



Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais



Nanotubos de carbono funcionalizados como plataformas para aplicação em
detecções eletroquímicas

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre, julho de 2021.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais

Nanotubos de carbono funcionalizados como plataformas para aplicação em
detecções eletroquímicas

Danielle Santos da Rosa

Dissertação realizada sob a orientação do Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenuti, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Porto Alegre, julho de 2021.

CIP - Catalogação na Publicação

Rosa, Danielle Santos da
Nanotubos de carbono funcionalizados como
plataformas para aplicação em detecções eletroquímicas
/ Danielle Santos da Rosa. -- 2021.
87 f.
Orientador: Edilson Valmir Benvenutti.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Programa de
Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Porto Alegre,
BR-RS, 2021.

1. Nanotubos de carbono. 2. Carboxilação. 3.
Tionina. 4. Voltametria cíclica. 5. Paracetamol. I.
Benvenutti, Edilson Valmir, orient. II. Título.

Dedicatória

“We must believe that we are gifted for something and that this thing must be attained. ”

(Marie Curie)

Dedico esse trabalho aos meus pais Marco e Nara, por todo o amor, compreensão e apoio incondicionais.

Agradecimentos

Agradeço imensamente aos meus pais, por todo amor, apoio e incentivo para que eu pudesse ir em busca de minhas conquistas e sonhos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edilson Valmir Benvenuti pela confiança, paciência, compreensão, por todos os ensinamentos e amizade.

Às professoras Dra. Eliana Weber de Menezes, Dra. Leliz Arenas e Dra. Tania Haas Costa, o meu muito obrigada pelos ensinamentos e amizade.

Ao professor Dr. Marcos Vasconcellos pela realização das análises de raios X.

Ao professor Dr. Silvio Buchner pelas análises de espectroscopia Raman.

Aos meus queridos colegas do Laboratório de Sólidos e Superfícies, por todos os momentos de distração e alegria, sobretudo pelas gentis ajudas no desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço aos queridos amigos Anike, Karine, Cezar e Gabriela pelo companheirismo e apoio.

Às amigas de longa data das queridas Andressa Schneid, Monique Deon e Franciele Morawski por todo o carinho, apoio e incentivo.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Lista de trabalhos gerados durante o mestrado

Artigos publicados

Caetano, K. D. S.; **Da Rosa, D. S.**; Pizzolato, T. M.; Dos Santos, P. A. M.; Hinrichs, R.; Benvenuti, E. V.; Dias, S. L. P.; Arenas, L. T.; Costa, T. M. H.; MWCNT/zirconia porous composite applied as electrochemical sensor for determination of methyl parathion. *Micropor. Mesopor. Mater.*, **2020**, 309, p. 110583.

Tkachenko, O. S.; **Da Rosa, D. S.**; Virgili, A.; Vasconcellos, M.; Costa, T. M. H.; Arenas, L. T.; Deon, M.; Benvenuti, E. V.; De Menezes, E. W.; Magnetic and Mesoporous Silica-Niobia Material as Modifier of Carbon Paste Electrode for p-Nitrophenol Electrochemical Determination. *J. Braz. Chem. Soc.*, **2021**, 32, 3, p. 609 - 617.

Trabalho publicado em evento científico (online)

Caetano, K. S.; **Da Rosa, D. S.**; Pizzolato, T. M.; Dos Santos, P. A. M.; Hinrichs, R.; Benvenuti, E. V.; Arenas, L. T.; Costa, T. M. H.; MWCNT/zirconia porous composite applied as electrochemical sensor for determination of methyl parathion. **II Fronteiras em Eletroquímica e Eletroanalítica Avanços realizados por jovens mulheres cientistas**. Rio de Janeiro, 11 e 12 de fevereiro de 2021.

Sumário

1. Introdução	15
2. Objetivo geral	17
2.1 Objetivos específicos	17
3. Revisão Bibliográfica	18
3.1 Sensores e biossensores eletroquímicos	18
3.2 Eletrodos quimicamente modificados	20
3.3 Eletrodo de pasta de carbono	20
3.4 Nanotubos de carbono (CNTs)	21
3.4.1 Sensores eletroquímicos à base de CNTs	23
3.4.2 Funcionalização não-covalente dos CNTs	24
3.4.3 Funcionalização covalente dos CNTs	25
3.5 Nanopartículas de ouro e quitosana	26
3.6 Tionina	28
3.7 Paracetamol	30
3.8 Métodos voltamétricos de análise	30
3.8.1 Interpretação dos resultados de um CV	32
3.8.2 Sistemas reversíveis, quase-reversíveis e irreversíveis	32
3.8.3 Sistemas envolvendo a adsorção de espécies na superfície de eletrodos	34
4. Parte experimental	36
4.1 Materiais	36
4.2 Carboxilação dos nanotubos de carbono	36
4.3 Preparo da dispersão de nanopartículas de ouro estabilizadas em quitosana	37
4.4 Modificação dos f-MWCNTs	38
4.4.1 Funcionalização com Quit e Quit-AuNPs	38
4.4.2 Funcionalização com o corante acetato de tionina	39
4.4.3 Construção dos eletrodos de pasta de carbono	40
4.5 Técnicas de caracterização	40
4.5.1 Difração de raios X	40
4.5.2 Espectroscopia Raman	40
4.5.3 Espectroscopia na região do UV-Visível	40
4.5.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)	41

4.5.5	Isotermas de Adsorção e Dessorção de N ₂	41
4.5.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)	41
4.5.7	Espectroscopia com Dispersão em Energia (EDS)	42
4.5.8	Análise Termogravimétrica	42
4.5.9	Medidas Eletroquímicas.....	42
5.	Resultados e discussões	43
5.1	Difração de raios X.....	43
5.2	Espectroscopia Raman.....	44
5.3	Espectroscopia na região do UV-Visível.....	47
5.3.1	Dispersão de AuNPs	47
5.3.2	Imobilização do corante	49
5.4	Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM).....	49
5.5	Propriedades texturais.....	50
5.6	Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)	54
5.7	Espectroscopia com Dispersão em Energia (EDS).....	56
5.8	Análise Termogravimétrica	57
5.9	Medidas Eletroquímicas	59
5.9.1	Determinação da composição do eletrodo de pasta de carbono.....	59
5.9.2	Efeito da atmosfera	61
5.9.3	Estudo do efeito da velocidade de varredura (<i>v</i>).....	65
5.9.4	Aplicação dos materiais na detecção de paracetamol (PCT).....	67
5.9.4.1	Estudo de pH	67
5.9.4.2	Efeito da velocidade de varredura (<i>v</i>).....	69
5.9.4.3	Desempenho analítico na detecção de PCT	71
6.	Conclusão	75
7.	Referências	76

Lista de Abreviaturas

CNTs	Nanotubos de carbono
MWCNTS	Nanotubos de carbono de parede múltipla
SWCNTS	Nanotubos de carbono de parede simples
AuNPs	Nanopartículas de ouro
Quit	Quitosana
Quit-AuNPs	Dispersão de AuNPs estabilizadas em quitosana
Tio	Tionina
EDC	Cloridrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
NHS	N-hidroxisuccinimida
PCT	Paracetamol
CPE	Eletrodo de pasta de carbono
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
CV	Voltametria cíclica/Voltamograma cíclico
LSV	Voltametria de varredura linear
LV	Voltamograma linear
I_p	Intensidade de corrente de pico
I_{pa}	Intensidade de corrente de pico anódico
I_{pc}	Intensidade de corrente de pico catódico
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
$I_{faradaica}$	Corrente faradaica
$I_{capacitiva}$	Corrente capacitiva
v	Velocidade de varredura
f -MWCNTs	Nanotubos de carbono carboxilados
f -MWCNTs/Quit	Nanotubos de carbono carboxilados funcionalizados com quitosana
f -MWCNTs/Quit/Tio	Nanotubos de carbono carboxilados funcionalizados com quitosana e tionina
f -MWCNTs/Quit-Au	Nanotubos de carbono carboxilados funcionalizados com Quit-AuNPs

<i>f</i> -MWCNTs/Quit- Au/Tio	Nanotubos de carbono carboxilados funcionalizados com Quit- AuNPs e tionina
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura
BSE	Modo de elétrons retroespalhados
EDS	Espectroscopia com Dispersão em Energia
TGA	Análise Termogravimétrica
WE	Eletrodo de trabalho
RE	Eletrodo de referência
PBS	Solução tampão fosfato de sódio
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
SWV	Voltametria de onda quadrada
DPV	Voltametria de pulso diferencial
LOD	Limite de detecção
CCD	Dispositivo de carga acoplada
SERS	Surface-enhanced Raman spectroscopy
UV-Vis	Ultravioleta-visível
SEM-FEG	Microscopia Eletrônica de Varredura por Emissão de Campo

Índice de Figuras

Figura 1. Esquema ilustrativo de uma célula eletroquímica de três eletrodos	19
Figura 2. Representação esquemática do preparo de um eletrodo de CPE.	21
Figura 3. CNTs: SWCNTs à esquerda; MWCNTs (à direita)	22
Figura 4. Dispersão de AuNPs estabilizadas em quitosana.	27
Figura 5. Representação da estrutura da molécula de tionina.	28
Figura 6. Representação esquemática da reação de acoplamento do corante tionina na estrutura dos CNTs carboxilados.	29
Figura 7. Diagrama esquemático de um voltamograma cíclico destacando os parâmetros: potencial catódico de pico (E_{pc}), potencial anódico de pico (E_{pa}), corrente catódica (I_{pc}) e corrente anódica (I_{pa}).....	32
Figura 8. Etapas do processo de carboxilação dos nanotubos de carbono.	37
Figura 9. Etapas de funcionalização dos <i>f</i> -MWCNTs com Quit e Quit-AuNPs.	38
Figura 10. Etapas de funcionalização dos materiais <i>f</i> -MWCNTs/Quit e <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au com o corante acetato de tionina.	39
Figura 11. Representação esquemática de todas as etapas de funcionalização dos <i>f</i> -MWCNTs.	43
Figura 12. Difratoograma de raios X do material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio.	44
Figura 13. Espectros Raman obtidos para os materiais.....	45
Figura 14. Etapas do processo de preparo da amostra Quit-AuNPs a partir da qual fora obtido o espectro de UV-Vis.	48
Figura 15. Espectros de UV-Vis obtidos para as dispersões de AuNPs, em diferentes valores de pH, sobrenadante resultante da imobilização das AuNPs no material <i>f</i> -MWCNTs.....	48
Figura 16. Espectros de UV-Vis obtidos para o corante tionina e os sobrenadantes resultantes da sua imobilização nos materiais <i>f</i> -MWCNTs/Quit/Tio e <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio.	49
Figura 17. Imagens obtidas por TEM da dispersão de nanopartículas de ouro (Quit-AuNPs)	50
Figura 18. Isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio.	50
Figura 19. Distribuição de tamanho de poros usando o método BJH.	52
Figura 20. Distribuição de tamanho de poros usando o método DFT.	54
Figura 21. Imagens obtidas por SEM com magnificação de 100000 ×: a) MWCNTs, b) <i>f</i> -MWCNTs, c) <i>f</i> -MWCNTs/Quit/Tio e, d) <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio.	55

Figura 22. Imagens de SEM obtidas no modo BSE para material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio com diferentes ampliações: (a) 10000× e (b) 20000×.....	56
Figura 23. Análise EDS: (a) Imagem obtida por SEM (no modo BSE) do material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio pressionado a 5.0 ton·cm ⁻² ; (b) Espectro EDS obtido a partir da região da imagem em (a).....	57
Figura 24. Curvas de TGA obtidas para os materiais MWCNTs, <i>f</i> -MWCNTs, <i>f</i> -MWCNTs/Quit, <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au e <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio: (a) curvas TGA e (b) Primeira derivada.	58
Figura 25. CVs obtidos para o CPE confeccionado com o material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio, usando-se diferentes quantidades desse material, bem como de grafite e óleo mineral. Varredura na faixa de potencial de -1,3 V a 1,3 V e velocidade de 10 mV s ⁻¹ . Tampão PBS (pH 7,0)....	60
Figura 26. Efeito da atmosfera no comportamento eletroquímico dos materiais <i>f</i> -MWCNTs e <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio, em tampão PBS pH 7,0 e ν de 10 mV s ⁻¹	62
Figura 27. CVs obtidos para o material MWCNTs e todos os materiais funcionalizados, em tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0, contendo 0,5 mol L ⁻¹ de NaNO ₃ , e ν de 20 mV s ⁻¹	63
Figura 28. CVs obtidos para os materiais funcionalizados na faixa de ν de 5 a 100 mV s ⁻¹ , em tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0, contendo 0,5 mol L ⁻¹ de NaNO ₃	65
Figura 29. Relação entre I_{pa} e ν para o material <i>f</i> -MWCNTs e os materiais funcionalizados a partir deste.	66
Figura 32. LVs obtidos para o material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio na presença de 476,2 μmol L ⁻¹ de PCT, em PBS 0,1 mol L ⁻¹ , contendo 0,5 mol L ⁻¹ de NaNO ₃ , na faixa de pH de 5,0 a 8,0, $\nu = 10$ mV s ⁻¹	68
Figura 33. LVs obtidos para os materiais <i>f</i> -MWCNTs/Quit, <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au, <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio e <i>f</i> -MWCNTs/Quit/Tio na presença de 476,2 μmol L ⁻¹ de PCT. Em PBS 0,1 mol L ⁻¹ , contendo NaNO ₃ 0,5 mol L ⁻¹ , pH 6,0, $\nu = 10$ mV s ⁻¹	69
Figura 34. (a) CVs do material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio na presença de 291 μmol L ⁻¹ de PCT, em diferentes valores de ν , 5 a 100 mV s ⁻¹ , PBS 0,1 mol L ⁻¹ contendo 0,5 mol L ⁻¹ de NaNO ₃ , pH 6,0; (b) relação entre I_p e $\nu^{1/2}$; (c) relação entre $\log I_p$ e $\log \nu$	70
Figura 35. (a) LVs obtidos para o material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio frente a adições consecutivas de PCT na faixa de 654,2 a 950,2 μmol L ⁻¹ , em PBS 0,1 mol L ⁻¹ , contendo 0,5 mol L ⁻¹ de NaNO ₃ , pH 6,0 e ν de 5 mV s ⁻¹	72

Índice de Tabelas

Tabela 1. Dados sobre deslocamento Raman e intensidades das bandas D, G e G' obtidos para os materiais caracterizados.....	46
Tabela 2. Área superficial e volume de poros.....	51
Tabela 3. Perdas de massa por faixa de temperatura, obtidas a partir da análise termogravimétrica dos materiais, partindo-se de temperatura ambiente (TA).....	59
Tabela 4. Composição do eletrodo de trabalho.....	60
Tabela 5. Parâmetros eletroquímicos obtidos a partir dos CVs obtidos com o CPE do material <i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio em diferentes composições.....	61
Tabela 6. Parâmetros eletroquímicos obtidos a partir dos CVs dos materiais funcionalizados.....	64
Tabela 7. Desempenho comparativo de diferentes eletrodos de MWCNTs modificados na determinação eletroquímica de PCT.....	74

Resumo

Neste trabalho, foi obtida uma matriz à base de nanotubos de carbono (CNTs) funcionalizada com nanopartículas de ouro (AuNPs) e tionina. A funcionalização dos CNTs iniciou com sua carboxilação em meio ácido (*f*-MWCNTs), seguida da adsorção física de AuNPs estabilizadas em quitosana (*f*-MWCNTs/Quit-Au), e posterior inserção covalente da tionina através de reações de acoplamento com os agentes N-etil-N'- (3-dimetilaminopropil) carbodiimida e N-hidroxisuccinimida, resultando no material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio. Os materiais foram caracterizados por difração de raios X, espectroscopia Raman, microscopia eletrônica de varredura e transmissão, espectroscopia com dispersão em energia, isotermas de adsorção/dessorção de nitrogênio, análises termogravimétricas e técnicas eletroquímicas de voltametria. O desempenho analítico do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio na detecção de paracetamol foi estudado. O eletrodo de pasta de carbono modificado com esse material apresentou resposta linear na faixa de concentração estudada, de 384,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 950,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O limite de detecção calculado foi de 8,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, tornando o material promissor para aplicação no desenvolvimento de sensores eletroquímicos para detecção de paracetamol.

Abstract

In this work, a carbon nanotubes (CNTs) based matrix was functionalized with gold nanoparticles (AuNPs) and thionine. The functionalization started with the carboxylation of CNTs in acid medium (*f*-MWCNTs), followed by the physical adsorption of AuNPs stabilized by chitosan (*f*-MWCNTs/Quit-Au) and subsequent covalent insertion of thionine. The last, by using the coupling reaction with N-ethyl-N'- (3-dimethylaminepropyl) carbodiimide e N-hydroxysuccinimide, resulting in *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio material. The materials were characterized by X-ray diffraction, Raman spectroscopy, scanning and transmission electron microscopy, energy dispersive spectroscopy, nitrogen adsorption/desorption isotherms, thermogravimetric analysis and electrochemical voltammetry techniques. The analytical performance of *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio material, in the paracetamol detection, was studied. The carbon paste electrode modified with this material presents linear response in the studied concentration range, from 384.6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ to 950.2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The estimated detection limit was 8.2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, making the material promising to be applied in the development of electrochemical sensors for paracetamol detection.

1. Introdução

Com o atual contexto pandêmico, a procura por testes de detecção rápida, eficiente e, principalmente, confiável nunca foi tão emergente. Nesse sentido, os sensores e biossensores eletroquímicos ganharam enorme destaque e ressaltaram ainda mais a sua importância no ávido desenvolvimento de plataformas eletroanalíticas robustas, portáteis, de baixo custo e com capacidade de desempenho comparável àquela de equipamentos comumente empregados em análises instrumentais.^{1,2,3,4}

O campo de aplicação dos dispositivos eletroquímicos é vasto, podendo ir desde a biomedicina até a segurança alimentar.^{5,6} Não obstante, o desempenho analítico de um sensor está intimamente relacionado ao material do qual é composto, o que requer o uso de diferentes estratégias para modular a arquitetura e a morfologia de matrizes, a fim de se alcançar melhor sensibilidade, seletividade, estabilidade e reprodutibilidade.⁵

Os nanotubos de carbono (CNTs) possuem propriedades marcantes e extremamente atraentes para a construção de sensores e biossensores eletroquímicos. Dentre suas especialidades, podem-se destacar a excelente atividade eletroquímica, alta condutividade eletrônica, grande área de superfície e facilidade de funcionalização.^{7,8,9}

Algumas limitações dos nanotubos de carbono como baixa solubilidade em água e baixa biocompatibilidade podem ser facilmente contornadas através da funcionalização dos mesmos, a qual pode ser realizada por meio de métodos covalentes ou não-covalentes.^{10,11} A oxidação dos CNTs consiste na principal metodologia para funcionalização covalente, resultando na inserção de grupos funcionais nos CNTs.^{11,12} Já nos métodos não-covalentes, as propriedades estruturais dos nanotubos são mantidas e a funcionalização é conduzida através de adsorção física de espécies nos CNTs.^{12,13}

As nanopartículas de ouro (AuNPs), possuem propriedades ópticas, químicas, eletrônicas e catalíticas únicas. Sua inserção em matrizes para sensores impulsiona o desempenho dos dispositivos eletroquímicos, facilitando a ocorrência dos processos redox, aumentando a área de superfície ativa, e promovendo a condutividade eletrônica.^{14,15} Entretanto, a atividade eletroquímica das AuNPs é fortemente influenciada pelo seu tamanho e, conseqüentemente, pela sua estabilidade.^{16,17} Assim, a funcionalização de materiais com AuNPs requer atenção sobre o agente estabilizante mais adequado a fim de inibir a sinterização das mesmas. Entre as possibilidades, pode-se citar a quitosana, que é um biopolímero de origem

natural e biodegradável,^{9,18} capaz de estabilizar eficientemente as AuNPs e promover a inserção das mesmas em CNTs, por meio de interações não-covalentes.^{12,19,20,21,22,23}

Corantes orgânicos catiônicos, como a tionina, também podem promover o desempenho eletroanalítico de CNTs. Esses mediadores de elétrons contribuem para que o processo de oxirredução de espécies eletroativas ocorra de forma mais rápida na superfície do eletrodo.^{24,25}

Espécies eletroativas consistem naquelas que são capazes de sofrer reações redox, ou somente se oxidar ou reduzir, na interface eletrodo/solução. Um exemplo de espécie desse tipo é o paracetamol, que é um analgésico e antipirético, frequentemente usado para aliviar dores como cólicas menstruais, dores de cabeça e febre.²⁶ No entanto, altas dosagens desse composto no organismo têm sido associadas a graves problemas hepáticos, que podem resultar na necrose do fígado, e graves reações de hipersensibilidade.^{27,28,29} Portanto, sua detecção e quantificação em fármacos e em fluidos biológicos torna-se substancialmente necessária.

Nesse contexto, o objetivo inicial do projeto de mestrado era o de desenvolver um biossensor para a detecção de vírus e/ou bactérias, a partir da carboxilação de CNTs, e sua posterior funcionalização com AuNPs estabilizadas em quitosana, e pela inserção covalente do corante tionina. Para que a detecção eletroquímica do microrganismo patogênico pudesse ocorrer, pretendia-se imobilizar uma biomolécula capaz de interagir com o patógeno, sendo a ocorrência da interação sinalizada pela tionina. Todavia, com o avanço da pandemia, os experimentos com esses microrganismos ficaram comprometidos, devido à inacessibilidade aos laboratórios parceiros, UFCSPA e ICTA-UFRGS, e, portanto, precisaram ser adiados. Dessa forma, o material sintetizado até aquele momento, foi então aplicado alternativamente na detecção eletroquímica de paracetamol.

2. Objetivo geral

Desenvolver uma matriz à base de nanotubos de carbono que possa ser funcionalizada com nanopartículas de ouro e outras espécies eletroativas, como tionina, para ser aplicada como sensor em detecções eletroquímicas.

2.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- a) Realizar a carboxilação dos nanotubos de carbono.
- b) Funcionalizar os nanotubos carboxilados com nanopartículas de ouro estabilizadas em quitosana.
- c) Imobilizar covalentemente a tionina nos nanotubos de carbono.
- d) Caracterizar todos os materiais desenvolvidos.
- e) Estudar a viabilidade de aplicação destes materiais como sensores eletroquímicos para a detecção de paracetamol.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Sensores e biossensores eletroquímicos

Uma visão geral das pesquisas em química analítica permite constatar que o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos representa uma das áreas de maior e mais rápido crescimento, no que diz respeito a sensores químicos. Em uma definição mais ampla, sensores químicos são dispositivos que fornecem informações contínuas acerca de seu ambiente. Idealmente, esses dispositivos transformam informações químicas em um sinal analiticamente útil, o qual está diretamente relacionado à quantidade de uma espécie química específica da amostra. Todos os sensores químicos consistem em um receptor e um transdutor. O primeiro pode ser descrito como um leito quimicamente seletivo, o qual responde à composição química da amostra, isolando a resposta do analito de seu ambiente imediato. Cabe ao transdutor transformar as mudanças de propriedade do receptor em um sinal detectável e mensurável na instrumentação moderna.^{6,30,31,32}

Dentre os grupos importantes pertencentes a essa classe de sensores químicos estão os sensores elétricos, ópticos, térmicos e de massa. Em comparação aos sensores ópticos, térmicos e sensíveis à massa, os sensores eletroquímicos ocupam uma posição de grande destaque, pois são especialmente atraentes devido às suas notáveis propriedades, como alta sensibilidade, confiabilidade de longo prazo, alta precisão, curto tempo de resposta, simplicidade experimental, baixo custo e possibilidade de miniaturização. Além disso, esses sensores apresentam uma ampla gama de aplicações importantes em diferentes campos, como em análises clínicas, industriais, ambientais e agrícolas.^{5,6,30,32}

Os sensores eletroquímicos podem ser classificados, de acordo com seu princípio de medição, em potenciométricos, amperométricos ou condutométricos. As técnicas de medição potenciométricas compreendem as medidas de potencial de um eletrodo a partir de um equilíbrio local estabelecido na interface do sensor. Assim, são obtidas informações sobre a composição da amostra em análise a partir da diferença de potencial entre dois eletrodos. Em técnicas amperométricas, explora-se a aplicação de um potencial entre um eletrodo de referência e um eletrodo de trabalho, a fim de causar a oxidação ou a redução de uma espécie eletroativa, e mede-se a corrente resultante. Já as técnicas condutométricas envolvem a medição de condutividade da amostra teste, em uma série de frequências.^{6,33}

A instrumentação básica que compõem um sensor eletroquímico tradicional requer um equipamento de potencial controlado e uma célula eletroquímica, a qual pode ser de dois ou três eletrodos imersos em um eletrólito adequado. No arranjo mais complexo, envolvendo três eletrodos (Figura 1), o eletrodo de trabalho (WE) é aquele no qual a reação de interesse irá ocorrer na solução que está sendo investigada. O eletrodo de referência (RE) mantém um potencial essencialmente constante sob as condições prevalentes na medição eletroquímica, isto é, fornece um potencial conhecido e constante, em relação ao WE. Dentre os tipos de RE usualmente empregados estão os eletrodos de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl), e os de calomelano saturado (Hg/HgCl₂). O terceiro eletrodo que compõe a célula eletroquímica consiste no eletrodo auxiliar, também chamado de eletrodo secundário ou contra-eletrodo, o qual é constituído de um material inerte, como por exemplo platina. Sua função reside em realizar o transporte da corrente elétrica que flui através do circuito elétrico da célula. Além dos três eletrodos, é necessário o emprego de um eletrólito suporte em experimentos que ocorrem em potencial controlado, pois assim pode-se eliminar os efeitos de corrente migratória, minimizar os efeitos da resistência da solução eletrolítica (queda ôhmica), e manter constante a força iônica da solução. Dentre os tipos de eletrólito suporte mais comumente empregados estão as soluções tampão fosfato de sódio ou potássio, Britton-Robinson e acetato, as quais podem ser acompanhadas de outros sais como o cloreto de potássio, nitrato de sódio ou sulfato de sódio, por exemplo.^{6,33}

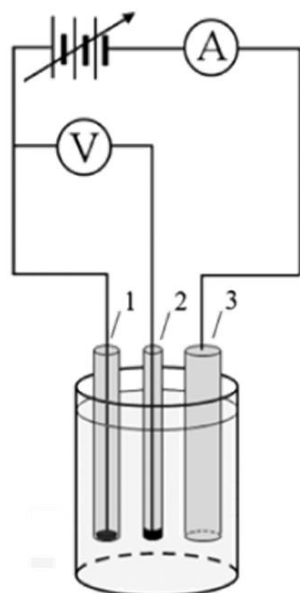


Figura 1. Esquema ilustrativo de uma célula eletroquímica de três eletrodos. 1 – Eletrodo de trabalho (WE); 2 – eletrodo de referência (RE); 3 – eletrodo auxiliar. O potencial (E) entre os eletrodos WE e RE é definido, enquanto a corrente flui e é medida entre WE e o eletrodo auxiliar.³³

3.2 Eletrodos quimicamente modificados

O desempenho analítico de um sensor eletroquímico está intimamente relacionado com a composição do WE. Assim, existe uma popularidade crescente no desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados (EQMs) a partir de eletrodos sólidos, como carbono, platina, ouro e prata, por exemplo. Diferentemente do eletrodo de mercúrio, o qual foi muito empregado em detecções clássicas de analitos desde a sua descoberta, os eletrodos sólidos se tornaram mais atrativos como materiais para constituição de WEs por possuírem uma janela de potencial versátil, apresentarem baixa corrente de fundo, baixo custo, inércia química, além de se adequarem a vários protocolos de detecção.^{6,31,32,33,34}

De acordo com a IUPAC, os EQMs são obtidos pela funcionalização deliberada da superfície ou do material da matriz de um eletrodo com uma substância ou agente modificador químico que governa suas propriedades eletroquímicas. A modificação pode ser conduzida por meio de métodos como quimissorção, funcionalização covalente, revestimentos com polímeros ou filmes finos, ou através da mistura do modificador com o material da matriz do eletrodo.³¹ A modificação de eletrodos permite que se obtenha maior controle das características e da reatividade do WE, uma vez que a funcionalização transfere as propriedades físico-químicas do modificador para o eletrodo nu (não modificado).^{6,32,33} Nesse sentido, a funcionalização de materiais viabiliza a obtenção de eletrodos com superfícies seletivamente ativas e promove suas propriedades eletroquímicas. Assim, EQMs resultam em sensores com maior estabilidade, sensibilidade e reprodutibilidade.

