



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**KELLINE ALAIDE PEREIRA SOUSA**

**FOTOSSENSOR AMPEROMÉTRICO À BASE DE LARANJA DE**  
**ACRIDINA/TiO<sub>2</sub> PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO**  
**CLOROGÊNICO EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS**

**SÃO LUÍS – MA**

**2018**

KELLINE ALAIDE PEREIRA SOUSA

**FOTOSENSOR AMPEROMÉTRICO À BASE DE LARANJA DE  
ACRIDINA/TiO<sub>2</sub> PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO  
CLOROGÊNICO EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rita de Cássia Silva Luz

SÃO LUÍS – MA

2018

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Sousa, Kelline Alaide Pereira.

FOTOSSENSOR AMPEROMÉTRICO À BASE DE LARANJA DE  
ACRIDINA/TiO<sub>2</sub> PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO CLOROGÊNICO EM  
AMOSTRAS DE ALIMENTOS / Kelline Alaide Pereira Sousa. -  
2018.

74 f.

Orientador(a): Rita de Cássia Silva Luz.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís,  
2018.

1. ACG. 2. Laranja de acridina. 3. Sensor  
fotoeletroquímico. 4. TiO<sub>2</sub>. I. Luz, Rita de Cássia  
Silva. II. Título.

KELLINE ALAIDE PEREIRA SOUSA

**FOTOSSENSOR AMPEROMÉTRICO À BASE DE LARANJA DE  
ACRIDINA/TiO<sub>2</sub> PARA A DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO  
CLOROGÊNICO EM AMOSTRAS DE ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, como requisito para obtenção do título de Mestre em Química.

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

**Prof. Dra. Rita de Cássia Luz/Presidente**

Departamento de Química/UFMA

---

**Prof. Eliane Rodrigues de Sousa/Membro titular**

Departamento de Química/UFMA

---

**Prof. Cícero Wellington Bezerra/Membro titular**

Departamento de Química/UFMA

*“A mente que se abre a uma nova ideia,  
jamais retornará ao seu tamanho original”*

Albert Einstein

## *Agradecimentos*

*A Deus, por seu amor que cobre minhas fraquezas e sua fidelidade que é maior do que qualquer obstáculo na minha vida;*

*À Prof. Dra. Rita de Cássia Silva Luz, por ter me acolhido como aluna de mestrado no seu laboratório. Obrigada por todo ensinamento transmitido durante o período de convívio, obrigada pelo respeito, pela compreensão e principalmente, agradeço pela orientação de maneira dura e terna, que enriqueceu enormemente o conteúdo desse trabalho;*

*Ao prof. Dr. Flávio Santos Damos, por sua disponibilidade em contribuir para o desenvolvimento deste trabalho e por transmitir de forma sábia seus ensinamentos;*

*Aos meus pais e irmãos, pela dedicação, amor, força, amizade e carinho destinados por toda a vida;*

*As minhas primas Irlene Silva e Iraildes Silva que sempre serviram de exemplo e inspiração para mim;*

*Ao Rodrigo de Sousa Rabelo, ouvinte atento de algumas dúvidas, inquietações, desânimos e sucessos, pelo amor, carinho e por sempre me apoiar em todas as minhas decisões;*

*Aos meus colegas do laboratório de Sensores, Dispositivos e Métodos Analíticos (LabS) que de alguma forma são colaboradores neste trabalho. Agradeço por todo o incentivo e amizade;*

*Ao Programa de Pós-Graduação em Química e a UFMA, pelos profissionais que disponibilizam para transmitir seus ensinamentos e pelo excelente ambiente oferecido aos seus alunos;*

*Agradeço a Geyse Adriana Corrêa Ribeiro pela realização das medidas de FTIR na Central Analítica da Universidade Federal do Maranhão.*

*Ao INCT bioanalítica e aos órgãos de fomento, CAPES, CNPQ e FAPEMA pelo auxílio financeiro e bolsa concedidos que foram fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho.*

