



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**GRUPO DE ELETROQUÍMICA E CORROSÃO**

**LUCAS FREIRE DE HOLANDA**

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE ACETAMINOFENO SOBRE**  
**ELETRODO MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, NANOTUBOS**  
**DE CARBONO E FTALOCIANINAS DE COBALTO**

**FORTALEZA**

**2016**

**LUCAS FREIRE DE HOLANDA**

**DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE ACETAMINOFENO SOBRE  
ELETRODO MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE OURO, NANOTUBOS  
DE CARBONO E FTALOCIANINAS DE COBALTO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Nunes Correia

Co-orientador: Dr. Francisco Wirley Paulino Ribeiro

**FORTALEZA**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- H669d Holanda, Lucas Freire de.  
Determinação eletroanalítica de acetaminofeno sobre eletrodo modificado com nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono e ftalocianinas de cobalto / Lucas Freire de Holanda. – 2016.  
74 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2016.  
Orientação: Profa. Dra. Adriana Nunes Correia.
1. Nanopartículas de ouro. 2. Nanotubos de carbono de paredes múltiplas. 3. Ftalocianinas de cobalto.  
4. Voltametria de onda quadrada. 5. Acetaminofeno. I. Título.

CDD 540

---

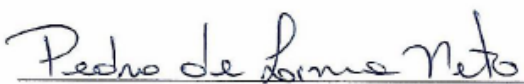
Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Analítica, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.


  
Lucas Freire de Holanda

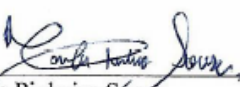
DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 18/02/2016.

EXAMINADORES:

  
Profa. Dra. Adriana Nunes Correia  
Universidade Federal do Ceará – UFC

  
Prof. Dr. Pedro de Lima Neto  
Universidade Federal do Ceará – UFC

  
Profa. Dra. Suely Souza Leal de Castro  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – (UERN)

  
Dra. Camilla Pinheiro Sousa  
Universidade Federal do Ceará – UFC

A Deus.

A minha família.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que todos os dias me ensina a ter fé e me mostra os caminhos que devo seguir, sendo meu amparo e refúgio nas dificuldades.

Ao meu pai, Fernando e à minha mãe, Carla, responsáveis por tudo que sou hoje; às minhas tias, Liduina e Maria Lúcia, que me deram o suporte, os incentivos e os conselhos necessários para que conseguisse alcançar os meus objetivos; à minha esposa, Juliana, ao meu filho, Gabriel, e a todos da minha família que, com muito carinho e apoio, foram importantes para que eu concluísse mais esta etapa de minha vida.

À professora Dra. Adriana Nunes Correia, que abriu as portas do Grupo de Eletroquímica e Corrosão (GELCORR) para mim e aceitou ser a minha orientadora durante o mestrado.

Ao Dr. Francisco Wirley Paulino Ribeiro, que me ensinou e me orientou em cada passo necessário para a realização deste trabalho.

Aos meus queridos amigos que fiz no GELCORR, Amanda, Ana Aline, Aurélio, Avelino, Camila, Erineudo, Leandro, Luane, Luís Paulo, Natália Gomes, Raíssa, Rayane, Uilson; e em especial a Janmille e Natália Vieira (Bancada nº 3); e também Henrique Jorge, com que eu tive a honra de dividir a bancada do laboratório. Espero ter a amizade de todos para sempre.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Química da UFC, em especial ao professor Dr. Pedro de Lima Neto e ao professor Dr. Paulo Naftali da Silva Casciano, pelos ensinamentos e pelo incentivo.

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

## RESUMO

O presente trabalho descreve o desenvolvimento de metodologia eletroanalítica simples para quantificação de acetaminofeno (AAF) utilizando voltametria de onda quadrada (VOQ). Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro (NpAu), nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados (NTCPMF) e ftalocianina de cobalto (II) (FcCo) foi preparado e caracterizado por voltametria cíclica (VC), VOQ e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). As condições experimentais, tais como pH, eletrólito de suporte e parâmetros da voltametria de onda quadrada foram otimizadas. A partir das condições experimentais otimizadas, a oxidação de AAF foi caracterizada como um processo quase-reversível e dependente de prótons, com participação de igual número de prótons e de elétrons (dois prótons e dois elétrons) e com o valor da constante de transferência de carga ( $k_s$ ) sendo igual a  $59,0 \pm 2,5 \text{ s}^{-1}$ . Avaliação do eletrólito de suporte foi realizada em quatro diferentes soluções tampões e a influência do pH do meio também foi verificada, resultando em solução tampão McIlvaine pH 5,0. Os valores de frequência de aplicação de pulsos de potencial ( $f$ ), amplitude de pulsos de potencial ( $a$ ) e incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ) da VOQ otimizados foram  $50 \text{ s}^{-1}$ , 40 mV e 3 mV, respectivamente. Sob estas condições, curvas de calibração foram lineares na faixa de concentração de  $1,49 \times 10^{-6}$  a  $4,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  com limite de detecção (LD) de  $1,35 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  e limite de quantificação (LQ) de  $4,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . A repetibilidade e a reprodutibilidade foram avaliadas com base nos valores de desvio padrão relativo (DPR), que foram iguais a 4,56% e 2,38%, respectivamente, evidenciando a precisão da metodologia. Ensaio de recuperação foram realizados para quantificação de AAF em amostras de medicamentos apresentados na forma de comprimidos (Tylenol<sup>®</sup> 500 e Tylenol<sup>®</sup> DC), solução oral (Tylenol<sup>®</sup> Gotas) e suspensão oral (Tylenol<sup>®</sup> Criança). Os percentuais de recuperação para Tylenol<sup>®</sup> 500, Tylenol<sup>®</sup> DC, Tylenol<sup>®</sup> Gotas e Tylenol<sup>®</sup> Criança foram 101,34%, 89,91%, 98,61% e 75,76%, respectivamente. Os resultados obtidos pela metodologia utilizando VOQ foram comparados aos resultados obtidos pela utilização de espectrofotometria na região do ultravioleta e do visível (UV-Vis), apresentando vantagens para a metodologia eletroanalítica proposta, como menores valores de LD e de LQ. Assim, ficando evidenciado que a metodologia desenvolvida neste trabalho é apropriada para aplicações práticas.

**Palavras-chave:** Nanopartículas de ouro. Nanotubos de carbono de paredes múltiplas. Ftalocianinas de cobalto. Voltametria de onda quadrada. Acetaminofeno. Fármacos.

## ABSTRACT

This work describes the development of a simple electroanalytical methodology for quantification of acetaminophen (ACOP) using square-wave voltammetry (SWV). A glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles (AuNp), functionalized multi-walled carbon nanotubes (fMWCNT) and cobalt (II) phthalocyanine (CoPc) was prepared and characterized by cyclic voltammetry (CV), SWV and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The optimum experimental conditions, such as pH, supporting electrolyte and square-wave voltammetric parameters were investigated. From the data analysis of the optimization of experimental conditions, the oxidation of ACOP was characterized as a quasi-reversible and as a proton-dependent process, and with the reaction mechanism which allowed to calculate equal number of protons and electrons (two protons and two electrons) and the standard rate constant  $k_s$  value is equal to  $59.0 \pm 2.5 \text{ s}^{-1}$ . Study of the electrolyte was carried out in four different buffer solutions and the influence of pH was also evaluated, with the best results obtained at pH 5.0 McIlvaine buffer. The frequency ( $f$ ), amplitude ( $a$ ) and step potential ( $\Delta E_s$ ) optimized values were  $50 \text{ s}^{-1}$ ,  $40 \text{ mV}$  e  $3 \text{ mV}$ , respectively. Under the optimized conditions, calibration curves were linear in the concentration range of  $1.49 \times 10^{-6}$  a  $4.76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  with limit of detection (LOD) of  $1.35 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  and limit of quantification (LOQ) of  $4.50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . Repeatability and reproducibility were evaluated based on the relative standard deviation values (RSD), which were equal to 4.56% and 2.38%, respectively, demonstrating the accuracy of the methodology. Recovery assays were performed to ACOP quantification in drug samples presented in the form of tablets (Tylenol<sup>®</sup> 500 and Tylenol<sup>®</sup> DC) oral solution (Tylenol<sup>®</sup> Drops) and oral suspension (Tylenol<sup>®</sup> Child). The recovery percentages for samples of Tylenol<sup>®</sup> 500, Tylenol<sup>®</sup> DC Tylenol<sup>®</sup> Drops and Tylenol<sup>®</sup> Child were 101.34%, 89.91%, 98.61% and 75.76%, respectively. The results obtained by the SWV methodology were compared to the results obtained by ultraviolet-visible spectrophotometry (UV-Vis), showing the advantages to proposed electroanalytical methodology as lower LOD and LOQ values. Therefore, it is evident that the methodology developed in this work is quite suitable for practical applications.

**Keywords:** Gold nanoparticles. Multi-walled carbon nanotubes. Cobalt phthalocyanines. Square-wave voltammetry. Acetaminophen. Pharmaceuticals.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema de funcionamento de um sensor eletroquímico.....	14
Figura 2 - Estrutura da ftalocianina de cobalto.....	16
Figura 3 - Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada .....	18
Figura 4 - Voltamogramas teóricos para processos reversíveis (1) e irreversíveis (2).....	18
Figura 5 – Síntese do acetaminofeno.....	20
Figura 6 - Voltamogramas cíclicos para $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em meio de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> sobre CV e CV/NTCPMF-NpAu, utilizando concentrações de NpAu de 10, 25 e 50% (v/v de DMF) a 50 mV s <sup>-1</sup> .....	38
Figura 7 - Valores de corrente de pico anódico obtidos a partir de voltamogramas cíclicos sobre CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF, CV/NTCPMF-NpAu 25%, CV/NTCPMF-FcCo-NpAu 25%, CV/NpAu/NTCPMF-FcCo e CV/NTCPMF-FcCo em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em meio de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> , a 50 mV s <sup>-1</sup> .....	39
Figura 8 – Voltamogramas cíclicos sobre CV, CV/NpAu/NTCPMF-FcCo e CV/NTCPMF-FcCo em solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em meio de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> a 50 mV s <sup>-1</sup> .....	41
Figura 9 - Valores de corrente de pico anódico obtidos dos voltamogramas cíclicos para $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em meio de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> sobre CV e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, utilizando concentrações de FcCo de 0,25, 0,50, 1,00 e 1,50 mg mL <sup>-1</sup> a 50 mV s <sup>-1</sup> .....	42
Figura 10 – Voltamograma cíclico sobre CV/NpAu em meio de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 mol L <sup>-1</sup> , entre – 0,2 e +1,5 V, durante 15 ciclos a 100 mV s <sup>-1</sup> . Tempo de eletrodeposição das NpAu sobre CV de 120 s por cronoamperometria.....	43
Figura 11 - Relação entre a carga obtida a partir dos voltamogramas cíclicos em meio de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 mol L <sup>-1</sup> para eletrodos de CV/NpAu e os tempos de eletrodeposição das NpAu $1,0 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em NaNO <sub>3</sub> 0,1 mol L <sup>-1</sup> sobre CV variando de 20, 40, 60, 80, 100, 120 e 150 s.....	43
Figura 12 - Voltamogramas de onda quadrada para $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ $1,0 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup> em meio de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> sobre CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, com valores de $f = 100$ s <sup>-1</sup> , $a = 50$ mV e $\Delta E_s = 2$ mV.....	44

Figura 13 - Diagramas de Nyquist para $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de $KCl$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, com $f = 10 \text{ kHz}$ a $6 \text{ mHz}$ , $a = 10 \text{ mV}$ e $E = +0,29 \text{ V}$ , $+0,26 \text{ V}$ , $+0,27 \text{ V}$ e $+0,26 \text{ V}$ respectivamente .....	45
Figura 14 - Voltamograma cíclico para o AAF $5,66 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR $5,0$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo a $50 \text{ mV s}^{-1}$ por quatro ciclos.....	46
Figura 15 - Voltamogramas de onda quadrada para o AAF $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR pH $3,0$ a $10,0$ com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo .....	47
Figura 16 - Relação entre corrente de pico ( $I_p$ ), potencial de pico ( $E_p$ ) e pH obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada para AAF $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR, sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .....	48
Figura 17 - Voltamogramas de onda quadrada para o acetaminofeno $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão BR, McIlvaine, Sörensen e bitalato de potássio sempre em pH $5,0$ com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo.....	49
Figura 18 - Voltamogramas de onda quadrada para o acetaminofeno $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão McIlvaine com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo .....	50
Figura 19 - Relação entre corrente de pico ( $I_p$ ), potencial de pico ( $E_p$ ) e pH obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada para AAF $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão McIlvaine, sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ , $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .....	51
Figura 20 - Reação global de oxidação eletroquímica do AAF .....	51
Figura 21 - Relação entre corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos de potencial para acetaminofeno $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em tampão McIlvaine pH $5,0$ , variando-se a frequência de $5$ a $150 \text{ s}^{-1}$ , fixando os valores de $a = 50 \text{ mV}$ e de $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ , grafada com ponto médio e barras de erro para medidas em triplicata ..	53
Figura 22 - Relação entre $I_p/f^{1/2}$ e $\log(1/f)$ obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada para AAF $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão McIlvaine pH $5,0$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo. Valores de frequência no intervalo de $5$ a $150 \text{ s}^{-1}$ , com $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ .....	54
Figura 23 - Relação entre corrente de pico e amplitude dos pulsos de potencial para acetaminofeno $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em tampão McIlvaine	

pH 5,0, variando-se a amplitude de 5 a 80 mV, com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ , grafada com ponto médio e barras de erro para medidas em triplicata .....	55
Figura 24 - Relação entre corrente de pico e incremento de potencial para acetaminofeno $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em tampão McIlvaine pH 5,0, variando-se o incremento de 1 a 5 mV, com $f = 100 \text{ s}^{-1}$ e $a = 50 \text{ mV}$ , grafada com ponto médio e barras de erro para medidas em triplicata .....	56
Figura 25 - Componentes de corrente resultante, direta e reversa da voltametria de onda quadrada para AAF $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com $f = 50 \text{ s}^{-1}$ , $a = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ .....	57
Figura 26 - Voltamogramas de onda quadrada em solução de AAF $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ sobre os diferentes eletrodos modificados, em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com $f = 50 \text{ s}^{-1}$ , $a = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ .....	58
Figura 27 - Voltamogramas de onda quadrada para AAF em concentrações na faixa de $1,49 \times 10^{-6}$ a $1,07 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com $f = 50 \text{ s}^{-1}$ , $a = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ .....	59
Figura 28 - Curva analítica para AAF construída com os valores de corrente de pico da VOQ e de concentração de AAF entre $1,49 \times 10^{-6}$ e $1,07 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com $f = 50 \text{ s}^{-1}$ , $a = 40 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ .....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de reagentes utilizados, com suas respectivas fórmulas químicas, procedência e pureza .....	31
Tabela 2 - Forma de apresentação e composição das amostras de Tylenol® .....	36
Tabela 3 - Diferença entre os valores de potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) e potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) para CV e diferentes modificações, calculados a partir das medidas de voltametria cíclica para $K_3[Fe(CN)_6]$ e $K_4[Fe(CN)_6]$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .....	40
Tabela 4 - Parâmetros obtidos a partir das curvas analíticas para AAF por VOQ e por UV-Vis, com coeficientes de correlação (R), intervalo de confiança do intercepto ( $IC_a$ ), intervalo de confiança da inclinação ( $IC_b$ ) desvio padrão do intercepto ( $S_a$ ), limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), repetibilidade (repê) e reprodutibilidade (reprô) .....	61
Tabela 5 – Resultados publicados na literatura para algumas metodologias eletroanalíticas empregadas na detecção de AAF e seus respectivos autores .....	62
Tabela 6 - Determinação de AAF empregando VOQ em diferentes formulações comerciais .....	63
Tabela 7 - Determinação de AAF empregando UV-Vis em diferentes formulações comerciais .....	63

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>14</b>
<b>1.1</b>	<b>Sensores eletroquímicos</b> .....	<b>14</b>
<i>1.1.1</i>	<i>Nanotubos de carbono</i> .....	<i>14</i>
<i>1.1.2</i>	<i>Ftalocianinas de cobalto (II)</i> .....	<i>15</i>
<i>1.1.3</i>	<i>Nanopartículas de ouro</i> .....	<i>16</i>
<i>1.1.4</i>	<i>Voltametria de onda quadrada</i> .....	<i>17</i>
<b>1.2</b>	<b>Acetaminofeno</b> .....	<b>20</b>
<b>1.3</b>	<b>Determinação analítica de acetaminofeno</b> .....	<b>21</b>
<b>1.4</b>	<b>Estado da arte</b> .....	<b>22</b>
<i>1.4.1</i>	<i>Aplicação de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianinas em sensores e biossensores eletroquímicos</i> .....	<i>22</i>
<i>1.4.2</i>	<i>Determinação de acetaminofeno utilizando eletrodos modificados</i> .....	<i>25</i>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>30</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>30</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Reagentes e soluções</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2</b>	<b>Instrumentação</b> .....	<b>32</b>
<b>3.3</b>	<b>Metodologia</b> .....	<b>32</b>
<b>3.4</b>	<b>Modificação do eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono de paredes múltiplas, ftalocianinas de cobalto</b> .....	<b>33</b>
<b>3.5</b>	<b>Estudo do eletrólito de suporte e influência do pH do meio</b> .....	<b>34</b>
<b>3.6</b>	<b>Otimização dos parâmetros da VOQ</b> .....	<b>35</b>
<b>3.7</b>	<b>Curvas analíticas para AAF utilizando VOQ</b> .....	<b>35</b>
<b>3.8</b>	<b>Determinação de AAF em amostras de diferentes matrizes</b> .....	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>4.1</b>	<b>Estudos da modificação do eletrodo</b> .....	<b>38</b>
<i>4.1.1</i>	<i>Concentração de NpAu sintetizadas pelo método do citrato e comparação entre diferentes modificações</i> .....	<i>38</i>
<i>4.1.2</i>	<i>Estudo da concentração de FcCo</i> .....	<i>41</i>
<i>4.1.3</i>	<i>Estudo do tempo de eletrodeposição das NpAu</i> .....	<i>42</i>
<i>4.1.4</i>	<i>Análise das diferentes modificações estudadas por VOQ</i> .....	<i>44</i>
<i>4.1.5</i>	<i>Medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica</i> .....	<i>45</i>
<b>4.2</b>	<b>Comportamento eletroquímico do acetaminofeno</b> .....	<b>46</b>

4.3	Estudo do eletrólito de suporte.....	47
4.4	Influência do pH do meio.....	50
4.5	Otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada.....	52
4.5.1	<i>Frequência de aplicação de pulsos de potencial</i> .....	52
4.5.2	<i>Amplitude de pulsos de potencial</i> .....	54
4.5.3	<i>Incremento de potencial</i> .....	55
4.6	Componentes de corrente da VOQ e avaliação das respostas de VOQ das diferentes modificações estudadas sob as condições otimizadas .....	56
4.7	Curva analítica e figuras de mérito .....	58
4.8	Determinação de acetaminofeno em amostras de comprimidos, solução oral e suspensão oral.....	62
5	CONCLUSÕES .....	64
	REFERÊNCIAS .....	65

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Sensores eletroquímicos

Na avaliação do comportamento eletroquímico e quantificação de compostos farmacêuticos por meio de técnicas eletroanalíticas, eletrodos metálicos, como ouro (MERLI et al., 2012; STOILJKOVIC et al., 2012) e platina (GUALANDI et al., 2011; XI; ZHANG; ZHU, 2009), e à base de carbono, como carbono vítreo (BABAEI et al., 2015; KALAMBATE et al., 2015; ZHANG et al., 2015; ZIDAN et al., 2014), diamante dopado com boro (WANGFUENGGANAGUL; CHAILAPAKUL, 2002), pasta de nanotubos de carbono (SANGHAVI; SRIVASTAVA, 2010), têm sido amplamente empregados como sensores eletroquímicos, pois apresentam excelentes propriedades elétricas e estabilidade química. Além disso, a utilização de eletrodos modificados pode promover a detecção seletiva de compostos farmacêuticos (USLU; OZKAN, 2007), já que, em algumas situações, o uso de eletrodos não modificados é inadequado para a realização de análises de fármacos na presença de interferentes ou em estudos de detecção simultânea de fármacos. O emprego de eletrodos modificados possui grande destaque em eletroanalítica, pois os materiais utilizados na modificação realçam a sensibilidade e/ou seletividade de dada determinação, devido a fenômenos de eletrocatalise e de exclusão de interferentes (ALKIRE et al., 2009). A Figura 1 apresenta um esquema de funcionamento de um sensor eletroquímico.

Figura 1 – Esquema de funcionamento de um sensor eletroquímico



Fonte: Adaptada de (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

#### 1.1.1 Nanotubos de carbono

Nanotubos de carbono são uma classe excepcional de nanomateriais com aplicação em várias áreas de pesquisa, devido a suas propriedades como elevada área superficial, alta

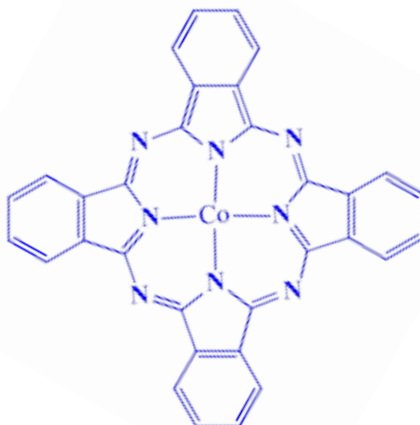
condutividade elétrica e estabilidade química e resistência mecânica (DE LA TORRE; BLAU; TORRES, 2003; ZAGAL et al., 2012). Em Eletroquímica, nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) são muito utilizados, pois exibem atividade catalítica para muitos processos de transferência eletrônica quando imobilizados na superfície de eletrodos (CERNAT et al., 2015; CHOU et al., 2005). A funcionalização química de NTCPM por meio de tratamento com ácido forte ou mistura de ácidos sob agitação e aquecimento, com a formação de vários grupos funcionais, tais como o oxigênio, hidroxila e carboxilas, aumenta a estabilidade da suspensão – já que os nanotubos de carbono apresentam grande dificuldade de dispersão em água e solventes orgânicos (HAIDER et al., 2007; MORAES et al., 2009) – assegurando maior reprodutibilidade na preparação do eletrodo modificado. Além disso, a funcionalização dos NTCPM realça a atividade catalítica e também auxilia na imobilização de enzimas para o desenvolvimento de diversos tipos de sensores (ZHANG et al., 2008b).