3.3 Eletrodo de pasta de carbono

Um dos tipos de eletrodos mais comumente empregados em processos de modificação é o eletrodo de pasta de carbono (CPE). O CPE consiste em uma mistura formada por pó de grafite e um líquido aglutinante (“colante”), o qual pode ser um óleo mineral (óleo de parafina) ou fluidos de silicone (Figura 2). Normalmente, o CPE é alojado em um suporte de teflon e contactado por um fio de material condutor.^{32,33,34,35} Esse eletrodo foi descrito pela primeira vez por Adams, em 1958. Seis anos após sua descoberta, Kuwana e French foram os primeiros a realizar a modificação de CPEs com espécies eletroativas para medir a resposta de compostos insolúveis em água em uma solução eletrolítica aquosa. Anos depois, em aproximadamente 1998, essa abordagem foi expandida para que se pudesse estudar o comportamento

eletroquímico de compostos inorgânicos insolúveis que podem ou não ser condutores de elétrons.³¹ Essas pesquisas deram espaço para que novas estratégias de funcionalização de CPEs pudessem surgir e, assim, ampliar o campo de aplicação desses eletrodos para os mais diversos tipos de analitos. Nesse sentido, os CPEs podem ser quimicamente modificados pela incorporação de reagentes, como por exemplo, eletrocatalisadores, mediadores redox, agentes de complexação, enzimas, e etc.; pela fixação de micro ou nanopartículas metálicas; ou ainda, pode-se incluir outros materiais previamente modificados em sua composição, além do pó de grafite, e formar pastas de carbono mais específicas.^{31,35}



Figura 2. Representação esquemática do preparo de um eletrodo de CPE.

3.4 Nanotubos de carbono (CNTs)

Os nanotubos de carbono (CNTs) foram evidenciados pela primeira vez no ano de 1991 pelo microscopista eletrônico japonês Sumio Iijima.^{13,36,37} Desde a publicação de seus trabalhos sobre nanotubos de paredes múltiplas (MWCNTs) e de parede única (SWCNTs), os CNTs emergiram no mundo científico com um dos materiais nanoestruturados mais intensamente investigados e inauguraram uma nova era no desenvolvimento das ciências dos materiais e biológicas.^{7,8} Esses materiais podem ser descritos como sendo construídos a partir de unidades de carbono trigonal, onde cada átomo de carbono forma ligações com outros três átomos de carbono, no plano.^{13,38} Os CNTs apresentam uma estrutura contínua com redes hexagonais em

forma de favo de mel e podem ter vários nanômetros de diâmetro e muitos microns de comprimento.

A classificação dos CNTs em SWCNTs e MWCNTs é feita de acordo com o número de camadas de carbono presentes em sua estrutura. A estrutura cilíndrica dos SWCNTs possui diâmetro de 0,4 – 2 nm, e é definida por uma única folha de grafite enrolada perfeitamente. Já os MWCNTs podem ser visualizados como cilindros de grafite concêntricos compostos por múltiplas camadas de folhas de grafite. O diâmetro desses materiais varia de 2 a 100 nm e a distância entre os cilindros é de aproximadamente 0,36 nm (Figura 3).^{7,11,13,38}

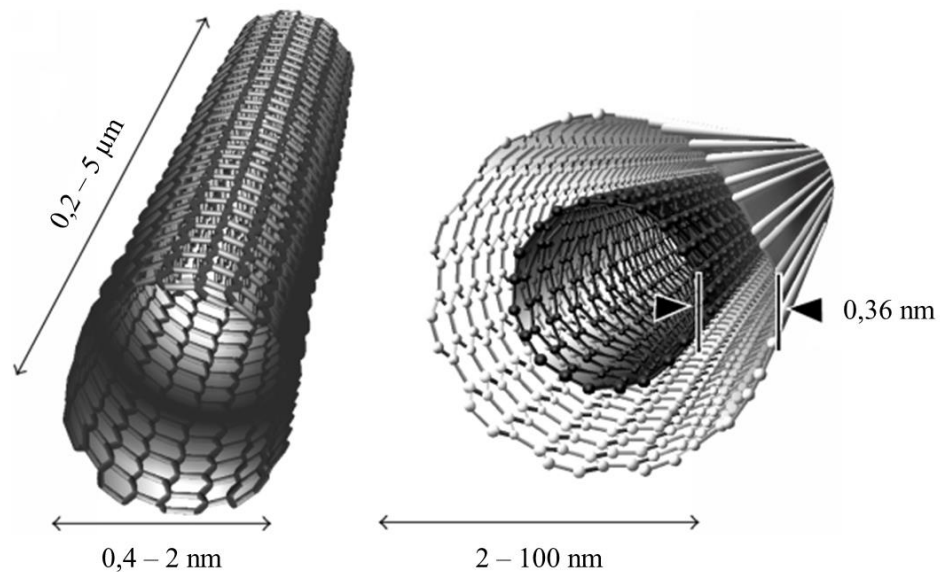


Figura 3. CNTs: SWCNTs à esquerda; MWCNTs (à direita). Adaptada da referência 11.

Os SWCNTs e MWCNTs podem ser produzidos por meio de três métodos básicos, os quais são descarga de arco elétrico, ablação a laser e deposição química de vapor.^{7,11,39,40,41} O primeiro método consiste na erosão de eletrodos de grafite por descarga elétrica, sob atmosfera de hélio. A sublimação do carbono, na elevada temperatura do plasma, produz SWCNTs e MWCNTs com alto rendimento e com controle sobre o tamanho dos nanotubos sintetizados. No método de ablação a laser, a vaporização do grafite ocorre através da incidência de uma fonte de laser em uma câmara de quartzo preenchida com gás argônio e mantida a 1200 °C, o que resulta em um rendimento menor, mas com CNTs de melhor qualidade e diâmetros muito pequenos. A obtenção de CNTs via método de deposição química de vapor envolve a pirólise de compostos gasosos com alto teor de carbono, como hidrocarbonetos. Esse processo ocorre empregando-se temperaturas elevadas, atmosfera de argônio e catalisadores como cobalto e

molibdênio, por exemplo. Além disso, os CNTs obtidos apresentam boa qualidade e diâmetros pequenos, mas com menor rendimento.^{13,38,39}

Os CNTs exibem notáveis propriedades físicas e químicas, como alta resistência à tração, peso ultraleve, excelentes propriedades ópticas e elétricas, alta estabilidade química e térmica, alta área superficial, entre outras.^{8,9,12,24,42} Nesse sentido, esses materiais são amplamente explorados na ciência dos materiais,²⁴ e possuem um vasto leque de possibilidades de aplicações, como em biomedicina,^{42,43,44} farmacologia,³⁹ no desenvolvimento de diagnósticos clínicos,⁷ na engenharia de tecidos,⁴⁵ segurança alimentar,^{7,46} monitoramento ambiental⁷ e, principalmente, no desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos.^{24,37,39,47,48}

3.4.1 Sensores eletroquímicos à base de CNTs

Há quase duas décadas, os CNTs são reconhecidos como candidatos significativamente interessantes para o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos.²³ A principal razão para a crescente busca de novas arquiteturas de dispositivos a partir desses materiais reside em suas propriedades distintas. Esses materiais são excelentes condutores elétricos, possuem atividade eletroquímica para uma ampla gama de espécies eletroativas, apresentam alta área superficial, facilidade de funcionalização e podem ser biocompatíveis.^{12,24,37,49,50,51}

Todavia, existem algumas limitações quanto à aplicação dos CNTs no desenvolvimento de sensores e biossensores. Dentre elas, destaca-se o fato de que esses materiais se apresentam como estruturas altamente emaranhadas e insolúveis em água, o que prejudica muito a sua capacidade de formar filmes uniformes e estáveis.^{9,46} As fortes interações entre as nanoestruturas de carbono nos CNTs, do tipo van der Waals, mais especificamente forças de London, diminui a mobilidade eletrônica, reduzindo a condutividade elétrica desses materiais.^{10,11,52,53} Além disso, dependendo do método de obtenção utilizado na síntese dos CNTs, impurezas residuais podem afetar a sua atividade eletroquímica, principalmente no que diz respeito ao emprego de nanopartículas de catalisadores, pois essas impurezas podem atuar como espécies eletroativas e influenciar fortemente no comportamento eletroquímico dos CNTs.^{11,23,49} Para construção de biossensores, por exemplo, esses resíduos de catalisadores podem também atuar como um “veneno” para as biomoléculas, inativando-as.⁵⁴

Nesse contexto, os CNTs são funcionalizados, geralmente, com dois propósitos: primeiro, solubilizá-los e isolá-los; segundo, para torná-los biocompatíveis ou funcionais para

uma aplicação específica.^{10,11,36,50,54} Existem diversas abordagens de modificação desses materiais, entre as quais as modificações covalentes e não-covalentes são as principais.^{11,12,37,50,54}

3.4.2 Funcionalização não-covalente dos CNTs

Métodos de funcionalização não-covalente consistem em abordagens alternativas para o ajuste de propriedades interfaciais dos CNTs. Esses métodos frequentemente introduzem menos defeitos na estrutura grafítica e não destroem o sistema conjugado das paredes laterais dos CNTs, mantendo assim, a estrutura e as propriedades originais desses materiais.¹⁰

Funcionalizações não-covalentes são baseadas nas interações da parte hidrofóbica de espécies adsorvidas nos CNTs, as quais podem ocorrer por meio de interação eletrostática ou empilhamento π - π .^{12,13,47,55} A partir dessas interações, podem-se desenvolver estratégias interessantes e eficientes para a imobilização de biomoléculas na superfície dos CNTs.⁵⁴

Nesse sentido, muitos polímeros biocompatíveis podem ser envolvidos ou adsorvidos fisicamente na superfície desses materiais por empilhamento π - π . A quitosana, como biopolímero com boa capacidade de formação de filme, tem sido amplamente utilizada na detecção de várias espécies biológicas através da formação de um sistema especial de Quitosana-CNTs.^{12,23,50,55} Além de polímeros, o uso de surfactantes para envolver a superfície dos CNTs é outra estratégia comumente empregada para modificar esses materiais de maneira não-covalente. Surfactantes solúveis em água, como dodecilsulfato de sódio e brometo de cetiltrimetilamônio, podem ser utilizados para melhorar a solubilidade e a estabilidade dos CNTs em várias suspensões.^{8,11,12,23,50,54} Embora os surfactantes sejam eficientes na solubilização dos CNTs, eles são em sua maior parte citotóxicos, e podem, portanto, limitar a aplicação biológica dos CNTs funcionalizados.³⁷

Os métodos de modificação não-covalentes são geralmente considerados como procedimentos bastante simples e rápidos, e podem envolver etapas como como sonicação ou uso de ultrassom, centrifugação e filtração, além de condições mais brandas que não afetam os CNTs.³⁷ A principal desvantagem da funcionalização não-covalente é que as forças entre a espécie modificadora e os nanotubos podem ser fracas e a eficiência da transferência de carga pode ser baixa.¹⁰

3.4.3 Funcionalização covalente dos CNTs

A funcionalização covalente é feita por meio da formação de ligações químicas nas extremidades e paredes laterais dos nanotubos. A abordagem mais comum para execução desse processo envolve a oxidação dos CNTs em meio ácido, empregando-se geralmente ácido nítrico ou uma mistura de ácido nítrico e ácido sulfúrico em sistema de refluxo ou por ultrassom.^{11,12,24,37,56} Dependendo dos tipos de agentes oxidantes empregados, diferentes grupos funcionais podem ser introduzidos nos CNTs durante a oxidação, como por exemplo –COOH (ácido carboxílico), C–O–C (éter), –COOCOC– (anidrido carboxílico), –OH (fenol), –COH (aldeído), –COO– (éster) e –CO– (carbonil). Adicionalmente, a oxidação dos nanotubos também resulta na remoção das impurezas oriundas dos processos de síntese desses materiais.^{11,57,58,59}

Os grupos funcionais resultantes do processo de oxidação dos CNTs são responsáveis pela redução das forças de London nesses materiais.¹² Subseqüentemente à carboxilação dos nanotubos, pode-se ainda realizar reações de esterificação ou amidação dos grupos carboxílicos, empregando-se agentes de acoplamento como o par cloridrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) e N-hidroxisuccinimida (NHS),^{10,13,60} o que possibilita a ligação covalente de outras espécies, como por exemplo, longas cadeias alquílicas, polímeros, dendrímeros, corantes orgânicos, ácidos nucléicos, enzimas e oligonucleotídeos. A inserção de funcionalidades nas estruturas dos CNTs carboxilados promove a estabilidade, acessibilidade e seletividade desses sistemas.¹² No desenvolvimento de biossensores, a ligação covalente tem a capacidade de controlar a localização das biomoléculas.⁵⁶

Todavia, o tratamento oxidativo dos CNTs também leva à erosão de sua estrutura. Já foi reportado que o encurtamento progressivo, juntamente com o estreitamento das camadas de CNT são produzidos por tratamento oxidativo, gerando ainda resíduos carbonáceos.¹³ Além disso, a funcionalização covalente dos CNTs exerce influência sobre suas propriedades intrínsecas, pois a resistência mecânica e as propriedades elétricas podem ser afetadas.⁴⁷ Nas propriedades elétricas, o impacto pode ser mais intenso, uma vez que em cada local de funcionalização covalente ocorre a inserção de um defeito na rede estrutural.¹⁰

3.5 Nanopartículas de ouro e quitosana

Por mais de 20 anos, a modificação de matrizes com nanomateriais com propriedades bastante atrativas, como metais, óxidos metálicos, nanomateriais à base de carbono, polímeros condutores e estruturas metal-orgânicas, tem se consolidado como uma das principais estratégias de arquitetura para impulsionar o desempenho analítico de plataformas eletroquímicas.⁵

Nanopartículas de metais nobres como as AuNPs exibem propriedades ópticas, químicas, eletrônicas e catalíticas exclusivas, sendo muito utilizadas na funcionalização de materiais para eletrodos para se obter amplificação de sinal eletroquímico, aumento de área superficial do WE, atividade eletrocatalítica sob as reações redox de analitos, além de melhorar a sensibilidade e seletividade eletroquímica.^{15,16,17}

As propriedades e aplicações das nanopartículas são significativamente influenciadas por seu tamanho e forma.^{16,17} Uma solução coloidal de AuNPs apresenta coloração vermelha intensa, quando constituída de partículas menores que 20 nm, sendo que acima desse valor a coloração muda progressivamente para azul, passando por violeta.^{19,61} Essas propriedades ópticas são causadas pelo efeito de ressonância de plasmon de superfície localizada, no qual os elétrons livres das AuNPs sofrem oscilação na presença de um campo eletromagnético oscilante, e a ressonância ocorre em uma frequência específica da luz.^{22,62,63,64,65}

O método mais comumente utilizado atualmente para a síntese de AuNPs foi desenvolvido por Turkevich e colaboradores em 1951 e melhorado por Frens em 1973. Este método baseia-se na redução química de espécies de ouro solúveis, como ácido cloroáurico (HAuCl₄) usando-se citrato ou borohidreto de sódio como agente redutor.^{17,66} O tamanho e a forma das partículas podem ser controlados pela concentração dos reagentes ou usando-se um surfactante como o brometo de cetiltrimetilamônio. Outras otimizações das condições experimentais permitem a preparação de AuNPs com vários formatos, tais como nanobastões, nanoestrelas, nanoclusters, estruturas *core-shell* e nanopartículas de formato irregular.¹⁷

Sendo as propriedades das AuNPs influenciadas pelo seu tamanho e forma, é muito importante manter um cuidado e controle na síntese de dispersões para que não ocorra o processo de coalescência das nanopartículas. Nanopartículas metálicas, tanto em dispersões líquidas como no estado sólido, são termodinamicamente instáveis e, portanto, tendem a agregação. Entretanto, a presença de agentes estabilizantes torna o processo de agregação cineticamente lento, pois inibe a aproximação e o contato entre as nanopartículas. Dentre os agentes estabilizantes que podem ser utilizados no preparo de dispersões de AuNPs estão

polímeros, biopolímeros, dendrímeros, surfactantes, microemulsões, micelas, tióis, líquidos iônicos e silsesquioxanos iônicos.⁶³

Dentre os biopolímeros que podem ser usados como agente estabilizante de AuNPs está a quitosana.^{15,19,20,21,22,67} A solubilização de quitosana em meio ácido resulta na protonação de seus grupos amino ($-NH_2$), possibilitando assim, a estabilização das AuNPs via mecanismo eletrostático (Figura 4). Em outras palavras, o impedimento estérico existente entre as nanopartículas, causado pelas longas cadeias poliméricas da quitosana adsorvidas em sua superfície, impede que as AuNPs venham a coalescer.^{19,20,21,22}

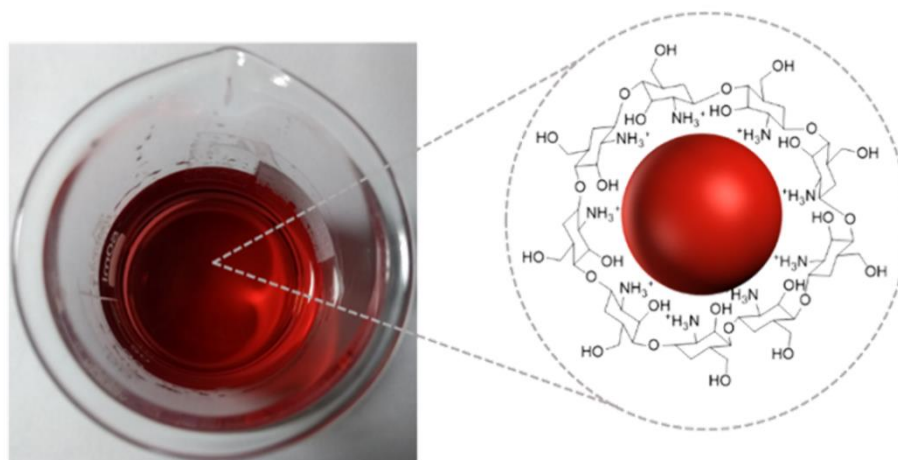


Figura 4. Dispersão de AuNPs estabilizadas em quitosana. Adaptada da referência 21.

Além das AuNPs, a quitosana tem sido gradualmente utilizada na funcionalização de materiais para aplicação em sensores e, principalmente, biossensores. A quitosana é um biopolímero polissacarídeo sintetizado pela desacetilação da quitina, um polímero natural encontrado no exoesqueleto de crustáceos.^{9,18} Adicionalmente, possui propriedades que são bastante atrativas para modificação de eletrodos. Dentre elas, podem-se citar excelente capacidade de formação de filmes, alta permeabilidade à água, boa adesão, suscetibilidade a modificações químicas, devido à presença de grupos funcionais amino e hidroxila reativos, biocompatibilidade, e baixo custo.^{12,23,68} A quitosana pode ser usada para funcionalizar os CNTs de forma não-covalente, envolvendo as paredes laterais desses materiais e proporcionando diferentes propriedades para que os CNTs possam interagir com sistemas biológicos.⁵⁵

3.6 Tionina

A tionina é um corante catiônico do tipo fenotiazina, que possui uma estrutura aromática plana com dois grupos $-NH_2$ simetricamente distribuídos (Figura 5).^{24,69,70,71,72} Assim como outros corantes orgânicos, azul de metileno, azul de meldola, azul da Prússia, verde de metileno, entre outros, a tionina é usada na funcionalização de materiais para aplicação em sensores, devido às suas propriedades eletroquímicas. Em um sistema redox, esse corante atua como um mediador de elétrons, diminuindo o sobrepotencial de oxirredução de diversos analitos.^{24,25,69,71,73,74} Além disso, nos sistemas em que o sinal analítico não resulta de um processo redox, como em biossensores para detecção de microrganismos patogênicos, a tionina pode atuar como um sinalizador eletroquímico do evento que ocorre na superfície do eletrodo.⁷⁵

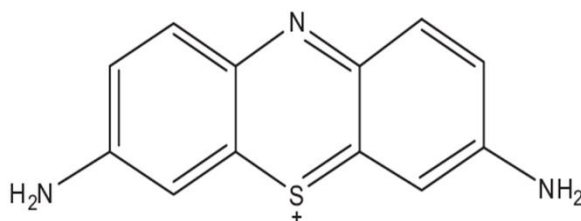


Figura 5. Representação da estrutura da molécula de tionina.

Os CNTs podem ser funcionalizados com a tionina por meio de métodos não-covalentes, através de interações do tipo π - π ou eletrostáticas;⁷⁰ ou ainda, por métodos covalentes, por meio do uso de agentes de acoplamento solúveis em água, como o par EDC/NHS, os quais ativam os grupos carboxílicos dos CNTs oxidados, através da formação de um éster de baixa estabilidade, que é substituído pela amida formada no meio reacional. Na Figura 6 as reações envolvidas no processo de inserção covalente da tionina são esquematicamente representadas.⁷⁶ Inserindo-se, inicialmente, somente o EDC no meio reacional, os grupos carboxílicos dos CNTs oxidados são ativados por meio da formação de um éster de alta reatividade, conhecido como éster de *orto*-acilisourea. Com a adição do reagente NHS, formam-se no meio reacional uma ureia e um éster de maior estabilidade que o anterior. Esse último permite que o produto reacional desejado seja efetivamente formado ao término da reação de acoplamento. A inserção da tionina resulta na substituição desse éster seguida da formação de uma amida no meio reacional.

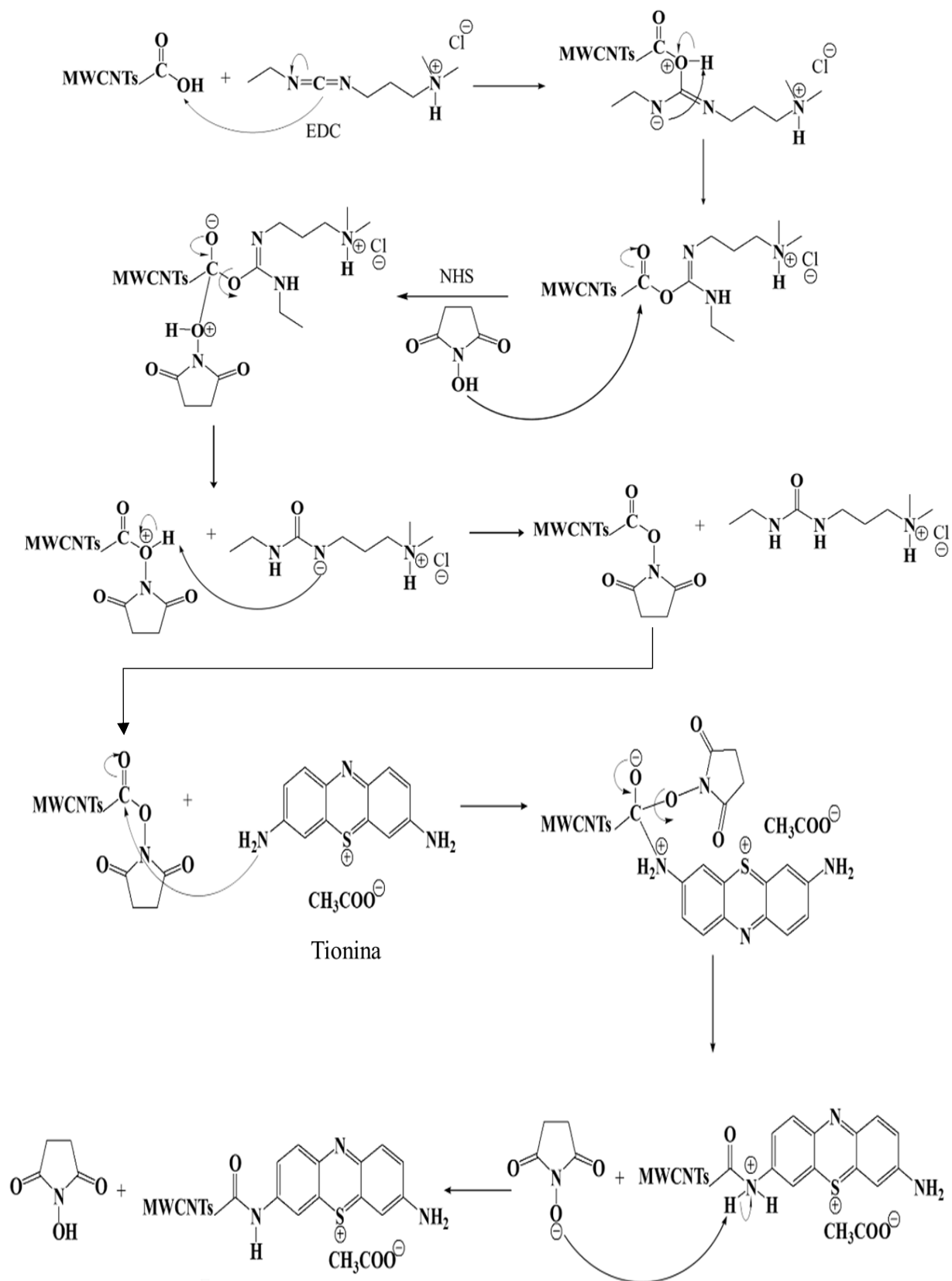


Figura 6. Representação esquemática da reação de acoplamento do corante tionina na estrutura dos CNTs carboxilados. Adaptado da referência 24.

3.7 Paracetamol

O 4-acetamidofenol ou paracetamol é um dos analgésicos e antipiréticos mais populares comercializados sem a necessidade de prescrição médica, amplamente usado no mundo.⁷⁷ Como analgésico, a atividade desse composto é baseada na inibição da formação de glândulas responsáveis por mecanismos patogênicos inflamatórios no sistema nervoso central. O efeito antipirético se dá por meio da sedação da regulação do calor na região hipotalâmica.^{29,78}

Em geral, o paracetamol é considerado um medicamento seguro e eficaz no combate das dores, como dor de cabeça, enxaqueca, cólica menstrual, dor nas articulações, dor de dente, dor pós-operatória, entre outras, desde que consumido em doses regulares terapêuticas.^{26,29,79,80} Todavia, a ingestão excessiva desse composto pode resultar em riscos graves para saúde.⁸⁰ Os danos provocados pelo consumo de alta dosagem incluem problemas hepáticos e reações de hipersensibilidade graves.^{27,28,78} Nesse contexto, torna-se muito importante a detecção e quantificação de paracetamol tanto em formulações farmacêuticas, quanto em fluidos biológicos, por meio de métodos de análise que sejam confiáveis, precisos, simples, de resposta rápida e baixo custo.

