

Ricardo Alexandrino Guimarães de Oliveira

Desenvolvimento de eletrodos modificados com materiais nanoestruturados para
determinação de corantes de cabelo

Dissertação apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do Título de
Mestre em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Valnice Boldrin

Araraquara
2013

FICHA CATALOGRÁFICA

O48d Oliveira, Ricardo Alexandrino Guimarães de
Desenvolvimento de eletrodos modificados com
materiais nanoestruturados para determinação de corantes de cabelo /
Ricardo Alexandrino Guimarães de Oliveira. –
Araraquara : [s.n], 2013
82 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química
Orientador: Maria Valnice Boldrin Zanoni

1. Química analítica. 2. Corantes de cabelo.
3. Eletrodos modificados. 4. Marrom básico 17.
5. Verde ácido 25. I. Título.

DADOS CURRICULARES

1 DADOS PESSOAIS

Nome: Ricardo Alexandrino Guimarães de Oliveira

Nacionalidade: Brasileira

Nascimento: 26/08/1982 – Itabuna/BA – Brasil

Endereço Profissional: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

Instituto de Química de Araraquara.

Departamento de Química Analítica

Departamento de Química Analítica - Laboratório de Eletroanalítica

Rua Prof. Francisco Degni, 55

Bairro Quitandinha

Araraquara

CEP: 14800-900, SP – Brasil

Telefone: (16) 3301-9740

Endereço eletrônico: rilexx@bol.com.br

2 FORMAÇÃO ACADÊMICA

2007 – 2010

Graduação em Licenciatura em Química.

Universidade Estadual de Santa Cruz – Ilhéus/BA.

Título: **Concepção dos professores sobre a experimentação como agente facilitador da aprendizagem.**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Santana dos Santos

2011 – 2013

Mestrado em Química Analítica.

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP – Araraquara/SP.

Título: **Desenvolvimento de eletrodos com materiais nanoestruturados para determinação de corantes de cabelo**

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Valnice Boldrin Zanoni

3 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Artigo submetido

OLIVEIRA, R.A.G. de; BIANCHI, A. R.; SANTOS, D. P. dos; ZANONI, M. V. B. Development and application of an electroanalytical Sensor for Fast and Sensitive Detection of disperse dye in wastewater. **Coloration Technology**, 2012.

3.1 Trabalhos apresentados em congressos.

OLIVEIRA, R. A. G; ZANONI, M. V. B. ELETRODO DE CARBONO VÍTREO MODIFICADO COM CNT-DMF APLICADA EM DETECÇÃO ELETROQUÍMICA DO CORANTE DE CABELO VERDE ÁCIDO 25. I Escola Internacional de Corantes: Análise, Degradação e Toxicidade, Araraquara - SP, 21 de Setembro de 2012.

OLIVEIRA, R. A. G; ZANONI, M. V. B. Eletrodos nano estruturados de Ti/TiO₂ aplicados na redução eletroquímica de corantes de cabelo marrom básico 17 em meio aquoso. SIBAE – XX Congresso da sociedade Iberoamericana de Eletroquímica, Fortaleza - CE, de 25 a 30 de Março de 2012

OLIVEIRA, R. A. G.; TRINDADE, R. N, da; SANTOS, A.S. Uso de ferramentas interativas no ensino de química: Criação de um site sobre a Estação de Tratamento de Água de Ilhéus. 2010.

OLIVEIRA, R. A. G.; SANTOS, A.S. Desenvolvimento de um Eletrodo de Pasta de Carbono e Polypyrrole para estudo o eletroquímico do Cloxazolam por Voltametria Cíclica. 2010.

OLIVEIRA, R. A. G.; SANTOS, A.S. Desenvolvimento de um EPCM com Azul de metileno para estudo o eletroquímico da Cafeína. 2010.

OLIVEIRA, R. A. G.; SANTOS, A.S. Desenvolvimento de um Eletrodo de Pasta de Carbono e Polypyrrole para estudo o eletroquímico do Cloxazolam por Voltametria Cíclica. 2010.

OLIVEIRA, R. A. G.; TRINDADE, R. N, da; SANTOS, A.S. USO DE FERRAMENTAS INTERATIVAS NO ENSINO DE QUÍMICA: CRIAÇÃO DE UM SITE SOBRE A ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ÁGUA DE ILHÉUS. 2009.

3.2 Iniciação Científica

Título do projeto: Desenvolvimento de sensor eletroquímico para determinação da proteína ricina presente na torta da mamona (2010 – 2011)

Orientador: Antonio de Santana Santos

Bolsa: ICB – UESC

Título do projeto: Estudo do comportamento do DNA em superfície de eletrodo de pasta de carbono modificada com material nanoestruturado (2009 – 2010)

Orientador: Antonio de Santana Santos

Bolsa: FAPESB – BA

3.3 Atividade profissional

2007 – 2007 Universidade Para Todos, Enquadramento Funcional: professor/monitor

Carga horária: 12

Atuação como professor/monitor da disciplina de química.

2010 – 2010 Universidade Para Todos, Enquadramento Funcional: professor/monitor

Carga horária: 12

Atuação como professor/monitor da disciplina de química.

RICARDO ALEXANDRINO GUIMARÃES DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Química.

Araraquara, 01 de março de 2013.

BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Maria Valnice Boldrin (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara - SP



Profª Drª Maria Del Pilar Taboada Sotomayor
Instituto de Química – UNESP, Araraquara - SP



Prof. Dr. Mauro Bertotti
Instituto de Química – USP, São Paulo - SP

À meu Rei Sol Heitor Marley e meu
Pequeno Príncipe Diogo por toda a inspiração e força pra seguir em frente.
E à minha mãe Nancy e minha vó Ilza (in memoriam)
Por servirem de bons exemplos para mim.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- À Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades (acho que não te dei muito trabalho dessa vez), mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades;
- À minha vó, Ilza, por ter me ensinado tudo de bom que um homem digno precisa ser;
- À minha orientadora: PROF^a DR^a. MARIA VALNICE BOLDRIN por aceitar orientar aquele estranho que bateu à sua porta. Pela paciência (e foi preciso paciência!), me mostrar o caminho da ciência, por sua ajuda nos momentos mais críticos, por acreditar em mim e contribuir para o meu crescimento profissional;
- Aos amigos que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando, incentivando e me sacaneando (também), em especial Roberth Trindade e Henrique Koch;
- A todas as pessoas que conheci nesta jornada, e que fico feliz por serem tantas que não é possível citar aqui. Mas em especial para: Marcelão, Gota, Husky, Fossa, Sula, Buda e o Macaco;
- Aos meus colegas de laboratório por suportar-me e ajudar quando necessário, em especial à Daniela, por me ajudar a dar os primeiros passos no Laboratório;
- A todos os colegas e professores da pós-graduação em Química pelo convívio e aprendizado, em especial à todos aqueles que participaram da fatídica prévia da qualificação (acredito que nunca apanhei tanto numa prévia);
- Enfim aos moradores da República Xurupira's Farm (essa família é muito unida!): Baddum-tis, Barcos, Chucky, Jardes, Jatobá, Lima, Mister, Pelé, Sheila, e Tico, Oh! Galerinha bagunceira!!!
- Aos meus irmãos Lucas (por colocar o Diogo na minha vida) e Marcela (por trazer o Marley à minha vida) por terem sempre acreditado em todas as decisões que tomei;
- E enfim às peças fundamentais da família Guimarães, minhas tias Delinha, Nicinha e Evany, por me dar um lar para me abrigar e ouvidos para me escutar.

**"Eis que um dia o vendedor de
leite resolveu virar mestre".
(Ricardo Alexandrino)**

RESUMO

As tinturas de cabelo representam uma importante área da indústria cosmética e são usadas por 50% da população feminina mundial. Nos anos mais recentes houve uma crescente preocupação com as regulamentações do uso e do limite permitido para estes compostos devido a efeitos dermatológicos, mutagênicos e cancerígenos e associados ao seu uso. Como consequência as demandas por métodos analíticos confiáveis para o controle do nível estabelecido dos corantes em meio aquoso são extremamente importantes. Diante disso, o presente trabalho descreve a construção e caracterização de dois eletrodos desenvolvidos pela modificação com materiais nanoestruturados (TiO_2 e NTC). No caso dos eletrodos modificados com nanotubos de TiO_2 , estes foram crescidos sobre placas de Ti como substrato e sua aplicação na identificação e quantificação do corante de cabelo Marrom Básico 17 em águas de torneira usando a técnica de voltametria de varredura linear. Já os Nanotubos de Carbono de Parede Múltiplas foram usados na modificação de um eletrodo de carbono vítreo e aplicados na determinação do corante de cabelo Verde Ácido 25 em meio aquoso. Para o corante Marrom Básico 17, foi obtida uma curva analítica no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, seguindo a equação: $I_p \text{ (mA)} = 47,7 \text{ mA/mol L}^{-1} [\text{MB} - 17] - 2,8 \times 10^{-6} \text{ mA}$, $r = 0,9952$, $n=7$. O limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foi de $1,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $4,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O método foi aplicado em água de torneira contaminada fortificada com 12 mg L^{-1} do corante e submetida à análise usando o método de adição de padrão. A média de recuperação ($n=5$) foi $99,4 \pm 1,4\%$. Para o corante Verde Ácido 25 uma curva analítica foi construída usando voltametria de onda quadrada no intervalo de $1,0 \times 10^{-7}$ a $2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e pré-acúmulo de 10 min, seguindo a equação: $I_p = 42,7 \text{ } \mu\text{A/mol L}^{-1} [\text{VA} - 25] - 5,1 \times 10^{-6} \text{ } \mu\text{A}$, $r = 0,9998$, alcançando limites de detecção e quantificação de $2,7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $8,9 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O método foi aplicado em água de torneira fortificada com $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ do corante e submetida à análise usando o método de adição de padrão, obtendo uma de média de recuperação ($n=5$) de $97 \% \pm 3,5\%$.

Palavras Chaves: Corantes de Cabelo, Marrom Básico 17, Verde Ácido 25, Eletrodos Modificados, Nanotubos de TiO_2 , Nanotubos de Carbono.

ABSTRACT

The hair dyes represent an important area of the cosmetic industry and are used by 50% of the female population worldwide. In recent years there has been a growing concern with the use regulations and the permitted limit for these compounds due to dermatological effects, mutagenic and carcinogenic and associated with its use. As a result the demand for reliable analytical methods for the control of the level of dyes in aqueous media are extremely important. Thus, the present work describes the construction and characterization of two electrodes developed by modification with nanostructured materials (TiO_2 and CNT). In the case of electrodes modified with TiO_2 nanotubes, these were grown on plates as Ti substrate and its application in the identification and quantification of hair dye Basic Brown 17 in tap water using the technique of linear sweep voltammetry. Already the Multi Wall Carbon Nanotubes were used in the modification of a glassy carbon electrode and applied in determining the hair dye Acid Green 25 in aqueous medium. For Basic Brown 17 dye, an analytical curve was obtained over the concentration range 1.0×10^{-6} to 1.0×10^{-4} mol L^{-1} , the following equation: $I_p \text{ (mA)} = 47.7 \text{ mA / mol}^{-1} [\text{MB} - 17] - 2.8 \times 10^{-6} \text{ mA}$, $r = 0.9952$, $n = 7$. The limit of detection (LOD) and quantitation (LOQ) was 1.3×10^{-7} mol L^{-1} and 4.4×10^{-7} mol L^{-1} , respectively. The method was applied to contaminated tap water fortified with 12 mg L^{-1} dye and will undergo analysis using the method of standard addition. The mean recovery ($n = 5$) was $99.4 \pm 1.4\%$. For the dye Acid Green 25 a calibration curve was constructed using square wave voltammetry in the range 1.0×10^{-7} to 2.0×10^{-6} mol L^{-1} and pre-accumulation of 10 min following equation: $I_p = 42.7 \text{ } \mu\text{A/mol L}^{-1} [\text{VA} - 25] - 5.1 \times 10^{-6} \text{ } \mu\text{A}$, $r = 0.9998$, reaching limits of detection and quantification of 2.7×10^{-9} mol L^{-1} and 8.9×10^{-9} mol L^{-1} , respectively. The method was applied in tap water spiked with 0.25 mg L^{-1} of dye and subjected to analysis using the method of standard addition, obtaining an average recovery ($n = 5$) $97 \pm 3.5\%$.

Key Words: Hair Dyes, Basic Brown 17, Acid Green 25, Modified Electrodes, TiO_2 Nanotubes, Carbon Nanotubes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (A) Estrutura do folículo capilar sob a pele; (B) Estrutura da parte externa do fio de cabelo.....	23
Figura 2 - Estrutura básica do 2-nitro- 1,4-diaminobenzeno.....	25
Figura 3 - Estruturas dos intermediários primários p-toluenodiamina (PTD) e p-fenilenodiamina (PFD).	26
Figura 4 - Reação usando o intermediário primário PFD. Mecanismo de reação A na presença do acoplador (resorcinol) resultando no corante desejado. Mecanismo de reação B pode ocorrer na ausência de acoplador, resultando na formação da base de Bandrowski, um produto genotóxico (NOHYNEK et al., 2004).	26
Figura 5 - Diferentes estruturas formadas dos nanotubos de carbono: (a) Nanotubo de Carbono de Parede Simples; (b) Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas.....	34
Figura 6 - Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura dos diferentes eletrodos de Ti/TiO ₂ preparados.	44
Figura 7 - Gráfico de contorno demonstrando como os diâmetros (A) e o comprimento (B) dos nanotubos de TiO ₂ variam com a variação do potencial aplicado e o tempo de anodização.....	45
Figura 8 - Espectro de Raio – X dos eletrodos.....	46
Figura 9 - Visão esquemática do mecanismo de crescimento dos nanotubos de titânio. Esquema da célula de anodização da folha de Ti (A); formação da camada de óxido (B); a presença dos íons F ⁻ gerando as cavidades na camada de óxido (C) e o desenvolvimento dos nanotubos no substrato do Ti metálico (D).....	47
Figura 10 - Voltamograma cíclico correspondente à redução de 1,0x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de MB 17 em solução de tampão B-R (0,04 mol L ⁻¹) pH 2 sobre eletrodo de carbono vítreo. U= 80 mV s ⁻¹ . Ao lado estrutura do corante MB 17.	47
Figura 11 - Voltamogramas de varredura linear obtidos para redução de 1x10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ corante Marrom Básico 17, em solução de tampão B-R 0,04 mol L ⁻¹ pH = 6,0 sobre eletrodos de nanotubos de Ti/TiO ₂ preparados por anodização:	

(—) Branco, (—) E1, (—) E2, (—) E4 e (—) E3 e, calcinados sob T= 450 °C. $v= 60 \text{ mV s}^{-1}$.	48
Figura 12 - Gráfico Nyquist registrado dos diferentes eletrodos de TiO_2 (E_1 - E_4) em $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ [MB 17], $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de solução de tampão BR, pH = 6,0.	49
Figura 13 - Estudo de adsorção do corante Marrom Básico 17 sobre a superfície do eletrodo E_3 . $[\text{MB 17}] = 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0, $U= 60 \text{ mV s}^{-1}$.	50
Figura 14 - Efeito da lavagem com: Diclorometano, CV= 62,7%, Água deionizada, CV=37,7%, Hidróxido de Sódio, CV=26,7% e Acetona, CV=6,4%, na resposta do eletrodo de Ti/TiO_2 .	51
Figura 15 - Efeito da variação do pH sobre o potencial e corrente de pico catódica do corante MB 17, $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, obtidos de voltamogramas cíclicos, $v= 60 \text{ mV s}^{-1}$ em solução de tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$).	52
Figura 16 - Gráfico de corrente de pico vs raiz quadrada da velocidade de varredura.	53
Figura 17 - Voltamogramas de varredura linear registrados para a redução do corante MB 17 em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R, pH 6,0 em concentração de: (a) Branco; (b) $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (c) $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (d) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (e) $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (f) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17 e (g) $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17. Ao lado: curva analítica. $v= 60 \text{ mV s}^{-1}$, pH 6, tempo de acúmulo= 10 min.	54
Figura 18 - Estrutura dos corantes (A) Azul Básico 99 e (B) Amarelo Básico 57.	54
Figura 19 - Voltamogramas lineares registrados a partir de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ dos corantes: (a) Marrom básico 17; (b) Azul básico 99 e (c) Amarelo básico 57. Solução de tampão B-R, pH 6, $v = 60 \text{ mVs}^{-1}$.	55
Figura 20 - Voltamogramas de varredura linear obtidos para a determinação de MB 17 em amostra de água de torneira contaminada propositalmente com $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17 e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de AB 99 e AB 57 antes (A) e após (B - E) sucessivas adições do padrão MB 17 ($3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Parâmetros: pH 6,0, $v= 60 \text{ mV s}^{-1}$. Inserção: Curva analítica de adição do padrão.	56
Figura 21 - Estrutura química do corante Verde Ácido 25.	56
Figura 22 - Estudo do comportamento de corante VA 25 sobre o EMNTC: (A) o comportamento na redução do VA 25 sobre eletrodo de Carbono Vítreo e (B) a redução sobre o ECMN (A) branco e (B) na presença do AV 25. $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de VA 25, pH 4,0 - solução de tampão B-R ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$), $v= 60 \text{ mV s}^{-1}$.	57

- Figura 23** - Voltamogramas cíclicos correspondentes a: (A) EMNTC Ativado em solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 . Na presença de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$; (B) ECMN sem ativação na presença de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$; (C) ECMN Ativado em solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 na presença de eletrólito suporte; e (D) ECMN sem ativação na presença do eletrólito suporte. pH 4, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$ 59
- Figura 24** - Gráfico Nyquist registrado dos diferentes ECMN (ativado e não ativado) em $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de solução de tampão BR, pH = 4,0. 60
- Figura 25** - A) Voltamogramas cíclicos obtidos para redução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante sobre ECMN em diferentes tempos de acúmulo: (a) 0 min; (b) 1 min; (c) 2 min; (d) 4 min; (e) 8 min; (f) 16 min; (g) 32 min e (h) 48 min. Em solução de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$. B) Relação entre corrente de pico e tempo de adsorção do corante. 61
- Figura 26** - Efeito da lavagem com: acetona, CV= 12,5%, Água, CV=22% e Álcool, CV=6,5%, na resposta do eletrodo de EMNTC. 62
- Figura 27** - Influencia do pH na corrente de pico catódica (a) e potencial de pico de redução (b) de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em solução de tampão B-R ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$). $U = 40 \text{ mV s}^{-1}$, Tempo de acúmulo = 10 min. 63
- Figura 28** - Influência da velocidade de varredura sobre a função de corrente, obtida de voltamogramas cíclicos para o corante VA 25 $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em solução de tampão B-R, pH 4. 64
- Figura 29** - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em tampão B-R pH 6 em diferentes velocidades de varredura: (a) 10 mV s^{-1} ; (b) 20 mV s^{-1} ; (c) 40 mV s^{-1} ; (d) 60 mV s^{-1} ; (e) 80 mV s^{-1} e (f) 100 mV s^{-1} ; (B) Gráfico de corrente de pico vs raiz quadrada da velocidade de varredura. 65
- Figura 30** - Voltamogramas lineares registrados em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R para o aumento de concentração de VA 25 ($1,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Inserção: curva analítica da dependência do I_p em relação a [VA 25]. Parâmetros: pH 4,0, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$ 66
- Figura 31** - (A) Efeito da frequência e amplitude de pulso sobre a corrente obtida na redução de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em solução de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4, por voltametria de onda quadrada. (B) Influência da amplitude de pulso na técnica de voltametria de onda quadrada para determinação do corante VA 25 $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em solução de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão B-R ($f = 10 \text{ Hz}$). 67

- Figura 32** - Voltamogramas de onda quadrada em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R para o aumento de concentração de AV 25 ($1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Inserção: curva analítica da dependência do I_p em relação a [VA 25]. Parâmetros: pH 4, $f = 10 \text{ Hz}$ e $\Delta E = 60 \text{ mV}$ 68
- Figura 33** - Estrutura química dos corantes (A) Preto Ácido 1, (B) Azul Básico 99 e (C) Vermelho Ácido 33..... 69
- Figura 34** - Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante VA 25 (Curva A), AB 99 (Curva B), AV 33 (Curva C) e PA 1 (Curva D) em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R pH= 4,0. $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$. Eletrólito (Curva E). 70
- Figura 35** - Voltamogramas de onda quadrada em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R para o aumento de concentração de AV 25. Inserção: curva analítica da dependência do I_p em relação a [VA 25]. Parâmetros: pH 4,0, $f = 10 \text{ Hz}$ e $\Delta E = 60 \text{ mV}$ 71

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Efeito do potencial e tempo de anodização sobre a formação dos nanotubos de titânio..... 43
- Tabela 2** - Influência da velocidade de varredura sobre os potenciais de pico e correntes de pico do corante VA 25, $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, em solução de tampão B-R, pH 4,0 63

LISTA EQUAÇÃO QUÍMICA

Reação 1 - Processo de redução do corante MB 17, ocorrendo na presença de 2H^+ e 2e^- 52

Reação 2 - Processo de redução e oxidação do corante Verde Ácido 25. 58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB 57: Amarelo Básico 57

AB 99: Azul Básico 99

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AQ: Antraquinona

AU: Ácido Úrico

B-R: Britton-Robbinson

CTFA: The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association Inc.

CV: Carbono vítreo

CV: Coeficiente de Variação

DA: Dopamina

DMF: Dimetilformamida

D-PA: *D*-penicilamina

DP_c: Desvio padrão da curva analítica

DPV: Voltametria de Pulso Diferencial

DQV: Deposição Química em Fase de Vapor

DRX: Difractometria de Raio-X

ECV: Eletrodo de Carbono Vítreo

EIE: Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

ENTC: Eletrodo de carbono modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas

E_{pa}: Potencial de pico anódico

EPC: Eletrodo de Pasta de Carbono

E_{pc}: Potencial de pico catódico

EPNC: Eletrodo de Pasta de Nanotubos de Carbono

EQM: Eletrodo Quimicamente Modificado

f: Frequência

FDA: Food and Drugs administration

LC-CE: Cromatografia Líquida acoplada à Eletroforese Capilar

LD: Levedopa

LOD: Limite de Detecção

LOQ: Limite de Quantificação

MB 17: Marrom Básico 17

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

MEV-FEG: Microscopia de Varredura Eletrônica
MWNTs: Multiwall Carbon Nanotubes
NTC: Nanotubos de Carbono
OMIMPF₆: Hexafluorofosfato 1-octil-3-metilimidazólio
PFD: *p*-fenilenodiamina
PNTC: Pasta de Nanotubos de Carbono
PTD: *p*-toluenodiamina
QZ: Quinizarina
R_{ct}: resistência de transferência de carga
SCCNFP: Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products
SWNTs: Single –wall Nanotubes
Tir: Tiramina
Trp: Triptofano
VA 25: Verde Ácido 25
VC: Voltametria cíclica
VL: Voltametria Linear
VOQ: voltametria de onda quadrada
W_{1/2}: Largura da onda na meia altura do pico de corrente
Z_{im}: impedância imaginária
Z_{re}: impedância real
ΔE_p: Diferença entre potencial catódico e anódico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	Corantes de cabelo	22
1.1.1	A estrutura do cabelo.....	23
1.1.2	Classificação dos corantes de cabelo.....	24
1.1.3	Toxicidade dos corantes	27
1.1.4	Métodos analíticos de determinação dos corantes	29
1.2	Sensores eletroquímicos	30
1.2.1	Sensores baseados em TiO ₂	31
1.2.2	Sensores desenvolvidos a partir de Nanotubos de Carbono (NTC)	33
2.	OBJETIVOS	38
3.	PARTE EXPERIMENTAL	39
3.1	Instrumentação	39
3.2	Reagentes e soluções	39
3.3.	Construção dos eletrodos de nanotubos de Ti/TiO₂	39
3.3.1	Construção do Eletrodo de Carbono de Modificado (ECM) com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NCPM).	40
3.3.2	Determinação do Tempo de acúmulo dos corantes.....	40
3.3.3	Limpeza da superfície do eletrodo	41
3.3.4	Medidas de Impedância.....	41
3.3.5	Estudo do efeito de pH	41
3.3.6	Construção da Curva Analítica.....	41
3.3.7	Estudo de Recuperação	42
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	42

4.1.	Determinação do corante Marrom Básico 17 sobre eletrodo de Ti/TiO₂.....	43
4.1.1	Preparação e caracterização dos eletrodos de nanotubos de Ti/TiO ₂	43
4.1.2	Comportamento voltamétrico do corante Marrom Básico 17	47
4.1.3	Estudo de Espectroscopia Impedância Eletroquímica (EIE).....	48
4.1.4	Estudo de pré-concentração do corante Marrom Básico 17	49
4.1.5	Estudo de limpeza do material adsorvido na superfície do eletrodo de nanotubo de Ti/TiO ₂	50
4.1.6	Efeito do pH no comportamento do corante Marrom Básico 17	51
4.1.8	Curva Analítica.....	53
4.1.9	Interferência de outros corantes na detecção do corante MB 17.....	54
4.2	Estudo do comportamento eletroquímico do corante Verde Ácido 25	56
4.2.1	Estudo de Espectroscopia Impedância Eletroquímica (EIE).....	59
4.2.2	Estudo de pré-concentração do corante Verde Ácido 25	60
4.2.3	Estudo de limpeza da superfície do EMNTC	61
4.2.4	Efeito do pH na resposta do Verde Ácido 25	62
4.2.5	Curva analítica usando Voltametria Linear	66
4.2.6	Otimização dos parâmetros de Voltametria de Onda Quadrada	66
4.2.7	Curva Analítica.....	68
4.2.8	Estudo de interferentes	69
4.2.9	Aplicação do método.....	70
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
	REFERENCIAS	73

1 INTRODUÇÃO

1.1 Corantes de cabelo

A mudança na cor do cabelo tem desempenhado um papel importante e positivo no desejo inerente dos seres humanos de melhorar sua aparência. Desejo, esse, não restrito somente à sociedade moderna. O uso das tinturas capilares remonta, no mínimo, à 4000 anos. Existem diversas evidências históricas sobre a arte do tingimento de cabelo com corantes naturais, vegetais e minerais, desde os primórdios da civilização. Por exemplo: no Egito, foram encontrados cabelos de múmias tingidos com hena¹. Enquanto nos tempos do Império Romano, pentes de chumbo eram embebidos em vinagre e usados rotineiramente para escurecer os cabelos grisalhos, culminando no surgimento de várias receitas e livros sobre cosméticos. A partir do sec. XVII, inicia-se também as profissões relacionadas^{1,2}.