### ***1.1.2 Ftalocianinas de cobalto (II)***

Alguns materiais como ftalocianinas de cobalto (FcCo) ligadas a NTCPM têm recebido atenção considerável no campo de eletroanálise, pelo fato de combinar propriedades interessantes para sensores eletroquímicos (APETREI et al., 2013; DE OLIVEIRA et al., 2015; DEVASENATHIPATHY et al., 2015a; OZOEMENA; NKOSI; PILLAY, 2008; SHAHROKHIAN; GHALKHANI; AMINI, 2009; SISWANA; OZOEMENA; NYOKONG, 2006). FcCo adsorvem fortemente sobre NTCPM e outros materiais à base de carbono, o que facilita o preparo de materiais híbridos de NTCPM-FcCo para diversos estudos, incluindo pesquisas de eletrocatalise (ZAGAL et al., 2012). FcCo aumentam a atividade eletrocatalítica e diminuem a resistência à transferência de carga, e combinado com os nanotubos de carbono, proporcionam maior sensibilidade para a metodologia, tornando-as adequadas para aplicações analíticas (PILLAY; OZOEMENA, 2007; ZAGAL et al., 2012). Além disso, tem sido mostrado que NTCPM-FcCo proporcionam melhorias na atividade fotocatalítica de luz visível e a oxidação dos poluentes orgânicos (WAN et al., 2015a, 2015b). Ftalocianinas metálicas não substituídas se ligam aos NTCPM através de interações  $\pi$ - $\pi$  não covalentes, enquanto ftalocianinas metálicas amino substituídas podem estar ligadas covalentemente aos NTCPM através da formação de ligação amida (DE LA TORRE; BLAU; TORRES, 2003; MORAES et al., 2009) e são observadas as excelentes propriedades catalíticas de ftalocianinas sem que haja perda das propriedades eletrônicas dos nanotubos de carbono (SILVA et al., 2007). A estrutura da FcCo está representada na Figura 2.



Figura 2 – Estrutura da ftalocianina de cobalto



Fonte: Elaborada pelo autor.

### 1.1.3 Nanopartículas de ouro

Nanopartículas de ouro (NpAu) é uma das classes de nanomateriais mais utilizados nos últimos anos, pois apresentam propriedades elétricas, magnéticas e ópticas excepcionais (DANIEL; ASTRUC, 2004). Vários métodos de preparação de NpAu foram publicados (BROWN; SMITH, 1980; HAYAT, 2012; HYATT; EATON, 1992; TURKEVICH; STEVENSON; HILLIER, 1951), com destaque para o clássico método de Frens (1973), que utiliza citrato como estabilizador e ainda é muito utilizado por ser um método considerado prático. Outra forma de sintetizar NpAu é por meio de redução eletroquímica. Métodos baseados na aplicação de um potencial – geralmente entre  $-0,2$  e  $-0,4$  V - por um determinado tempo - entre 60 e 300 segundos, aproximadamente – têm sido publicados por muitos autores (DE OLIVEIRA et al., 2015; PARK; YOON; KIM, 2011; SANZ et al., 2005). A vantagem da utilização de NpAu preparadas por meio de eletrodeposição é a simplicidade e rapidez do procedimento de redução eletroquímica quando comparado ao processo de redução química. Além disso, nanopartículas preparadas quimicamente se aglomeram, causando crescimento das partículas, o que traz a necessidade de preparação de novas NpAu com frequência.

Em Eletroquímica, o uso de nanopartículas de ouro, para aumentar a área superficial e condutividade, facilita o processo de transferência de elétrons e asseguram um aumento da sensibilidade e da seletividade do método (RAWAL et al., 2011). Entretanto, não há muitos

estudos na literatura que descrevem os benefícios do uso de eletrodos modificados com NpAu-FcCo-NTCPM (DE OLIVEIRA et al., 2015; SUN et al., 2014).

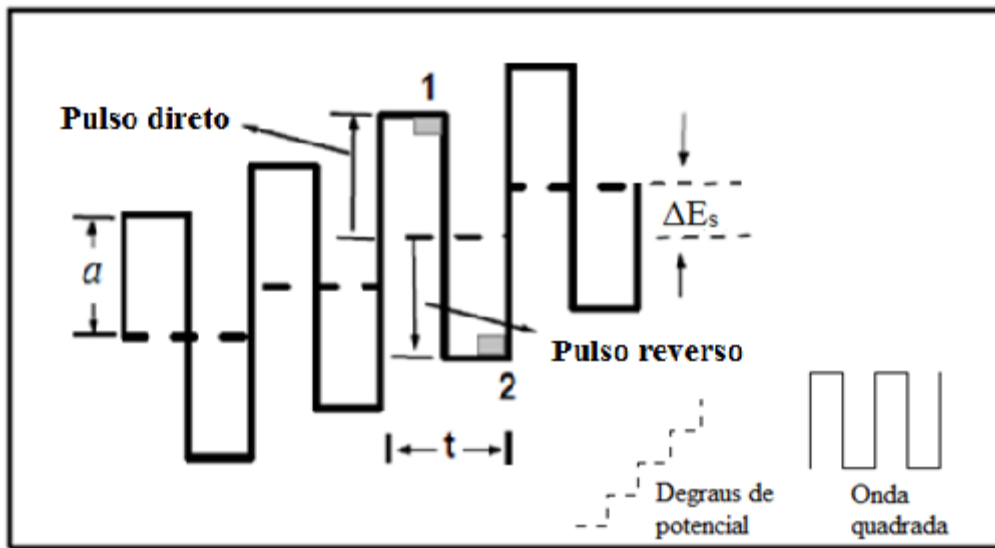
#### **1.1.4 Voltametria de onda quadrada**

Técnicas voltamétricas de análise se apresentam como alternativa aos métodos tradicionais, como o de espectrofotometria na região do UV-Vis e os cromatográficos, pois apresentam baixo custo, rapidez e alta sensibilidade, comparáveis com as das técnicas tradicionais (BABAEI et al., 2011). Além disso, a aplicação de sensores eletroquímicos para a análise de fármacos e contaminantes ambientais tem despertado grande interesse nos últimos anos, já que se trata de metodologia bastante simples, precisa e de baixos limites de detecção, (BABAEI et al., 2011; ENGIN et al., 2015). Outras grandes vantagens dos métodos eletroanalíticos estão na possibilidade da medida ser realizada diretamente na amostra, sem necessidade de etapas de preparo e também de tornar possível a análise de materiais coloridos, já que a coloração de algumas amostras poderia interferir em medidas de UV-Vis, por exemplo, ou amostras contendo partículas sólidas dispersas (CHEN; SHAH, 2013).

A voltametria de onda quadrada (VOQ) é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis, com limites de detecção comparáveis aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas (MORAES et al., 2009; RIBEIRO et al., 2014; SOUZA et al., 2004). Esta é uma poderosa técnica eletroanalítica, que estabelece uma relação direta entre a concentração do analito e a corrente medida, característica das técnicas voltamétricas. A VOQ se baseia numa sequência de pulsos simétricos sobrepostos a um potencial na forma de escada que é aplicado ao eletrodo de trabalho (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). A Figura 3 apresenta a forma de aplicação do potencial na VOQ.

A corrente é medida ao final de cada pulso, uma vez no pulso direto e uma vez no pulso reverso, e a diferença entre as duas medidas corresponde a corrente resultante (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007; SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). A frequência ( $f$ ) da onda quadrada, em  $s^{-1}$ , é igual a  $1/t$ .  $a$  é a amplitude do pulso de onda quadrada em mV, e  $2a$  é igual a amplitude de pico a pico.  $\Delta E_s$ , também em mV, é chamado incremento de potencial, que é a altura do degrau. O produto  $f \times \Delta E_s$  é igual a velocidade de varredura da medida.

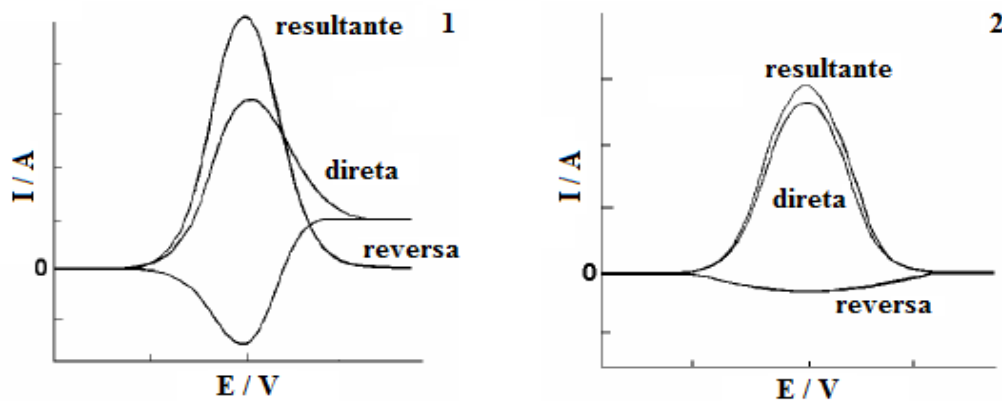
Figura 3 – Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada



Fonte: Adaptada de (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

A Figura 4 apresenta os voltamogramas teóricos que podem ser obtidos a partir das correntes medidas nos pontos 1 e 2 marcados na Figura 3.

Figura 4 – Voltamogramas teóricos para processos reversíveis (1) e irreversíveis (2)



Fonte: Adaptada de (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Os critérios diagnósticos de processos redox na VOQ foram desenvolvidos e testados de acordo com muitos cálculos teóricos, por meio de simulação de reações reversíveis, irreversíveis e quase-reversíveis (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007;

SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). Os critérios para cada tipo de sistema estão descritos resumidamente, a seguir:

i) Considerando-se o valor do coeficiente de transferência de carga ( $\alpha$ ) igual a 0,5, e caso não ocorra adsorção de espécie eletroativa na superfície do eletrodo, então a intensidade da corrente de pico é, pelo menos, duas vezes maior para sistemas reversíveis do que para sistemas totalmente irreversíveis. Portanto, a VOQ apresenta maior sensibilidade para sistemas reversíveis.

ii) Para sistemas reversíveis existe uma correlação linear entre a corrente de pico ( $I_p$ ) e a raiz quadrada da frequência ( $f^{1/2}$ ) - acima de  $1000 \text{ s}^{-1}$  de frequência ( $f$ ), pode aparecer desvios da linearidade. Sistemas irreversíveis apresentam uma relação linear entre  $I_p$  e  $f$ . Já no caso de reações quase reversíveis, a relação entre  $I_p$  e  $f$  não apresenta linearidade.

iii) Para sistemas totalmente irreversíveis, os potenciais de pico ( $E_p$ ) e o logaritmo da frequência ( $\log f$ ) apresentam uma relação linear, entre si. A inclinação é dada pela Equação 1:

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f} = \frac{-2,3RT}{\alpha nF} \quad (1)$$

A relação entre  $E_p$  e  $\log f$  para sistemas reversíveis onde não há adsorção de reagente também é linear, porém, neste caso a inclinação é dada pela Equação 2:

$$\frac{\Delta E_p}{\Delta \log f} = \frac{-2,3RT}{2nF} \quad (2)$$

Os valores de  $E_p$  são independentes de  $f$  para o caso de sistemas reversíveis onde há adsorção de reagente e produto na reação.

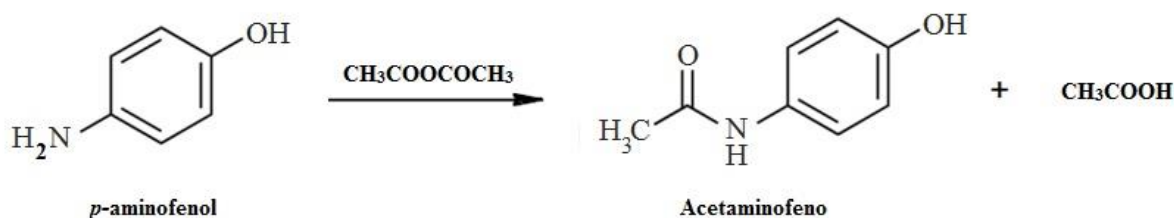
iv) Os valores de  $I_p$  são dependentes da amplitude ( $a$ ). Para valores de  $a = (20/n)$  mV, a relação entre  $I_p$  e  $a$  é linear. Para sistemas reversíveis onde há adsorção de reagente e produto, a altura do pico aumenta linearmente apenas para valores de amplitudes menores do que 60 mV. No caso de sistemas totalmente irreversíveis, os valores de  $I_p$  aumentam com o aumento da amplitude, pois a largura de meia altura ( $\Delta E_{p/2}$ ) se mantém constante para valores de  $a$  acima de 20 mV.

v) A  $\Delta E_{p/2}$  é independente de  $a$  se  $a > 20$  mV para sistemas totalmente irreversíveis com adsorção de reagente. No caso de adsorção de reagente e produto, para sistemas totalmente irreversíveis,  $\Delta E_{p/2}$  é independente de  $a$  se  $a > 40$  mV. Neste caso, é possível estimar o valor do coeficiente de transferência de carga ( $\alpha$ ), considerando-se que  $\Delta E_{p/2} = (63,5 \pm 0,5)/\alpha n$ .

## 1.2 Acetaminofeno

O acetaminofeno (AAF), N-acetil-*p*-aminofenol, é um analgésico e antipirético, que não possui propriedades anti-inflamatórias, pertencente à classe dos derivados do *p*-aminofenol, comercializado sem necessidade de prescrição médica, muito utilizado no Brasil e em outros países do mundo. O alívio da febre e de dores fracas e moderadas se dá pela inibição da síntese de prostaglandinas (JIANG et al., 2015; MAZER; PERRONE, 2008). A síntese do AAF se deu no século passado a partir de pesquisas destinadas à descoberta de substitutos para a acetanilida, substância que também possui propriedades analgésico-antipiréticas, mas que causa má formação nas hemoglobinas (KOROLKOVAS; BURCKHALTER, 1982). Conhecido popularmente como paracetamol, o AAF é um pó branco, inodoro e parcialmente solúvel em água, obtido a partir da acetilação do *p*-aminofenol com anidrido acético (ANICETO; FATIBELLO-FILHO, 2002). A Figura 5 apresenta a reação de síntese do AAF a partir do *p*-aminofenol.

Figura 5 – Síntese do acetaminofeno



Fonte: Adaptada de (ANICETO; FATIBELLO-FILHO, 2002).

A utilização de AAF é segura quando administrado em doses terapêuticas adequadas; entretanto, com a utilização indevida ou em excesso, é comum a ocorrência de casos de hepatotoxicidade e nefrotoxicidade devido à alta produção de N-acetil-*p*-benzoquinonaimina (NAPQI), um eletrófilo altamente reativo, produto da oxidação do acetaminofeno no fígado (CHUN et al., 2009; JIANG et al., 2015). Nos Estados Unidos, a overdose de AAF é a causa mais comum de insuficiência hepática aguda, à frente da hepatite viral, e é a segunda causa mais comum de insuficiência hepática, inclusive exigindo transplante (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014). Em abril de 2014, a FDA (*Food and Drug Administration*, Estados Unidos) emitiu um comunicado que proíbe a prescrição de combinações de analgésicos que contenham mais de 325 mg de AAF por comprimido, cápsula ou outra unidade de dosagem

e recomenda a ingestão máxima diária de 3 g, por causa de risco de danos ao fígado (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2014). Casos de insuficiência renal também são atribuídos a overdoses de AAF (BABAEI et al., 2011, 2015; TAEI et al., 2015). No Brasil, existem medicamentos à base de AAF com 500 e 750 mg por comprimido, e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda não ingerir mais do que 4 g de AAF por dia (BRASIL, 2009).

AAF está entre os seis ingredientes farmacêuticos mais frequentemente detectados na água potável (CARVALHO et al., 2012). Isto é uma consequência direta da baixa eficiência dos processos convencionais de tratamento de água para a remoção/degradação destes compostos, junto com o seu descarte contínuo no meio ambiente. Para superar o desafio ambiental emergente associado à ocorrência e persistência do AAF e de outros produtos farmacêuticos na água potável e em águas residuais, é importante o desenvolvimento de novas metodologias de detecção e quantificação que sejam rápidas e simples, com potencial para aplicação em campo, preferencialmente.

### **1.3 Determinação analítica de acetaminofeno**

Muitos métodos, tais como titrimetria (BURGOT; AUFFRET; BURGOT, 1997; KNOCHEN; GIGLIO; REIS, 2003), espectroscopia na região do infravermelho e Raman (AL-ZOUBI; KOUNDOURELLIS; MALAMATARIS, 2002), cromatografia líquida (ISSA; HASSOUN; ZAYED, 2012; JOHNSON; PLUMB, 2005) e espectrofotometria na região do ultravioleta e do visível (ROTE; KUMBHOJE; BHAMBAR, 2012; SIRAJUDDIN et al., 2007) – sendo este, inclusive, o método indicado pela Farmacopeia Brasileira para a detecção e quantificação de AAF (BRASIL, 2010) – têm sido empregados na determinação de AAF em produtos farmacêuticos. Contudo, a maioria desses métodos apresentam longos tempos de análise, alto custo, pré-tratamento das amostras e, às vezes, baixa sensibilidade e seletividade. Atualmente, é comum a comercialização desta substância combinada com fármacos secundários a fim de tratar sintomas adversos além de dor e febre, e essas substâncias podem causar interferências nos procedimentos analíticos de determinação de AAF. Por exemplo, a cafeína, uma substância que atua como estimulante do sistema nervoso central (FERNANDES et al., 2015), é utilizada em formulações com AAF como revigorante. Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de metodologias simples, rápidas, sensíveis e seletivas, preferencialmente de baixo custo, para a determinação de AAF, já que este se apresenta em

diferentes formas comerciais (comprimidos, solução e suspensão oral), o que implica em amostras em diferentes matrizes com eventual interferência nas análises.

## 1.4 Estado da arte

### 1.4.1 *Aplicação de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianinas em sensores e biossensores eletroquímicos*

Os benefícios da utilização de nanotubos de carbono aliados a ftalocianinas de cobalto têm chamado a atenção de muitos pesquisadores nos últimos anos. Muitos trabalhos de determinação de contaminantes ambientais, fármacos e outras substâncias orgânicas têm sido publicados, mostrando o ótimo desempenho dos sensores e biossensores eletroquímicos em Química Analítica (DEVASENATHIPATHY et al., 2015c; LEI et al., 2010; LI et al., 2013; MORAES et al., 2010; SHI et al., 2014; XU et al., 2012).

Devasenathipathy et al. (2015b) utilizaram um compósito de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianinas de cobalto para preparar um sensor não enzimático para detecção de glicose. Os resultados de experimentos de espectroscopia UV-Vis confirmaram que o compósito foi formado via interações  $\pi$ - $\pi$  entre as ftalocianinas de cobalto e os nanotubos de carbono. O efeito da velocidade de varredura da voltametria cíclica foi estudado e a corrente de pico anódico variou linearmente com a velocidade de varredura entre 10 e 100  $\text{mV s}^{-1}$ , indicando que a eletro-oxidação da glicose é um processo de adsorção. Cronoamperometria foi utilizada para a construção da curva analítica, que apresentou linearidade entre  $1,00 \times 10^{-5}$  e  $6,54 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , com limite de detecção de  $1,40 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . A metodologia desenvolvida foi aplicada em amostras de soro sanguíneo de pessoas diabéticas e não diabéticas, comparando-se os valores de concentração obtidos pelo sensor com os valores obtidos por sensor de glicose comercial e os percentuais de recuperação ficaram entre 97,42 e 102,40%.

Devasenathipathy et al. (2015a) desenvolveram um sensor amperométrico baseado em um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianinas tetrassulfonadas de ferro para determinação de hidrazina. Espectroscopia de impedância eletroquímica em uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$   $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foi utilizada para avaliar a resistência à transferência de carga, com valores de 4000  $\Omega$ , 200  $\Omega$  e 220  $\Omega$  para os eletrodos de carbono vítreo/ftalocianina tetrassulfonada de ferro, carbono vítreo/nanotubos de carbono de paredes múltiplas e carbono vítreo/nanotubos de

carbono de paredes múltiplas-ftalocianina tetrassulfonada de ferro, indicando que as ftalocianinas aliadas aos nanotubos de carbono apresentam excelente habilidade de transferência de elétrons na superfície do eletrodo. Os valores de corrente de pico da voltametria cíclica para hidrazina  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de tampão fosfato pH 5,0 variaram linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura ( $v^{1/2}$ ), demonstrando que a oxidação da hidrazina é um processo controlado por difusão. Foi calculado um coeficiente de difusão igual a  $6,83 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  e o número de elétrons envolvidos na reação foi igual a 3,82. A curva analítica foi construída utilizando cronoamperometria e apresentou faixa linear de  $1,0 \times 10^{-7}$  a  $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  com limite de detecção de  $7,6 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ .

Sun et al. (2014) prepararam um aptassensor (sensores à base de aptâmeros, que são moléculas de DNA e RNA com estrutura 3D específicas) eletroquímico a partir da modificação de eletrodo de carbono vítreo com quitosana-nanopartículas de ouro (CS-NpAu), grafeno-nanopartículas de ouro (GR-NpAu), nanotubos de carbono de paredes múltiplas-ftalocianinas de cobalto (NTCPM-FcCo) e oligonucleotídeos de DNA modificados com grupos amino (Apt1) e biotina (Apt2) para a detecção de canamicina. As propriedades eletroquímicas das etapas de modificação do eletrodo foram avaliadas por voltametria cíclica, e os resultados mostraram que as contribuições sinérgicas dos nanocompósito de CS-NpAu, GR-NpAu e NTCPM-FcCo proporcionaram grande aumento na sensibilidade das medidas. Voltametria de pulso diferencial em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  a pH 7,0 foi utilizada para construção das curvas analíticas, que apresentaram linearidade entre  $1,0 \times 10^{-8}$  e  $1,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  e limite de detecção igual a  $5,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ . A metodologia foi aplicada na determinação de canamicina em amostras enriquecidas de leite, com percentuais de recuperação entre 97,2 e 103,1%.