Entre os métodos analíticos comumente usados para a detecção desse composto estão a espectrofotometria, cromatografia, eletroforese capilar, quimioluminescência e análise termogravimétrica. Entretanto, esses métodos possuem algumas limitações, como alto custo, consumo alto de tempo, e alguns apresentam menor sensibilidade e baixa seletividade.^{26,27,77,79} Além disso, muitos desses métodos requerem um operador altamente qualificado e um laborioso pré-tratamento de amostras, o que os torna inadequados para análises de rotina.^{81,82}

Diante do exposto, os métodos eletroquímicos consistem em uma excelente alternativa para superar essas limitações, visto que envolvem sistemas de baixo custo, não requerem longos processos de preparação de amostra, fornecem respostas em curto período de tempo, podem ser miniaturizados, além de serem sensíveis e seletivos.^{29,83,84}

3.8 Métodos voltamétricos de análise

Há quase cem anos atrás, o cientista Jaroslav Heyrovský trouxe ao mundo científico a polarografia, por meio da qual era realizada o que atualmente se conhece por uma voltametria de varredura linear utilizando-se um eletrodo de mercúrio como eletrodo de trabalho. Durante as décadas de 1960 e 1970, foram realizados muitos avanços na teoria e instrumentação da

polarografia, e várias técnicas polarográficas foram desenvolvidas, como a voltametria cíclica (CV), voltametria de varredura linear (LSV), a voltametria de pulso diferencial (DPV) e voltametria de onda quadrada (SWV).^{31,31,85}

A CV é considerada a técnica eletroanalítica mais comum, simples, rápida, e até mesmo, a mais direta dentre as demais técnicas para adquirir informações qualitativas e quantitativas sobre uma espécie eletroativa. A grande importância associada a ela resulta de sua capacidade de fornecer informações consideráveis sobre a reversibilidade, a termodinâmica e a cinética de reações na superfície do eletrodo. No estudo eletroanalítico de sensores e biossensores, a CV é frequentemente o primeiro experimento realizado. Em particular, essa técnica oferece uma localização rápida dos potenciais de oxidação e redução das espécies eletroativas e uma avaliação conveniente do efeito do meio reacional nos processos redox dessas espécies.^{31,33,85,86}

Na CV, aplica-se a um eletrodo de trabalho uma varredura linear de potencial em uma taxa constante. O processo ocorre a partir de um potencial negativo para um potencial positivo, podendo também ser de um potencial positivo para um potencial negativo, sendo posteriormente, realizada a varredura na direção reversa. A corrente resultante na superfície do eletrodo é medida em cada potencial aplicado, portanto, a CV é uma técnica amperométrica.^{85,86} Dependendo da informação buscada, podem ser usados ciclos únicos ou múltiplos. É importante destacar que taxa de varredura deve ser suficientemente longa para permitir que as reações químicas ocorram em um grau significativo. As medições obtidas são plotadas como corrente *versus* tensão em um gráfico denominado como voltamograma (o qual também receberá a sigla “CV”, nesse trabalho). Na Figura 7 é ilustrado um diagrama esquemático de um CV obtido para um par redox, durante um ciclo de varredura de potencial.^{85,86}

A corrente registrada em um CV (I_{total}) é resultante da contribuição das correntes faradaica ($I_{faradaica}$) e capacitiva ($I_{capacitiva}$), as quais se originam de processos que ocorrem na superfície do eletrodo. A $I_{faradaica}$ está relacionada à corrente gerada obedecendo a Lei de Faraday, em que a quantidade de carga elétrica que passa pela interface eletrodo/solução é diretamente proporcional ao fluxo de elétrons de uma reação química.^{86,87,88} Assim, a $I_{faradaica}$ é atribuída à transferência de elétrons oriunda de uma reação química que ocorre na superfície do eletrodo. Em contrapartida, a $I_{capacitiva}$, ou corrente não-faradaica, não segue a Lei de Faraday e está relacionada com a corrente gerada no processo de polarização da dupla camada elétrica na superfície do eletrodo. Esse processo é inerente ao sistema, uma vez que ao se aplicar uma diferença de potencial entre dois eletrodos, sempre haverá uma passagem de corrente na solução, resultante da separação das cargas.^{86,87,88}

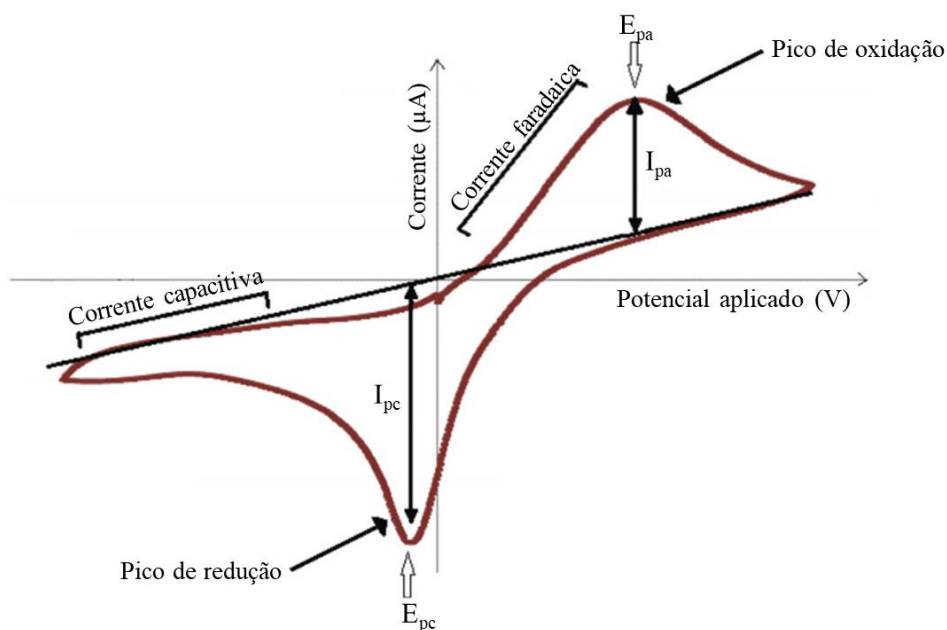


Figura 7. Diagrama esquemático de um voltamograma cíclico destacando os parâmetros: potencial catódico de pico (E_{pc}), potencial anódico de pico (E_{pa}), corrente catódica (I_{pc}) e corrente anódica (I_{pa}). Adaptada da referência 89.

3.8.1 Interpretação dos resultados de um CV

Vários parâmetros importantes no estudo eletroquímico de materiais podem ser obtidos a partir da análise de um CV. Quatro desses parâmetros são observáveis, como as intensidades de corrente de pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}), além dos potenciais de pico correspondentes, E_{pa} e E_{pc} . A partir dos mesmos tem-se a base para o diagnóstico desenvolvido por Nicholson e Shain.^{86,89}

3.8.2 Sistemas reversíveis, quase-reversíveis e irreversíveis

Pode-se classificar a reação no eletrodo quanto à sua reversibilidade em reversível, quase-reversível e irreversível. Em sistemas considerados reversíveis e quase-reversíveis observa-se a presença de um pico anódico e um pico catódico. Já nos sistemas irreversíveis apenas um pico é observado, o qual pode ser anódico ou catódico, dependendo da espécie

eletroativa em estudo.^{86,87,88,90} Para um sistema reversível, a corrente de pico redox a 25 °C é dada pela equação de Randles–Sevcik (Equação 1). Na qual, n é o número de elétrons, A é a área do eletrodo (cm^2), C a concentração da espécie eletroativa (mol cm^{-3}), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) e v é a velocidade de varredura (mV s^{-1}). Consequentemente, I_p é diretamente proporcional à concentração da espécie eletroativa e aumenta com a raiz quadrada da taxa de velocidade de varredura ($v^{1/2}$). Essa relação de dependência entre I_p e $v^{1/2}$ é indicativo de que a reação na superfície do eletrodo é controlada por um transporte de massa (difusão linear semi-infinita). Além disso, a razão entre I_{pa}/I_{pc} é equivalente à unidade para processos reversíveis simples.^{85,86,91}

$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \text{ (Equação 1)}$$

A posição dos picos no eixo de potencial (E_p) está relacionada ao potencial formal (E^0) do processo redox. Para sistemas reversíveis, E_p formal encontra-se centrado entre E_{pa} e E_{pc} (Equação 2).⁸⁶ Ou seja, a separação entre os picos anódico e catódico ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) equivale a 59 mV para processos envolvendo apenas 1 elétron.^{86,87,91}

$$E^0 = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \text{ (Equação 2)}$$

Assim, ΔE_p pode ser usado como um parâmetro para determinar o número de elétrons transferidos, além de ser um critério para um comportamento Nernstiano. Adicionalmente, em processos redox reversíveis os valores de E_{pa} e E_{pc} são independentes da velocidade de varredura.⁸⁶

Para sistemas quase-reversíveis a cinética da transferência eletrônica interfacial não é tão rápida como a de sistemas reversíveis, consequentemente os CVs para esses sistemas exibem maiores valores de ΔE_p . Além dos parâmetros termodinâmicos considerados nas reações reversíveis, a resposta eletroquímica dos processos quase-reversíveis também é influenciada por alguns parâmetros cinéticos, como a constante de transferência de carga (k_s) e o coeficiente de transferência de carga (α). O primeiro está relacionado com a constante de velocidade da reação, enquanto que o segundo diz respeito às barreiras de energia de ativação envolvidas no processo de oxirredução de uma espécie. Logo, I_p não necessariamente deve ser proporcional a $v^{1/2}$ e, com o aumento da velocidade de varredura, observa-se uma tendência à irreversibilidade do processo redox.^{87,90,92}

Por fim, a partir da relação obtida entre I_p e a velocidade de varredura (v), além da reversibilidade do processo, outras informações podem ser fornecidas. A relação linear entre I_p e v indica que o mecanismo controlador do processo redox na superfície do eletrodo é a adsorção. Em outras palavras, a etapa lenta para a reação consiste na etapa de adsorção do analito ao sítio ativo na superfície do eletrodo. Quando se observa uma variação linear de I_p com $v^{1/2}$, presume-se que o mecanismo que controla a reação é o processo difusivo que ocorre na interface eletrodo/solução, o qual será dependente da taxa de difusão do analito até o sítio ativo do eletrodo.^{87,90,92}

3.8.3 Sistemas envolvendo a adsorção de espécies na superfície de eletrodos

A CV é uma técnica que também permite a avaliação do comportamento interfacial de compostos eletroativos. Existe a possibilidade de que tanto o reagente quanto o produto de uma reação possam estar envolvidos em um processo de adsorção-dessorção na superfície do eletrodo. Tal comportamento interfacial pode ocorrer em estudos envolvendo diversos compostos orgânicos, como também complexos metálicos (se houver adsorção de um ligante específico). Assim, a CV é considerada muito útil para a investigação qualitativa e quantitativa de reações envolvendo processos de adsorção.^{86,92}

Para sistemas considerados de comportamento Nernstiano, ΔE_p é igual a zero e I_p é diretamente proporcional à superfície recoberta (Γ) e à taxa de varredura de potencial (v), conforme é apresentado na Equação 3. Além disso, nesses sistemas a difusão das espécies é dependente de $v^{1/2}$. Todavia, na prática, o comportamento ideal é aproximado para taxas lentas de v e para uma camada adsorvida que não apresenta interações intermoleculares e possui transferência de elétrons rápida.^{86,92}

$$I_p = \frac{n^2 F^2 \Gamma A v}{4RT} \text{ (Equação 3)}$$

Para sistemas não Nernstianos, a forma do CV muda. Para o caso irreversível, o pico direto deixa de ser simétrico e não há pico reverso. Para reações quase-reversíveis, ter-se-á um pico reverso, mas ambos os picos serão assimétricos e os potenciais de pico não serão coincidentes.

CVs em que ocorrem processos de adsorção de espécies apresentam algumas diferenças em relação aos CVs em que, tanto produtos como reagentes, são dissolvidos em solução, ou seja, não se adsorvem na superfície do eletrodo. Dentre essas diferenças podem-se destacar, um aumento gradual de I_{pa} e I_{pc} , indicando um acúmulo adsortivo progressivo na superfície, e menores valores para a separação de picos (ΔE_p). Além disso, os processos adsortivos revelam CVs em que I_p é proporcional a v . O método mais simples e direto para se analisar os efeitos de adsorção de espécies no eletrodo, a partir dos voltamogramas obtidos, é através da inclinação da curva entre $\log I_p$ e $\log v$. Se a reação do eletrodo for controlada apenas por difusão, a inclinação da curva deve ser igual a 0,5, de acordo com a equação de Randles-Sevcik (Equação 1). Se a adsorção for efetiva na reação do eletrodo, a inclinação deve ser maior que 0,5.

4. Parte experimental

4.1 Materiais

Nesse trabalho foram usados dos seguintes reagentes: Acetato de tionina (85%, Sigma Aldrich). Ácido cloroáurico (obtido através da dissolução de ouro em solução de água régia). Ácido fórmico (85%, Neon). Ácido sulfúrico (95-97%, Merck). Ácido nítrico (65%, Sigma Aldrich). Borohidreto de sódio (Vetec). Cloridrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC, 98%, Sigma Aldrich). Fosfato de sódio dibásico anidro PA (Dinâmica). Fosfato de sódio monobásico PA (98%, Fmaia). Grafite em pó (Sigma Aldrich 99,99%). Hidróxido de sódio (98%, Dinâmica). Nanotubos de carbono de paredes múltiplas Baytubes C150P (Bayer Materials Science). Nitrato de sódio (99%, Dinâmica). N-hidroxisuccinimida (NHS, 98%, Sigma Aldrich). Quitosana de baixo peso molecular (Sigma Aldrich, grau de desacetilação de 75-85%). Óleo mineral (Nujol[®], Mantecorp). Papel filtro quantitativo (filtração rápida, diâmetro de 12,5 cm, Unifil). Paracetamol (4-acetamidofenol, 98%, Sigma Aldrich).

4.2 Carboxilação dos nanotubos de carbono

O procedimento para a reação de carboxilação dos nanotubos foi adaptado a partir de um protocolo previamente reportado.⁹³ Em um balão de fundo redondo, foram adicionados 2 g de nanotubos de carbono (MWCNTs), seguidos de 10 mL de ácido nítrico e 30 mL de ácido sulfúrico. A reação foi conduzida em um sistema de refluxo, durante 30 minutos, sob agitação magnética e mantendo-se a temperatura em 120 °C. Transcorrido esse período, a mistura foi resfriada em banho de gelo e filtrada, utilizando-se papel filtro quantitativo com espessura de 0,20 mm e capacidade de retenção média de 7 a 12 µm), lavando-se diversas vezes o material com água destilada. Após o processo de filtração, os nanotubos foram secos sob vácuo à temperatura ambiente, triturados e distribuídos em tubos falcon de 15 mL (200 mg de nanotubos carboxilados por tubo) para que pudessem ser continuamente lavados e centrifugados (3000 rpm durante 10 minutos) até que a solução sobrenadante apresentasse coloração clara e tivesse pH em torno de 6,0. Ao fim desse processo, o material foi novamente seco sob vácuo,

mantendo-se a temperatura do sistema em 65 °C, e nomeado como *f*-MWCNTs. A Figura 8 apresenta um resumo das etapas do processo de preparação dos *f*-MWCNTs.

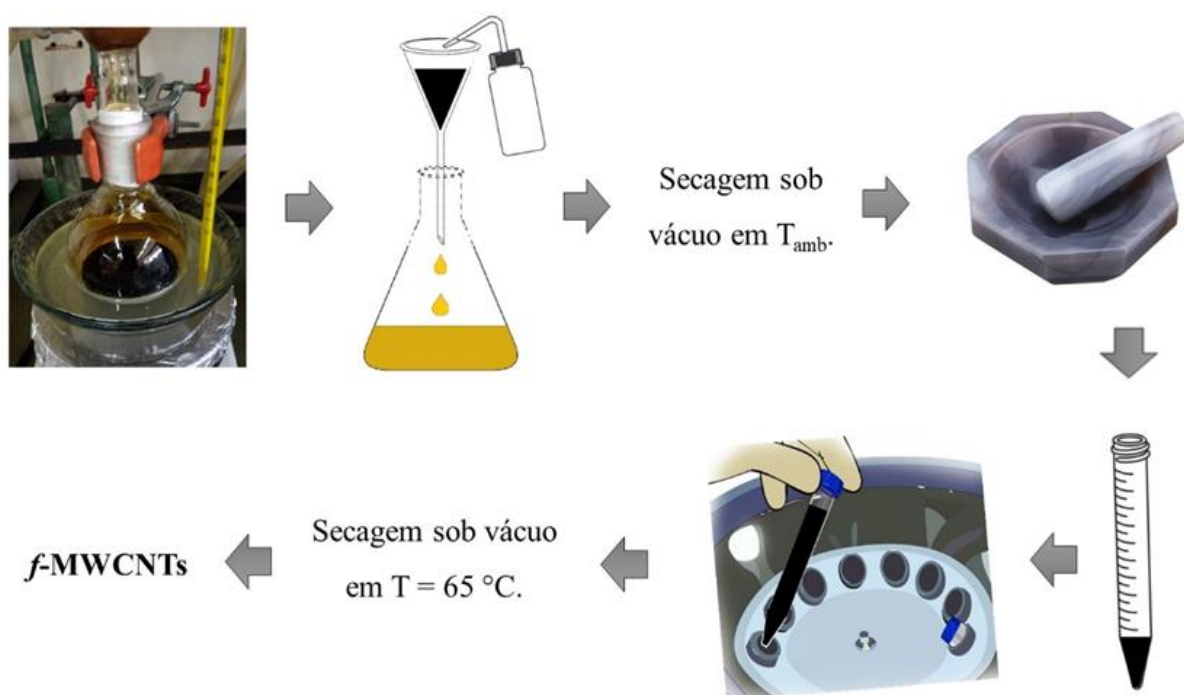


Figura 8. Etapas do processo de carboxilação dos nanotubos de carbono.

4.3 Preparo da dispersão de nanopartículas de ouro estabilizadas em quitosana

As nanopartículas de ouro (AuNPs) foram preparadas a partir da dissolução de 150 mg de quitosana (Quit) em 2 mL de ácido fórmico e 18 mL de água destilada. Após a completa solubilização da Quit, foram adicionados à mistura 4 mL de uma solução 0,015 mol L⁻¹ de ácido cloroáurico (HAuCl₄) e 10 mL de solução de borohidreto de sódio (NaBH₄) 0,02 mol L⁻¹. A dispersão permaneceu em repouso por 24 horas. Transcorrido esse período, realizou-se a desprotonação da quitosana, alterando-se o pH da dispersão de 1,2 para 5,2 com uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹. O volume final obtido após a troca do pH da dispersão foi de aproximadamente 600 mL. Assim, a concentração de quitosana na dispersão foi de aproximadamente 2,5 × 10⁻⁴ g mL⁻¹, enquanto que a concentração de ouro na dispersão foi de aproximadamente 1 × 10⁻⁴ mol L⁻¹. A dispersão de nanopartículas de ouro foi designada como Quit-AuNPs.

4.4 Modificação dos *f*-MWCNTs

4.4.1 Funcionalização com Quit e Quit-AuNPs

A funcionalização dos *f*-MWCNTs com Quit foi realizada a partir da dispersão, em ultrassom, de 150 mg de *f*-MWCNTs em 1 mL de água, durante 15 minutos. Após, 25 mL de uma solução de Quit foram colocados em contato com os *f*-MWCNTs, durante 24 horas, sob agitação mecânica. Essa solução foi preparada dissolvendo-se 150 mg de Quit em 2 mL de ácido fórmico e 18 mL de água. Em seguida o pH da mesma foi ajustado de 1,65 para 5,2, com uma solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, o que resultou em um volume final de aproximadamente 300 mL. Logo, a concentração de quitosana nessa solução era de aproximadamente 5×10^{-4} g mL⁻¹.

A modificação dos *f*-MWCNTs com Quit-AuNPs foi realizada da mesma forma como descrito acima. A Quit-AuNPs também permaneceram em contato com os *f*-MWCNTs por 24 horas e sob agitação mecânica. A concentração estimada de Au no sistema era de aproximadamente $9,6 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹.

Transcorrido o tempo de contato, a agitação foi interrompida e os respectivos sobrenadantes foram removidos, após a decantação dos nanotubos funcionalizados em ambos os sistemas. Os materiais foram então designados como *f*-MWCNTs/Quit e *f*-MWCNTs/Quit-Au. A Figura 9 apresenta um resumo das etapas de funcionalização dos *f*-MWCNTs com Quit e Quit-AuNPs.

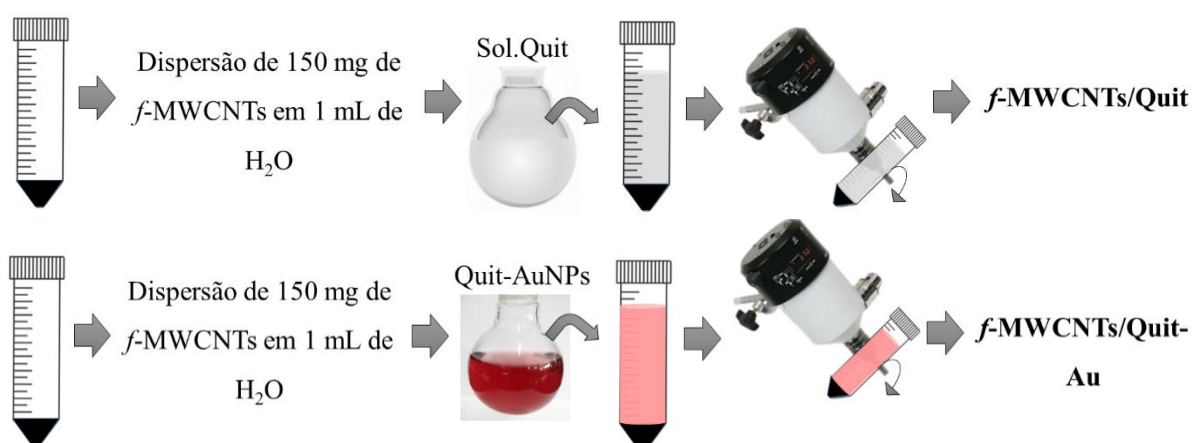


Figura 9. Etapas de funcionalização dos *f*-MWCNTs com Quit e Quit-AuNPs.

4.4.2 Funcionalização com o corante acetato de tionina

Aos sistemas *f*-MWCNTs/Quit e *f*-MWCNTs/Quit-Au foram adicionados 15 mL de uma solução 0,03 mol L⁻¹ de EDC e 15 mL de uma solução 0,04 mol L⁻¹ de NHS. Os mesmos permaneceram sob agitação durante 1 hora.

Em seguida, os sobrenadantes foram removidos e os materiais foram colocados em contato por 24 horas com 15 mL de uma solução 0,001 mol L⁻¹ de acetato de tionina (Tio). Ao término do tempo de contato, os sobrenadantes foram removidos de cada sistema e o material foi lavado cinco vezes com água destilada e secos sob vácuo. Posteriormente, os materiais obtidos foram nomeados como *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio (Figura 10).

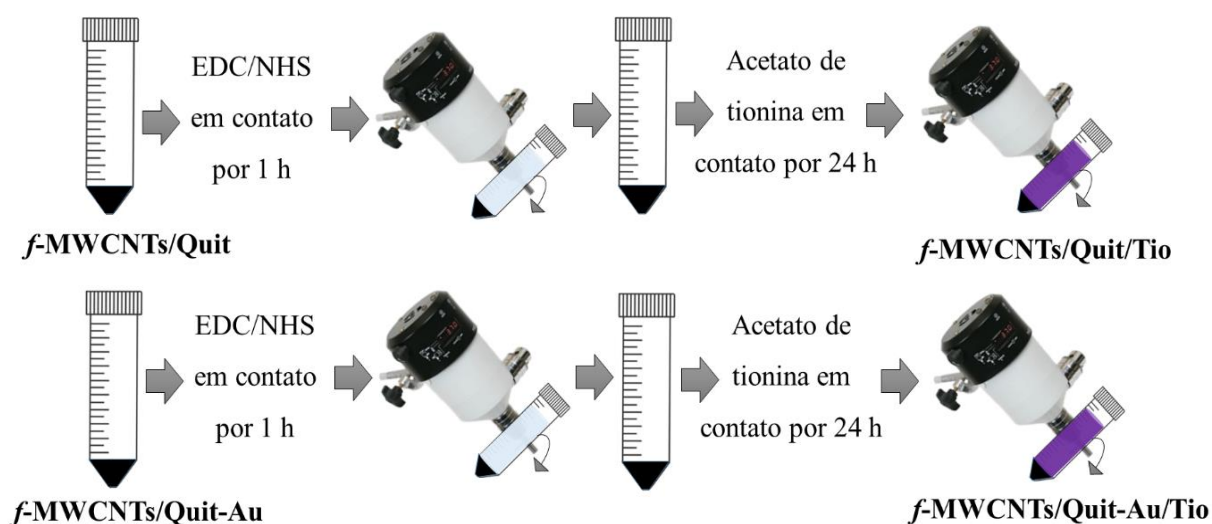


Figura 10. Etapas de funcionalização dos materiais *f*-MWCNTs/Quit e *f*-MWCNTs/Quit-Au com o corante acetato de tionina.

Além desses sistemas, foi preparado o material *f*-MWCNTs/Tio, seguindo os mesmos procedimentos adotados para os materiais *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio. Isto é, 150 mg de *f*-MWCNTs foram pré-dispersos utilizando-se o ultrassom, durante 15 minutos. Em seguida, foram colocados em contato com as soluções de EDC e NHS por 1 hora, sob agitação mecânica. Posteriormente, o sobrenadante foi removido e a solução do corante tionina foi adicionada, permanecendo em contato com o material por 24 horas. Finalmente, o sobrenadante foi removido e o material nomeado como *f*-MWCNTs/Tio.

4.4.3 Construção dos eletrodos de pasta de carbono

A preparação dos eletrodos de pasta de carbono (CPE) envolveu a mistura de 5 mg de material (*f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio ou *f*-MWCNTs/Quit/Tio) com 11 mg de pó de grafite em gral de ágata. A seguir, foram adicionados 3,5 mg de óleo mineral. A pasta resultante foi comprimida contra um disco de platina localizado na extremidade de um tubo de vidro, o qual foi utilizado como eletrodo de trabalho (WE). O contato elétrico do eletrodo ocorreu com o uso de um fio de cobre.

4.5 Técnicas de caracterização

4.5.1 Difração de raios X

O material *f*-MWCNTs/Quit-Au foi submetido à análise de difração de raios X, utilizando um difratômetro modelo Bruker D8 Advance. A fonte de raios X utilizada foi de Cu K α , com voltagem e corrente de 40 kV e 40 mA, respectivamente. A faixa angular 2 θ foi de 15 a 70 graus. O passo de análise foi de 0,02 graus e o tempo de aquisição foi de 960 s.

4.5.2 Espectroscopia Raman

Os materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit-Au, *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio foram submetidos a análise por espectroscopia Raman, utilizando um espectrômetro conectado a um CCD (dispositivo de carga acoplada) resfriado a nitrogênio líquido, modelo Horiba Jobin Yvon HR 320 com laser de HeNe e comprimento de onda de 632,8 nm. O modelo de lente utilizada nas medidas foi MD Plan 50.

4.5.3 Espectroscopia na região do UV-Visível

O espectro da dispersão Quit-AuNPs e dos sobrenadantes resultantes dos processos de funcionalização dos *f*-MWCNTs foram obtidos utilizando um espectrofotômetro UV-160 1PC Shimadzu, na janela espectral de 200 a 800 nm, usando-se água destilada como amostra de

referência. O espectro de UV-Vis da amostra de Quit-AuNPs seca foi obtido utilizando um espectrofotômetro NIR Agilent modelo Cary 5000.