Em 1863 o químico Dr. August Wilhelm Von Hofmann relatou as propriedades do composto Para-fenilenodiamina (PFD) para tintura de cabelo, dando início ao desenvolvimento da indústria sintética de corantes para tintura de cabelo. Pouco tempo depois, em 1867, E. H. Thiellay e o cabeleireiro parisiense Leon Hugot, demonstraram as vantagens do uso do peróxido de hidrogênio no clareamento do cabelo em relação às soluções alcalinas usadas na época. A ampla repercussão econômica e eficiência permite seu uso como oxidante base de preparações para tintura de cabelo até nos dias de hoje³.

Entretanto, foi a partir de 1907, que Eugene Schueller, químico e fundador da L'Oreal, desenvolveu a primeira tintura sintética denominada "Aureole", dando início a comercialização da primeira marca comercial de tintura de cabelo⁴, cujo império é notável até os dias de hoje.

Em 1931, o fundador da Clairol, Lawrence M. Gelb, lançou o primeiro shampoo tonalizante instantâneo "Clairol", cujo uso atingiu milhões de mulheres. Em 1950, a Clairol melhorou estes produtos, levando à um tingimento mais eficiente sem a dureza e manuseio complicado de agentes oxidantes³.

Hoje, milhões de pessoas utilizam tinturas capilares, tornando esta uma importante área da indústria de cosméticos. Atualmente, mais de 50% das mulheres fazem uso de algum tipo de tintura de cabelo comercial. É conhecido que aproximadamente 33% das mulheres acima de 18 anos, e mais de 10% dos homens acima dos 40 anos nos EUA, colorem seus

cabelos⁵⁻⁷. No Brasil, um estudo do Target Group Index , mostrou que 26% da população adulta utiliza tintura para o cabelo, das quais 85 % são mulheres e 15 % dos homens².

1.1.1 A estrutura do cabelo

O cabelo é constituído de duas partes distintas: o bulbo capilar (raiz), sendo a parte biologicamente ativa do cabelo (onde o cabelo novo é formado), e o fio, como parte externa, sendo a parte inerte do cabelo cravado num folículo sob a pele (Fig. 1A)⁸. A parte externa pode ser dividida em três camadas: a cutícula, córtex e medula (Fig. 1B). A cutícula é constituída por células incolores bem embaladas, que se sobrepõem. O córtex contém quantidades variáveis de dois pigmentos de coloração natural, o qual determina a cor do cabelo de uma pessoa. Também é o responsável pelas propriedades físicas e mecânicas dos cabelos, relacionadas à sua resistência à tração e de textura. A medula é tipicamente um eixo oco no interior do cabelo⁴.

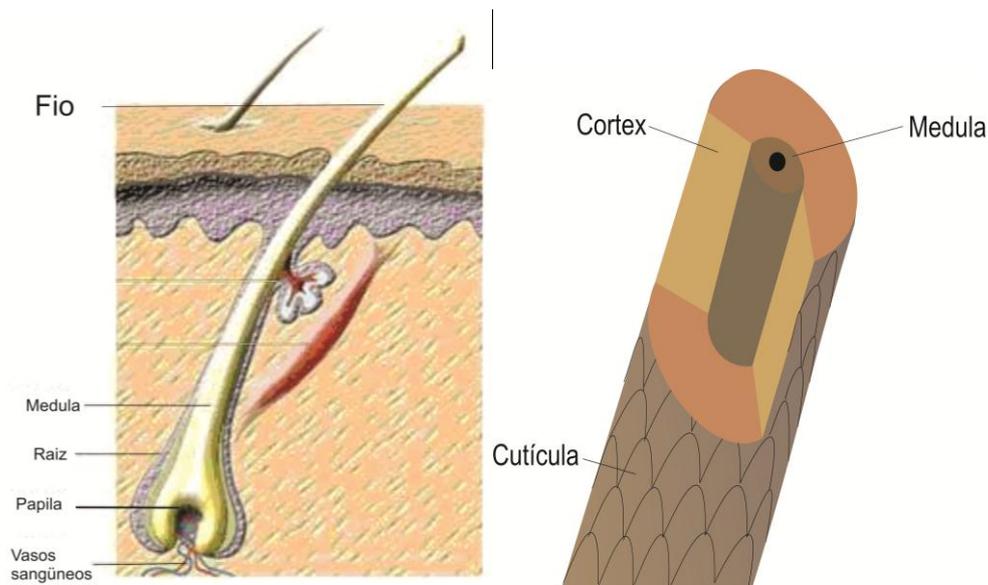


Figura 1. (A) Estrutura do folículo capilar sob a pele; (B) Estrutura da parte externa do fio de cabelo.

O cabelo humano é composto por aproximadamente 95% de proteínas, das quais a principal é a queratina. Como todas as proteínas, a queratina é formada por uma cadeia de aminoácidos (entre eles: glicina, arginina, cistina, cisteína, metionina, etc). Os componentes restantes são água, lipídios (estrutural e livre), pigmentos, e elementos traço que geralmente são combinados quimicamente através de cadeias laterais de grupos de proteínas ou com grupos de ácidos graxos de lipídios absorvidos ou vinculados⁸.

1.1.2 Classificação dos corantes de cabelo

De modo geral as tinturas de cabelo são classificadas em naturais e sintéticas. Sendo as naturais, geralmente hena e 2-hidroxi-1,4-naftoquinona extraídos das folhas de um arbusto Norte Africano (*Lawsonia inermis*) com crescente importância econômica^{1,9}.

Quanto aos sintéticos, estes, podem ser classificados de acordo com o tempo de fixação no cabelo: temporário, semi-permanente e permanente, e pelo mecanismo de reação com o fio de cabelo: corantes oxidativos (permanentes), corantes diretos (temporária ou semi-permanente), sais metálicos.

Dentro dessa classificação, os corantes temporários são utilizados por proporcionar uma mudança rápida na cor do cabelo. Podendo ser encontrados em diversas formas, como: xampus, sprays, loções, espumantes, etc. Os corantes temporários são solúveis em água, possuem caráter ácido e alto peso molecular. Possuem em sua estrutura molecular majoritariamente os grupos azo (Vermelho Ácido 33, Marrom Básico 17, Laranja Ácido 7 etc.), diazo (Preto Direto 51, Laranja Ácido 24, etc.), xantanes (D&C vermelho N° 22), trifenil metanos (FD, C Blue N° 1), nitro (Nitroaminofenóis), antraquinonas (D&C verde N° 5).

Esses corantes não são capazes de penetrar no córtex, ou se ligarem fortemente ao fio de cabelo, porém são adsorvidos na cutícula dos fios e podem ser removidos facilmente após lavagem¹⁰. Além disso, eles são menos tóxicos que as tinturas semipermanentes e permanentes^{4-6,9}.

Os corantes do tipo semi-permanente são responsáveis por apenas 10% do mercado⁴. A maioria destes produtos possui baixo e médio peso molecular, e são, basicamente de três tipos: nitro, básico e ácido, com propriedades semelhantes aos permanentes.

Os principais representantes destes corantes portam grupos nitro e aminas aromáticas, tais como: aminofenóis e éteres de aminofenóis, como mostrado na Fig. 2 para o corante 2-nitro-1,4-diaminobenzeno. Os grupos aminas são importantes na estrutura da molécula, pois confere estabilidade ao corante⁹.

A aplicação do corante sobre o fio de cabelo ocorre por interação polar fraca e interação de Van der Waals. Geralmente, são misturados de 10–12 corantes diferentes para obter a cor desejada. Não é possível clarear os fios de cabelo com corantes semipermanentes, já que eles não contém peróxido de hidrogênio, mas é possível escurecer mais de três tons a cor natural do cabelo⁴.

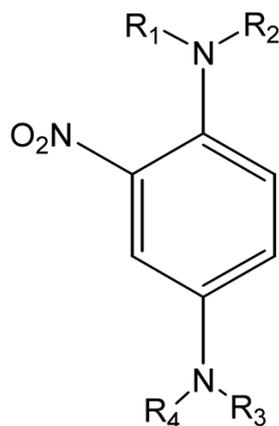


Figura 2. Estrutura básica do 2-nitro- 1,4-diaminobenzeno.

Estes corantes são utilizados por proporcionar uma mudança rápida na cor do cabelo. Podendo ser encontrados em diversas formas, como: xampus, sprays, loções, etc.

Também são utilizados corantes ácidos portadores do grupo $-\text{COOH}$ ou $-\text{SO}_3\text{H}$ em sua estrutura (Ex. Laranja ácido 7, Violeta ácido 43, Vermelho Básico 22, Azul Básico 47 etc.). Conferindo-lhe alta solubilidade. Os corantes semipermanentes geralmente duram de 4 a 7 semanas no fio de cabelos e são lixiviados periodicamente através da lavagem. Recentemente, o desempenho destes corantes tem sido melhorado com o uso de precursores de corantes oxidativo, que são referidos como dermipermanente^{5,9}.

Os corantes permanentes são os tipos de tinturas de cabelo mais usados, respondendo por 80% do mercado mundial^{1, 2, 5}. Estes corantes geralmente são formados por dois componentes, um corante precursor incolor e solução de agente oxidante, tal como peróxido de hidrogênio estabilizado por uréia ou perborato de sódio.

Dentre os reagentes os intermediários primários mais utilizados encontram-se o p-fenilenadamina (PFD) e p-toluenodiamina (PTD) (Fig. 3)^{1, 5}. A oxidação dessas substâncias e o acoplamento com outros modificadores permite a alteração da coloração final do produto. Os conteúdos dos intermediários primários nos corantes de cabelo estão na faixa de 0,05% (tons claros) a 1,5% (tons escuros)¹.

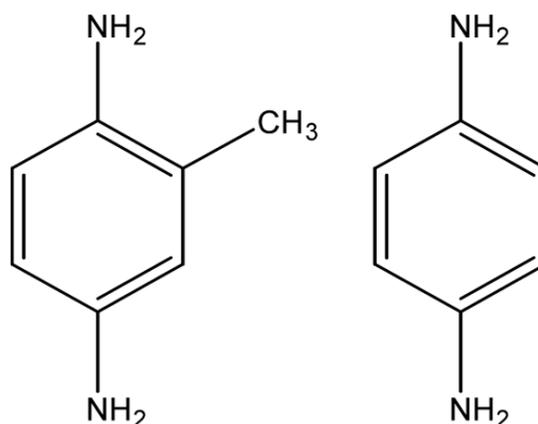


Figura 3. Estruturas dos intermediários primários p-toluenodiamina (PTD) e p-fenilenodiamina (PFD).

Os acopladores ou modificadores usados na tintura permanente engloba derivados aromáticos meta-substituídos tais como *m*-fenileno-diaminas, *m*-aminofenóis, resorcinol ou outros. Estes acopladores determinam o tom final da coloração após reação com a forma oxidada do intermediário primário, cujo exemplo de uma reação é mostrado no esquema da Fig. 4. Atualmente as tinturas permanentes são baseadas em diversos tipos de acopladores e intermediários primários presentes na razão molar de aproximadamente 1:1¹ e protegidas por patentes altamente sigilosas. A adição de porções diferentes destes compostos leva a mudança de substituintes amino ou hidroxil no anel benzênico do precursor ou acoplador e desempenha um papel crucial na natureza e intensidade da cor desenvolvida⁹.

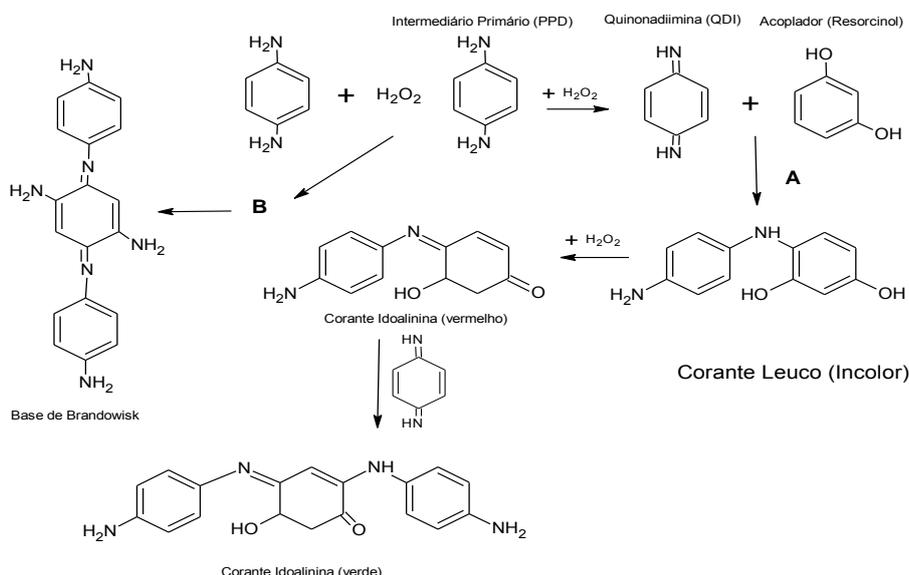


Figura 4. Reação usando o intermediário primário PFD. Mecanismo de reação A na presença do acoplador (resorcinol) resultando no corante desejado. Mecanismo de reação B pode ocorrer na ausência de acoplador, resultando na formação da base de Bandrowski, um produto genotóxico (NOHYNEK et al., 2004).

A Figura 4 ilustra a reação de um intermediário primário, p-fenilenodiamino (I), oxidado na presença de um acoplador resorcinol. O mecanismo (A) ocorre na presença de um agente oxidante (o peróxido de hidrogênio). Na primeira etapa tem-se a oxidação do intermediário primário que reage com o acoplador nucleofílico (resorcinol) pra formar o corante leuco (incolor). Este é convertido no corante idoanilina dentro do fio de cabelo. Na via B, pode ocorrer a reação de oxidação do precursor na ausência de um acoplador. Gerando como produto a base de Bandrowisk.

1.1.3 Toxicidade dos corantes

A ampla diversidade de corantes, precursores, acopladores, aditivos e etc. tornam o processo de tintura de cabelos bastante complexo. Deste modo, após um processo rotineiro de tintura, pode-se encontrar no efluente diferentes produtos químicos imprescindíveis para desenvolvimento da cor, persistência e estabilidade³, além de grande profusão de corantes com as mais diversas características.

A maioria dos estudos com foco nos riscos ao ambiente e à saúde humana por estes corantes, precursores e outros aditivos são baseados nos corantes permanentes, e estudos com p-fenilamina e aminofenóis. Esta preocupação é justificada pois sabe-se que algumas aminas aromáticas usadas na preparação, ou formadas por degradação parcial dos corantes usados, são substâncias biologicamente ativas e podem ser absorvidas percutaneamente^{1, 11}, podem ser tóxicas, mutagênicas ou carcinogênicas^{1, 12-14}. No entanto, a toxicidade de corantes de cabelo e alguns ingredientes usados na composição são pouco investigados. Alguns autores têm correlacionado alguns precursores tais como resorcinol, usado como ingrediente na formulação de corantes, como desreguladores que afetam a tireoide¹⁵. Outros estudos indicam que precursores usados em tinturas permanentes tais como, aminofenóis e p-fenilamina têm levantado preocupações para a saúde humana devido a riscos associados a alergias, dermatites e nefrotoxicidade¹⁶. Em 2006, a p-feniladiazina foi classificada pela Sociedade Americana de Alergia de contato como o “alérgeno de contato do ano”. Na Alemanha e França essa substância foi banida entre 1906 e 1980, e novamente liberada na Europa posteriormente, sendo um dos precursores mais utilizados nas tinturas permanentes. Hoje é conhecido que a exposição aguda à PFD pode causar graves tipos de dermatites, irritação nos olhos, asma, gastrite, insuficiência renal, vertigem, tremores, convulsões e coma em seres humanos¹⁷ e que por isso ela merece especial atenção. Também há vários autores que associam o uso da p-feniladiazina à incidência de câncer. No entanto, os estudos epidemiológicos que investigam

a associação entre exposição a corantes de cabelo e câncer de bexiga, levam a resultados ainda inconclusivos¹⁸.

Estudos indicam a associação entre uso de corantes de cabelo com o aumento do risco de câncer de bexiga em mulheres associadas ao uso de tinturas permanente de modo frequente e em longo prazo. Esses estudos detectaram a presença dos componentes de corantes capilares ou seus derivados na urina de usuários, indicando que os compostos cancerígenos, de fato, alcançam o órgão alvo⁷. Entretanto, um estudo caso-controle realizado em um hospital na Espanha (152 casos incidentes do sexo feminino, 166 controles do sexo feminino) não mostrou nenhuma tendência em risco com o aumento da exposição por tempo de uso, utilização média ou uso cumulativo¹⁹.

Rauscher e col.²⁰ realizaram um estudo envolvendo 769 adultos com leucemia aguda, no Canadá, mostrando que os corantes não-permanentes por longos períodos pode ter um grande impacto sobre o risco de leucemia aguda em adultos.

Um estudo mais completo foi realizado na Suécia envolvendo cabeleireiros do sexo feminino 38.866, e masculino 6.824, no período de 1960-1998, buscando investigar a relação entre corantes de cabelo e 28 tipos de câncer. Neste período foram registrados 1.043 casos de câncer em cabeleireiros do sexo masculinos. Observando-se o aumento dos riscos de cânceres do trato aerodigestivo superior, de pulmão e colorretal. Além disso, cabeleireiros masculinos, em 1960, tiveram um risco aumentado para câncer de bexiga. Já com relação às mulheres, um total de 2858 cânceres foram registrados, e um aumento do risco para os cânceres de pulmão, pâncreas e colo do útero e câncer de pele. O aumento do risco de câncer de pele afeta especificamente o couro cabeludo e pescoço, locais de contato para tinturas de cabelo²¹.

Zheng *et al*²² em um estudo de caso-controle não encontrou aumento do risco de câncer de mama associado com o uso exclusivo de produtos de coloração escura ou clara de cabelo, ou a utilização de tipos mistos ou cores de produtos de coloração capilar. Outro estudo de caso-controle realizado por Cook *et al* também mostrou a falta de associação entre o uso de produtos para colorir cabelo na influências sobre o risco de câncer de mama²³.

No caso de câncer hematopoiético, também não houve relação entre o uso prolongado de tinturas permanentes escuras e taxas de mortalidade por linfoma não-Hodgkin e mieloma múltiplo, então o aumento é pequeno e difícil de detectar de forma confiável, mesmo em grandes estudos prospectivos²⁴. A partir de entrevistas telefônicas, um estudo de caso-controle a partir de 385 casos de linfoma não-Hodgkin, 70 casos de doença de Hodgkin, 72 casos de mieloma múltiplo, 56 casos de leucemia linfocítica crônica, e 1.432 controles. Entre as mulheres, o uso estava associado com uma taxa de ocorrência de 1,5 para o linfoma não-

Hodgkin, 1,7 para a doença de Hodgkin, 1,8 para o mieloma múltiplo, e 1,0 para a leucemia linfocítica crônica. Risco foi maior para produtos de coloração permanente do cabelo do que para produtos semi-ou não-permanente, especialmente para cores escuras²⁵.

Foi investigada a relação entre tintura de cabelo e a síndrome mielodisplásica, em um estudo de caso-controle, no Japão. A razão de chances de ocorrência foi de 1,99 (intervalo de confiança de 95% (IC) 1,17-3,38) e não foram estatisticamente significativas em tendências de risco com aumento da duração e do número de uso tintura de cabelo²⁶.

Em virtude da alta diversidade de corantes de cabelos liberados para uso pessoal englobando diferentes classes de corantes e tecnologias, é extremamente relevante a pesquisa por desenvolvimento de métodos analíticos rápidos, econômicos e funcionais para a sua determinação em formulações farmacêuticas e matrizes de interesse biológico e ambiental. Deste modo, seria altamente relevante desenvolver processos analíticos para avaliação destes produtos como contaminantes em efluentes, resíduos de salões de beleza, esgoto doméstico e água superficiais.

1.1.4 Métodos analíticos de determinação dos corantes

Em virtude da importância econômica dos corantes de cabelo e alguns riscos oferecidos pelo uso de tinturas de cabelo aos usuários, estes produtos passaram a ser regulados por normas definidas pelas agências reguladoras (FDA, CTFA, SCCNFP, etc)⁵. No entanto, os métodos analíticos disponíveis são baseados em métodos cromatográficos pouco econômicos e altamente trabalhosos, envolvendo etapas de extração.

Wang e Tsai²⁷ relatam o desenvolvimento de um método baseado na cromatografia líquida com detecção eletroquímica para determinação da *p*-fenilenodiamina e dos derivados *N*, *N'*-*p*-fenilenebisacetamida, e 4-aminoacetanilida em urina e sangue humano e urina e fezes de coelho. A detecção eletroquímica consistiu de um eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho e eletrólito de suporte baseado em 20 % - de uma solução de metanol – 5 mmol L⁻¹ octil-amônia ortofosfato (pH 6,30) usado como fase móvel.

Scapia *et al.*⁶ reporta o desenvolvimento de um método de cromatografia líquida e com detecção por arranjo de diodo (450 – 650 nm) para determinação simultânea de nove corantes de cabelo temporários.

A determinação simultânea de sete aminofenóis, resorcinol e *p*-fenilenodiamina em produtos de coloração de cabelo por cromatografia líquida acoplada à detecção amperométrica é reportado por Narita *et al.*²⁸. Os autores alcançam limite de detecção para os aminofenóis ao

redor de 15-40 pg L⁻¹. Estudos realizados por Lizier e Zanoni²⁹ também descrevem um método cromatográfico acoplado a um detector eletroquímico, usando líquido iônico 1-butil-3-metilimidazólio *bis*-(trifluorometanosulfonil) imida BMIm para separação e quantificação de 6 aminas aromáticas presentes como contaminantes em corantes de cabelo.