Apetrei et al. (2013) desenvolveram uma metodologia para a análise de compostos fenólicos utilizados em formulações farmacêuticas baseada na modificação de um eletrodo de pasta de carbono (preparado pela mistura de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianinas de cobalto) com a enzima tirosinase. O desempenho do biossensor enzimático foi analisado por voltametria cíclica para soluções de catecol  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e catequina  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de tampão fosfato  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0. Coeficientes de transferência de carga ( $\alpha$ ) iguais a 0,310 e 0,327 foram determinados para catecol e catequina, respectivamente. Curva analítica foi construída por cronoamperometria e apresentou linearidade na faixa de  $1,00 \times 10^{-5}$  e  $1,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  para catecol. Os limites de detecção calculados para catecol foram  $1,66 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e para catequina foi  $6,32 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . A aplicabilidade do biossensor foi



estudada por ensaios de recuperação de catequina em medicamento, chá verde e extrato de chá verde, com percentuais de recuperação de 89,0, 92,0 e 80%, respectivamente.

Zuo, Zhang e Li (2012) construíram um sensor eletroquímico para ácido ascórbico utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianinas de cobalto. Voltametria cíclica para ácido ascórbico  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0, foi utilizada para avaliar as propriedades catalíticas do sensor proposto. Observou-se relação linear entre corrente de pico da voltametria cíclica e a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando que o processo de oxidação do ácido ascórbico é controlado por difusão. Cronoamperometria foi utilizada para obtenção das curvas de calibração, que apresentaram faixa linear entre  $1,0 \times 10^{-5}$  e  $2,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , com limite de detecção igual a  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ . Estudo de interferentes foi realizado por cronoamperometria para ácido ascórbico  $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0, na presença de ácido úrico  $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , glicose  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , L-fenilalanina  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , ácido cítrico  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e KCl  $2,5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e nenhuma das substâncias analisadas causaram interferência a um potencial aplicado de +0,19V, indicando que o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e ftalocianina de cobalto apresenta seletividade para a determinação de ácido ascórbico.

Yin et al. (2010) fabricaram um biossensor para a determinação de bisfenol A utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas, ftalocianinas de cobalto, fibroína de seda e enzima tirosinase. O comportamento eletroquímico do bisfenol A foi investigado utilizando voltametria cíclica em meio de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,4. Observou-se relação linear entre a corrente de pico da voltametria cíclica e a velocidade de varredura ( $\nu$ ) entre 20 e  $300 \text{ mV s}^{-1}$ , o que indicou que o processo de oxidação do ácido ascórbico é controlado por adsorção. O coeficiente de transferência de carga ( $\alpha$ ) igual a 0,84 foi calculado e foi determinada a participação de dois prótons e dois elétrons no mecanismo de oxidação. As curvas analíticas foram construídas utilizando cronoamperometria e a faixa linear obtida foi de  $5,0 \times 10^{-8}$  a  $3,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  e o limite de detecção foi estimado em  $3,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ . Para demonstrar a aplicabilidade, o biossensor foi empregado na determinação de bisfenol A em cinco tipos de amostras de plástico, com percentuais de recuperação entre 95,36 e 104,39%.

### ***1.4.2 Determinação de acetaminofeno utilizando eletrodos modificados***

Nos últimos anos, dezenas de trabalhos sobre determinação analítica de acetaminofeno têm sido publicados. Isso mostra a importância que essa substância tem, quando se trata do desenvolvimento de novas metodologias analíticas de determinação de fármacos e de outras substâncias orgânicas (CANEVARI et al., 2013; MARTIN et al., 2010; PAGNOTTI; CHUBATYI; MCEWEN, 2011; SANTOS et al., 2013; ZIEMONS et al., 2010). Em eletroanalítica, é muito conveniente a escolha do acetaminofeno como molécula de estudo no desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas e eletrodos modificados, pois se trata de uma substância com comportamento eletroquímico bem conhecido (BEITOLLAHI et al., 2012; ENSAFI et al., 2011; GOYAL; GUPTA; CHATTERJEE, 2010; LIU et al., 2013; MADRAKIAN; HAGSHENAS; AFKHAMI, 2014; TAJIK; TAHER; BEITOLLAHI, 2014).

D'Souza et al. (2015) desenvolveram metodologia para determinação de acetaminofeno utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas decorados com platina e TritonX-100. Voltametria cíclica (VC) em meio de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0, foi utilizada para investigar o comportamento eletroquímico do acetaminofeno. O efeito da velocidade de varredura da VC, bem como os parâmetros da cinética de transferência eletrônica foram avaliados e a partir dos resultados foi possível calcular o coeficiente de transferência de carga ( $\alpha$ ) igual a 0,59 e o valor da constante de transferência de carga ( $k_s$ ) calculado foi de 0,51 s<sup>-1</sup>. Determinou-se a participação de dois elétrons e dois prótons na reação de oxidação do acetaminofeno. Estudos de interferentes foram realizados por VC, na presença de 1 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de dopamina e de 1 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> triptofano. Curvas de calibração foram construídas por amperometria hidrodinâmica em meio de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0, tendo uma faixa linear de 9,0 × 10<sup>-8</sup> a 1,0 × 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> e limite de detecção igual a 1,8 × 10<sup>-8</sup> mol L<sup>-1</sup>. Aplicação da metodologia foi realizada em amostras contendo acetaminofeno de soro sanguíneo, com percentuais de recuperação entre 96 e 98,8%, e de medicamentos, com percentuais de recuperação próximos de 100% e DPR entre 0,62% e 1,65%.

Liu et al. (2014) prepararam eletrodo de carbono vítreo modificado com grafeno reduzido e nanopartículas de óxidos de níquel (Ni<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e NiO) para determinar acetaminofeno em amostras de medicamentos e urina. As propriedades catalíticas do eletrodo modificado frente à oxidação do acetaminofeno foram avaliadas utilizando voltametria cíclica e de pulso diferencial em meio de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. O processo de oxidação foi caracterizado como quase-reversível, com a participação de dois elétrons e um próton. O valor

de  $\alpha$  e de  $k_s$  calculados foram 0,375 e 43,27 s<sup>-1</sup>, respectivamente. As curvas analíticas foram construídas por voltametria de pulso diferencial e apresentaram faixa linear de  $4,0 \times 10^{-8}$  e  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> e o limite de detecção calculado foi igual a  $2,0 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>. A aplicabilidade da metodologia foi avaliada a partir de ensaios de recuperação em amostras de comprimidos, com percentuais de recuperação entre 98,5 e 104,5%, e de urina, com percentuais de recuperação entre 95,5 e 102,9%.

Vidyadharan, Jayan e Nancy (2014) utilizaram eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ferrita de cobalto dopada com níquel (Ni<sub>0,1</sub>Co<sub>0,9</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) para a determinação de acetaminofeno. Voltametria cíclica em meio de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 3,0, foi utilizada para estudar o comportamento eletroquímico do acetaminofeno. Determinou-se números de elétrons e de prótons, ambos iguais a dois, envolvidos na reação de oxidação. As curvas de calibração foram construídas por cronoamperometria e apresentaram linearidade entre  $2,0 \times 10^{-6}$  e  $8,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> com limite de detecção igual a  $1,1 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>. A reprodutibilidade foi avaliada por cinco medidas com o eletrodo sendo modificado novamente a cada medida, com um desvio padrão relativo de 0,1% e a estabilidade do eletrodo foi avaliada por voltametria cíclica em meio de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 3,0 por 20 ciclos consecutivos, com um decréscimo de apenas 4% no valor da corrente de pico.

Zheng et al. (2013) desenvolveram metodologia para a determinação de acetaminofeno baseado na modificação de eletrodo de carbono vítreo com nanocompósito de grafeno-quitosana, utilizando voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial em tampão BR, pH 7,0. Realizou-se estudo dos parâmetros cinéticos de transferência eletrônica, em que o valor de  $k_s$  calculado foi igual a 0,25 s<sup>-1</sup>. Os números de elétrons e de prótons envolvidos na reação de oxidação foram determinados como sendo iguais a dois. As curvas analíticas foram construídas por voltametria de pulso diferencial e apresentaram faixa linear de  $1,00 \times 10^{-6}$  a  $1,00 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> com limite de detecção de  $3,00 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. O procedimento foi aplicado na determinação de AAF em formulações farmacêuticas, com recuperações entre 92 e 107%.

Lu e Tsai (2011) estudaram a determinação de acetaminofeno sobre eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocompósito de nanotubos de carbono de paredes múltiplas-sílica revestida com alumina utilizando voltametria de onda quadrada. O comportamento eletroquímico do acetaminofeno foi avaliado utilizando voltametria cíclica em meio de tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 9,0. O potencial de pico de oxidação do acetaminofeno variou linearmente com valores de pH entre 3 e 11, com coeficiente angular igual a  $-61,3$  mV pH<sup>-1</sup>, que está de acordo com o valor teórico, que é  $-59$  mV pH<sup>-1</sup>. Segundo os autores, este valor está de acordo

com o descrito na equação de Nernst para uma reação com a transferência de dois prótons e dois elétrons. Voltametria de onda quadrada em meio de tampão BR 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 9,0 foi utilizada para construção das curvas analíticas, que apresentaram linearidade na faixa de  $5,0 \times 10^{-8}$  a  $2,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> e o limite de detecção calculado foi de  $5,0 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>. A metodologia desenvolvida foi empregada na determinação de acetaminofeno em amostras de formulações comerciais, com percentuais de recuperação entre 98,2 e 99,3%.

Zhang et al. (2015) desenvolveram eletrodo de carbono vítreo modificado com nanofolhas de ouro para determinação simultânea de acetaminofeno e dopamina utilizando voltametria de pulso diferencial. O comportamento eletroquímico do acetaminofeno e da dopamina foram avaliados por voltametria de pulso diferencial em meio de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. A curva analítica apresentou linearidade na faixa de  $3,0 \times 10^{-6}$  a  $3,2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> e  $2,0 \times 10^{-6}$  a  $2,98 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> para acetaminofeno e dopamina, respectivamente, com limite de detecção igual a  $2,3 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> e  $2,8 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente para acetaminofeno e dopamina. Realizou-se estudos de interferência frente a íons inorgânicos, como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> e CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, e alguns compostos orgânicos como glicose, lactose, ácido aspártico e ureia, com menos de 5% de erro relativo nas medidas para cada espécie analisada, mostrando que não há interferência significativa.

Babaei et al. (2015) estudaram a detecção simultânea de acetaminofeno, dopamina e indometacina utilizando voltametria de onda quadrada, em meio de tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0, sobre um eletrodo de carbono vítreo modificado com um compósito de nanotubos de carbono de paredes múltiplas-nanopartículas de hidróxido de níquel-MCM-41. Voltametria cíclica, em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0, foi utilizada para investigar o comportamento eletroquímico das três substâncias. Os valores de  $\alpha$  foram 0,49 e 0,52 e os valores de  $k_s$  foram 2,56 e 2,69 s<sup>-1</sup> para acetaminofeno e dopamina, respectivamente. As curvas analíticas foram construídas por voltametria de pulso diferencial e a linearidade apresentada ficou entre  $2,0 \times 10^{-7}$  a  $2,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> para acetaminofeno, com limite de detecção de  $1,1 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>; para dopamina, a linearidade da curva analítica foi de  $1,5 \times 10^{-6}$  a  $4,5 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> com limite de detecção de  $1,5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>; para indometacina, a faixa linear da curva analítica foi de  $8,0 \times 10^{-7}$  a  $4,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, com limite de detecção de  $3,1 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Soro humano e urina foram utilizados como amostras reais e os percentuais de recuperação ficaram entre 101,8 e 106,2% para acetaminofeno, 93,7 e 103,1% para dopamina e 94,6 e 98,1% para indometacina.

Amiri, Rezapour e Bezaatpour (2014) fabricaram eletrodo de pasta de carbono modificado com carbono hidrofílico nanoparticulado e o empregaram na determinação simultânea de acetaminofeno, dextrometorfano e fenilefrina. Espectroscopia de impedância

eletroquímica em mistura equimolar de  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foi empregada para avaliar a resistência à transferência de carga do eletrodo devido ao procedimento de modificação. Voltametria cíclica em meio de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0, foi utilizada para analisar a eletroatividade das três substâncias. Coeficientes de difusão iguais a  $1,1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ,  $6,4 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  e  $2,8 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  para o acetaminofeno, dextrometorfano e fenilefrina, respectivamente, foram calculados usando a equação de Randles-Sevcik. As curvas analíticas foram obtidas utilizando voltametria de pulso diferencial, com linearidades na faixa de  $1,0 \times 10^{-7}$  a  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $8,0 \times 10^{-6}$  a  $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e de  $8,0 \times 10^{-6}$  a  $8,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  para acetaminofeno, dextrometorfano e fenilefrina, respectivamente, como limites de detecção de  $1,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para o acetaminofeno,  $2,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  para o dextrometorfano e  $9,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  para a fenilefrina. A aplicação da metodologia foi realizada em amostras de soro sanguíneo e de comprimidos, como percentuais de recuperação entre 90,4 e 115,72% para acetaminofeno, 109,4 e 114,9% para dextrometorfano e de 98,98% para fenilefrina.

Afkhami et al. (2014) desenvolveram metodologia para a determinação de acetaminofeno e codeína em amostras de fármacos e fluídos biológicos utilizando eletrodo de pasta de carbono modificado com um nanocompósito de grafeno-nanopartículas de ferrita de cobalto. O comportamento eletroquímico das duas substâncias foi avaliado por voltametria cíclica em tampão BR  $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0. Realizou-se estudo do efeito da velocidade de varredura e os resultados indicaram relação linear entre a corrente de pico ( $I_p$ ) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ( $v^{1/2}$ ), o que, de acordo com os autores, indica a ocorrência de mecanismo controlado por difusão. O número de elétrons e de prótons envolvidos na reação de oxidação do acetaminofeno foram determinados como sendo iguais a dois e também se concluiu a participação de prótons na reação de oxidação da codeína. A faixa linear da curva analítica ficou entre  $2,0 \times 10^{-8}$  e  $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  para as duas substâncias, com limites de detecção iguais a  $1,1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para acetaminofeno e  $2,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para codeína. Ensaios de recuperação foram realizados em amostras de comprimido e xarope, com percentuais de recuperação entre 97,8 e 102,0% para acetaminofeno e entre 98,0 e 98,5% para codeína.

Sanghavi e Srivastava (2010) desenvolveram eletrodo de pasta de nanotubos de carbono de paredes múltiplas modificado com TritonX-100 para a determinação simultânea de acetaminofeno, aspirina e cafeína. Espectroscopia de impedância eletroquímica e voltametria cíclica foram utilizadas para avaliar a eletroatividade das três substâncias. O teste da transformada de Kramers-Kronig foi realizado e forneceu valores de  $\chi^2$  iguais a  $3,48 \times 10^{-6}$ ,  $7,85 \times 10^{-6}$  e  $6,69 \times 10^{-6}$  para acetaminofeno, aspirina e cafeína, respectivamente, validando os

dados de impedância. Voltametria adsortiva de redissolução de pulso diferencial em meio de tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0, foi utilizada para construir as curvas analíticas, que apresentaram linearidade de  $1,12 \times 10^{-7}$  a  $6,94 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $2,39 \times 10^{-7}$  a  $6,45 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $2,82 \times 10^{-7}$  a  $6,61 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  para acetaminofeno, aspirina e cafeína, respectivamente. Os limites de detecção calculados foram  $2,11 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para acetaminofeno,  $7,51 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para aspirina e  $8,26 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  para cafeína. As recuperações foram realizadas em amostras de formulações comerciais com percentuais entre 98,9 e 101,3% para acetaminofeno, 98,5 a 101,2% para aspirina e 98,6 e 101,5% para cafeína.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um sensor eletroquímico à base de nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono e ftalocianinas de cobalto para detecção e quantificação de acetaminofeno utilizando voltametria de onda quadrada.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Otimizar a resposta do sensor em função dos seguintes parâmetros: configuração do sensor, estudo da concentração de ftalocianina, estudo do eletrólito de suporte, pH e da frequência de aplicação de pulsos de potencial, amplitude de pulsos de potencial e incremento de potencial, que são os parâmetros da voltametria de onda quadrada;
- Investigar e classificar a reação de oxidação do acetaminofeno de acordo com os critérios de diagnóstico da voltametria de onda quadrada;
- Estudar a sensibilidade, a seletividade e a reprodutibilidade do método, além de estabelecer os limites de detecção e de quantificação;
- Aplicar a metodologia desenvolvida na quantificação de amostras de fármacos à base de AAF, apresentados na forma de comprimido, solução e suspensão oral e comparar com a metodologia recomendada pela Farmacopeia Brasileira, que se baseia na espectrofotometria na região do ultravioleta e do visível (UV-Vis).

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados apresentavam pureza analítica. A Tabela 1 mostra informações sobre a procedência, composição e a pureza dos reagentes utilizados.

Tabela 1 – Lista de reagentes utilizados, com suas respectivas fórmulas químicas, procedência e pureza

Reagente	Fórmula química	Procedência	Pureza
Acetaminofeno	CH <sub>3</sub> CONHC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> OH	Sigma-Aldrich	99%
Acetona	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	Vetec	99,5%
Ácido acético glacial	CH <sub>3</sub> COOH	Vetec	99,7%
Ácido bórico	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Vetec	99,5%
Ácido cítrico	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	Vetec	99,5%
Ácido clorídrico	HCl	Vetec	37%
Ácido nítrico	HNO <sub>3</sub>	Vetec	65%
Ácido fosfórico	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Vetec	85%
Ácido sulfúrico	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Vetec	95%
Ácido tetracloroáurico	HAuCl <sub>4</sub>	Sigma-Aldrich	99,99%
Biftalato de potássio	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> KO <sub>4</sub>	Vetec	99,95%
Cloreto de potássio	KCl	Vetec	99%
Dimetilformamida	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ON	Vetec	99,8%
Etanol Absoluto	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	Vetec	99,9%
Ferrocianeto de potássio	K <sub>4</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	Vetec	98,5%
Ferricianeto de potássio	K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub>	Vetec	99%
Fosfato de potássio monobásico	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Vetec	99%
Ftalocianina de Cobalto	C <sub>32</sub> H <sub>16</sub> CoN <sub>8</sub>	Sigma-Aldrich	97%
Hidrogenofosfato de sódio	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Vetec	98%
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	98%
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	Vetec	99,8%
Nitrato de sódio	NaNO <sub>3</sub>	Vetec	99%
Nanotubos de carbono de paredes múltiplas	C	Sigma-Aldrich	95%

Fonte: Elaborada pelo autor.

As soluções empregadas como eletrólitos de suporte foram tampões Britton-Robinson, preparado pela mistura de soluções de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> e CH<sub>3</sub>COOH, todos na concentração de 0,04 mol L<sup>-1</sup> (BRITTON; ROBINSON, 1931); Sörensen, preparado pela mistura de soluções de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,08 mol L<sup>-1</sup> e KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,07 mol L<sup>-1</sup>; McIlvaine, preparado pela mistura de soluções de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup> e ácido cítrico 0,1 mol L<sup>-1</sup> e biftalato de potássio, preparado pela mistura de soluções de biftalato de potássio 0,1 mol L<sup>-1</sup> e NaOH 0,1



mol L<sup>-1</sup> (MORITA; ASSUMPCÃO, 2007). Gás nitrogênio (N<sub>2(g)</sub>) de procedência White Martins (pureza 99,996%) foi utilizado para secar a superfície do carbono vítreo antes da modificação do eletrodo. Pasta de diamante 0,25 μm e panos para polimento da marca Risitec foram utilizados para polimento do eletrodo de carbono vítreo. A solução estoque de AAF foi preparada a uma concentração de 1,0 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> pesando-se a quantidade adequada do fármaco e solubilizando-o em água. Todas as soluções foram mantidas ao abrigo da luz e sob refrigeração em torno de 4 °C.

### 3.2 Instrumentação

Os experimentos eletroquímicos foram realizados usando potenciostato/galvanostato modelos PGSTAT 101 (Autolab, Eco Chemie) e PGSTAT 128N (Autolab, Eco Chemie) controlados por computador, empregando o programa NOVA versão 1.11. Carbono vítreo (CV) foi utilizado como superfície de trabalho, placa de platina foi empregada como eletrodo auxiliar e Ag/AgCl/Cl<sup>-</sup><sub>sat</sub> em meio de KCl como eletrodo de referência.

Espectrofotômetro modelo Lambda 25 (PerkinElmer) com células de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm foi utilizado para as medidas de UV-Vis. Todas as pesagens foram realizadas utilizando balanças analíticas modelo TB-215D (Denver Instrument) e as medidas de pH foram realizadas com um pHmetro modelo B474 (Micronal). Banho ultrassom modelo Q335D (Quimis) foi utilizado para limpeza do eletrodo de carbono vítreo após o polimento e para a homogeneização das suspensões preparadas. Pipetadores automáticos de volume ajustável modelos ASD0020 e ASD0100 (Kacil) foram utilizados para preparo/diluições e para a adição de alíquotas das soluções à célula eletroquímica. Para agitação das soluções antes dos experimentos voltamétricos utilizou-se agitador magnético modelo AM-10 (Biomixer). A água usada para o preparo das soluções foi purificada em sistema Milli-Q (Millipore, Inc.), com resistividade de 18,2 MΩ cm.