4.5.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

As imagens de TEM da dispersão Quit-AuNPs foram obtidas utilizando-se um microscópio JEM-1011, operando em 100 kV. A amostra foi preparada adicionando-se uma gota da dispersão sobre uma grid de Cu, seguida de secagem em condições ambientes. A distribuição do tamanho das nanopartículas de ouro foi determinada utilizando o programa de computador Quantikov.

4.5.5 Isotermas de Adsorção e Dessorção de N₂

Os materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit-Au, *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio foram caracterizados por isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio. A análise foi conduzida na temperatura do nitrogênio líquido (-196°C) utilizando-se um equipamento Tristar Krypton II 3020 Micromeritics. As amostras foram previamente tratadas a 120 °C sob vácuo por 10 h. A área superficial específica dos materiais foi obtida empregando-se o método BET (Brunauer, Emmett e Teller), e as curvas de distribuição de tamanho de poros dos materiais foram determinadas utilizando o método BJH (Barret, Joyner e Halenda).⁹⁴

4.5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

Foram obtidas imagens de SEM para os materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio. Os materiais foram dispersos em fita condutora dupla-face de carbono, em um suporte de alumínio. As imagens foram obtidas utilizando um Microscópio Eletrônico de Varredura por Emissão de Campo (SEM-FEG) marca FEI modelo Inspect F50. As micrografias foram obtidas com magnificação de 100 000 × operando a uma voltagem de aceleração de 20 kV. Para o material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio foram obtidas também imagens no modo de elétrons retroespalhados (BSE) com magnificação de 10 000 × e 20 000 × e voltagem de aceleração de 20 kV.

4.5.7 Espectroscopia com Dispersão em Energia (EDS)

O material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio foi submetido à análise de EDS utilizando um espectrômetro Si(Li) Thermo Noram acoplado a um microscópio eletrônico de varredura SEM Jeol modelo LV5800. A imagem SEM, da qual foi feito o EDS, foi obtida no modo BSE e os espectros EDS foram adquiridos com energia de 20 kV. Para essa análise, foi obtida uma pastilha do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, prensando-se o mesmo com 5,0 ton cm⁻².

4.5.8 Análise Termogravimétrica

A análise termogravimétrica dos materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit-Au e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio foi realizada sob fluxo de nitrogênio de 50 mL min⁻¹ utilizando um equipamento Shimadzu, modelo TGA-50, com taxa de aquecimento de 20 °C min⁻¹, partindo da temperatura ambiente até 800 °C.

4.5.9 Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram conduzidas em um potenciostato/galvanostato marca Palmsens4, utilizando uma cela eletroquímica convencional de três eletrodos. Um eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl, NaCl 3 mol L⁻¹) foi utilizado como eletrodo de referência. Como eletrodo auxiliar (contra-eletrodo) utilizou-se um fio de platina. O CPE, previamente preparado, foi empregado WE. As medidas foram conduzidas em temperatura ambiente (20 °C). O software utilizado para tratamento dos dados foi o PSTrace5.8.

5. Resultados e discussões

Inicialmente, na Figura 11 encontra-se uma representação esquemática de todas as etapas de funcionalização dos nanotubos de carbono, bem como da obtenção dos diversos materiais.

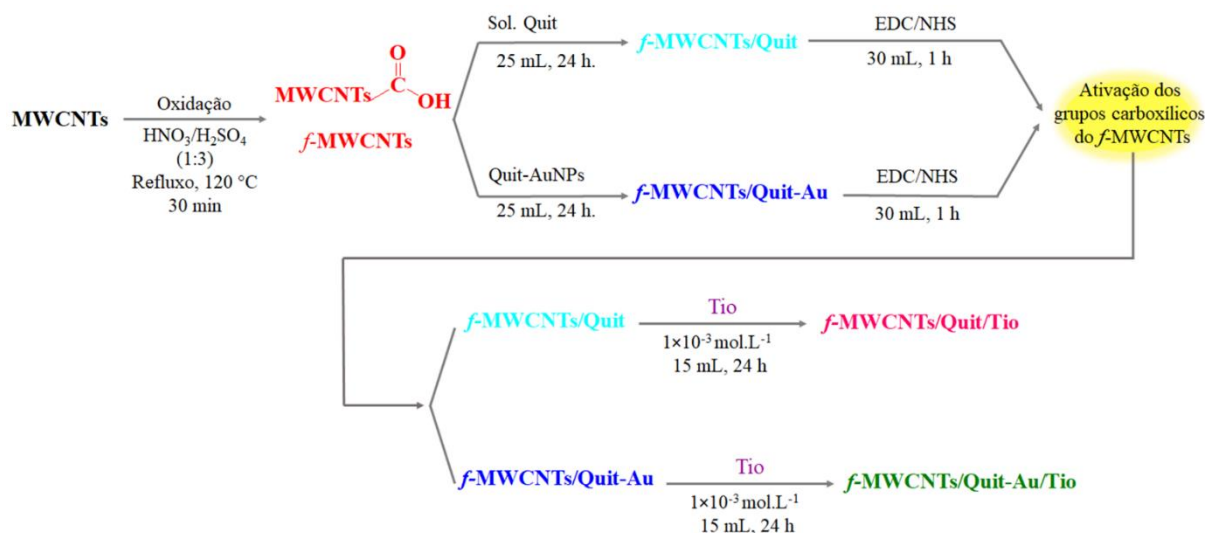


Figura 11. Representação esquemática de todas as etapas de funcionalização dos $f\text{-MWCNTs}$.

5.1 Difração de raios X

O material $f\text{-MWCNTs/Quit-Au/Tio}$ foi caracterizado por difração de raios X e o difratograma obtido está apresentado na Figura 12. É possível observar linhas largas em valores de $2\theta = 25,6^\circ$, $2\theta = 42,8^\circ$ e $2\theta = 53,2^\circ$. Essas linhas podem ser atribuídas à fase hexagonal gráfrica dos nanotubos de carbono.^{95,96,97} Além do disso, as regiões destacadas em vermelho no gráfico representam a contribuição dos planos atômicos do ouro, o que indica a formação da estrutura cristalina de Au. Os valores de 2θ próximos a $38,2^\circ$, $44,4^\circ$ e $64,6^\circ$ correspondem, respectivamente, aos planos indexados de Au (111), (200) e (220).^{98,99}

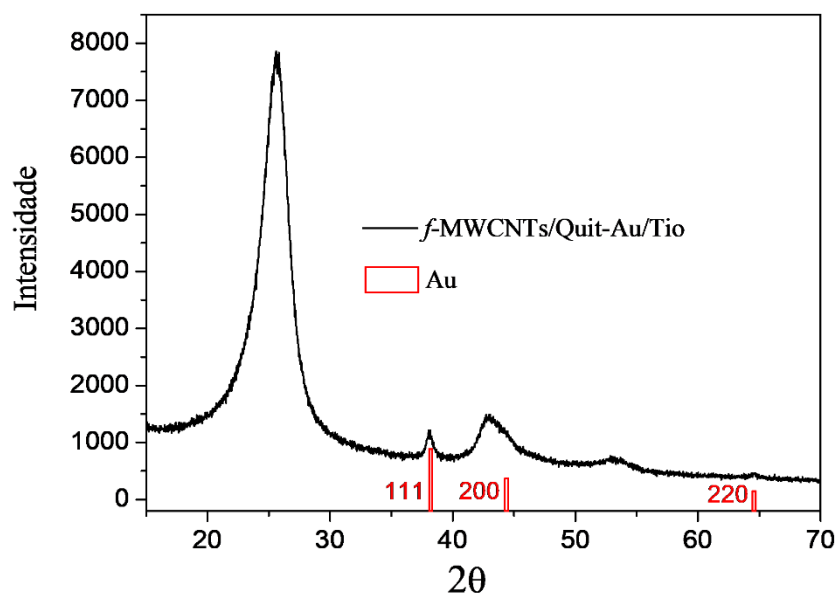


Figura 12. Difratoograma de raios X do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio.

Utilizando-se a equação de Scherrer (Equação 4) foi possível estimar o tamanho do cristalito de Au, que corresponde ao tamanho das AuNPs, na amostra *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, considerando-se a linha em $2\theta = 38,2^\circ$ correspondente ao plano (111) do cristal de Au. O valor obtido foi de 15,2 nm.

$$t = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta} \quad (\text{Equação 4})$$

5.2 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é considerada uma técnica bastante adequada para a caracterização de nanoestruturas de carbono.¹⁰⁰ Assim, foram obtidos espectros Raman para os materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit-Au, *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio. Os espectros são apresentados na Figura 13.

É possível observar, no espectro de todos os materiais, três bandas conhecidas como bandas D, G e G'. Para o espectro do material MWCNTs, essas bandas ocorrem em aproximadamente 1331 cm^{-1} , 1592 cm^{-1} e 2654 cm^{-1} , respectivamente. A banda D resulta da

presença de uma fração de átomos de carbono com geometria tetraédrica, nas paredes dos nanotubos. Esses átomos de carbono encontram-se em uma estrutura desordenada (amorfa). A razão para a desordem estrutural é apontada por trabalhos previamente reportados como sendo devido à presença de outras formas de carbono, as quais produzem defeitos nas paredes dos nanotubos, como vacâncias, pares de heptágono-pentágono, torções e até mesmo heteroátomos.^{100,101} A banda G é resultante de vibrações tangenciais de átomos de carbono com geometria trigonal plana, nas folhas de grafeno que compõem os nanotubos. A banda G' é um indicativo de uma estrutura ordenada de longo alcance na amostra, podendo ser um indício sobre a pureza dos MWCNTs. Essa banda é resultante da combinação de modos vibracionais com fônons, e como sua intensidade depende da ordem a longas distâncias é considerada sensível à pureza da amostra de nanotubos.¹⁰²

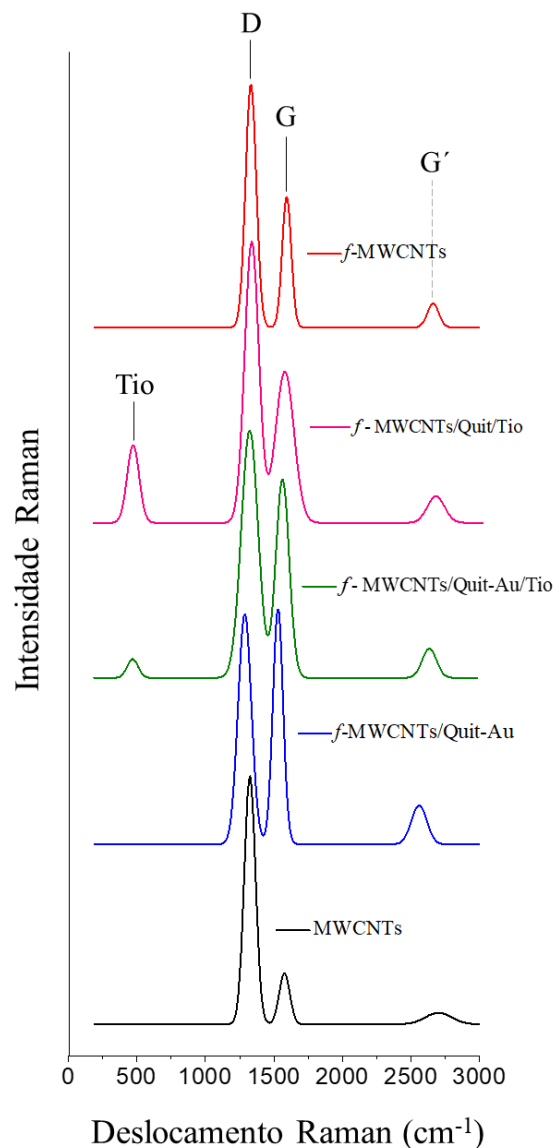


Figura 13. Espectros Raman obtidos para os materiais.

Além dos deslocamentos Raman apresentados pelas bandas descritas, a intensidade das bandas D (I_D) e G (I_G) também fornecem outras informações importantes. A razão entre I_D e I_G pode ser usada para se obter indícios acerca da presença de defeitos nos nanotubos de carbono. Na Tabela 1 são apresentados os dados de intensidade de cada uma dessas bandas obtidos para cada uma das amostras caracterizadas.

Tabela 1. Dados sobre deslocamento Raman e intensidades das bandas D, G e G' obtidos para os materiais caracterizados.

Amostra	Banda D (cm^{-1})	Banda G (cm^{-1})	Banda G' (cm^{-1})	I_D	I_G	$I_{G'}$	I_D/I_G
MWCNTs	1321	1584	2663	1016	878	1004	1,15
<i>f</i> -MWCNTs	1333	1597	2665	1868	1299	867	1,43
<i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au	1322	1587	2658	2524	2176	973	1,16
<i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio	1326	1586	2661	3023	2445	1393	1,24
<i>f</i> -MWCNTs/Quit/Tio	1326	1590	2665	1407	1171	889	1,20

A partir dos dados apresentados na Tabela 1, observa-se que os *f*-MWCNTs apresentaram um valor de I_D/I_G maior que o valor que fora obtido para os MWCNTs. Esse resultado é um indicativo do aumento do número de defeitos na estrutura dos nanotubos de carbono carboxilados.^{100,101,103} Esses defeitos podem estar associados à geração de sítios carboxila nos *f*-MWCNTs, após o processo de carboxilação com HNO_3 e H_2SO_4 . Além disso, o aumento na intensidade relativa da banda D, observado em todos os materiais obtidos a partir dos *f*-MWCNTs, pode ser atribuído a um aumento no número de átomos de carbono com geometria tetraédrica na estrutura dos nanotubos, como resultado da formação de grupos carboxila e hidroxila na superfície dos mesmos.¹⁰³

Observando-se novamente os gráficos incluídos na Figura 13, os materiais funcionalizados com o corante tionina (*f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio) apresentam a banda característica da tionina em torno de 482 cm^{-1} , com intensidade Raman de 1361 e 2128, respectivamente.¹⁰⁴ Esse resultado é um indicativo de que o corante foi imobilizado nesses materiais.

Por fim, destacam-se os materiais que foram funcionalizados com as nanopartículas de ouro estabilizadas em quitosana, Quit-AuNPs. A partir dos dados apresentados na Tabela 1, observa-se um aumento na intensidade das bandas características dos MWCNTs nesses

materiais. Além disso, no material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio esse aumento é mais pronunciado e ocorre também na intensidade do pico característico da tionina. Esse comportamento pode ser explicado pelo efeito SERS (“*Surface-enhanced Raman spectroscopy*”).^{105,106,107} Esse efeito consiste na amplificação de intensidade do sinal Raman de espécies localizadas em superfícies de nanopartículas metálicas, como prata, ouro e cobre, por exemplo. De acordo com trabalhos previamente publicados, duas teorias podem explicar a razão para esse comportamento. A primeira está relacionada ao aprimoramento eletromagnético, resultante da ocorrência de ressonância de plasmon de superfície, isto é, da interação dos elétrons do metal com a luz incidente, a qual amplifica o campo eletromagnético da superfície do metal, produzindo assim, significativas amplificações do campo do laser Raman. A segunda teoria que explica a ocorrência do efeito SERS consiste no aprimoramento químico, o qual proporciona amplificações na intensidade Raman quando a espécie se encontra adsorvida na superfície do metal, o que resulta em mudanças em sua polarizabilidade. Vale ressaltar que o aumento do sinal Raman está intimamente relacionado com as propriedades das espécies que interagem com as AuNPs.^{106,108}

Assim, o aumento na intensidade de sinal Raman do corante no material contendo AuNPs pode ser um forte indicativo da interação da tionina com as essas nanopartículas, pois a tionina apresenta uma estrutura molecular aromática conjugada, que pode sofrer um mecanismo de transferência de carga, o qual contribui para amplificação da intensidade do sinal Raman.^{108,109,110,111,112}

5.3 Espectroscopia na região do UV-Visível

5.3.1 Dispersão de AuNPs

A Figura 15 apresenta o espectro resultante da análise de UV-Vis da dispersão Quit-AuNPs em valores de pH obtidos durante a síntese, e da amostra Quit-AuNPs, a qual fora obtida a partir da secagem da dispersão Quit-AuNPs. A Figura 14 resume as etapas envolvidas no processo de preparado da amostra de Quit-AuNPs seca. Em todos os espectros, é possível observar a banda de ressonância de plasmon das AuNP na região de 530 nm, característica de nanopartículas de ouro com morfologia esférica.^{19,20,22,113} Essa banda é resultado da oscilação coletiva dos elétrons de condução do ouro, decorrente da interação das AuNPs com a luz

incidente. A ausência de banda no espectro de UV-Vis do sobrenadante resultante da imobilização das AuNPs nos *f*-MWCNTs é indicativo de que praticamente a dispersão de nanopartículas de ouro oferecida foi adsorvida pelo material.

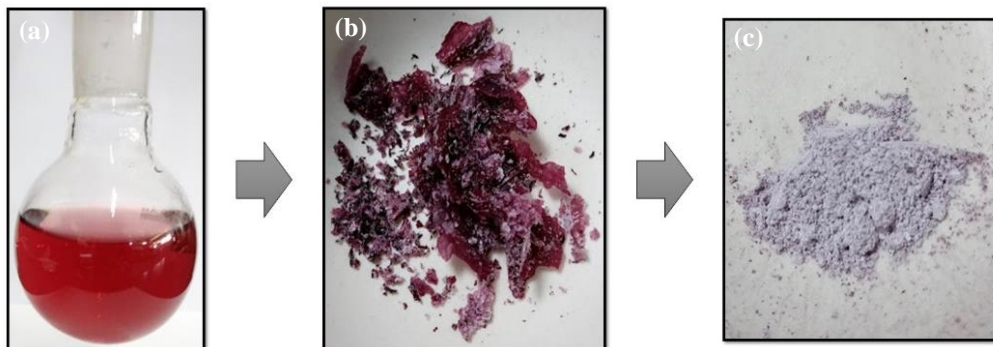


Figura 14. Etapas do processo de preparo da amostra Quit-AuNPs a partir da qual fora obtido o espectro de UV-Vis. (a): Dispersão Quit-AuNPs obtida após a troca de pH para 5,2; (b) sólido resultante da secagem da dispersão; (c) material resultante da trituração do sólido descrito em (b).

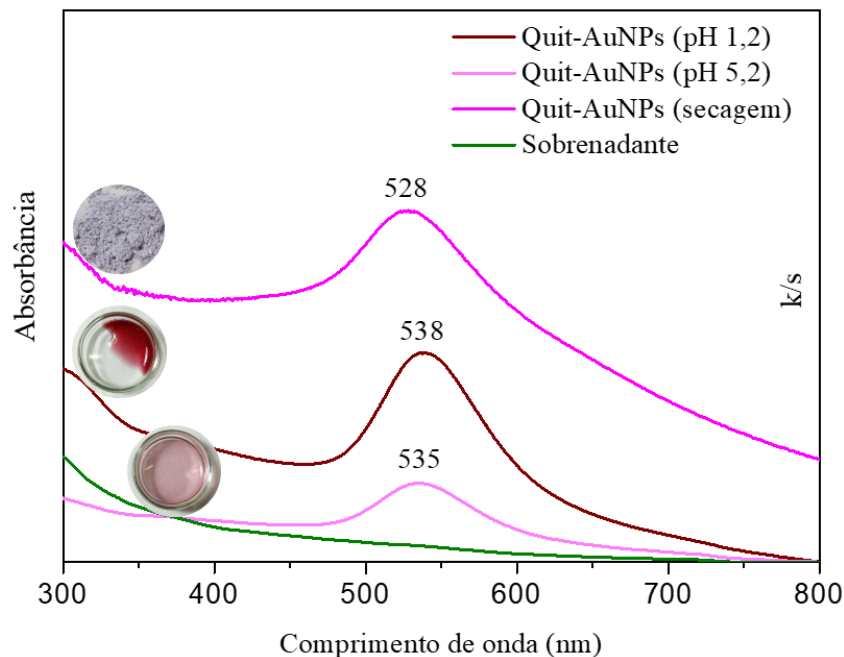


Figura 15. Espectros de UV-Vis obtidos para as dispersões de AuNPs, em diferentes valores de pH, sobrenadante resultante da imobilização das AuNPs no material *f*-MWCNTs.

5.3.2 Imobilização do corante

Na Figura 16 encontra-se o espectro de UV-Vis do corante tionina. São observadas duas bandas de absorção, em 284 nm e 600 nm, características das transições eletrônicas $\pi-\pi^*$ que ocorrem nos anéis aromáticos e das transições $n-\pi^*$ que ocorrem na ligação C=N tionina.^{114,115,116} É possível observar a ausência dessas bandas nos espectros dos sobrenadantes (resultantes dos processos de imobilização do corante nos materiais *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio), o que indica que praticamente todo o corante oferecido aos materiais foi adsorvido.

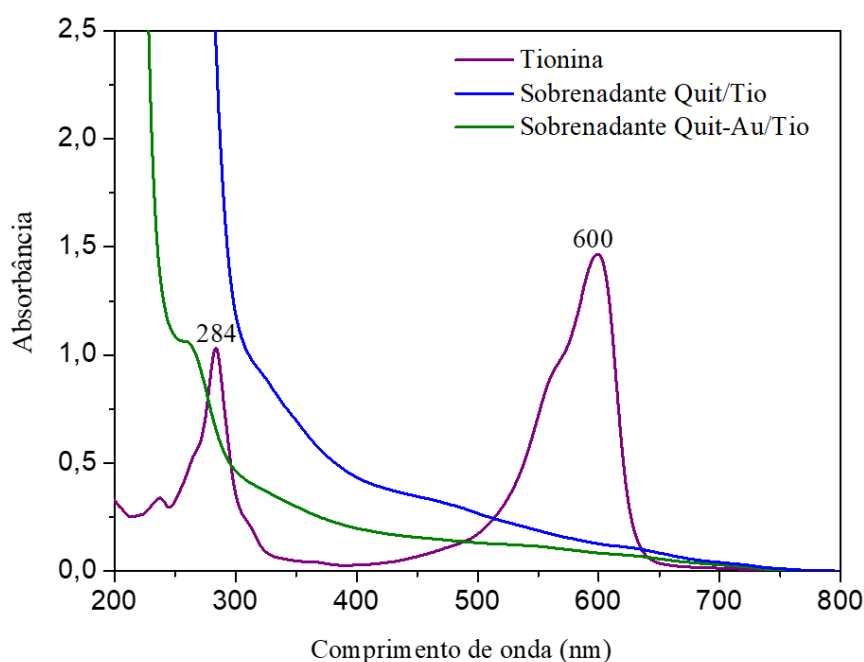


Figura 16. Espectros de UV-Vis obtidos para o corante tionina e os sobrenadantes resultantes da sua imobilização nos materiais *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio.

5.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM)

A dispersão de nanopartículas de ouro estabilizadas com quitosana (Quit-AuNPs) foi submetida a análise por microscopia eletrônica de Transmissão (TEM). Imagens representativas do material estão apresentadas na Figura 17. Pode-se observar que as AuNPs se apresentam bastante dispersas com morfologia esférica. O diâmetro médio das nanopartículas, estimado para uma população de 446 nanopartículas, foi 11,9 nm, com desvio padrão de 4,1 nm. Esses

resultados estão em concordância com o tamanho de cristalito obtido pela análise de difração de raios X do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio.

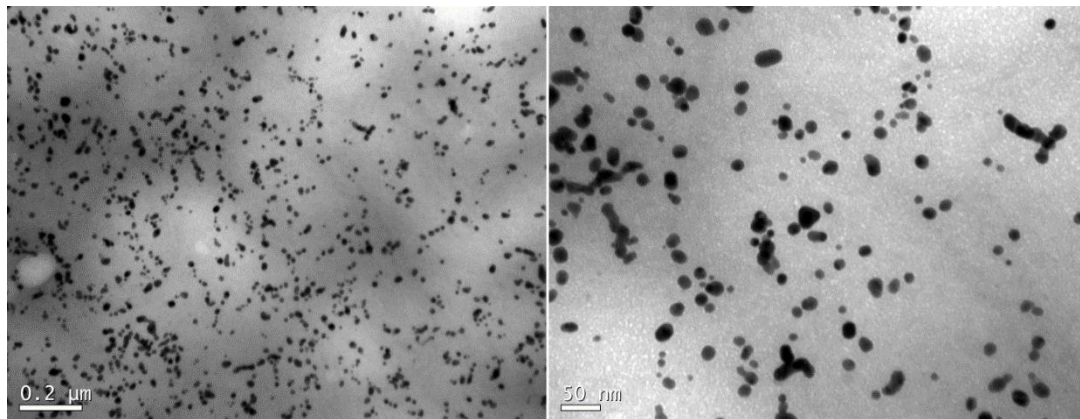


Figura 17. Imagens obtidas por TEM da dispersão Quit-AuNPs, com magnificações de 50 000 × (imagem à esquerda) e 300 000 × (imagem à direita).

5.5 Propriedades texturais

Os materiais foram submetidos à análise textural, e os valores de área superficial específica, bem como de volume de poros são mostrados na Tabela 2. Na Figura 18 são apresentadas as isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio, sendo em (a) o gráfico com os valores experimentais obtidos e em (b) o gráfico com os valores deslocados no eixo Y para melhor visualização das histereses.

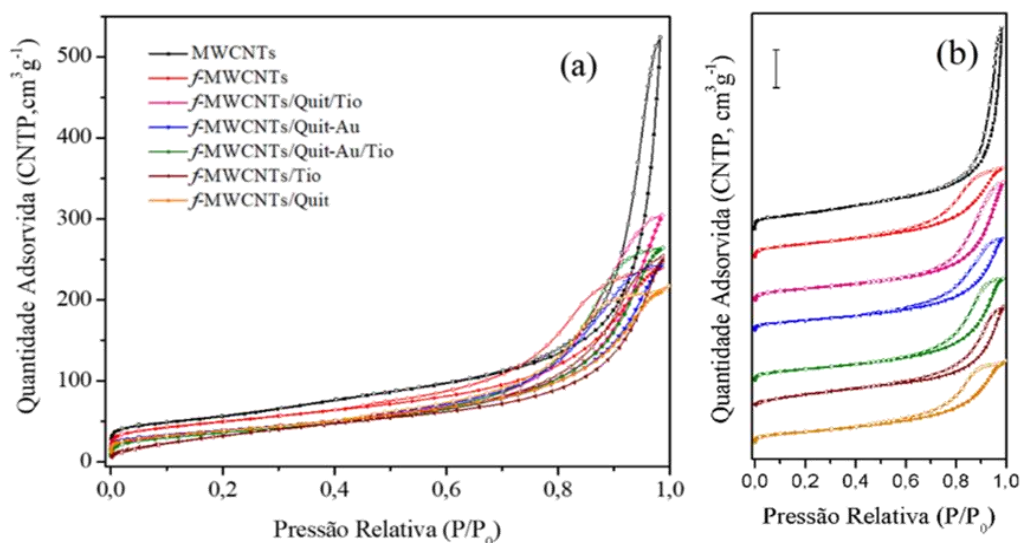


Figura 18. Isothermas de adsorção e dessorção de nitrogênio: a) valores experimentais; b) valores deslocados no eixo Y para melhor visualização das histereses, sendo o valor da barra $100 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$.

Observando-se o perfil de isotermas obtido, é possível classificá-las como tipo IV, pois as mesmas apresentam claramente duas regiões de inflexão, a primeira em baixas pressões relativas ($P/P_0 < 0,1$) e a inflexão principal, que ocorre em altas pressões relativas ($P/P_0 > 0,7$) com histerese. Esse comportamento caracteriza a presença de mesoporos, os quais são definidos como poros com diâmetro entre 2 e 50 nm.¹¹⁷ É bem conhecido que a inflexão em baixas pressões relativas ocorre devido a adsorção de poros com tamanho geralmente menor que 5 nm, os quais fornecem maior contribuição para área específica. Enquanto que a inflexão nas regiões de altas pressões relativas é atribuída à adsorção de poros com tamanho maior que 5 nm. Na Tabela 2 pode-se observar que o material MWCNTs (curva preta) é o que apresenta maior adsorção em ambas as regiões, mostrando maior valor de área superficial específica e, de forma ainda mais marcante, maior volume de poros, praticamente o dobro do volume apresentado pelos demais materiais (Tabela 2).