Andrisano *et al*³⁰, desenvolveram um método para separação e identificação de *N*-hidroxialquil, nitrofenilenodiaminas e nitroaminofenóis utilizando cromatografia líquida com fase reversa e derivatização fotoquímica on-line pós-coluna. Wang e Huang³¹ reportam o uso da técnica de cromatografia líquida e cromatografia eletrocínética micelar (CECM) para separação e determinação de aminofenóis e fenilenodiamina, utilizando fase móvel contendo 1,5 x 10⁻² mol L⁻¹ de trietilamina em pH 8,0. A condição ideal de separação por CECM é definida pela utilização de cloreto de amônio 5,5 x 10⁻² mol L⁻¹ de cetiltrimetil em 5,0 x 10⁻² mol L⁻¹ de tampão de borato (pH 9,2) com a intensidade do campo eléctrico de -145 V cm⁻¹.

Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas também tem sido empregada na determinação de aminas e fenóis³². O método requer a extração de aminas aromáticas a partir de amostras aquosas com *bis*-2-etilhexilfosfato, seguido por derivatização.

Um método de eletroforese capilar (EC) para analisar cinco corantes básicos (vermelho básico 76, Basic Brown 16, Amarelo Básico 57, Basic Brown 17 e Basic Blue 99), foi desenvolvido por Masukawa³³ (2006). Sob condições otimizadas de ácido acético/acetato de amônio, contendo metanol. Os autores alcançaram limites de detecção da ordem de 0,7 – 4,5 µg mL⁻¹.

Deste modo, embora altamente versáteis e eficientes os métodos eletroquímicos são pouco explorados para determinação de corantes de cabelo. Deste modo, seria altamente pertinente o desenvolvimento de sensores eletroquímicos capazes de determinar corantes de cabelo em formulações comerciais e em baixos níveis de concentração em águas superficiais recebendo efluentes de salões de beleza.

1.2 Sensores eletroquímicos

A crescente demanda por dispositivos capazes de permitir a identificação e quantificação de analitos de forma rápida, específica, em baixas concentrações e em matrizes complexas, tem tornado o uso de eletrodos quimicamente modificados (EQM) uma forma atraente de desenvolver sensores eletroquímicos altamente versáteis^{34, 35}. As infinitas possibilidades de modificação de eletrodos permitem o desenvolvimento dos mais variados sensores para atender a demanda nas mais diversas áreas³⁶, como por exemplo, na saúde pública, onde sensores *in vivo* podem ser usados na detecção de drogas em situação de emergência.

Os sensores também encontram vasta aplicação nas indústrias de alimentos e bioprocessos, onde o monitoramento em tempo real é muito valioso, ou ainda em aplicações ambientais onde, tanto a indústria quanto os órgãos de vigilância ambiental, necessitam de sensores para análise quantitativa ou diferencial de inúmeros rejeitos industriais, tais como misturas gasosas, óleos, compostos orgânicos voláteis, metais pesados, etc³⁷.

Estes eletrodos são frequentemente preparados pela modificação de um substrato condutor para produzir um eletrodo adequado para uma determinada função³⁸, inibindo ou favorecendo alguns processos, levando a maior seletividade ou sensibilidade de análise. Isto pode ocorrer, pela aceleração do processo de transferência de elétrons, acumulação preferencial, ou barrar espécies indesejadas através da permeação seletiva³⁹.

Dentre uma grande variedade de modificadores acoplados à superfície do eletrodo, o uso de materiais nanométricos tem se tornado bastante atraente por fornecer aumento de área superficial, grande tamanho de poros, estrutura de poros uniforme e alta capacidade de pré-concentrar o analito na superfície do eletrodo.

1.2.1 Sensores baseados em TiO₂

Dentro do contexto de materiais nanométricos, eletrodos desenvolvidos a partir de dióxido de titânio (TiO₂) seria uma boa alternativa para a construção de sensores eletroquímicos, uma vez que o mesmo pode se apresentar sob várias formas, tais como: nanopartículas⁴⁰, nanotubos⁴¹, nanofios^{42,43} e nanoagulhas^{44,45}.

Esses materiais têm atraído cada vez mais atenção, devido suas estruturas, permitindo uma grande variedade de aplicações avançadas, incluindo o uso em sensores, tintura em células solares sensibilizadas, na geração de hidrogênio por fotoeletrolise de água, aplicação em eletrônica orgânica, microfluídica, filtração molecular, distribuição de medicamentos, e engenharia de tecidos⁴⁶. Além disso, suas excelentes propriedades eletrônica, fotônica, catalítica, alta estabilidade química⁴⁷, forte capacidade de adsorção, estabilidade térmica, não-toxicidade, boa biocompatibilidade³⁹ e baixo custo têm o tornado atraente como material para sensores eletroquímicos e aplicações em biossensores⁴⁸.

Dentre as diversas formas de nanomaterial a base de TiO₂, os nanotubos de TiO₂ têm se mostrado um material de grande aplicabilidade e futuro promissor no desenvolvimento de sensores. Sendo diversas as técnicas usadas para a criação desses nanotubos, como o uso de alumínio nanoporoso como molde para o crescimento⁴⁹, oxidação anódica eletroquímica em meio inorgânico^{50,51} e orgânico^{52,53} e hidrotérmico⁵⁴.

Entre estas técnicas, a oxidação anódica eletroquímica é a mais simples e, provavelmente, a mais barata. É um processo de auto-montagem. Em que a dissolução química localizada e a oxidação levam a formação de nanotubos ordenados⁵⁵.

O uso de nanotubos de TiO₂ aplicados no desenvolvimento de sensores têm encontrado diversas aplicações, dentre as quais destacamos: os trabalho de Li *et al.*⁵⁶ desenvolveu um sensor de TiO₂ modificado com filme auto-montado com *p*-tert-butilcalix-4-areno para a determinação seletiva de paration. Conseguindo resposta linear no intervalo de concentração de $5,0 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com coeficiente de correlação de R = 0,992. O limite de detecção do sensor foi de $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹. Obtendo recuperação de 93,3 a 103,3% em amostras vegetais.

Shibli *et al.*⁵⁷ desenvolveram um sensor amperométrico de TiO₂ modificado com nano-RuO₂ para determinação de etanol. O eletrodo composto exibiu bom desempenho, com alta corrente anódica para oxidação eletroquímica do etanol, com tempo de resposta de 21 s e uma sensibilidade de 3,6 μA/(ppm cm²).

Grimes⁴⁶ desenvolveu uma estrutura altamente ordenada e orientada verticalmente de nanotubos de TiO₂ para aplicação na detecção de hidrogênio, geração de energia solar de hidrogênio por fotoeletrólise da água, e em células solares.

Liang *et al.*⁵⁸ desenvolveram um sensor potenciométrico compacto tubular baseado em NASICON dopado com V₂O₅ e TiO₂ para a detecção de SO₂. O sensor obteve resposta quase proporcional ao logaritmo da concentração de SO₂ e a sensibilidade (declive) foi -78 mV/década a 300 °C. Também foi observado que o sensor mostrou uma boa seletividade para o SO₂ contra NO, NO₂, CH₄, CO, NH₃ e CO₂.

Mazloum *et al.*⁵⁹ desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono (EPC) modificado com nanopartículas de TiO₂ e quinizarina (QZ) para determinação simultânea de pequenas quantidades de D-penicilamina (D-PA) e do triptofano (Trp), usando voltametria de onda quadrada. O eletrodo modificado mostrou duas ondas anódicas para a oxidação de Trp e PA. Em condições ótimas, o intervalo linear para a concentração de D-PA foi de 0,8 μmol L⁻¹ a 140,0 μmol L⁻¹ e o limite de detecção foi de 0,76 μmol L⁻¹. Além disso, o sensor apresenta boa estabilidade e reprodutibilidade.

Yi *et al.*⁶⁰ reportaram um eletrodo de Pd com TiO₂ para a oxidação eletroquímica de formaldeído, hidrazina e glucose. Cronoamperogramas em concentrações diferentes de hidrazina e formaldeído mostraram que o Pd-TiO₂ é um sensor eletroquímico promissor para a detecção de hidrazina com uma sensibilidade de 0,554 mA cm⁻² mmol L⁻¹ e um limite de

detecção de $0,023 \text{ mmol L}^{-1}$, e para a detecção de formaldeído com uma sensibilidade de $0,207 \text{ mA cm}^{-2} \text{ mmol L}^{-1}$ e um limite de detecção de $0,015 \text{ mmol L}^{-1}$.

Thiagarajan *et al.*⁶¹ reportaram carbono vítreo e óxido de índio (ITO) modificado com filme $\text{TiO}_2\text{-Au-KI}$ pela adsorção de nanopartículas de TiO_2 sobre o eletrodo, seguido com as deposições eletroquímicas de película nano Au e KI. O eletrodo modificado com filme de $\text{TiO}_2\text{-Au-KI}$ mostrou boa atividade electrocatalítica para a oxidação de H_2O_2 em solução de tampão fosfato (pH 7,0). A faixa linear de detecção encontrada foi entre $1,0 \times 10^{-9}$ a $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. As aplicações práticas foram avaliadas através da análise das amostras reais, tais como anti-séptico e soluções para lentes de contato limpas contendo H_2O_2 .

Zhao *et al.*⁴⁷ desenvolveram um sensor de pH de estado sólido. A relação entre a sensibilidade e o pH, juntamente com a morfologia. Nanotubos de TiO_2 amorfo tem melhor resposta de pH que os nanotubos de TiO_2 anatásio. Após ser irradiado com luz ultravioleta (UV), a resposta de potencial do eletrodo modificado por nanotubos de TiO_2 amorfo foi Nernstiana (59 mV / pH).

Fan *et al.*⁴⁰ desenvolveu um eletrodo de TiO_2 modificado com grafeno para detecção electroquímica de paracetamol. O comportamento electroquímico do paracetamol no filme Nafion/ $\text{TiO}_2\text{-Grafeno}$ modificando um eletrodo de carbono vítreo foi investigada por voltametria cíclica. Os resultados mostraram que a incorporação de nanopartículas de TiO_2 com grafeno aumenta significativamente a reatividade electroquímica e resposta voltamétrica de paracetamol. Este sensor electroquímico apresenta excelente desempenho analítico para a detecção de paracetamol a pH fisiológico com limite de detecção de $2,1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, na faixa de concentração entre $1\text{-}100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $3,6\%$ de reprodutibilidade do desvio padrão relativo.

Além desses, pode ser citado: monitoramento da redução do peróxido de hidrogênio e oxigênio⁶², determinação de inseticidas organofosfatados⁶³, na determinação de pentaclorofenol⁶⁴, na determinação de ácido ascórbico, L-tirosina, paracetamol, e NADH⁶⁵, sensor de hidrogênio⁶⁶, oxidação do metanol⁶⁷, determinação dos bifenis policlorados em nível de traços em amostras de água do ambiente⁶⁸, sensor para etanol na forma gasosa⁶⁹, na detecção da redução da glucose⁷⁰, entre outros.

1.2.2 Sensores desenvolvidos a partir de Nanotubos de Carbono (NTC)

Descobertos em 1991⁷¹, os NTC tornaram-se alvos de diversas pesquisas, despertado grande interesse em diferentes aplicações nas áreas da química, física e biologia. De modo geral, os NTC se caracterizam por serem nanoestruturas cilíndricas com diâmetros da ordem de poucos

nanômetros e comprimentos da ordem de microns, levando a grandes razões comprimento/diâmetro. Podem ser classificados em duas categorias: nanotubos de parede simples (SWNTs, Single-Wall Nanotubes), que são constituídos por apenas uma camada cilíndrica de grafite (Figura 5a) e nanotubos de paredes múltiplas (MWNT, Multi-Walls Nanotubes), constituídos por vários cilindros concêntricos (Figura 5b)^{72, 73}.

Suas características próprias como força de tensão 100 vezes maior que a do aço, condutividade térmica maior que a de todos os compostos (exceto a do diamante ultrapuro), estabilidade física, alta condutividade elétrica e térmica e grande área superficial, refletem em efeitos eletrocatalíticos em reações eletroquímicas⁷³⁻⁷⁵. Suas propriedades eletrônicas sugerem que eles têm a habilidade de promover reações de transferência de elétrons quando usados como material de eletrodo em reações eletroquímicas^{74, 76}. Além disso, devido suas dimensões, superfícies funcionais, boa condutividade, excelente biocompatibilidade, laterais modificáveis e reatividade elevada, tornam os NTC candidatos ideais para a construção de sensores com elevadas performances⁷⁷.

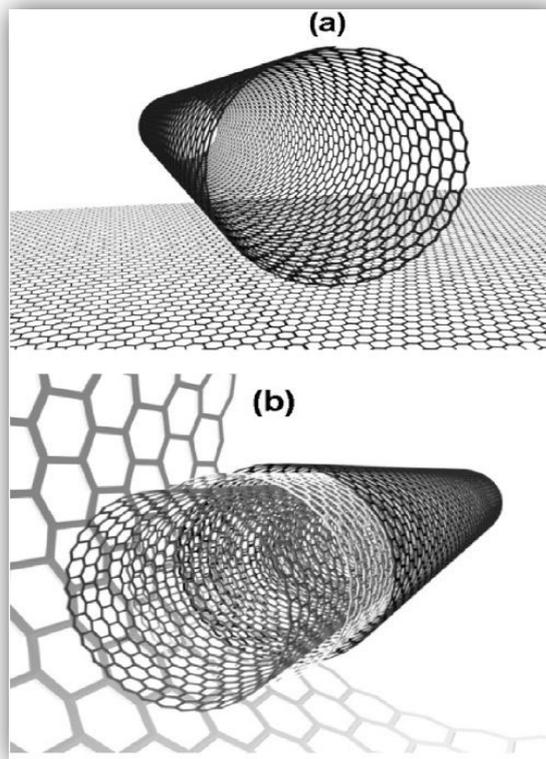


Figura 5. Diferentes estruturas formadas dos nanotubos de carbono: (a) Nanotubo de Carbono de Parede Simples; (b) Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas.

Além dessas características, os nanotubos de carbono, oferecem as vantagens de possuir baixo custo, e diversas possibilidades de modificações que incluem usualmente pasta, dispersão em solvente (Casting), compósito, etc^{73, 75}.

Sendo um dos métodos mais utilizados para a fabricação de sensores baseados em CNT, a dispersão em solvente consiste na dispersão de nanotubos de carbono no seio de um determinado solvente com auxílio de sonicação, seguida pela adição dessa suspensão sobre a superfície do eletrodo e deixando-se secar⁷⁷.

Entre os solventes relatados, *N,N*-dimetilformamida (DMF) é o solvente mais utilizado e mais de metade dos artigos utilizando a técnica de casting, é utilizando o DMF como solvente de dispersão⁷⁸⁻⁸². Existem também alguns outros solventes usados para preparar suspensões de CNT, incluindo a água⁸³⁻⁸⁵, a acetona^{86, 87}, o etanol^{88, 89} e mesmo tolueno^{90, 91}. No entanto, em comparação com estes solventes, DMF tem algumas vantagens na dispersão de nanotubos de carbono, por exemplo, muito maior solubilidade, estabilidade e eficiência de esfoliação. Tornando, esse material, um excelente modificador de eletrodos.

A denominação formal de eletrodo de "pasta de NTC" ou "PNTC" foi inicialmente relatada por Valentini *et al.*⁹² em 2003. Nesse trabalho, eles prepararam PNTC misturando nanotubos de carbono com óleo mineral. Estudos sobre a composição dos elétrodos de pasta NTC mostrou um diferente comportamento, em comparação com os eletrodos de pasta de grafite.

Neste tipo de modificação as propriedades dos elétrodos de carbono clássicos, tais como a viabilidade a incorporação de substâncias diferentes, as correntes de fundo baixas, a ampla gama de potencial, a renovação fácil e natureza compósita, são mantidas⁷⁷. Os eletrodos de pasta de NTC também preservam as propriedades eletroquímicas dos nanotubos de carbono, como a capacidade de promover reações de transferência de elétrons de várias espécies, especialmente para biomoléculas. Comparado com outros métodos para a preparação de sensores eletroquímicos baseados em CNT, os CNT nos EPNC não precisa de nenhum tratamento adicional (por exemplo, tratamento, purificação, modificação ou encurtamento) e são adequados para todos os tipos de nanotubos de carbono^{93, 94}.

Apesar de o óleo mineral ser um dos principais aglutinantes usados na fabricação da pasta de nanotubos de carbono^{93, 95, 96}. Diversos tipos de ligantes rígidos já foram utilizados, incluindo Teflon⁹⁷ e epoxi⁹⁸.

A polimerização de monómeros diferentes, na presença de nanotubos de carbono dispersos em soluções por métodos eletroquímicos tem sido utilizada para a imobilização de nanotubos de carbono sobre a superfície do eletrodo. Neste processo, os NTC são envolvidos por polímeros durante a eletro-polimerização, na forma de contra-íons ou dopantes. Wu *et al.*⁹⁹

relataram um método para a dispersão e a imobilização de nanotubos de carbono sobre a superfície do eletrodo com o vermelho de alizarina S⁹⁹. Pan *et al.*¹⁰⁰ preparam um biossensor eletroquímico para glucose, através da imobilização simultânea de nanotubos de carbono e GOx sobre o eletrodo de ouro através da eletro-polimerização de *o*-aminofenol.

Apesar dos nanotubos de carbono dispersos aleatoriamente serem os mais utilizados, os NTC alinhados também são utilizados para a construção de sensores eletroquímicos. Estes sensores baseados em CNT geralmente são construídos a partir de conjuntos de CNT diretamente cultivados a partir de métodos de Deposição Química em fase de Vapor (CVD). Com base na sua densidade diferente, os eletrodos de NTC alinhado têm as propriedades que se assemelham aos eletrodos eletroquímicos convencionais em escala de alta densidade ou microeletrodo matrizes de baixa densidade⁷⁷.

Devido a essas características únicas dos NTC, diversos trabalhos têm sido reportados sobre uso destas nanoestruturas para os mais diversos estudos. Para exemplificar tais aplicações se destacam os trabalhos desenvolvidos por:

Vega *et al.*¹⁰¹ que usou um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de carbono (GCE-CNT) para a detecção LC-CE de compostos fenólicos com atividade estrogênica. Uma fase móvel constituída por acetonitrila 50:50 (v/v) e 0,05 mol L⁻¹ de tampão de fosfato de pH 7,0 foi selecionada para a separação cromatográfica de misturas destes compostos, com limites de detecção variando entre 98 e 340 nmol L⁻¹.

Raouf *et al.*¹⁰² usaram um eletrodo de carbono vítreo modificado com quercetina eletrodepositada sobre nanotubos de carbono de paredes múltiplas para a determinação simultânea de levodopa (LD), ácido úrico (AU) e tiramina (Tir). A partir do uso da voltametria de pulso diferencial os picos de correntes para os compostos LD, AU e Tir aumentou linearmente com a sua concentração nas faixas de 0,90 a 85,0 µmol L⁻¹, 1,0 a 125,0 µmol L⁻¹ e 0,70 a 75,0 µmol L⁻¹, respectivamente, e os limites de detecção para LD, AU e Tir foram sequencialmente 0,381 µmol L⁻¹, 0,575 µmol L⁻¹ e 0,647 µmol L⁻¹.

Lu *et al.*¹⁰³ modificaram um eletrodo de carbono vítreo com nanotubos de carbono para determinação de 8-azaguanina. Obtendo picos de oxidação numa faixa linear de 2,5 x 10⁻⁸ a 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ com limite de detecção de 1,0 x 10⁻⁸ mol L⁻¹. O método de análise foi utilizado em amostras de urina humana, após administração intravenosa de 8-azaguanina.

Jain *et al.*¹⁰⁴ relataram um método para a quantificação eletroanalítica da feniramina em formulações farmacêuticas utilizando um ECV modificado com NTC de paredes múltiplas na presença do lauril sulfato de sódio. Os resultados experimentais sugerem que a feniramina em uma solução de agente tenso-ativo iônico apresenta efeito eletrocatalítico resultando num

aumento da resposta da corrente de pico. Resposta da corrente de pico foi linear na faixa de concentração 200 a 1500 mg mL⁻¹, com coeficiente de correlação de 0,9987. O limite de detecção foi de 58,31 mg mL⁻¹.

Zhao *et al.*¹⁰⁵ modificaram um ECV usando NTC de paredes múltiplas e o líquido iônico hexafluorofosfato 1-octil-3-metilimidazólio (OMIMPF₆), para determinação de Dopamina (DA) na presença de ácido ascórbico e ácido úrico. Sob condições otimizadas a calibração linear foi obtida no intervalo de concentrações DA $1,0 \times 10^{-6}$ a $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. O limite de detecção da técnica foi de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. O eletrodo modificado foi aplicado com êxito para o ensaio da DA em soro sanguíneo humano.

Ye *et al.*¹⁰⁶ desenvolveram um eletrodo de CNT alinhados para a determinação seletiva de ácido úrico na presença de ácido ascórbico. A corrente de pico obtida a partir de DPV foi linearmente dependente da concentração de AU na faixa de 0,2 μmol L⁻¹ a 80 μmol L⁻¹, com um coeficiente de correlação de 0,997. O limite de detecção foi de 0,1 μmol L⁻¹. O eletrodo de nanotubos de carbono foi aplicado com sucesso, como um sensor eletroquímico para a determinação da AU em amostras de urina humana por diluição simples, sem pré-tratamento adicional. Atingindo recuperação entre 95,3 a 105,5 %.

Além dessas aplicações, é possível destacar, também, a aplicação dos nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores para: determinação simultânea de ácido ascórbico, acetaminofenol e isomiazida¹⁰⁷, determinação de H₂O₂¹⁰⁸, determinação de cianeto em águas residuais e inseticidas organofosforados¹⁰⁹, dentre outros.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem por objetivo estudar o desenvolvimento de eletrodos nanoestruturados de TiO_2 e também com nanotubos de carbono de paredes múltiplas, assim como sua caracterização pelas técnicas de Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV) e Dispersão de Raio X (RDX), e sua aplicação na determinação dos corantes de cabelo: Marrom Básico 17 e Verde Ácido 25 em amostras comerciais de tintura de cabelo, efluentes de salões de cabeleireiro e água de captação em estações de tratamento de água usando a técnica de voltametria cíclica, voltametria linear e voltametria de onda quadrada.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Instrumentação

Para as medidas eletroquímicas foi utilizado um potenciostato da marca Autolab PGSTAT30, acoplado em uma célula eletroquímica convencional com três eletrodos, sendo um eletrodo de referência de Ag|AgCl (KCl 3 mol L⁻¹); um eletrodo auxiliar de fio de platina, um eletrodo de nanotubos de TiO₂ (A = 1 cm²) ou um eletrodo de CV (A = 0,030 cm²), como eletrodo de trabalho.

Para homogeneização das soluções e a dispersão de soluções, assim como limpeza dos eletrodos, foi utilizado um banho-ultrasom Maxiclean 700 da Unique.

3.2 Reagentes e soluções

Os experimentos eletroquímicos foram realizados utilizando-se solução de tampão Britton-Robinson (B-R) 0,04 mol L⁻¹ pH entre os valores de 2 e 10, preparado pela mistura dos ácidos ortofosfórico (0,4 mol L⁻¹), acético (0,4 mol L⁻¹), e bórico (0,4 mol L⁻¹), cujo pH foi ajustado com uma solução 0,1 mol L⁻¹ de hidróxido de sódio. Utilizou-se água deionizada no preparo de todas as soluções.

Soluções estoques dos corantes Marrom Básico 17 (MB 17) e Verde Ácido 25 (VA 25) em concentração de 0,01 mol L⁻¹ foram preparadas por dissolução direta do corante em água deionizada (MILLI-Q - condutividade de 18.2 μΩcm⁻¹). As soluções de trabalho foram sempre preparadas pela transferência de alíquotas quantitativas da solução estoque do corante para um volume final na célula eletroquímica. Previamente aos experimentos, todas as soluções foram desoxigenadas através de borbulhamento de gás Nitrogênio comercial (99,7% de pureza) durante dez minutos.