### 3.3 Metodologia

Voltametria Cíclica (VC) foi empregada para avaliar as diferentes modificações do eletrodo de carbono vítreo, além do comportamento eletroquímico da molécula em estudo. VOQ foi utilizada para comparação entre as respostas das diferentes modificações do eletrodo de trabalho e, principalmente, no desenvolvimento dos procedimentos eletroanalíticos (CHEN;

SHAH, 2013). Medidas de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) foram realizadas para avaliar a resistência à transferência de carga das diferentes etapas de modificação. Os ensaios de impedâncias foram realizados utilizando solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de  $KCl$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre os eletrodos de CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, com  $f = 10 \text{ kHz}$  a  $6 \text{ mHz}$ ,  $a = 10 \text{ mV}$  e  $E = +0,29 \text{ V}$ ,  $+0,26 \text{ V}$ ,  $+0,27 \text{ V}$  e  $+0,26 \text{ V}$ , respectivamente. Após a obtenção das condições otimizadas, as curvas analíticas em eletrólito de suporte foram construídas pela adição de alíquotas da solução padrão de AAF na célula eletroquímica. Os experimentos de recuperação nas amostras comerciais contendo AAF foram realizados empregando o método da adição de padrão (MILLER; MILLER, 2010).

Os resultados obtidos pela metodologia proposta neste trabalho foram comparados com os obtidos por UV-Vis, que é método indicado pela Farmacopeia Brasileira para a detecção de AAF.

### **3.4 Modificação do eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono de paredes múltiplas, ftalocianinas de cobalto**

A funcionalização dos NTCPM em meio ácido foi realizada misturando-se 1,0 g de NTCPM e 500 mL de uma solução 1:3 de  $HNO_3 / H_2SO_4$ , durante quatro horas. Em seguida, a mistura foi filtrada através de uma membrana de filtro de náilon de  $0,45 \mu\text{m}$  Millipore. Os NTCPM resultantes foram continuamente lavados com água destilada até a neutralidade do pH do filtrado e, então, secou-se a  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  por doze horas (MORAES et al., 2009).

As suspensões de NTCPMF foram preparadas a  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  em dimetilformamida (DMF). As soluções contendo FcCo foram preparadas nas concentrações finais de 0,25, 0,5, 1,0 e  $1,5 \text{ mg mL}^{-1}$ , cada solução contendo também  $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$  de NTCPMF. Para a homogeneização das suspensões, as misturas foram colocadas em banho ultrassom por 30 minutos. Antes da modificação, realizou-se a limpeza do eletrodo de CV, que consistiu de polimento em suspensão de pasta diamante  $0,25 \mu\text{m}$ , seguido por lavagem com água ultrapura. Na sequência, o eletrodo foi colocado em banho ultrassom em meio de acetona e depois em água ultrapura, ambos durante três minutos e depois a superfície do CV foi seca com nitrogênio ( $N_{2(g)}$ ) por 10 segundos. Em seguida, a modificação foi realizada gotejando-se uma alíquota de  $0,5 \mu\text{L}$  de suspensão sobre a superfície do eletrodo. Finalmente, a secagem ocorreu à temperatura ambiente ( $26 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por uma hora.

As NpAu utilizadas para as modificações foram sintetizadas pelo método do citrato (BATRA; PUNDIR, 2013; FRENS, 1973; ZHANG; ZHANG; MA, 2009) - que consiste na reação entre  $\text{HAuCl}_4$  0,01% (m/v) e citrato de sódio 1% (m/v) sob fervura e forte agitação - e também pelo método de eletrodeposição. As NpAu foram eletrodepositadas por cronoamperometria, aplicando-se  $-0,2$  V em solução de  $\text{HAuCl}_4$   $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  em  $\text{NaNO}_3$   $0,1$  mol  $\text{L}^{-1}$  previamente desaerada com  $\text{N}_{2(\text{g})}$  por 5 minutos. O tempo de eletrodeposição variou entre 20 e 150 segundos. Após a eletrodeposição das NpAu, o eletrodo de CV/NpAu foi transferido para célula eletroquímica contendo solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5$  mol  $\text{L}^{-1}$ , onde foram realizados ciclos voltamétricos sucessivos para ativação da superfície entre  $-0,2$  e  $1,5$  V a  $100$   $\text{mV s}^{-1}$  até se obter perfil reproduzível, caracterizando a presença das NpAu (PARK; YOON; KIM, 2011; SANZ et al., 2005).

Em seguida, realizou-se estudo do eletrodo de CV com diferentes modificações, com o objetivo de saber qual modificação proporcionava a resposta mais intensa em uma medida de voltametria cíclica (VC) utilizando solução de hexacianoferrato ( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , ambos a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  em meio de  $\text{KCl}$   $0,1$  mol  $\text{L}^{-1}$ ), que é um sistema reversível de propriedades eletroquímicas bem definidas (CHEN et al., 2015; SKOOG et al., 2005). Realizou-se o estudo do efeito da concentração de nanopartículas de ouro (NpAu, sintetizadas pelo método do citrato) adicionadas à suspensão de NTCPMF (10%, 25% e 50 % v/v), o estudo do efeito da concentração de ftalocianinas de cobalto (FcCo), o estudo do efeito do tempo de eletrodeposição de NpAu e a comparação entre a modificação com NpAu (método do citrato) e com NpAu por eletrodeposição.

### 3.5 Estudo do eletrólito de suporte e influência do pH do meio

Inicialmente realizou-se medidas de voltametria de onda quadrada (VOQ) em tampão BR – escolhido por ser uma solução tampão que possui uma ampla faixa de pH, de 2,0 a 12,0 (BRITTON; ROBINSON, 1931) – em diferentes valores de pH, de 3,0 a 12,0, para avaliar a resposta do AAF em meio ácido, neutro e básico. Em seguida, pesquisou-se na literatura algumas soluções-tampão que contivessem o pH escolhido no ensaio anterior para analisar qual eletrólito de suporte apresentava respostas mais intensas. As soluções-tampão avaliadas foram: Britton-Robinson, Sørensen, McIlvaine e biftalato de potássio.

Após a escolha do eletrólito de suporte otimizado, a partir da avaliação da resposta em termos de maior valor de corrente de pico ( $I_p$ ) e menor valor largura de meia altura ( $\Delta E_{p/2}$ ) para AAF, realizou-se medidas na faixa de tampão da solução para otimização do pH.

### 3.6 Otimização dos parâmetros da VOQ

Realizou-se estudo para a otimização de três parâmetros: frequência de aplicação de pulsos de potencial ( $f$ ), amplitude de pulsos de potencial ( $a$ ) e incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ). De acordo com a teoria da VOQ, os valores de  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$  são os indicados para sistemas reversíveis com a participação de um elétron (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007). Para  $f$ , realizou-se experimentos de 5 a  $150 \text{ s}^{-1}$ , mantendo os valores de  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ; para  $a$ , os valores investigados foram 5 a 80 mV, com os valores de  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ ; para  $\Delta E_s$ , realizou-se medidas a 1 a 5 mV, com os valores de  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $a = 50 \text{ mV}$ .

### 3.7 Curvas analíticas para AAF utilizando VOQ

Utilizando as condições otimizadas anteriormente, foram construídas curvas analíticas a partir de medidas de VOQ após sucessivas adições de padrão de AAF. Investigou-se a faixa na qual a corrente de pico ( $I_p$ ) da VOQ e a concentração de AAF variam de forma linear. Os valores dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados a partir do desvio padrão do intercepto ( $S_a$ ) (GUIDELINE, 2005; SANGHAVI; SRIVASTAVA, 2010). Para avaliar a precisão do método, foram realizados ensaios de repetibilidade (repê), com dez medidas realizadas com o mesmo eletrodo modificado, no mesmo dia, utilizando o mesmo equipamento; e de reprodutibilidade (reprô), com sete medidas realizadas em dias diferentes, em dois potenciostatos diferentes, em soluções recém-preparadas e com o eletrodo sendo modificado novamente a cada medida.

### 3.8 Determinação de AAF em amostras de diferentes matrizes

Ensaio de recuperação foram realizados empregando formulações contendo AAF em diferentes matrizes, adquiridos em comércio local, que foram: Tylenol<sup>®</sup> 500, Tylenol<sup>®</sup> DC, Tylenol<sup>®</sup> Gotas e Tylenol<sup>®</sup> Criança. A Tabela 2 apresenta a composição de cada uma das formulações.

Tabela 2 – Forma de apresentação e composição das amostras de Tylenol®

<b>Amostra</b>	<b>Apresentação</b>	<b>Composição</b>
Tylenol® 500	Comprimido	500 mg de Paracetamol por comprimido. Excipientes: água purificada, amido, amido pré-gelatinizado, amidoglicolato de sódio, celulose microfina, estearato de magnésio, hipromelose e macrogol (JOHNSON “JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol 500mg”, 2015).
Tylenol® DC	Comprimido	500 mg de Paracetamol e 65mg de cafeína por comprimido. Excipientes: amido de milho, amido pré-gelatinizado, amidoglicolato de sódio, celulose microfina, corante amarelo FD&C n° 6 laca alumínio, corante vermelho 40 laca alumínio, dióxido de titânio, estearato de magnésio, hipromelose e macrogol (JOHNSON “JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol DC”, 2015).
Tylenol® Gotas	Solução oral	200 mg de Paracetamol por mL. Excipientes: ácido cítrico, água desionizada, aromas caramelo, aniz/menta e morango, benzoato de sódio, bissulfito de sódio, ciclamato de sódio, corante amarelo crepúsculo FD&C n°6, hidróxido de sódio, macrogol e sacarina sódica di-hidratada (JOHNSON “JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol Gotas”, 2015).
Tylenol® Criança	Suspensão oral	32 mg de Paracetamol por mL. Excipientes: ácido cítrico anidro, água purificada, benzoato de sódio, butilparabeno, celulose microcristalina/ carboximetilcelulose sódica, corante vermelho FD&C n° 40, glicerol, goma xantana, propilenoglicol, aroma artificial de cereja, sorbitol, solução e xarope de frutose de milho (JOHNSON “JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol Criança”, 2015).

Fonte: Elaborada pelo autor.

É importante destacar que os excipientes desses medicamentos podem interferir nas medidas eletroquímicas, seja como interferentes ou causando o efeito matriz. Isto pode levar a diminuição ou aumento da sensibilidade nas medidas analíticas, afetando os resultados dos ensaios de recuperação (MATUSZEWSKI; CONSTANZER; CHAVEZ-ENG, 2003; SKOOG et al., 2005).

Para as medidas de VOQ, as amostras foram preparadas da seguinte forma: para os comprimidos, Tylenol<sup>®</sup> 500 e Tylenol<sup>®</sup> DC, foram pesadas 10 unidades e calculada a massa média igual  $0,616 \pm 0,004$  g para o Tylenol<sup>®</sup> 500 e igual a  $0,686 \pm 0,005$  g, e as amostras foram preparadas com concentração final igual a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em etanol absoluto. O Tylenol<sup>®</sup> Criança foi agitado manualmente por 30 segundos e depois levado ao banho ultrassom por 5 minutos para remover eventuais bolhas de ar; após esse tratamento, a amostra foi diluída em etanol absoluto até concentração final igual a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Para o preparo da solução de Tylenol<sup>®</sup> Gotas, agitou-se o recipiente manualmente por 30 segundos e a amostra foi diluída em água Milli-Q até concentração final igual a  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Optou-se por preparar a solução de Tylenol<sup>®</sup> Gotas em água pelo fato da amostra já se apresentar como solução aquosa. As demais amostras foram preparadas em etanol para facilitar a solubilização dos excipientes.

No caso do preparo das amostras para as medidas de UV-Vis, adotou-se o procedimento de acordo com o descrito na Farmacopeia Brasileira para determinação de AAF e para a quantificação amostras de comprimidos e soluções orais (BRASIL, 2010). Para os comprimidos Tylenol<sup>®</sup> 500 e Tylenol<sup>®</sup> DC pesou-se dez unidades e calculou-se a massa média, com a amostra sendo preparada a uma concentração final de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em NaOH 0,01 mol L<sup>-1</sup> e depois filtrada. As amostras de Tylenol<sup>®</sup> Criança e Tylenol<sup>®</sup> Gotas foram diluídas a uma concentração final de  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em uma solução metanólica de HCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>. As amostras foram levadas ao espectrofotômetro, utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm e as leituras foram realizadas em  $\lambda$  (comprimento de onda) = 257 nm para as amostras de Tylenol<sup>®</sup> 500 e Tylenol<sup>®</sup> DC e  $\lambda = 249$  nm para as amostras de Tylenol<sup>®</sup> Criança e Tylenol<sup>®</sup> Gotas.

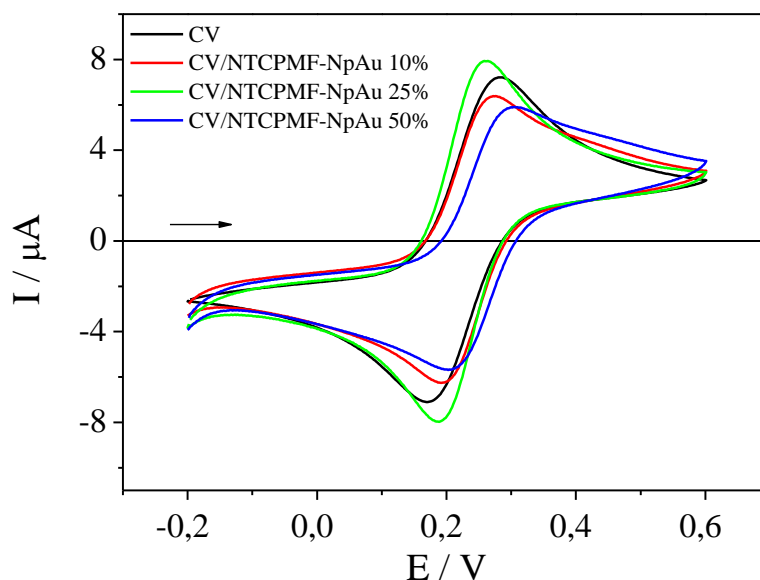
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Estudos da modificação do eletrodo

#### 4.1.1 Concentração de NpAu sintetizadas pelo método do citrato e comparação entre diferentes modificações de eletrodo

O estudo da concentração de NpAu (método do citrato) foi realizado preparando-se suspensões de NTCPMF sempre na concentração final de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  em N,N-dimetilformamida (DMF) com 10, 25 e 50% (v/v) de solução de NpAu. A Figura 6 apresenta as medidas de voltametria cíclica para  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre eletrodos de CV/NTCPMF-NpAu, que teve o objetivo de avaliar o efeito das diferentes concentrações de NpAu nos valores de corrente.

Figura 6 – Voltamogramas cíclicos para  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV e CV/NTCPMF-NpAu, utilizando concentrações de NpAu de 10, 25 e 50% (v/v de DMF) a  $50 \text{ mV s}^{-1}$



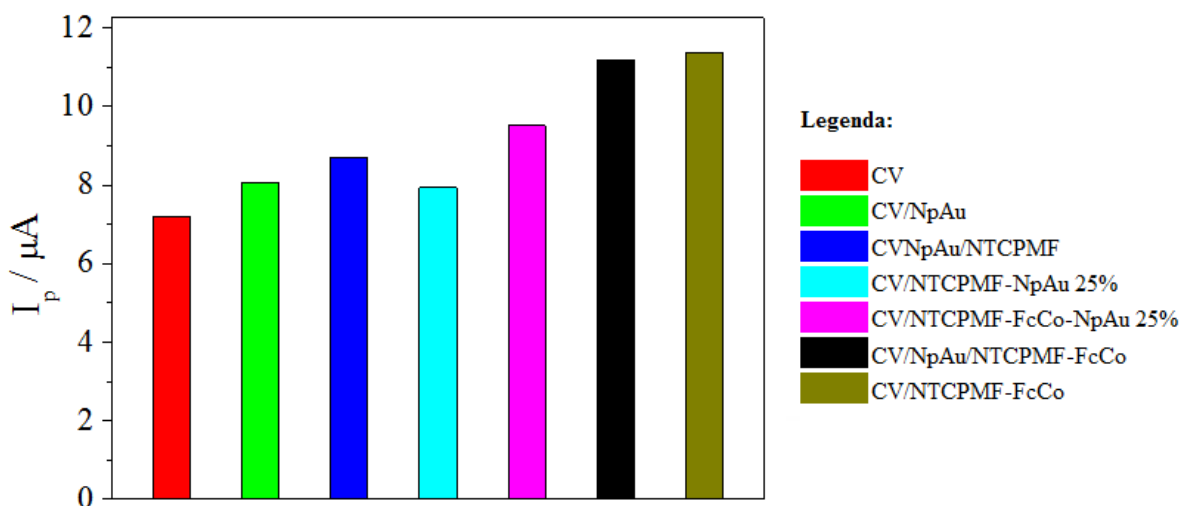
Fonte: Elaborada pelo autor.

A concentração de 25% de NpAu foi a que forneceu maior sinal de corrente e diferença entre os potenciais de pico anódico ( $E_{pa}$ ) e catódico ( $E_{pc}$ ) mais próxima de 60 mV, que

é o valor indicado na literatura para sistemas reversíveis com a participação de um elétron (CHEN et al., 2015; SKOOG et al., 2005). Portanto, a concentração de 25% foi escolhida para a comparação com NpAu por eletrodeposição.

As FcCo também foram introduzidas na modificação do eletrodo de carbono vítreo a fim de avaliar os efeitos na intensificação do sinal analítico (YIN et al., 2010; ZAGAL et al., 2012; ZUO; ZHANG; LI, 2012). A Figura 7 apresenta os valores de corrente de pico anódico obtidos a partir de voltamogramas cíclicos para  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV, CV/NpAu (NpAu eletrodepositadas), CV/NpAu/NTCPMF (NpAu eletrodepositadas), CV/NTCPMF-NpAu 25%, CV/NTCPMF-FcCo-NpAu 25%, CV/NpAu/NTCPMF-FcCo (NpAu eletrodepositadas) e CV/NTCPMF-FcCo, para avaliar a resposta obtida com os diferentes eletrodos modificados estudados.

Figura 7 – Valores de corrente de pico anódico obtidos a partir de voltamogramas cíclicos sobre CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF, CV/NTCPMF-NpAu 25%, CV/NTCPMF-FcCo-NpAu 25%, CV/NpAu/NTCPMF-FcCo e CV/NTCPMF-FcCo em solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , a  $50 \text{ mV s}^{-1}$



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os voltamogramas apresentaram processos redox bem definidos, típicos de processos reversíveis (CHEN et al., 2015), de onde foram retirados os valores de corrente de pico anódico ( $I_{pa}$ ), e também catódico ( $I_{pc}$ ), que foram bem maiores para os eletrodos de CV/NpAu/NTCPMF-FcCo e CV/NTCPMF-FcCo em relação ao eletrodo de CV liso. A adição do filme de NTCPMF-FcCo aumentou os valores de corrente de pico, uma vez que estes



materiais apresentam ótimas propriedades catalíticas e melhoram a velocidade de transferência eletrônica (ZAGAL et al., 2012). Com relação às NpAu, os melhores desempenhos foram observados para as modificações realizadas por eletrodeposição, já que apresentaram maiores intensidades de corrente do que os eletrodos modificados com NpAu sintetizadas quimicamente. A adição de NpAu aumenta a área efetiva do eletrodo e, conseqüentemente, os valores de corrente de pico (GUO; WANG, 2007; SUN et al., 2014).

As diferenças entre os valores dos potenciais de pico anódico ( $E_{pa}$ ) e de pico catódico ( $E_{pc}$ ) para as diferentes configurações de eletrodo estudadas estão apresentadas na Tabela 3. Para o eletrodo de CV liso, a diferença entre os valores de  $E_{pa}$  e  $E_{pc}$  foi igual a 105 mV e os valores para os demais ficaram entre 75 e 83 mV, indicando que todos os eletrodos modificados estudados melhoraram a reversibilidade da reação redox do par  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  (GOSSER JR., 1993).

Tabela 3 – Diferença entre os valores de potencial de pico anódico ( $E_{pa}$ ) e potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) para CV e diferentes modificações, calculados a partir das medidas de voltametria cíclica para  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

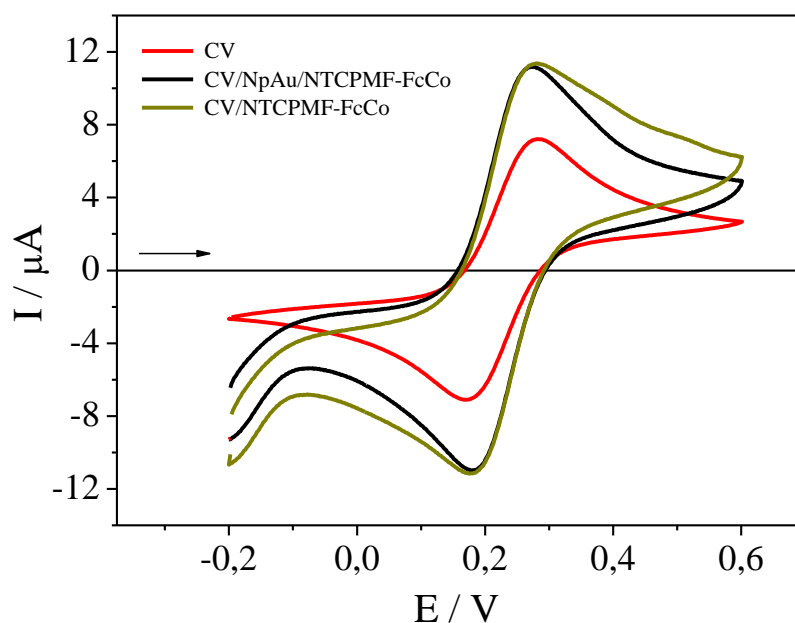
<b>Eletrodo</b>	<b>(<math>E_{pa} - E_{pc}</math>) / mV</b>
CV	105
CV/NpAu	81
CV/NpAu/NTCPMF	78
CV/NTCPMF-NpAu 25%	79
CV/NTCPMF-FcCo-NpAu 25%	75
CV/NpAu/NTCPMF-FcCo	81
CV/NTCPMF-FcCo	83

Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 8 apresenta os voltamogramas cíclicos para os eletrodos de CV, CV/NpAu/NTCPMF-FcCo e CV/NTCPMF-FcCo em solução de  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  e  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ . Como as intensidades de corrente de pico para CV/NpAu/NTCPMF-FcCo e CV/NTCPMF-FcCo foram próximas, a escolha do eletrodo modificado para os estudos posteriores foi realizada com base na análise da largura de meia altura ( $\Delta E_{p/2}$ ) dos processos. Para o eletrodo de CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, o valor de  $\Delta E_{p/2}$  foi

igual a 170 mV, enquanto para o eletrodo de CV/NTCPMF-FcCo o valor de  $\Delta E_{p/2}$  foi igual a 220 mV. Portanto, conclui-se que CV/NpAu/NTCPMF-FcCo (NpAu por eletrodeposição) forneceu os melhores resultados entre as modificações estudadas.