## RESUMO

O presente trabalho baseia-se no desenvolvimento de um sensor fotoeletroquímico altamente seletivo para a determinação de ácido clorogênico (ACG), um antioxidante fenólico, empregando-se um eletrodo de óxido de índio e estanho (ITO) modificado com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e laranja de acridina (LA). Uma lâmpada LED (*Light Emitting Diode*) foi utilizada como fonte de irradiação do sistema fotoeletroquímico. Os materiais que compõem o fotossensor foram caracterizados individualmente e simultaneamente por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). O fotossensor desenvolvido foi denominado de ITO/LA/TiO<sub>2</sub> e mostrou uma rápida resposta para o analito em um tempo de um segundo com elevadas fotocorrentes para o ACG quando comparado aos sensores ITO/LA e ITO/TiO<sub>2</sub>. Sob as condições experimentais e operacionais otimizadas, o sensor à base de ITO/LA/TiO<sub>2</sub> apresentou uma correlação linear entre a fotocorrente e a concentração de ACG num intervalo de concentração de 2 a 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , bem como um limite de detecção de 0,54  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O sensor foi aplicado para a determinação de ACG em amostras de café solúvel, chá e suco de maçã empregando-se o método de adição de padrão. A exatidão do sensor foi avaliada através de estudos de adição e recuperação do analito fornecendo percentagens de recuperação entre 102,16 % a 102,42 %. A precisão do sensor foi verificada por meio da repetibilidade das medidas e do preparo do sensor proporcionando um desvio padrão relativo (DPR) inferior a 2% em ambos os estudos, demonstrando um excelente resultado para o sensor proposto. A seletividade do sensor foi testada avaliando-se diferentes espécies comumente encontrados em amostras que contém o ACG e os resultados obtidos sugerem que não há interferência significativa destes compostos na resposta do analito, demonstrando uma boa seletividade para o sensor fotoeletroquímico. O fotossensor mostrou-se um método eficiente para a determinação do antioxidante ACG em amostra de alimentos, de maneira prática, rápida, com grande confiabilidade e de baixo custo.

**Palavras-chave:** ACG; laranja de acridina; TiO<sub>2</sub>; sensor fotoeletroquímico; café solúvel; chá; suco de maçã.

## ABSTRACT

The present work is based on the development of a highly selective photoelectrochemical sensor for the determination of chlorogenic acid (CGA), a phenolic antioxidant, using a indium doped tin oxide electrode (ITO) modified with titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) and acridine orange (AO). A light emitting diode (LED) lamp was used as the source of irradiation for the photoelectrochemical system. The materials that compose the photosensor were individually and simultaneously characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The developed photosensor was named ITO/LA/TiO<sub>2</sub> and showed a rapid response to the analyte with high photocurrent for the CGA when compared to the ITO/LA and ITO/TiO<sub>2</sub> sensors. Under optimized experimental and operational conditions, the ITO/LA/TiO<sub>2</sub> based sensor showed a linear correlation between the photocurrent and the CGA concentration in a concentration range of 2 to 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , as well as a detection limit of 0.54  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . The sensor was applied for the determination of CGA in soluble coffee, tea and apple juice samples by using the standard addition method. The accuracy of the sensor was evaluated through addition and recovery studies of the analyte providing recovery percentages from 102.16% to 102.42%. The accuracy of the sensor was verified by evaluating the repeatability of the measurements for several prepared sensors, providing a relative standard deviation (RSD) lower than 2 % indicating an excellent result for the proposed sensor. The selectivity of the sensor was tested by evaluating different species commonly found in samples containing the CGA and the results obtained suggest that there is no significant interference of these compounds on the analyte response, demonstrating a good selectivity for the photoelectrochemical sensor. The photosensor showed to be an efficient method for the determination of the CGA antioxidant in food samples, in a practical, fast, high reliability and low cost.

Keywords: CGA; acridine orange; TiO<sub>2</sub>; photoelectrochemical sensor; soluble coffee; tea; apple juice.

## LISTA DE ABREVIATURAS

5-CQA	ácido-5-cafeoilquínico
ACG	ácido clorogênico
Ag/AgCl	eletrodo de prata/cloreto de prata
$b$	coeficiente de regressão angular da curva analítica
BC	banda de condução
BMIM.PF <sub>6</sub>	1-butil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato
B-R	solução tampão Britton-Robinson
BV	banda de valência
CE	contra-eletrodo
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
DP	desvio padrão de 10 medidas de fotocorrente para o “branco”
DPR	desvio padrão relativo
$e^-/h^+$	par elétron-buraco
$E_{apl}$	potencial aplicado
ECV	eletrodo de carbono vítreo
ECVM	eletrodo de carbono vítreo microporoso
$E_g$	bandgap ou banda proibida
EIE	espectroscopia de impedância eletroquímica
EQM	eletrodo quimicamente modificado
ER	eletrodo de referência
ET	eletrodo de trabalho
ETI	eletrodo de tela impressa
FEQ	Fotoeletroquímica
FTIR	infravermelho por transformada de Fourier ( <i>Fourier Transform Infrared</i> )
FQAs	ácidos feruloilquínicos
HEPES	2-[4-(2-hidroxietil)piperazina]-ácido etanossulfônico
HOMO	orbital molecular ocupado de mais alta energia (Highest Occupied Molecular Orbital)
$I_{fotoc}$	fotocorrente anódica
ITO	óxido de índio e estanho

IV	Infravermelho
$K_3[Fe(CN)_6]$	ferricianeto de potássio
LA	laranja de acridina
LD	limite de detecção
LED	Light Emitting Diode
LUMO	orbital molecular desocupado de mais baixa energia (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
MCV	solução tampão McIlvaine
NTCPMs	nanotubos de carbono de paredes múltiplas
<i>p</i> -CoQAs	ácido <i>p</i> -cumarilquínico
PASA	poli (ácido aminossulfônico)
$R_{ct}$	resistência a transferência de carga
RTIL	líquido iônico à temperatura ambiente
S	sensibilizador no estado fundamental
S*	sensibilizador no estado excitado
S <sup>+</sup>	sensibilizador no estado oxidado
STF	solução tampão fosfato
UV	Ultravioleta
VOQ	voltametria de onda quadrada
VPD	voltametria de pulso diferencial