As medidas de pH de todas as soluções foram realizadas em um pHmetro Corning 555, equipado com eletrodo combinado de vidro, após as calibrações necessárias para sua utilização com padrões adequados.

As amostras foram pesadas em dois tipos de balanças de acordo com a precisão necessária: Mettler Toledo A245 com precisão de ±0,1 mg e Ohyo JK-200.

3.3. Construção dos eletrodos de nanotubos de Ti/TiO₂

Os eletrodos de nanotubos de Ti/TiO₂ foram preparados através do crescimento anódico de filmes nanotubulares sobre folhas de titânio metálico (99,95%, Alfa Aesar), 0,25 mm de espessura (1 cm x 4 cm). Estas superfícies foram polidas mecanicamente usando lixas de diferente rugosidade (400, 600 e 1200), submetidas, então, à lavagem em ultrasonificação (15 min) com: acetona (Synth), isopropanol (Synth) e água ultrapura. A anodização das placas foram efetuadas usando uma célula com 10 mL de solução contendo uma mistura de glicerina e água (razão 90:10 vol.%) e 0,25 % m/m NH₄F (JT Barker). O Ti serviu como ânodo, enquanto um fio de platina (Pt) agiu como catodo. Foram feitas a anodização usando dois potenciais (30 V e 15 V) aplicados por 25 e 50 h. Os diferentes eletrodos foram lavados com água destilada, secos sob atmosfera de N₂ e calcinados à 450 °C durante 30 min⁵².

3.3.1 Construção do Eletrodo de Carbono de Modificado (ECM) com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NCPM).

O eletrodo de carbono vítreo (ECV) foi polido com alumina (0,3 µm, BUEHLER) dispersa sobre tecido aveludado, em seguida lavado em banho ultrassônico com água deionizada por 1 min para retirada de resíduos de Al₂O₃.

Os ECV foram preparados usando a técnica de “casting” (evaporação do solvente). Os NTC foram dispersos em DMF. Após sonicada por 30 min à temperatura ambiente, uma suspensão de 1,0 mg mL⁻¹ de NTC em DMF foi obtida. Sobre a superfície do eletrodo, foi adicionado uma alíquota de 10 µL, em seguida o eletrodo foi seco em estufa a 55 °C por 20 min¹⁰⁴.

O eletrodo modificado teve sua superfície ativada em uma solução de 0,01 mol L⁻¹ de H₂SO₄, desoxigenada por 15 minutos com N₂, a partir de sucessíveis varreduras (10 ciclos) no intervalo de potencial de -0,15 a 1,3 V a 10 mV s⁻¹.

3.3.2 Caracterização por microscopia eletrônica de varredura e Difratomia de Raio X (DRX).

Um microscópio eletrônico de varredura com canhão de emissão de elétrons por efeito de campo (MEV-FEG) da marca Jeol, modelo JSM 7500F, e um difratômetro DRX-6000 da SHIMADZU foram utilizados para caracterização dos eletrodos

3.3.3 Determinação do Tempo de acúmulo dos corantes

Inicialmente determinou-se o tempo de acúmulo dos corantes MB 17 e VA 25, tempo em que os eletrodos devem ficar imersos nas soluções contendo os corantes antes das medidas voltamétricas. Foram feitas varreduras com os eletrodos imersos em 10 mL de solução de MB 17 ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e VA 25 ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) em diferentes tempos de acúmulo, de 0 a 30 min.

3.3.4 Limpeza da superfície do eletrodo

Após a permanência dos eletrodos em 10 mL de solução de MB 17 ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) e VA 25 ($1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) por 10 min, os eletrodos foram lavados com diferentes solventes (Diclorometano, acetona, álcool e água) e depois com água destilada. Buscando, dessa forma, escolher o solvente que permitisse melhor regeneração da superfície dos eletrodos. Esse processo foi repetido 10 vezes ($n=10$).

3.3.5 Medidas de Impedância

Para as medidas de impedância foi empregado o mesmo potenciostato/galvanostato conectado a um analisador de resposta de frequência (FRA). Iniciando a performance nas seguintes bandas de frequência: 100 kHz a 10 mHz. Foi empregado o potencial de circuito aberto (PCA) com tempo de estabilização de 10 minutos, amplitude de 10 mV (rms) e 50 pontos/década. As medidas foram feitas em solução de tampão BR ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 6,0) contendo o corante de cabelo MB 17 ($1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) e o corante VA 25 ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Todas as medidas foram feitas em temperatura ambiente e dentro de uma gaiola de Faraday.

3.3.6 Estudo do efeito de pH

Para estudo do efeito do pH na respostas dos corantes estudados, foi usada solução de tampão B-R ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$), sendo o pH 2, 4, 6, 8 e 10, ajustados com hidróxido de sódio ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

3.3.7 Construção da Curva Analítica

Após a otimização dos parâmetros, construiu-se a curva analítica para a determinação dos corantes MB 17 e VA 25, variando-se a concentração destes de $1,0 \times 10^{-6}$ a $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$

para o MB 17 e de $1,0 \times 10^{-8}$ a $2,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ para o VA 25. Depois de imersos por 10 minutos em diferentes concentrações dos corantes, varreduras foram feitas usando as técnicas de Voltametria de Onda Quadrada e Voltametria Linear e Cíclica.

3.3.8 Estudo de Recuperação

A recuperação de todos os analitos foi determinada a partir de uma amostra de água de torneira com pH ajustado com adições de reagentes para formar uma solução de tampão B-R de concentração 0,04 mol L⁻¹ e hidróxido de sódio 0,01 mol L⁻¹. Essa amostra de água foi enriquecida com quantidades conhecidas do analito alvo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Determinação do corante Marrom Básico 17 sobre eletrodo de Ti/TiO₂.

4.1.1 Preparação e caracterização dos eletrodos de nanotubos de Ti/TiO₂.

Com o intuito de otimizar a melhor resposta voltamétrica para monitorar a redução do corante de cabelo Marrom Básico 17, investigou-se primeiramente o efeito do tempo e potencial de anodização sobre a formação dos nanotubos de TiO₂. Para isto preparou-se 4 eletrodos de Ti/TiO₂ com características diferentes, denominado E₁, E₂, E₃ e E₄ (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do potencial e tempo de anodização sobre a formação dos nanotubos de titânio.

Eletrodo	Potencial (V)	Tempo (h)	Diâmetro (nm)	Comprimento (nm)
E ₁	15	50	55	582
E ₂	30	50	124	824
E ₃	30	25	53	491
E ₄	15	25	23	400

As respectivas morfologias da superfície de cada eletrodo obtido por imagens de MEV são mostrados na Figura 6. Os respectivos parâmetros correspondentes ao diâmetro e ao comprimento da parede dos nanotubos foram calculados e mostrados na Tabela 1.

Exceto para o eletrodo E₄, que mostra um recobrimento uniforme por TiO₂, onde não há a formação dos nanotubos de TiO₂, e sim, a ocorrência de poros ainda não definidos devido á fina camada do filme de TiO₂. Todos os outros eletrodos construídos mostraram estrutura com características de nanotubos com diferentes diâmetros e comprimento que são diretamente influenciados pelo potencial e tempo de anodização.

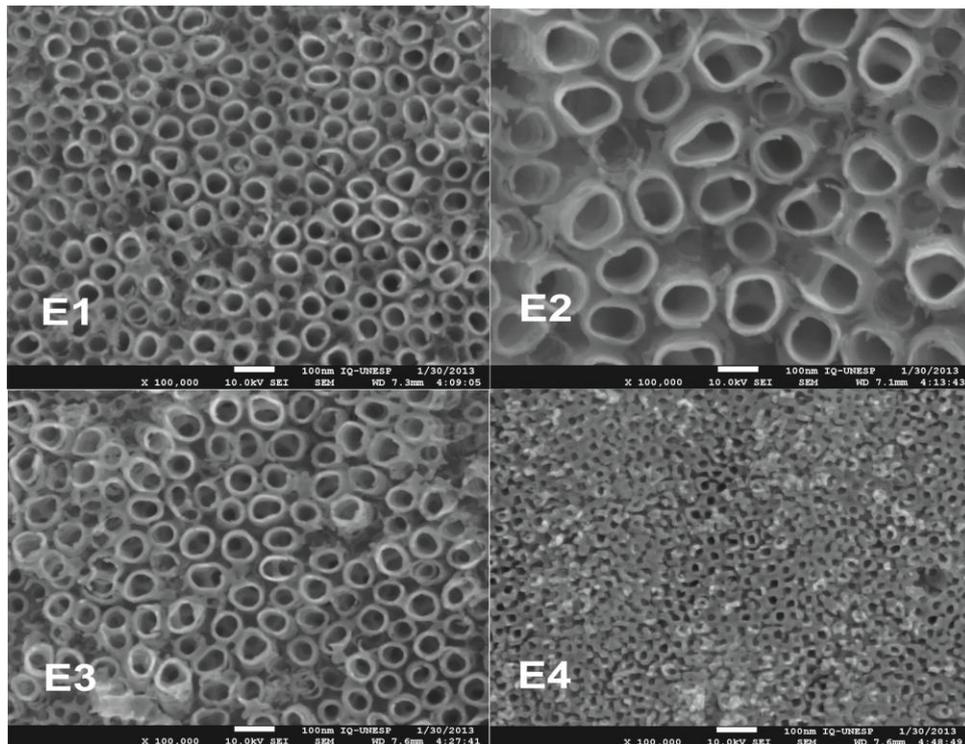


Figura 6. Imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura dos diferentes eletrodos de Ti/TiO₂ preparados.

No gráfico de contorno (Figura 7 A-B) é possível observar como os parâmetros: potencial e tempo de anodização influenciam diretamente nos diâmetros e comprimento dos nanotubos formados. É possível observar que o diâmetro dos nanotubos é provavelmente controlado por uma cinética de primeira ordem para ambas as variáveis (tempo e potencial). Uma vez que quando o tempo é dobrado, o diâmetro dos nanotubos também dobra. Da mesma forma, quando o potencial dobra, o diâmetro responde a essa mudança na mesma proporção.

Apesar de haver uma mudança de diâmetro com o aumento do potencial, pelas imagens de MEV, observa-se que, potencial maior que 15 V, se faz necessário para a formação de nanotubos de TiO₂. Ou tempo superior a 35 horas.

O mesmo comportamento pode ser observado com relação ao comprimento dos nanotubos de TiO₂, que em ambos os casos o aumento do tempo e potencial aplicado, geram uma variação na mesma proporção. Todavia, é possível observar que esse comportamento só ocorre para potenciais superiores a 15 V. Uma vez que dobrado o tempo e mantido o potencial em 15 V, o comprimento sofre um aumento muito inferior ao observado quando o potencial é de 30 V. Sugerindo que o tempo tem uma maior influência sobre o comprimento dos nanotubos formados, que o potencial aplicado.

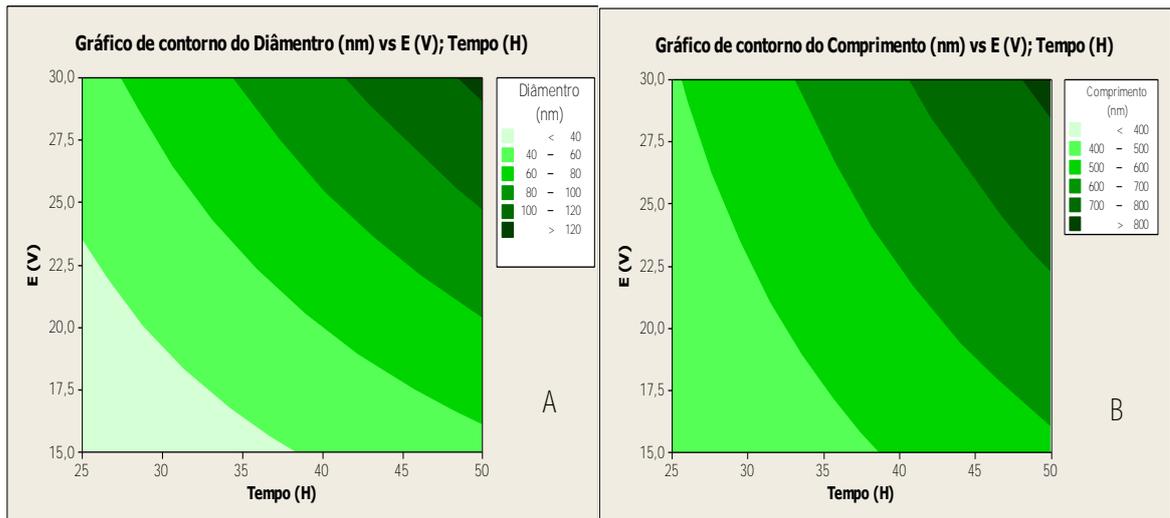


Figura 7. Gráfico de contorno demonstrando como os diâmetros (A) e o comprimento (B) dos nanotubos de TiO₂ variam com a variação do potencial aplicado e o tempo de anodização.

Isso pode ser explicado pelo fato de que quanto maior o potencial aplicado, maior será a ação dos íons F⁻ que serão atraídos pela carga positiva na superfície do eletrodo, aumentando, dessa forma a espessura da camada formada de TiO₂. Enquanto, que quanto maior o tempo de anodização, maior será o tempo de ação dos íons F⁻, contribuindo, dessa forma, para o aumento do diâmetro e do comprimento dos nanotubos de TiO₂ formados. A partir desse estudo, é possível controlar o diâmetro dos nanotubos de modo eficiente.

A Figura 8 apresenta os espectros de difração de Raio-X dos eletrodos E₁, E₂, E₃ e E₄. Todos os eletrodos mostraram comportamento típico de estrutura amorfa que é convertida em anatase (fase cristalina) após aquecimento em temperatura de 450 °C. Os picos de difração de 2θ em 25,5°, 35,1°, 48,3° e 55,3° correspondem à face cristalina (101), (004), (200) e (211) do TiO₂ anatase⁵⁵. É possível observar que os picos com maiores intensidades na fase cristalina são referentes ao eletrodo E₂, que também é o eletrodo com os nanotubos de maiores diâmetros.

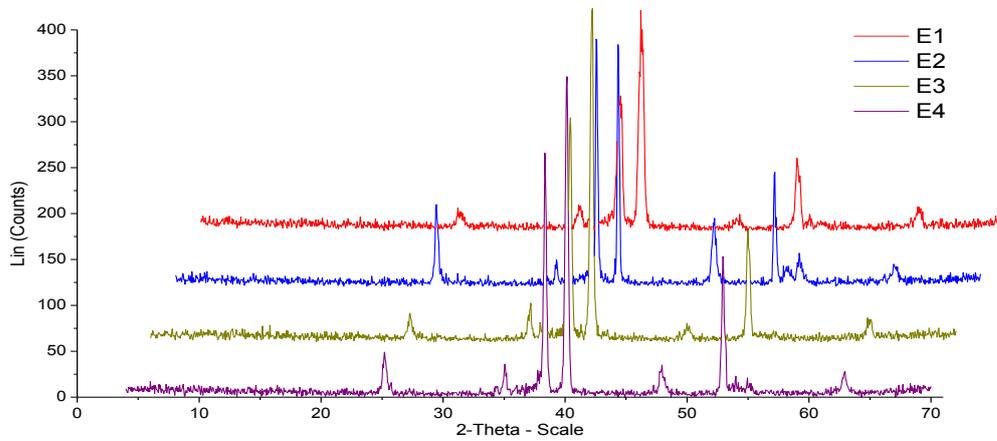


Figura 8. Espectro de Raio – X dos eletrodos.

A formação dos nanotubos de Ti/TiO₂ são exemplificados em uma representação esquemática mostrados na Fig.9. A formação dos filmes de TiO₂ na forma de nanotubos arranjados ocorre pela competição entre a oxidação da superfície metálica e formação de película do óxido (Fig. 9B) [eq. (1-2)] e dissolução do óxido pelo ataque dos íons fluoreto no eletrólito (Fig. 9C) e equação 3.



Sob a ação do campo elétrico, as cavidades tendem a se orientar verticalmente sobre a superfície do metal, resultando em uma série de nanotubos como apresentado na Fig. 9D¹¹⁰⁻

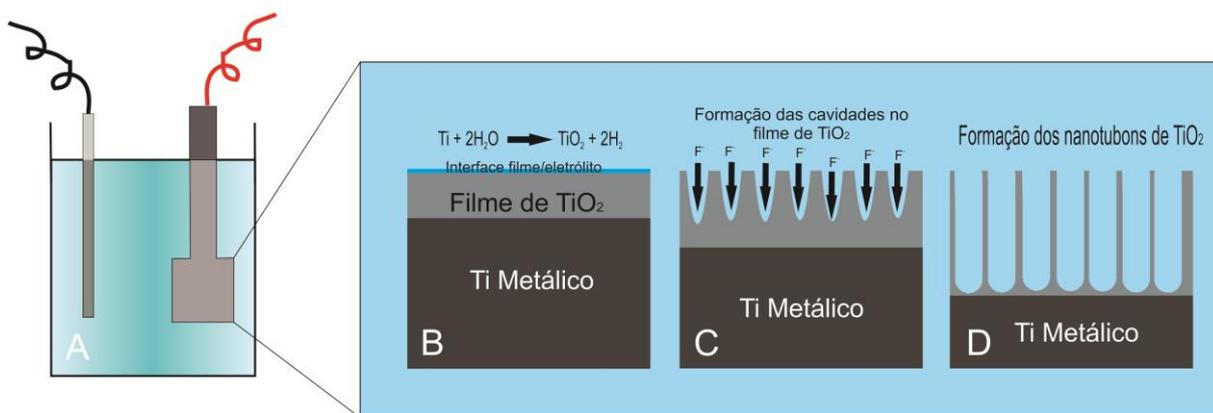


Figura 9. Visão esquemática do mecanismo de crescimento dos nanotubos de titânio. Esquema da célula de anodização da folha de Ti (A); formação da camada de óxido (B); a presença dos íons F^- gerando as cavidades na camada de óxido (C) e o desenvolvimento dos nanotubos no substrato do Ti metálico (D).

4.1.2 Comportamento voltamétrico do corante Marrom Básico 17

Inicialmente investigou-se o comportamento voltamétrico do corante MB 17, sobre eletrodo de carbono vítreo com o intuito de ter um padrão de comparação em relação ao eletrodo de Ti/TiO₂. A curva da Figura 10 exibe dois picos de redução correspondente ao grupo nitro e grupo azo em potenciais de -0,48 (pico A) e -0,64 V (Pico B), respectivamente¹¹⁴.

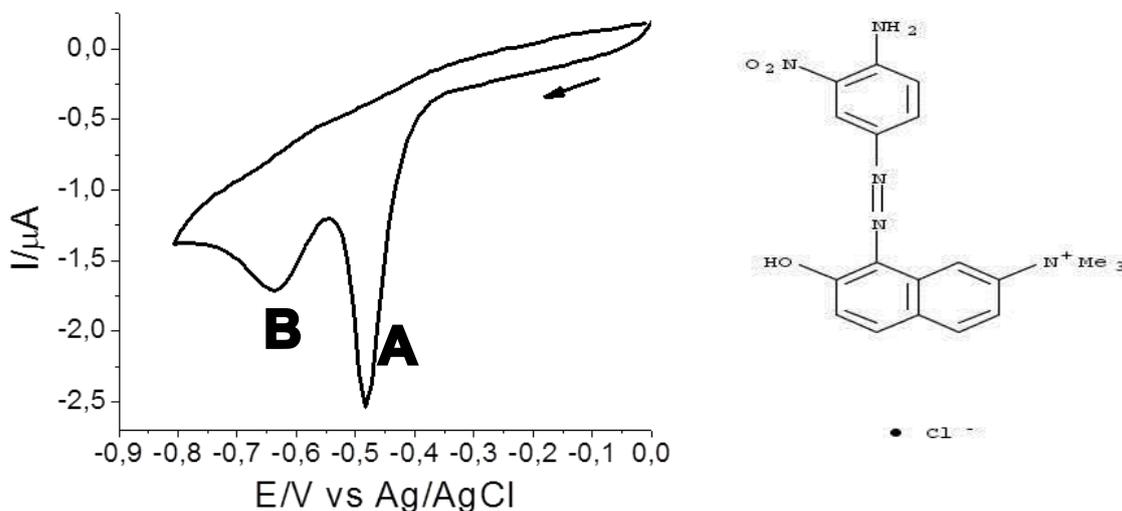


Figura 10. Voltamograma cíclico correspondente à redução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de MB 17 em solução de tampão B-R ($0,04$ mol L⁻¹) pH 2 sobre eletrodo de carbono vítreo. $U = 80$ mV s⁻¹. Ao lado estrutura do corante MB 17.

Os voltamogramas obtidos para oxidação do corante nas mesmas condições experimentais sobre eletrodo de Ti/TiO₂ não apresentaram nenhuma resposta confirmando suas características de semiconductor do tipo n. No entanto, os voltamogramas cíclicos obtidos para a redução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do corante MB 17 em solução de tampão Britton-Robinson (B-

R) $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 6 sobre o eletrodo de Ti/TiO₂ apresenta picos bem definidos para todos os eletrodos testados: E₁, E₂, E₃ e E₄, mostrando resposta na região catódica de potencial. Os respectivos voltamogramas de varredura linear são comparados na Figura 11. É possível observar que a redução do grupo nitro no corante ocorre preferencialmente em potenciais ao redor de -0.59 à -0.63V em todos os eletrodos. No entanto, maior intensidade de corrente foi obtida para redução sobre o eletrodo E₃. Este eletrodo obtido após anodização eletroquímica durante 25 h sob tensão de 30 V apresentou nanotubos de menor diâmetro e menor comprimento, que aliados, resulta em um eletrodo com maior área superficial. Favorecendo, a redução de uma quantidade maior do corante MB 17.

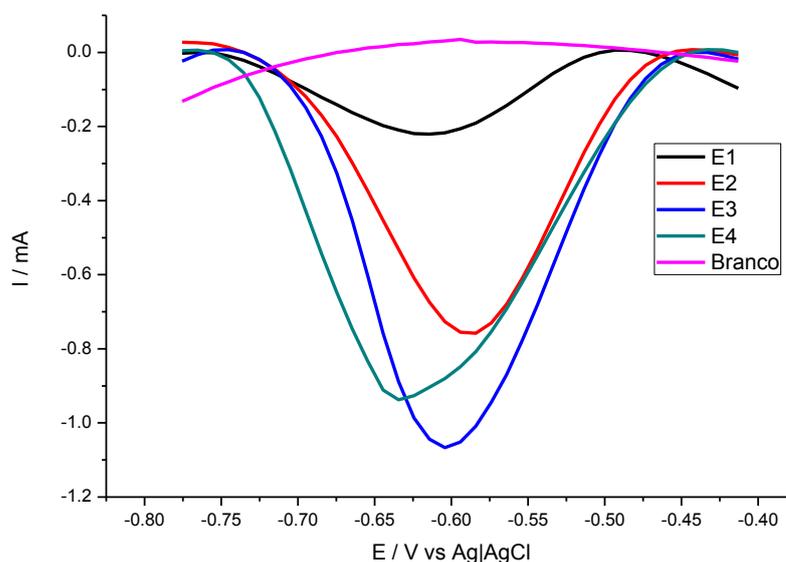


Figura 11. Voltamogramas de varredura linear obtidos para redução de $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ corante Marrom Básico 17, em solução de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH = 6,0 sobre eletrodos de nanotubos de Ti/TiO₂ preparados por anodização: (—) Branco, (—) E1, (—) E2, (—) E4 e (—) E3 e, calcinados sob $T = 450 \text{ }^\circ\text{C}$. $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$.

4.1.3 Estudo de Espectroscopia Impedância Eletroquímica (EIE).

Como a EIE analisa a resistência e capacitância, que ocorre na superfície do eletrodo, que são muito sensíveis¹¹⁵. Foi empregada a EIE no estudo de comportamento do corante MB 17 sobre a superfície do eletrodo de TiO₂.