Figura 8 – Voltamogramas cíclicos sobre CV, CV/NpAu/NTCPMF-FcCo e CV/NTCPMF-FcCo em solução de  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  a  $50 \text{ mV s}^{-1}$



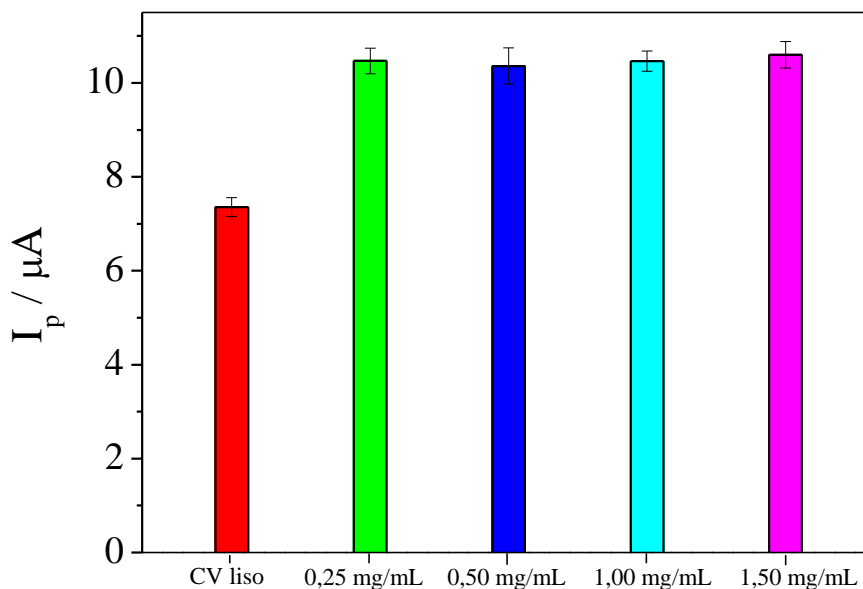
Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.1.2 Estudo da concentração de FcCo

A Figura 9 apresenta um gráfico com os valores de corrente obtidos a partir de voltamogramas cíclicos para  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, onde é realizada comparação entre as respostas para diferentes concentrações de ftalocianina de cobalto (FcCo).

Os valores de concentração de FcCo foram de 0,25, 0,5, 1,0 e 1,5  $\text{mg mL}^{-1}$  e, já que não houve diferenças significativas nos valores de corrente de pico, a concentração de 0,25  $\text{mg mL}^{-1}$  foi a escolhida para ser utilizada nos ensaios posteriores.

Figura 9 – Valores de corrente de pico anódico obtidos dos voltamogramas cíclicos para  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de  $KCl$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, utilizando concentrações de FcCo de 0,25, 0,50, 1,00 e 1,50  $\text{mg mL}^{-1}$  a  $50 \text{ mV s}^{-1}$

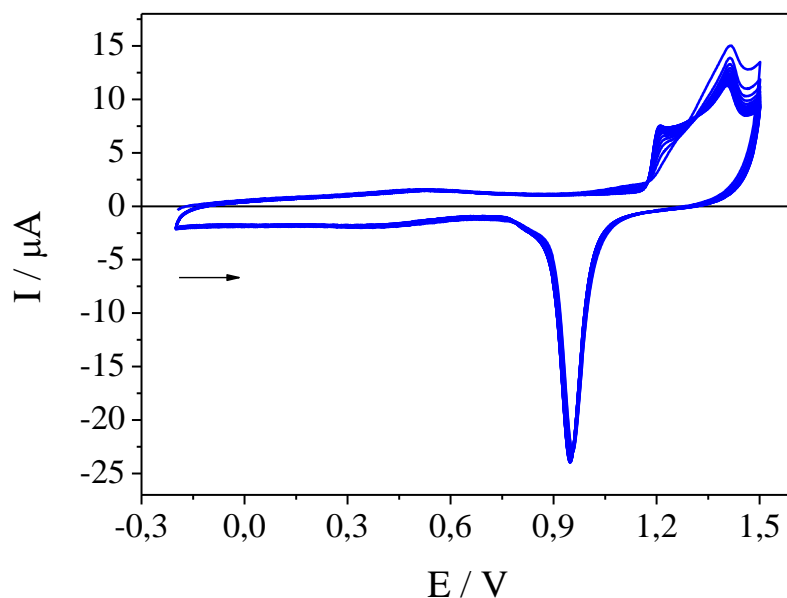


Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.1.3 Estudo do tempo de eletrodeposição das NpAu

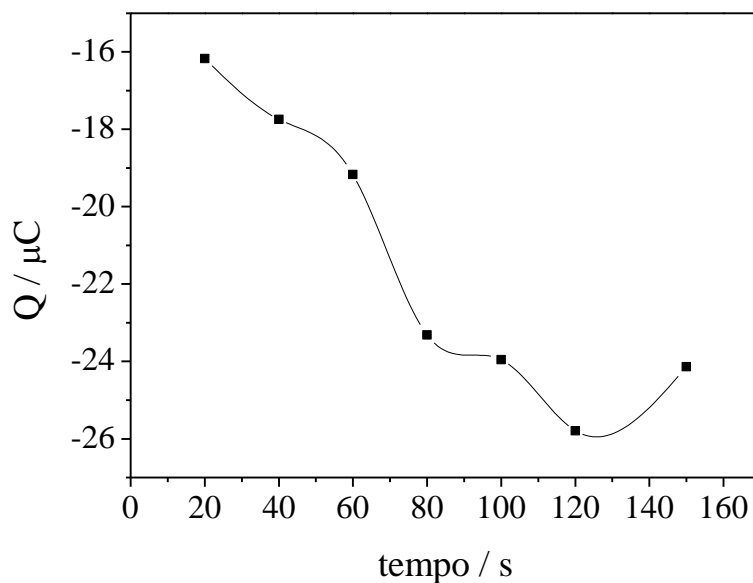
O estudo da eletrodeposição de NpAu foi baseado na aplicação de  $-0,2 \text{ V}$  entre 20 e 150 s, para a otimização do tempo de eletrodeposição (DE OLIVEIRA et al., 2015; PARK; YOON; KIM, 2011; ZHANG et al., 2008a). Logo após a eletrodeposição das NpAu por cronoamperometria, foram realizados experimentos de VC entre  $-0,2$  e  $1,5 \text{ V}$  durante 15 ciclos, a  $100 \text{ mV s}^{-1}$  em  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , para verificar a presença das NpAu e para calcular a carga de redução do óxido de ouro formado na varredura anódica. O voltamograma cíclico está apresentado na Figura 10. O resultado foi avaliado a partir da relação entre a carga de redução das NpAu e o tempo de eletrodeposição, como apresentado na Figura 11, pois um maior valor de carga de redução indica a presença de uma maior área superficial das NpAu, e também uma maior área ativa na superfície do eletrodo. O tempo otimizado para eletrodeposição de NpAu foi de 120 s, já que apresentou o maior valor de carga, considerando valores em módulo.

Figura 10 – Voltamograma cíclico sobre CV/NpAu em meio de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , entre  $-0,2$  e  $+1,5 \text{ V}$ , durante 15 ciclos a  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Tempo de eletrodeposição das NpAu sobre CV de 120 s por cronoamperometria



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 11 – Relação entre a carga obtida a partir dos voltamogramas cíclicos em meio de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  para eletrodos de CV/NpAu e os tempos de eletrodeposição das NpAu  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em  $\text{NaNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV variando de 20, 40, 60, 80, 100, 120 e 150 s

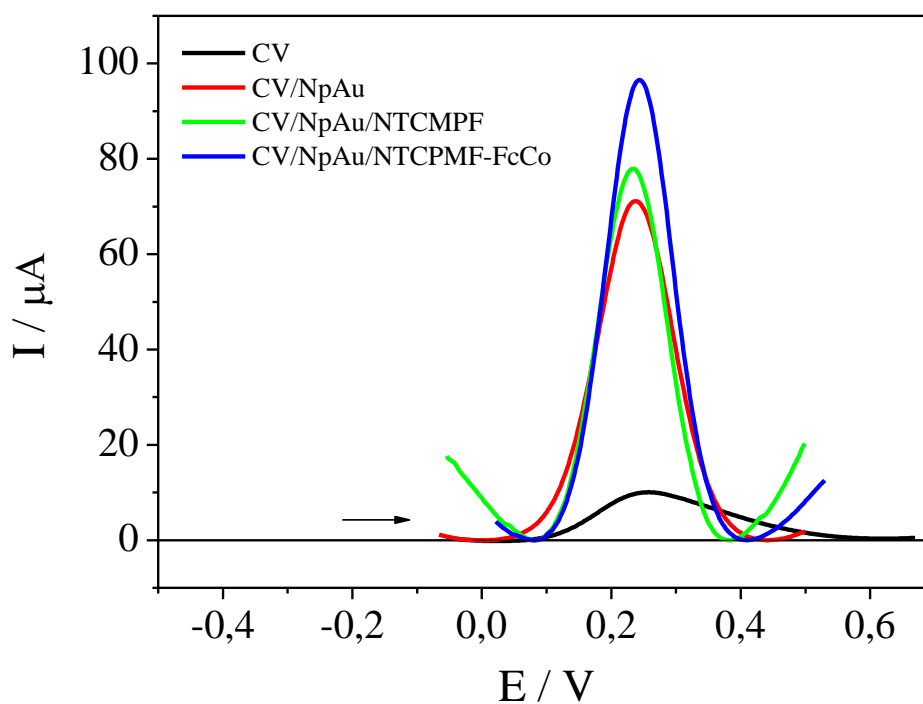


Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.1.4 Medidas de VOQ dos diferentes eletrodos modificados

Após a escolha da configuração de eletrodo e da otimização da concentração de FcCo e do tempo de eletrodeposição das NpAu, foram realizadas medidas de VOQ para os diferentes eletrodos modificados, com o objetivo de avaliar as respostas obtidas para solução de hexacianoferrato ( $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$ , ambos a  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e fazer uma comparação entre os resultados. Os voltamogramas estão apresentados na Figura 12.

Figura 12 – Voltamogramas de onda quadrada para  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, com valores de  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborada pelo autor.

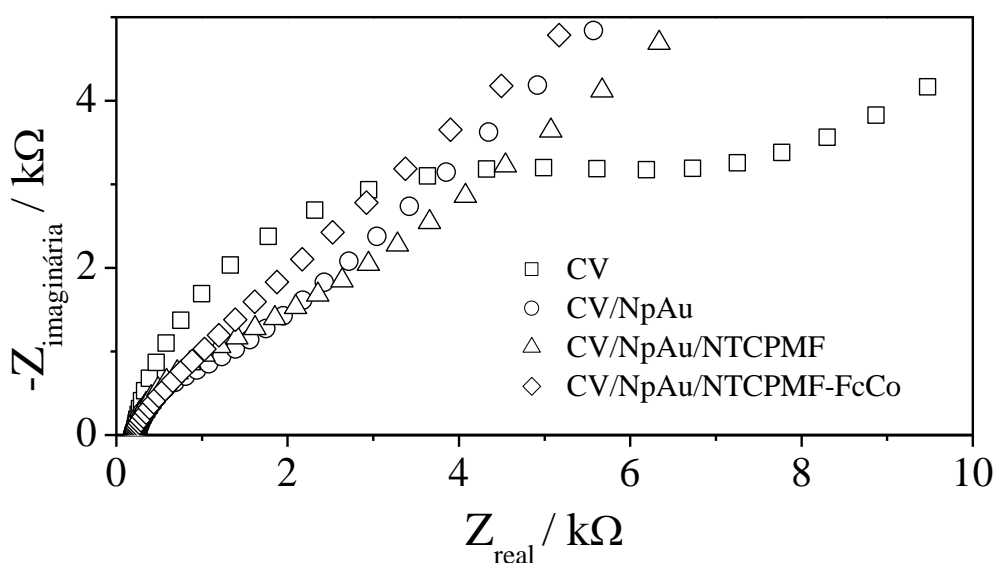
Os diferentes eletrodos modificados estudados apresentaram maiores sinais de corrente de pico em relação a CV, com maior intensidade do sinal analítico sendo alcançada com CV/NpAu/NTCPMF-FcCo.

#### 4.1.5 Medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica

Medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica foram realizadas a fim de se avaliar a resistência à transferência de carga ( $R_{tc}$ ). A Figura 13 apresenta os diagramas de Nyquist obtidos para os diferentes eletrodos modificados estudados.

Impedância eletroquímica é uma técnica largamente usada para avaliar a taxa de transferência de elétrons de materiais, em que um valor mais elevado da resistência está associado a um maior raio do arco da curva. O diâmetro do semicírculo nos diagramas de Nyquist é igual à  $R_{tc}$ , que reflete a cinética de transferência de elétrons da reação na superfície do eletrodo (RAMADOSS; KIM, 2013). A partir dos diagramas de Nyquist para as diferentes etapas da modificação, em  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foi possível calcular os valores de  $R_{tc}$ , que foram  $8043 \text{ } \Omega$ ,  $1899 \text{ } \Omega$ ,  $2240 \text{ } \Omega$ ,  $2385 \text{ } \Omega$ , respectivamente para os eletrodos de CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo.

Figura 13 – Diagramas de Nyquist para  $K_3[Fe(CN)_6]$  e  $K_4[Fe(CN)_6]$   $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV, CV/NpAu, CV/NpAu/NTCPMF e CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, com  $f = 10 \text{ kHz}$  a  $6 \text{ mHz}$ ,  $a = 10 \text{ mV}$  e  $E = +0,29 \text{ V}$ ,  $+0,26 \text{ V}$ ,  $+0,27 \text{ V}$  e  $+0,26 \text{ V}$  respectivamente



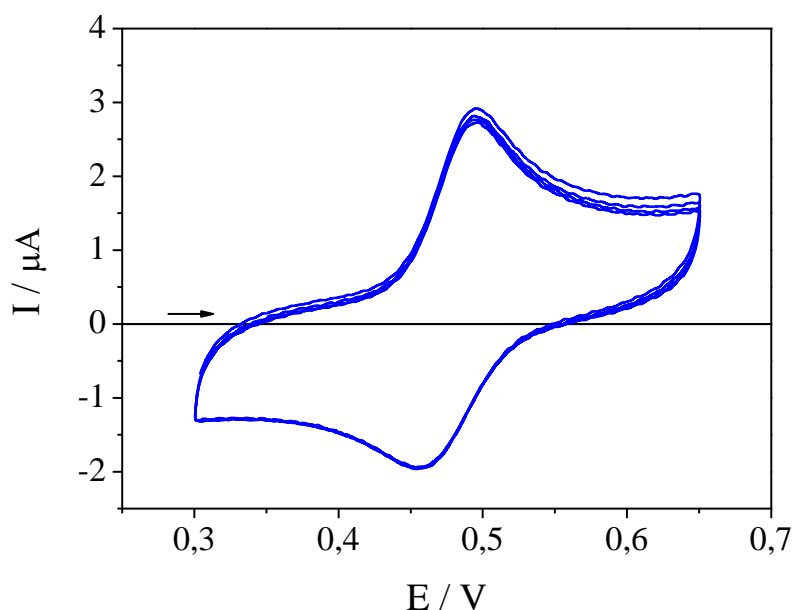
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados confirmam que a modificação do eletrodo de CV com NpAu, NTCPMF e FcCo aumenta a transferência eletrônica, principalmente como um resultado da alta condutividade das NpAu e da atividade catalítica do sinergismo entre NTCPMF-FcCo (existência de interação do tipo  $\pi$ - $\pi$ ), porque a FcCo atua como mediador de transferência de carga (PILLAY; OZOEMENA, 2007). Observa-se que os três diferentes eletrodos modificados levaram a diminuição da resistência à transferência de carga em relação a CV. No entanto, observa-se também que não houve diferença significativa nos valores de  $R_{tc}$  entre os diferentes eletrodos modificados estudados. O eletrodo escolhido para o desenvolvimento da metodologia de determinação de AAF foi o de CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, que apresentou os resultados mais satisfatórios nas medidas de VC e VOQ, já apresentados nas Figuras 8 e 12, respectivamente.

## 4.2 Comportamento eletroquímico do acetaminofeno

Experimentos de VC foram realizados para investigar a eletroatividade do AAF entre 0,3 e 0,65 V a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  por quatro ciclos consecutivos em tampão BR pH 5,0 e o gráfico está ilustrado na Figura 14.

Figura 14 – Voltamograma cíclico para o AAF  $5,66 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR 5,0 sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo a  $50 \text{ mV s}^{-1}$  por quatro ciclos



Fonte: Elaborada pelo autor.

No primeiro ciclo, registrou-se pico de oxidação em +0,49 V e na varredura inversa foi observado pico de redução em +0,46 V, indicando uma aparente reversibilidade no processo. O número de elétrons ( $n$ ) envolvidos na reação pode ser calculado de acordo com a Equação 3 (D'SOUZA et al., 2015; DUAN et al., 2007):

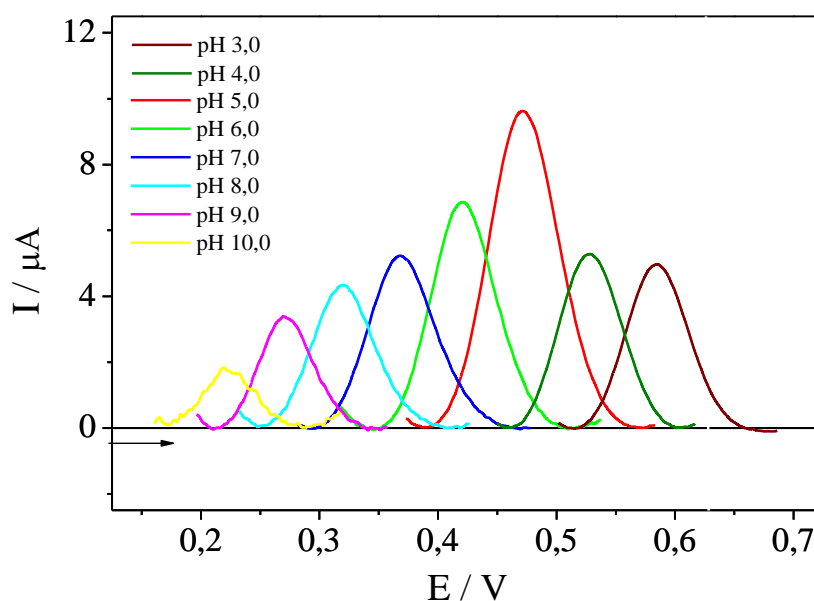
$$|E_p - E_{p/2}| = \frac{56,5}{n} \quad (3)$$

em que  $E_p$  é o potencial de pico e  $E_{p/2}$  é o potencial de meia altura. O valor de  $n$  calculado foi igual a 1,92 e está de acordo com vários trabalhos publicados (D'SOUZA et al., 2015; LIU et al., 2014; LU; TSAI, 2011; VIDYADHARAN; JAYAN; NANCY, 2014; ZHENG et al., 2013) que apresentam a reação de oxidação do AAF com a participação de dois elétrons.

### 4.3 Estudo do eletrólito de suporte

Inicialmente foram realizadas medidas de VOQ em tampão BR com diferentes valores de pH para investigar a região (ácida, neutra ou básica) onde há sinal de corrente mais intenso para o acetaminofeno. A Figura 15 apresenta os voltamogramas de onda para AAF em tampão BR pH 3,0 a 10,0.

Figura 15 – Voltamogramas de onda quadrada para o AAF  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR pH 3,0 a 10,0 com  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$  sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo

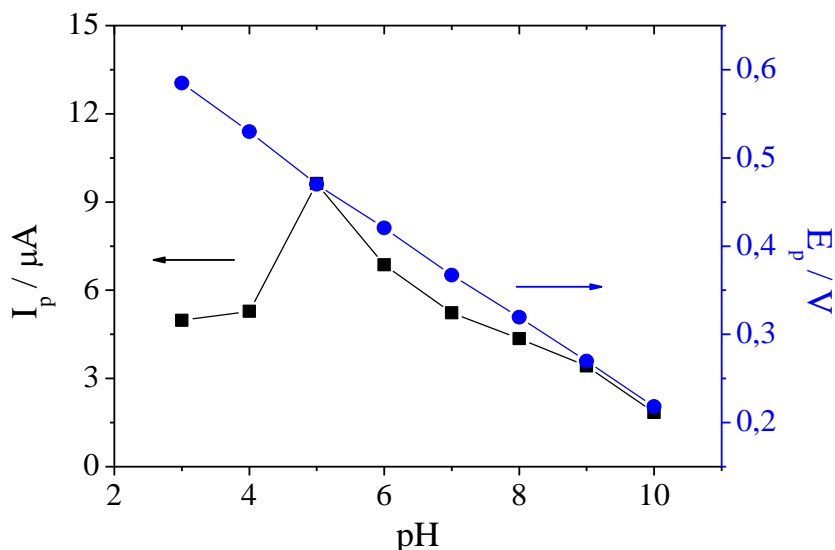




A maior intensidade do sinal analítico foi obtida em pH 5,0, que apresentou maior valor de corrente de pico. A corrente aumenta à medida que o pH diminui de 10,0 até 5,0 e a diminuição da corrente em pH 4,0 e pH 3,0 deve estar relacionada com o fato de o NAPQI (produto da oxidação do AAF) apresentar alta instabilidade em meios mais ácidos, como descrito por Miner (1981). Devido a essa instabilidade, o NAPQI pode formar dímeros ou outra espécie que não seja eletroativa, diminuindo o valor de corrente reversa (relacionada com o processo de redução do NAPQI até AAF). Já que a corrente resultante é resultado da contribuição das correntes direta e reversa, seu valor será menor em consequência disso.