Tabela 2. Área superficial e volume de poros.

Material	Área superficial BET ($\pm 4 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$)	Volume de poros BJH ($\pm 0,005 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$)
MWCNTs	201	0,815
<i>f</i> -MWCNTs	176	0,373
<i>f</i> -MWCNTs/Quit/Tio	140	0,467
<i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au	139	0,380
<i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio	133	0,407
<i>f</i> -MWCNTs/Tio	136	0,362
<i>f</i> -MWCNTs/Quit	139	0,337

A distribuição de tamanho de poros, estimada a partir do método BJH⁹⁴, está apresentada na Figura 19. Pode-se observar que todas as curvas apresentam claramente duas distintas regiões de tamanho de poros. A primeira é estreita, com pequenos diâmetros (abaixo de 5 nm), e a segunda região consiste de poros maiores, com diâmetros a partir de 5 nm e distribuição mais larga. Essas curvas são típicas de materiais com estruturas nanotubulares, como, por exemplo, nanotubos de carbono e TiO₂, nas quais o primeiro pico estreito é devido ao orifício do nanotubos, enquanto que a região com distribuição mais larga é atribuída à aglomeração dos

nanotubos, que gera espaços intersticiais no envelhecimento.^{118,119} A primeira região que caracteriza o orifício do nanotubo é muito similar para todos os materiais, revelando um pico estreito com máximo em torno de 3,5 nm, exceto para o material MWCNTs que apresenta um pico ligeiramente mais largo (Figura 19). Essa região será também abordada na sequência, usando a distribuição DFT⁹⁴, que é mais apropriada para análise de poros menores. Antes, porém, é importante uma análise mais rigorosa do comportamento dos poros maiores obtidos na distribuição BJH, comparando-se os diferentes materiais.

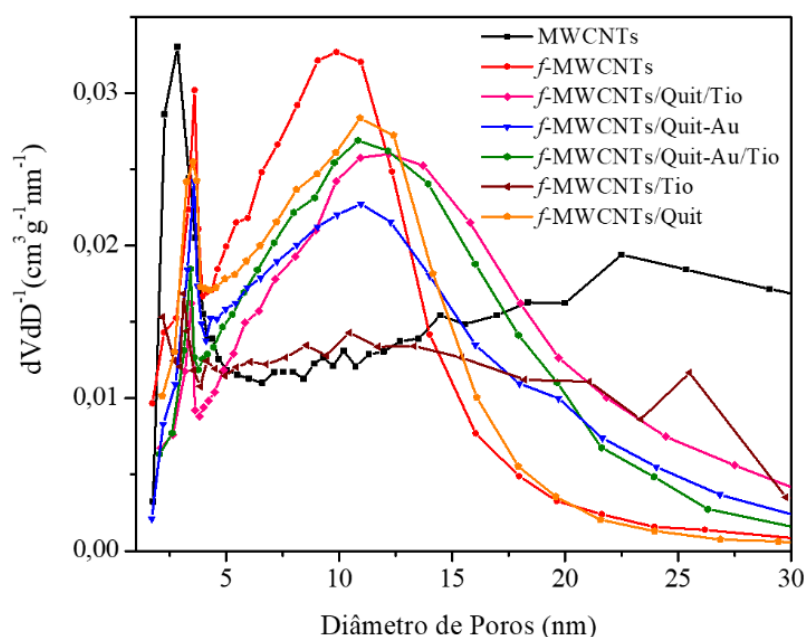


Figura 19. Distribuição de tamanho de poros usando o método BJH.

Na região de poros maiores da Figura 19, caracterizada pelo envelhecimento dos nanotubos, novamente o material MWCNTs se destaca dos demais, apresentando uma distribuição extensivamente larga e sem a clara identificação de um valor máximo (curva preta). Entretanto, para o material *f*-MWCNTs, obtido após a reação de funcionalização dos nanotubos (curva vermelha), surge notadamente uma região predominante de tamanho poros, sendo que o máximo da curva se apresenta em torno de 10 nm. Esse resultado foi interpretado considerando-se a aglomeração dos nanotubos de carbono, como resultado das interações por forças de Debye e ligações de hidrogênio entre os mesmos, agora presentes devido à inserção de grupos funcionais carboxílicos. As modificações sucessivas, que levaram a formação dos materiais *f*-MWCNTs/Quit, *f*-MWCNTs/Quit/Tio, *f*-MWCNTs/Quit-Au, *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio e *f*-MWCNTs/Tio resultam em um deslocamento do máximo da curva de distribuição de diâmetros

de poros para valores maiores, sendo o menor efeito observado para o material *f*-MWCNTs/Quit (curva laranja), e o maior efeito observado para o material *f*-MWCNTs/Tio (curva vinho). Além disso, é possível notar que para o material *f*-MWCNTs/Tio a curva de distribuição se assemelha àquela do material não modificado (MWCNTs). Esse resultado foi interpretado considerando que durante as reações de acoplamento com o par EDC/NHS e posterior inserção da tionina, as interações entre os grupos carboxílicos dos nanotubos, responsáveis pelas interações de Debye e ligações de hidrogênio, são interrompidas, tornando os nanotubos mais afastados novamente. Dessa forma, os nanotubos parecem retornar parcialmente àquela configuração de enovelamento mais expandido. Para os materiais *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio e *f*-MWCNTs/Quit/Tio, ambos contendo tionina, se observa claramente na Figura 19 que as curvas estão deslocadas para valores maiores, curvas azul e verde respectivamente, quando comparadas à curva do material *f*-MWCNTs/Quit-Au, o qual não contém tionina. Isso corrobora com a hipótese de que o fator responsável pela expansão dos nanotubos é a modificação química relacionada a inserção covalente da tionina, e não à funcionalização relacionada à adição de quitosana. A quitosana aparentemente desempenha um papel secundário na textura dos nanotubos.

Visando comparar as diferenças na porosidade atribuída aos orifícios dos nanotubos, foi aplicado o método DFT. As curvas de distribuição de tamanho estão apresentadas na Figura 20. É possível notar que, para os nanotubos não modificados (MWCNTs) a curva obtida atinge valor máximo em aproximadamente 3,5 nm (curva preta). Já o perfil das curvas obtidas para os materiais *f*-MWCNTs/Quit/Tio (curva rosa) e *f*-MWCNTs/Quit-Au (curva azul) indicam a ocorrência de fechamento parcial dos orifícios, visto que os valores máximos das mesmas se mantêm na mesma região observada para os MWCNTs, porém com menor intensidade. Observa-se nas curvas apresentadas pelos demais materiais um deslocamento para valores de diâmetros menores, o que pode ser um indicativo de um aparente revestimento da superfície interna dos orifícios.

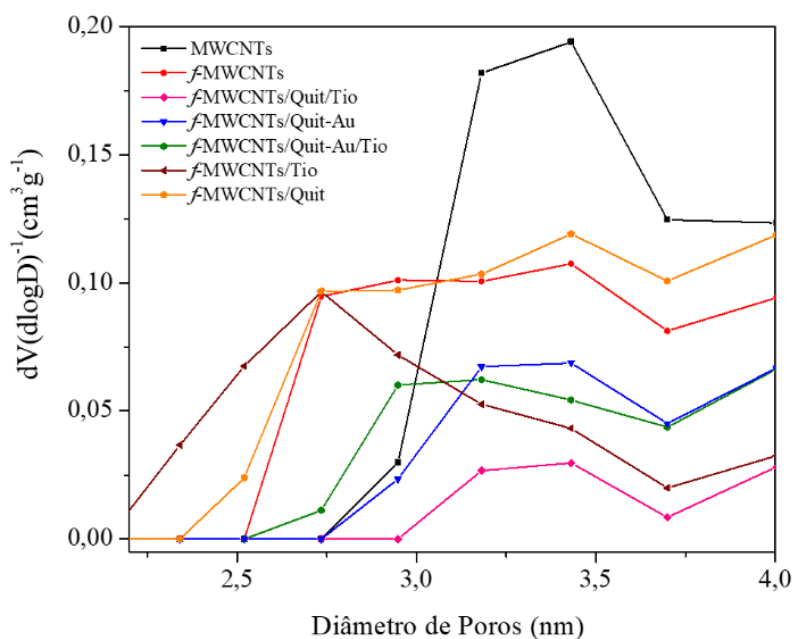


Figura 20. Distribuição de tamanho de poros usando o método DFT.

5.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM)

Os materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio foram submetidos à análise por microscopia eletrônica de varredura (SEM), sendo as imagens mostradas na Figura 21. A morfologia tubular dos nanotubos de carbono é evidente em todas as imagens. Entretanto, na imagem dos nanotubos não modificados, material MWCNTs (Figura 21 (a)), os nanotubos se mostram mais íntegros e dispersos. Após o processo de carboxilação, que resulta no material *f*-MWCNTs (Figura 21 (b)), uma evidente compactação dos nanotubos pode ser observada, a qual é acompanhada de uma parcial fragmentação. Para os materiais *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio (Figura 21 (c) e (d)), que contêm quitosana e tionina, a fragmentação dos nanotubos também é evidente, entretanto, é possível identificar que nessas amostras os nanotubos se encontram ligeiramente mais afastados que na imagem da Figura 21 (b). Esses resultados estão em concordância com aqueles obtidos na análise textural dos materiais, em que foi observado que a carboxilação produz uma compactação dos nanotubos de carbono, enquanto que a inserção covalente de tionina leva a sua expansão. Dessa forma, a análise por SEM corrobora com a hipótese de que a contração dos nanotubos de carbono, observada no material *f*-MWCNTs, é consequência de forças de Debye e ligações de hidrogênio entre os grupos carboxílicos. A funcionalização adicional com o corante tionina

desativa essas interações e, conseqüentemente, leva a uma configuração mais expandida para os nanotubos de carbono. Adicionalmente, a fragmentação observada na análise por SEM explica o fato da expansão ocorrer apenas de forma parcial, visto que na análise textural, tanto na distribuição de tamanho dos poros da Figura 19, como nos volumes de poros mostrados na Tabela 2, não se observa um retorno da configuração inicial do material MWCNTs em nenhum dos materiais que sofreram modificações. É importante destacar que não foi possível observar a presença das AuNPs no material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, a partir das imagens de SEM obtidas no modo convencional.

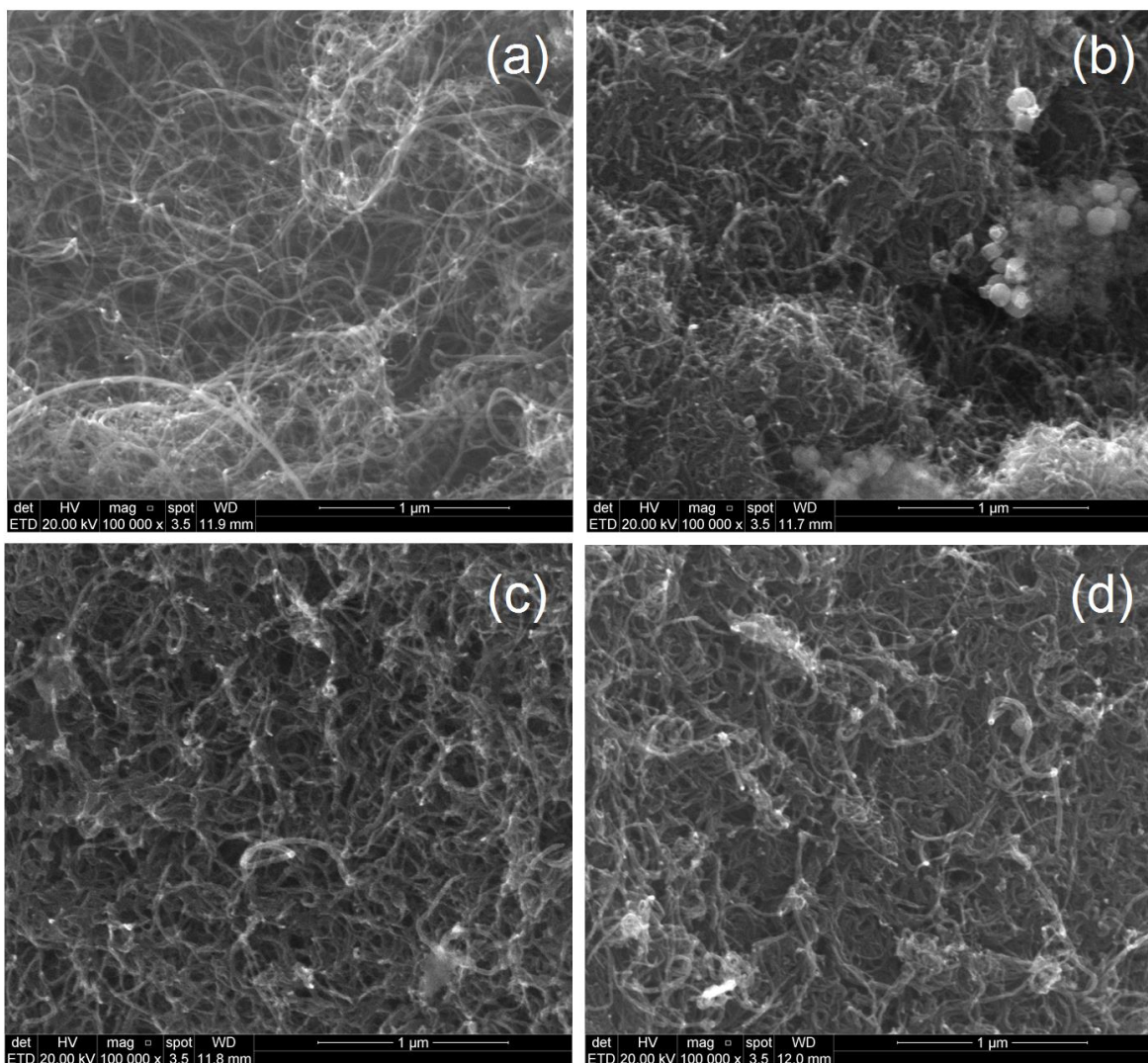


Figura 21. Imagens obtidas por SEM com magnificação de 100000 ×: a) MWCNTs, b) *f*-MWCNTs, c) *f*-MWCNTs/Quit/Tio e, d) *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio.

Buscando-se constatar a presença de ouro no material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, foram obtidas imagens de SEM (Figura 22 (a) e (b)), no modo de elétrons retroespalhados (BSE), e espectro de EDS (Figura 23 (a) e (b)) para o mesmo. Em micrografias obtidas no modo BSE, os elementos de maior massa atômica apresentam-se mais brilhantes que os elementos de menor massa. Assim, é possível inferir a presença do ouro no material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio pelos pontos densos e brilhantes nas imagens da Figura 22 (a) e (b). Além disso, observa-se que as AuNPs se encontram homoganeamente dispersas por toda a extensão da amostra.

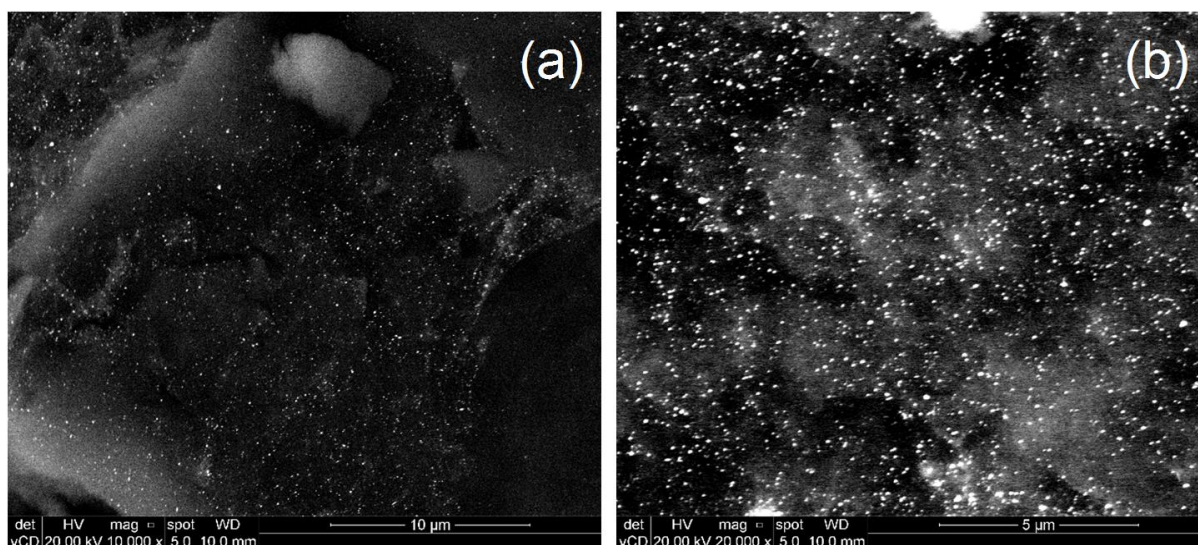


Figura 22. Imagens de SEM obtidas no modo BSE para material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio com diferentes magnificações: (a) 10000× e (b) 20000×.

5.7 Espectroscopia com Dispersão em Energia (EDS)

O espectro de EDS do material *f*-MWNCTs/Quit-Au/Tio (Figura 23 (b)) foi obtido a partir das regiões em tom de cinza claro da imagem de SEM (em modo BSE), apresentada na Figura 23 (a). Essa imagem foi adquirida a partir da análise de uma pastilha do material, resultante da prensagem do mesmo empregando-se 5 ton.cm⁻². A observação do espectro permite afirmar que a amostra é predominantemente composta de carbono. Esse resultado é compatível com o esperado, visto que o material em discussão foi desenvolvido a partir de nanotubos de carbono. O espectro revela ainda, inequivocamente, a presença de ouro em 2,14 keV. A presença de sódio é justificada pelo uso de NaBH₄ como redutor do ouro na síntese da

dispersão de AuNPs, bem como pelo uso de NaOH no ajuste do pH da dispersão. O enxofre é um dos elementos componentes da tionina. Quanto ao silício, acreditamos se tratar de impureza.

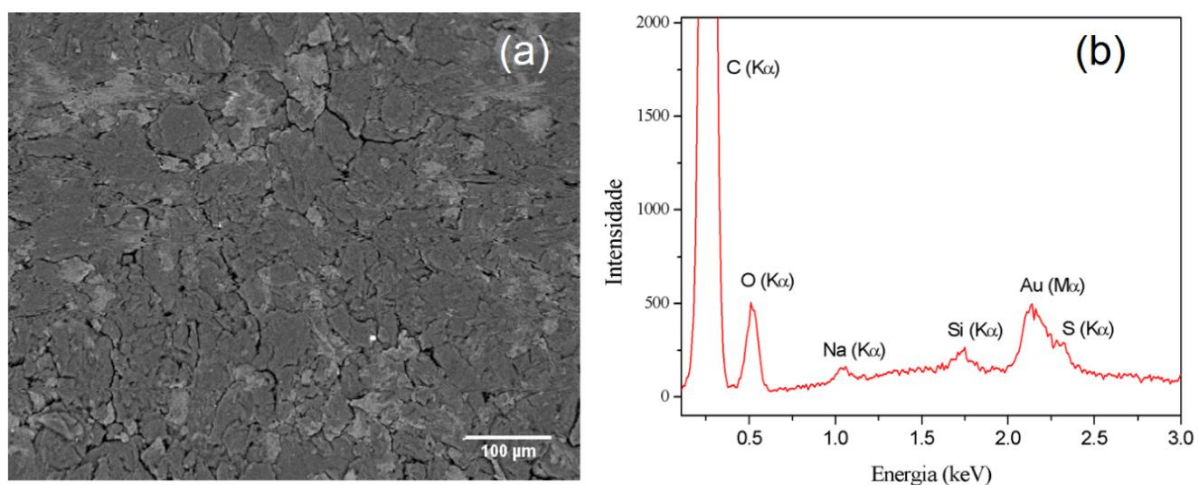


Figura 23. Análise EDS: (a) Imagem obtida por SEM (no modo BSE) do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio pressionado a 5,0 ton cm⁻²; (b) Espectro EDS obtido a partir das regiões em tom de cinza claro da imagem em (a).

5.8 Análise Termogravimétrica

Os materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit, *f*-MWCNTs/Quit-Au, e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio foram submetidos à análise termogravimétrica (TGA). Na Figura 24(a) são apresentadas as curvas TGA obtidas e na Figura 24(b) encontram-se as curvas da derivada da perda de massa. A Tabela 3 apresenta os dados de perda de massa obtidos para diferentes intervalos de temperatura. Em todos os materiais, a partir de 100 °C ocorre perda de massa de água. Para o material MWCNTs, pode-se observar que até aproximadamente 500 °C quase não há perda de massa. A partir de 500 °C inicia-se a degradação térmica dos nanotubos de carbono. Esse comportamento indica a presença de regiões amorfas nos nanotubos de carbono, pois em materiais em que há maior predomínio de regiões cristalinas, a decomposição térmica ocorre em temperaturas maiores que 500 °C.^{115,120,121} A curva TGA para o material *f*-MWCNTs apresenta três estágios de decomposição. No primeiro, de 150 °C a 300 °C, ocorre a descarboxilação. No segundo, entre 400 °C e 500 °C, ocorre a eliminação dos grupos hidroxila. Na faixa de 600 °C a 800 °C tem-se o terceiro estágio de decomposição, no qual ocorre a

oxidação térmica dos detritos de carbono remanescentes.^{24,93,120,122} Esses resultados indicam que o processo de carboxilação dos MWCNTs provocou a fragilização dos nanotubos de carbono, indicando maior decomposição de matéria orgânica para os *f*-MWCNTs.

Nos materiais *f*-MWCNTs/Quit-Au e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio é possível observar que, na faixa de temperatura entre 150 °C e 300 °C, além da perda de massa atribuída aos *f*-MWCNTs, tem-se a perda de massa relacionada à desacetilação, clivagem das ligações glicosídicas, desidratação e desaminação da quitosana.^{59,120,123} No material contendo o corante tionina, *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, a perda de matéria orgânica entre 150 °C e 300 °C é maior, sendo possível observar também a degradação da tionina entre 300 e 400 °C.^{24,115}

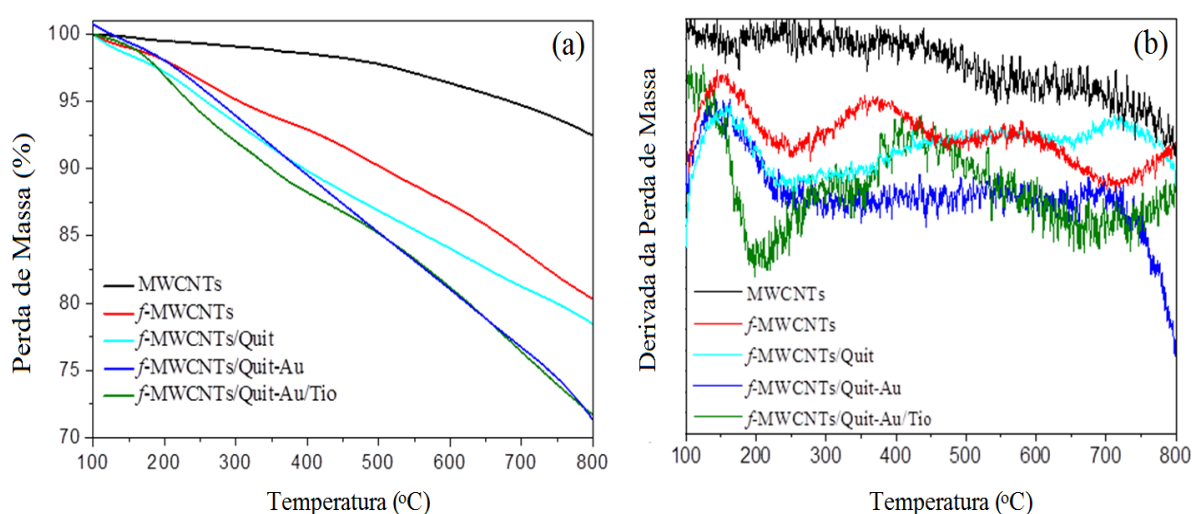


Figura 24. Análise termogravimétrica dos materiais MWCNTs, *f*-MWCNTs, *f*-MWCNTs/Quit, *f*-MWCNTs/Quit-Au e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio: (a) curvas TGA e (b) primeira derivada da perda de massa.

Tabela 3. Perdas de massa por faixa de temperatura, obtidas a partir da análise termogravimétrica dos materiais, partindo-se de temperatura ambiente (TA).

Material	TA – 150 °C	150 – 600 °C	600 – 895 °C	TA – 895 °C
MWCNTs	0,004 mg (0,12 %)	0,112 mg (3,41 %)	0,246 mg (7,49 %)	0,362 mg (11,02 %)
<i>f</i> -MWCNTs	0,635 mg (7,12 %)	0,970 mg (10,88 %)	0,805 mg (9,03 %)	2,41 mg (27,02 %)
<i>f</i> -MWCNTs/Quit	0,648 mg (6,10 %)	1,548 mg (13,72 %)	1,089 mg (10,25 %)	3,195 mg (30,07 %)
<i>f</i> -MWCNTs/Quit- Au	0,282 mg (5,97 %)	0,819 mg (17,33 %)	0,912 mg (19,3 %)	2,013 mg (42,59 %)
<i>f</i> -MWCNTs/Quit- Au/Tio	0,215 mg (4,19 %)	0,863 mg (17,22 %)	0,645 mg (12,87 %)	1,723 mg (34,38 %)

5.9 Medidas Eletroquímicas

5.9.1 Determinação da composição do eletrodo de pasta de carbono

A partir dos CVs de um material, informações importantes acerca de seu comportamento eletroquímico e dos eventos que ocorrem na interface eletrodo-solução podem ser obtidas. Assim, é muito importante estudar e avaliar a melhor composição de material, pó de grafite e óleo mineral para o eletrodo de trabalho, que nesse caso será o CPE. Nesse sentido, foram obtidos CVs (Figura 25) de cinco composições diferentes (nomeadas de A à E), utilizando-se o material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio. A Tabela 4 apresenta os componentes usados na confecção do CPE, bem como suas respectivas quantidades.

A primeira observação dos CVs da Figura 25 permite afirmar que todos os voltamogramas apresentam picos redox, além de significativa contribuição de corrente capacitiva ($I_{\text{capacitiva}}$). Para avaliar de forma mais clara os parâmetros extraídos desses CVs a Tabela 5 foi construída, e nela estão resumidos os valores de corrente total (I_{total}), $I_{\text{capacitiva}}$, corrente faradaica ($I_{\text{faradaica}}$) e de potencial, E_p , em que os picos anódico, E_{pa} , e catódico, E_{pc} , ocorrem, para cada uma das composições estudadas.

Tabela 4. Composição do eletrodo de trabalho.