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Mecanismo de ação da atividade antioxidante de um composto fenólico.....	21
<b>Figura 2:</b> Semi-reação de oxidação do ácido clorogênico.....	23
<b>Figura 3:</b> Orbitais eletrônicos e formação do par $e^-/h^+$ em uma molécula S após absorção de luz. ....	27
<b>Figura 4:</b> Diagrama esquemático de uma célula fotoeletroquímica. ....	29
<b>Figura 5:</b> Banda de valência e de condução de um semicondutor e formação do par $e^-/h^+$ . ...	30
<b>Figura 6:</b> Mecanismo de geração de fotocorrentes de um material semicondutor inorgânico (a) Fotocorrente anódica; (b) Fotocorrente catódica. ....	31
<b>Figura 7:</b> Mecanismo de geração de fotocorrente em um compósito de $TiO_2$ -sensibilizador.	33
<b>Figura 8:</b> Espectrofotômetro Shimadzu FT-IR Prestige-21. ....	37
<b>Figura 9:</b> Potenciostato/galvanostato da (a) Autolab PGSTAT204 utilizado para as medidas fotoeletroquímicas e (b) Autolab PGSTAT 128 N utilizado para a medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica. ....	38
<b>Figura 10:</b> Esquema de trabalho do sistema fotoeletroquímico utilizado. ....	38
<b>Figura 11:</b> (a) Espectro de FTIR do $TiO_2$ (b) do LA (c) e do compósito LA/ $TiO_2$ .....	43
<b>Figura 12:</b> Diagramas de Nyquist para os fotoeletrodos ITO/LA, ITO/ $TiO_2$ e ITO/LA/ $TiO_2$ em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl contendo $5 \text{ mmol L}^{-1}$ de $K_3[Fe(CN)_6]$ na ausência de luz. $E_{\text{appl(LA)}} = 0,203 \text{ V}$ ; $E_{\text{appl(TiO}_2\text{)}} = 0,204 \text{ V}$ ; $E_{\text{appl(LA/TiO}_2\text{)}} = 0,216 \text{ V}$ . ....	45
<b>Figura 13:</b> Espectros de impedância eletroquímica para os fotoeletrodos ITO/LA, ITO/ $TiO_2$ e ITO/LA/ $TiO_2$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $Na_2SO_4$ sob iluminação LED visível sob potencial de circuito aberto. ....	46
<b>Figura 14:</b> Resposta de fotocorrente do sensor ITO/ $TiO_2$ , ITO/LA e ITO/LA/ $TiO_2$ na ausência (1) e presença (2) de $200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de ACG em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de STF (pH 7,0). $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{saturado}}$ . ....	48
<b>Figura 15:</b> Amperogramas do fotossensor ITO/LA/ $TiO_2$ na presença de diferentes concentrações do analito ( $100, 200, 300$ e $400 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de STF (pH 7,0). Figura inserida: Gráfico de fotocorrente versus concentração do analito. $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{saturado}}$ . ....	49
<b>Figura 16:</b> Representação esquemática da detecção fotoeletroquímica usando o sensor ITO/LA/ $TiO_2$ . ....	50