Além disso, houve deslocamento dos  $E_p$  para valores menos positivos com o aumento do pH, o que indica a participação de prótons na reação de oxidação do AAF (BEIGINEJAD; NEMATOLLAHI; VARMAGHANI, 2013; BEIGINEJAD et al., 2015). A Figura 16 apresenta os valores de corrente de pico e de potencial de pico obtidos a partir das medidas de VOQ realizadas a diferentes valores de pH ilustradas na figura anterior.

Figura 16 – Relação entre corrente de pico ( $I_p$ ), potencial de pico ( $E_p$ ) e pH obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada para AAF  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR, sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo com  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$

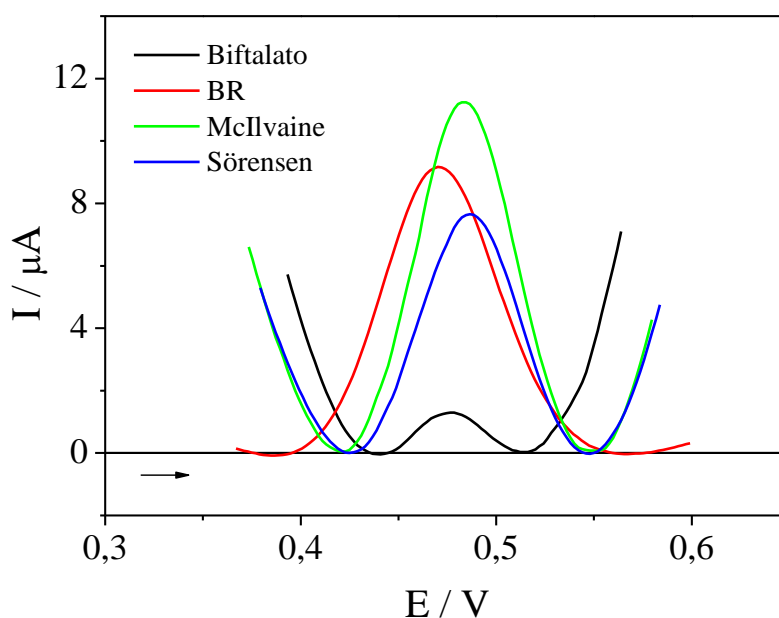


Fonte: Elaborada pelo autor.

As maiores intensidades de corrente foram obtidas em pH 5,0. Então, pesquisou-se na literatura sobre soluções-tampão que contivessem este valor de pH em sua faixa tamponante.

As soluções escolhidas para o estudo do eletrólito de suporte foram: tampão McIlvaine (faixa de pH: 2,2 a 8,0), tampão Sörensen (faixa de pH: 5,0 a 8,0), tampão biftalato de potássio (faixa de pH: 4,0 a 6,2), além do próprio tampão BR (faixa de pH: 2,0 a 12,0) (BRITTON; ROBINSON, 1931; MORITA; ASSUMPCÃO, 2007). Os voltamogramas com as medidas realizadas para cada tampão, sempre em pH 5,0, estão apresentados na Figura 17.

Figura 17 – Voltamogramas de onda quadrada para o acetaminofeno  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão BR, McIlvaine, Sörensen e biftalato de potássio sempre em pH 5,0 com  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$  sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo



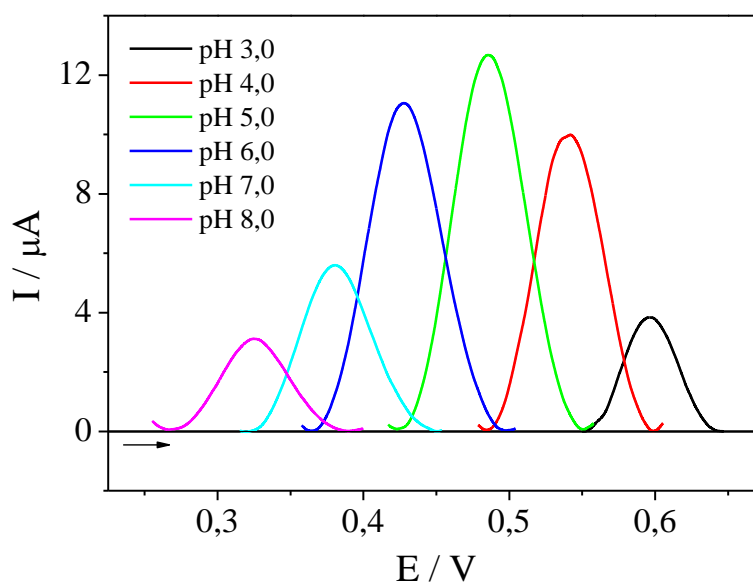
Fonte: Elaborada pelo autor.

Concluiu-se, então, que nas medidas em tampão McIlvaine obteve-se valor de corrente de pico maior que no tampão biftalato e ligeiramente maior que nos tampões BR e Sörensen, e ainda largura de meia-altura ( $\Delta E_{p/2}$ ) menor.  $\Delta E_{p/2}$  é definida como sendo a largura do perfil VOQ em que a corrente é igual à  $I_p/2$  (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007), sendo um parâmetro relacionado com a seletividade da medida. Portanto, escolheu-se o tampão McIlvaine.

#### 4.4 Influência do pH do meio

Escolhido o tampão McIlvaine como eletrólito de suporte, foram realizados experimentos para a otimização do pH de trabalho. Realizou-se medidas de VOQ nos valores de pH de 3,0 a 8,0. Os voltamogramas estão ilustrados na Figura 18.

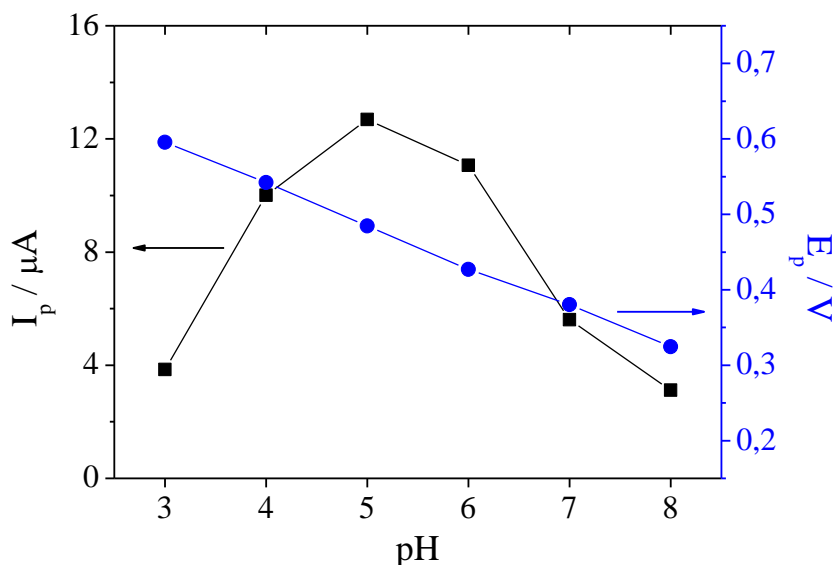
Figura 18 – Voltamogramas de onda quadrada para o acetaminofeno  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão McIlvaine com  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$  sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os maiores valores de corrente de pico foram obtidos nas medidas em pH 5,0. Além disso, é possível observar que a medida em pH 5,0 apresentou um menor valor de  $\Delta E_{1/2}$ , o que implica em maior seletividade da medida (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007). Portanto, o tampão McIlvaine a pH 5,0 foi escolhido como condição otimizada para a realização dos ensaios posteriores. A Figura 19 apresenta os valores de corrente de pico e potencial de pico, obtidos a partir das medidas de VOQ ilustradas na figura anterior, com o pH do meio.

Figura 19 – Relação entre corrente de pico ( $I_p$ ), potencial de pico ( $E_p$ ) e pH obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada para AAF  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão McIlvaine, sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo com  $f = 100 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



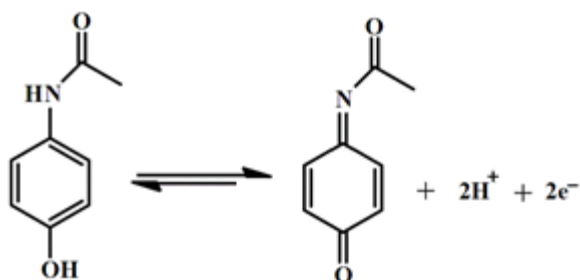
Fonte: Elaborada pelo autor.

Pode ser observado nas Figuras 16 e 19 que o aumento do pH provoca a variação do potencial de pico para valores menos positivos. Isso indica a participação de prótons na oxidação do AAF (BEIGINEJAD; NEMATOLLAHI; VARMAGHANI, 2013; BEIGINEJAD et al., 2015). O potencial de pico ( $E_p$ ) é dado pela Equação 4:

$$E_p = E_{p0} - \frac{2,303mRT}{nF} \text{ pH} \quad (4)$$

em que  $m$  é o número de prótons envolvidos na reação e  $E_{p0}$  é o potencial de pico a  $\text{pH} = 0$ , que foi calculado usando o intercepto do diagrama  $E_p$  vs.  $\text{pH}$  (cuja equação da reta foi  $E_p = 0,75711 - 0,0542\text{pH}$ ). O valor de  $m$  calculado foi igual a 1,83, valor muito próximo de 2, que é, de fato, a quantidade de prótons – e também de elétrons – envolvida na reação de oxidação do AAF, e está de acordo com alguns trabalhos publicados na literatura (BEIGINEJAD et al., 2015; D'SOUZA et al., 2015; LIU et al., 2014; LU; TSAI, 2011; VIDYADHARAN; JAYAN; NANCY, 2014; ZHENG et al., 2013). A Figura 20 apresenta a reação de oxidação do AAF.

Figura 20 – Reação global de oxidação eletroquímica do AAF



Fonte: Adaptada de (BEIGINEJAD et al., 2015).

#### 4.5 Otimização dos parâmetros da voltametria de onda quadrada

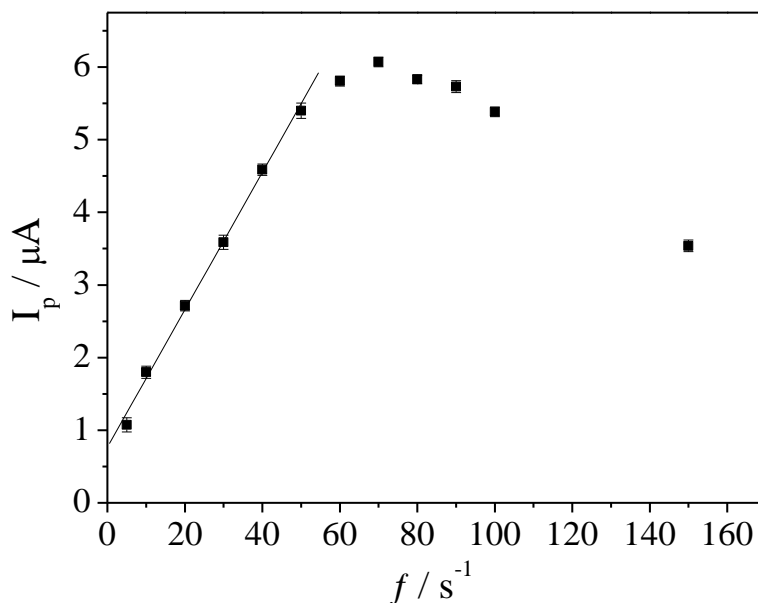
A otimização dos parâmetros foi realizada pela variação de um dos parâmetros - frequência de aplicação dos pulsos ( $f$ ), amplitude ( $a$ ) e incremento de potencial ( $\Delta E_s$ ) - enquanto os outros dois permaneciam constantes, sempre em triplicata.

##### 4.5.1 Frequência de aplicação de pulsos de potencial

A frequência de aplicação dos pulsos de potencial foi estudada variando-se os valores de 5 a 150  $s^{-1}$  e mantendo os valores de  $a = 50$  mV e  $\Delta E_s = 2$  mV. A Figura 21 apresenta os valores de corrente de pico ( $I_p$ ) para cada frequência aplicada. A influência da frequência sobre a  $I_p$  apresentou linearidade até 50  $s^{-1}$ , que foi o valor de frequência otimizada para os estudos analíticos.

De acordo com o modelo teórico proposto para VOQ, uma dependência linear entre  $I_p$  e  $f^{1/2}$  em uma grande faixa de frequência (30 a 1000  $s^{-1}$ ) é característica de processos reversíveis, enquanto uma dependência linear entre  $I_p$  e  $f$  indica que o processo é irreversível (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007; SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). As experiências de otimização de frequência apresentaram uma dependência linear entre  $I_p$  e  $f^{1/2}$ , e também entre  $I_p$  e  $f$  em curtos intervalos de frequência (5 - 50  $s^{-1}$ ), sugerindo que o processo é quase-reversível (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007; SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Figura 21 – Relação entre corrente de pico e frequência de aplicação dos pulsos de potencial para acetaminofeno  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em tampão McIlvaine pH 5,0, variando-se a frequência de 5 a  $150 \text{ s}^{-1}$ , fixando os valores de  $a = 50 \text{ mV}$  e de  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ , grafada com ponto médio e barras de erro para medidas em triplicata



Fonte: Elaborada pelo autor.

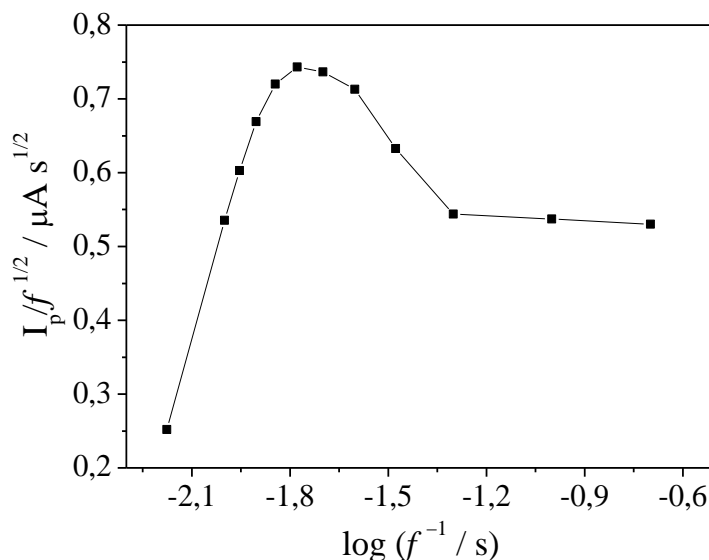
Não houve relação linear entre o  $E_p$  e  $\log f$ , o que é consistente com os critérios de diagnóstico da VOQ para processos quase-reversíveis (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007). A relação entre  $I_p/f^{1/2}$  e  $\log (1/f)$  confirma a característica de processo quase-reversível, pois exibe um ponto máximo conhecido como "máximo quase-reversível" ( $f_{\max}$ ) (MIRCESKI et al., 2000), como apresentado na Figura 22.

O valor do máximo quase-reversível pode ser utilizado para calcular a constante de transferência de carga ( $k_s$ ) de acordo com a Equação 5 (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007):

$$k_s = \omega_{\max} \cdot f_{\max} \quad (5)$$

sendo  $\omega_{\max}$  o parâmetro cinético crítico calculado teoricamente e dependente do coeficiente de transferência de elétrons ( $\alpha$ ) e da amplitude ( $a$ ). O valor de  $\omega_{\max}$  é  $1,18 \pm 0,05$  para a seguinte condição:  $0,25 \leq \alpha \leq 0,85$ . Considerando que  $f_{\max} = 50 \text{ s}^{-1}$ , o valor  $k_s$  é igual a  $59,0 \pm 2,5 \text{ s}^{-1}$ .

Figura 22 – Relação entre  $I_p/f^{1/2}$  e  $\log(1/f)$  obtida a partir dos voltamogramas de onda quadrada para AAF  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão McIlvaine pH 5,0 sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo. Valores de frequência no intervalo de 5 a  $150 \text{ s}^{-1}$ , com  $a = 50 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$



Fonte: Elaborada pelo autor.

A cinética de processos quase-reversíveis, considerando as informações da VOQ mostra que a relação entre a constante de velocidade de reação e a frequência é dada pelas equações 6 e 7 (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003):

$$\log k_s / 2f = 0,01 \text{ (adsorção de reagente)} \quad (6)$$

$$\log k_s / 2f > 0,5 \text{ (adsorção de reagente e de produto)} \quad (7)$$

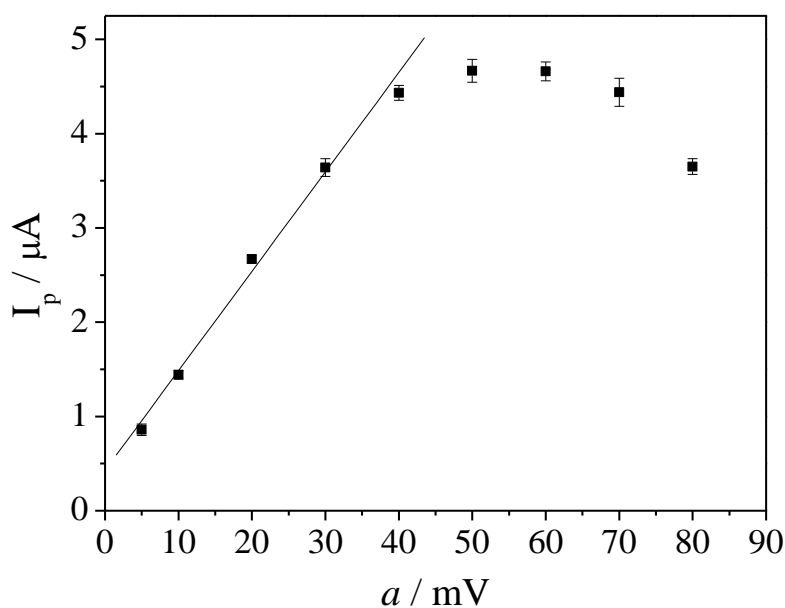
O valor calculado foi de 0,017, indicando que a reação ocorre apenas com adsorção de reagente. Observou-se, ainda, que os valores de  $\Delta E_{p/2}$  são dependentes de  $f$  e, para sistemas reversíveis, não existe dependência entre estes parâmetros (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007; SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

#### 4.5.2 Amplitude de pulsos de potencial

A amplitude dos pulsos de potencial foi otimizada variando-se os valores de 5 a 80 mV, mantendo os valores de  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $\Delta E_s = 2 \text{ mV}$ . Os valores de  $I_p$  para cada amplitude são apresentados abaixo na Figura 23.

Assim como para a frequência, os valores de  $\Delta E_{p/2}$  são dependentes da  $a$ . Para sistemas reversíveis não há dependência entre  $\Delta E_{p/2}$  e os parâmetros  $f$  e  $a$  (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007; SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). Para  $a = 5$  mV foi obtida diferença entre os potenciais de pico das componentes direta e reversa,  $E_{p,d} - E_{p,r} = 41,66$  mV. Já para valores de  $a$  iguais a 50 mV e 80 mV, os valores calculados de  $E_{p,d} - E_{p,r}$  foram 1,99 mV e 1,98 mV, respectivamente. Este comportamento é mais um indício característico de processos quase-reversíveis (LOVRIC; JADRESKO, 2010). Amplitude e  $I_p$  variaram linearmente até a aplicação de 40 mV, que foi o valor escolhido como otimizado.

Figura 23 – Relação entre corrente de pico e amplitude dos pulsos de potencial para acetaminofeno  $1,96 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em tampão McIlvaine pH 5,0, variando-se a amplitude de 5 a 80 mV, com  $f = 100$  s<sup>-1</sup> e  $\Delta E_s = 2$  mV, grafada com ponto médio e barras de erro para medidas em triplicata



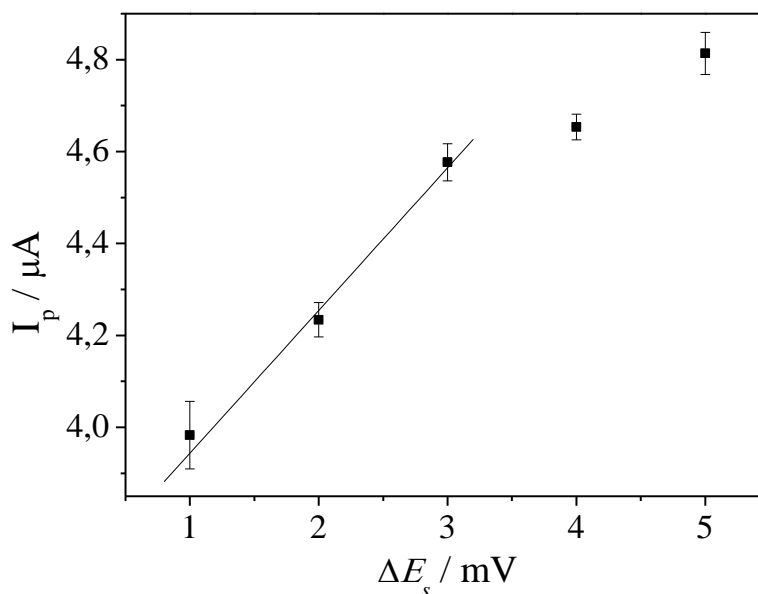
Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.5.3 Incremento de potencial

O incremento de potencial foi avaliado entre 1 mV e 5 mV, com os valores de  $f = 100$  s<sup>-1</sup> e  $a = 50$  mV. A Figura 24 apresenta a dependência entre  $I_p$  e  $\Delta E_s$ . Observou-se relação linear entre  $I_p$  e  $\Delta E_s$  até 3 mV e este foi o valor escolhido como otimizado para os ensaios analíticos.



