.; THANGAMUTHU, R.; CHEN, S.M. **Electrochemical and catalytic investigations of dopamine and uric acid by modified carbon nanotube paste electrode** *Electroanalysis*, , 19, 1944–1951, 2007.
- DARLEY, H.C.H. & GRAY, G.R. **Composition and Properties of Drilling and Completion Fluids.** *Gulf Publishing Company*, Fifth Edition, Houston, Texas, 1988.
- DE ANDRADE, J. C. **O papel dos erros determinados em análises químicas.** v. 10, n. 3, p.159–165,1987. **Development: Snyder/Practical.** Hoboken, NJ, USA: *John Wiley & Sons, Inc.*, 1997.
- DING, Y.; GU, G.; XIA, X.-H.; J. **Simultaneous and sensitive determination of procaine and its metabolite for pharmaceutical quality control and pharmacokinetic research by using a graphite paste electrode.** *Solid State Electrochem.*, 12, 553–558. 2007.
- FIORUCCI, A.R., CAVALHEIRO, E.T.G. **The use of carbon paste electrode in the direct voltammetric determination of tryptophan in pharmaceutical formulations.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 28 (5), pp. 909-915, 2002.
- GHOSH, P. K.; BARD, A. J.; **Clay-modified electrodes: a review.** *J. Phys. Chem.* 88, p. 5519 –5526, 1984.
- HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa.** 7 a . ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.
- HEDIGER MA, ROMERO MF, PENG JB, ROLFS A, TAKANAGA H, and BRUFORD EA (2004) **The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins.** *Pflugers Arch*447: 465-468, 2004.
- HERNANDEZ, L.; HERNANDEZ, P.; FERRERA, Z. S.; FRESENIUS, J. **Trace Determination of Carbendazim Fungicide Using Adsorptive Stripping Voltammetry with a Carbon Paste Electrode Containing Tricresyl Phosphate.** *Anal. Chem.* 329, 756–759, 1988.
- KEMMEGNE-MBOUGUEN, J. C.; NGAMENI, E.; BAKER, P. G.; WARYO, T. T.; KGAREBE, B.; IWUOHA, E. I. **Carcinoembryonic Antigen Immunosensor Developed with Organoclay Nanogold Composite Film** .*Int. J. Electrochem. Sci.*, 9, 478–492, 2014.

LUPETTI, K. O.; RAMOS, L. A.; FATIBELLO-FILHO, O. **Determinação enzimática de dopamina em formulações farmacêuticas utilizando sistema de análise por injeção em fluxo com extrato bruto de abacate (*Persea americana*)**. Quím. Nova vol.26 no.2 São Paulo Mar./ Apr. 2003. Curso de Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

MILLER, J. N. **Estatística para química analítica**. 2. ed. Wilmington: Addison-Wesley iberoamerican, 1993.

MORAES, F.C.; MASCARO, L.H.; MACHADO, S.A.S.; BRETT, C.M.A. **Direct electrochemical determination of carbaryl using a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine modified electrode**. Talanta, 79, 1406. 2009.

NARANG J.; CHAUHAN N.; PUNDIR S.; PUNDIR C. S. **A magnetic nanoparticles-zinc oxide/zinc hexacyanoferrate hybrid film for amperometric determination of tryptophan**. Bioprocess, Biosyst. Eng., 36, 1545–1554, 2013.

NAVRTILOV, Z.; KULA, P. **Clay Modified Electrodes: Present Applications and Prospects**. Electroanalysis 15, 837–846, 2003.

NGUYEN, N.T.; WRONA M.Z.; DRYHURST, G.J., **Electrochemical oxidation of tryptophan**. *Electroanal. Chem.* pp. 101-199, 1986.

PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. **Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos**, *Rev. Virtual Quim.*, 2013, 5 (4), 516-537. Data de publicação na Web: 12 de agosto de 2013 <http://www.uff.br/rvq>

PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; Díaz, F. R. V. **An overview on organophilic clays: properties, routes of preparation and applications**. *Applied Clay Science*, 2007.

PONNUSAMY, V.K.; MANI, V.; CHEN, S.M. **Rapid microwave assisted synthesis of graphene nanosheets/polyethyleneimine/gold nanoparticle composite and its application to the selective electrochemical determination of dopamine**. 2013. 72 f. Curso de Electroanalysis And Bio Electrochemistry Laboratory, Talanta, Epub, 2013.