<b>Figura 17:</b> Influência do pH da solução sobre a resposta do fotossensor para 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ACG. $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs Ag/AgCl sat.}$ .....	51
<b>Figura 18:</b> Influência do tipo de solução tampão na resposta do fotossensor ITO/LA/TiO <sub>2</sub> para 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de ACG. $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs Ag/AgCl sat.}$ .....	52
<b>Figura 19:</b> Influência do potencial aplicado na resposta do fotossensor ITO/LA/TiO <sub>2</sub> para 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de ACG. $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs Ag/AgCl sat.}$ .....	53
<b>Figura 20:</b> Resposta de fotocorrente de ACG em eletrodo de ITO/LA/TiO <sub>2</sub> nas condições otimizadas, nas concentrações de 2 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Figura inserida: Curva analítica obtida. $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs Ag/AgCl sat.}$ .....	55
<b>Figura 21:</b> Resposta fotoeletroquímica do sensor ITO/LA/TiO <sub>2</sub> nas condições otimizadas, na presença de (a) 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de café solúvel com adições sucessivas de 10 a 149,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ACG, (b) 38,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de chá, com adição de 10,0 a 187,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ACG e (c) 91 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de suco de maçã, com adição de 10,0 a 152,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de ACG. Figura inserida: relação linear da fotocorrente vs [ACG]. $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V}$ .....	58
<b>Figura 22:</b> Amperogramas do fotossensor ITO/LA/TiO <sub>2</sub> na presença de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de ACG obtida no mesmo dia. ....	60
<b>Figura 23:</b> Amperogramas do fotossensor ITO/LA/TiO <sub>2</sub> na presença de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de solução de ACG obtida em dias diferentes.....	61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Adições das amostras e da solução padrão do analito.....	41
<b>Tabela 2:</b> Comparação de alguns parâmetros analíticos de sensores relatados na literatura para a determinação de ACG.....	56
<b>Tabela 3:</b> Determinação de ACG obtidos para três amostras de alimentos (n=5) e estudos de adição e recuperação.....	57
<b>Tabela 4:</b> Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com o fotossensor ITO/LA/TiO <sub>2</sub> em solução 0,1 mol L <sup>-1</sup> de tampão fosfato, pH 8,0, contendo 100 µmol L <sup>-1</sup> de solução de ACG obtida no mesmo dia. E <sub>apl.</sub> = 0,3 V. ....	60
<b>Tabela 5:</b> Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com quatro sensores de ITO/LA/TiO <sub>2</sub> imerso em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de STF, pH 8,0, contendo 100 µmol L <sup>-1</sup> de solução de ACG. E <sub>apl.</sub> = 0,3 V. ....	61
<b>Tabela 6:</b> Valores da resposta de fotocorrente (µA) obtidas com o fotossensor ITO/LA/TiO <sub>2</sub> para 5 µmol L <sup>-1</sup> de ACG na presença de compostos interferentes em diferentes razões molares (n = 3). ....	62

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	19
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	20
<b>3.1. Compostos fenólicos e sua capacidade antioxidante</b> .....	20
<b>3.2. Ácido Clorogênico</b> .....	22
<b>3.3. Sensores eletroquímicos: Aplicação para a detecção de ácido clorogênico</b> .....	24
<b>3.4. Sensores fotoeletroquímicos</b> .....	26
<b>3.5. Materiais semicondutores e compostos orgânicos/inorgânicos empregados em sistemas fotoeletroquímicos</b> .....	28
<b>4. PROCEDIMENTO METODOLÓGICO</b> .....	35
<b>4.1. Reagentes e soluções</b> .....	35
<b>4.2. Construção do sensor fotoeletroquímico ITO/LA/TiO<sub>2</sub></b> .....	36
<b>4.3. Caracterização por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	36
<b>4.4. Medidas fotoeletroquímicas e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)</b> .....	37
<b>4.5. Estudo do comportamento eletroquímico do fotossensor na presença e ausência de ACG</b> .....	38
<b>4.6. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico</b> .....	39
4.6.1. Parâmetros experimentais .....	39
4.6.2. Parâmetros operacionais .....	39
<b>4.7. Caracterização analítica do sensor</b> .....	39
<b>4.8. Aplicação em amostras de alimentos</b> .....	40
<b>4.9. Determinação de ACG em amostras de alimentos empregando o fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> e avaliação da sua exatidão por meio de estudos de adição e recuperação</b> .....	40

4.10. Avaliação da precisão do fotossensor .....	41
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>42</b>
5.1. Caracterização dos materiais que compõem o sensor por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	42
5.2. Caracterização da plataforma fotoeletroquímica por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.....	44
5.3. Influência dos materiais que compõem o fotossensor na resposta de ACG e o efeito da concentração do analito na intensidade da fotocorrente .....	47
5.4. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico .....	50
5.4.1. pH.....	50
5.4.2. Solução tampão .....	52
5.4.3. Potencial aplicado.....	53
5.5. Caracterização analítica do sensor para a determinação de ACG .....	54
5.6. Determinação de ACG em amostras de alimentos e estudo da exatidão do sensor proposto por meio da adição e recuperação do analito .....	57
5.7. Avaliação da precisão do sensor por meio da repetibilidade das medidas e da repetibilidade do preparo sensor .....	59
5.8. Estudo de interferentes.....	62
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIA.....</b>	<b>65</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A Eletroanalítica, também conhecida como Eletroanálise, caracteriza-se como o desenvolvimento, caracterização, entendimento e aplicação de métodos de análise química empregando fenômenos eletroquímicos, os quais têm contribuído para o entendimento de vários processos eletroquímicos, tais como catálise, inibição e transferência eletrônica, fotoeletroquímica e determinações analíticas (ZANONI *et al.*, 2017).

Na ciência analítica moderna, a Eletroanalítica tem papel importante no desenvolvimento de novos métodos de análise, sensores químicos, dispositivos e sistemas capazes de identificar, monitorar e quantificar os mais diversos tipos de analitos nas mais diferentes matrizes, tais como fluídos biológicos, matrizes ambientais, microssistemas e outros universos que requerem avanços tecnológicos para resoluções de problemas cada vez mais complexos (ZANONI *et al.*, 2017). Assim, desde os primórdios da Eletroquímica até o momento atual tem-se observado um considerável crescimento, tanto em magnitude quanto em diversificação. No Brasil, isto tem se tornado evidente pelo elevado número de trabalhos publicados na literatura técnica e científica, pela formação e consolidação de sociedades científicas profissionais e diferentes subdivisões, por uma série de congressos que reúnem pesquisadores nacionais e internacionais que ocorrem regularmente e, principalmente, pela notória qualidade na formação de recursos humanos na área (ZANONI *et al.*, 2017).

