

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 23/03/2019.

MAÍSA AZEVEDO BELUOMINI

Sensores eletroquímicos para determinação de polióis na vinhaça de cana-de-açúcar baseados em eletrodos modificados com polímeros molecularmente impressos em grafeno contendo nanopartículas metálicas

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Nelson Ramos Stradiotto

Araraquara

FICHA CATALOGRÁFICA

B425s Beluomini, Maísa Azevedo
Sensores eletroquímicos para determinação de polióis na vinhaça da cana-de-açúcar baseados em eletrodos modificados com polímeros molecularmente impressos em grafeno contendo nanopartículas metálicas / Maísa Azevedo Beluomini. – Araraquara : [s.n.], 2018
152 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Nelson Ramos Stradiotto

1. Óxidos metálicos. 2. Grafeno. 3. Impressão molecular. 4. Eletrodeposição. 5. Polióis. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

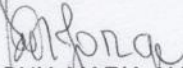
TÍTULO DA TESE: "Sensores eletroquímicos para determinação de polióis na vinhaça de cana-de-açúcar baseados em eletrodos modificados com polímeros molecularmente impressos em grafeno contendo nanopartículas metálicas"


AUTORA: MAÍSA AZEVEDO BELUOMINI

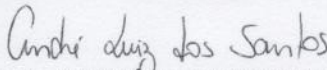
ORIENTADOR: NELSON RAMOS STRADIOTTO

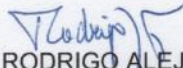
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em QUÍMICA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. NELSON RAMOS STRADIOTTO
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara


Profa. Dra. SONIA MARIA ALVES JORGE
Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu


Prof. Dr. LEONARDO LATARO PAIM
Departamento de Engenharia de Energia / Campus Experimental de Rosana - UNESP - Rosana


Prof. Dr. ANDRÉ LUIZ DOS SANTOS
Curso de Química / Faculdade de Ciências Integradas do Pontal - UFU - Ituiutaba


Prof. Dr. RODRIGO ALEJANDRO ABARZA MUNOZ
Universidade Federal de Uberlândia / Instituto de Química - UFU - Uberlândia

Araraquara, 23 de março de 2018

DADOS CURRICULARES

1 DADOS PESSOAIS

Nome: Maísa Azevedo Beluomini

Nacionalidade: Brasileira

Nascimento: 25/03/1988

Naturalidade Orândia – SP

Endereço Profissional: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”
Instituto de Química de Araraquara - Departamento de Química Analítica
Rua Prof. Francisco Degni, 55, Bairro Quitandinha
Araraquara, 14800–900, SP – Brasil.

Telefone (16) 3301-9581

Endereço eletrônico mabeluomini@gmail.com

2 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2014 - 2018 **Doutorado em Química**

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP,
Araraquara, Brasil.

Título: " Sensores eletroquímicos para determinação de polióis na vinhaça de cana-de-açúcar baseados em eletrodos modificados com polímeros molecularmente impressos em grafeno contendo nanopartículas metálicas”.

Orientador: Prof. Nelson Ramos Stradiotto

- 2017 - 2017** **Estágio de Pesquisa no Exterior** (Processo nº 88881.135116/2016-01).
University of Ca 'Foscari – Veneza, Itália.
- Título: "Desenvolvimento de sensor eletroquímico baseado em polímeros molecularmente impressos em eletrodos modificados com nanofios de ouro para determinação de L-arabitol em vinhaça de cana-de-açúcar.
Orientadores: Prof. Nelson Ramos Stradiotto e Prof. Paolo Ugo.
- 2011 - 2013** **Mestrado em Química**
- Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP,
Araraquara, Brasil.
- Título: "Detecção eletroquímica de ácidos urônicos presentes fibra do bagaço de cana-de-açúcar utilizando eletrodo modificado com nanopartículas de cobre em técnica de HPLC”.
- Orientador: Prof. Nelson Ramos Stradiotto
- 2006 - 2011** **Graduação em Química**
- Universidade Federal de Uberlândia, UFU.
Uberlândia, Brasil.
- Título do trabalho de Iniciação Científica: “Produção de Biodiesel a partir de óleo de canola em conjunto com a Rede de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Biocombustíveis de Minas Gerais”.
- Orientador: Manuel Gonzalo Hernández-Terrones (*in memoriam*).

3 PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Artigos completos publicados em periódicos

1. **Beluomini, M.A.**; Silva, J.L.; Stradiotto, N.R. Amperometric determination of myo-inositol by using a glassy carbon electrode modified with molecularly imprinted polypyrrole, reduced graphene oxide and nickel nanoparticles. *Microchemica Acta*. 2018. DOI 10.1007/s00604-018-2710-0
2. Freitas, P.V.; Da Silva, D.R.; **Beluomini, M.A.**; Da Silva, J.L.; Stradiotto, N.R. Determination of phenolic acids in sugarcane vinasse by HPLC with pulse amperometry. *Journal of analytical methods in chemistry*, p. 1-10, 2018.
3. **Beluomini, M.A.**; Da Silva, J.L.; Sedenho, G.C.; Stradiotto, N.R. D-mannitol sensor based on molecularly imprinted polymer on electrode modified with reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles. *Talanta*, v. 165, p. 231-239, 2017.
4. Sedenho, G.C.; Da Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; De Sá, A. C.; Stradiotto, N.R. Determination of electroactive organic acids in sugarcane vinasse by high performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection using a nickel nanoparticle modified boron-doped diamond. *Energy & Fuels*, v. 31, p. 2865-2870, 2017.
5. Da Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Sedenho, G.C.; Stradiotto, N.R. Determination of amino acids in sugarcane vinasse by ion chromatographic using nickel nanoparticles on reduced graphene oxide modified electrode. *Microchemical Journal*, v. 134, p. 374-382, 2017.
6. Moreira, L.F.P.P.; **Beluomini, M.A.**; De Souza, J.C.; Stradiotto, N.R. Study of the Electrochemical Behavior of Biodiesel Microemulsion. *Electroanalysis*, v. 29, p. 1941-1949, 2017.
7. **Beluomini, M. A.**; Silva, J.L.; Stradiotto, N.R. Determination of uronic acids in sugarcane bagasse by anion-exchange chromatography using an electrode modified with copper nanoparticles. *Anal. Methods*, v. 7, p. 2347–2353, 2015.

8. Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R. Determination of furanic aldehydes in sugarcane bagasse by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection using a modified electrode with nickel nanoparticles. *Journal of Separation Science*, v. 38, p. 3176-3182, 2015.

9. De souza, J.C.; Toci, A. T.; **Beluomini, M.A.**; Eiras, S.P. Spectrophotometric Determination of Copper(II) in Sugarcane Spirit Using 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol and a Homogeneous Ternary Mixture of the Solvents Water, Ethanol and Methyl Isobutyl Ketone. *Revista Virtual de Química*, v. 8, p. 687-701, 2016.

10. Batista, A. C. F.; Viera, A.T.; Rodrigues, H.S.; Silva, T.A.; Assunção, R.M.N.; **Beluomini, M.A.**; Rezende, H.P.; Hernandez-Terrones, M.G. Production and physicochemical characterization of methylic and ethylic biodiesel from canola oil. *Revista Brasileira de Engenharia de Biosistemas*, v. 8, p. 289-298, 2015.

4 TRABALHOS PUBLICADOS EM ANAIS DE EVENTOS NO PERÍODO

4.1 Resumos publicados em anais de congressos científicos internacionais

1. **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R.; UGO, P. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer and 3D-ensembles of gold nanowires for L-arabitol detection. **In: 24th Young Investigators Seminar on Analytical Chemistry**, Veneza, Itália, 2017.

2. **Beluomini, M.A.**; Silva J.L.; Stradiotto, N.R. Electrochemical sensors for monitoring of myo-inositol in sugarcane vinasse based on molecularly imprinted polymer and nanostructures. **In: III Brazilian Bioenergy Science and Technology Conference - BBEST**, Campos do Jordão, 2017.

3. Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R. Amino acids determination in sugarcane vinasse by anion-exchange chromatography with electrochemical detection. **In: III Brazilian Bioenergy Science and Technology Conference - BBEST**, Campos do Jordão. 2017

4. **Beluomini, M.A.**; Silva, J.L.; Stradiotto, N.R. Determination of Uronic Acids in Sugarcane Bagasse by Anion-exchange Chromatography using Electrode Modified with Copper Nanoparticles. **In: 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry**, Lausanne, Switzerland, 2014.

5. Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R. Determination of Furan Aldehydes by HPLC-PAD using Electrode Modified with Nickel Nanoparticles in Bagasse sugarcane. **In: 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry**, Lausanne, Switzerland, 2014.

4.2 Resumos publicados em anais de congressos científicos nacionais

1. Moreira, L.F.P.P.; **Beluomini, M.A.**; Souza, J.C.; Stradiotto, N.R. Estudo do comportamento eletroquímico do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em microemulsões de biodiesel. **In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica –SIBEE**, Natal, 2017.

2. **Beluomini, M.A.**; Da Silva, J.L.; Stradiotto, N.R. Molecularly imprinted sensor based on electropolymerized poly(o-phenylenediamine) in electrode modified with reduced graphene oxide and gold nanoparticles for d-mannitol determination. **In: 18° Encontro Nacional de Química Analítica**, 2016, Florianópolis. Anais do 18° Enqa, 2016.

3. Freitas, P.V.; Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Silva, D.R.; Stradiotto, N.R. Chromatographic determination of polyphenols in sugarcane vinasse using electrochemical detection. **In: 18° Encontro nacional de química analítica**, 2016, Florianópolis. Anais do 18° Enqa, 2016.

4. **Beluomini, M.A.**; Da Silva, J.L.; Stradiotto, N.R. Determinação de polióis em eletrodo modificado com nanopartículas de cobre em grafeno por técnicas voltamétricas. **In: XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, 2015, Uberlândia.

5. Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R. Anion-exchange chromatographic determination of amino acids in sugarcane vinasse using nickel nanoparticles in reduced graphene oxide modified electrode. **In: 18° Encontro Nacional de Química Analítica**, 2016, Florianópolis. Anais do 18° Enqa, 2016.

6. Ferrari, T.B.; **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R. Quantification of major Carbohydrates in Sugarcane Biomass per Deconvolution of peaks using Modified Electrode with Gold Nanoparticles. In: **The energy & Material Research Conference**, 2015, Madrid. The energy & Material Research Conference. Madrid: Formatex research center, 2015. v. 1. p. 41-41.

7. Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R. Chromatographic determination of amino acids in sugarcane vinasse using modified electrode with graphene oxide containing nickel nanoparticles. In: **XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica**, Uberlândia, 2015.

8. **Beluomini, M.A.**; Silva, J.L.; Stradiotto, N.R. New method for determination of uronic acids in sugarcane bagasse using HPLC with modified electrode with copper nanoparticles. In: **2nd Brazilian Bioenergy Science and Technology Conference**. Campos do Jordão, 2014.

9. Silva, J.L.; **Beluomini, M.A.**; Stradiotto, N.R. Determination chromatographic of furanic aldehydes in sugarcane bagasse using modified electrode with nickel nanoparticles. In: **2nd Brazilian Bioenergy Science and Technology Conference**, Campos do Jordão. 2014.

5 CO-ORIENTAÇÃO

2015 – 2017 - Luiz Felipe Pompeu Prado Moreira. Iniciação científica. Estudo do comportamento eletroquímico do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em microemulsões de biodiesel. UNESP-IQCar.

2014 – 2015 - Tarso Bortolucci Ferrari. Desenvolvimento de novos métodos de caracterização de material lignocelulósico para produção de etanol de segunda geração. UNESP- IQCar.

6 OUTRAS INFORMAÇÕES

2014 - Melhor pôster do II Workshop de Bioenergia - Unesp, II Workshop de Bioenergia - Unesp - Instituto de Pesquisa em Bioenergia, 2014.

*Aos meus pais, Enio e Elisa
por todo amor, incentivo e confiança.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, força, saúde e bênçãos durante essa trajetória.

Aos meus pais, Enio e Elisa, por todo amor, apoio, valores e por acreditar em mim e nos meus sonhos. Amo muito vocês!

Aos meus avós Santana (*in memoriam*) e Enio, pelo amor, carinho e torcida inestimável.

Aos meus tios, José Luiz e Dulce, por toda ajuda e carinho.

Ao Prof. Nelson Ramos Stradiotto não somente pela grande orientação, mas por toda confiança, incentivo e valiosos ensinamentos que me fizeram crescer profissionalmente.

Às professoras do grupo de eletroanalítica, Maria Valnice Boldrin Zanoni, Hideko Yamanaka e Maria Del Pilar Taboada Sotomayor, pela amizade, apoio, agradável convivência e contribuições à minha formação acadêmica.