Figura 24 – Relação entre corrente de pico e incremento de potencial para acetaminofeno  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em tampão McIlvaine pH 5,0, variando-se o incremento de 1 a 5 mV, com  $f = 100 \text{ s}^{-1}$  e  $a = 50 \text{ mV}$ , grafada com ponto médio e barras de erro para medidas em triplicata



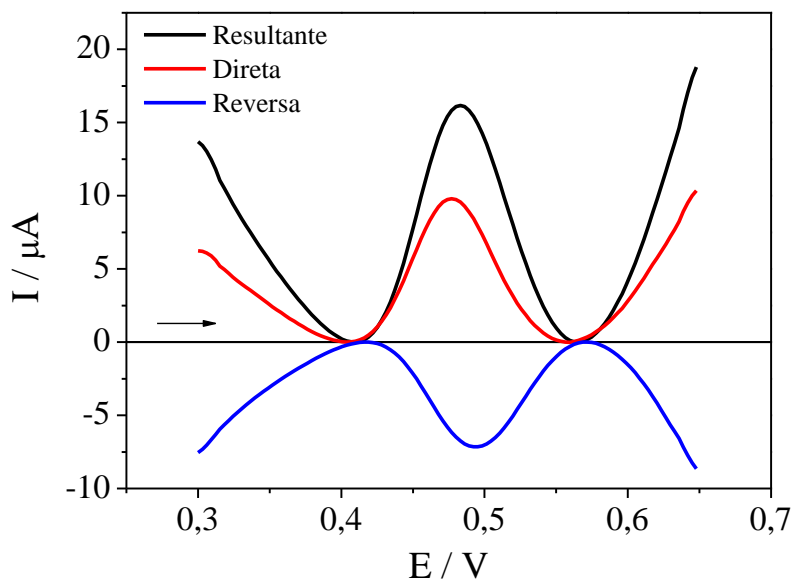
Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.6 Componentes de corrente da VOQ e avaliação das respostas de VOQ dos diferentes eletrodos modificados sob as condições otimizadas

A Figura 25 apresenta as componentes de corrente resultante, direta e reversa da voltametria de onda quadrada para AAF sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com  $f = 50 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 40 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ .

Nesse estudo é possível observar a presença dos processos de oxidação (componente direta) e de redução (componente reversa) para AAF. Nos experimentos de VOQ são aplicados pulsos de potencial, nos sentidos direto e reverso na mesma varredura, independentemente da sua direção e, assim, é possível mensurar as correntes faradáicas de redução e de oxidação. A corrente resultante é obtida a partir da diferença entre as correntes direta e reversa. Como os valores da  $I_p$  direta e da  $I_p$  reversa são próximos ( $I_{p,direta}/I_{p,reversa} = 1,3$ ), em módulo, o processo pode ser caracterizado como quase-reversível (MIRCESKI; KOMORSKY-LOVRIC; LOVRIC, 2007; SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Figura 25 – Componentes de corrente resultante, direta e reversa da voltametria de onda quadrada para AAF  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com  $f = 50 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 40 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$

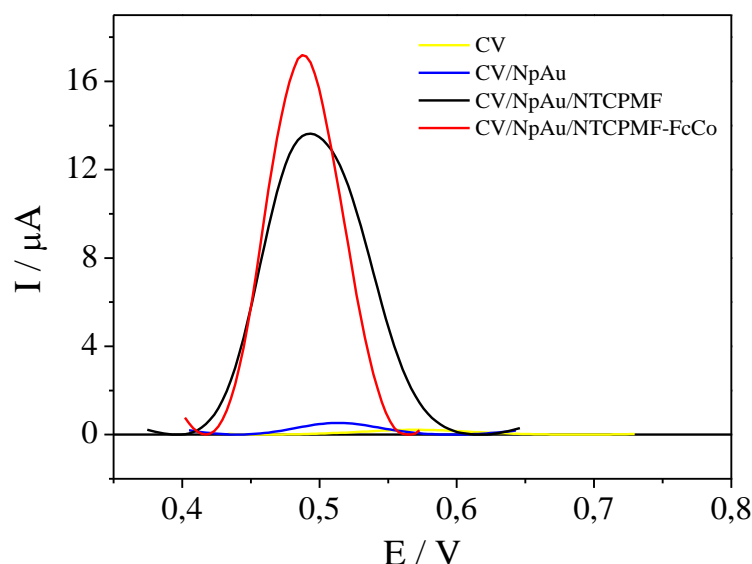


Fonte: Elaborada pelo autor.

A Figura 26 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para AAF sobre os diferentes eletrodos modificados estudados anteriormente. Os ensaios foram realizados com o objetivo de comprovar que a configuração de eletrodo escolhido é a que apresenta as maiores intensidade de corrente frente às condições otimizadas.

A configuração CV/NpAu/NTCPMF-FcCo foi a que apresentou maior valor de corrente além de uma menor  $\Delta E_{1/2}$ , evidenciando a maior sensibilidade e seletividade desta modificação em relação às demais que também foram analisadas.

Figura 26 – Voltamogramas de onda quadrada em solução de AAF  $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  sobre os diferentes eletrodos modificados, em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com  $f = 50 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 40 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$



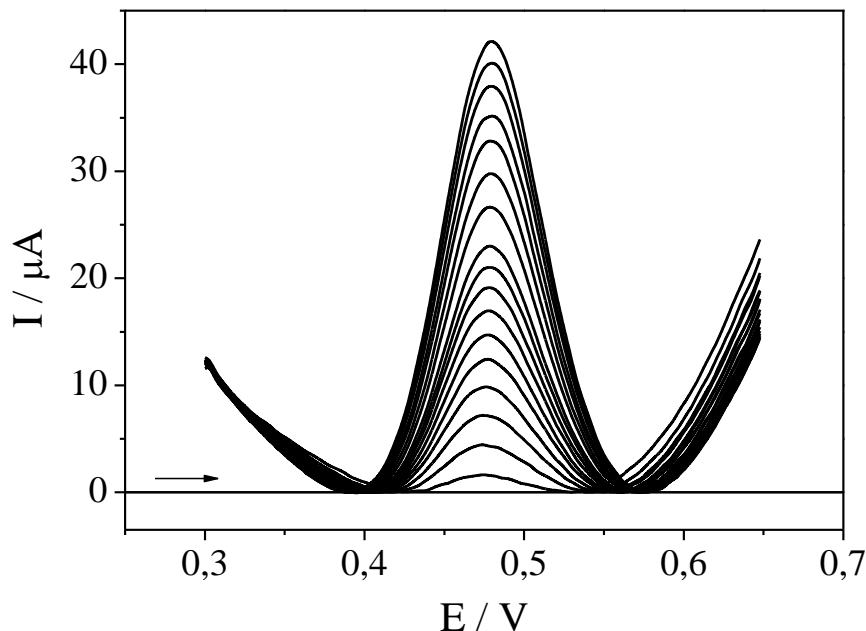
Fonte: Elaborada pelo autor.

#### 4.7 Curva analítica e figuras de mérito

As curvas analíticas foram construídas sob as condições otimizadas anteriormente. A Figura 27 apresenta os voltamogramas de onda quadrada para as adições de diferentes concentrações de AAF, sobre eletrodo de CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com os valores de  $f = 50 \text{ s}^{-1}$ ,  $a = 40 \text{ mV}$  e  $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$ .

As medidas para a construção da curva analítica foram realizadas com concentrações entre  $1,49 \times 10^{-6}$  a  $1,07 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de AAF e não foi observado deslocamento do potencial de pico durante as adições dos volumes de padrão de AAF. A Figura 28 apresenta a curva analítica para AAF, construída com os valores de corrente de pico obtidos por VOQ sobre superfície de CV/NpAu/NTCPMF-FcCo, realizada em triplicata, e grafada com o ponto médio e barras de erro.

Figura 27 - Voltamogramas de onda quadrada para AAF em concentrações na faixa de  $1,49 \times 10^{-6}$  a  $1,07 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com  $f = 50$  s<sup>-1</sup>,  $a = 40$  mV e  $\Delta E_s = 3$  mV



Fonte: Elaborada pelo autor.

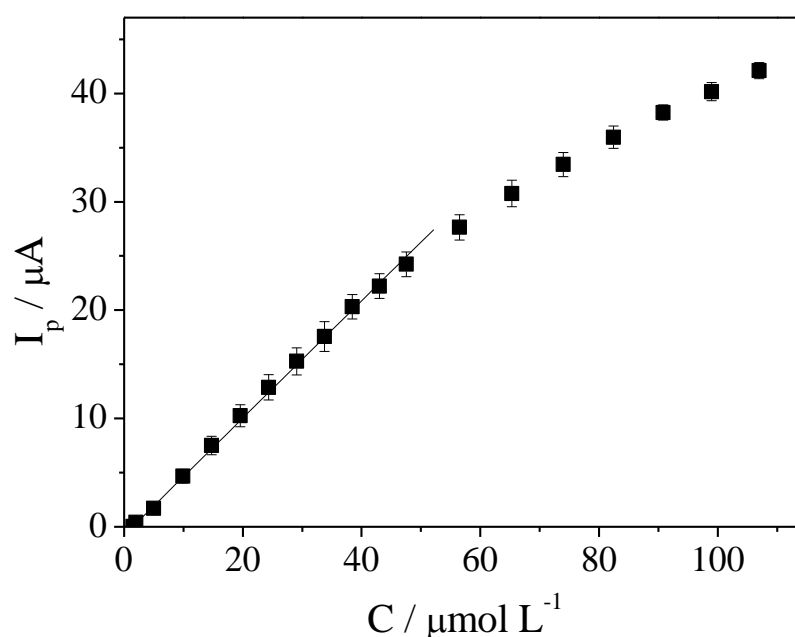
A curva analítica apresentou duas regiões de linearidade, uma de maior sensibilidade, com concentrações entre  $1,49 \times 10^{-6}$  a  $4,76 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>; e outra de menor sensibilidade com concentrações entre  $4,76 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> e  $1,07 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Para obtenção das figuras de mérito, foi considerada apenas a região linear de maior sensibilidade. A equação da reta para a curva analítica foi:  $I_p = -7,742 \times 10^{-7} \pm 2,43 \times 10^{-8} + 0,541 \pm 0,013$  [AAF] com coeficiente de correlação  $r = 0,9993$ .

O coeficiente linear da curva analítica apresentou valor negativo quando o valor ideal deveria ser zero, já que o sinal esperado quando a concentração do analito tende à zero seria uma corrente nula. O teste  $t$  correlaciona, dentro de certo limite de confiança, um valor real com valores obtidos experimentalmente. O valor de  $t$  pode ser calculado de acordo a Equação 8 (MILLER; MILLER, 2010):

$$t = \frac{(\bar{x} - \mu) \sqrt{n}}{S_a} \quad (8)$$

em que  $\bar{x}$  é a média dos valores de coeficiente linear obtidos,  $\mu$  é o valor considerado ideal,  $n$  é o número de experimentos e  $S_a$  é o desvio padrão do intercepto da curva analítica. O valor de  $t_{\text{calculado}}$  igual a 2,29, foi menor que  $t_{\text{crítico}}$ , que é 4,30 para  $n = 3$  e 95% de confiança, e o intercepto é estatisticamente igual a zero (MILLER; MILLER, 2010).

Figura 28 – Curva analítica para AAF construída com os valores de corrente de pico da VOQ e de concentração de AAF entre  $1,49 \times 10^{-6}$  e  $1,07 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> sobre CV/NpAu/NTCPMF-FcCo em meio de tampão McIlvaine pH 5,0, com  $f = 50$  s<sup>-1</sup>,  $a = 40$  mV e  $\Delta E_s = 3$  mV



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os valores de limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados pelo desvio padrão do intercepto ( $S_a$ ), de acordo com as Equações 9 e 10, respectivamente (GUIDELINE, 2005; SHABIR, 2003). Os valores de desvio padrão relativo (DPR) para a repetibilidade (repê) e reprodutibilidade (reprô), utilizados para avaliar a precisão do procedimento, ficaram abaixo de 5%. A repetibilidade e a reprodutibilidade foram calculadas de acordo com a Equação 11:

$$LD = 3 \times \frac{S_a}{s} \quad (9)$$

$$LQ = 10 \times \frac{S_a}{s} \quad (10)$$

$$\%DPR = \frac{S_{Ip}}{\bar{I}_p} \quad (11)$$

em que  $S_{Ip}$  representa o desvio padrão das correntes de pico e  $\bar{I}_p$  é a média aritmética das correntes de pico.

Os resultados foram comparados com os obtidos por UV-Vis, recomendado pela Farmacopeia Brasileira para a determinação de AAF (BRASIL, 2010). A Tabela 4 apresenta as figuras de mérito obtidas por VOQ e também por UV-Vis.

Tabela 4 – Parâmetros obtidos a partir das curvas analíticas para AAF por VOQ e por UV-Vis, com coeficientes de correlação (R), intervalo de confiança do intercepto ( $IC_a$ ), intervalo de confiança da inclinação ( $IC_b$ ) desvio padrão do intercepto ( $S_a$ ), limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), repetibilidade (repê) e reprodutibilidade (reprô)

	VOQ	UV-Vis $\lambda=257$ nm
Faixa linear (mol L <sup>-1</sup> )	$1,49 \times 10^{-6}$ a $4,76 \times 10^{-5}$	$1,45 \times 10^{-5}$ a $9,30 \times 10^{-5}$
Equação da curva	$I_p = -7,74 \times 10^{-7} + 0,54 [AAF]$	$A_{bs} = -5,70 \times 10^{-3} + 9947,46 [AAF]$
r	0,9993	0,9999
$IC_a$	$\pm 6,01 \times 10^{-8} A$	$\pm 6,60 \times 10^{-3}$
$IC_b$	$\pm 0,065 A / \text{mol L}^{-1}$	$\pm 249,5 \text{ L/mol}^{-1}$
$S_a$	$2,42 \times 10^{-8} A$	$2,66 \times 10^{-3}$
LD (mol L <sup>-1</sup> )	$1,35 \times 10^{-7}$ (20,40 mg L <sup>-1</sup> )	$8,02 \times 10^{-7}$ (121,23 mg L <sup>-1</sup> )
LQ (mol L <sup>-1</sup> )	$4,50 \times 10^{-7}$ (68,02 mg L <sup>-1</sup> )	$2,67 \times 10^{-6}$ (403,60 mg L <sup>-1</sup> )
DPR (repê)	4,56 % (n = 10)	1,86 % (n = 10)
DPR (reprô)	2,38 % (n = 7)	1,37 % (n = 7)

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para avaliar os resultados obtidos, a Tabela 5 apresenta dados de trabalhos publicados, que também tiveram como objetivo a detecção de AAF utilizando técnicas eletroanalíticas.

Tabela 5 – Resultados publicados na literatura para algumas metodologias eletroanalíticas empregadas na detecção de AAF e seus respectivos autores

<b>Ref.</b>	<b>Eletrodo</b>	<b>Faixa Linear (mol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LD (mol L<sup>-1</sup>)</b>
(ZHENG et al., 2013)	CV/GR-QTS	$1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-7}$
(BABAEI et al., 2015)	CV/NTCPM-NpNiOH-MCM41	$2,0 \times 10^{-7}$ a $2,0 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-7}$
(ZHANG et al., 2015)	CV/NfAu	$3,0 \times 10^{-6}$ a $3,2 \times 10^{-4}$	$2,3 \times 10^{-7}$
(WANG; XIE; HU, 2007)	CV/NpMNi-C	$7,8 \times 10^{-6}$ a $1,1 \times 10^{-4}$	$6,0 \times 10^{-7}$
(TAEI et al., 2015)	CV/NCF <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -SnO <sub>2</sub>	$4,5 \times 10^{-6}$ a $8,76 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-7}$
Este trabalho	CV/NpAu/NTCPMF-FcCo	$1,49 \times 10^{-6}$ a $4,76 \times 10^{-5}$	$1,35 \times 10^{-7}$

Fonte: Elaborada pelo autor.

Comparando-se com outras metodologias eletroanalíticas de detecção de AAF – que utilizam eletrodos de carbono vítreo modificados com diferentes tipos de materiais – encontradas na literatura, a metodologia proposta neste trabalho obteve resultados melhores ou semelhantes em termos de LD e de faixa linear da curva analítica.

#### **4.8 Determinação de acetaminofeno em amostras de comprimidos, solução oral e suspensão oral**

Ensaio de recuperação de AAF formulações comerciais foram realizados por VOQ e por UV-Vis, a fim de comparar o método eletroanalítico desenvolvido com o método indicado pela Farmacopeia Brasileira para a detecção e quantificação de AAF. Os resultados estão apresentados nas Tabelas 6 e 7.

Os valores de recuperação foram satisfatórios - mesmo o valor do ensaio de recuperação para Tylenol® Criança por VOQ que foi de 75,76%, provavelmente por causa do efeito matriz, já que se trata de uma suspensão, sendo uma matriz mais complexa do que as demais formulações - de acordo com as regulamentações para procedimentos analíticos (entre 70 a 130 %) (GUIDELINE, 2005), e as diferentes matrizes analisadas não prejudicaram o emprego do método proposto para a detecção de AAF. O teste F, que é aplicado para verificar

se há diferença significativa entre os resultados obtidos por duas metodologias, foi empregado e os valores de  $F_{\text{calculado}}$  para as recuperações das diferentes amostras contendo AAF variaram de 1,33 a 12,28, estando sempre abaixo do valor de  $F_{\text{crítico}}$ , que é 19,00, para dois graus de liberdade, a 95% de confiança. Portanto, não existem diferenças significativas entre as variâncias dos dois métodos (MILLER; MILLER, 2010).

Tabela 6 – Determinação de AAF empregando VOQ em diferentes formulações comerciais

	<b>Tylenol® 500</b>	<b>Tylenol® DC</b>	<b>Tylenol® Gotas</b>	<b>Tylenol® Criança</b>
Dosagem nominal	500 mg / comprimido	500 mg / comprimido	200 mg mL <sup>-1</sup>	32 mg mL <sup>-1</sup>
[AAF] <sub>adicionada</sub> / mol L <sup>-1</sup>	$5,23 \times 10^{-6}$	$4,95 \times 10^{-6}$	$5,26 \times 10^{-6}$	$5,06 \times 10^{-6}$
[AAF] <sub>encontrada</sub> / mol L <sup>-1</sup>	$5,30 \times 10^{-6}$	$4,45 \times 10^{-6}$	$5,19 \times 10^{-6}$	$3,83 \times 10^{-6}$
Intervalo de confiança	$\pm 2,29 \times 10^{-7}$	$\pm 1,14 \times 10^{-7}$	$\pm 1,45 \times 10^{-7}$	$\pm 1,78 \times 10^{-7}$
Recuperação (%)	101,34	89,91	98,61	75,76
DPR (%)	3,77	2,52	2,50	5,43

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 7 – Determinação de AAF empregando UV-Vis em diferentes formulações comerciais

	<b>Tylenol® 500</b>	<b>Tylenol® DC</b>	<b>Tylenol® Gotas</b>	<b>Tylenol® Criança</b>
Dosagem nominal	500 mg / comprimido	500 mg / comprimido	200 mg mL <sup>-1</sup>	32 mg mL <sup>-1</sup>
[AAF] <sub>adicionada</sub> / mol L <sup>-1</sup>	$1,55 \times 10^{-5}$	$1,47 \times 10^{-5}$	$1,56 \times 10^{-5}$	$1,50 \times 10^{-5}$
[AAF] <sub>encontrada</sub> / mol L <sup>-1</sup>	$1,61 \times 10^{-5}$	$1,43 \times 10^{-5}$	$1,56 \times 10^{-5}$	$1,37 \times 10^{-5}$
Intervalo de confiança	$\pm 1,98 \times 10^{-7}$	$\pm 3,19 \times 10^{-7}$	$\pm 9,46 \times 10^{-7}$	$\pm 2,76 \times 10^{-7}$
Recuperação (%)	103,76	97,59	100,09	91,38
DPR (%)	1,05	2,02	5,36	1,95

Fonte: Elaborada pelo autor.



## 5 CONCLUSÕES

O eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro, nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados e ftalocianinas de cobalto (II) apresentou bons resultados em comparação com outras superfícies estudadas neste trabalho e também quando comparado com os outros diferentes materiais utilizados na construção de sensores encontrados na literatura. O uso de NpAu, NTCPMF e FcCo melhora a resposta eletroquímica devido à combinação das suas principais propriedades. A reação de oxidação do AAF é um processo dependente do pH, com a participação de dois prótons e dois elétrons e foi classificado como um processo quase-reversível de acordo com os critérios de diagnóstico da VOQ, em que a reação de eletrodo ocorre com adsorção de reagente. Também foi possível calcular o valor da constante de transferência de carga ( $k_s$ ), que foi igual a  $59,0 \pm 2,5 \text{ s}^{-1}$ . Os resultados mostraram que o uso da VOQ proporcionou uma boa correlação linear entre a corrente de pico e concentração de AAF em duas faixas de concentrações, de  $1,49 \times 10^{-6}$  a  $4,76 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e de  $4,76 \times 10^{-5}$  a  $1,07 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em condições otimizadas. O sensor eletroquímico foi construído com sucesso e apresentou resposta analítica com elevada sensibilidade, além de exatidão e precisão. O êxito no desenvolvimento do procedimento analítico proposto neste trabalho pode ser verificado pela comparação dos resultados obtidos pela metodologia eletroanalítica com a metodologia indicada pela Farmacopeia Brasileira para detecção de AAF, que é a espectrofotometria UV-Vis. A comparação entre os resultados apresentou vantagens para metodologia eletroanalítica, como menores limites de detecção e de quantificação e faixa linear em concentrações mais baixas. Demais resultados apresentaram-se estatisticamente iguais para ambos os métodos. A aplicação em formulações farmacêuticas não exigiu nenhuma etapa complexa de preparação das amostras antes das análises, sugerindo que o método desenvolvido é bastante eficaz para aplicações práticas.