A Figura 12 mostra o gráfico de Nyquist para os diferentes eletrodos expostos a uma concentração de $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante MB 17 ($0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 6,0). É observado que, para quase todos os eletrodos, um semicírculo foi formado em cada espectro, com exceção do E₃. Em geral, a variação do diâmetro do semicírculo é um resultado da alteração da resistência interfacial de transferência de carga (R_{tc})^{116, 117}, isto é, a resistência correspondente à transferência do eletrodo para o MB 17 na solução. Assim, o aumento do diâmetro observado

é explicado como a adsorção do corante na superfície do eletrodo que bloqueia eficazmente a superfície do eletrodo, levando a um aumento de R_{ct} . É possível observar que a R_{ct} é maior para o E_3 ($E_1 = 272 \text{ k}\Omega$; $E_2 = 92,9 \text{ k}\Omega$; $E_3 = 316 \text{ K}\Omega$ e $E_4 = 89 \text{ k}\Omega$). Essa R_{ct} é mais uma evidência que esse eletrodo consegue pr-e-concentrar mais corante que os outros eletrodos.

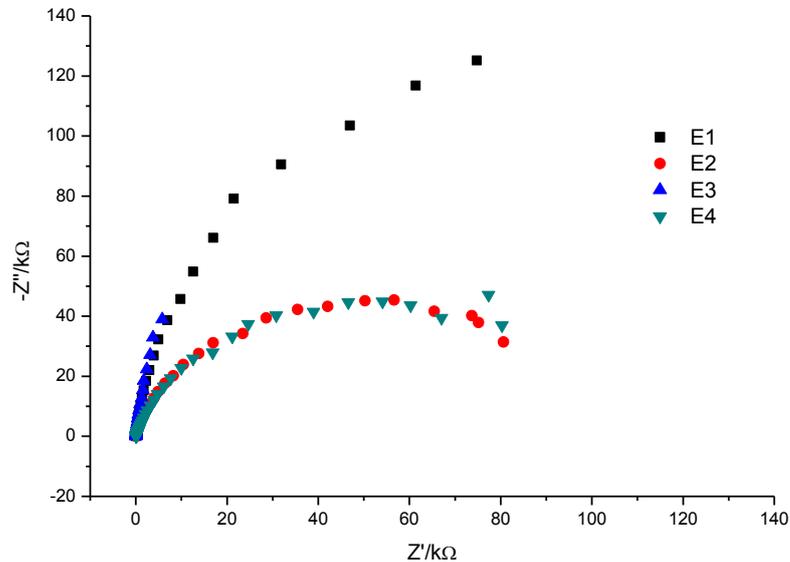


Figura 12. Gráfico Nyquist registrado dos diferentes eletrodos de TiO_2 ($E_1 - E_4$) em $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ [MB 17], $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de solução de tampão BR, $\text{pH} = 6,0$.

4.1.4 Estudo de pré-concentração do corante Marrom Básico 17

Considerando a natureza porosa do material investigou-se a seguir o efeito do tempo de acumulo do material sobre a superfície do eletrodo e a limpeza do mesmo. Para isto, o eletrodo E_3 foi imerso em solução de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17 em B-R, $\text{pH} 6,0$ sob agitação em tempos variando de 0 a 30 min, cujos os voltamogramas são apresentados na Figura 14. É possível observar que o sinal voltamétrico aumenta com o tempo de acúmulo e desloca-se para valores mais negativos de potencial, indicando que o analito é adsorvido na superfície do eletrodo. Os respectivos valores de corrente em função do tempo de acumulo são também mostrados na Figura 13. Um aumento quase linear da corrente em função do tempo de acúmulo é obtido até 10 min, em tempos superiores há uma limitação da corrente indicando que há uma saturação dos sítios nos eletrodos de nanotubos de TiO_2 . Deste modo, escolheu-se o tempo de 10 min para pré-acumulo do corante na superfície do eletrodo.

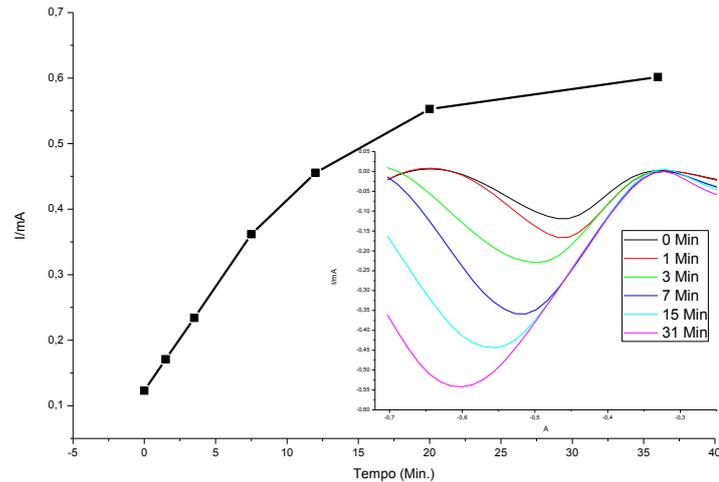


Figura 13. Estudo de adsorção do corante Marrom Básico 17 sobre a superfície do eletrodo E₃. [MB 17] = 1×10^{-4} mol L⁻¹, pH 6,0, $U = 60$ mV s⁻¹.

4.1.5 Estudo de limpeza do material adsorvido na superfície do eletrodo de nanotubo de Ti/TiO₂

Considerando a importância de utilizar sucessivamente o mesmo eletrodo na construção de um sensor voltamétrico, investigou-se a seguir a remoção do material aderido na superfície com lavagem usando diferentes solventes para renovação da superfície do eletrodo. Para isto, utilizou-se os seguintes eletrólitos: diclorometano, hidróxido de sódio, água deionizada e acetona. Entre os registros dos voltamogramas, os eletrodos foram submetidos a lavagem por agitação mecânica com os diferentes solventes acima citados, recolocados na solução do analito e submetidos a nova redução. De acordo com os gráficos mostrados na Figura 14, é possível observar que a lavagem do eletrodo com acetona permite uma melhor repetibilidade da resposta do eletrodo. Medidas envolvendo 10 repetições da resposta voltamétrica monitorando a redução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ do corante sobre o eletrodo de Ti/TiO₂ permite média de corrente de 0,141 mA e um coeficiente de variação (CV) de 6,36% entre as medidas.

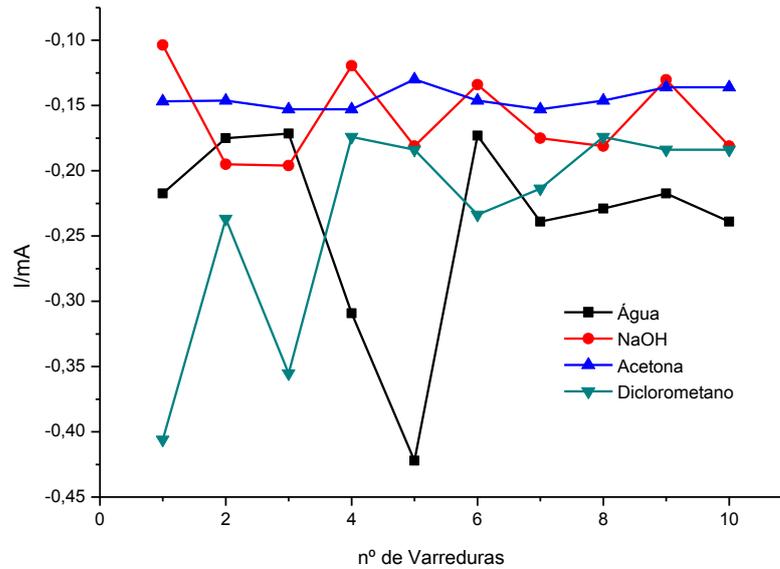


Figura 14. Efeito da lavagem com: Diclorometano, CV= 62,7%, Água deionizada, CV=37,7%, Hidróxido de Sódio, CV=26,7% e Acetona, CV=6,4%, na resposta do eletrodo de Ti/TiO₂.

4.1.6 Efeito do pH no comportamento do corante Marrom Básico 17

O efeito do pH sobre os parâmetros voltamétricos, correspondentes à redução do corante MB 17 foram obtidos para voltamogramas registrados de 10 mV s⁻¹ a 200 mV s⁻¹.

Os resultados em $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$ são mostrados na Figura 15. É possível observar um deslocamento do potencial de pico para potenciais mais negativos com o aumento do pH. A Figura 15 mostra uma relação quase linear entre E_p vs. pH no intervalo de pH de 2 – 8, com inclinação de 52,05 mV por unidade de pH. Em valores superiores a 8 estes valores são aproximadamente constantes.

De acordo com a literatura¹¹⁸, a redução dos compostos orgânicos dependentes de equilíbrio de protonação pode apresentar deslocamentos de potenciais simbolizadas pela equação 1

$$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \text{pH}} = \frac{59}{n} mH^+ \quad (1)$$

Onde $\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \text{pH}}$ corresponde aos valores da inclinação da curva E_{pc} vs. pH, $n = n^\circ$ de elétrons e $mH^+ = n^\circ$ de prótons envolvidos na reação de protonação. Considerando o intervalo de pH de 2 a 8 da Figura 15B, o valor de $\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \text{pH}} = 52,05 \text{ mV}$ para redução do grupo nitro do corante MB 17 estaria envolvendo 1,73 (n° de prótons = 2) se a redução da função ocorresse segundo

transferência de 2 elétrons¹¹⁴. Desta forma em meio ácido os dois oxigênios do grupo nitro podem estar sendo protonado e depois reduzidos ao grupo nitroso (reação 1).

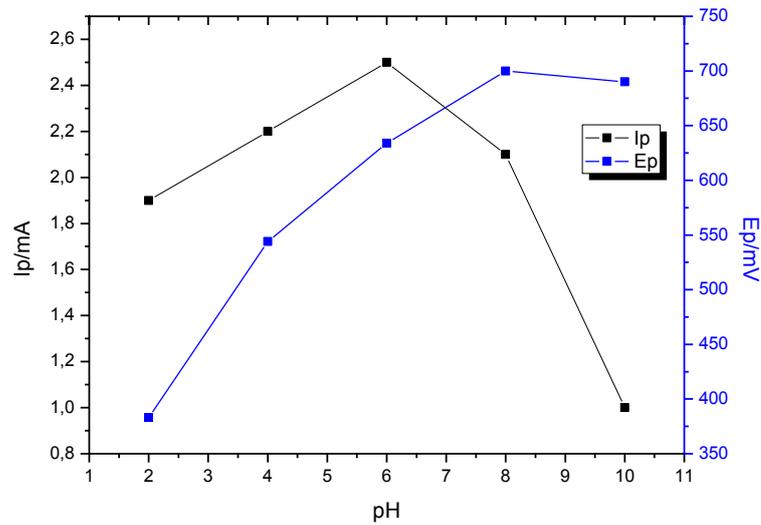
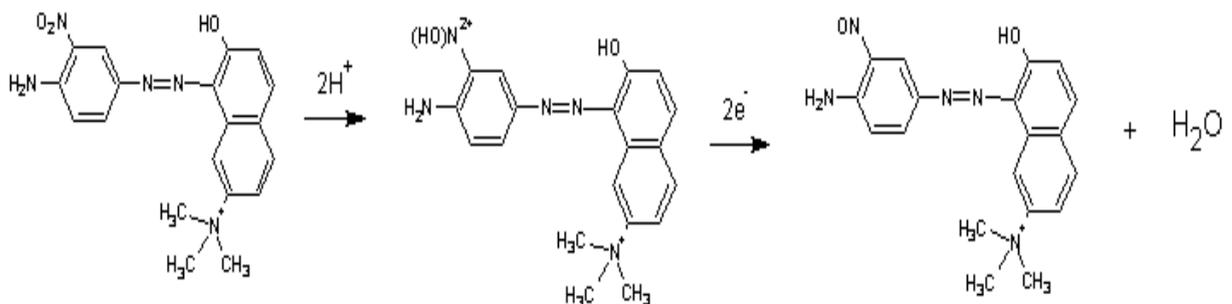


Figura 15. Efeito da variação do pH sobre o potencial e corrente de pico catódica do corante MB 17, $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, obtidos de voltamogramas cíclicos, $v = 60$ mV s⁻¹ em solução de tampão BR (0,04 mol L⁻¹).

Com relação ao I_p é possível observar que ele aumenta entre o pH 2 e 6, e a partir de então ele sofre uma redução na sua intensidade até o pH 10. Esse fenômeno pode ser explicado devido o fato de no pH 6, o TiO₂ está carregado negativamente, devido o seu valor de pKa = 5,3, enquanto o MB 17, está carregado positivamente (pKa = 7,4). Desta forma, além do processo difusional que leva o analito para o interior dos nanotubos, uma forte força eletrostática também favorece a interação entre TiO₂ – MB 17, aumentando, por conseguinte a corrente de pico. Por isso, este foi o pH escolhido para as medidas posteriores.



Reação 1. Processo de redução do corante MB 17, ocorrendo na presença de $2H^+$ e $2e^-$.

4.1.7 Efeito da velocidade de varredura (v)

O efeito da velocidade de varredura (v) sobre o sinal voltamétrico foi investigado no intervalo de 10 a 200 mV s^{-1} . Os respectivos valores de i_p vs $v^{1/2}$ apresentam relações lineares em todo o intervalo de velocidade de varredura investigado (Figura 16), segundo a equação: $I \text{ (mA)} = 0,6 \times v^{1/2} - 0,2 \text{ mA}$, $R^2 = 0,9977$. No entanto, o gráfico não passa pela origem. Este comportamento é típico de processo misto controlado por difusão de material pré-concentração na superfície do eletrodo.

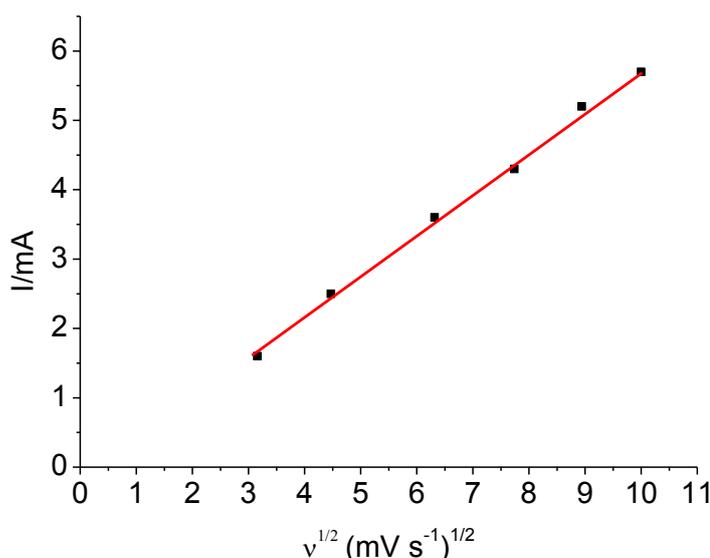


Figura 16. Gráfico de corrente de pico vs raiz quadrada da velocidade de varredura.

4.1.8 Curva Analítica

Utilizando-se as melhores condições obtidas de pH 6 e $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$ e tempo de acúmulo de 10 minutos, o método foi aplicado na construção de uma curva analítica (Fig. 17). O aumento de corrente ocorreu linearmente no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-6}$ a $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, seguindo a equação: $I_p = 47,729 [\text{MB} -17] - 2,78 \times 10^{-6}$, $R^2 = 0,99518$, $n=7$. O limite de detecção (LOD) foi calculado usando o tratamento estatístico $3 \times DP_C/b$, Onde DP_C é o desvio padrão da curva analítica e b é a inclinação (sensibilidade do método), e o valor obtido foi $1,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Já o limite de quantificação (LOQ) foi calculado seguindo a equação: $10 \times DP_C/b$ atingindo $4,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

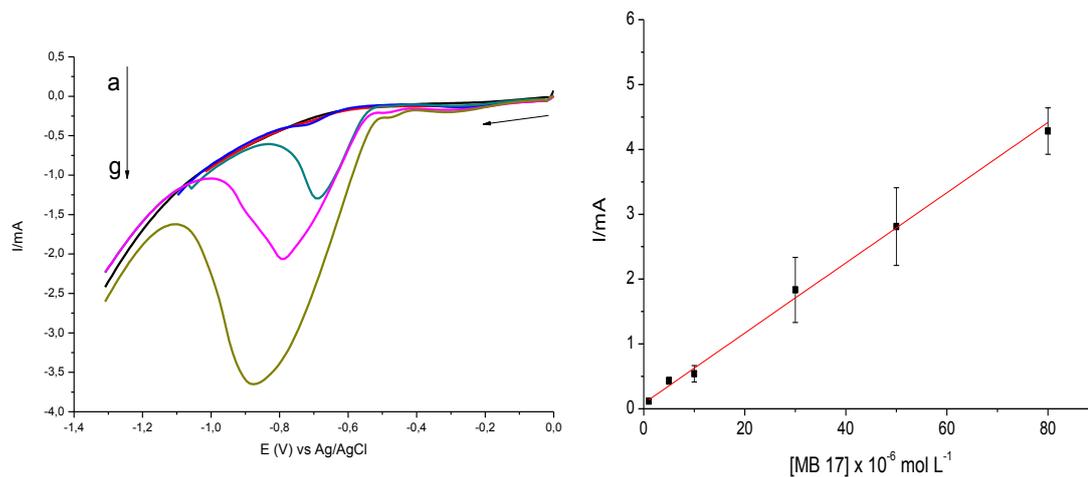


Figura 17. Voltamogramas de varredura linear registrados para a redução do corante MB 17 em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R, pH 6,0 em concentração de: (a) Branco; (b) $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (c) $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (d) $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (e) $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17; (f) $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17 e (g) $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de MB 17. Ao lado: curva analítica. $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$, pH 6, tempo de acúmulo = 10 min.

4.1.9 Interferência de outros corantes na detecção do corante MB 17

A interferência de outros corantes de cabelo na curva voltamétrica do corante MB 17 é importante, pois na formulação da tintura de cabelo pode haver misturas de corantes. Assim, foram testadas a resposta de 2 outros corantes típicos, também pertencentes a família dos corantes de cabelo temporário: Azul básico 99 (AB 99) e Amarelo básico 57 (AB 57), cujas estruturas são mostradas na Figura 18.

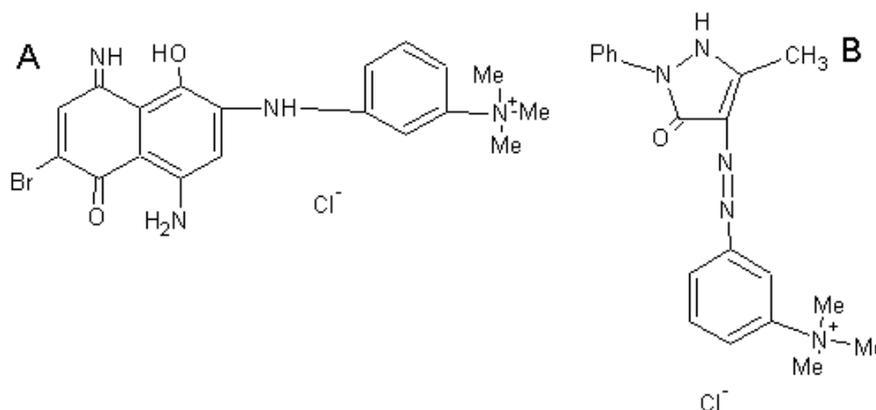


Figura 18. Estrutura dos corantes (A) Azul Básico 99 e (B) Amarelo Básico 57.

Voltamogramas de varredura linear obtidos para comparação da redução dos corantes MB 17, AB 99 e AB 57 em concentração individual de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ após pré-acúmulo durante 10

min e $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$, são mostrados na Fig. 19. O corante Azul Básico 99 apresenta um pico de pequena intensidade na região próxima onde o MB 17 reduz (-0,70 V). Já o AB 57 não apresenta pico de redução na região de potencial estudada. Esse sinal de intensidade baixa, provavelmente, deve-se à diferença de pKa dos corantes (AB 99 = 6,9 e AB 57 = 5,8) que minimiza a atração eletrostática entre TiO_2 não protonado e corantes também sem protonação.

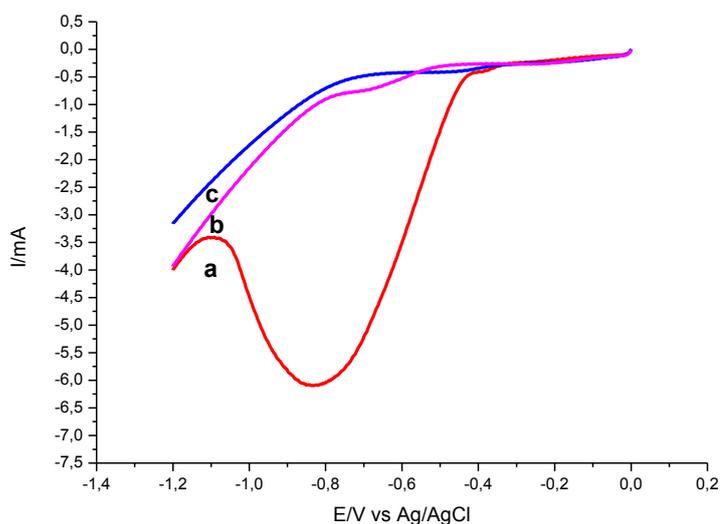


Figura 19. Voltamogramas lineares registrados a partir de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ dos corantes: (a) Marrom básico 17; (b) Azul básico 99 e (c) Amarelo básico 57. Solução de tampão B-R, pH 6, $v = 60 \text{ mVs}^{-1}$.

4.1.10 Aplicação do método

O método proposto foi então aplicado em uma amostra de água de torneira contaminada propositalmente com $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante MB 17 e $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de AB 99 e AB 57. A amostra foi submetida à análise voltamétrica usando o método da adição de padrão de alíquotas de $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante MB 17. Os respectivos voltamogramas são mostrados na Figura 20. A análise da corrente de pico mostra uma média de recuperação ($n=5$) de $99,4 \pm 1,4\%$. Estes resultados indicam que o método proposto permite a determinação do corante de cabelo MB 17 em água mesmo na presença de outros corantes de cabelo.

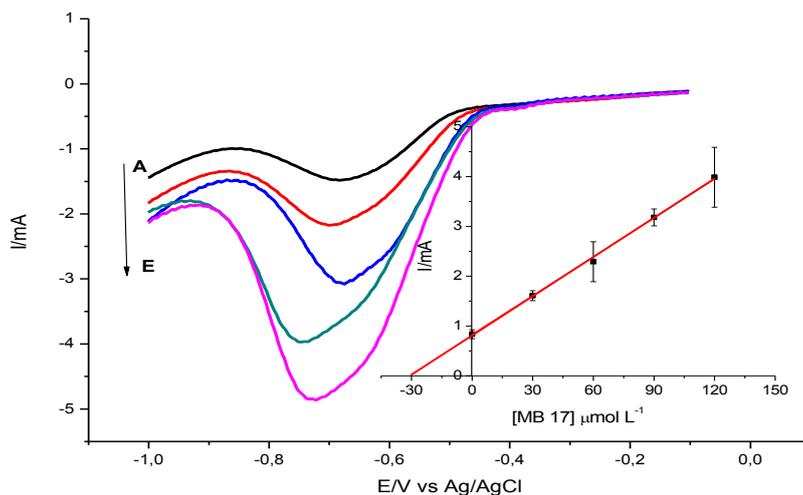


Figura 20. Voltamogramas de varredura linear obtidos para a determinação de MB 17 em amostra de água de torneira contaminada propositalmente com $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de MB 17 e $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ de AB 99 e AB 57 antes (A) e após (B – E) sucessivas adições do padrão MB 17 ($3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹). Parâmetros: pH 6,0, $v = 60$ mV s⁻¹. Inserção: Curva analítica de adição do padrão.

4.2 Estudo do comportamento eletroquímico do corante Verde Ácido 25

Na segunda etapa investigou-se a possibilidade de desenvolver um sensor voltamétrico para o corante verde ácido 25 (Figura 21) utilizando EMNTC.