Novos estudos eletroanalíticos vêm sendo desenvolvidos em várias partes do mundo, e, dentre estes destaca-se a degradação de compostos orgânicos empregando sistemas fotoeletroquímicos. Nos processos fotoeletroquímicos o fotocatalisador é depositado sobre a superfície de um material condutor, o que permite a coleta de elétrons fotogerados por aplicação de um potencial externo (TAUCHERT E PERALTA-ZAMORA, 2004). Um fóton promove a excitação eletrônica de um elétron no material condutor, de modo que, ocorre uma separação de cargas, ou seja, ocorre a formação de um par elétron/buraco (BORGES, 2009). Esta separação de cargas maximiza o tempo de vida dos buracos fotogerados, o que favorece a geração de radicais hidroxila o qual possui a capacidade para promover uma degradação efetiva do poluente a ser tratado.

Adicionalmente, substratos orgânicos podem ser oxidados diretamente via processo eletroquímico, e indiretamente pela ação de agentes oxidantes eletroquimicamente gerados (ex. peróxido de hidrogênio e oxigênio singlete). Como resultado, tem-se um importante efeito sinérgico entre os processos, fator que permite a degradação de inúmeros

substratos de relevância ambiental (PELEGRINI *et al.*, 1999; WALDNER *et al.*, 2003; QUAN *et al.*, 2004).

Além da degradação de compostos orgânicos por meio de sistemas fotoeletroquímicos pode-se realizar a detecção/quantificação desses compostos empregando os chamados sensores fotoeletroquímicos. Um sensor fotoeletroquímico é um novo tipo de dispositivo analítico baseado nas propriedades fotoeletroquímicas de materiais, principalmente materiais semicondutores. Devido às suas notáveis características, tais como sensibilidade, possibilidade de miniaturização e portabilidade, estes tipos de análises fotoeletroquímicas estão se tornando muito promissoras, principalmente para aplicações analíticas (ZHANG *et al.*, 2011), indicando uma gama de interessantes aplicações.

O uso de materiais fotoeletroquimicamente ativos que otimizem a geração de fotocorrente/fotopotencial é um fator extremamente importante para o desenvolvimento de sensores fotoeletroquímicos (WANG *et al.*, 2009). Dentre estes materiais, estão inclusos os semicondutores, como dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), ou mesmo a combinação de dois semicondutores inorgânicos.

Dentre os compostos que tem sido recentemente determinados via sensores fotoeletroquímicos destacam-se os compostos fenólicos (YAN *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2015; YAN *et al.*, 2015; ZHU *et al.*, 2016). que são substâncias que consistem em um grupo hidroxila ligado diretamente a um grupo hidrocarboneto aromático, podendo ser um fenol simples ou polifenol (CARTEA *et al.*, 2011). Neste contexto, a grande motivação para a detecção destas moléculas é devida sua alta toxicidade, principalmente em ambientes aquáticos (GUERRA, 2001). Outra característica indesejável destes contaminantes é o fato de que, no processo de cloração da água potável, a sua reação com cloro produz clorofenóis e policlorofenóis que são carcinogênicos (COLARIETI *et al.*, 2002).

Outra importante classe de compostos fenólicos são os antioxidantes fenólicos que são substâncias que retardam o início da reação de oxidação, pois reagem com os radicais livres formando compostos estáveis e, assim, impossibilitam a propagação das reações em cadeia de formação dos compostos oxidados (RAMALHO e JORGE, 2006). Os radicais livres são moléculas com elétrons altamente instáveis que podem causar doenças degenerativas e morte das células. Eles são formados durante o metabolismo ou devido à exposição a fatores ambientais (RAHMAN, 2007; LOBO *et al.*, 2010).

Os nossos sistemas de defesa antioxidante captam e aniquilam o excesso de radicais livres. Estes antioxidantes constam de enzimas, pequenas moléculas produzidas nas nossas células. Deste exército antioxidante, nem todos os compostos podem ser produzidos

pelo nosso organismo e, por isso, têm que ser obtidos pelos alimentos. Os antioxidantes produzidos pelo nosso organismo são denominados endógenos, tais como as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, e os antioxidantes que não são produzidos pelo nosso organismo são denominados exógenos, tais como, o beta caroteno, vitaminas C, E, selênio, zinco, cobre, manganês, ácido lipóico, polifenóis, bioflavonóides, isoflavonas da soja entre outros. Acredita-se que os antioxidantes ajudam na prevenção do desenvolvimento de doenças crônicas como o câncer, doenças cardíacas, derrame, mal de Alzheimer, artrite reumatoide e catarata (PHAM-HUY *et al.*, 2008; LIANG e KITTS, 2016).