Aos professores membro da banca de qualificação, Profa. Dra. Maria Del Pilar T. Sotomayor e Prof. Dr. Denis Ricardo Martins de Godoi e aos professores membros da banca de defesa, Prof. Dr. André Luiz dos Santos, Prof. Dr. Leonardo Lataro Paim, Prof. Dr. Rodrigo A. Abarza Munoz e Profa. Dra. Sônia Maria Alves Jorge, pelas contribuições e sugestões que muito enriqueceram este trabalho.

Aos companheiros de laboratório, José Luiz, Acelino, Graziela, Josiel, Edervaldo, Túlio, Luiz Felipe, Victor Hugo e Daniel, pela convivência agradável, momentos de ajuda e descontração. Em especial ao José Luiz, pela amizade, parceria e discussões científicas, ao Acelino pelas viagens até São Paulo e também por sempre se mostrar disposto em me ajudar e ao Marcos Vinicius Foguel pela ajuda com os dados de simulação computacional.

A todos do Departamento de eletroanalítica e NDCOM.

Ao Prof. Paolo Ugo da Ca' Foscari University of Venice pela gentileza e oportunidade de trabalhar em seu grupo de pesquisa na Itália.

À Profa. Lígia Maria Moretto por sua alegria, carinho, ajuda e aventura nos alpes italianos ao longo do meu estágio de pesquisa.

À Profa. Angela Maria Stortini pelos ensinamentos quanto ao uso do MEV que muito contribuíram na realização deste trabalho.

Aos queridos amigos que fiz na Itália, Maria Sole Salaffi, Najmeh Karimian, Emílio Orsega, Maria Cristina Abrahão, e Stefano Tettamanzi por terem me recebido de braços abertos e tornado meu período em Veneza inesquecível! E também a Shandale e ao André Possan por terem dividido comigo essa incrível experiência. *Grazie mille per tutti!*

Ao Instituto de Química de Araraquara pela oportunidade concedida.

Ao LMA-IQ pela disponibilidade de utilização do aparelho de MEV e AFM.

À Capes e ao seu Programa de Doutorado – Sanduíche no exterior – PDSE (processo n ° 88881.135116/2016-01)

À FAPESP pelo apoio financeiro.

À Ca' Foscari University of Venice por aceitar meu estágio de pesquisa e conceder o suporte para sua realização.

E a todos aqueles que eventualmente não foram aqui mencionados e que colaboraram de alguma maneira para a execução desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

*“Conheça todas as teorias,
domine todas as técnicas,
mas ao tocar uma alma humana,
seja apenas outra alma humana.”*

(Carl G. Jung)

RESUMO

A vinhaça é um expressivo coproduto da destilação do etanol que apesar de ser considerada poluidora, vem sendo utilizada como fertilizante nas plantações de cana-de-açúcar, colocando em risco a contaminação de aquíferos subterrâneos e salinização do solo. Cerca de 10 a 18 litros de vinhaça são produzidos por litro de etanol destilado e sua constituição é de principalmente sais de potássio, cálcio, magnésio e compostos orgânicos. Dentre estes, os polióis tornam-se importantes compostos por estarem presentes em concentrações altamente significativas e também por apresentar expressiva importância na indústria farmacêutica e alimentícia. Com isso, o conceito de biorrefinarias surge como a possibilidade das usinas terem um pleno aproveitamento deste resíduo, garantindo fins mais lucrativos e ecológicos. Assim, é de grande importância o desenvolvimento de novos métodos para determinação desses compostos, com destaque aos eletroanalíticos, que vem nos últimos anos se destacando por apresentar métodos de análises confiáveis mesmo em baixas concentrações do analito, pequenos volumes de amostra e em matrizes complexas que requerem alta especificidade. Sendo assim, nesse trabalho foi desenvolvido sensores eletroquímicos baseados na técnica de impressão molecular, capaz de produzir polímeros que incorporam as moléculas de interesse em sua estrutura e que são capazes de formar locais específicos de reconhecimento molecular, tornando-se atrativos devido a sua elevada seletividade e estabilidade. Em razão disso, este trabalho tem como objetivo a determinação de polióis utilizando sensores eletroquímicos baseados em polímeros molecularmente impressos (MIP) em eletrodo de carbono vítreo (GCE) contendo óxido de grafeno reduzido (RGO) e nanopartículas de óxido de ouro (AuNP) e de óxido /hidróxido de níquel (NiNP), como também a formação de um conjunto de nanoeletrodos arranjados tridimensionalmente (3DNEE), a fim de aumentar a sensibilidade do sensor impresso devido a existência de uma maior área superficial que está diretamente relacionada com a quantidade de sítios disponíveis para impressão molecular. Os sensores desenvolvidos para determinação de D-manitol (MIP/AuNP/RGO-GCE), mio-inositol (MIP/NiNP/RGO-GCE) e L-arabitol (MIP/3DNEE), foram caracterizados eletroquimicamente por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), quimicamente por espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) e morfologicamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (AFM), mostrando que as modificações foram efetivamente realizadas na superfície do eletrodo. Os resultados foram avaliados utilizando voltametria cíclica (CV) e de pulso diferencial (DPV), em que o hexacianoferrato ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$) e (ferrocenilmetil)trimetilamônio (FA^+) foram utilizados como sonda eletroquímica. O método analítico apresentou baixo limite de detecção, $7,7 \times 10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$ para D-manitol, $7,6 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ para mio-inositol e $7,7 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ para L-arabitol, ampla faixa linear de resposta, boa repetibilidade e estabilidade após longo período de armazenamento. Os sensores foram aplicados com sucesso na determinação dos polióis em amostra de vinhaça de cana-de-açúcar, com reconhecimento seletivo para a molécula alvo mesmo na presença de interferentes. Os ensaios de recuperação mostraram que o método analítico desenvolvido possui boa exatidão, podendo ser considerado adequado para a detecção e quantificação de polióis em vinhaça de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: Óxidos metálicos. Óxido de grafeno reduzido. Impressão molecular. Eletropolimerização. Conjunto de nanoeletrodos. Polialcoois.

ABSTRACT

Vinasse is an expressive co-product of ethanol distillation, which despite being considered polluting, has been used as fertilizer in sugarcane plantations, which may put at risk the contamination of groundwater and soil salinization. About 10 to 18 liters of vinasse are produced per liter of distilled ethanol and its composition is mainly of salts of potassium, calcium, magnesium and organic compounds. Among these, polyols become important compounds because they are present in highly concentrations and also due to its importance in the pharmaceutical and food industry. With this, the concept of biorefineries becomes a possibility for the sugar cane plants to take full advantage of this residue, guaranteeing more profitable and ecological ends. Thus, the development of new methods for the determination of these compounds is very important, with emphasis on electroanalytical methods, which recently has been presenting reliable methods of analysis even at low analyte concentrations, small sample volumes and in complex matrices that require high specificity. So, in this work, we developed electrochemical sensors based on the molecular imprinted technique, capable of producing polymers that incorporate the molecules of interest in their structure and that are able to form specific sites of molecular recognition. Therefore, this work reports the development of an electrochemical method for the determination of polyols based on molecularly imprinted polymers (MIP) using gold oxide nanoparticles (AuNP) and nickel oxide/hydroxide (NiNP) anchored on reduced graphene oxide electrodeposited on GCE, as well as the formation of 3D gold nanoelectrode ensembles (3DNEE), in order to increase the sensitivity of the imprinted sensor due to the existence of a larger surface area that is directly related to the amount of available sites for molecular imprinted. Sensors developed for determination of D-mannitol (MIP/AuNP/RGO-GCE), myo-inositol (MIP/NiNP/RGO-GCE) and L-arabitol (MIP/3DNEE) were characterized electrochemically by electrochemical impedance spectroscopy (EIS), chemically by X-ray spectroscopy (XPS), morphologically by scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM), whenever possible, showing that the modifications were effectively performed on the surface of the electrode. The results were evaluated using cyclic voltammetric (CV) and differential pulse (DPV), in which hexacyanoferrate ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$) and (ferrocenylmethyl)trimethylammonium (FA^+) were used as electrochemical probe. The analytical method presented low limit of detection, $7.7 \times 10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$ for D-mannitol, $7.6 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ for mio-inositol and $7.7 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ for L-arabitol, wide linear range of response, good repeatability and stability after long storage period. The sensors were successfully applied in the determination of the polyols in sample of sugarcane vinasse, with selective recognition for the target molecule even in the presence of interferers. The recovery tests showed that the analytical method developed has good accuracy and can be considered suitable for the detection and quantification of polyols in sugarcane vinasse.

Keywords: Metal oxides. Reduced graphene oxide. Molecular imprinting. Electropolymerization. 3D gold nanoelectrode ensembles. Polyalcohol

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura do D-manitol	29
Figura 2 - Estrutura química do mio-inositol	30
Figura 3 - Estrutura do L-arabitol.....	31
Figura 4 - Esquema da obtenção do óxido de grafeno reduzido a partir do grafite.....	36
Figura 5 - Esquema para a formação do MIP e métodos eletroquímicos de transdução do sinal.	39
Figura 6 - (a) Membrana de PC, (b) processo de crescimento dos nanofios de ouro nos poros da membrana e (c) remoção da camada superficial de ouro.....	48
Figura 7 - Esquema do preparo do NEE usando uma membrana de policarbonato. (A) Uma parte da membrana de PC contendo os nanoeletrodos; (B) vista superior; (C) NEE para uso como eletrodo de trabalho. (a) Membrana contendo nanoeletrodos, (b) fita adesiva de cobre para conectar à instrumentação, (c) fita adesiva de alumínio, (d) fita isolante com filamentos de vidro. Adaptado de Ongaro et al, [85]	49
Figura 8 - Dissolução parcial da membrana de PC para formação do 3DNEE.....	50
Figura 9 - Voltamograma cíclico para GCE em (a) 0,10 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ e (b) 0,50 mg mL ⁻¹ de GO em meio de 0,10 mol L ⁻¹ de Na ₂ SO ₄ , $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	54
Figura 10 - Voltamogramas cíclicos de 0,10 mol L ⁻¹ de KCl contendo $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} em (a) carbono vitreo e contendo (b) 0,25 (c) 0,50 e (d) 0,75 mg mL ⁻¹ de GO eletrodepositado, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	55

Figura 11 - Variação da corrente anódica para a oxidação de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl contendo $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em diferentes tempos de eletrodeposição, contendo $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em diferentes tempos de eletrodeposição.....	56
Figura 12 - Voltamogramas cíclicos referente a oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de D-manitol em meio de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ para (a) AuNP/RGO-GCE e para (b) RGO-GCE, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	59
Figura 13 - Parâmetros avaliados na formação de nanopartículas de ouro sobre a oxidação de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de D-manitol em meio de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH, sendo: (A) Efeito da concentração de AuCl_4^- , (B) Efeito do potencial e (C) tempo de eletrodeposição.....	60
Figura 14 - Sucessivos voltamogramas cíclicos do eletrodo AuNP/RGO-GCE em solução de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	62
Figura 15 - CV para (a) GCE, (b) RGO-GCE, (c) AuNP/RGO-GCE em solução contendo $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	63
Figura 16 - Eletropolimerização de $5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de <i>o</i> -fenilenodiamina em eletrodo de AuNP/RGO-GCE em solução tampão acetato pH 4,8 contendo $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de D-manitol, $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$	64
Figura 17 - Mecanismo da eletropolimerização da <i>o</i> -PD.	64
Figura 18 - Representação da impressão de D-manitol em <i>o</i> -PD no eletrodo de AuNP/RGO-GCE	66
Figura 19 - CV para (a) MIP (b) NIP (c) MIP após remoção da molécula de D-manitol e (d) MIP após a ligação de $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de D-manitol, em solução contendo $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em KCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$	67