Composição	<i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio (g)	Grafite (g)	Óleo mineral (g)
A	0,0060	0,0100	0,0050
B	0,0070	0,0100	0,0050
C	0,0050	0,0150	0,0035
D	0,0050	0,0110	0,0035
E	0,0060	0,0140	0,0035

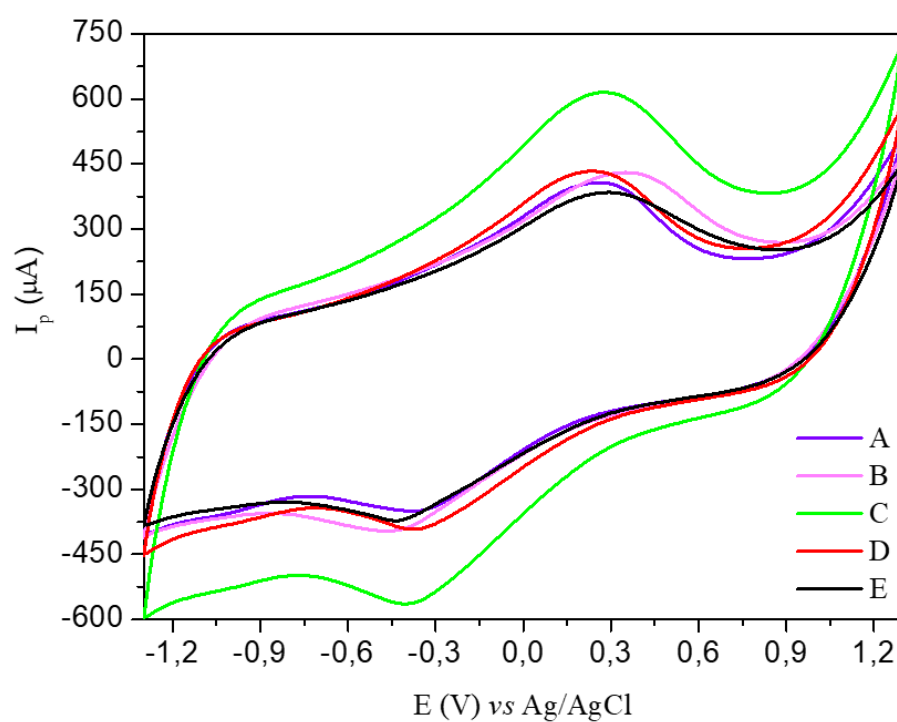


Figura 25. CVs obtidos para o CPE confeccionado com o material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, usando-se diferentes quantidades desse material, bem como de grafite e óleo mineral. Varredura na faixa de potencial de -1,3 V a 1,3 V e velocidade de 10 mV s⁻¹. Tampão PBS (pH 7,0).

Tabela 5. Parâmetros eletroquímicos obtidos a partir dos CVs obtidos com o CPE do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio em diferentes composições.

Composição	E_{pa} (V)	I_{pa} (μA)	E_{pc} (V)	I_{pc} (μA)	I_{total} (μA)	$I_{faradaica}$ (μA)	$I_{capacitiva}$ (μA)	ΔE_p (V)
A	0,209	152,9	-0,351	165,8	756	318,7	437,3	0,56
B	0,289	129,2	-0,431	189,9	900	319,1	580,9	0,72
C	0,229	213,4	-0,381	274,4	1179	487,8	691,2	0,61
D	0,189	169,3	-0,351	192,3	828	361,3	466,4	0,54
E	0,229	118	-0,381	44,68	756	162,7	593,3	0,61

Comparando-se os resultados obtidos para as composições A e B, observa-se que ao aumentar-se em 1 mg a quantidade de material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio e manter-se as mesmas quantidades de grafite e óleo mineral, ocorreu um aumento de $I_{capacitiva}$ e um deslocamento de E_p , sendo o E_{pa} para potenciais mais positivos, e o E_{pc} para potenciais mais negativos. Ao se contrastar os parâmetros obtidos nos CVs das composições C e D, percebe-se que a diminuição de 4 mg de grafite ocasionou uma diminuição expressiva de $I_{capacitiva}$. Além disso, os picos redox se deslocaram para potenciais menores. Os parâmetros obtidos para as composições C e E permitem notar que aumentando em 1 mg a quantidade de material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio e diminuindo em 1 mg a quantidade de grafite, ocorre uma diminuição significativa de $I_{faradaica}$. Assim, a composição D foi escolhida para confeccionar o eletrodo de trabalho, tendo em vista que foi a composição que apresentou valores razoáveis tanto para a $I_{faradaica}$ quanto para a $I_{capacitiva}$, com E_{pa} e E_{pc} menores.

5.9.2 Efeito da atmosfera

Concomitantemente aos estudos de composição de eletrodo de trabalho, foram obtidos CVs dos materiais *f*-MWCNTs (Figura 26 (a)) e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio (Figura 26 (b)), em atmosfera aberta e em atmosfera de N_2 , a fim de averiguar se haveria influência na resposta eletroquímica dos mesmos ocasionado pelo oxigênio. Pode-se notar que o perfil dos CVs

obtidos, tanto em atmosfera aberta quanto em atmosfera de N_2 , é similar. Assim, pode-se inferir que não há interferência da atmosfera e, portanto, os picos observados nos CVs não são devidos à redução de oxigênio, processo que geralmente ocorre em duas etapas, em potenciais próximos a $-0,45$ V (redução do oxigênio em água) e $-0,8$ V (redução de oxigênio em peróxido de oxigênio).^{124,125}

Pode-se observar nos CVs da Figura 26 que, para o material f -MWCNTs, os picos catódicos ocorrem no potencial de $-0,38$ V e $-0,37$ V, usando-se atmosfera de N_2 e atmosfera aberta, respectivamente. Enquanto que para o material f -MWCNTs/Quit-Au/Tio, os picos catódicos ocorrem em $-0,33$ V e $-0,38$ V, para atmosfera de N_2 e atmosfera aberta, respectivamente. Assim, a caracterização eletroquímica dos materiais obtidos em cada etapa de funcionalização foi conduzida em atmosfera aberta.

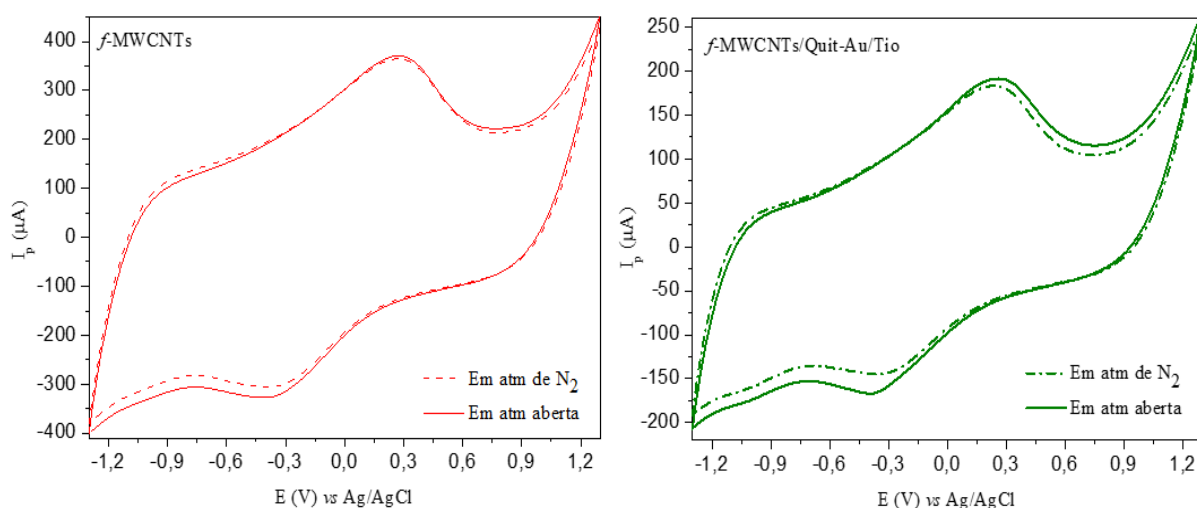


Figura 26. Efeito da atmosfera no comportamento eletroquímico dos materiais f -MWCNTs e f -MWCNTs/Quit-Au/Tio, em tampão PBS pH 7,0 e ν de 10 $mV s^{-1}$.

Após a definição da composição mais adequada para o eletrodo de trabalho, foram realizadas as caracterizações voltamétricas de todos os materiais funcionalizados. A Figura 27 apresenta os CVs obtidos para os seguintes sistemas: MWCNTs, f -MWCNTs, f -MWCNTs/Quit, f -MWCNTs/Quit-Au, f -MWCNTs/Quit/Tio e f -MWCNTs/Quit-Au/Tio.

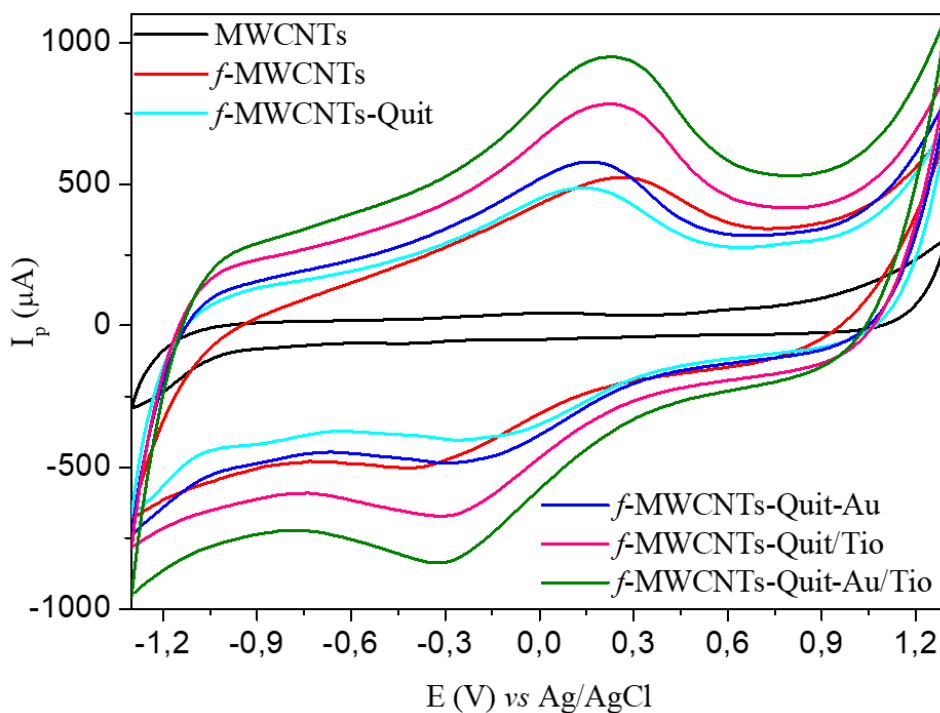


Figura 27. CVs obtidos para o material MWCNTs e todos os materiais funcionalizados, em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,0, contendo 0,5 mol L⁻¹ de NaNO₃, e ν de 20 mV s⁻¹.

Em uma primeira análise, é possível notar a presença de picos redox nos CVs obtidos para os materiais funcionalizados, aproximadamente entre 0,15 V e 0,2 V (E_{pa}) e -0,25 V e -0,3 V (E_{pc}), o que pode ser indicativo de sistemas reversíveis ou quase-reversíveis. Adicionalmente, percebe-se que o CV obtido para os *f*-MWCNTs mostrou-se muito mais capacitivo que o CV do material MWCNTs. Outros trabalhos envolvendo a carboxilação de nanotubos de carbono em meio ácido já reportaram que a grande contribuição de $I_{capacitiva}$ indica que, de fato, ocorreu a carboxilação dos MWCNTs.^{126,127} Além disso, a alta contribuição de $I_{capacitiva}$ pode ser atribuída à presença de grupos funcionais inseridos nos nanotubos após o processo de carboxilação.^{127,128} Assim, os picos redox observados a partir do CV dos *f*-MWCNTs são, possivelmente, devido às reações de transferência de elétrons associadas a grupos funcionais, como quinonas e hidroquinonas, que podem ter sido formados no processo de carboxilação.¹²⁷

A partir dos CVs da Figura 26 foram obtidos os valores de I_{pa} e I_{pc} , da razão I_{pa}/I_{pc} e da separação entre os picos ($\Delta E = E_{pa} - E_{pc}$). Todos esses parâmetros são apresentados na Tabela 6. Observa-se que o menor valor para ΔE foi obtido para a amostra *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, diferentemente dos materiais *f*-MWCNTs/Quit e *f*-MWCNTs/Quit-Au, que apresentaram os maiores valores de ΔE . Sendo assim, sugere-se que os materiais funcionalizados apresentam

um comportamento redox quase-reversível (Tabela 6), o que pode ser um indicativo de que a reação de oxirredução que ocorre na superfície do eletrodo se dá de forma lenta, sugerindo que há uma resistência à transferência de elétrons.^{86,87,88,90}

A razão I_{pa}/I_{pc} também é um parâmetro que caracteriza a reversibilidade do sistema redox. Para sistemas reversíveis essa razão tem valor equivalente a 1.^{86,87,88,90} A partir dos dados da Tabela 6, observa-se que todos os materiais apresentaram valores muito próximos a 1, o que reforça a possibilidade de o processo redox na superfície do eletrodo ser quase-reversível.

Tabela 6. Parâmetros eletroquímicos obtidos a partir dos CVs dos materiais funcionalizados.

Material	E_{pa} (V)	I_{pa} (μ A)	E_{pc} (V)	I_{pc} (μ A)	ΔE_p (mV)	I_{pa}/I_{pc}
<i>f</i> -MWCNTs	0,259	72,18	-0,361	117,9	102	0,61
<i>f</i> -MWCNTs/Quit	0,139	171,9	-0,251	182,1	112	0,94
<i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au	0,159	170,4	-0,271	238,3	112	0,71
<i>f</i> -MWCNTs/Quit-Au/Tio	0,229	276,5	-0,291	346,8	62	0,80
<i>f</i> -MWCNTs/Quit/Tio	0,229	270,3	-0,301	421,2	72	0,64

Uma segunda análise dos voltamogramas da Figura 27 permite observar que os CVs dos materiais *f*-MWCNTs/Quit, *f*-MWCNTs/Quit-Au, *f*-MWCNTs/Quit-Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio apresentam perfis semelhantes ao do CV obtido para os *f*-MWCNTs. Entretanto, à medida que mais grupos funcionais são adicionados, maior é a intensidade de corrente dos picos redox (Tabela 6), bem como a contribuição de $I_{capacitiva}$ para os sistemas. Logo, o aumento de I_{pa} e I_{pc} permite sugerir, preliminarmente, que as AuNPs e a tionina aumentam os sítios ativos dos materiais funcionalizados. Mesmo não sendo possível observar e diferenciar os picos redox da tionina, 0,3 V (E_{pa}) e -0,3 V (E_{pc}) (*versus* Ag/AgCl)⁷⁵, dos picos redox dos grupos funcionais nos nanotubos, o aumento na intensidade de corrente, bem como a diminuição do valor de ΔE nos materiais funcionalizados com o corante (*f*-MWCNTs/Quit-Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio) reforçam a possibilidade de aumento dos sítios ativos ocasionado pela presença do corante nesses materiais.

5.9.3 Estudo do efeito da velocidade de varredura (ν)

O efeito de ν no comportamento eletroquímico dos materiais funcionalizados foi avaliado por meio da obtenção de CVs, empregando-se diferentes valores de ν , na faixa de 5 a 100 mV s^{-1} (Figura 28). Pode-se notar nos CVs de todos os materiais que os parâmetros I_{pa} , I_{pc} , E_{pa} e E_{pc} são influenciados pela ν , ou seja, quanto maior a velocidade, maior é o valor desses parâmetros. Adicionalmente, com o aumento de ν , os picos redox perdem sua resolução, sendo esse efeito muito mais pronunciado nos picos catódicos. Esses resultados confirmam o que fora sugerido acerca da reversibilidade do sistema, isto é, que há um comportamento de quase-reversibilidade do processo redox nesses materiais.

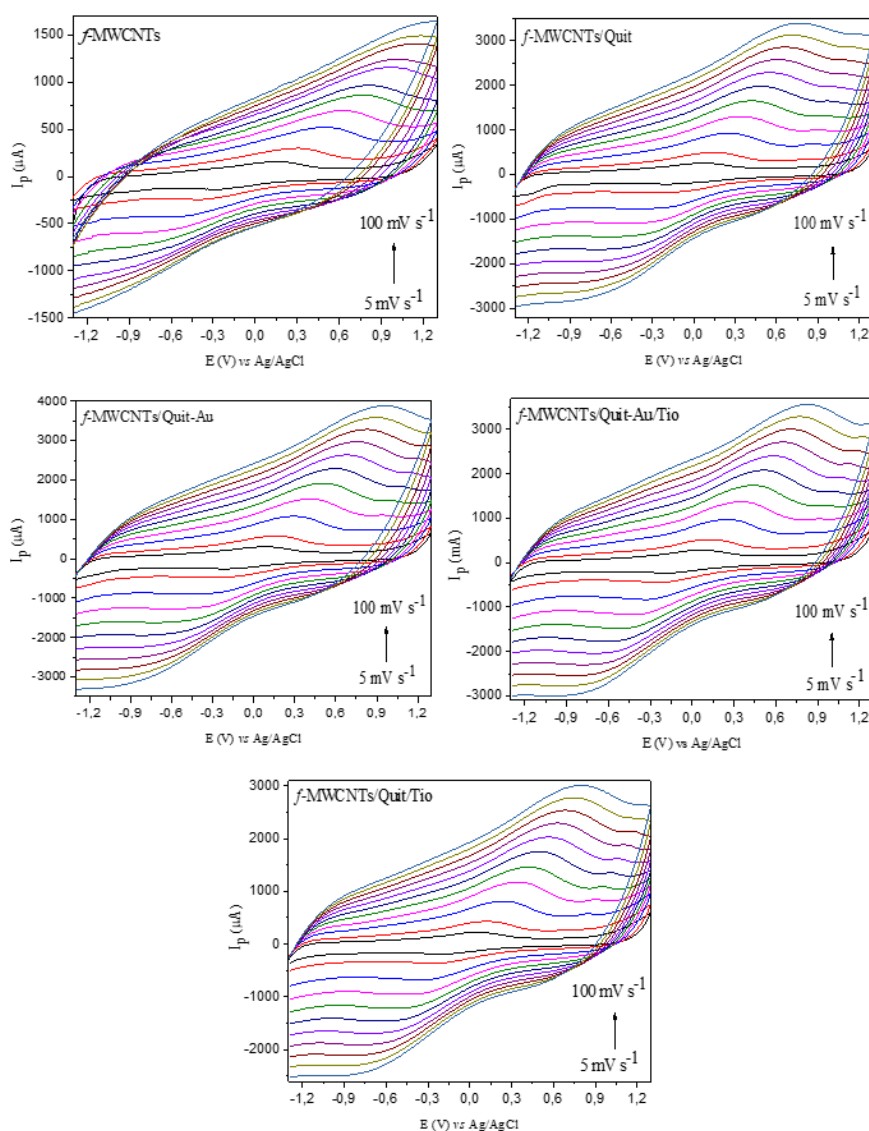


Figura 28. CVs obtidos para os materiais funcionalizados na faixa de ν de 5 a 100 mV s^{-1} , em tampão PBS 0,1 mol L^{-1} , pH 7,0, contendo 0,5 mol L^{-1} de NaNO_3 .

A Figura 29 apresenta a relação entre I_{pa} e v obtida para cada material funcionalizado. Percebe-se que há uma relação linear entre I_{pa} e v para todos os materiais, sendo as equações das regressões lineares descritas a seguir (Eqs. 5 a 9), onde R é o coeficiente da correlação linear. Esses resultados indicam a predominância de um processo de oxirredução controlado por adsorção.

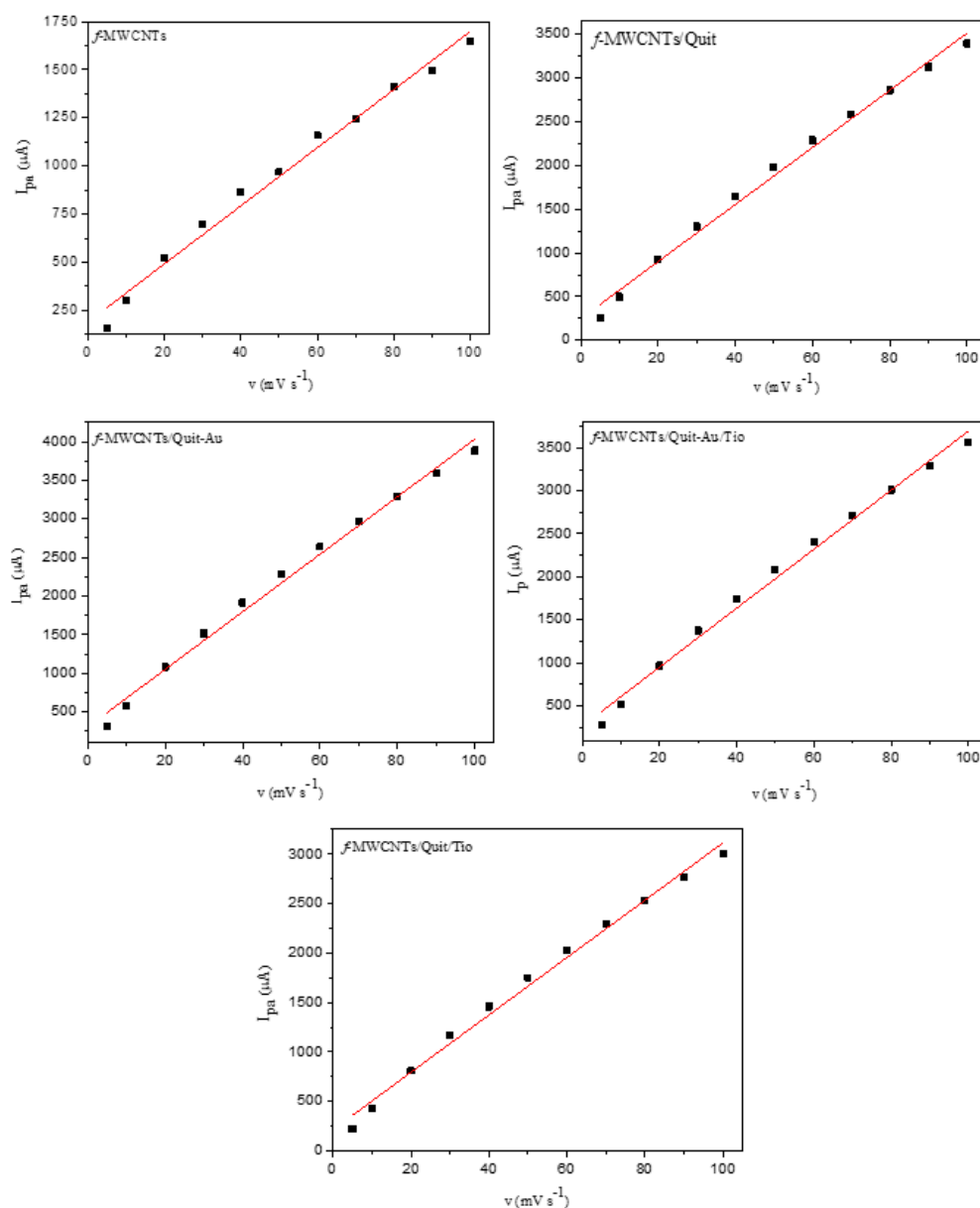


Figura 29. Relação entre I_{pa} e v para o material f -MWCNTs e os materiais funcionalizados a partir deste.

f -MWCNTs:

$$I_{pa} (\mu A) = 190,2 (\pm 35,1) + 15,08 (\pm 0,592) v (mV s^{-1}); R = 0,9847 \text{ (Equação 5)}$$

f-MWCNTs/Quit:

$$I_{pa} (\mu A) = 248,2 (\pm 55,3) + 32,65 (\pm 0,935) v (mV s^{-1}); R = 0,9919 \text{ (Equação 6)}$$

f-MWCNTs/Quit-Au:

$$I_{pa} (\mu A) = 304,9 (\pm 67,1) + 37,28 (\pm 1,13) v (mV s^{-1}); R = 0,9908 \text{ (Equação 7)}$$

f-MWCNTs/Quit/Tio:

$$I_{pa} (\mu A) = 214,5 (\pm 50,6) + 29,03 (\pm 0,856) v (mV s^{-1}); R = 0,9914 \text{ (Equação 8)}$$

f-MWCNTs/Quit-Au/Tio:

$$I_{pa} (\mu A) = 264,6 (\pm 58,3) + 34,32 (\pm 0,985) v (mV s^{-1}); R = 0,9918 \text{ (Equação 9)}$$

5.9.4 Aplicação dos materiais na detecção de paracetamol (PCT)

5.9.4.1 Estudo de pH

Inicialmente, visando estabelecer as melhores condições de análise para a detecção de PCT, foram realizados estudos acerca do efeito do pH no comportamento eletroquímico desse analito. Empregando-se a técnica de voltametria de varredura linear (LSV), foram obtidos voltamogramas lineares (LVs) do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio na presença de 476,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de PCT, na faixa de pH de 5 a 8. Os voltamogramas obtidos são apresentados na Figura 32, e revelam a presença do pico de oxidação do analito em toda a faixa de pH estudada, com boa definição. Além disso, é possível observar que, com a diminuição do pH da solução eletrolítica, ocorre um deslocamento de E_{pa} para potenciais maiores. Entretanto, não foi observada uma relação de linearidade entre o potencial de pico e o pH. Adicionalmente, foi observado que em pH 6,0 obteve-se a melhor resposta do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio na presença de PCT, ou seja, a maior intensidade de corrente de pico em comparação com os demais valores de pHs.

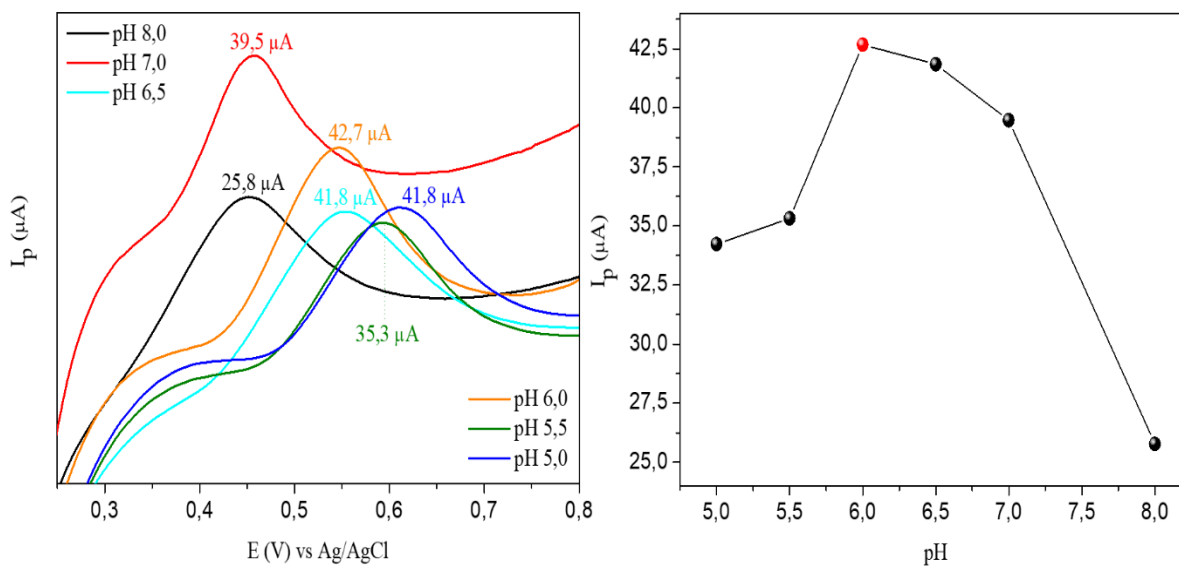


Figura 30. LVs obtidos para o material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio na presença de 476,2 μmol L⁻¹ de PCT, em PBS 0,1 mol L⁻¹, contendo 0,5 mol L⁻¹ de NaNO₃, na faixa de pH de 5,0 a 8,0, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

Após a definição do pH da solução eletrolítica, foram realizados LVs dos materiais *f*-MWCNTs/Quit, *f*-MWCNTs/Quit-Au e *f*-MWCNTs/Quit/Tio, também na presença de 476,2 μmol L⁻¹ de PCT, sendo os resultados apresentados na Figura 33. Nesses materiais também foi possível observar a presença do pico de oxidação do PCT, com boas resolução e definição. Além disso, o valor de I_{pa} variou entre os materiais, sendo maior para o material com mais agentes modificadores, isto é, para o *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio (39,4 μA). A razão para esse comportamento pode estar associada ao efeito eletrocatalítico da tionina no processo de oxidação do PCT.