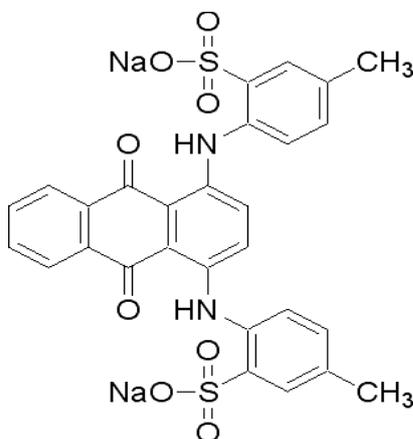


Figura 21. Estrutura química do corante Verde Ácido 25.

A Figura 22 apresenta o voltamograma correspondente à redução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de VA 25 sobre o eletrodo de carbono vítreo (Curva A) e o eletrodo modificado com nanotubos de carbono (Curva B) em solução de tampão B-R ($0,04$ mol L⁻¹). É possível observar que o corante não apresenta o perfil de reação reversível, quando reduzido sobre o eletrodo de CV ($i_{pa}/i_{pc} = 0,25$ e $\Delta E = |E_{pc} - E_{pa}| = 90$ mV). Entretanto, um comportamento reversível e

observado, quando reduzido sobre o EMNTC, sendo visíveis os dois picos – de redução e oxidação.

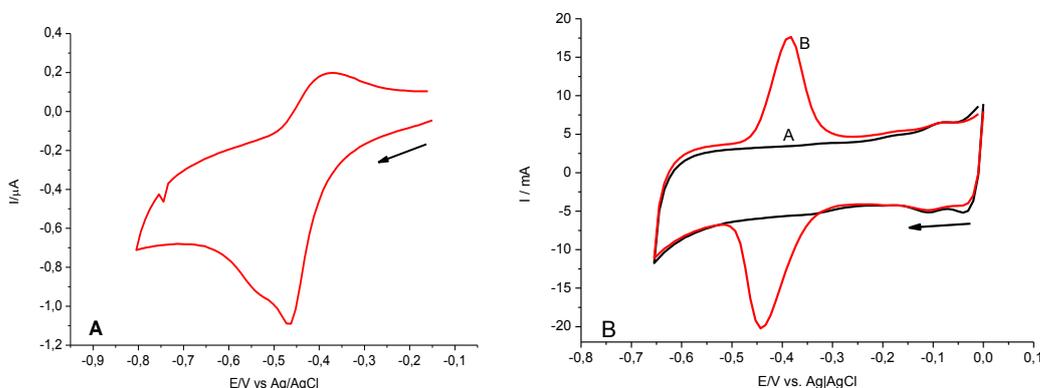


Figura 22. Estudo do comportamento de corante VA 25 sobre o EMNTC: (A) o comportamento na redução do VA 25 sobre eletrodo de Carbono Vítreo e (B) a redução sobre o ECMN (A) branco e (B) na presença do AV 25. 1×10^{-4} mol L⁻¹ de VA 25, pH 4,0 – solução de tampão B-R (0,04 mol L⁻¹), $v = 60$ mV s⁻¹.

A redução do grupo antraquinona apresenta um pico de redução ao redor de -0,44 V e um pequeno ombro em potencial ligeiramente mais positivo atribuído a adsorção do reagente^{38, 114}. Na varredura reversa observa-se um pequeno pico ao redor de -0,39V, cujo valor de $\Delta E = 30$ mV e os valores de $I_{pa}/I_{pc} = 0,96$.

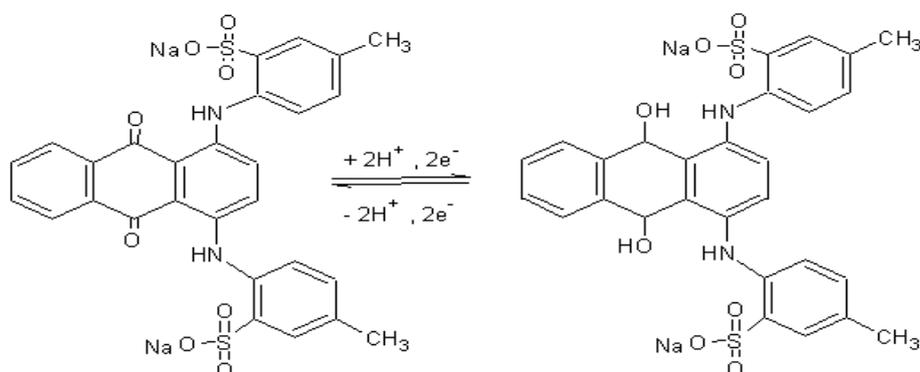
Com E ($E_a + E_c$)/2 centralizado em -413 mV vs. Ag|AgCl. O número de elétrons pode ser calculado a partir da equação 2¹¹⁹:

$$E_a - E_c = \frac{57}{n} \text{ mV} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde E_a é o potencial de pico anódico, E_c é o potencial de pico catódico e n é o número de elétrons. Dessa forma o número de elétrons envolvidos na reação é de 1,9 elétrons. Os picos de redução e oxidação separados por $\Delta E = |E_{pc} - E_{pa}| = -30$ mV e a razão de $i_{pa}/i_{pc} = 0,96$. Mostrando que o eletrodo apresenta perfil de reação reversível. Além disto, a corrente de pico produzida pela redução do VA 25 sobre o ECMN é pelo menos 15 vezes superior ao eletrodo de CV sem modificação, mostrando que a redução no eletrodo modificado amplifica o sinal voltamétrico. Este comportamento pode ser atribuído à redução da antraquinona/hidroquinona após a transferência de dois elétrons ao grupo cromóforo do corante.

Na literatura¹²⁰⁻¹²² é possível encontrar relatos sobre o comportamento eletroquímico da antraquinona (AQ) onde aparecem dois picos redox, ambos envolvendo a transferência de $1e^-/H^+$. E algumas vezes relatados a resposta de um único pico redox em solução aquosa, o

que corresponde a uma reação envolvendo $2e^-/2H^+$ baseada na resposta redox da AQ (Reação 2).



Reação 2. Processo de redução e oxidação do corante Verde Ácido 25.

Visando melhorar a resposta do EMNTC, o mesmo foi submetido a varreduras em meio ácido para eliminação de material orgânico proveniente do solvente (dimetilformamida) da sua superfície, aumentando, assim sua área. O eletrodo foi submetido à ciclagem eletroquímica entre intervalo de potencial de -0,15 a 1,3 V (10 ciclos), $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, em solução H_2SO_4 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) desoxigenada com N_2 por 15 minutos. Os eletrodos, ativo e não ativo, foram submetidos à varredura em solução $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de VA 25 para comparação com relação à resposta. Os respectivos voltamogramas obtidos são apresentados na Figura 23. Pode-se observar um ligeiro aumento na corrente de pico para o eletrodo de EMNTC ativado, sugerindo que a redução do corante é favorecida. Além disso, há uma diminuição no E_c , demonstrando que há um efeito eletrocatalítico. Deste modo este procedimento foi adotado nas medidas posteriores.

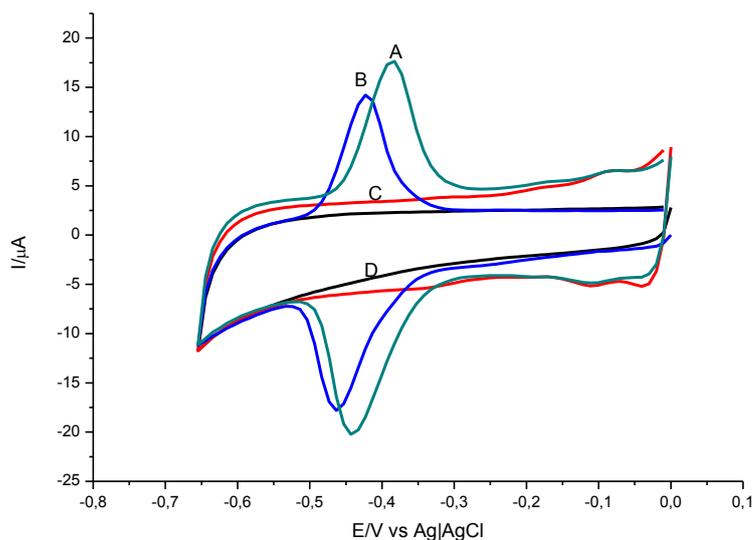


Figura 23. Voltamogramas cíclicos correspondentes a: (A) EMNTC Ativado em solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 . Na presença de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$; (B) ECMN sem ativação na presença de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$; (C) ECMN Ativado em solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 na presença de eletrólito suporte; e (D) ECMN sem ativação na presença do eletrólito suporte. pH 4, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$.

A área ativa do eletrodo modificado, $5,44 \times 10^{-5} \text{ cm}^2$, foi calculada usando os dados obtidos a partir de uma solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, aplicando a equação de Randles-Sevcik³⁸:

$$I_p = 2,686 \times 10^5 n^{3/2} A c D^{1/2} v^{1/2}$$

Onde I_p é a corrente de pico, n corresponde ao número de elétrons envolvidos na reação, A corresponde à área do eletrodo em cm^2 , D refere-se ao coeficiente de difusão em $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$, c equivale à concentração em mol cm^{-3} e v é a velocidade de varredura em V s^{-1} .

4.2.1 Estudo de Espectroscopia Impedância Eletroquímica (EIE).

A EIE foi utilizada para fazer o estudo sobre a resistência e capacitância, que ocorre na superfície dos dois eletrodos (ativado e não ativado). Desta forma, foi empregado o uso da EIE no estudo de comportamento do corante AV 25 sobre a superfície dos eletrodos modificados com Nanotubos de carbono.

Visualizando inicialmente a região correspondente a de mais altas frequências, onde são estudados os processos de transferência de carga na superfície, há um crescimento dos valores de impedância, como pode ser observado pelo aumento do arco capacitivo em função da ativação do eletrodo (Fig. 24). Admitindo que o valor de impedância obtido a partir da extrapolação do arco capacitivo até o eixo real dos diagramas está correlacionado ao valor de

resistência a transferência de carga (R_{tc}). É possível observar que o eletrodo modificado, quando ativado, apresenta resistência de transferência de carga menor que o não ativado (ECMN ativado = 67,5 K Ω e ECMN não-ativado = 96,8 K Ω).

Essa menor resistência pode ser atribuída à eliminação do resíduo orgânico proveniente do dimetilformamida. Tornando o processo de transferência de carga menor e consequentemente maior velocidade de transferência de carga.

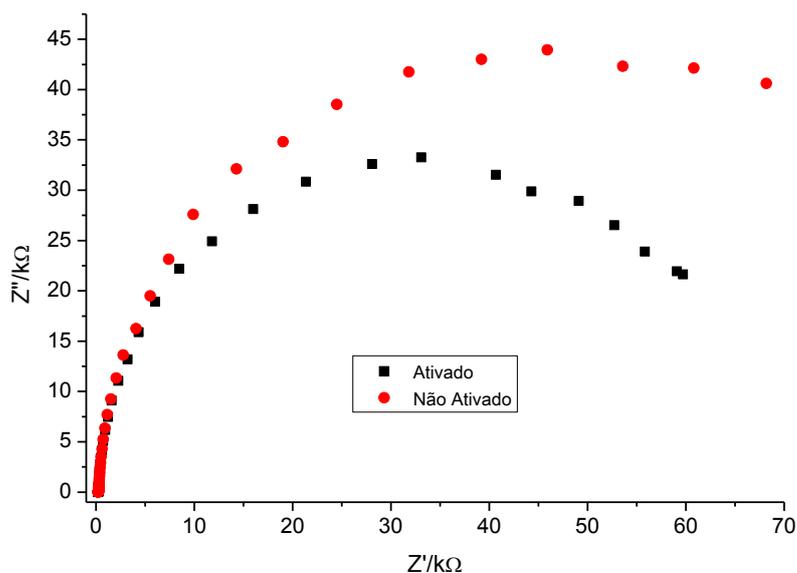


Figura 24. Gráfico Nyquist registrado dos diferentes ECMN (ativado e não ativado) em $1,0 \times 10^{-6}$ mol L $^{-1}$, 0,04 mol L $^{-1}$ de solução de tampão BR, pH = 4,0.

4.2.2 Estudo de pré-concentração do corante Verde Ácido 25

Devido a estrutura porosa dos nanotubos, foi feito um estudo de pré-concentração do corante VA 25. Para isso, voltamogramas cíclicos foram obtidos para redução de $1,0 \times 10^{-5}$ mol L $^{-1}$ de AV 25 em solução de tampão B-R (0,04 mol L $^{-1}$), pH 6,0, sob agitação proveniente do fluxo de N $_2$ usado para desaerar a solução, controlando os tempos de pré-acúmulo do corante sob circuito aberto e agitação entre 0 a 48 min (Figura 25A). É possível observar que o sinal voltamétrico aumenta com o tempo de acúmulo, tanto da corrente de pico catódica (I_{pc}) quanto da corrente de pico anódica (I_{pa}) e desloca-se para valores de potenciais mais negativos (E_{pc}) e positivo (E_{pa}), indicando comportamento típico de adsorção do analito sobre a superfície do eletrodo. Os respectivos valores de corrente em função do tempo de acúmulo (Fig. 25B) mostra um aumento linear da corrente em função do tempo de acúmulo até 8 min. Em tempos superiores a limitação da corrente devido a saturação dos sítios eletroativos nos

nanotubos de carbono usado como modificador e tempos de pré- acumulo de 10 min foram utilizados nas medidas posteriores.

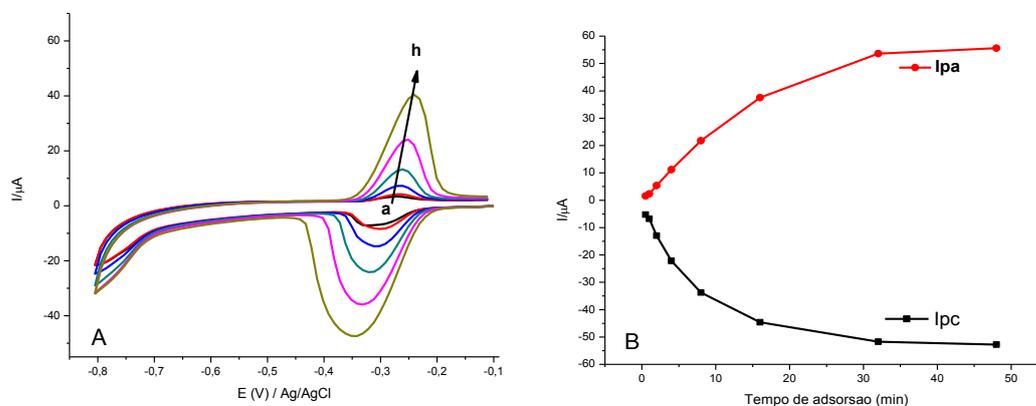


Figura 25. A) Voltamogramas cíclicos obtidos para redução $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante sobre ECMN em diferentes tempos de acúmulo: (a) 0 min; (b) 1 min; (c) 2 min; (d) 4 min; (e) 8 min; (f) 16 min; (g) 32 min e (h) 48 min. Em solução de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$. B) Relação entre corrente de pico e tempo de adsorção do corante.

4.2.3 Estudo de limpeza da superfície do EMNTC

Considerando a importância de utilizar sucessivamente o mesmo eletrodo na construção de um sensor voltamétrico, investigou-se a seguir a remoção do material pré-concentrado na superfície com lavagem usando diferentes solventes para renovação da superfície do eletrodo. Para isto, utilizou-se os seguintes eletrólitos: álcool, água deionizada e acetona. Entre os registros dos voltamogramas, os eletrodos foram submetidos à lavagem por agitação mecânica com os diferentes solventes acima citados, recolocados na solução do analito e submetidos a nova redução. De acordo com os gráficos mostrados na Figura 26, é possível observar que a lavagem do eletrodo com álcool pura permite uma melhor repetibilidade da resposta do eletrodo. Medidas envolvendo 10 repetições da resposta voltamétrica monitorando a redução de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante sobre o eletrodo EMNTC permite média de corrente de $26,7 \mu\text{A}$ e um coeficiente de variação (CV) de 6,5% entre as medidas.

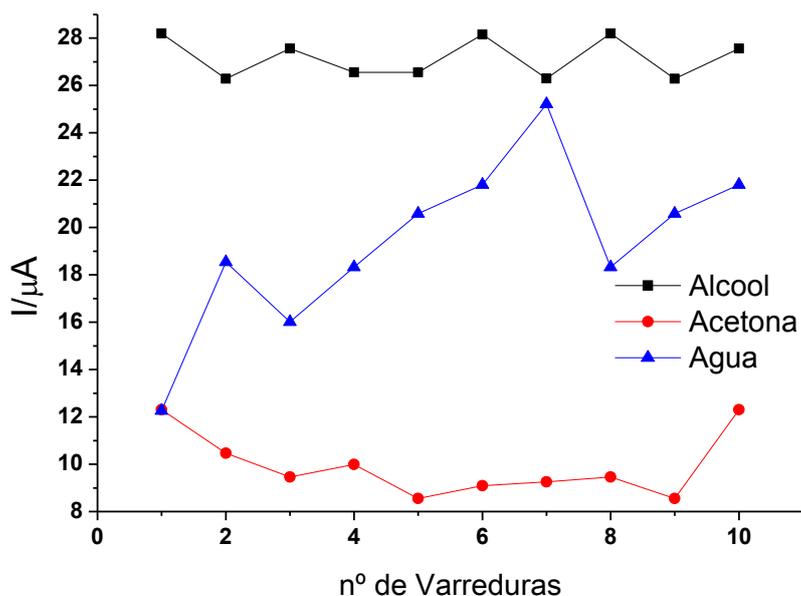


Figura 26. Efeito da lavagem com: acetona, CV= 12,5%, Água, CV=22% e Álcool, CV=6,5%, na resposta do eletrodo de EMNTC.

4.2.4 Efeito do pH na resposta do Verde Ácido 25

A influência da variação de pH foi investigada entre pH 2,0 e 10,0, utilizando-se soluções de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante em solução de tampão B-R com o pH sendo ajustado com hidróxido de sódio ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), sob velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} . A Figura 26 mostra que uma relação linear entre E_p vs. pH com inclinação de $65,9 \text{ mV}$ por unidade de pH. De acordo com a literatura¹¹⁸, a redução dos compostos orgânicos dependentes de equilíbrio de protonação pode apresentar deslocamentos de potenciais simbolizadas pela equação 1

$$\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \text{pH}} = \frac{59}{n} m H^+ \quad (\text{Equação 1})$$

Onde $\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \text{pH}}$ corresponde aos valores da inclinação da curva E_{pc} vs. pH, $n = n^\circ$ de elétrons e $m H^+ = n^\circ$ de prótons envolvidos na reação de protonação. Considerando, que os dois grupos quinona em meio de pH 4 pode envolver a transferência de 2 elétrons, o valor de $\frac{\Delta E_{1/2}}{\Delta \text{pH}} = 65,9 \text{ mV}$ estaria envolvendo 1,7 prótons¹¹⁴.

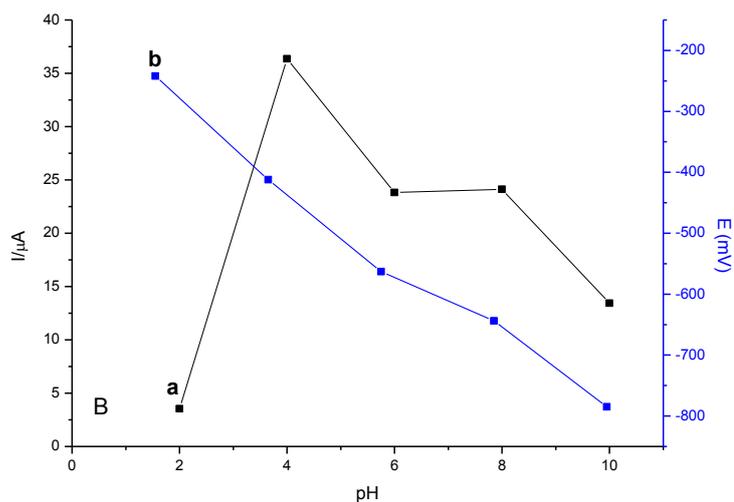


Figura 27. Influência do pH na corrente de pico catódica (a) e potencial de pico de redução (b) de 1×10^{-5} mol L⁻¹ do corante Verde Ácido 25 em solução de tampão B-R (0,04 mol L⁻¹). $U = 40$ mV s⁻¹, Tempo de acumulo = 10 min.

Utilizando os dados contidos na tabela 2 verifica-se um deslocamento do E_{pc} de 20 mV (para valores mais negativos) para um aumento de 10 vezes na velocidade de varredura de potencial para a redução do corante em pH 4,0.

De acordo com os critérios de Nicholson e Shain¹²³, deslocamentos com velocidade de varredura pode ser consequência de processos totalmente irreversíveis ou processos reversíveis acoplados a reações irreversíveis. Isto porque, segundo a literatura, o deslocamento catódico do potencial de aproximadamente 20 mV para um aumento de 10 vezes da velocidade de varredura é diagnóstico de um sistema irreversível. Quando o deslocamento catódico é dessa grandeza em baixas velocidades de varredura, o processo é indicativo da ocorrência de uma transferência de carga reversível seguida de uma reação química irreversível^{123, 124}.

Tabela 2. Influência da velocidade de varredura sobre os potenciais de pico e correntes de pico do corante VA 25, $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, em solução de tampão B-R, pH 4,0.

U (mV s ⁻¹)	I_{pc}	I_{pa}	I_{pa}/I_{pc}	E_{pc}	$E_{pc} - E_{pa}$	$I_{pc}/V^{1/2}$
10	$2,43 \times 10^{-5}$	$2,04 \times 10^{-5}$	0,84	0,412	0,101	$2,43 \times 10^{-4}$
20	$3,37 \times 10^{-5}$	$3,55 \times 10^{-5}$	1,05	0,392	0,091	$2,38 \times 10^{-4}$
40	$5,27 \times 10^{-5}$	$6,05 \times 10^{-5}$	1,15	0,402	0,111	$2,64 \times 10^{-4}$
60	$6,72 \times 10^{-5}$	$8,02 \times 10^{-5}$	1,19	0,412	0,131	$2,74 \times 10^{-4}$

80	$7,93 \times 10^{-5}$	$9,60 \times 10^{-5}$	1,21	0,422	0,151	$2,80 \times 10^{-4}$
100	$8,95 \times 10^{-5}$	$1,09 \times 10^{-4}$	1,22	0,432	0,171	$2,83 \times 10^{-4}$

Outro critério para diferenciar os processos eletródicos consiste na interpretação de curvas envolvendo a função corrente ($I_{pc}/U^{1/2}$) vs. U (Fig. 28), que dependendo da forma da curva observada pode fornecer melhores informações quanto a natureza do processo eletródico.

Segundo a literatura^{123, 124}, um gráfico da função ($I_{pc}/U^{1/2}$) vs. U constante pode ser indícios de um sistema de transferência de carga reversível ou irreversível. Caso a irreversibilidade seja provocada por reações químicas precedentes ao processo de transferência de carga, deve-se observar um aumento destes valores em função do aumento de U . No entanto, reações de transferência de carga acopladas a reações químicas subsequentes são caracterizadas por valores ($I_{pc}/U^{1/2}$) vs. U que diminuem em função da velocidade de varredura.