## REFERÊNCIAS

- AFKHAMI, A. et al. Facile simultaneous electrochemical determination of codeine and acetaminophen in pharmaceutical samples and biological fluids by graphene–CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite modified carbon paste electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 203, p. 909–918, 2014.
- ALKIRE, R. C. et al. **Chemically modified electrodes**. John Wiley & Sons, 2009.
- AL-ZOUBI, N.; KOUNDOURELLIS, J. E.; MALAMATARIS, S. FT-IR and Raman spectroscopic methods for identification and quantitation of orthorhombic and monoclinic paracetamol in powder mixes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, p. 459–467, 2002.
- AMIRI, M.; REZAPOUR, F.; BEZAATPOUR, A. Hydrophilic carbon nanoparticulates at the surface of carbon paste electrode improve determination of paracetamol, phenylephrine and dextromethorphan. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 735, p. 10–18, 2014.
- ANICETO, C.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação espectrofotométrica por injeção em fluxo de paracetamol (acetaminofeno) em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v. 25, p. 387–391, 2002.
- APETREI, I. M. et al. Enzyme sensor based on carbon nanotubes/cobalt(II) phthalocyanine and tyrosinase used in pharmaceutical analysis. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 177, p. 138–144, 2013.
- BABAEI, A. et al. A sensitive determination of acetaminophen in pharmaceutical preparations and biological samples using multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p. 344–351, 2011.
- BABAEI, A. et al. A sensitive simultaneous determination of dopamine, acetaminophen and indomethacin on a glassy carbon electrode coated with a new composite of MCM-41 molecular sieve/nickel hydroxide nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 740, p. 28–36, 2015.
- BATRA, B.; PUNDIR, C. S. An amperometric glutamate biosensor based on immobilization of glutamate oxidase onto carboxylated multiwalled carbon nanotubes/gold nanoparticles/chitosan composite film modified Au electrode. **Biosensors & bioelectronics**, v. 47, p. 496–501, 2013.
- BEIGINEJAD, H. et al. Thermodynamic study of the electrochemical oxidation of some aminophenol derivatives: Experimental and theoretical investigation. **Electrochimica Acta**, v. 154, p. 235–243, 2015.
- BEIGINEJAD, H.; NEMATOLLAHI, D.; VARMAGHANI, F. Electrochemical Oxidation of Some Aminophenols in Various pHs. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 160, p. H41–H46, 2013.

BEITOLLAHI, H. et al. Electrochemical behavior of a carbon paste electrode modified with 5-amino-3',4'-dimethyl-biphenyl-2-ol/carbon nanotube and its application for simultaneous determination of isoproterenol, acetaminophen and N-acetylcysteine. **Electrochimica Acta**, v. 68, p. 220–226, 2012.

BRASIL. **Paracetamol - Medicamento Anvisa**. Disponível em:

<[www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/pdf/bula\\_nova.pdf](http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/pdf/bula_nova.pdf)>. Acesso em: 21 jan. 2016.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010. v. 2

BRITTON, H. T. S.; ROBINSON, R. A. Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal. **Journal of the Chemical Society**, v. 458, p. 1456–1462, 1931.

BROWN, D. H.; SMITH, W. E. The chemistry of the gold drugs used in the treatment of rheumatoid arthritis. **Chem. Soc. Rev.**, v. 9, p. 217–240, 1980.

BURGOT, G.; AUFFRET, F.; BURGOT, J. L. Determination of acetaminophen by thermometric titrimetry. **Analytica Chimica Acta**, v. 343, p. 125–128, 1997.

CANEVARI, T. C. et al. Sol-gel thin-film based mesoporous silica and carbon nanotubes for the determination of dopamine, uric acid and paracetamol in urine. **Talanta**, v. 116, p. 726–735, 2013.

CARVALHO, A. P. et al. Advanced Methods for the removal of acetaminophen from water. In: **Acetaminophen: properties, clinical uses and adverse effects**. New York: Nova Science, 2012. p. 57–105.

CERNAT, A. et al. Electrochemical sensors based on carbon nanomaterials for acetaminophen detection: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 886, p. 16–28, 2015.

CHEN, A.; SHAH, B. Electrochemical sensing and biosensing based on square wave voltammetry. **Anal. Methods**, v. 5, p. 2158–2173, 2013.

CHEN, N. et al. Determination of melamine in food contact materials using an electrode modified with gold nanoparticles and reduced graphene oxide. **Microchimica Acta**, v. 182, p. 1967–1975, 2015.

CHOU, A. et al. Demonstration of the importance of oxygenated species at the ends of carbon nanotubes for their favourable electrochemical properties. **Chemical Communications**, p. 842–844, 2005.

CHUN, L. J. et al. Acetaminophen Hepatotoxicity and Acute Liver Failure. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 43, p. 342–349, 2009.

D'SOUZA, O. J. et al. Platinum decorated multi-walled carbon nanotubes/Triton X-100 modified carbon paste electrode for the sensitive amperometric determination of Paracetamol. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 739, p. 49–57, 2015.

DANIEL, M. C.; ASTRUC, D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications Toward Biology, Catalysis, and

Nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 104, p. 293–346, 2004.

DE LA TORRE, G.; BLAU, W.; TORRES, T. A survey on the functionalization of single-walled nanotubes. The chemical attachment of phthalocyanine moieties. **Nanotechnology**, v. 14, p. 765, 2003.

DE OLIVEIRA, D. P. C. et al. Biossensor eletroquímico baseado na enzima tirosinase para a determinação de fenol em efluentes. **Química Nova**, v. 38, p. 924–931, 2015.

DEVASENATHIPATHY, R. et al. An Amperometric Biological Toxic Hydrazine Sensor Based on Multiwalled Carbon Nanotubes and Iron Tetrasulfonated Phthalocyanine Composite Modified Electrode. **Electroanalysis**, v. 27, p. 1403–1410, 2015a.

DEVASENATHIPATHY, R. et al. A sensitive and selective enzyme-free amperometric glucose biosensor using a composite from multi-walled carbon nanotubes and cobalt phthalocyanine. **RSC Adv.**, v. 5, p. 26762–26768, 2015b.

DEVASENATHIPATHY, R. et al. Determination of L-cysteine at Iron Tetrasulfonated Phthalocyanine Decorated Multiwalled Carbon Nanotubes Film Modified Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 10, p. 682–690, 2015c.

DUAN, L. et al. The Electrochemical Behavior of Acetaminophen on Multiwalled Carbon Nanotubes Modified Electrode and Its Analytical Application. **Analytical Letters**, v. 40, p. 2653–2663, 2007.

ENGIN, C. et al. Electroanalytical Investigation of Paracetamol on Glassy Carbon Electrode by Voltammetry. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 10, p. 1916–1926, 2015.

ENSAFI, A. A. et al. 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 and Actuators B: Chemical**, v. 155, p. 464–472, 2011.

FERNANDES, D. M. et al. MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@CNT-N as novel electrochemical nanosensor for determination of caffeine, acetaminophen and ascorbic acid. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 218, p. 128–136, 2015.

FRENS, G. Controlled nucleation for regulation of particle-size in monodisperse gold suspensions. **Nature - Physical Science**, v. 241, p. 20–22, 1973.

GOSSER JR., D. K. **Cyclic voltammetry: simulation and analysis of reaction mechanisms**. New York: VCH, 1993.

GOYAL, R. N.; GUPTA, V. K.; CHATTERJEE, S. Voltammetric biosensors for the determination of paracetamol at carbon nanotube modified pyrolytic graphite electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 149, p. 252–258, 2010.

GUALANDI, I. et al. Electrocatalytic oxidation of salicylic acid by a cobalt hydrotalcite-like

- compound modified Pt electrode. **Biosensors & bioelectronics**, v. 26, p. 3200–3206, 2011.
- GUIDELINE, I. C. H. H. T. Validation of analytical procedures: text and methodology. **Q2 (R1)**, v. 1, 2005.
- GUO, S.; WANG, E. Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles. **Analytica chimica acta**, v. 598, p. 181–92, 2007.
- HAIDER, S. et al. Swelling and electroresponsive characteristics of gelatin immobilized onto multi-walled carbon nanotubes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 124, p. 517–528, 2007.
- HAYAT, M. A. **Colloidal gold: principles, methods, and applications**. Elsevier, 2012.
- HYATT, A. D.; EATON, B. **Immuno-gold electron microscopy in virus diagnosis and research**. CRC Press, 1992.
- ISSA, Y. M.; HASSOUN, M. E. M.; ZAYED, A. G. Simultaneous determination of paracetamol, caffeine, domperidone, ergotamine tartrate, propyphenazone, and drotaverine hcl by high performance liquid chromatography. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 35, p. 2148–2161, 2012.
- JIANG, J. et al. Increased mitochondrial ROS formation by acetaminophen in human hepatic cells is associated with gene expression changes suggesting disruption of the mitochondrial electron transport chain. **Toxicology Letters**, v. 234, p. 139–150, 2015.
- JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol 500mg**. Disponível em: <<https://www.tylenol.com.br/produtos/tylenol-500-mg>>. Acesso em: 26 out. 2015.
- JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol Criança**. Disponível em: <<https://www.tylenol.com.br/produtos/tylenol-criancas>>. Acesso em: 26 out. 2015.
- JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol DC**. Disponível em: <<https://www.tylenol.com.br/produtos/tylenol-dc>>. Acesso em: 26 out. 2015.
- JOHNSON & JOHNSON DO BRASIL. Tylenol Gotas**. Disponível em: <<https://www.tylenol.com.br/produtos/tylenol-gotas>>. Acesso em: 26 out. 2015.
- JOHNSON, K. A.; PLUMB, R. Investigating the human metabolism of acetaminophen using UPLC and exact mass oa-TOF MS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 805–810, 2005.
- KALAMBATE, P. K. et al. Simultaneous voltammetric determination of paracetamol and domperidone based on a graphene/platinum nanoparticles/nafion composite modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 213, p. 285–294, 2015.
- KNOCHEN, M.; GIGLIO, J.; REIS, B. F. Flow-injection spectrophotometric determination of paracetamol in tablets and oral solutions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 33, p. 191–197, 2003.
- KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro:

Guanabara Dois, 1982.

LEI, Y. et al. Generation of multiwalled carbon nanotubes from iron-phthalocyanine polymer and their novel dielectric properties. **Chemical Physics Letters**, v. 496, p. 139–142, 2010.

LI, P. et al. Self-Assembly of Tetrakis (3-Trifluoromethylphenoxy) Phthalocyaninato Cobalt(II) on Multiwalled Carbon Nanotubes and Their Amperometric Sensing Application for Nitrite. **ACS Applied Material & Interfaces**, v. 5, p. 2255–2260, 2013.

LIU, G.-T. et al. One-step electrodeposition of graphene loaded nickel oxides nanoparticles for acetaminophen detection. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 56, p. 26–32, 2014.

LIU, M. et al. A double signal amplification platform for ultrasensitive and simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine, uric acid and acetaminophen based on a nanocomposite of ferrocene thiolate stabilized Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@Au nanoparticles with graphene sheet. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 48, p. 75–81, 2013.

LOVRIC, M.; JADRESKO, D. Theory of square-wave voltammetry of quasireversible electrode reactions using an inverse scan direction. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 948–951, 2010.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, p. 1318–1325, 2006.

LU, T.-L.; TSAI, Y.-C. Sensitive electrochemical determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations at multiwalled carbon nanotube-alumina-coated silica nanocomposite modified electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 153, p. 439–444, 2011.

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 and Actuators B: Chemical**, v. 193, p. 451–460, 2014.

MARTIN, J. et al. Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. **Journal of Separation Science**, v. 33, p. 1760–1766, 2010.

MATUSZEWSKI, B. K.; CONSTANZER, M. L.; CHAVEZ-ENG, C. M. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC–MS/MS. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 3019–3030, 2003.

MAZER, M.; PERRONE, J. Acetaminophen-induced nephrotoxicity: Pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Journal of Medical Toxicology**, v. 4, p. 2–6, 2008.

MERLI, D. et al. Electrochemistry of olanzapine and risperidone at carbon nanotubes modified gold electrode through classical and DFT approaches. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 683, p. 103–111, 2012.

- MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and chemometrics for analytical chemistry**. 6. ed. London: Prentice Hall/Pearson, 2010.
- MINER, D. J. et al. Voltammetry of acetaminophen and its metabolites. **Analytical Chemistry**, v. 53, p. 2258–2263, 1981.
- MIRCESKI, V. et al. Square-wave voltammetry of 5-fluorouracil. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 490, p. 37–47, 2000.
- MIRCESKI, V.; KOMORSKY-LOVRIC, S.; LOVRIC, M. **Square-Wave Voltammetry: Theory and Application**. Berlin: Springer, 2007.
- MORAES, F. C. et al. Direct electrochemical determination of carbaryl using a multi-walled carbon nanotube/cobalt phthalocyanine modified electrode. **Talanta**, v. 79, p. 1406–1411, 2009.
- MORAES, F. C. et al. Direct Electrochemical Determination of Glyphosate at Copper Phthalocyanine/Multiwalled Carbon Nanotube Film Electrodes. **Electroanalysis**, v. 22, p. 1586–1591, 2010.
- MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R. M. V. **Manual de soluções, reagentes e solventes**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007.
- OZOEMENA, K. I.; NKOSI, D.; PILLAY, J. Influence of solution pH on the electron transport of the self-assembled nanoarrays of single-walled carbon nanotube-cobalt tetra-aminophthalocyanine on gold electrodes: Electrocatalytic detection of epinephrine. **Electrochimica Acta**, v. 53, p. 2844–2851, 2008.
- PAGNOTTI, V. S.; CHUBATYI, N. D.; MCEWEN, C. N. Solvent Assisted Inlet Ionization: An Ultrasensitive New Liquid Introduction Ionization Method for Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 83, p. 3981–3985, 2011.
- PARK, B.-W.; YOON, D.-Y.; KIM, D.-S. Formation and modification of a binary self-assembled monolayer on a nano-structured gold electrode and its structural characterization by electrochemical impedance spectroscopy. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 661, p. 329–335, 2011.
- PILLAY, J.; OZOEMENA, K. I. Electrochemical properties of surface-confined films of single-walled carbon nanotubes functionalised with cobalt(II)tetra-aminophthalocyanine: Electrocatalysis of sulfhydryl degradation products of V-type nerve agents. **Electrochimica Acta**, v. 52, p. 3630–3640, 2007.
- RAMADOSS, A.; KIM, S. J. Facile preparation and electrochemical characterization of graphene/ZnO nanocomposite for supercapacitor applications. **Materials Chemistry and Physics**, v. 140, p. 405–411, 2013.
- RAWAL, R. et al. Development of an amperometric sulfite biosensor based on a gold nanoparticles/chitosan/multiwalled carbon nanotubes/polyaniline-modified gold electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 401, p. 2599–2608, 2011.

- RIBEIRO, F. W. P. et al. Analytical determination of nimesulide and ofloxacin in pharmaceutical preparations using square-wave voltammetry. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 69, p. 62–71, 2014.
- ROTE, A. R.; KUMBHOJE, P. A.; BHAMBAR, R. S. UV-visible spectrophotometric simultaneous estimation of paracetamol and nabumetone by AUC method in combined tablet dosage form. **Pharmaceutical Methods**, v. 3, p. 40–43, 2012.
- SANGHAVI, B. J.; SRIVASTAVA, A. K. Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 8638–8648, 2010.
- SANTOS, L. H. M. L. M. et al. Development of a simple analytical method for the simultaneous determination of paracetamol, paracetamol-glucuronide and p-aminophenol in river water. **Journal of chromatography B- Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 930, p. 75–81, 2013.
- SANZ, V. C. et al. Development of a tyrosinase biosensor based on gold nanoparticles-modified glassy carbon electrodes - Application to the measurement of a bioelectrochemical polyphenols index in wines. **Analytica Chimica Acta**, v. 528, p. 1–8, 2005.
- SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 987, p. 57–66, 2003.
- SHAHROKHIAN, S.; GHALKHANI, M.; AMINI, M. K. Application of carbon-paste electrode modified with iron phthalocyanine for voltammetric determination of epinephrine in the presence of ascorbic acid and uric acid. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 137, p. 669–675, 2009.
- SHI, M. et al. A multiwalled carbon nanotube/tetra-beta-isoheptyloxyphthalocyanine cobalt(II) composite with high dispersibility for electrochemical detection of ascorbic acid. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 2, p. 4876–4882, 2014.
- SILVA, J. F. et al. Glassy carbon electrodes modified with single walled carbon nanotubes and cobalt phthalocyanine and nickel tetrasulfonated phthalocyanine: Highly stable new hybrids with enhanced electrocatalytic performances. **Electrochemistry Communications**, v. 9, p. 1629–1634, 2007.
- SIRAJUDDIN et al. Simpler spectrophotometric assay of paracetamol in tablets and urine samples. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 68, p. 747–751, 2007.
- SISWANA, M. P.; OZOEMENA, K. I.; NYOKONG, T. Electrocatalysis of asulam on cobalt phthalocyanine modified multi-walled carbon nanotubes immobilized on a basal plane pyrolytic graphite electrode. **Electrochimica Acta**, v. 52, p. 114–122, 2006.
- SKOOG, D. A. et al. Fundamentos de Química Analítica. **Fundamentos de Química Analítica**, 8 ed., p. 374, 2005.



SOUZA, D. DE et al. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. **Quimica Novamica Nova**, v. 27, p. 790–797, 2004.

SOUZA, D. DE; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Quimica Nova**, v. 26, p. 81–89, 2003.

STOILJKOVIC, Z. Z. et al. Voltammetric and Square-Wave Anodic Stripping Determination of Amlodipine Besylate on Gold Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 7, p. 2288–2303, 2012.

SUN, X. et al. Aptasensor based on the synergistic contributions of chitosan-gold nanoparticles, graphene-gold nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes-cobalt phthalocyanine nanocomposites for kanamycin detection. **The Analyst**, v. 139, p. 299–308, 2014.

TAEI, M. et al. Simultaneous determination of epinephrine, acetaminophen, and tryptophan using Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(0.5)/SnO<sub>2</sub>(0.5) nanocomposite sensor. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 45, p. 185–195, 2015.

TAJIK, S.; TAHER, M. A.; BEITOLLAHI, H. Application of a new ferrocene-derivative modified-graphene paste electrode for simultaneous determination of isoproterenol, acetaminophen and theophylline. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 197, p. 228–236, 2014.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, p. 55–75, 1951.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Acetaminophen information**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/drugs/drugsafety/informationbydrugclass/ucm165107.htm>>. Acesso em: 10 mar. 2015.

USLU, B.; OZKAN, S. A. Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals. **Analytical Letters**, v. 40, p. 817–853, 2007.

VIDYADHARAN, A. K.; JAYAN, D.; NANCY, T. E. M. Ni<sub>0.1</sub>Co<sub>0.9</sub>Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-based electrochemical sensor for the detection of paracetamol. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 18, p. 2513–2519, 2014.

WAN, Y. et al. Significant improvement of styrene oxidation over zinc phthalocyanine supported on multi-walled carbon nanotubes. **Journal of Molecular Catalysis. A, Chemical**, v. 402, p. 29–36, 2015a.

WAN, Y. et al. Novel catalyst of zinc tetraamino-phthalocyanine supported by multi-walled carbon nanotubes with enhanced visible-light photocatalytic activity. **RSC Advances**, v. 5, p. 66286–66293, 2015b.

WANG, S.-F.; XIE, F.; HU, R.-F. Carbon-coated nickel magnetic nanoparticles modified electrodes as a sensor for determination of acetaminophen. **Sensors and Actuators B:**

**Chemical**, v. 123, n. 1, p. 495–500, 2007.

WANGFUENKANAGUL, N.; CHAILAPAKUL, O. Electrochemical analysis of acetaminophen using a boron-doped diamond thin film electrode applied to flow injection system. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, p. 841–847, 2002.

XI, L. L.; ZHANG, P. M.; ZHU, Y. Copper modified platinum electrode for amperometric detection of spectinomycin sulfate by anion-exchange chromatography. **Chinese Chemical Letters**, v. 20, p. 1245–1247, 2009.

XU, Z. et al. Nitrogen-doped carbon nanotubes synthesized by pyrolysis of nitrogen-rich metal phthalocyanine derivatives for oxygen reduction. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, p. 18230–18236, 2012.

YIN, H. et al. Amperometric biosensor based on tyrosinase immobilized onto multiwalled carbon nanotubes-cobalt phthalocyanine-silk fibroin film and its application to determine bisphenol A. **Analytica chimica acta**, v. 659, p. 144–50, 2010.

ZAGAL, J. H. et al. Carbon nanotubes and metalloporphyrins and metallophthalocyanines-based materials for electroanalysis. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, v. 16, p. 713–740, 2012.

ZHANG, K. et al. Fabrication of a Sensitive Impedance Biosensor of DNA Hybridization Based on Gold Nanoparticles Modified Gold Electrode. **Electroanalysis**, v. 20, p. 2127–2133, 2008a.

ZHANG, Q.-L. et al. A glassy carbon electrode modified with porous gold nanosheets for simultaneous determination of dopamine and acetaminophen. **Microchimica Acta**, v. 182, p. 589–595, 2015.

ZHANG, X. et al. **Electrochemical Sensors, Biosensors and their Biomedical Applications**. Elsevier, 2008b.

ZHANG, Y.; ZHANG, K.; MA, H. Electrochemical DNA Biosensors Based on Gold Nanoparticles / Cysteamine / Poly(glutamic acid) Modified Electrode. **American Journal of Biomedical Sciences**, v. 1, p. 115–125, 2009.

ZHENG, M. et al. Electrocatalytical oxidation and sensitive determination of acetaminophen on glassy carbon electrode modified with graphene–chitosan composite. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, p. 1514–1520, 2013.

ZIDAN, M. et al. Electrochemical Detection of Paracetamol Using Graphene Oxide - Modified Glassy Carbon Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 9, p. 7605–7613, 2014.

ZIEMONS, E. et al. Acetaminophen determination in low-dose pharmaceutical syrup by NIR spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, p. 510–516, 2010.

ZUO, X.; ZHANG, H.; LI, N. An electrochemical biosensor for determination of ascorbic acid by cobalt (II) phthalocyanine–multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 161, p. 1074–1079, 2012.