Comparando-se os LVs dos materiais *f*-MWCNTs/Quit e *f*-MWCNTs/Quit-Au (Figura 33) observa-se que a funcionalização com AuNPs não produziu significativa diferença nos valores de I_p , visto que os mesmos foram de 30,1 μA e 31 μA para os materiais *f*-MWCNTs/Quit e *f*-MWCNTs/Quit-Au, respectivamente. Uma possível razão para isso reside no fato de as AuNPs estarem dispersas nas longas cadeias poliméricas da quitosana, o que pode ter causado a oclusão dos sítios ativos das mesmas impedindo o acesso do analito. Assim, o efeito eletrocatalítico esperado, a partir da modificação com as AuNPs, não pôde ser observado. Já nos materiais funcionalizados com o corante, *f*-MWCNTs/Quit/Tio e *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, observa-se um significativo aumento no valor de I_p , 34,2 μA e 39,4 μA, respectivamente, o que

sugere maior facilidade de acesso do analito aos sítios ativos da tionina, resultando na oxidação electrocatalítica do PCT.

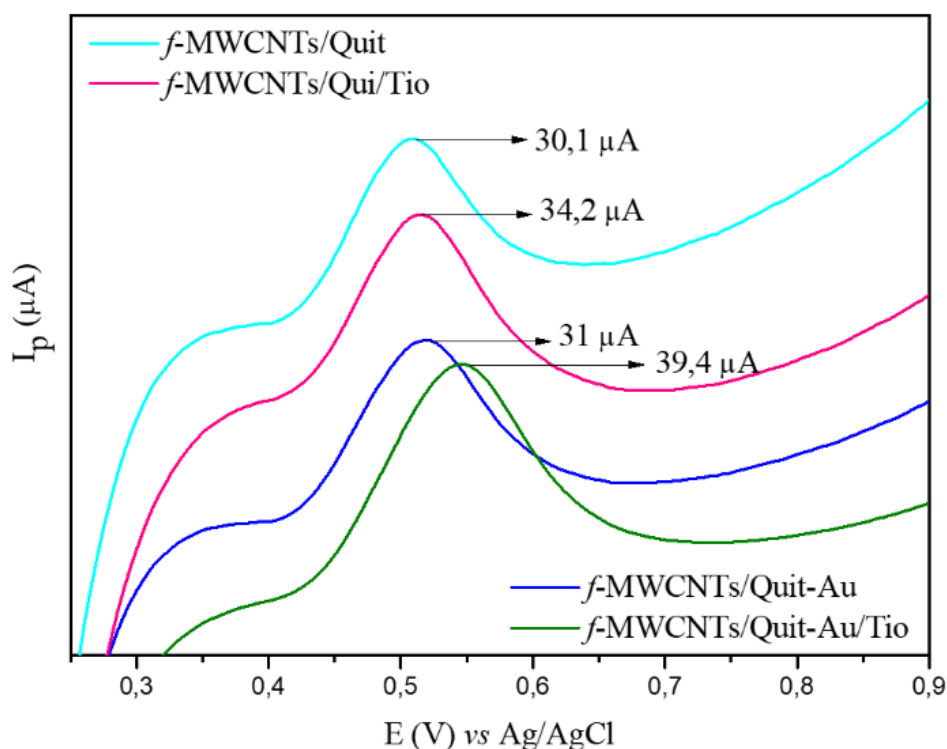


Figura 31. LVs obtidos para os materiais $f\text{-MWCNTs/Quit}$, $f\text{-MWCNTs/Quit-Au}$, $f\text{-MWCNTs/Quit-Au/Tio}$ e $f\text{-MWCNTs/Quit/Tio}$ na presença de $476,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PCT. Em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, contendo NaNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0, $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

5.9.4.2 Efeito da velocidade de varredura (v)

O efeito de v no processo de oxidação do PCT (Figura 34 (a), (b) e (c)) foi avaliado através dos CVs com o material $f\text{-MWCNTs/Quit-Au/Tio}$, obtidos na presença de $291 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PCT. A varredura foi realizada na janela de potencial de 0,3 V a 1,3 V, variando-se o valor de v de 5 a 100 mV s^{-1} .

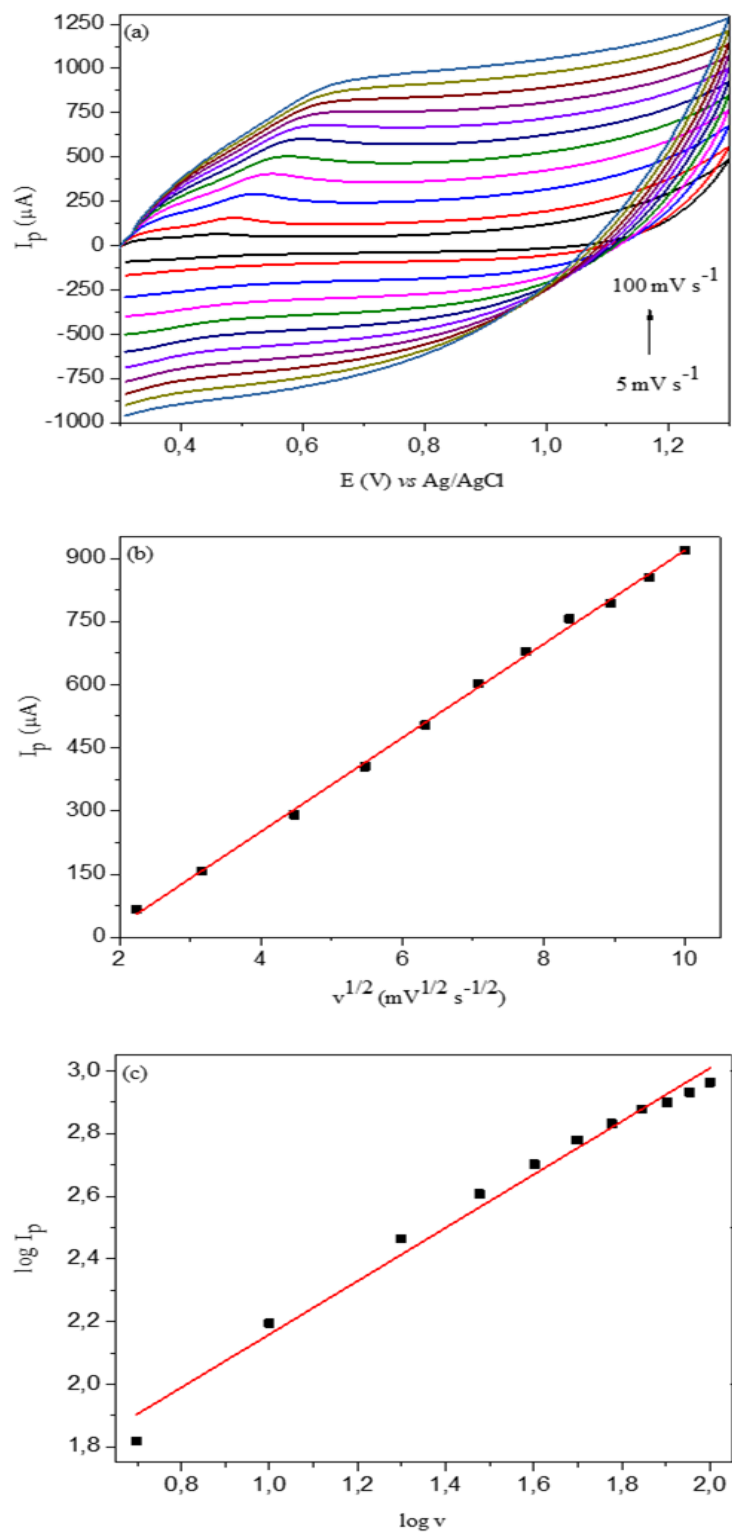


Figura 32. (a) CVs do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio na presença de $291 \mu\text{mol L}^{-1}$ de PCT, em diferentes valores de v , 5 a 100 mV s^{-1} , PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 , pH 6,0; (b) relação entre I_p e $v^{1/2}$; (c) relação entre $\log I_p$ e $\log v$.

A partir dos CVs obtidos, mostrados na Figura 34 (a), observa-se que I_p apresenta um comportamento dependente de ν , ou seja, com o aumento de ν aumenta também I_p . Além disso, é possível notar um leve deslocamento dos valores de E_p para potenciais maiores. A relação linear obtida entre I_p e $\nu^{1/2}$ (Figura 34 (b), Equação 10) sugere que o processo de oxidação do PCT na superfície do eletrodo se dá por difusão. Ao se investigar a relação entre $\log I_p$ e $\log \nu$ (Figura 34 (c)) obtém-se o valor de 0,85 para o coeficiente angular da reta (Equação 11). Esse resultado é indicativo de um processo de difusão acompanhada de adsorção.

$$I_{pa}(\mu A) = -194 (\pm 9,73) + 111,3 (\pm 1,37) \nu^{1/2} (m V^{1/2} s^{-1/2}); R = 0,9985 \text{ (Equação 10)}$$

$$\log I_p = 1,31 (\pm 0,06) + 0,850 (\pm 0,03) \log \nu; R = 0,9835 \text{ (Equação 11)}$$

5.9.4.3 Desempenho analítico na detecção de PCT

A aplicabilidade do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio como sensor eletroquímico na detecção de PCT foi avaliada por LSV, na janela de potencial de 0,2 V a 1,3 V, com ν de 5 mV s⁻¹ e pulso de potencial (E_{step}) de 0,005 V. Foram feitas adições consecutivas de uma solução 0,01 mol L⁻¹ de PCT e 30 s após cada adição obteve-se o LV correspondente (Figura 35 (a)). A partir dos LVs obtidos, construiu-se um gráfico relacionando a concentração de PCT e I_{pa} (Figura 35 (b)). Foi possível observar que há um comportamento linear entre a concentração do analito e os valores de I_{pa} obtidos em duas faixas de concentração. Assim, a primeira faixa linear observada foi de 384,6 μmol L⁻¹ a 654,2 μmol L⁻¹, enquanto que a segunda foi de 654,2 μmol L⁻¹ a 950,2 μmol L⁻¹. As regressões lineares estão expressas pelas Equações 12 e 13.

$$I_p = -14,35 (\pm 3,11) + 0,113 (\pm 0,006) (\mu A \mu mol L^{-1}); R = 0,9866 \text{ (Equação 12)}$$

$$I_p = 17,45 (\pm 2,19) + 0,063 (\pm 0,003) (\mu A \mu mol L^{-1}); R = 0,9872 \text{ (Equação 13)}$$

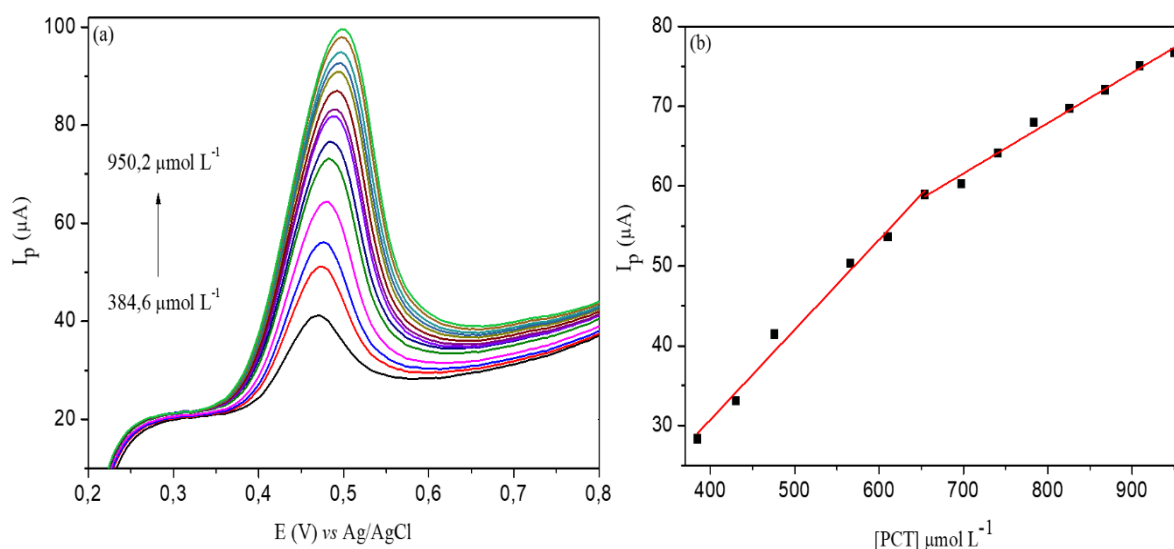


Figura 33. (a) LVs obtidos para o material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio frente a adições consecutivas de PCT na faixa de 654,2 a 950,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em PBS 0,1 mol L^{-1} , contendo 0,5 mol L^{-1} de NaNO_3 , pH 6,0 e v de 5 mV s^{-1} .

A sensibilidade da medida (*slope*) é dada pelo coeficiente angular da regressão linear, sendo o valor de 0,113 $\mu\text{mol L}^{-1}$ obtido na faixa de 384,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 654,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e 0,063 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a faixa de 654,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 950,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O limite de detecção (LOD) é dado pela Equação 14, na qual o termo SD_{branco} representa o desvio padrão de medidas do branco. Considerando-se SD_{branco} para 10 medidas, obtém-se um limite de detecção 8,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

$$\text{Limite de detecção (LOD)} = \frac{3 \times SD_{\text{branco}}}{\text{Sensibilidade (Slope)}} \quad (\text{Equação 14})$$

O desempenho do CPE modificado com o material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio na detecção de PCT foi confrontado com diferentes configurações de eletrodos modificados com MWCNTs já reportados (Tabela 7). Observa-se que o material desenvolvido nesse trabalho apresentou LOD comparável aos apresentados pelos demais sistemas. Mesmo para os sistemas em que a detecção de PCT foi realizada empregando-se uma técnica eletroquímica consideravelmente mais sensível que a técnica utilizada nesse trabalho, como voltametria de onda quadrada (SWV) e voltametria de pulso diferencial (DPV), o LOD obtido para o material

f-MWCNTs/Quit-Au/Tio foi menor que o reportado por esses sistemas. Além disso, as concentrações de PCT da faixa linear estudada nesse trabalho são maiores que as apresentadas pelos sistemas que obtiveram LOD mais alto. Cabe ressaltar também que os sistemas com valores de LOD mais baixos compreendem sistemas eletroquímicos com funcionalizações envolvendo outras nanoestruturas de carbono, como pontos quânticos de grafeno, além de polímeros condutores, como a polianilina, polímeros termossensíveis e, até mesmo, o emprego de microrganismos em processos bioquímicos.

O desempenho analítico do material *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio sugere que o CPE modificado pode ser ainda mais promissor na detecção eletroquímica de PCT. A partir de pequenos ajustes nas quantidades de grupos funcionais, como a do corante, por exemplo, é possível impulsionar o comportamento eletroquímico desse material na eletrocatalise de PCT.

Tabela 7. Desempenho comparativo de diferentes eletrodos de MWCNTs modificados na determinação eletroquímica de PCT.

Eletrodo	Deteção	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
CoPc-flav-f-MWCNTs ^a CoPc-bo-f-MWCNTs ^a	SWV	0,975 – 1000 15,6 – 1000	1 15	129
Polyimide-MWCNT ^b	DPV	2 – 1800	2	26
N-DHPB-MWNT ^c	DPV	15 – 270	10	28
MWCNT-CO-POs-EA ^d	Cronoamperometria	10 – 100	1,0	130
Au/PANI- cMWCNT/Basillus sp./GA ^e	Amperometria	5 – 630	2,9	79
GQDs + DES + MWCNTs- COOH/PARG ^f	DPV	0,030–10	0,010	131
PS-PNIPAm-PS/MWCNTs- GQDs ^g	DPV	0,1 – 7,0 7,0 – 103,0	0,066	80
AuNPs/MWCNT ^h	DPV	0,09 – 35,0	0,03	27
f-MWCNTS/Quit-Au/Tio	LSV	384,6 - 654,2	8,2	Esse trabalho

^a = Eletrodo de carbono vítreo (*Glassy Carbon Electrode, GCE*) modificado com MWCNTs conjugados com ftalocianinas de cobre (CoPcs) contendo grupos flavona (flav) ou benzoxazol (bo) substituídos periféricamente.

^b = Eletrodo de platina modificado com filme de um compósito formado por poliimida e MWCNTs.

^c = CPE modificado com N-(3,4-hidroxifenetil)-3,5-dinitrobenzamida (N-DHPB) e MWCNTs.

^d = GCE modificado com MWCNTs covalentemente ligados a um polímero redox policatiônico à base de ósmio (Os), poli[4-vinilpiridina Os(bipiridina)2Cl]-co-etilamina (POs-EA).

^e = Eletrodo de ouro (Au) modificado com MWCNTs, polianilina (PANI), glutaraldeído (GA) e *Bacillus* sp.

^f = GCE modificado com pontos quânticos de grafeno (*Graphene quantum dots, GQDs*), um solvente eutéctico profundo (*Deep eutectic solvent, DES*) e nanotubos de carbono carboxilados (MWCNTs-COOH).

^g = GCE modificado com um polímero em bloco termossensível, poli(estireno-b-(N-isopropilacrilamida)-b-estireno) (PS-PNIPAm-PS), nanotubos de carbono carboxilados (MWCNTs) e pontos quânticos de grafeno amino funcionalizados (N- GQDs).

^h = GCE modificado com nanocompósito de nanopartículas de ouro (AuNPs) e nanotubos de carbono (MWCNT).

6. Conclusão

Nesse trabalho, nanotubos carboxilados foram obtidos a partir da oxidação de nanotubos de parede múltipla em uma mistura de ácido nítrico e ácido sulfúrico. Posteriormente, uma dispersão de nanopartículas de ouro estabilizadas em quitosana foi adsorvida fisicamente na estrutura dos *f*-MWCNTs, resultando no material *f*-MWCNTs/Quit-Au. Em seguida, o corante catiônico tionina foi covalentemente imobilizado na matriz de *f*-MWCNTs/Quit-Au, através de reações de acoplamento com o par EDC/NHS. Essas reações envolveram a formação de um éster instável, seguida de sua substituição pela formação de amida no meio reacional. O material resultante desses processos de funcionalização, *f*-MWCNTs/Quit-Au/Tio, foi aplicado como sensor para detecção eletroquímica de paracetamol. O eletrodo apresentou resposta linear na faixa de 384,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 654,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com sensibilidade de 0,133 $\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$ e limite de detecção de 8,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Esses resultados indicam que o material é promissor para ser aplicado no desenvolvimento de dispositivos eletroquímicos para detecção de paracetamol.

7. Referências

- (1) Chaibun, T.; Puenpa, J.; Ngamdee, T.; Boonapatcharoen, N.; Athamanolap, P.; O'Mullane, A. P.; Vongpunsawad, S.; Poovorawan, Y.; Lee, S. Y.; Lertanantawong, B. Rapid Electrochemical Detection of Coronavirus SARS-CoV-2. *Nat. Commun.* **2021**, *12*.
- (2) Yakoh, A.; Pimpitak, U.; Rengpipat, S.; Hirankarn, N.; Chailapakul, O.; Chaiyo, S. Paper-Based Electrochemical Biosensor for Diagnosing COVID-19: Detection of SARS-CoV-2 Antibodies and Antigen. *Biosens. Bioelectron.* **2021**, *176*.
- (3) Zhao, H.; Liu, F.; Xie, W.; Zhou, T. C.; OuYang, J.; Jin, L.; Li, H.; Zhao, C. Y.; Zhang, L.; Wei, J.; Zhang, Y. P.; Li, C. P. Ultrasensitive Supersandwich-Type Electrochemical Sensor for SARS-CoV-2 from the Infected COVID-19 Patients Using a Smartphone. *Sensors Actuators, B Chem.* **2021**, *327*.
- (4) de Lima, L. F.; Ferreira, A. L.; Torres, M. D. T.; de Araujo, W. R.; de la Fuente-Nunez, C. Minute-Scale Detection of SARS-CoV-2 Using a Low-Cost Biosensor Composed of Pencil Graphite Electrodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2021**, *118*.
- (5) Zhou, Y.; Kubota, L. T. Trends in Electrochemical Sensing. *ChemElectroChem* **2020**, *7*.
- (6) Stradiotto, N. R.; Yamanaka, H.; Zanoni, M. V. B. Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*.
- (7) Anzar, N.; Hasan, R.; Tyagi, M.; Yadav, N.; Narang, J. Carbon Nanotube - A Review on Synthesis, Properties and Plethora of Applications in the Field of Biomedical Science. *Sensors Int.* **2020**, *1*.
- (8) Bandaru, N. M.; Voelcker, N. H. Glycoconjugate-Functionalized Carbon Nanotubes in Biomedicine. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*.
- (9) Hu, S.; Hu, C. Carbon Nanotube-Based Electrochemical Sensors: Principles and Applications in Biomedical Systems. *J. Sensors* **2009**.
- (10) Mallakpour, S.; Soltanian, S. Surface Functionalization of Carbon Nanotubes: Fabrication and Applications. *RSC Adv.* **2016**, *6*.
- (11) Tan, J. M.; Arulselvan, P.; Fakurazi, S.; Ithnin, H.; Hussein, M. Z. A Review on Characterizations and Biocompatibility of Functionalized Carbon Nanotubes in Drug Delivery Design. *J. Nanomater.* **2014**, *1*.
- (12) Zhu, Z. An Overview of Carbon Nanotubes and Graphene for Biosensing Applications. *Nano-Micro Lett.* **2017**, *9*.
- (13) Gupta, S.; Murthy, C. N.; Prabha, C. R. Recent Advances in Carbon Nanotube Based

- Electrochemical Biosensors. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *108*.
- (14) Sajid, M.; Nazal, M. K.; Mansha, M.; Alsharaa, A.; Jillani, S. M. S.; Basheer, C. Chemically Modified Electrodes for Electrochemical Detection of Dopamine in the Presence of Uric Acid and Ascorbic Acid: A Review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. **2016**.
- (15) Heydari-Bafrooei, E.; Askari, S. Ultrasensitive Aptasensing of Lysozyme by Exploiting the Synergistic Effect of Gold Nanoparticle-Modified Reduced Graphene Oxide and MWCNTs in a Chitosan Matrix. *Microchim. Acta* **2017**, *184*.
- (16) Chen, A.; Chatterjee, S. Nanomaterials Based Electrochemical Sensors for Biomedical Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*.
- (17) Farka, Z.; Juřík, T.; Kovář, D.; Trnková, L.; Skládal, P. Nanoparticle-Based Immunochemical Biosensors and Assays: Recent Advances and Challenges. *Chem. Rev.* **2017**, *117*.
- (18) Nivethaa, E. A. K.; Dhanavel, S.; Narayanan, V.; Stephen, A. Fabrication of Chitosan/MWCNT Nanocomposite as a Carrier for 5-Fluorouracil and a Study of the Cytotoxicity of 5-Fluorouracil Encapsulated Nanocomposite towards MCF-7. *Polym. Bull.* **2016**, *73*.
- (19) Virgili, A. H.; Luza, L.; Fernandes, J. A.; Costa, T. M. H.; de Menezes, E. W.; Benvenutti, E. V. Self-Supported Gold/Chitosan Nanocatalyst for Chemoselective Hydrogenation in π -Conjugated CCCO System. *Catal. Commun.* **2018**, *116*.
- (20) Virgili, A. H.; Laranja, D. C.; Malheiros, P. S.; Pereira, M. B.; Costa, T. M. H.; de Menezes, E. W. Nanocomposite Film with Antimicrobial Activity Based on Gold Nanoparticles, Chitosan and Aminopropylsilane. *Surf. Coatings Technol.* **2021**, *415*.
- (21) Morawski, F. de M.; Xavier, B. B.; Virgili, A. H.; Caetano, K. dos S.; de Menezes, E. W.; Benvenutti, E. V.; Costa, T. M. H.; Arenas, L. T. A Novel Electrochemical Platform Based on Mesoporous Silica/Titania and Gold Nanoparticles for Simultaneous Determination of Norepinephrine and Dopamine. *Mater. Sci. Eng. C* **2021**, *120*.
- (22) Deon, M.; Morawski, F. M.; Passaia, C.; Dalmás, M.; Laranja, D. C.; Malheiros, P. S.; Nicolodi, S.; Arenas, L. T.; Costa, T. M. H.; de Menezes, E. W.; Benvenutti, E. V. Chitosan-Stabilized Gold Nanoparticles Supported on Silica/Titania Magnetic Xerogel Applied as Antibacterial System. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2019**, *89*.
- (23) Allali, N.; Urbanova, V.; Etienne, M.; Devaux, X.; Mallet, M.; Vigolo, B.; Adjizian, J. J.; Ewels, C. P.; Oberg, S.; Soldatov, A. V.; McRae, E.; Fort, Y.; Dossot, M.; Mamane, V. Accurate Control of the Covalent Functionalization of Singlewalled Carbon

- Nanotubes for the Electro-Enzymatically Controlled Oxidation of Biomolecules. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2018**, *9*.
- (24) Shobha Jeykumari, D. R.; Ramaprabhu, S.; Sriman Narayanan, S. A Thionine Functionalized Multiwalled Carbon Nanotube Modified Electrode for the Determination of Hydrogen Peroxide. *Carbon N. Y.* **2007**, *45*.
- (25) Zhang, M.; Gorski, W. Electrochemical Sensing Based on Redox Mediation at Carbon Nanotubes. *Anal. Chem.* **2005**, *77*.
- (26) Burç, M.; Köytepe, S.; Duran, S. T.; Ayhan, N.; Aksoy, B.; Seçkin, T. Development of Voltammetric Sensor Based on Polyimide-MWCNT Composite Membrane for Rapid and Highly Sensitive Detection of Paracetamol. *Measurement* **2020**, *151*.
- (27) Madrakian, T.; Haghshenas, E.; Afkhami, A. Simultaneous Determination of Tyrosine, Acetaminophen and Ascorbic Acid Using Gold Nanoparticles/Multiwalled Carbon Nanotube/Glassy Carbon Electrode by Differential Pulse Voltammetric Method. *Sensors Actuators B Chem.* **2014**, *193*.
- (28) Ensafi, A. A.; Karimi-Maleh, H.; Mallakpour, S.; Hatami, M. Simultaneous Determination of N-Acetylcysteine and Acetaminophen by Voltammetric Method Using N-(3,4-Dihydroxyphenethyl)-3,5-Dinitrobenzamide Modified Multiwall Carbon Nanotubes Paste Electrode. *Sensors Actuators B Chem.* **2011**, *155*.
- (29) Akhter, S.; Basirun, W. J.; Alias, Y.; Johan, M. R.; Bagheri, S.; Shalauddin, M.; Ladan, M.; Anuar, N. S. Enhanced Amperometric Detection of Paracetamol by Immobilized Cobalt Ion on Functionalized MWCNTs - Chitosan Thin Film. *Anal. Biochem.* **2018**, *551*.
- (30) Zhang, X.; Ju, H.; Wang, J. *Electrochemical Sensors, Biosensors and Their Biomedical*, 1st ed.; Academic Press: San Diego, CA, **2008**.
- (31) Bard, Allen J., Inzelt, György, Scholz, F. *Electrochemical Dictionary*, 2nd ed.; Bard, Allen J., Inzelt, György, Scholz, F., Ed.; Springer Science & Business Media: London New York, **2012**.
- (32) Kaya, S. I.; Karabulut, T. C.; Kurbanoglu, S.; Ozkan, S. A. Chemically Modified Electrodes in Electrochemical Drug Analysis. *Curr. Pharm. Anal.* **2019**, *16*.
- (33) Pingarrón, J. M.; Labuda, J.; Barek, J.; Brett, C. M. A.; Camões, M. F.; Fojta, M.; Hibbert, D. B. Terminology of Electrochemical Methods of Analysis (IUPAC Recommendations 2019). *Pure Appl. Chem.* **2020**, *92*.
- (34) Adarakatti, P. S.; Kempahanumakkagari, S. K. Modified Electrodes for Sensing. *SPR Electrochem.* **2019**, *15*.