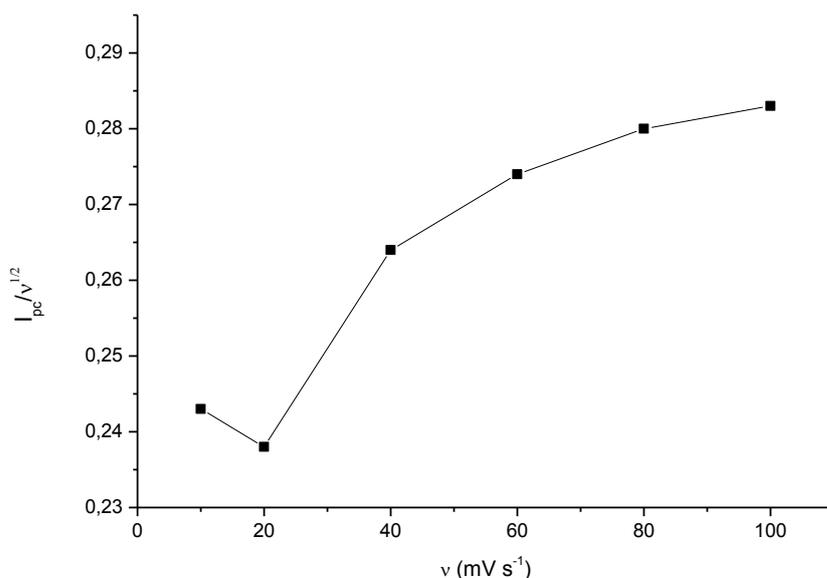


Figura 28. Influência da velocidade de varredura sobre a função de corrente, obtida de voltamogramas cíclicos para o corante VA 25 $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, em solução de tampão B-R, pH 4.

Deste modo, pode-se sugerir que em meio ácido (pH 4) a redução da função antraquinona ocorre segundo um processo de transferência de carga reversível acoplado a uma reação química reversível precedente.

Este resultado confirma o diagnóstico observado no estudo de E_p vs. pH, que sugere um processo eletródico com redução das respectivas quinonas na forma pré-protonada.

O efeito do pH sobre o I_{pc} também foi investigada e os resultados obtido com $U = 0,04 \text{ V s}^{-1}$ são mostrados na figura 27. É possível observar que o I_{pc} varia conforme variação do pH. Entre os valores de pH 2 e 4, há um aumento da intensidade da corrente, entretanto a intensidade do I_{pc} volta a diminuir entre os valores de pH 4 e 10, apresentando um platô de corrente entre pH 6 e 8 e reduz novamente quando atinge o pH 10.

Esse comportamento pode ser explicado devido o fato de os nanotubos de carbono apresentarem dois pK_a 's ($pK_{a1} = 3,5 - 4,1$ e $pK_{a2} = 5,8 - 7,1$), que dependem do numero de grupos carboxílicos ligados à sua superfície¹²⁵. Dessa forma, no pH 4 o ECMN apresenta carga negativa, enquanto o VA 25 ($pK_a = 6,53$) apresenta carga positiva. Nos pH acima de 4 há um maior predomínio das cargas negativas, fazendo com que haja uma repulsão entre superfície e corante consequentemente, uma queda na intensidade da corrente.

4.2.4 Efeito da velocidade de varredura (v)

O estudo da velocidade de varredura sobre a redução do corante VA 25 foi realizada no intervalo de 10 mV s^{-1} a 100 mV s^{-1} em solução de tampão B-R, pH 4.

Os voltamogramas cíclicos para a redução do VA 25 $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes velocidades de varredura de potencial são mostrados na Figura 29A.

Os respectivos valores de i_p vs $v^{1/2}$ apresentam relações lineares em todo o intervalo de velocidade de varredura investigado como mostrado na Figura 29B. No entanto, o gráfico não passa pela origem sugerindo comportamento típico de processo misto controlado por difusão de material pré- adsorvido.

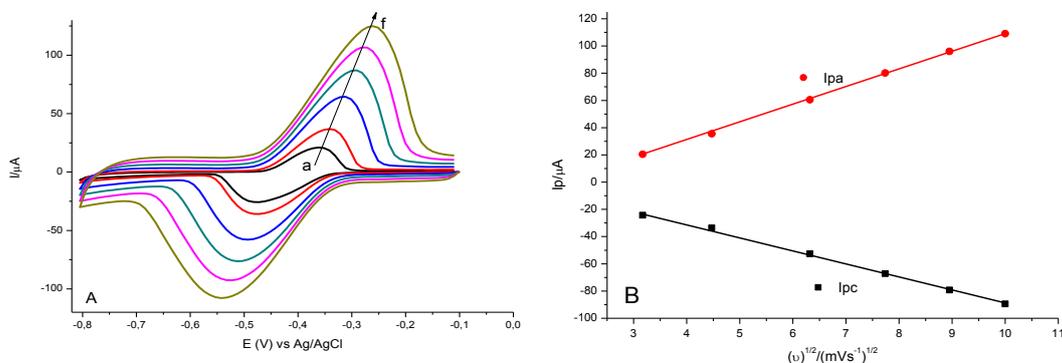


Figura 29. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em tampão B-R pH 6 em diferentes velocidades de varredura: (a) 10 mV s^{-1} ; (b) 20 mV s^{-1} ; (c) 40 mV s^{-1} ; (d) 60 mV s^{-1} ; (e) 80 mV s^{-1} e (f) 100 mV s^{-1} ; (B) Gráfico de corrente de pico vs raiz quadrada da velocidade de varredura.

4.2.5 Curva analítica usando Voltametria Linear

Usando as melhores condições experimentais para determinação do corante por voltametria de varredura linear, tampão B-R pH 6,0, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$, tempo de acúmulo = 8 min, o método foi aplicado na construção de uma curva analítica para determinação do corante no intervalo de concentração de $1,0 \times 10^{-7}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (Fig. 30). A corrente de pico catódica aumenta linearmente em todo o intervalo de concentração seguindo a equação: $I_p = 2,2198 \mu\text{A} \cdot \text{mol}^{-1} \text{L} [\text{VA 25}] + 1 \times 10^{-6} \mu\text{A}$, $r^2 = 0,9996$, $n=7$. O limite de detecção (LOD) foi calculado usando o tratamento estatístico $3 \times DP_c/b$ e os valores obtidos foram $1,23 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$. Enquanto o limite de quantificação (LOQ) foi calculado com base na equação $10 \times DP_c/b = 4,10 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

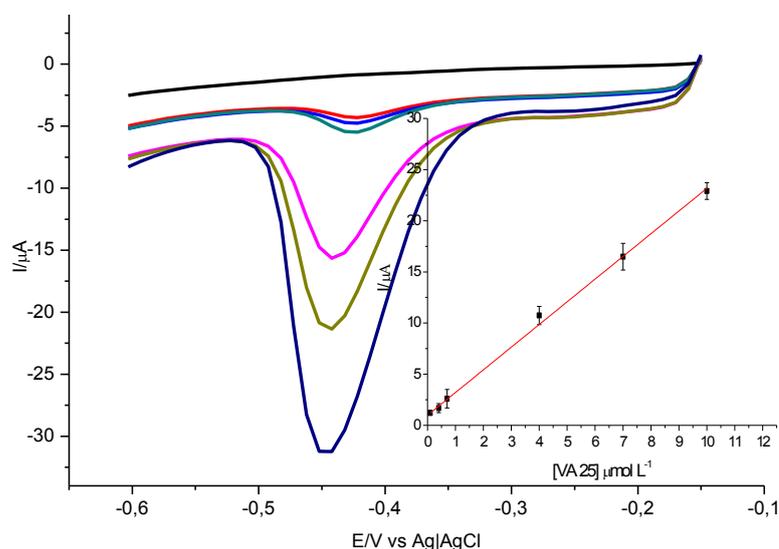


Figura 30. Voltamogramas lineares registrados em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R para o aumento de concentração de VA 25 ($1,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Inserção: curva analítica da dependência do I_p em relação a [VA 25]. Parâmetros: pH 4,0, $v = 60 \text{ mV s}^{-1}$.

4.2.6 Otimização dos parâmetros de Voltametria de Onda Quadrada

A Voltametria de Onda Quadrada (SWV – Square Wave Voltammetry) apresenta uma série de vantagens sobre a voltametria cíclica, como: a possibilidade de se obter correntes de pico bem definidas em experimentos executados em alta velocidade de varredura, melhorando, assim, a sensibilidade da técnica. Além disto, por tratar-se de uma técnica de pulso, a corrente faradaica pode ser coletada em um intervalo de tempo adequado para que a contribuição da corrente capacitiva tenha se minimizado¹²⁶. É possível, pela observação dos sinais das

varreduras direta e inversa, se obter as informações análogas àquelas obtidas utilizando-se a VC, porém com uma sensibilidade maior devido à minimização da contribuição da corrente capacitiva¹²⁶.

Por isso, a fim de aumentar a sensibilidade do método, o comportamento voltamétrico de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante VA 25 em tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$, pH 4, foi investigado usando a técnica de voltametria de onda quadrada.

Considerando as características inerentes da técnica investigou-se a seguir a influência dos parâmetros na curva voltamétrica, tais como variação da frequência (f) de 10 Hz a 60 Hz e da amplitude de pulso (ΔE) de 5 mV a 100 mV. Os resultados são mostrados na Figura 31A. Para melhor interpretação desses parâmetros também foram calculados e mostrados na Figura 31B os gráficos de I_p vs $W_{1/2}$ (largura do pico de meia altura) e I_p vs. ΔE (amplitude de pico).

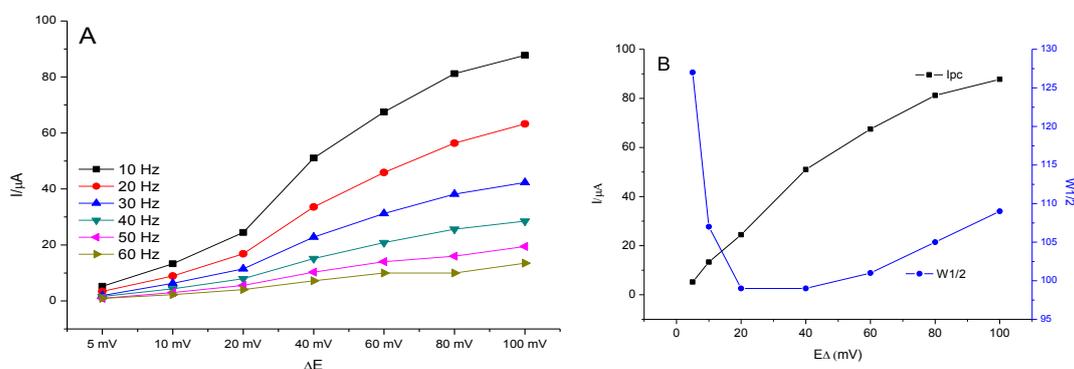


Figura 31. (A) Efeito da frequência e amplitude de pulso sobre a corrente obtida na redução de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do corante Verde Ácido 25 em solução de tampão B-R $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ pH 4, por voltametria de onda quadrada. (B) Influência da amplitude de pulso na técnica de voltametria de onda quadrada para determinação do corante VA 25 $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, em solução de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão B-R ($f = 10 \text{ Hz}$).

Como é possível observar na figura 31A, a f que apresenta a maior intensidade de I_p é de $f = 10 \text{ Hz}$. Este comportamento não é condizente com o que a literatura sugere, de que quanto maior a frequência aplicada, maior será o I_p . O que pode explicar esse comportamento é que o analito está tão fortemente adsorvido que em velocidades mais altas não consegue reduzi-lo completamente, por isso I_p cai à medida que a frequência aumenta. Devido a esse comportamento, essa frequência foi usada para a construção da curva analítica e para os estudos de interferência e recuperação.

A variação da amplitude de pulso (ΔE) é outra maneira de obter uma melhor sensibilidade analítica, isto porque, sistemas redox apresentam ganho na sensibilidade quando se aumenta a amplitude dos pulsos de potencial¹²⁶. Por isso foi estudado a variação da amplitude na faixa

de 5 a 100 mV. É possível observar que há um aumento na intensidade do I_p com o aumento da Amplitude de pulso.

Na figura 31B tem-se plotados o $W_{1/2}$ vs. ΔE . Esta relação é uma medida entre a largura do pico na metade do I_p , que refere-se a sua resolução. Quanto menor esse valor melhor a resolução do pico e mais sensível será as medidas. Apesar de as menores amplitude de pulso estarem entre 20 mV e 40 mV, a intensidade do pico foi baixa. Por isso, optou-se pela amplitude de 60 mV por apresentar boa resolução da onda voltamétrica, aliada a uma boa intensidade de I_p com relação aos outros valores de ΔE .

4.2.7 Curva Analítica

Utilizando-se os parâmetros otimizados ($f= 10\text{Hz}$ e $\Delta E= 60\text{ mV}$) construiu-se uma curva analítica no intervalo de 1×10^{-7} a $2 \times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$ em meio a $0,04\text{ mol L}^{-1}$ de tampão B-R (pH= 4), mostrada na Figura 32. Observa-se uma relação linear entre I_p vs concentração de AV 25 obedecendo a seguinte equação: $I_p= 42,7\ \mu\text{A/mol L}^{-1} \times [\text{AV } 25] + 5,1 \times 10^{-6}\ \mu\text{A}$. Coeficiente de correlação linear = 0,9998. O limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) foi de $2,7 \times 10^{-9}\text{ mol L}^{-1}$ e $8,9 \times 10^{-9}\text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

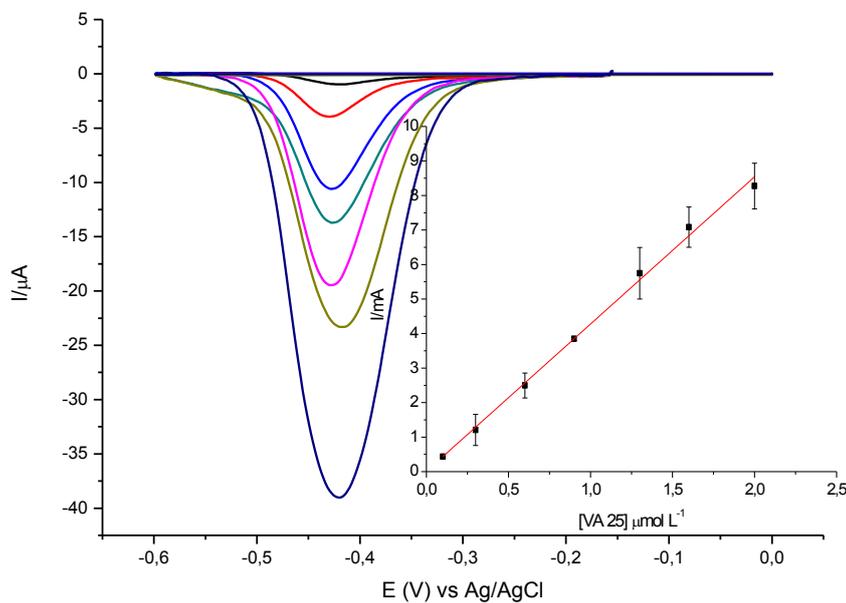


Figura 32. Voltamogramas de onda quadrada em $0,04\text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R para o aumento de concentração de AV 25 ($1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$). Inserção: curva analítica da dependência do I_p em relação a $[\text{VA } 25]$. Parâmetros: pH 4, $f= 10\text{Hz}$ e $\Delta E= 60\text{ mV}$.

4.2.8 Estudo de interferentes

A interferência de outros corantes de cabelo na curva voltamétrica do corante VA 25, foi investigada testando-se 3 corantes típicos, pertencentes a família dos corantes ácidos e básico. Dentre eles escolheu-se testar a interferência dos corantes: Azul básico 99 (AB 99), Vermelho ácido 33 (VA 33), Preto ácido 1 (PA 1) cujas estruturas são mostradas na figura 33.

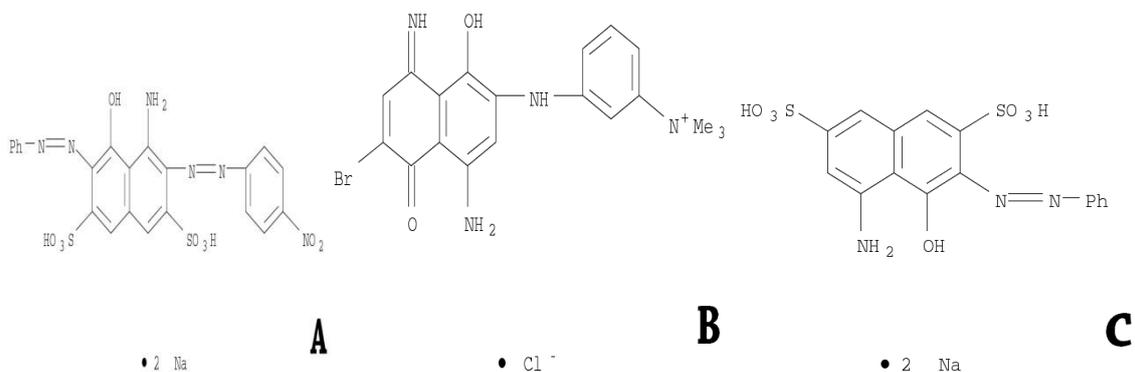


Figura 33. Estrutura química dos corantes (A) Preto Ácido 1, (B) Azul Básico 99 e (C) Vermelho Ácido 33.

Primeiramente foram realizadas varreduras de voltametria cíclica para monitorar a redução de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de cada corante em $\text{pH} = 4,0$, $U = 60 \text{ mV s}^{-1}$ e tempo de pré-acumulo de 10 min para conhecer os possíveis perfis voltamétricos dos corantes em análise sobre eletrodo modificado por nanotubos de carbono. Os voltamogramas foram registrados para amostras individuais dos corantes utilizando limpeza do eletrodo com álcool entre as medidas. Os respectivos voltamogramas são mostrados na Fig. 34. O corante Azul básico 99 apresenta picos de redução e oxidação em potenciais menos negativos ($E_{\text{pa}} = -0,270$ e $E_{\text{pc}} = -0,250$). Ambos os picos ocorrem em potenciais menos negativo que o corante Verde Ácido 25 de nosso interesse. Os outros corantes não apresentaram picos de intensidade mensurável.

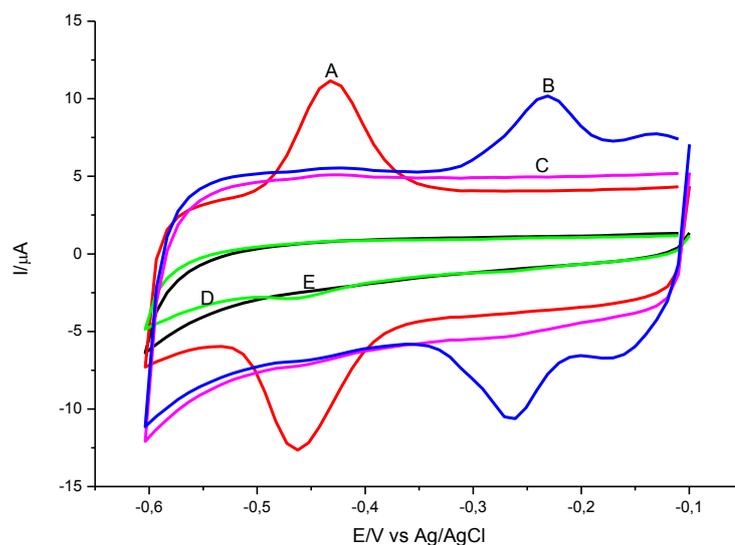


Figura 34. Voltamogramas cíclicos obtidos para redução de 1×10^{-5} mol L⁻¹ do corante VA 25 (Curva A), AB 99 (Curva B), AV 33 (Curva C) e PA 1 (Curva D) em 0,04 mol L⁻¹ solução de tampão B-R pH= 4,0. $v = 60$ mV s⁻¹. Eletrólito (Curva E).

É possível observar que o corante Azul Básico 99 é reduzido em potenciais menos negativos que o corante Verde Ácido 25, sugerindo que ambos poderiam ser monitorados simultaneamente em amostras conjuntas. No entanto, observa-se que há um aumento da corrente de pico do corante azul básico 99 e uma redução da corrente de pico do Verde Ácido 25, indicando sinais de competição pelos sítios eletroativos no tempo de acumulo utilizado. Novos estudos serão realizados para otimizar a concentração dos corantes e bloqueio da superfície, visando melhorar a detecção dos corantes simultaneamente.

4.2.9 Aplicação do método

O método foi então aplicado para determinação do corante VA 25 em amostra de água de torneira contaminada propositalmente com $4,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ do corante VA 25 e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ dos corantes analisados nos estudos de interferentes, e submetidos à análise por voltametria de onda quadrada usando o método da adição de padrão de soluções do corante VA 25 de concentração $4,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹. Os respectivos voltamogramas são mostrados na Figura 35. A análise da corrente de pico mostra uma média de recuperação ($n=5$) de $96,7 \pm 3,5\%$.

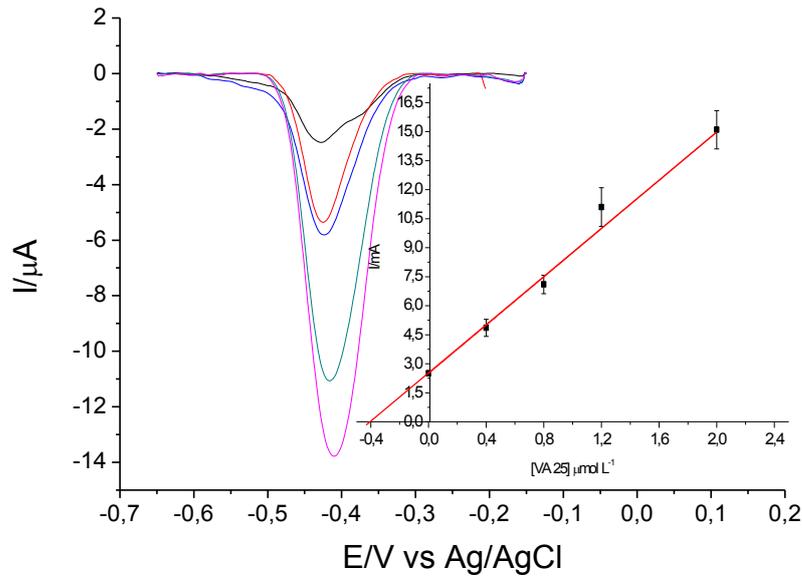
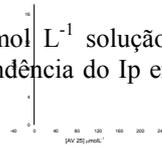


Figura 35. Voltamogramas de onda quadrada em $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ solução de tampão B-R para o aumento de concentração de AV 25. Inserção: curva analítica da dependência do I_p em relação a $[\text{VA } 25]$. Parâmetros: pH 4,0, $f=10 \text{ Hz}$ e $\Delta E=60 \text{ mV}$.



6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos demonstraram que é possível controlar o crescimento dos nanotubos de TiO_2 , assim como o seu diâmetro. Além disso, os estudos de EIE indicaram que o eletrodo formado a partir da anodização da placa de Ti metálico por 25 horas com potencial de 30 V possibilita uma maior adsorção do corante MB 17. Possibilitando, dessa forma, a pré-concentração do analito e garantindo melhor resposta voltamétrica, sem evidência de efeito de memória.

Com relação ao eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubos de paredes múltiplas, os resultados evidenciaram que o pré-tratamento feito em Ácido Sulfúrico melhora a resposta voltamétrica, diminuindo a resistência de transferência de carga e melhorando a cinética de

transferência eletrônica. Viabilizando seu emprego na determinação do corante de cabelo VA 25.

Ambos os eletrodos ofereceram bons índices de recuperação em amostras de água de torneira contaminadas com concentrações conhecidas dos analitos alvos, mesmo quando na presença de outros corantes.

Para as etapas futuras, pretende-se aplicar ambos os eletrodos na determinação dos corantes MB 17 e VA 25 em amostras comerciais e também em amostras provenientes do seu uso no processo de tintura dos cabelos.