ROSS, C.S. & SHANNON, E.V., **Minerals of Bentonite and Related Clays and Their Physical Properties**, 9-77, 1996.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. **Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico**. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, v. 48, n. 2, p. 227-233, 2004.

SAURINA, J.; HERNÁNDEZ-CASSOU, S.; FÁBREGAS, E.; ALEGRET, S. **Clic-voltammetric-simultaneous-determination-of-oxidizable-amin**. *Anal. Chim. Acta*, 405 (), pp. 153–160, 2000.

SCHOLZ, F.; **Electroanalytical methods, Electroanalytical Methods Guide to Experiments and Applications**, SpringerVerlag: Berlin, 2010.

TANG, X.; LIU, Y.; HOU, H. **Electrochemical determination of L-Tryptophan, L-Tyrosine and L-Cysteine using electrospun carbon nanofibers modified electrode**. 2010. 80 f. Curso de Electroanalysis And Bio Electrochemistry Laboratory, Talanta, Epub, 2010.

THIAGARAJAN, S; CHEN S.M. **Preparation and characterization of PtAu hybrid film modified electrodes and their use in simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid**. 2007. 74 f. Curso de Electroanalysis, Talanta, Epub, 2007.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. **The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report)**. *Pure and Applied Chemistry*, v. 78, n. 1, 31 jan. 2006.

TINNGO, C.; ASSIMOS, D. G. **Uric Acid Nephrolithiasis: Recent Progress and Future Directions**. 2007. 9 f. Curso de Us National Library Of Medicine National Institutes Of Health, Medicine National Institutes Of Health, Boston, 2007.

TOLEDO, R.A.; SANTOS, M.C.; HONÓRIO, K.M.; SILVA, A.B.F.; CAVALHEIRO, E.T.G.; MAZO, L.H. **Eu of the grafite polyurethane composite electrode for imipramine oxidation – mechanism proposal and electroanalytical determination**. *Analytical Letters*, 2006.

VOCABULÁRIO INTERNACIONAL DE METROLOGIA, INMETRO. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/inovacao/publicacoes/vim_2012.pdf>. Acessado em 31 de outubro de 2016.

WANG, H.; CUI, H.; ZHANG, A.; LIU, R. Adsorptive stripping voltammetric determination of tryptophan at an electrochemically pre-treated carbon-paste electrode with solid paraffin as a binder. *Anal. Commun.*, 33 (), pp. 275–277, 1996.

WANG, J.; **Analytical Electrochemistry**, 2a. ed., Wiley-VCH: New Jersey, 2000.

WANG, M.; JIANG, X.; ZHANG, D. **Effects of alcohol consumption on the risk of gout**. 2013. 363 f. Tese (Doutorado) - Curso de Clin Rheumatol, Institute On Lifestyle & Health, Boston, 2013.

XUE, C.; HAN, Q.; WANG, Y.; WU, J.; WEN, T.; WANG, R.; HONG, J.; ZHOU, X.; JIANG, H. **Amperometric detection of dopamine in human serum by electrochemical sensor based on gold nanoparticles doped molecularly imprinted polymers**. 2013. 49 f - Curso de Biosens, Bioelectron, Epub, 2013.

YANG, H. Y.; CHEN, S.; PALANISAMY, S. **Simultaneous Electrochemical Determination of Dopamine, Uric acid, Tryptophan on Electropolymerized Aminothiazole and Gold nanoparticles Modified Carbon nanotubes Modified Electrode**. 12 f. Curso de Electroanalysis And Bio Electrochemistry Laboratory, Department Of Chemical Engineering And Biotechnology,, National Taipei University Of Technology, Taipei, 2015

ZARE, H.R.; NASIRIZADEH, N.; MAZLOUM-ARDAKANI, M. **Electrochemical properties of a tetrabromo- pbenzoquinone modified carbon paste electrode. Application to the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid**, *J. Electroanal. Chem.* 577(1): p. 25-33, 2005.

ZEN, J.-M.; KUMAR, A. S., **The prospects of clay mineral electrodes**. *Anal. Chem.*, 76, 205A–211A, 2004.

ZHANG, Y.Z.; JIN, G.Y.; WANG, Y.L.; YANG, Z.S. **Determination of dopamine in the presence of ascorbic acid using poly (acridine red) modified glassy carbon electrode**; (2003), pp. 441–450, 2008.