Figura 20 - Efeito da concentração de o-PD, durante a eletropolimerização com (MIP) e sem D-manitol (NIP), na resposta do sensor usando DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$	68
Figura 21 - Efeito da concentração de D-manitol durante a eletropolimerização com o-PD. A resposta do MIP foi avaliada em DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$	69
Figura 22 - Influência do número de ciclos durante a eletropolimerização de o-PD na presença (MIP) e na ausência (NIP) de D-manitol. A variação da resposta foi analisada por DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$	70
Figura 23 - Influência do pH na eletropolimerização de o-PD na presença (MIP) e na ausência (NIP) de D-manitol. Variação da resposta foi realizada por DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$	71
Figura 24 - Efeito do tempo de extração na corrente de pico da resposta voltametria na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$	73
Figura 25 - Efeito do tempo de religação na resposta do MIP através da resposta voltametria na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$	74
Figura 26 - Diagrama de Nyquist para diferentes eletrodos (a) GCE (b) RGO-GCE (c) AuNP/RGO-GCE (d) MIP/AuNP/RGO-GCE antes da extração de D-manitol (e) MIP/AuNP/RGO-GCE após religação de D-manitol (f) MIP/AuNP/RGO-GCE após a extração de D-manitol. Solução para análise de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ e a faixa de frequência foi de 0,01 Hz a 100 kHz	75
Figura 27 - Espectro de XPS para C 1s , O 1s, Au4F e N1s.....	76
Figura 28 - Amplo espectro de XPS para (A) AuNP/RGO-GCE e (B) MIP/AuNP-RGO-GCE.	77

Figura 29 – Imagens de AFM para (A) eletrodo AuNP/RGO-GCE, (B) MIP antes da remoção de D-manitol, (C) MIP após a remoção do modelo e (D) NIP	79
Figura 30 - Imagens de MEV para (A) GCE, (B) RGO-GCE, (C) AuNP/RGO-GCE, (D) MIP/AuNP/RGO-GCE antes da remoção de D-manitol (E) MIP/AuNP/RGO-GCE após remoção do D-manitol (F) Espectro de EDX para AuNP/RGO-GCE.....	80
Figura 31 - Curva de calibração para a detecção de D-manitol usando MIP/AuNP/RGO-GCE em $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe(CN)}_6^{3-/4-}$ após 15 min de religação em PBS pH 6,5. A curva apresentada na inserção superior esquerda foi obtida com a concentração de D-manitol na faixa de $1,0 \times 10^{-12}$ a $2,0 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$. Os voltamogramas de DPV correspondentes com a concentração de D-manitol na faixa de $1,0 \times 10^{-12}$ a $3,0 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ estão na inserção inferior esquerda	82
Figura 32 - Resposta do sensor MIP/AuNP/RGO-GCE e NIP/AuNP/RGO-GCE em $5,0 \times 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ de D-manitol, L-arabitol, Mio-inositol, glicerol, frutose e glicose em meio de PBS pH 6,5, após incubação de 15 min.....	85
Figura 33 - Resposta do eletrodo na oxidação de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de mio-inositol em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH por DPV, em diferentes cargas aplicadas na eletrodeposição de nanopartículas de níquel em RGO-GCE.....	89
Figura 34 - Resposta do eletrodo na oxidação de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de mio-inositol em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH por DPV, em diferentes potenciais para a eletrodeposição de nanopartículas de níquel em RGO-GCE.....	90
Figura 35 - Sucessivos Voltamogramas cíclicos de NiNP/RGO-GCE em solução de $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH, no intervalo de potencial de 0,10 a 0,70 V a 50 mV s^{-1}	91
Figura 36 - Voltamograma cíclico para $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de mio-inositol em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH em (a) GCE (b) RGO-GCE e (c) NiNP/RGO-GCE.....	92

Figura 37 - Voltamograma cíclico para a eletropolimerização de $2,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ de pirrol em $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ LiClO}_4$, contendo $7,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de mio-inositol em NiNP/RGO-GCE, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	93
Figura 38 - Processo de polimerização do pirrol.....	94
Figura 39 - Interação das unidades de PPy com a molécula de mio-inositol durante o processo de eletropolimerização.....	94
Figura 40 - Reação de superoxidação do polipirrol.....	95
Figura 41 - Voltamograma cíclico da superoxidação do filme de PPy em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH para MIP e NIP, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	96
Figura 42 - Voltamogramas cíclicos de (a) MIP/NiNP/RGO-GCE após eletropolimerização (b) GCE, (c) MIP/NiNP/RGO-GCE após 20 minutos de religação em solução de mio-inositol $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ (d) MIP/NiNP/RGO-GCE após remoção de mio-inositol (e) NiNP/RGO-GCE. Todas as medidas foram realizadas em solução contendo $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} \text{ Fe (CN)}_6^{3-/4-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	97
Figura 43 - Efeito da concentração de pirrol durante a eletropolimerização com (MIP) e sem (NIP) mio-inositol, em DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe(CN)}_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl.....	99
Figura 44 - Efeito da concentração de mio-inositol durante a eletropolimerização com pirrol na resposta do MIP em DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe(CN)}_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl.....	100
Figura 45 - Influência do número de ciclos durante a eletropolimerização de pirrol na presença (MIP) e na ausência (NIP) de mio-inositol. A variação da resposta foi analisada por DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe(CN)}_6^{4-/3-}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl.....	101

Figura 46 - Influência do número de ciclos durante a superoxidação de pirrol para remoção da molécula de mio-inositol. A variação da resposta foi analisada por DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl	102
Figura 47 – Efeito do tempo de religação da molécula de mio-inositol na variação da resposta em DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl.....	103
Figura 48 - Influência do pH na religação da molécula de mio-inositol. Resultados avaliados na variação da resposta em DPV na presença de $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-/3}$ em $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ KCl.....	104
Figura 49 - Imagens de MEV para (A) e (B) NiNP/RGO-GCE, (C) MIP/NiNP/RGO-GCE e (D) MIP/NiNP/RGO-GCE após superoxidação do PPy.....	105
Figura 50 - Imagens de AFM para (A) NiNP/RGO-GCE, (B) MIP antes e em (C) MIP após a remoção da molécula de mio-inositol, (D) NIP	106
Figura 51 - Espectro de XPS para C1s (A) , O1s (B) e N1s (C) após a eletropolimerização e C1s (D) e O1s(E) depois da superoxidação do PPy	108
Figura 52 - Curva de calibração para a detecção de mio-inositol usando MIP/NiNP/RGO-GCE em $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ após 20 minutos de religação em PBS pH 6.0 contendo $1,0 \times 10^{-10}$ a $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de mio-inositol. Os voltamogramas de DPV correspondente as concentrações de mio-inositol adicionadas estão na inserção inferior esquerda	110
Figura 53 - Seletividade do MIP/NiNP/RGO-GCE para $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de mio-inositol e possíveis interferentes.....	113
Figura 54 - Processo electroless usado para a deposição de ouro nos poros da membrana de policarbonato.	117

Figura 55- Voltamogramas cíclicos para diferentes sondas redox em NEE. Sendo (a) FA ⁺ (b) FcCOOH, (c) Fe(CN) ₆ ³⁻⁴⁻ na concentração de 1.0×10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em 5.0×10 ⁻³ mol L ⁻¹ KNO ₃ , $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	119
Figura 56 - Voltamograma cíclico para FA ⁺ na concentração de 1.0×10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em 5.0×10 ⁻³ mol L ⁻¹ KNO ₃ , em (a) NEE e (b) 3DNEE, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	120
Figura 57 - Voltamogramas cíclicos dos dois primeiros ciclos da eletropolimerização de o-PD em 3DNEE com tempos de etching de 2 s, 10 s e 30 s, em solução contendo 2,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de o-PD e 1,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ de L-arabitol em meio de tampão acetato pH 4,8, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	122
Figura 58 -Variação da corrente em diferentes concentrações de L-arabitol para MIP/3DNEE, com 3DNEE feito em 2, 10 e 30 s de etching.....	124
Figura 59 – Voltamogramas cíclicos para (a) 3DNEE (b) MIP/3DNEE após a remoção do modelo, (c) MIP/3DNEE após 30 minutos de religação em 5,0 x 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ de L-arabitol (d) 3DNEE após a eletropolimerização. Todas as medições foram realizadas em solução contendo 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de FA ⁺ em 5,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ KNO ₃ , $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$	125
Figura 60 - Efeito da concentração de L-arabitol durante a eletropolimerização com o-PD na resposta do MIP/3DNEE na presença de 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de FA ⁺ em 5,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ KNO ₃	126
Figura 61 - Influência do número de ciclos durante a eletropolimerização de o-PD com L-arabitol. A variação da resposta foi analisada por DPV na presença de 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de FA ⁺ em 5,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ KNO ₃	127
Figura 62 - Efeito do tempo de extração na resposta do MIP/3DNEE e NIP/3DNEE por DPV na presença de 1,0 × 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ de FA ⁺ em 5,0 × 10 ⁻³ mol L ⁻¹ KNO ₃	129

Figura 63 - Efeito do tempo de religação da molécula de L-arabitol na resposta do sensor MIP/3DNEE por DPV na presença de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de FA ⁺ em $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ KNO ₃	130
Figura 64 - Imagens de MEV para (A) e (B) NEE, (C) 3DNEE, (D) tamanho de um nanofio para 3DNEE, (E) MIP/3DNEE e (F) análise de EDS.....	131
Figura 65 - Diagrama de Nyquist para 2DNEE (curva b), 3DNEE (curva a), MIP/3DNEE (curva e) e MIP/3DNEE antes (curva c) e após (curva d) religação das moléculas de L-arabitol. Na inserção superior direta está o circuito equivalente	132
Figura 66 - Curva logarítmica de ΔI pela concentração de L-arabitol e inserção da isoterma de adsorção de Langmuir para MIP/3DNEE.....	134
Figura 67 - Resposta do MIP/3DNEE em DPV em diferentes concentrações de L-arabitol ($1,0 \times 10^{-9}$ - $1,5 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹), utilizando como sonda redox uma solução de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ de FA ⁺ preparado em $5,0 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de KNO ₃	135
Figura 68 – Análise da seletividade do MIP/3DNEE para diferentes concentrações de L-arabitol, glicose, D-manitol e frutose	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química da vinhaça em Kg/m ³	28
Tabela 2 - Parâmetros voltamétricos na oxi-redução de Fe(CN) ₆ ^{3-/4-} em GCE e RGO-GCE. 57	
Tabela 3 - Comparação da faixa linear e LD para alguns métodos reportados para determinação eletroquímica de D-manitol	83
Tabela 4 - Estudo da estabilidade do MIP/AuNP/RGO-GCE	83
Tabela 5 - Seletividade do sensor MIP/AuNP/RGO-GCE para 5,0×10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ de D-manitol e possíveis interferentes	86
Tabela 6 - Determinação de D-manitol em amostras de vinhaça de cana (n = 3).	87
Tabela 7 - Comparação da faixa linear e limite de detecção de alguns métodos reportados na literatura para a determinação de mio-inositol	111
Tabela 8 - Estudo da estabilidade do MIP/NiNP/RGO-GCE	112
Tabela 9 - Fator de impressão e fator de seletividade do sensor MIP/NiNP/RGO-GCE para 1,0 × 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ de mio-inositol e possíveis interferentes	113
Tabela 10 - Determinação de mio-inositol em vinhaça de cana-de-açúcar (n=3).	115
Tabela 11 - Comparação entre a corrente faradaica e capacitiva do NEE e 3DNEE.....	120
Tabela 12 - Fator de impressão (α) e fator de seletividade (β) para MIP/3DNEE na presença de moléculas interferentes	137
Tabela 13 - Estabilidade do MIP/3DNEE.....	137
Tabela 14 - Determinação de L-arabitol em vinhaça de cana-de-açúcar (n=3).....	138

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
1.1 VINHAÇA DE CANA DE AÇÚCAR.....	27
1.2 POLIÓIS.....	28
1.2.1 D-Manitol	29
1.2.2 Mio-inositol	29
1.2.3 L-Arabitól	30
1.3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE POLIÓIS.....	31
1.4 SENSORES ELETROQUÍMICOS	32
1.4.2 Nanopartículas metálicas	33
1.4.3 Nanofios metálicos	34
1.4.4 Óxido de grafeno reduzido	35
1.4.5 Polímeros molecularmente impressos	38
2 OBJETIVOS	41
3 PARTE EXPERIMENTAL	42
3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES.....	42
3.2 EQUIPAMENTOS.....	43
3.3 LIMPEZA DO GCE	45
3.4 MODIFICAÇÃO DO GCE COM RGO.....	45
3.5 PREPARAÇÃO DO AUNP/RGO-GCE.....	45
3.6 FORMAÇÃO DO MIP SOBRE O AUNP/RGO-GCE PARA DETERMINAÇÃO DE D-MANITOL	46
3.7 PREPARAÇÃO DO NiNP/RGO-GCE.....	46
3.8 FORMAÇÃO DO MIP SOBRE NiNP/RGO-GCE PARA DETERMINAÇÃO DE MIO-INOSITOL	46
3.9 PREPARAÇÃO DO 3DNEE.....	47
3.10 FORMAÇÃO DO MIP SOBRE 3DNEE PARA DETERMINAÇÃO DE L-ARABITOL.....	50
3.11 MEDIDAS EXPERIMENTAIS.....	50
3.12 DETERMINAÇÃO DOS POLIÓIS EM AMOSTRAS DE VINHAÇA DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1 REDUÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO EM ELETRODO DE CARBONO VÍTREO.....	52
4.2 FORMAÇÃO DO MIP/AUNP/RGO-GCE PARA DETERMINAÇÃO DE D-MANITOL.....	58