Assim, a quantificação desses compostos em diferentes tipos de amostra é algo extremamente importante uma vez que é possível relacionar a ingestão de alimentos ricos em antioxidantes no tratamento ou prevenção de doenças. Neste contexto, a presente pesquisa descreve o desenvolvimento de um sensor fotoeletroquímico para detecção de um importante antioxidante, o ácido clorogênico, em amostras de alimentos, visando um sistema com alta estabilidade, sensibilidade, seletividade e baixo custo. Para tanto, utilizou-se como eletrodo de trabalho o óxido de índio e estanho (ITO) modificado com o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) sensibilizado com o corante laranja de acridina (LA), os quais foram submetidos à luz proveniente de uma lâmpada LED com radiação eletromagnética na região do visível. Ressalta-se que até o presente momento, nenhum fotossensor à base de óxido de titânio modificado com laranja de acridina foi relatado na literatura visando a detecção/quantificação do ácido clorogênico, o que, com certeza, nos motivou para o desenvolvimento desse trabalho.

## 2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo geral o desenvolvimento de um sensor fotoeletroquímico à base de óxido de índio e estanho modificado com laranja de acridina e dióxido de titânio, para a determinação de ácido clorogênico em amostras alimentícias, visando o desenvolvimento de um sistema com alta sensibilidade, seletividade, ampla faixa de resposta linear e estabilidade.

Para atingir o objetivo geral do trabalho os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- Caracterizar simultaneamente e individualmente os componentes do sensor empregando a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e espectroscopia de impedância eletroquímica;
- Modificar o eletrodo de trabalho (eletrodo de óxido de índio e estanho) com laranja de acridina e dióxido de titânio e avaliar a contribuição de cada material sobre a resposta do sensor visando a eletrooxidação do ácido clorogênico;
- Avaliar e otimizar as respostas do sensor proposto utilizando-se a cronoamperometria;
- Construir a curva analítica referente à espécie de interesse;
- Realizar estudos de possíveis interferentes, bem como verificar a estabilidade e repetibilidade das medidas e no preparo do sensor;
- Aplicar o sensor na determinação de ACG em amostras comerciais de café, chá verde e suco de maçã.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Compostos fenólicos e sua capacidade antioxidante

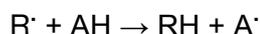
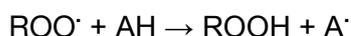
Os compostos fenólicos variam de compostos simples, de baixo peso molecular e com um único anel aromático, a polifenóis como os taninos, que possuem alto peso molecular. Eles podem ser divididos em cinco diferentes categorias, com base no seu número de anéis aromáticos ligados ao grupo hidroxila, e na forma como eles se ligam a essas hidroxilas em: ácidos fenólicos, flavonóides, taninos, estilbenos e lignanos (LIU *et al.*, 2017) e são comumente encontrados conjugados com açúcares e ácidos orgânicos (CROZIER *et al.*, 2007; PEREIRA *et al.*, 2009).

Os compostos fenólicos são essenciais na dieta humana, pois possuem uma variedade de atividades biológicas valiosas, incluindo propriedades antioxidantes (LI *et al.*, 2016), antimicrobianas (CETIN-KARACA e NEWMAN, 2015), antimutagênicas (BASGEDIK *et al.*, 2014) e anti-inflamatória (FURTADO *et al.*, 2016), e são amplamente usados nos campos da biologia, medicina, alimentos e em outros campos. Além dessas propriedades, os compostos fenólicos também são responsáveis por alguns fatores na qualidade dos alimentos, como sabor, adstringência e cor (RODRÍGUEZ *et al.*, 2009), seja presente naturalmente na composição do produto ou adicionados como aditivos naturais.

O potencial antioxidante dos compostos fenólicos pode basear-se na transferência de átomos de hidrogênio ou na transferência de um único elétron por transferência de prótons. No entanto, o potencial antioxidante de um fenólico particular depende principalmente do número e posição dos grupos hidroxilas na molécula (ZHANG e TSAO, 2016). Sendo assim, os compostos fenólicos podem atuar como terminadores de cadeias de radicais livres e como quelantes de íons metálicos redox ativos que são capazes de catalisar a peroxidação lipídica (SCHROETER *et al.*, 2002). Estes compostos também são capazes de eliminar partículas reativas de oxigênio, devido à sua propriedade de doação de elétron (PODSEDEK, 2007).

O mecanismo de ação deste tipo de antioxidante está representado na Figura 1. Um átomo de hidrogênio ativo do composto fenólico é atraído pelos radicais livres  $R^\cdot$  e  $ROO^\cdot$  com maior facilidade do que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Desse modo, formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte ( $A^\cdot$ ) procedente do antioxidante. Este radical, estabilizado por ressonância, não tem a capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas (RAMALHO e JORGE, 2006).