REFERÊNCIAS

- 1 HUEBER-BECKER, F. et al. Human systemic exposure to a [¹⁴C]-para-phenylenediamine-containing oxidative hair dye and correlation with in vitro percutaneous absorption in human or pig skin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1227-1236, 2004.
- 2 INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **Informação ao consumidor**: tinturas de cabelo. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/tintura_cabelo.asp>. Acesso em: 29 set. 2009.
- 3 BOUILLON, C.; WILKINSON, J. **The science of hair care**. 2nd ed. London: Francis & Taylor, 2005. 727 p.
- 4 DRAELOS, Z. D. **Hair care**: an illustrated dermatologic. London: Taylor & Francis, 2005. 279 p.
- 5 GHOSH, P.; SINHA, A. K. Hair colors: classification, chemistry and a review of chromatographic and electrophoretic methods for analysis. **Analytical Letters**, v. 41, n. 13, p. 2291-2321, 2008.
- 6 SCARPI, C. et al. High-performance liquid chromatography determination of direct and temporary dyes in natural hair colourings. **Journal of Chromatography A**, v. 796, n. 2, p. 319-325, 1998.
- 7 ANDREW, A. S. et al. Bladder cancer risk and personal hair dye use. **International Journal of Cancer**, v. 109, n. 4, p. 581-586, 2004.
- 8 ROBBINS, C. R. **Chemical and physical behavior of human hair**. 4th ed. Berlin: Springer-Verlag, 2002. 483 p.
- 9 CHISVERT, A.; CHÁFER, A.; SALVADOR, A. Hair dyes in cosmetics. Regulatory aspects and analytical methods. **Analysis of Cosmetic Products**, p. 190-209, 2007.
- 10 HARRISON, S.; SINCLAIR, R. Hair colouring, permanent styling and hair structure. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 2, p. 180-185, 2003.
- 11 BOLT, H. M.; GOLKA, K. The debate on carcinogenicity of permanent hair dyes: new insights. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 37, p. 521-536, 2007.
- 12 KIRKLAND, D. J. et al. Testing strategies in mutagenicity and genetic toxicology: an appraisal of the guidelines of the european scientific committee for cosmetics and non-food products for the evaluation of hair dyes. **Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 588, p. 88-105, 2008.
- 13 SARDAS, S.; AYGUN, N.; KARAKAYA, A. E. Genotoxicity studies on professional hair colorists exposed to oxidation hair dyes. **Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 394, p. 153-161, 1997.

- 14 WATANABE, T.; HIRAYAMA, T.; FUKUI, S. Mutagenicity of commercial hair-dyes and detection of 2,7-diaminophenazine. **Mutation Research**, v. 244, p. 303-308, 1990.
- 15 LYNCH, B. S.; DELZELL, E. S.; BECHTEL, D. H. Toxicology review and risk assessment of resorcinol: thyroid effects. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 36, p. 198-202, 2002.
- 16 NOHYNEK, G. J. et al. Under the skin: biotransformation of para-aminophenol and para-phenylenediamine in reconstructed human epidermis and human hepatocytes. **Toxicology Letters**, v. 158, p. 196-212, 2005.
- 17 BUDAVARI, S. (Ed.). **The Merck index: an encyclopedia of chemical, drugs, and biologicals**. 11th ed. Rahway: Merck & Co., 1989. 1606 p.
- 18 SCHOTTENFELD, D.; FRAUMENI, J. F. **Cancer epidemiology and prevention**. 3rd ed. New York: Oxford University Press, 2005. 1416 p.
- 19 KOGEVINASA, M. et al. Hair dye use is not associated with risk for bladder cancer: Evidence from a case-control study in Spain. **European Journal of Cancer**, v. 42, p. 1448-1454, 2006.
- 20 RAUSCHER, G. H.; SHORE, D.; SANDLER, D. P. Hair dye use and risk of adult acute leukemia. **American Journal of Epidemiology**, v. 160, n. 1, p. 19-25, 2004.
- 21 CZENE, K.; TIIKKAJA, S.; HEMMINKI, K. Cancer risks in hairdressers: Assessment of carcinogenicity of hair dyes and gels. **International Journal of Cancer**, v. 105, n. 1, p. 108-112, 2003.
- 22 ZHENG, T. et al. Use of hair colouring products and breast cancer risk: a case-control study in Connecticut. **European Journal of Cancer**, v. 38, p. 1647-1652, 2002.
- 23 COOK, L. S. et al. Hair product use and the risk of breast cancer in young women. **Cancer Causes and Control**, v. 10, p. 551-559, 1999.
- 24 ALTEKRUSE, S. F.; HENLEY, S. J.; THUN, M. J. Deaths from hematopoietic and other cancers in relation to permanent hair dye use in a large prospective study (United States). **Cancer Causes & Control**, v. 10, p. 617-625, 1999.
- 25 ZAHM, S. H. et al. Use of hair coloring products and the risk of lymphoma, multiple myeloma, and chronic lymphocytic leukemia. **American Journal of Public Health**, v. 82, p. 990-997, 1992.
- 26 NAGATA, C. et al. Hair dye use and occupational exposure to organic solvents as risk factors for myelodysplastic syndrome. **Leukemia Research**, v. 23, p. 57-62, 1999.
- 27 WANG, L. H.; TSAI, S. J. Simultaneous determination of oxidative hair dye p-phenylenediamine and its metabolites in human and rabbit biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 312, n. 2, p. 201-207, 2003.

- 28 NARITA, M.; MURAKAMI, K.; KAUFFMANN, J. M. Determination of dye precursors in hair coloring products by liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 588, n. 2, p. 316-320, 2007.
- 29 LIZIER, T. M.; BOLDRIN ZANONI, M. V. Effect of Ionic Liquid on the Determination of Aromatic Amines as Contaminants in Hair Dyes by Liquid Chromatography Coupled to Electrochemical Detection. **Molecules**, v. 17, n. 7, p. 7961-7979, 2012.
- 30 ANDRISANO, V. et al. Analysis of semipermanent hair dyes by HPLC with on-line post-column photochemical derivatisation. **Chromatographia**, v. 44, n. 7-8, p. 431-437, 1997.
- 31 WANG, S.-P.; HUANG, T.-H. Separation and determination of aminophenols and phenylenediamines by liquid chromatography and micellar electrokinetic capillary chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 534, p. 207-214, 2005.
- 32 AKYUZ, M.; ATA, S. Determination of aromatic amines in hair dye and henna samples by ion-pair extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, n. 1, p. 68-80, 2008.
- 33 MASUKAWA, Y. Separation and determination of basic dyes formulated in hair care products by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 1108, n. 1, p. 140-144, 2006.
- 34 HOSSEINI, M.; MOMENI, M. M.; FARAJI, M. An innovative approach to electro-oxidation of dopamine on titanium dioxide nanotubes electrode modified by gold particles. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 40, p. 1421-1427, 2010.
- 35 RAOOF, J. B. et al. Electrodeposition of quercetin at a multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode as a novel and efficient voltammetric sensor for simultaneous determination of levodopa, uric acid and tyramine. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 166-167, p. 508-518, 2012.
- 36 NASCIMENTO, V. B.; ANGNES, L. Eletrodos fabricados por "silk-screen". **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 614-629, 1998.
- 37 PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. D. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalítica. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1012-1021, 2002.
- 38 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: Fundamentals and Applications**. 2nd ed. New York: John Wiley, 2001. 833 p.
- 39 KUMARAVEL, A.; CHANDRASEKARAN, M. A biocompatible nano TiO₂/nafion composite modified glassy carbon electrode for the detection of fenitrothion. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 650, p. 163-170, 2011.
- 40 FAN, Y. et al. TiO₂-graphene nanocomposite for electrochemical sensing of adenine and guanine. **Electrochimica Acta**, v. 56, p. 4685-4690, 2011.

- 41 HOSSEINI, M. G. et al. An innovative electrochemical approach for voltammetric determination of levodopa using gold nanoparticles doped on titanium dioxide nanotubes. **Micromicrochimica Acta**, v. 172, p. 103-108, 2011.
- 42 CHEN, C.-Y.; CHEN, A.-H. Photocatalytic Si nanowires/TiO₂ microparticles with extended absorption edge up to 700 nm. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 45, p. 1-4, 2012.
- 43 OH, J.-K. et al. TiO₂ rutile nanowire electrodes for dye-sensitized solar cells. **Materials Letters**, v. 68, p. 4-7, 2012.
- 44 SHINDE, D. V. et al. SnO₂ nanowall-arrays coated with rutile-TiO₂ nanoneedles for high performance dye-sensitized solar cells. **Dalton Transactions**, v. 41, p. 10161-10163, 2012.
- 45 WANG, R.-C.; HSU, C.-C.; CHEN, S.-J. Hydrogen-plasma-assisted growth of anatase TiO₂ nanoneedles on Ti plates. **Industrial Engineering Chemistry Research**, v. 51, p. 3677-3681, 2012.
- 46 GRIMES, C. A. Synthesis and application of highly ordered arrays of TiO₂ nanotubes. **Journal of Materials Chemistry**, v. 17, p. 1451-1457, 2007.
- 47 ZHAO, R. et al. A pH sensor based on the TiO₂ nanotube array modified Ti electrode. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 5647-5651, 2010.
- 48 FAN, Y.; HUANG, K.-J.; NIU, D.-J.; YANG, C.-P.; JING, Q.-S. TiO₂-graphene nanocomposite for electrochemical sensing of adenine and guanine. **Electrochimica Acta**, v. 49, p. 1494-1498, 2010.
- 49 LEE, J. et al. A hydrogen gas sensor employing vertically aligned TiO₂ nanotube arrays prepared by template-assisted method. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 160, p. 1494-1498, 2011.
- 50 GAN, Y. X.; GAN, B. J.; SU, L. Biophotofuel cell anode containing self-organized titanium dioxide nanotube array. **Materials Science and Engineering B: Advanced Functional Solid-State Materials**, v. 176, n. 15, p. 1197-1206, 2011.
- 51 LUOA, S. et al. A new method for fabricating a CuO/TiO₂ nanotube arrays electrode and its application as a sensitive nonenzymatic glucose sensor. **Talanta**, v. 86, p. 157-163, 2011.
- 52 BRUGNERA, M. F. et al. Bisphenol A removal from wastewater using self-organized TiO₂ nanotubular array electrodes. **Chemosphere**, v. 78, p. 569-575, 2010.
- 53 WANG, X.; ZHANG, S.; SUNN, L. A Two-step anodization to grow high-aspect-ratio TiO₂ nanotubes. **Thin Solid Films**, v. 519, p. 4694-4698, 2011.
- 54 SEO, M.-H. et al. Microstructure control of TiO₂ nanotubular films for improved VOC sensing. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 154, p. 251-256, 2011.

- 55 XU, H. et al. Application of ultrasonic wave to clean the surface of the TiO₂ nanotubes prepared by the electrochemical anodization. **Applied Surface Science**, v. 257, p. 8478-8480, 2011.
- 56 LI, C. et al. Development of a parathion sensor based on molecularly imprinted nano-TiO₂ self-assembled film electrode. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 117, n. 1, p. 166-171, 2006.
- 57 SHIBLI, S. M. A.; SUMA, N. D.; DILIMON, V. S. Development of TiO₂-supported RuO₂ composite-incorporated Ni-P electrodes for amperometric measurement of ethanol. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 129, n. 1, p. 139-145, 2008.
- 58 LIANG, X. et al. Solid-state potentiometric SO₂ sensor combining NASICON with V₂O₅-doped TiO₂ electrode. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 134, n. 1, p. 25-30, 2008.
- 59 MAZLOUM-ARDAKANI, M. et al. Selective voltammetric determination of D-penicillamine in the presence of tryptophan at a modified carbon paste electrode incorporating TiO₂ nanoparticles and quinizarine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 644, n. 1, p. 1-6, 2010.
- 60 YI, Q.; NIU, F.; YU, W. Pd-modified TiO₂ electrode for electrochemical oxidation of hydrazine, formaldehyde and glucose. **Thin Solid Films**, v. 519, n. 10, p. 3155-3161, 2011.
- 61 THIAGARAJAN, S.; SU, B.-W.; CHEN, S.-M. Nano TiO₂-Au-KI film sensor for the electrocatalytic oxidation of hydrogen peroxide. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 136, n. 2, p. 464-471, 2009.
- 62 LO, P.-H.; KUMAR, S. A.; CHEN, S.-M. Amperometric determination of H₂O₂ at nano-TiO₂/DNA/thionin nanocomposite modified electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 66, p. 266-273, 2008.
- 63 QU, Y. et al. Au-TiO₂/Chit modified sensor for electrochemical detection of trace organophosphates insecticides. **Talanta**, v. 76, p. 758-762, 2008.
- 64 WU, Y. Nano-TiO₂/dihexadecylphosphate based electrochemical sensor for sensitive determination of pentachlorophenol: **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 137, p. 180-184, 2009.
- 65 CURULLI, A. et al. Smart (Nano) materials: TiO₂ nanostructured films to modify electrodes for assembling of new electrochemical probes. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 111-112, p. 441-449, 2005.
- 66 LU, C.; CHEN, Z. High-temperature resistive hydrogen sensor based on thin nanoporous rutile TiO₂ film on anodic aluminum oxide. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 140, p. 109-115, 2009.

- 67 XING, L. et al. Pt modified TiO₂ nanotubes electrode: Preparation and electrocatalytic application for methanol oxidation. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, p. 12169-12173, 2010.
- 68 ZHOU, Q.; HUANG, Y.; XIE, G. Investigation of the applicability of highly ordered TiO₂ nanotube array for enrichment and determination of polychlorinated biphenyls at trace level in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1237, p. 24-29, 2012.
- 69 KWON, Y. et al. Enhanced ethanol sensing properties of TiO₂ nanotube sensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 173, p. 441-446, 2012.
- 70 HAN, X. et al. Electrocatalytic activity of Pt doped TiO₂ nanotubes catalysts for glucose determination. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 500, p. 247-251, 2010.
- 71 IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, p. 56, 1991.
- 72 VELOSO, C. M.; RANGEL, M. D. C. Preparação de carbonos porosos por moldagem sequencial. **Química Nova**, v. 32, p. 2133-2141, 2009.
- 73 PUNBUSAYAKUL, N. Carbon nanotubes architectures in electroanalysis. **Procedia Engineering**, v. 32, p. 683-689, 2012.
- 74 SALIMIR, A.; HALLAJ, R. Catalytic oxidation of thiols at preheated glassy carbon electrode modified with abrasive immobilization of multiwall carbon nanotubes: applications to amperometric detection of thiocytosine, l-cysteine and glutathione. **Talanta**, v. 66, p. 967-975, 2005.
- 75 WANG, Y.-R. et al. Application of carbon nanotube modified electrode in bioelectroanalysis. **Chinese Journal Analytical Chemistry**, v. 36, p. 1011-1016, 2008.
- 76 FENG, M. et al. Electrochemical sensors based on carbon nanotubes. In: ZHANG, X.; JU, H.; WANG, J. (Ed.). **Electrochemical sensors, biosensors and their biomedical applications**. London: Academic Press, 2008. Cap. 15, p. 459-501.
- 77 HU, C.; HU, S. Carbon nanotube-based electrochemical sensors: principles and applications in biomedical systems. **Journal of Sensors**, v. 2009, p. 40, 2009.
- 78 LUO, H. X. et al. Investigation of the electrochemical and electrocatalytic behavior of single-wall carbon nanotube film on a glassy carbon electrode. **Analytical Chemistry**, v. 73, n. 5, p. 915-920, 2001.
- 79 YAMAMOTO, K. et al. Study of carbon nanotubes - HRP modified electrode and its application for novel on-line biosensors. **Analyst**, v. 128, n. 3, p. 249-254, 2003.
- 80 YAN, X. X. et al. Electrochemical behavior of L-dopa at single-wall carbon nanotube-modified glassy carbon electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 569, n. 1, p. 47-52, 2004.

- 81 ZHAO, Q.; GU, Z. N.; ZHUANG, Q. K. Electrochemical study of tetra-phenyl-porphyrin on the SWNTs film modified glassy carbon electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 6, n. 1, p. 83-86, 2004.
- 82 WANG, J.; HOCEVAR, S. B.; OGOREVC, B. Carbon nanotube-modified glassy carbon electrode for adsorptive stripping voltammetric detection of ultratrace levels of 2,4,6-trinitrotoluene. **Electrochemistry Communications**, v. 6, n. 2, p. 176-179, 2004.
- 83 WANG, G.; XU, J. J.; CHEN, H. Y. Interfacing cytochrome c to electrodes with a DNA - carbon nanotube composite film. **Electrochemistry Communications**, v. 4, n. 6, p. 506-509, 2002.
- 84 GUO, M. L. et al. Electrochemical characteristics of the immobilization of calf thymus DNA molecules on multi-walled carbon nanotubes. **Bioelectrochemistry**, v. 62, n. 1, p. 29-35, 2004.
- 85 CHEN, J.; CAI, C. X. Promotion of the direct electron transfer of hemoglobin by the carbon nanotube. **Chinese Chemical Letters**, v. 15, n. 7, p. 813-816, 2004.
- 86 WU, F. H.; ZHAO, G. C.; WEI, X. W. Electrocatalytic oxidation of nitric oxide at multi-walled carbon nanotubes modified electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 4, n. 9, p. 690-694, 2002.
- 87 ZHAO, G. C. et al. Myoglobin on multi-walled carbon nanotubes modified electrode: direct electrochemistry and electrocatalysis. **Electrochemistry Communications**, v. 5, n. 9, p. 825-829, 2003.
- 88 HU, C. G. et al. Investigation on electrochemical properties of carbon nanotubes. **Diamond and Related Materials**, v. 12, n. 8, p. 1295-1299, 2003.
- 89 QU, J. Y. et al. Preparation of hybrid thin film modified carbon nanotubes on glassy carbon electrode and its electrocatalysis for oxygen reduction. **Chemical Communications**, n. 1, p. 34-35, 2004.
- 90 LEFRANT, S. et al. SERS spectroscopy studies on the electrochemical oxidation of single-walled carbon nanotubes in sulfuric acid solutions. **Synthetic Metals**, v. 144, n. 2, p. 133-142, 2004.
- 91 LIM, S. H. et al. A glucose biosensor based on electrodeposition of palladium nanoparticles and glucose oxidase onto Nafion-solubilized carbon nanotube electrode. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 20, n. 11, p. 2341-2346, 2005.
- 92 VALENTINI, F. et al. Carbon nanotubes as electrode materials for the assembling of new electrochemical biosensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 100, n. 1-2, p. 117-125, 2004.

- 93 BRITTO, P. J.; SANTHANAM, K. S. V.; AJAYAN, P. M. Carbon nanotube electrode for oxidation of dopamine. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 41, n. 1, p. 121-125, 1996.
- 94 DAVIS, J. J.; COLES, R. J.; HILL, H. A. O. Protein electrochemistry at carbon nanotube electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 440, n. 1-2, p. 279-282, 1997.
- 95 RUBIANES, M. D.; RIVAS, G. A. Carbon nanotubes paste electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 5, n. 8, p. 689-694, 2003.
- 96 VALENTINI, F. et al. Carbon nanotube purification: Preparation and characterization of carbon nanotube paste electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 20, p. 5413-5421, 2003.
- 97 WANG, J.; MUSAMEH, M. Carbon nanotube/teflon composite electrochemical sensors and biosensors. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 9, p. 2075-2079, 2003.
- 98 PUMERA, M.; MERKOCI, A.; ALEGRET, S. Carbon nanotube-epoxy composites for electrochemical sensing. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 113, n. 2, p. 617-622, 2006.
- 99 WU, K. B.; HU, S. S. Deposition of a thin film of carbon nanotubes onto a glassy carbon electrode by electropolymerization. **Carbon**, v. 42, n. 15, p. 3237-3242, 2004.
- 100 PAN, D. W. et al. An amperometric glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in electropolymerized poly(o-aminophenol) and carbon nanotubes composite film on a gold electrode. **Analytical Sciences**, v. 21, n. 4, p. 367-371, 2005.
- 101 VEGA, D. et al. Electrochemical detection of phenolic estrogenic compounds at carbon nanotube-modified electrodes. **Talanta**, v. 71, n. 3, p. 1031-1038, 2007.
- 102 RAOOF, J. B. et al. Electrodeposition of quercetin at a multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode as a novel and efficient voltammetric sensor for simultaneous determination of levodopa, uric acid and tyramine. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 166, p. 508-518, 2012.
- 103 LU, S. F. Electrochemical determination of 8-azaguanine in human urine at a multi-carbon nanotubes modified electrode. **Microchemical Journal**, v. 77, n. 1, p. 37-42, 2004.
- 104 JAINN, R. et al. Glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes sensor for the quantification of antihistamine drug pheniramine in solubilized systems. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 2, p. 56-61, 2012.
- 105 ZHAO, Y. F. et al. Selective detection of dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid by a carbon nanotubes-ionic liquid gel modified electrode. **Talanta**, v. 66, p. 51-57, 2005.
- 106 YE, J. S. et al. Selective voltammetric detection of uric acid in the presence of ascorbic acid at well-aligned carbon nanotube electrode. **Electroanalysis**, v. 15, p. 1693-1698, 2003.

- 107 SHAHROKHIAN, S.; ASADIAN, E. Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, acetaminophen and isoniazid using thionine immobilized multi-walled carbon nanotube modified carbon paste electrode. **Electrochimica Acta**, v. 55, p. 666-672, 2010.
- 108 SALIMI, A. et al. A novel non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on single walled carbon nanotubes–manganese complex modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, v. 56, p. 3387-3394, 2011.
- 109 CHAUHAN, N.; PUNDIR, C. S. An amperometric biosensor based on acetylcholinesterase immobilized onto iron oxide nanoparticles/multi-walled carbon nanotubes modified gold electrode for measurement of organophosphorus insecticides. **Analytica Chimica Acta**, v. 701, p. 66-74, 2011.
- 110 GAN, Y. X.; GAN, B. J.; SU, L. Biophotofuel cell anode containing self-organized titanium dioxide nanotube array. **Materials Science and Engineering B: Advanced Functional Solid-State Materials**, v. 176, p. 1197-1206, 2011.
- 111 JAROENWORALUCK, A. et al. Macro, micro and nanostructure of TiO₂ anodised films prepared in a fluorine-containing electrolyte. **Journal of Materials Science**, v. 42, n. 16, p. 6729-6734, 2007.
- 112 LIU, G. et al. Progress on free-standing and flow-through TiO₂ nanotube membranes. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, v. 98, p. 24-38, 2012.
- 113 LIU, H.; TAO, L.; SHEN, W. Z. Optimal self-organized growth of small anodic TiO₂ nanotubes with "micro-annealing" effect under complex conditions via reaction-diffusion approach. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 11, p. 3905-3913, 2011.
- 114 LUND, H.; BAIZER, M. M. **Organic electrochemistry: an introduction and guide**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1983. 1550 p.
- 115 LISDAT, F.; SCHAEFER, D. The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 391, n. 5, p. 1555-1567, 2008.
- 116 OHNO, R. et al. Electrochemical impedance spectroscopy biosensor with interdigitated electrode for detection of human immunoglobulin A. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 40, n. 1, p. 422-426, 2013.
- 117 QI, H.; WANG, C.; CHENG, N. Label-free electrochemical impedance spectroscopy biosensor for the determination of human immunoglobulin G. **Microchimica Acta**, v. 170, n. 1-2, p. 33-38, 2010.
- 118 BROWN, E. R.; LARGE, R. F. **Cyclic voltametry, techniques af chemistry**. New York: John Willey and Sons, 1971. v. 1.
- 119 BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry: principles, methods, and applications**. Oxford: Oxford Univesrity, 1993, 427 p.

- 120 HARISH, S. et al. Barrier films to control loss of 9,10-anthraquinone-2-sulphonate dopant from PEDOT films during electrochemical transitions. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 13, p. 3618-3622, 2009.
- 121 KUMAR, A. S.; SWETHA, P. Simple adsorption of anthraquinone on carbon nanotube modified electrode and its efficient electrochemical behaviors. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 384, n. 1-3, p. 597-604, 2011.
- 122 CARNEIRO, P. A. et al. Decolourization of anthraquinone reactive dye by electrochemical reduction on reticulated glassy carbon electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 4, p. 587-594, 2004.
- 123 NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I. Theory of stationary electrode polarography - single scan + cyclic methods applied to reversible irreversible + kinetic systems. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 4, p. 706-723, 1964.
- 124 FRY, A. J. **Synthetic organic electrochemistry**. New York: John Wiley, 1989. 339 p.
- 125 MANSOR, N. B. A. et al. Chemically modified multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) with anchored acidic groups. **Sains Malaysiana**, v. 41, n. 5, p. 603-609, 2012.
- 126 SOUZA, D. D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.