4.2.1 Eletrodeposição de AuNP em RGO-GCE	58
4.2.2 Eletropolimerização de o-PD em AuNP/RGO-GCE para detecção de D-manitol.....	63
4.2.3 Estudo dos parâmetros que influenciam a formação do MIP/AuNP/RGO-GCE.....	67
4.2.3.1 <i>Efeito da concentração de o-fenilenodiamina</i>	68
4.2.3.2 <i>Efeito da concentração de D-manitol</i>	69
4.2.3.3 <i>Efeito do número de ciclos na eletropolimerização</i>	70
4.2.3.4 <i>Influência da concentração hidrogeniônica</i>	71
4.2.3.5 <i>Efeito do tempo de extração da molécula de D-manitol</i>	72
4.2.3.6 <i>Influência do tempo de religação da molécula</i>	73
4.2.4 Caracterização do MIP/AuNP/RGP-GCE	74
4.2.6 Seletividade do MIP/AuNP/RGO-GCE para D-manitol	84
4.2.7 Determinação da D-manitol em amostras de vinhaça de cana-de-açúcar	86
4.3 FORMAÇÃO DO MIP/NiNP/RGO-GCE PARA DETERMINAÇÃO DE MIO-INOSITOL	88
4.3.1 Eletrodeposição de NiNP em RGO-GCE	88
4.3.2 Eletropolimerização de pirrol em NiNP/RGO-GCE para detecção de mio-inositol	92
4.3.3 Estudo dos parâmetros que influenciam a formação do MIP/NiNP/RGO-GCE.....	98
4.3.3.1 <i>Efeito da concentração de pirrol</i>	98
4.3.3.2 <i>Efeito da concentração de mio-inositol</i>	99
4.3.3.3 <i>Efeito do número de ciclos na eletropolimerização</i>	100
4.3.3.4 <i>Efeito do número de ciclos para remoção de mio-inositol</i>	101
4.3.3.5 <i>Influência do tempo na religação da molécula nas cavidades do MIP</i>	102
4.3.3.6 <i>Influência do pH na religação da molécula de mio-inositol</i>	103
4.3.4 Caracterização do MIP/NiNP/RGP-GCE.....	104
4.3.5 Desempenho analítico do MIP/NiNP/RGO-GCE	109
4.3.6 Seletividade do MIP/NiNP/RGO-GCE	112
4.3.7 Determinação da mio-inositol em amostras de vinhaça de cana-de-açúcar	114
4.4 FORMAÇÃO DO MIP/3DNEE PARA DETERMINAÇÃO DE L-ARABITOL	116
4.4.1 Construção do NEE	116
4.4.2 Comportamento eletroquímico do NEE	118
4.4.3 Formação do 3DNEE	119
4.4.4 Formação do MIP/3DNEE	121
4.4.5 Resposta do sensor em eletrodos com diferentes tempos de gravação.....	123
4.4.6 Comportamento eletroquímico do MIP/3DNEE	124

4.4.7 Estudo dos parâmetros que influenciam a formação do MIP/3DNEE	125
4.4.7.1 <i>Efeito da concentração da molécula de L-arabitol</i>	126
4.4.7.2 <i>Efeito do número de ciclos</i>	127
4.4.7.3 <i>Efeito do tempo de extração do L-arabitol na formação das cavidades</i>	128
4.4.7.4 <i>Efeito do tempo na religação da molécula de L-arabitol</i>	129
4.4.8 Caracterização do NEE, 3DNEE e MIP/3DNEE	130
4.4.9 Estudo da isoterma de ligação	133
4.4.10 Desempenho analítico.....	134
4.4.11 Seletividade, reprodutibilidade e estabilidade do MIP/3DNEE	135
4.4.12 Aplicação do MIP/3DNEE em amostra real.....	138
5 CONCLUSÕES.....	139
REFERÊNCIAS.....	141

1 INTRODUÇÃO

1.1 Vinhaça de cana de açúcar

A vinhaça é um coproduto da agroindústria sucroalcooleira, obtida na etapa de destilação do etanol. Apresenta-se na forma de solução escura, com baixo valor de pH e de forte odor. Na sua composição pode-se encontrar de 2 % a 8 % de sólidos dissolvidos, dos quais, 70 % são de matéria orgânica. Essa alta porcentagem de matéria orgânica faz da vinhaça um resíduo altamente poluidor. A demanda bioquímica de oxigênio (DBO) pode atingir valores ao redor de 20.000 mg/L, cerca de cem vezes maior que a do esgoto doméstico (1).

O destino mais comum para a vinhaça é a sua utilização na própria plantação de cana-de-açúcar como fertilizante, devido a sua composição mineral de cerca de 30 % de potássio, além de nitrogênio e fósforo (Tabela 1) (2). No entanto, o uso da vinhaça no solo não está sujeita ao controle ambiental apropriado, podendo causar contaminação do lençol freático, salinização do solo, lixiviação de metais e sulfatos, liberação de mau cheiro e emissão de gases causadores do efeito estufa, como o óxido nitroso (N_2O), que é cerca de 300 vezes mais poluente que o dióxido de carbono (CO_2) (3).

A produção de vinhaça pode variar de 10 a 18 litros por litro de etanol destilado (4). A produção estimada de etanol no Brasil para a safra de 2017/2018 é de aproximadamente 26,4 bilhões de litros. Em 2015, a produção de etanol foi recorde, atingindo os 30 bilhões de litros (5). Isso significa que a produção de vinhaça no país pode atingir cerca de 330 bilhões de litro por safra.

Neste contexto, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas para encontrar usos e tratamentos alternativos para a vinhaça, a fim de contornar o impacto ambiental e melhorar a viabilidade econômica e a sustentabilidade da produção através da cogeração de outros produtos além de etanol e açúcar.

Alguns dos destinos alternativos para a vinhaça são a digestão anaeróbica e aeróbica (3, 6, 7) para a produção de energia (biogás), produção de alimentos para gado (8) e reutilização em processos de fermentação (9). Outro destino alternativo é a utilização das substâncias químicas presentes em sua composição, por recuperação dentro de instalações de biorrefinarias, que possibilita a recuperação dos compostos presentes em sua constituição em produtos químicos ou biocombustível, proporcionando um melhor aproveitamento da biomassa.

A fração de matéria orgânica da vinhaça é composta basicamente de álcoois, açúcares, derivados de açúcar, fenóis e ácidos orgânicos (10, 11). Em particular, os derivados de açúcar estão presentes na vinhaça em grandes quantidades porque eles são os principais produtos da fermentação do açúcar. Entre esses derivados estão os polióis, também conhecidos como poliálcoois ou álcoois de açúcar, que podem ser recuperados e reutilizados pela indústria por meio de uma biorrefinaria.

Tabela 1 - Composição química da vinhaça em Kg/m³.

Composição	Concentração
Carbono	19,2
Nitrogênio	1,2
Fosforo	0,2
Potássio	7,8
Cálcio	3,5
Magnésio	1,0
Sulfato	6,4
Matéria orgânica	63,4

Fonte: adaptado de Silva, et al. (2).

1.2 Polióis

A composição química da vinhaça de cana-de-açúcar pode sofrer variações dependendo da variedade e da qualidade da cana-de-açúcar, da época da colheita e do processo de destilação utilizado. Apesar disso, as concentrações de polióis encontrados na vinhaça são muito significativas, alcançando valores de até 0.115g L⁻¹ (10, 12) . Os principais polióis encontrados na vinhaça são: D-manitol, mio-inositol, L-arabitol e eritritol, sendo este último menos expressivo.

De modo geral, esses compostos possuem características interessantes, como propriedades adoçantes, tamponantes, conservantes e antioxidantes, que permitem várias aplicações na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética (13–15). Além disso, produtos extraídos a partir de matérias primas renováveis são mais seguros e efetivos biologicamente para a alimentação humana e animal do que produtos sintetizados (16). Assim, o desenvolvimento de rotas

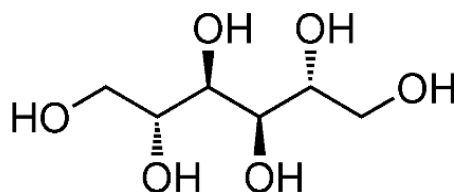
tecnológicas capazes de aproveitar a biomassa e obter produtos químicos de médio e alto valor agregado, vem se tornando um atrativo econômico, estratégico e ecológico.

As características de cada um dos polióis encontrados na vinhaça de cana-de-açúcar, que serão o foco dessa tese, serão descritas nas próximas seções.

1.2.1 D-Manitol

O D-manitol ou hexan-1,2,3,4,5,6-hexol (Figura 1), é um poliol acíclico, considerado um importante edulcorante de baixo valor calórico, uma vez que é absorvido apenas parcialmente pelo intestino delgado. Isso o torna muito atraente do ponto de vista da indústria alimentícia. Além disso, o D-manitol tem ampla gama de aplicação na indústria farmacêutica, atuando como facilitador no transporte de medicamentos e excipientes em comprimidos (especialmente aqueles destinados a se dissolverem na boca, devido à agradável sensação de doçura e frescor). Devido sua propriedade não higroscópica, é utilizado em comprimidos contendo compostos sensíveis à umidade, tais como ácido acetilsalicílico e vitamina C. Atua também no controle osmótico (diurético), redução da pressão intracraniana pós-cirurgia (17), anestésico (15) e também na síntese de medicamentos, como por exemplo, do Tamiflu (18).

Figura 1 - Estrutura do D-manitol.



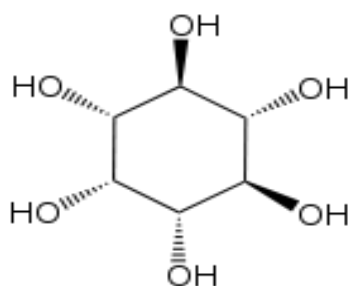
Fonte: elaborado pelo autor.

1.2.2 Mio-inositol

O mio-inositol ou cis-1,2,3,5-trans-4,6-ciclohexanahexol (Figura 2), é um poliálcool cíclico e o mais prevalente entre os esteroisômeros do inositol. É amplamente distribuído na natureza e facilmente encontrado em animais, plantas, sementes, fungos e algumas bactérias [1]. Avanços recentes mostraram que a molécula oferece benefícios essenciais para a saúde humana, auxiliando no tratamento e prevenção de diversas doenças. O mio-inositol demonstrou

ser um eficiente agente antidepressivo, atuando nos distúrbios associadas à ansiedade, como distúrbios de pânico e compulsão alimentar (19, 20). Demonstrou ser um eficaz inibidor do desenvolvimento de tumores pulmonares em roedores atuando como agente quimiopreventivo (21, 22). Apresentou bons resultados como suplemento dietético para o aumento da fertilidade feminina, sendo considerado um bom agente no tratamento da síndrome de ovário policístico (23). Além disso, pesquisas demonstraram que o nível de mio-inositol no sangue pode auxiliar no monitoramento do tratamento de doenças cardiovasculares (24), Alzheimer (25), diabetes e doenças renais (26).

Figura 2 - Estrutura química do mio-inositol.

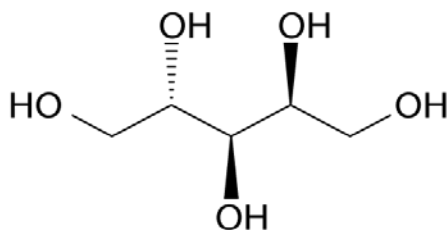


Fonte: elaborado pelo autor.

1.2.3 L-Arabitól

L-arabitol, L-arabinitol ou (2S,4S)-pentano-1,2,3,4,5-pentol (Figura 3), é um poliálcool obtido a partir da redução da arabinose. Este álcool de açúcar, cristalino e incolor, tem uma doçura semelhante à sacarose, mas com baixas calorias devido à baixa absorção pelo trato digestivo humano e portanto, pode ser usado na prevenção de depósitos de gordura no trato digestivo. Além disso, não favorece o crescimento bacteriano, o que significa que seu consumo, ao contrário dos açúcares, não leva formação de cáries (27, 28). Também é comumente utilizado como excipientes em formulações para comprimidos e em processos de liofilização(29). Assim, o L-arabitol é muito utilizado na indústria alimentícia e farmacêutica.

Figura 3 - Estrutura do L-arabitol.



Fonte: elaborado pelo autor.