**Figura 1:** Mecanismo de ação da atividade antioxidante de um composto fenólico



Onde:  $\text{ROO}^\cdot$  e  $\text{R}^\cdot$  – radicais livres;  $\text{AH}$  – antioxidante com um átomo de hidrogênio e  $\text{A}^\cdot$  – radical inerte

Fonte: Ramalho e Jorge, 2006 (adaptado)

Os antioxidantes podem ser de origem sintética ou natural (SHAH *et al.*, 2014). Os ácidos fenólicos, por sua vez constituem uma importante classe de antioxidantes naturais frequentemente encontrados em diversas frutas, vegetais e bebidas (café, chás e sucos de frutas) (PIAZZON *et al.*, 2012). Na natureza, esses compostos ocorrem principalmente nas formas insolúveis ou conjugadas (ACOSTA-ESTRADA *et al.*, 2014) e podem ser divididos em duas categorias dependendo da sua estrutura: derivados do ácido benzóico e derivados do ácido cinâmico. Estes compostos consistem em um anel de benzeno ligado a um grupo carboxílico (ácidos benzoicos) ou a um ácido propenóico (ácidos cinâmicos) (OROIAN e ESCRICHE, 2015).

Em muitas frutas e vegetais, os ácidos cinâmicos (especialmente o ácido cafeico) estão presentes como derivados de éster (ácido clorogênico, outros ácidos cinamoílicos quíninos, glicosídeos feniletanóicos) que apresentam um alto potencial como antioxidantes. Os ácidos hidroxicinâmicos mais importantes são os ácidos cafeico, ferulico, *p*-cumárico e sináptico. Os ácidos hidroxibenzoicos incluem ácidos gálico, *p*-hidroxi-benzóico, protocatequico, vanílico e siringídico. (OROIAN e ESCRICHE, 2015). A atividade antioxidante destes compostos e seus ésteres depende do número e grupos hidroxilas na molécula e a atividade pode ser fortalecida por impedimento estérico. As propriedades de retirada de elétrons do grupo carboxilato em ácidos benzoicos têm uma influência negativa sobre as habilidades de doação de hidrogênio dos hidroxibenzoico (RICE-EVANS *et al.*, 1996). Os derivados do ácido hidroxicinâmicos são antioxidantes mais ativos do que os derivados do ácido hidroxibenzoico. Isto deve-se à dupla ligação presente na molécula dos derivados do ácido cinâmico, que participa na estabilidade do radical por ressonância de deslocamento do elétron desemparelhado, enquanto que os derivados do ácido benzoico não apresentam essa característica (ANGELO e JORGE, 2007).

Os ácidos fenólicos, além de se apresentarem sob sua forma natural, podem ligar-se entre si ou com outros compostos. A combinação mais importante destes ácidos ocorre quando o ácido cafeico, o qual, associado ao ácido quínico, origina o ácido clorogênico (SOARES, 2002). Por isso, dentre essa gama de compostos fenólicos, escolheu-se o ácido clorogênico devido a sua ampla distribuição na dieta humana.

### 3.2. Ácido Clorogênico

O ácido clorogênico ou ácido 3-(3,4-di-hidroxicinamol) quínico (ACG) é um polifenol encontrado em larga escala na natureza e faz parte diretamente da dieta humana, pois está presente em vários alimentos e bebidas, incluindo café, chás, frutas e vegetais. Este composto também possui influências significativas nas propriedades organolépticas dessas bebidas e alimentos (CLIFFORD, 2000; UPADHYAY e RAO, 2013). É conhecido por ser um composto bioativo que possui propriedades antioxidantes, antimicrobiana, antibacteriana, antiviral e propriedades anti-inflamatórias (MEINHART *et al.*, 2017).

Os ácidos clorogênicos (ACGs) são formados pela esterificação de ácidos trans-cinâmicos (incluindo o ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido *p*-cumárico) com ácido quínico (CLIFFORD, 2000). A característica distintiva dos ACGs é que eles geralmente possuem diferentes formas isoméricas e podem ser subdivididos em mais subgrupos de acordo com o tipo de substituinte éster (por exemplo, ácidos cafeoilquínicos, CQAs, ácidos feruloilquínicos, FQAs, ácidos *p*-cumarilquínicos, *p*-CoQAs, etc.) e o número de substituintes éster (ácidos monoacilínílicos, ácidos diacilquínicos, ou ácidos triacilínílicos) (FARAH, 2012; ZHANG *et al.*, 2013; ŠERUGA e TOMAC, 2014).