- (35) Švancara, I.; Walcarius, A.; Kalcher, K.; Vytřas, K. Carbon Paste Electrodes in the New Millennium. *Cent. Eur. J. Chem.* **2009**, *7*.
- (36) Guo, Y. K.; Chen, W.; Xiong, Q.; Ren, Q. X.; Sun, L.; Han, B.; Li, X. J. Chemically Modified Multiwalled Carbon Nanotubes Improve the Cytocompatibility. *Mater. Res. Express* **2017**, *4*.
- (37) Tîlmaciu, C.-M.; Morris, M. C. Carbon Nanotube Biosensors. *Front. Chem.* **2015**, *3*.
- (38) Rivas, G. A.; Rubianes, M. D.; Pedano, M. L.; Ferreyra, N. F.; Luque, G. L.; Rodríguez, M. C.; Miscoria, S. A. Carbon Nanotubes Paste Electrodes. A New Alternative for the Development of Electrochemical Sensors. *Electroanalysis* **2007**, *19*.
- (39) Oliveira, T. M. B. F.; Morais, S. New Generation of Electrochemical Sensors Based on Multi-Walled Carbon Nanotubes. *Appl. Sci.* **2018**, *8*.
- (40) Dumitrescu, I.; Unwin, P. R.; MacPherson, J. V. Electrochemistry at Carbon Nanotubes: Perspective and Issues. *Chem. Commun.* **2009**, 7345.
- (41) Brito, C. L.; Ferreira, E. I.; La-Scalea, M. A. Multi-Walled Carbon Nanotube Functionalization and the Dispersing Agents Study Applied for the Glassy Carbon Electrode Modification and Voltammetric Reduction of Nitrofurazone. *J. Solid State Electrochem.* **2020**, *24*.
- (42) Kumar Jagadeesan, A.; Thangavelu, K.; Dhananjeyan, V. Carbon Nanotubes: Synthesis, Properties and Applications. In *21st Century Surface Science - a Handbook*; IntechOpen, **2020**, 27.
- (43) Eatemadi, A.; Daraee, H.; Karimkhanloo, H.; Kouhi, M.; Zarghami, N.; Akbarzadeh, A.; Abasi, M.; Hanifehpour, Y.; Joo, S. W. Carbon Nanotubes: Properties, Synthesis, Purification, and Medical Applications. *Nanoscale Res. Lett.* **2014**, *9*.
- (44) Vardharajula, S.; Ali, S. Z.; Tiwari, P. M.; Eroğlu, E.; Vig, K.; Dennis, V. A.; Singh, S. R. Functionalized Carbon Nanotubes: Biomedical Applications. *Int. J. Nanomedicine* **2012**, *7*.
- (45) Zhang, Y.; Bai, Y.; Yan, B. Functionalized Carbon Nanotubes for Potential Medicinal Applications. *Drug Discov. Today* **2010**, *15*.
- (46) Muniandy, S.; Teh, S. J.; Thong, K. L.; Thiha, A.; Dinshaw, I. J.; Lai, C. W.; Ibrahim, F.; Leo, B. F. Carbon Nanomaterial-Based Electrochemical Biosensors for Foodborne Bacterial Detection. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2019**, *49*.
- (47) Kour, R.; Arya, S.; Young, S.-J.; Gupta, V.; Bandhoria, P.; Khosla, A. Review—Recent Advances in Carbon Nanomaterials as Electrochemical Biosensors. *J. Electrochem. Soc.* **2020**, *167*.

- (48) Schroeder, V.; Savagatrup, S.; He, M.; Lin, S.; Swager, T. M. Carbon Nanotube Chemical Sensors. *Chem. Rev.* **2019**, *119*.
- (49) Wang, Z.; Dai, Z. Carbon Nanomaterial-Based Electrochemical Biosensors: An Overview. *Nanoscale* **2015**, *7*.
- (50) Sireesha, M.; Jagadeesh Babu, V.; Kranthi Kiran, A. S.; Ramakrishna, S. A Review on Carbon Nanotubes in Biosensor Devices and Their Applications in Medicine. *Nanocomposites* **2018**, *4*.
- (51) Wang, Z.; Yu, J.; Gui, R.; Jin, H.; Xia, Y. Carbon Nanomaterials-Based Electrochemical Aptasensors. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *79*.
- (52) Cho, I. H.; Kim, D. H.; Park, S. Electrochemical Biosensors: Perspective on Functional Nanomaterials for on-Site Analysis. *Biomater. Res.* **2020**, *24*.
- (53) Lisboa, F. S.; Neiva, E. G. C.; Bergamini, M. F.; Marcolino Junior, L. H.; Zarbin, A. J. G. Evaluation of Carbon Nanotubes/Polyaniline Thin Films for Development of Electrochemical Sensors. *J. Braz. Chem. Soc.* **2020**, *31*.
- (54) Rahmati, M.; Mozafari, M. Biological Response to Carbon-Family Nanomaterials: Interactions at the Nano-Bio Interface. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2019**, *7*.
- (55) Zhou, Y.; Fang, Y.; Ramasamy, R. P. Non-Covalent Functionalization of Carbon Nanotubes for Electrochemical Biosensor Development. *Sensors* . **2019**, *19*.
- (56) K., V.; Suresh, S.; K., M.; Gupta, A.; Vijayaraghav, R. Carbon Nanotubes - A Potential Material for Affinity Biosensors. *Carbon Nanotub. - Growth Appl.* **2011**.
- (57) Najari, S.; Bagheri, H.; Monsef-Khoshhesab, Z.; Hajian, A.; Afkhami, A. Electrochemical Sensor Based on Gold Nanoparticle-Multiwall Carbon Nanotube Nanocomposite for the Sensitive Determination of Docetaxel as an Anticancer Drug. *Ionics (Kiel)*. **2018**, *24*.
- (58) Vashist, S. K.; Zheng, D.; Al-Rubeaan, K.; Luong, J. H. T.; Sheu, F. S. Advances in Carbon Nanotube Based Electrochemical Sensors for Bioanalytical Applications. *Biotechnology Advances.* **2011**, *29*.
- (59) Gou, Z.; Xu, D.; Dong, Q.; Wu, X. Comparison Studies on Covalently and Non-Covalently Modified MWNTs Using Chitosan and Their Starch Nanocomposites. *Starch - Stärke* **2016**, *68*.
- (60) Pacheco, F. G.; Cotta, A. A. C.; Gorgulho, H. F.; Santos, A. P.; Macedo, W. A. A.; Furtado, C. A. Comparative Temporal Analysis of Multiwalled Carbon Nanotube Oxidation Reactions: Evaluating Chemical Modifications on True Nanotube Surface. *Applied Surface Science.* **2015**, *357*.

- (61) Nunes, M. R.; Gushikem, Y.; Landers, R.; Dupont, J.; Costa, T. M. H.; Benvenutti, E. V. Charged Silsesquioxane Used as a Vehicle for Gold Nanoparticles to Perform the Synthesis of Catalyst Xerogels. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2012**, *6*.
- (62) Laranjo, M. T.; Kist, T. B. L.; Benvenutti, E. V.; Gallas, M. R.; Costa, T. M. H. Gold Nanoparticles Enclosed in Silica Xerogels by High-Pressure Processing. *J. Nanoparticle Res.* **2011**, *13*.
- (63) de Menezes, E. W.; Nunes, M. R.; Arenas, L. T.; Dias, S. L. P.; Garcia, I. T. S.; Gushikem, Y.; Costa, T. M. H.; Benvenutti, E. V. Gold Nanoparticle/Charged Silsesquioxane Films Immobilized onto Al/SiO₂ Surface Applied on the Electrooxidation of Nitrite. *J. Solid State Electrochem.* **2012**, *16*.
- (64) Pagno, C. H.; Costa, T. M. H.; De Menezes, E. W.; Benvenutti, E. V.; Hertz, P. F.; Matte, C. R.; Tosati, J. V.; Monteiro, A. R.; Rios, A. O.; Flôres, S. H. Development of Active Biofilms of Quinoa (*Chenopodium Quinoa* W.) Starch Containing Gold Nanoparticles and Evaluation of Antimicrobial Activity. *Food Chem.* **2015**, *173*.
- (65) Didó, C. A.; Caneppele, C. D. G.; Schneid, A. C.; Pereira, M. B.; Costa, T. M. H.; Benvenutti, E. V. Small Gold Nanoparticles with Narrow Size Distribution Achieved in SBA-15 Pores by Using Ionic Silsesquioxane Instead of Thiol Group as Stabilizer and Adhesion Agent. *Microporous and Mesoporous Materials.* **2018**, *270*.
- (66) Li, S.; Zhu, X.; Zhang, W.; Xie, G.; Feng, W. Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Gold Nanoparticles/Thionine/Gold Nanoparticles/Multi-Walled Carbon Nanotubes–Chitosans Composite Film-Modified Electrode. *Appl. Surf. Sci.* **2012**, *258*.
- (67) Franconetti, A.; Carnerero, J. M.; Prado-Gotor, R.; Cabrera-Escribano, F.; Jaime, C. Chitosan as a Capping Agent: Insights on the Stabilization of Gold Nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* **2019**, *207*.
- (68) Gholivand, M. B.; Mohammadi-Behzad, L. An Electrochemical Sensor for Warfarin Determination Based on Covalent Immobilization of Quantum Dots onto Carboxylated Multiwalled Carbon Nanotubes and Chitosan Composite Film Modified Electrode. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *57*.
- (69) Ou, C.; Yuan, R.; Chai, Y.; Tang, M.; Chai, R.; He, X. A Novel Amperometric Immunosensor Based on Layer-by-Layer Assembly of Gold Nanoparticles–Multi-Walled Carbon Nanotubes-Thionine Multilayer Films on Polyelectrolyte Surface. *Anal. Chim. Acta* **2007**, *603*.
- (70) Wang, Z.; Yang, S.; Wang, Y.; Feng, W.; Li, B.; Jiao, J.; Han, B.; Chen, Q. A Novel Oriented Immunosensor Based on AuNPs-Thionine-CMWCNTs and Staphylococcal

- Protein A for Interleukin-6 Analysis in Complicated Biological Samples. *Analytica Chimica Acta*. **2020**, 1140.
- (71) Salimi, A.; Rahmatpanah, R.; Hallaj, R.; Roushani, M. Covalent Attachment of Thionine onto Gold Electrode Modified with Cadmium Sulfide Nanoparticles: Improvement of Electrocatalytic and Photoelectrocatalytic Reduction of Hydrogen Peroxide. *Electrochim. Acta* **2013**, *9*.
- (72) Gholivand, M. B.; Ahmadi, E.; Mavaei, M. A Novel Voltammetric Sensor Based on Graphene Quantum Dots-Thionine/Nano-Porous Glassy Carbon Electrode for Detection of Cisplatin as an Anti-Cancer Drug. *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, *299*.
- (73) Xu, X.; Feng, Y.; Li, J.; Li, F.; Yu, H. A Novel Protocol for Covalent Immobilization of Thionine on Glassy Carbon Electrode and Its Application in Hydrogen Peroxide Biosensor. *Biosensors and Bioelectronics.* **2010**, *25*.
- (74) Roushani, M.; Karami, E. Electrochemical Detection of Persulfate at the Modified Glassy Carbon Electrode with Nanocomposite Containing Nano-Ruthenium Oxide/Thionine and Nano-Ruthenium Oxide/Celestine Blue. *Electroanalysis* **2014**, *26*.
- (75) Gayathri, C. H.; Mayuri, P.; Sankaran, K.; Kumar, A. S. An Electrochemical Immunosensor for Efficient Detection of Uropathogenic E. Coli Based on Thionine Dye Immobilized Chitosan/Functionalized-MWCNT Modified Electrode. *Biosensors and Bioelectronics.* **2016**, *82*.
- (76) Li, F.; Feng, Y.; Yang, L.; Liu, S. Electrochemical Sensing Platform Based on Covalent Immobilization of Thionine onto Gold Electrode Surface via Diazotization-Coupling Reaction. *Talanta.* **2010**, *83*.
- (77) Li, M.; Jing, L. Electrochemical Behavior of Acetaminophen and Its Detection on the PANI-MWCNTs Composite Modified Electrode. *Electrochimica Acta.* **2007**, *52*
- (78) Goyal, R. N.; Singh, S. P. Voltammetric Determination of Paracetamol at C60-Modified Glassy Carbon Electrode. *Electrochim. Acta* **2006**, *51*.
- (79) Bayram, E.; Akyilmaz, E. Development of a New Microbial Biosensor Based on Conductive Polymer/Multiwalled Carbon Nanotube and Its Application to Paracetamol Determination. *Sensors Actuators, B Chem.* **2016**, *233*.
- (80) Zhao, P.; Ni, M.; Chen, C.; Zhou, Z.; Li, X.; Li, C.; Xie, Y.; Fei, J. Stimuli-Enabled Switch-like Paracetamol Electrochemical Sensor Based on Thermosensitive Polymer and MWCNTs-GQDs Composite Nanomaterial. *Nanoscale* **2019**, *11*.
- (81) Brahman, P. K.; Suresh, L.; Lokesh, V.; Nizamuddin, S. Fabrication of Highly Sensitive and Selective Nanocomposite Film Based on CuNPs/Fullerene-C60/MWCNTs: An

- Electrochemical Nanosensor for Trace Recognition of Paracetamol. *Analytica Chimica Acta*. **2016**, 917.
- (82) Gowda, J. I.; Gunjiganvi, D. G.; Sunagar, N. B.; Bhat, M. N.; Nandibewoor, S. T. MWCNT–CTAB Modified Glassy Carbon Electrode as a Sensor for the Determination of Paracetamol. *RSC Adv*. **2015**, 5.
- (83) Wang, J.; Liu, S.; Luo, J.; Hou, S.; Song, H.; Niu, Y.; Zhang, C. Conductive Metal-Organic Frameworks for Amperometric Sensing of Paracetamol. *Front. Chem*. **2020**, 8.
- (84) Pinyou, P.; Blay, V.; Chansaenpak, K.; Lisnund, S. Paracetamol Sensing with a Pencil Lead Electrode Modified with Carbon Nanotubes and Polyvinylpyrrolidone. *Chemosensors* **2020**, 8.
- (85) Khalafi, L.; Rafiee, M. Cyclic Voltammetry. *Encyclopedia of Physical Organic Chemistry*., **2017**, 9.
- (86) Wang, J. *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New Jersey, **2006**.
- (87) Thomas, F. G.; Henze, G. *Introduction to Voltammetric Analysis: Theory and Practice*; Csiro publishing: Australia, **2001**.
- (88) Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*, Second ed.; JOHN WILEY & SONS, INC.: New York, **2000**.
- (89) Guy, O. J.; Walker, K. A. D. Graphene Functionalization for Biosensor Applications. *Silicon Carbide Biotechnol. A Biocompatible Semicond. Adv. Biomed. Devices Appl. Second Ed*. **2016**.
- (90) Brett, C. M. A.; Maria, A. N. A.; Brett, O. *Electrochemistry Principles, Methods, and Applications*, 1st ed.; Oxford University Press: Portugal, **1994**.
- (91) Elgrishi, N.; Rountree, K. J.; McCarthy, B. D.; Rountree, E. S.; Eisenhart, T. T.; Dempsey, J. L. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* **2018**, 95.
- (92) Pletcher, D.; Greff, R.; Peat, R.; Peter, L. M.; Robinson, J. *Instrumental Methods in Electrochemistry*, First ed.; Woodhead Publishing Chemical Science Series: Philadelphia, USA, **2001**.
- (93) Cho, J.; Boccaccini, A. R.; Shaffer, M. S. P. The Influence of Reagent Stoichiometry on the Yield and Aspect Ratio of Acid-Oxidised Injection CVD-Grown Multi-Walled Carbon Nanotubes. *Carbon N. Y.* **2012**, 50.
- (94) Webb, P. A.; Orr, C.; Corporation, M. I. *Analytical Methods in Fine Particle Technology*; Micromeritics Instrument Corporation, **1997**.

- (95) Pierini, F.; Lanzi, M.; Lesci, I. G.; Roveri, N. Comparison between Inorganic Geomimetic Chrysotile and Multiwalled Carbon Nanotubes in the Preparation of One-Dimensional Conducting Polymer Nanocomposites. *Fibers Polym.* **2015**, *16*.
- (96) Siklitskaya, A.; Yastrebov, S.; Smith, R. An Interpretation of the Strongest X-Ray Diffraction Peak for Various Carbon Nanoclusters; **2016**, *7*.
- (97) Jiang, L.; Gao, L. Fabrication and Characterization of Carbon Nanotube–Titanium Nitride Composites with Enhanced Electrical and Electrochemical Properties. *J. Am. Ceram. Soc.* **2006**, *89*.
- (98) Ibrahim, H. S. Chitosan Molecular Weight Effects on The Synthesis of Gold Nanoparticles and Catalytic Degradation of Environmental Pollutants. *J. Adv. Phys.* **2018**, *14*.
- (99) Jurkin, T.; Guliš, M.; Dražić, G.; Gotić, M. Synthesis of Gold Nanoparticles under Highly Oxidizing Conditions. *Gold Bull.* **2016**, *49*.
- (100) Datsyuk, V.; Kalyva, M.; Papagelis, K.; Parthenios, J.; Tasis, D.; Siokou, A.; Kallitsis, I.; Galiotis, C. Chemical Oxidation of Multiwalled Carbon Nanotubes. *Carbon N. Y.* **2008**, *46*.
- (101) Singh, C.; Srivastava, S.; Ali, M. A.; Gupta, T. K.; Sumana, G.; Srivastava, A.; Mathur, R. B.; Malhotra, B. D. Carboxylated Multiwalled Carbon Nanotubes Based Biosensor for Aflatoxin Detection. *Sensors and Actuators, B: Chemical.* **2013**, *185*.
- (102) Lehman, J. H.; Terrones, M.; Mansfield, E.; Hurst, K. E.; Meunier, V. Evaluating the Characteristics of Multiwall Carbon Nanotubes. *Carbon N. Y.* **2011**, *49* (8), 2581–2602.
- (103) Xu, T.; Yang, J. Effects of Surface Modification of MWCNT on the Mechanical and Electrical Properties of Fluoro Elastomer/MWCNT Nanocomposites. *J. Nanomater.* **2012**, *2012*.
- (104) Gong, M.; Han, T.; Cai, C.; Lu, T.; Du, J. Fabrication and Characterization of DNA–Thionine–Carbon Nanotube Nanocomposites. *J. Electroanal. Chem.* **2008**, *623*.
- (105) Witkowska, E.; Niciński, K.; Korsak, D.; Szyborski, T.; Kamińska, A. Sources of Variability in SERS Spectra of Bacteria: Comprehensive Analysis of Interactions between Selected Bacteria and Plasmonic Nanostructures. *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411*.
- (106) Hong, S.; Li, X. Optimal Size of Gold Nanoparticles for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy under Different Conditions. *J. Nanomater.* **2013**, *2013*.
- (107) Lynk, T. P.; Sit, C. S.; Brosseau, C. L. Electrochemical Surface-Enhanced Raman Spectroscopy as a Platform for Bacterial Detection and Identification. *Anal. Chem.* **2018**,

- (108) Pinilla-Peñalver, E.; Villaseñor, M. J.; Contento, A. M.; Ríos, Á. Erythrosine B – Coated Gold Nanoparticles as an Analytical Sensing Tool for the Proper Determination of Both Compounds Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Microchemical Journal*. **2020**, 157.
- (109) Boca, S.; Rugina, D.; Pinteá, A.; Leopold, N.; Astilean, S. Designing Gold Nanoparticle-Ensembles as Surface Enhanced Raman Scattering Tags inside Human Retinal Cells. *J. Nanotechnol.* **2012**, 201.
- (110) Lee, J. H.; Shin, H. J.; Kim, Y. D.; Lim, D.-K. Real-Time Surface-Enhanced Raman Scattering-Based Live Cell Monitoring of the Changes in Mitochondrial Membrane Potential. *Nanoscale Adv.* **2021**, 3.
- (111) Xu, F.; Xuan, M.; Ben, Z.; Shang, W.; Ma, G. Surface Enhanced Raman Scattering Analysis with Filter-Based Enhancement Substrates: A Mini Review. *Rev. Anal. Chem.* **2021**, 40.
- (112) Zha, Z.; Liu, R.; Yang, W.; Li, C.; Gao, J.; Shafi, M.; Fan, X.; Li, Z.; Du, X.; Jiang, S. Surface-Enhanced Raman Scattering by the Composite Structure of Ag NP-Multilayer Au Films Separated by Al₂O₃. *Opt. Express* **2021**, 29.
- (113) Didó, C. A.; Mass, E. B.; Pereira, M. B.; Hinrichs, R.; D'Oca, M. G. M.; Costa, T. M. H.; Russowsky, D.; Benvenuti, E. V. Heterogeneous Gold Nanocatalyst Applied in the Synthesis of 2-Aryl-2,3-Dihydroquinazolin-4(1H)-Ones. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2020**, 589.
- (114) Zhao, Z.; Chen, H.; Ma, L.; Liu, D.; Wang, Z. A Label-Free Electrochemical Impedance Aptasensor for Cyndrospermopsin Detection Based on Thionine–Graphene Nanocomposites. *Analyst* **2015**, 140.
- (115) Li, Q.; Zhang, J.; Yan, H.; He, M.; Liu, Z. Thionine-Mediated Chemistry of Carbon Nanotubes. *Carbon N. Y.* **2004**, 42.
- (116) Huang, Q.; Zhao, Z.; Nie, D.; Jiang, K.; Guo, W.; Fan, K.; Zhang, Z.; Meng, J.; Wu, Y.; Han, Z. Molecularly Imprinted Poly(Thionine)-Based Electrochemical Sensing Platform for Fast and Selective Ultratrace Determination of Patulin. *Anal. Chem.* **2019**, 91.
- (117) Sing, K. S. W. Reporting Physisorption Data for Gas/Solid Systems with Special Reference to the Determination of Surface Area and Porosity (Recommendations 1984). *Pure Appl. Chem.* **1985**, 57.
- (118) Caetano, K. dos S.; da Rosa, D. S.; Pizzolato, T. M.; dos Santos, P. A. M.; Hinrichs, R.; Benvenuti, E. V.; Dias, S. L. P.; Arenas, L. T.; Costa, T. M. H. MWCNT/Zirconia

- Porous Composite Applied as Electrochemical Sensor for Determination of Methyl Parathion. *Microporous Mesoporous Mater.* **2020**, 309.
- (119) Schneid, A. C.; Quevedo, A. B.; Pereira, M. B.; Araújo, P. F.; Franco, N.; Machado, G.; Moro, C. C.; de Menezes, E. W.; Costa, T. M. H.; Benvenuti, E. V. New Strategy to Obtain High Surface Area Anatase Nanotube/AuNP Photocatalyst. *Nanotechnology* **2019**, 30.
- (120) Rao, H.; Liu, Y.; Zhong, J.; Zhang, Z.; Zhao, X.; Liu, X.; Jiang, Y.; Zou, P.; Wang, X.; Wang, Y. Gold Nanoparticle/Chitosan@N,S Co-Doped Multiwalled Carbon Nanotubes Sensor: Fabrication, Characterization, and Electrochemical Detection of Catechol and Nitrite. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, 5.
- (121) Yang, S. Y.; Ma, C. C. M.; Teng, C. C.; Huang, Y. W.; Liao, S. H.; Huang, Y. L.; Tien, H. W.; Lee, T. M.; Chiou, K. C. Effect of Functionalized Carbon Nanotubes on the Thermal Conductivity of Epoxy Composites. *Carbon N. Y.* **2010**, 48.
- (122) Sweeney, S.; Hu, S.; Ruenraroengsak, P.; Chen, S.; Gow, A.; Schwander, S.; Zhang, J.; Chung, K. F.; Ryan, M. P.; Porter, A. E.; Shaffer, M. S.; Tetley, T. D. Carboxylation of Multiwalled Carbon Nanotubes Reduces Their Toxicity in Primary Human Alveolar Macrophages. *Environ. Sci. Nano* **2016**, 3.
- (123) Çelik, A.; Dinçer, A.; Aydemir, T. Characterization of β -Glucosidase Immobilized on Chitosan-Multiwalled Carbon Nanotubes (MWCNTS) and Their Application on Tea Extracts for Aroma Enhancement. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, 89.
- (124) Dumitrescu, I.; Crooks, R. M. Effect of Mass Transfer on the Oxygen Reduction Reaction Catalyzed by Platinum Dendrimer Encapsulated Nanoparticles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2012**, 109.
- (125) Gong, Z.; Zhang, G.; Wang, S. Electrochemical Reduction of Oxygen on Anthraquinone/Carbon Nanotubes Nanohybrid Modified Glassy Carbon Electrode in Neutral Medium. *J. Chem.* **2013**, 2013.
- (126) Ye, J.-S.; Liu, X.; Cui, H. F.; Zhang, W.-D.; Sheu, F.-S.; Lim, T. M. Electrochemical Oxidation of Multi-Walled Carbon Nanotubes and Its Application to Electrochemical Double Layer Capacitors. **2005**, 7.
- (127) Kannan, R.; Bipinlal, U.; Kurungot, S.; Pillai, V. K. Enhanced Electrocatalytic Performance of Functionalized Carbon Nanotube Electrodes for Oxygen Reduction in Proton Exchange Membrane Fuel Cells. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13.
- (128) Saleh MSA, A.-M. A. Catalytic Performance of Carbon Nanotubes Supported 12-Tungstosilicic Acid in the Electrooxidation of Cyclohexane to Cyclohexanone and

Cyclohexanol. *J. Chem. Eng. Process Technol.* **2013**, 05.

- (129) Kantize, K.; Booyesen, I. N.; Mambanda, A. Electrochemical Sensing of Acetaminophen Using Nanocomposites Comprised of Cobalt Phthalocyanines and Multiwalled Carbon Nanotubes. *J. Electroanal. Chem.* **2019**, 850.
- (130) Havens, N.; Trihn, P.; Kim, D.; Luna, M.; Wanekaya, A. K.; Mugweru, A. Redox Polymer Covalently Modified Multiwalled Carbon Nanotube Based Sensors for Sensitive Acetaminophen and Ascorbic Acid Detection. *Electrochim. Acta* **2010**, 55.
- (131) Arab, N.; Fotouhi, L.; Salis, A.; Dorraji, P. S. An Amplified Electrochemical Sensor Employing a Polymeric Film and Graphene Quantum Dots/Multiwall Carbon Nanotubes in a Deep Eutectic Solvent for Sensitive Analysis of Paracetamol and 4-Aminophenol. *New J. Chem.* **2020**, 44.