1.3 Métodos de determinação de polióis

Devido a sua estrutura poli-hídrica de fácil oxidação, muitos métodos para quantificação de polióis encontrados na literatura são baseados nos métodos de análise de açúcares (26). Entre esses, os mais amplamente utilizados são os métodos cromatográficos, tais como cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (30), cromatografia líquida de alta eficiência (31), cromatografia gasosa (32) e cromatografia de troca aniônica de alto desempenho com detecção amperométrica pulsada (33, 34).

Embora esses métodos tradicionais de análise sejam precisos e bem estabelecidos, eles envolvem procedimentos laboriosos de pré-concentração, necessidade de grandes quantidades de reagentes (muitas vezes orgânicos e de elevada toxicidade), instrumentos de alto custo e tempo consideravelmente longo de análise. Assim, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos eficientes para a determinação de polióis que sejam seletivos, rápidos e sensíveis.

Os métodos eletroquímicos têm como principais vantagens a simplicidade rapidez de análise, alta sensibilidade e estabilidade, além de apresentarem possibilidade de análise direta na amostra (sem necessidade de pré-tratamento) e miniaturização dos dispositivos, tornando o método muito interessante para realizar medidas em campo e em tempo real.

1.4 Sensores eletroquímicos

Sensores eletroquímicos são dispositivos capazes de fornecer informações do ambiente em que estão inseridos com mínima manipulação do sistema. As principais características desses dispositivos são a precisão, sensibilidade, capacidade de operar em matrizes complexas e estabilidade. Além disso, podem ser portáteis, de fácil automação e miniaturização.

Basicamente, existem três tipos de transdução de sinal em sensores eletroquímicos, eles podem ser potenciométricos, amperométricos e condutométricos. Nos sensores potenciométricos, um equilíbrio é estabelecido na interface do sensor e as informações analíticas são obtidas na forma de potencial (normalmente diferença de potencial entre dois eletrodos) que é proporcional à atividade das espécies envolvidas. Os sensores amperométricos são baseados na geração de corrente em resposta ao comportamento redox do analito na superfície do eletrodo e as medidas são feitas registrando o fluxo de corrente na célula eletroquímica em um determinado potencial. A característica operacional desses dispositivos é a transferência de elétrons para ou a partir do analito. Os sensores condutométricos dependem das mudanças de condutividade elétrica influenciada pelo analito presente. As informações são adquiridas a partir da variação das concentrações de espécies iônicas, sendo a medida da condutância ou resistência elétrica os parâmetros essenciais (35).

Apesar da versatilidade dos sensores eletroquímicos, algumas limitações podem resultar em um baixo desempenho analítico. A passivação gradual da superfície, elevada corrente de fundo e falta de seletividade, uma vez que a maioria dos sensores operam no modo amperométrico, podendo existir espécies químicas que também são eletroativas no potencial selecionado (36).

Assim, uma estratégia para contornar os problemas apresentados pelos sensores eletroquímicos é o uso de eletrodos modificados. O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi introduzido por Murray et al (37) em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, imobilizadas em suas superfícies. Esses eletrodos são capazes de diminuir o envenenamento da superfície, apresentar maior seletividade, sensibilidade e atividade eletrocatalítica quando comparados aos eletrodos sólidos não modificados como de carbono, ouro e platina (38). Os EQM apresentam um aumento efetivo da área eletroativa do eletrodo, uma vez que os modificadores apresentam uma estrutura tridimensional, o que permite que as espécies de interesse alcancem facilmente os centros catalíticos, facilitando a transferência de carga.

Para suportar o modificador, a escolha do eletrodo base é um aspecto muito importante de preparação do EQM. O substrato deve ser fácil de modificar e apresentar uma superfície reprodutível e limpa (39). Um dos substratos que vem sendo muito utilizado em eletroanalítica é o eletrodo de carbono vítreo, GCE (do inglês – *glassy carbon electrode*), pois apresenta baixa resistência elétrica, alta resistência química e ampla janela de potencial (40).

Entre os modificadores, os mais utilizados para construção de sensores eletroquímicos, são os materiais nanoestruturados, tais como nanopartículas de metais nobres e nanopartículas de óxido metálicos, nanofios metálicos (41, 42), grafeno, óxidos de grafeno e nanotubos de carbono (43, 44). Outros materiais incluem enzimas (45) e polímeros molecularmente impressos (46).

1.4.2 Nanopartículas metálicas

As nanopartículas metálicas vem se destacando em eletroanálise devido as suas propriedades físicas e químicas não usuais. Dependendo do seu tamanho e formato, as nanopartículas (NP) apresentam elevada atividade catalítica, facilitam a transferência de elétrons, possuem elevada área superficial, controle sobre o microambiente local e melhoram a relação sinal/ruído. Além disso, a facilidade na miniaturização dos substratos contendo nanomateriais torna estes dispositivos muito atraentes para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos, além de contribuir no aumento da resposta eletroquímica do analito (47).

As nanopartículas de prata, ouro, platina, paládio, rutênio, cobre e níquel são as mais estudadas para aplicações em eletroanalítica (48). Em especial, as nanopartículas de ouro (AuNP) e nanopartículas de níquel (NiNP), têm sido intensamente investigadas na modificação de eletrodos devido à baixa toxicidade, excelentes atividades catalíticas para a oxidação de uma grande variedade de compostos orgânicos e elevada relação área/volume.

As características físico-químicas das AuNP incluem, eficiência na condução de energia elétrica, propriedades ópticas (49–53), excelência em biocompatibilidade e imobilização de biomoléculas, o que fez crescer seu uso em biossensores, sensores de DNA e imunossensores (53). Além disso, a oxidação de moléculas orgânicas como álcoois (54), ácidos orgânicos e carboidratos, como a glicose (55), é favorecida na superfície dessas nanopartículas quando em solução alcalina, devido a formação do hidróxido de ouro cataliticamente ativo (56).

As NiNP são caracterizadas por serem de baixo custo e apresentar atividade catalítica para moléculas orgânicas, como na oxidação de carboidratos (57). O níquel, por ser um metal não nobre, pode formar facilmente em sua superfície o hidróxido de níquel e assim uma reação

catalítica é estabelecida envolvendo espécie de níquel de alta valência e a molécula orgânica, como por exemplo na eletrooxidação de açúcares em que o par redox $\text{Ni}^{2+} / \text{Ni}^{3+}$ está presente na forma de NiOH e NiOOH (35).

1.4.3 Nanofios metálicos

Os nanofios, nos quais podem ser organizados para obtenção do chamado conjunto de nanoeletrodos (NEE), são conhecidos por serem excelentes dispositivos eletroquímicos, que quando arranjados tridimensionalmente (3DNEE) elevam a área ativa disponível (58). Os 3D-NEEs oferecem numerosas vantagens sobre os macroeletrodos convencionais, tais como melhor transporte de massa, redução da resistência da solução, eletrocatalise, baixo limite de detecção e melhor relação sinal-ruído (59, 60).

Os 3DNEEs são caracterizados por apresentarem maior sensibilidade e limites de detecção cerca de 2-3 ordens de magnitude menor do que os macroeletrodos com a mesma área geométrica (61). Dentre os trabalhos publicados que fazem uso desses nanoeletrodos metálicos, podemos citar a determinação de nitrito (62), arsênico (63), epinefrina (64) e proteínas (59), com limites de detecção na faixa de nanomolar.

A maior parte destes estudos desenvolveu os 3DNEEs por deposição química de metais no interior dos poros de uma membrana de policarbonato (PC), sendo também possível utilizar a técnica da eletrodeposição (62). Essas membranas de PC possuem poros de cerca de 30 -100 nm de diâmetro e comprimento entre 0,1 - 40 μm . Através destes poros os nanofios metálicos crescem, dando origem ao conjunto de filamentos metálicos que se comportam como pequenos eletrodos isolados, formando um conjunto de nanoeletrodos. Após a remoção parcial da membrana de PC, os nanofios são expostos, formando um conjunto de nanoeletrodos tridimensionais, aumentando assim, a área superficial do eletrodo.

Entre os diferentes metais utilizados na construção dos 3DNEEs, o ouro apresenta vantagens frente a outros metais, graças as suas propriedades peculiares. Por ser um metal nobre, o ouro é quimicamente inerte, o que o torna interessante para muitas aplicações eletroquímicas. Muitos exemplos de aplicações de nanomateriais a base de ouro, desde estruturas simples até as mais sofisticadas, entre eles os 3DNEEs, são descritos na literatura (63, 65, 66).

1.4.4 Óxido de grafeno reduzido

O grafeno, segundo definição da IUPAC, consiste em uma monocamada de átomos de carbono hibridizados na forma sp^2 , formando ligações σ com outros três átomos de carbono, distribuídos em uma rede hexagonal bidimensional (2D), com uma extensa nuvem eletrônica formada de elétrons π conjugados (67). Devido a essa peculiar estrutura, o grafeno apresenta propriedades superiores as demais formas alotrópicas do carbono, tais como alta condutividade elétrica (superior à do silício) e térmica (superior à da prata), transparência, resistência mecânica (superior à do aço), flexibilidade e expressiva área superficial (68).

A forma de obtenção do grafeno envolve métodos que mesmo produzindo um material de excelente qualidade, inviabilizam a produção em larga escala, tanto pela pequena quantidade produzida, quanto pelo elevado custo de processamento. Além disso, a difícil manipulação e transferência do grafeno para a superfície do eletrodo como também sua insolubilidade em meio aquoso, restringe seu uso como modificador em sensores eletroquímicos, levando os cientistas a buscarem outros nanomateriais a base de grafeno com a intenção de contornar esses problemas (69).

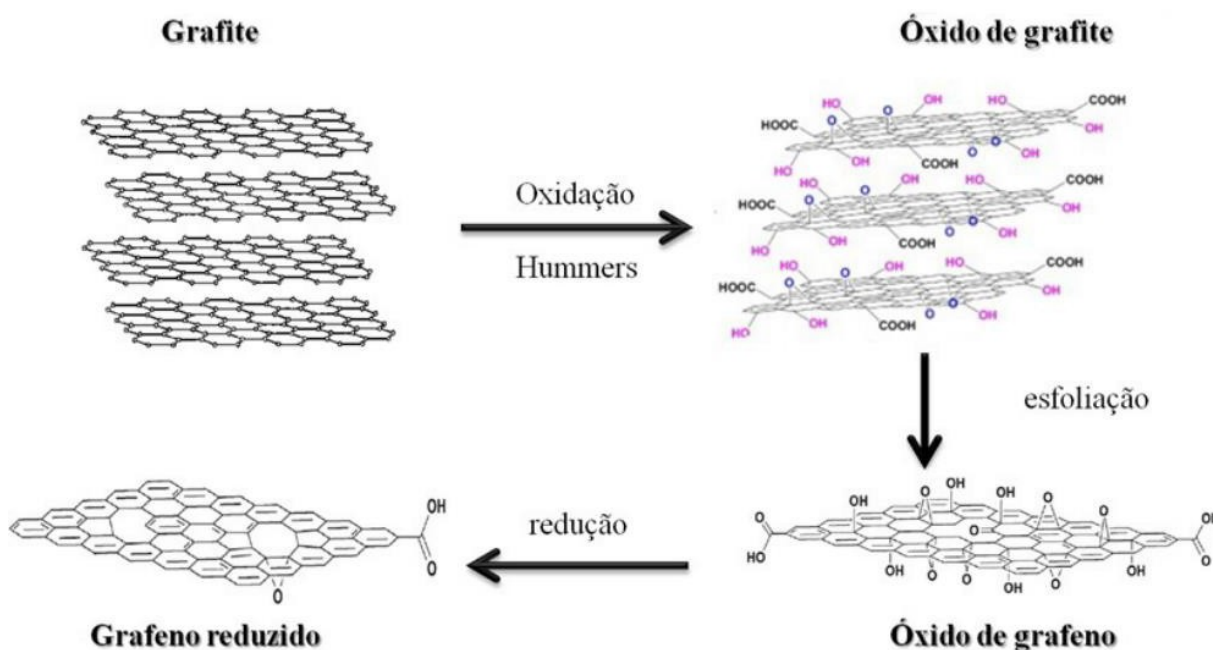
O óxido de grafeno (GO) é um material de fácil dispersão em água, o que facilita o seu manuseio e transferência para a superfície do eletrodo. Para sua produção, o grafite (que consiste estruturalmente em várias lamínas de grafeno) passa por uma oxidação química, que introduz em sua estrutura grupos oxigenados (epóxi, hidroxila, carboxílicos e carbonila), que são intercalados entre as folhas de carbono, mudando sua hibridação de sp^2 para sp^3 e promovendo aumento da distância interplanar (69).

A introdução de grupos funcionais oxigenados faz com que o GO apresente vantagens em relação ao grafeno no que diz respeito a funcionalização do material. Um exemplo dessa funcionalização são os grupos epóxidos que são suscetíveis a ataques de substituição nucleofílica por grupos aminas ($-NH_2$), o que torna interessante a imobilização de polímeros, biomoléculas e moléculas orgânicas (70). Além disso, o GO assim como o grafeno, apresenta elevada área superficial, que pode ser utilizada para a funcionalização com nanopartículas.

Embora a dispersão do GO melhore com a presença dos grupos oxigenados e o torna interessante para modificação de eletrodos, eles também o tornam um isolante elétrico. Diferente do grafeno, que possui somente carbonos sp^2 conjugados em sua estrutura, o GO possui defeitos causados pela inserção dos grupos funcionais oxigenados, que acabam por interromper a conjugação devido ao surgimento de carbonos sp^3 , ocasionando a perda da condutividade elétrica. Para contornar este problema, normalmente é realizada a redução do

GO para óxido de grafeno reduzido (RGO), que remove em grande parte os grupos oxigenados. O esquema da transformação dessas estruturas carbonáceas, são mostradas na Figura 4.

Figura 4 - Esquema da obtenção do óxido de grafeno reduzido a partir do grafite.



Fonte: adaptado de Oliveira, et al. (71).

A redução do GO para RGO pode ser realizada por tratamento químico, eletroquímico, fotoquímico ou térmico (RGO), cujas propriedades térmicas, mecânicas e optoeletrônicas se assemelham bastante às do grafeno. Dentre essas técnicas de redução do GO, a eletroquímica é a mais utilizada quando se visa aplicações nesta área, já que o GO pode ser reduzido diretamente para RGO na superfície do eletrodo, como pode ser visto na Figura 4 (72). Além disso, a redução eletroquímica do GO permite um maior controle do grau de redução do material através da escolha da técnica eletroquímica utilizada. Assim, o GO pode ser reduzido através do controle de uma faixa de potencial e determinado número de ciclos através da técnica de voltametria cíclica (CV) ou por cronoamperometria, em que um potencial é aplicado durante um estipulado período de tempo.

Assim, a redução do GO via eletroquímica tem a vantagem de ser reprodutível e possibilitar o controle do grau de redução do material que pode depositado diretamente na superfície do eletrodo.

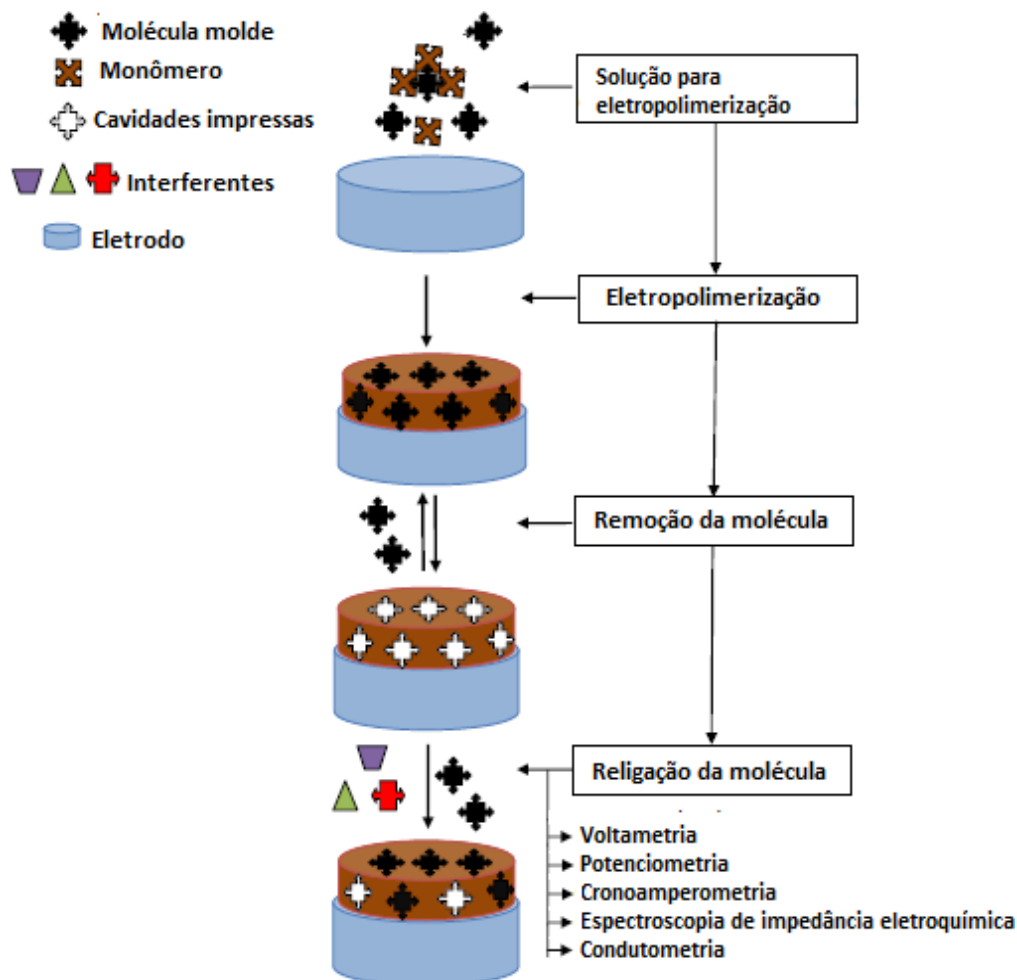
1.4.5 Polímeros molecularmente impressos

Além da utilização de nanomateriais que fornecem boas performances ao sensor, a construção de dispositivos que sejam capazes de realizar o reconhecimento específico de uma molécula de interesse é um dos principais requisitos de um sensor, tornando a análise altamente seletiva e com amplo intervalo linear de trabalho.

Muitas das moléculas orgânicas que estão presentes em matrizes complexas, como é o caso da vinhaça de cana-de-açúcar, apresentam excelente resposta em eletrodos modificados, porém a seletividade pode ser comprometida devido ao similar comportamento eletroquímico dessas moléculas.

Um método eficiente para contornar esse problema é funcionalizar na superfície do eletrodo um polímero juntamente com a molécula de interesse, utilizando para isso a técnica de impressão molecular. Essa técnica, baseada em polímeros molecularmente impressos (MIP), vem se tornando um caminho promissor para preparar sensores feitos sob medida, com alta seletividade, confiabilidade e estabilidade mecânica, térmica e química (73, 74). O processo de impressão molecular envolve a polimerização do monômero funcional na presença da molécula alvo, que normalmente é a própria molécula de interesse na detecção ou uma molécula de tamanho e funcionalidade química semelhante (73). O monômero é capaz de interagir com a molécula e após a polimerização seus grupos funcionais são mantidos na mesma posição pela estrutura polimérica altamente reticulada. Após o término da polimerização, a extração da molécula dessa rede polimérica é realizada, criando cavidades que são complementares em tamanho e forma da molécula a ser determinada. Esse processo é muito semelhante a teoria “chave e fechadura” das enzimas e como resultado, a capacidade de reconhecimento pela estrutura polimérica da molécula alvo ocorre com uma seletividade muito alta (75), como podemos ver no esquema da Figura 5.

Figura 5 - Esquema para a formação do MIP e métodos eletroquímicos de transdução do sinal.



Fonte: adaptado de Sharma et al. (76).

Os polímeros mais utilizados para formação da impressão molecular em sensores eletroquímicos são: poli-*o*-fenilenodiamina, polipirrol, poliaminofenol, polifenol, politiofeno, poli(aminofenilborônico) poliaminofenol, entre outros (77). Na literatura, polifenilenodiamina (*o*-PD) e polipirrol (PPy) se destacam na construção de sensores eletroquímicos baseados em MIP (78–81), pois são capazes de formar filmes finos e compactos, necessários para proporcionarem um tempo de resposta mais curto para o sensor, além de apresentarem alta estabilidade térmica e homogeneidade durante sua deposição. (82). Além disso, outra vantagem associada ao uso de PPy é a sua capacidade de incorporar ânions na sua estrutura durante a polimerização, tornando as moléculas orgânicas facilmente impressas [75].

Os MIPs são normalmente preparados por polimerização a partir da geração de radical livre, fotopolimerização ou eletropolimerização (83). Dentre esses métodos, a eletropolimerização se destaca por possibilitar um maior controle da espessura do filme eletrodepositado por meio das condições de eletropolimerização, como controle do potencial ou corrente aplicada.

A sensibilidade desses dispositivos está relacionada com a quantidade de sítios de impressão formados na superfície do sensor. Em eletrodos planares, a modificação enfrenta alguns obstáculos, incluindo a mobilidade restrita e aglomeração das cavidades, comprometendo a seletividade devido a fraca acessibilidade aos locais impressos. Contudo, a formação de superfícies nanoestruturadas parece ser um caminho promissor para superar esses problemas.

Comparadas as superfícies planares, as superfícies nanoestruturadas podem ser construídas com alta relação área/volume, como anteriormente mencionado, e com isso aumentar em número e proporção os locais disponíveis para a eletropolimerização. Esse aumento pode elevar a capacidade de impressão do MIP em até 15 vezes (84). Com base nisso, alguns pesquisadores têm-se concentrado na preparação de MIPs nanoestruturados, utilizando matrizes que possam aumentar ainda mais a quantidade de locais para impressão (43, 68, 76, 81).

5 CONCLUSÕES

Ao longo desse trabalho a construção de sensores seletivos e sensíveis para D-manitol, mio-inositol e L-arabitol baseados em eletrodos modificados com nanomateriais e polímeros molecularmente impressos foi feita com sucesso para determinação dos analitos em vinhaça de cana-de-açúcar. A elevada área superficial, alta condutividade térmica e elétrica e resistência mecânica proporcionadas pelo óxido de grafeno reduzido combinado com as vantagens das nanopartículas de óxido de ouro e óxido/hidróxido de níquel e também do conjunto de nanoeletrodos de ouro arranjados tridimensionalmente, desempenharam um papel fundamental no desempenho do sensor, proporcionando maior número de locais para imobilização dos polímeros impressos, levando a uma melhoria proeminente na seletividade e sensibilidade.

O MIP/AuNP/RGO-GCE apresentou limite de detecção de $7,7 \times 10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$ sendo o menor limite relatado na literatura quando comparado com outros métodos eletroanalíticos. A sensibilidade amperométrica foi de $3,9 \times 10^{10} \mu\text{A L mol}^{-1}$, repetibilidade considerável e estabilidade por até 20 dias quando armazenado. O método proposto apresentou excelente grau de exatidão com recuperações entre 97,5 % e 106,0 %. Além disso, o sensor mostrou seletividade para D-manitol, com variação da corrente cerca de seis vezes maior em comparação com os possíveis interferentes.

A determinação de mio-inositol em MIP/NiNP/RGO-GCE apresentou limites de detecção de $7,6 \times 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$, ampla faixa linear de resposta, repetibilidade e estabilidade por até 30 dias após o armazenamento, podendo ser reutilizado aproximadamente por 20 vezes. O valor de recuperação ficou entre 96 – 103 %, mostrando que o método apresenta excelente grau de exatidão. O MIP/NiNP/RGO-GCE foi aplicado com sucesso para a determinação de mio-inositol em amostra complexa, como a vinhaça de cana-de-açúcar, com reconhecimento seletivo para esta molécula.

O sensor baseado no conjunto de nanoeletrodos de ouro arranjados tridimensionalmente, 3DNEE, para a formação do MIP/3DNEE foi aplicado com sucesso na determinação de L-arabitol, seletividade para a molécula alvo, excelente reprodutibilidade, estabilidade e exatidão. O sensor também apresentou um amplo intervalo de resposta ($1,0 \times 10^{-9}$ - $1,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$), com LD de $7,7 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$. Além disso, o sensor demonstrou ser promissor para análise de L-arabitol, mesmo em matrizes complexas.

Assim, para todos os métodos desenvolvidos para a determinação dos polióis em vinhaça de cana-de-açúcar não foi necessário o uso de derivatizações ou preparação laboriosa da amostra, sendo a quantidade encontrada de D-mannitol, mio-inositol e L-arabitol de $0,19 \pm$

0,50 mg, $91 \pm 5,1$ mg e $17,0 \pm 0,7$ mg, respectivamente. Esses compostos poderiam ser utilizados pela indústria farmacêutica e/ou alimentícia, a partir do conceito de biorrefinarias, proporcionando à indústria sucroalcooleira vantagens econômicas, estratégicas e ecológicas, devido a possibilidade do pleno aproveitamento do resíduo.

REFERÊNCIA

- 1 LOPES, C. H.; GABRIEL, A. V. M. D.; BORGES, M. T. M. R. **Produção de etanol a partir da cana-de-açúcar**: tecnologia de produção de etanol. São Carlos. Coleção UAB – UFSCar, 2011. 133p.
- 2 DA SILVA, A. P. M.; BONO, J. A. M.; PEREIRA, F. A. R. Aplicação de vinhaça na cultura da cana-de-açúcar: Efeito no solo e na produtividade de colmos. **Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.**, v. 18, p. 38-43, 2014.
- 3 MORAES, B. S. et al. Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense? **Appl. Energy**, v. 113, p. 825-835, 2013.
- 4 DA SILVA, M. A. S.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Rev. Bras. Eng. Agrícola e Ambient.**, v. 11, n. 1, p.108–114, 2007.
- 5 GOVERNO DO BRASIL. **Etanol atingiu produção recorde de 30 bilhões de litros em 2015**. Brasil, 2015. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2016/05/etanol-atingiu-producao-recorde-de-30-bilhoes-de-litros-em-2015>>. Acesso em 10 jan. 2018.
6. JANKE, L. et al. Biogas Production from Sugarcane Waste: Assessment on Kinetic Challenges for Process Designing. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 16, n. 9 p. 20685-20703, 2015.
- 7 SAWATDEENARUNAT, C. et al. Anaerobic digestion of lignocellulosic biomass: Challenges and opportunities. **Bioresour. Technol.**, v. 178, p. 178–186, 2015.
- 8 ESPAÑA-GAMBOA, E. et al. Vinasses: characterization and treatments. **Waste Manag. Res.**, v. 29, n. 12, p. 1235-1250, 2011.
- 9 CASTRO, G. A. et al. Solvent extraction of organic acids from stillage for its re-use in ethanol production process. **Waste Manag. Res.**, v. 28, n.6, p. 533-538, 2010.
- 10 PARNAUDEAU, V. et al. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. **Bioresour. Technol.**, v. 99, n. 6, p.1553-1562, 2008.
- 11 SEDENHO, G. C. et al. Determination of Electroactive Organic Acids in Sugarcane Vinasse by High Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection Using a Nickel Nanoparticle Modified Boron-Doped Diamond. **Energy and Fuels**, v. 31, n. 3, p. 2865-2870, 2017.

- 12 DOWD, M. K. et al. Molecular weight organic composition of ethanol stillage from sugarcane molasses, citrus waste, and sweet whey. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, n. 2 p. 283-288, 1994.
- 13 CATALDI, T. R. I.; MARGIOTTA, G.; ZAMBONIN, C. G. Determination of sugars and alditols in food samples by HPAEC with integrated pulsed amperometric detection using alkaline eluents containing barium or strontium ions. **Food Chem.**, v. 62, n. 1, p. 109-115, 1998.
- 14 ZUMBÊ, A.; LEE, A.; STOREY, D. Polyols in confectionery: the route to sugar-free, reduced sugar and reduced calorie confectionery. **Br. J. Nutr.**, v. 85, n. S1, p. S31-S45, 2001.
- 15 DE OLIVEIRA, P. S. M.; FERREIRA, V. F.; DE SOUZA, M. V. N. Utilização do D-manitol em síntese orgânica. **Quim. Nova**, v. 32, n. 2, p. 441-452, 2009.
- 16 CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian J. Med. Biol. Res.**, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.
- 17 MUIZELAAR, J. P. et al. Mannitol causes compensatory cerebral vasoconstriction and vasodilation in response to blood viscosity changes. **J. Neurosurg.**, v. 59, n. 5, p. 822-828, 1983.
- 18 KO, J. S.; KEUM, J. E.; KO, S. Y. A Synthesis of Oseltamivir (Tamiflu) Starting from D-Mannitol. **J. Org. Chem.**, v. 75, n. 20 p. 7006-7009, 2010.
- 19 NJAU, S. et al. Variations in myo-inositol in fronto-limbic regions and clinical response to electroconvulsive therapy in major depression. **J. Psychiatr. Res.**, v. 80, p. 45-51, 2016.
- 20 STRAWN, J. R. et al. A Pilot Study of Anterior Cingulate Cortex Neurochemistry in Adolescents with Generalized Anxiety Disorder. **Neuropsychobiology**, v. 67, n. 4, p. 224-229, 2013.
- 21 HECHT, S. S. Cigarette smoking and lung cancer: chemical mechanisms and approaches to prevention. **Lancet Oncol.**, v. 3, n. 8, p. 461-469, 2002.
- 22 LAM, S. et al. A Phase I Study of myo-Inositol for Lung Cancer Chemoprevention. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.**, v. 15, p. 1526-1531, 2006.
- 23 PANDE, M. et al. The effects of combined therapy of myo-inositol and D-chiro inositol in reduction of the individual components of metabolic syndrome in overweight PCOS patients compared to myo-inositol supplementation alone: a prospective randomised controlled trial. **Int J Reprod. Contracept. Obstet. Gynecol.**, v. 6, n. 7, p. 2939-2943, 2017.

- 24 D'ANNA, R. et al. Effects of a new flavonoid and Myo-inositol supplement on some biomarkers of cardiovascular risk in postmenopausal women: a randomized trial. **Int. J. Endocrinol.**, p. 1-7, 2014.
- 25 MARJAŃSKA, M. et al. Treatment effects in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: A magnetic resonance spectroscopy study after passive immunization. **Neuroscience**, v. 259, p. 94-100, 2014.
- 26 NIWA, H. et al. Ptaquiloside, a novel norsesquiterpene glucoside from bracken, *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*. **Tetrahedron Lett.**, v. 24, p. 4117-4120, 1983.
- 27 JIANG, M. et al. Microbiological purification of L-arabitol from xylitol mother liquor. **J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 21, n. 1, p. 43-49. 2011.
- 28 KORDOWSKA-WIATER, M. Production of arabitol by yeasts: current status and future prospects. **J. Appl. Microbiol.**, v. 119, n. 2, p. 303-314, 2015.
- 29 GUINET, Y. et al. Analysis of stochastic crystallization in micron-sized droplets of undercooled liquid L-arabitol. **Carbohydr. Res.**, v. 435, p. 76-82, 2016.
- 30 LEE, J.; CHUNG, B. C. Simultaneous measurement of urinary polyols using gas chromatography/mass spectrometry. **J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.**, v. 831, p.126-131, 2006.
- 31 DUONG, Q. H. et al. Determination of myo-inositol phosphates in tree nuts and grain fractions by HPLC-ESI-MS. **J. Food Compos. Anal.**, v. 59, p. 74-82, 2017.
- 32 KINDT, E. et al. Quantification of Endogenous myo -Inositol Concentrations in Rat Brain Tissue Homogenates. **Anal. Chem.**, v. 76, n.16, p. 4901-4908, 2004.
- 33 CATALDI, T. R. I.; CAMPA, C.; DE BENEDETTO, G. E. Carbohydrate analysis by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection: The potential is still growing. **Fresenius. J. Anal. Chem.**, v. 368, n. 8, p. 739-758, 2000.
- 34 CATALDI, T. R. I. et al. Anion-exchange chromatography with electrochemical detection of alditols and sugars at a Cu₂O-carbon composite electrode. **J. Chromatogr. A**, v. 773, n. 1/2, p. 115-121, 1997.
- 35 STRADIOTTO, N. R.; YAMANAKA, H.; ZANONI, M. V. B. Electrochemical sensors: a powerful tool in analytical chemistry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 3, p. 159-173, 2003.
- 36 LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Quim. Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006.

- 37 MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, v. 47, n. 12, p. 1882-1886, 1975.
- 38 BALDWIN, R. P.; THOMSEN, K. N. Chemically modified electrodes in liquid chromatography detection: A review. **Talanta**, v. 38, n. 1, p. 1-16, 1991.
- 39 SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Quim. Nova**, v. 20, n. 2, p. 191-195, 1997.
- 40 VAN DER LINDEN, W. E.; DIEKER, J. W. Glassy carbon as electrode material in electro- analytical chemistry. **Anal. Chim. Acta**, v. 119, n. 1, p. 1-24, 1980.
- 41 LIM, W. Q.; GAO, Z. Metal oxide nanoparticles in electroanalysis. **Electroanalysis**, v. 27, n. 9, p. 2074-2090, 2015.
- 42 MENON, V. V. P.; MARTIN, C. R. C. Fabrication and evaluation of nanoelectrode ensembles. **Anal. Chem.**, v. 67, n. 13, p. 1920-1928, 1995.
- 43 RATINAC, K. R. et al. Graphene and Related Materials in Electrochemical Sensing, Graphene and Related Materials in Electrochemical Sensing. **Electroanalysis**, v. 23, n. 4, p. 803-826, 2011.
- 44 LOTA, G. et al. Carbon nanotubes and their composites in electrochemical applications. **Energy Environ. Sci.**, v. 4, p. 1592-1605, 2011.
- 45 SAADAOU, M. et al. Amperometric xanthine biosensors using glassy carbon electrodes modified with electrografted porous silica nanomaterials loaded with xanthine oxidase. **Microchim. Acta**, v. 183, n. 6, p. 2023-2030, 2016.
- 46 FOGUEL, M. V. et al. Molecularly Imprinted Polymer (MIP): A Promising Recognition System for Development of Optical Sensor for Textile Dyes. **Proc. Technol.**, v. 27, p. 299-300, 2017.
- 47 CAMPBELL, F. W.; COMPTON, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: An updated review. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 96, n. 1, p. 241-259, 2010.
- 48 STRADIOTTO, N. R. et al. The fabrication and characterization of a nickel nanoparticle modified boron doped diamond electrode for electrocatalysis of primary alcohol oxidation. **Electroanalysis**, v. 21, n. 24, p. 2627-2633, 2009.
- 49 KARADENIZ, H. et al. Electrochemical sensing of silver tags labelled DNA immobilized onto disposable graphite electrodes. **Electrochem. commun.**, v. 9, n. 9, p. 2167-2173, 2011.
- 50 DOMÍNGUEZ-RENEDO, O. et al. Electrochemical determination of chromium(VI) using metallic nanoparticle-modified carbon screen-printed electrodes. **Talanta**, v. 76, n. 4, p. 854-858, 2008.

- 51 WU, S. et al. Electrodeposition of silver-DNA hybrid nanoparticles for electrochemical sensing of hydrogen peroxide and glucose. **Electrochem. commun.**, v. 8, n. 8, p. 1197-1203, 2006.
- 52 LIU, P. et al. Electrochemical sensor for the determination of brucine in human serum based on molecularly imprinted poly-o-phenylenediamine/SWNTs composite film. **Sens. Actuators, B.**, v. 163, n. 1, p. 84–89, 2012.
- 53 PINGARRÓN, J. M., YAÑEZ-SEDEÑO, P., GONZALEZ-CORTES, A. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors. **Electrochim. Acta**, v. 53, n. 9, p. 5848-5866, 2008.
- 54 BORKOWSKA, Z.; TYMOSIAK-ZIELINSKA, A.; NOWAKOWSKI, R. High catalytic activity of chemically activated gold electrodes towards electro-oxidation of methanol. **Electrochim. Acta**, v. 49, p. 2613-2621, 2004,
- 55 LACOURSE, W. R. et al. Cathodic re-activation of the gold electrode in pulsed electrochemical detection of carbohydrates. **J. Electroanal. Chem.**, v. 663, p. 30-35, 2011.
- 56 LAREW, L. A.; JOHNSON, D. C. Concentration dependence of the mechanism of glucose oxidation at gold electrodes in alkaline media. **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, v. 262, n. 1/2, p. 167-182, 1989.
- 57 RAFIEE, B.; FAKHARI, A. R. Electrocatalytic oxidation and determination of insulin at nickel oxide nanoparticles-multiwalled carbon nanotube modified screen printed electrode. **Biosens. Bioelectron.** v. 46, p. 130-135, 2013.
- 58 DE LEO, M.; KUHN, A.; UGO, P. 3D-Ensembles of Gold Nanowires: Preparation, Characterization and Electroanalytical Peculiarities. **Electroanalysis**, n. 19, n. 2/3, p. 227-236, 2007.
- 59 VISWANATHAN, S.; RANI, C.; RIBEIRO, S.; DELERUE-MATOS, C. Molecular imprinted nanoelectrodes for ultra sensitive detection of ovarian cancer marker. **Biosens. Bioelectron.**, v. 33, n. 1, p. 179-183, 2012.
- 60 UGO, P.; MORETTO, L. M.; SILVESTRINI, M.; PEREIRA, F. C. Nanoelectrode ensembles for the direct voltammetric determination of trace iodide in water. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, v. 90, p. 747–759, 2010.
- 61 UGO, P.; MORETTO, L. M. Template deposition of metal. In: ZOSKI, C.G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. chap. 16.2, p. 678-709.
- 62 STORTINI, A. M. et al. Arrays of copper nanowire electrodes: Preparation, characterization and application as nitrate sensor. **Sens. Actuators, B**, v. 207, p. 186–192, 2005.

- 63 MARDEGAN, A. et al. Ensembles of Gold Nanowires for the Anodic Stripping Voltammetric Determination of Inorganic Arsenic. **J. Nanosci. Nanotechnol.**, v.15, p. 3417-3422, 2015.
- 64 LI, H. H. et al. A novel electrochemical sensor for epinephrine based on three dimensional molecularly imprinted polymer arrays. **Sens. Actuators, B**, v. 222, p. 1127-1133, 2016.
- 65 LEE, K-B.; PARK, S.; MIRKIN, C. A. Multicomponent Magnetic Nanorods for Biomolecular Separations. **Angew. Chemie Int. Ed**, v. 43, n. 23, p. 3048-3050. 2004.
- 66 HUANG, W. R. et al. Fabrication of gold/polypyrrole core/shell nanowires on flexible substrate for molecular imprinted electrochemical sensor. **RSC Adv.**, v. 4, p. 62393-62398, 2014.
- 67 IUPAC Compendium of Chemical Terminology: **The gold book** Research Triagle Park, NC, 2005. Disponível em: < <http://goldbook.iupac.org/>>. Acesso em: 20 ago. 2017.
- 68 SHAO, Y. et al. Graphene based electrochemical sensors and biosensors: A review. **Electroanalysis**, v. 22, n. 10, p. 1027-1036, 2010.
- 69 RATINAC, K. R. et al. Graphene and related materials in electrochemical sensing. **Electroanalysis**, v. 23, n. 4, p. 803-826. 2011
- 70 CHEN, D.; FENG, H.; LI, J. Graphene oxide: Preparation, functionalization, and electrochemical applications. **Chem. Rev.**, v. 112, n. 11, p. 6027-6053, 2012.
- 71 CHUA, C. K.; PUMERA, M. Chemical reduction of graphene oxide: a synthetic chemistry viewpoint. **Chem. Soc. Rev.**, v. 43, n. 1, p. 291-312, 2014.
- 72 AGHAEI, A.; HOSSEINI, M. R. M.; NAJAFI, M. A novel capacitive biosensor for cholesterol assay that uses an electropolymerized molecularly imprinted polymer. **Electrochim. Acta**, v. 55, n. 5, p. 1503-1508, 2010.
- 73 JIANG, Z.; LI, G.; ZHANG, M. A novel sensor based on bifunctional monomer molecularly imprinted film at graphene modified glassy carbon electrode for detecting traces of moxifloxacin. **RSC Adv.**, v. 6, n. 39, p. 32915-32921, 2016.
- 74 SURYANARAYANAN, V.; WU, C-T.; HO, K-C. Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors. **Electroanalysis**, v. 22, n. 16, p. 1795-1811, 2010.
- 75 SHARMA, P. S. et al. Electrochemically synthesized polymers in molecular imprinting for chemical sensing. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 402, n. 10, p. 3177-3204, 2012.
- 76 ÖZCAN, L.; ŞAHİN, Y. Determination of paracetamol based on electropolymerized-molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode. **Sens. Actuators, B**, v. 127, p. 362-369, 2007.

- 77 WANG, Q. et al. An Electrochemical Sensor for Reducing Sugars Based on a Glassy Carbon Electrode Modified with Electropolymerized Molecularly Imprinted Poly-o-phenylenediamine Film. **Electroanalysis**, v. 26, n. 7, p. 1612-1622, 2014.
- 78 BELUOMINI, M. A. et al. D-mannitol sensor based on molecularly imprinted polymer on electrode modified with reduced graphene oxide decorated with gold nanoparticles. **Talanta**, v. 165, p. 231-239, 2017.
- 79 SYRITSKI, V. et al. Electrosynthesized molecularly imprinted polypyrrole films for enantioselective recognition of l-aspartic acid. **Electrochim. Acta**, v. 53, p. 2729-2736, 2008.
- 80 WANG, F.; ZHU, L.; ZHANG, J. Electrochemical sensor for levofloxacin based on molecularly imprinted polypyrrole-graphene-gold nanoparticles modified electrode. **Sens. Actuators, B**, v. 192, p. 642-647. 2014.
- 81 MALITESTA, C. et al. MIP sensors - The electrochemical approach. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 402, p. 1827-1846, 2012.
- 82 CHEN, L. et al. Molecular imprinting: perspectives and applications. **Chem. Soc. Rev.**, v. 45, p. 2137-2211, 2016.
- 83 WHITCOMBE, M. J. et al. The rational development of molecularly imprinted polymer-based sensors for protein detection. **Chem. Soc. Rev.**, v. 40, n. 3, p. 1547-1571, 2011.
- 84 DA SILVA, J. L.; BELUOMINI, M. A.; RAMOS STRADIOTTO, N. R. Cathodic electrochemical determination of furfural in sugarcane bagasse using an electrode modified with nickel nanoparticles. **Anal. Methods**, v. 9, n. 5, p. 826-834, 2017.
- 85 ONGARO, M. et al. Electrochemical synthesis and characterization of hierarchically branched ZnO nanostructures on ensembles of gold nanowires. **Electrochim. Acta**, v. 78, p. 539-546, 2012.
86. HILDER, M. et al. Direct electro-deposition of graphene from aqueous suspensions. **Phys. Chem.**, v. 13, p. 9187-9193, 2011.
- 87 BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. New York: Wiley, 2001.
- 88 PRABHU, S. V.; BALDWIN, R. P. Electrocatalysis and detection of amino sugars, alditols, and acidic sugars at a copper-containing chemically modified electrode. **Anal. Chem.**, v. 61, p. 2258-2263, 1989.
- 89 VITT, J. E.; LAREW, L. A.; JOHNSON, D. C. The importance of adsorption in anodic surface-catalyzed oxygen-transfer reactions at gold electrodes. **Electroanalysis**, v. 2, p. 21-30. 1990.

- 90 ŠTRBAC, S.; ADŽIĆ, R. R. The influence of OH⁻ chemisorption on the catalytic properties of gold single crystal surfaces for oxygen reduction in alkaline solutions. **J. Electroanal. Chem.**, v. 403, p. 169–181, 1996.
- 91 LOSITO, I.; PALMISANO, F.; ZAMBONIN, P. G. o-Phenylenediamine electropolymerization by cyclic voltammetry combined with electrospray ionization-ion trap mass spectrometry. **Anal. Chem.**, v. 75, p. 4988–4995, 2003.
- 92 KOR, K.; ZAREI, K. Development and characterization of an electrochemical sensor for furosemide detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. **Talanta**, v. 146, p.181–187, 2016.
- 93 NASCENTE, P. A. P. Materials characterization by X-ray photoelectron spectroscopy. **J. Mol. Catal. A Chem.**, v. 228, p. 145–150, 2005.
- 94 HANKO, V. P.; ROHRER, J. S. Determination of carbohydrates, sugar alcohols, and glycols in cell cultures and fermentation broths using high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. **Anal. Biochem.**, v. 283, p. 192–199, 2000.
- 95 CHEN, Q.; ZHANG, L.; CHEN, G. Facile preparation of graphene-copper nanoparticle composite by in situ chemical reduction for electrochemical sensing of carbohydrates. **Anal. Chem.**, v. 84, p. 171–178, 2012.
- 96 FU, Y.; ZHANG, L.; CHEN, G. Preparation of a carbon nanotube-copper nanoparticle hybrid by chemical reduction for use in the electrochemical sensing of carbohydrates. **Carbon**, v. 50, p. 2563–2570, 2012.
- 97 CASELLA, I. G. et al. Electrocatalytic oxidation and liquid chromatographic detection of aliphatic alcohols at a nickel-based glassy carbon modified electrode. **Anal. Chem.**, v. 65, p. 3143-3150, 1993.
- 98 TANG, K.; LIANG, L.; CAI, Y.; MOU, S. Determination of sugars and alditols in tobacco with high performance anion-exchange chromatography. **J. Sep. Sci.**, v. 30, p. 2160-2166, 2007.
- 99 DA SILVA, J. L.; BELUOMINI, M. A.; SEDENHO, G. C.; STRADIOTTO, N. R. Determination of amino acids in sugarcane vinasse by ion chromatographic using nickel nanoparticles on reduced graphene oxide modified electrode. **Microchem. J.**, v. 134 p. 374-382, 2017.
- 100 DA SILVA, J. L.; BELUOMINI, M. A.; STRADIOTTO, N. R. Determination of furanic aldehydes in sugarcane bagasse by high-performance liquid chromatography with pulsed amperometric detection using a modified electrode with nickel nanoparticles. **J. Sep. Sci.**, v. 38, n. 18, p. 3176-3182, 2015.

- 101 BELUOMINI, M. A.; LUIZ DA SILVA, J.; STRADIOTTO, N. R. Determination of uronic acids in sugarcane bagasse by anion-exchange chromatography using an electrode modified with copper nanoparticles. **Anal. Methods**, v. 7, p. 2347-2353, 2015.
- 102 SANTOS, F. C. U. et al. Electrochemical determination of total reducing sugars from bioethanol production using glassy carbon electrode modified with graphene oxide containing copper nanoparticles. **Fuel**, v. 163, p. 112-121, 2016.
- 103 BELUOMINI, M. A.; DA SILVA, J. L.; STRADIOTTO, N. R. Amperometric determination of myo-inositol by using a glassy carbon electrode modified with molecularly imprinted polypyrrole, reduced graphene oxide and nickel nanoparticles. **Microchim. Acta**, 2018. doi:10.1007/s00604-018-2710-0.
- 104 SCHWEIGER, B. et al. Electropolymerized molecularly imprinted polypyrrole film for sensing of clofibrilic acid. **Sensors**, v. 15, p. 4870-4889. 2015.
- 105 HSUEH, C.; BRAJTER-TOTH, A. Electrochemical preparation and analytical applications of ultrathin overoxidized polypyrrole films. **Anal. Chem.**, v. 66, p. 2458-2464, 1994.
- 106 ÖZKORUCUKLU, S. P.; ŞAHİN, Y.; ALSANCAK, G. Voltammetric behaviour of sulfamethoxazole on electropolymerized- molecularly imprinted overoxidized polypyrrole. **Sensors**, v. 8, p. 8463-8478, 2008.
- 107 LI, Y.; QIAN, R. Electrochemical overoxidation of conducting polypyrrole nitrate film in aqueous solutions. **Electrochim. Acta**, v. 45, p. 1727-1731, 2000.
- 108 GRASES, F. et al. Determination of myo-inositol hexakisphosphate (phytate) in urine by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 510, p. 41-43, 2004.
- 109 INDYK, H. E.; WOOLLARD, D. C. Determination of free myo-inositol in milk and infant formula by high-performance liquid chromatography. **Analyst**, v.119, n. 3, p. 397-402, 1994.
- 110 PORTAL BRASIL. **Safra 2017/2018 de cana-de-açúcar deve ser de 647 milhões de toneladas**. Brasil 2017, Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/04/safra-2017-2018-de-cana-de-acucar-deve-ser-de-647-milhoes-de-toneladas>> Acesso em 1 Ago. 2017.
- 111 SILVESTRINI, M. et al. Modification of nanoelectrode ensembles by thiols and disulfides to prevent non specific adsorption of proteins. **Electrochim. Acta**, v. 56, p. 7718-7724, 2011
- 112 ONGARO, M.; UGO, P. Bioelectroanalysis with nanoelectrode ensembles and arrays. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 405, p. 3715-3729, 2013.

113 LI, X. et al. Fabrication and modeling of an ultrasensitive label free impedimetric immunosensor for aflatoxin B1 based on protein A self-assembly modified gold 3D nanotube electrode ensembles. **Electrochim. Acta**, v. 247, p. 1052–1059, 2017.

114 PAPAIOANNOU, E.; KOUTSAS, C.; LIAKOPOULOU-KYRIAKIDES, M. Molecularly imprinted polymers for RGD selective recognition and separation. **Amino Acids**, v. 36, p. 563-569, 2009.

115 DILTEMIZ, S.E. et al. Biosensors and bioelectronics designing of MIP based QCM sensor having thymine recognition sites based on biomimicking DNA approach. **Biosens. Bioelectron.**, v. 25, p. 599-603, 2009.