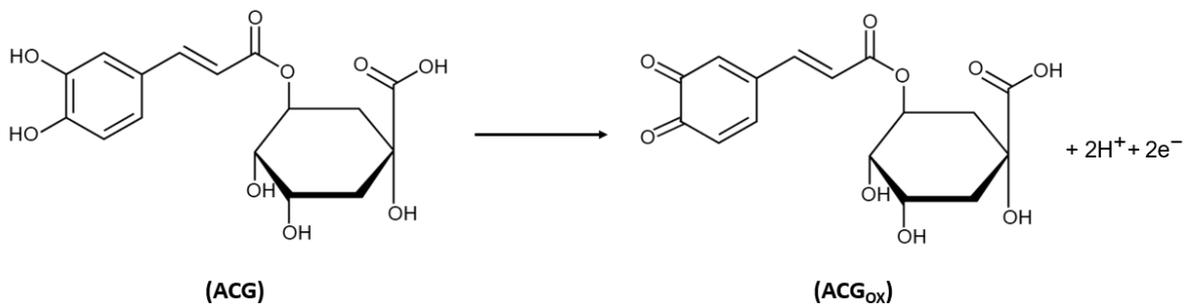
O termo *ácido clorogênico* parece ter sido introduzido em 1846 por Payen para designar um composto fenólico com função ácida de estrutura ainda desconhecida, que conferia coloração verde quando em meio levemente alcalino e exposto ao ar. Foi isolado pela primeira vez em 1907 na forma de complexo cristalino, denominado clorogenato de cafeína, e com sua estrutura química posteriormente estabelecida por Fisher (1932), como sendo o ácido 3-cafeoilquínico, hoje conhecido como ácido 5-cafeoilquínico (DE MARIA e MOREIRA, 2004).

O ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) é o representante mais importante e abundante da série dos ácidos clorogênicos, sendo o mais conhecido dos fenóis dietéticos biologicamente ativos (GARAMBONE e ROSA, 2008). Devido a abundância desse composto estima-se que

uma pessoa consome em média 1 g de ácido clorogênico por dia (SEFKOW, 2001; MEINHART *et al.*, 2017).

Quando radicais livres oxidam os antioxidantes fenólicos, alguns intermediários reativos podem ser produzidos, como dímeros e quinonas, o que sugere que a toxicidade dessas substâncias fenólicas depende do curso das reações radicalares de degradação oxidativa (KADOMA *et al.*, 2009). O ácido clorogênico é um composto incolor que possui dois grupos adjacentes (orto) hidroxilo, que se oxidam produzindo um dímero com uma fração o-hidroquinona (Figura 2), por meio de reações enzimáticas ou não enzimáticas na presença de oxigênio (NAMAZIAN e ZARE, 2005; RAWEL e ROHN, 2010). E por mais que se pense que a atividade antioxidante do ACG reside na estrutura de catecol do anel fenilo, a ligação dupla conjugada com o grupo catecol pode também servir como um local para ataque de radicais livres. Portanto a estabilização do ACG é uma das preocupações mais importantes para suas aplicações, pois ele é facilmente oxidado e sensível ao calor e a luz, o que restringe sua aplicação na indústria (CHAO *et al.*, 2012).

**Figura 2:** Semi-reação de oxidação do ácido clorogênico.



Fonte: Namazian e Zare, 2005 (adaptado)

Os radicais livres podem causar reações radicais nocivas, como a oxidação lipídica que é responsável pelo aparecimento de sabores e odores desagradáveis nos alimentos, tornando-os impróprios para o consumo. Estes radicais também causam alterações nas células, agindo diretamente sobre alguns componentes celulares que causam doenças crônicas como o câncer, doenças cardiovasculares e desordem neurodegenerativa. Contudo, o ácido clorogênico tem a capacidade de interagir diretamente com as espécies reativas de oxigênio, apresentando assim um amplo espectro de atividades biológicas, que são resultados do ACG doando átomos de hidrogênio para reduzir os radicais livres e inibir as reações de

oxidação. Dessa maneira, este antioxidante pode inibir a oxidação lipídica e prevenir o risco dessas doenças (SOARES, 2002; LIANG e KITTS, 2016).

O ácido clorogênico tem atraído atenção da comunidade científica por sua ampla distribuição e importância para a alimentação e saúde humana. Portanto, é muito importante estabelecer alguns métodos quantitativos para monitorar a concentração deste antioxidante em todos os tipos de amostras reais.

Dessa maneira, vários métodos analíticos para a detecção de ácido clorogênico são relatados na literatura incluindo métodos espectrofotométricos, espectrométricos, cromatográficos e quimiluminescentes (OZYURT *et al.*, 2007; BELAY e GOLAP, 2009; QIU, 2011; ARAI *et al.*, 2015; LIANG *et al.*, 2016). Embora cada um desses métodos tenha vantagens distintas, normalmente eles são demorados, trabalhosos, além de exigirem instrumentos complicados e de custo elevado (WANG *et al.*, 2007).

Por outro lado, os métodos eletroquímicos vêm se tornando bastante difundidos, principalmente por ser simples, de baixo custo e rápidos, se comparado a vários métodos analíticos (KEMPAHANUMAKKAGARI *et al.*, 2017). A fotoeletroquímica (FEQ), por sua vez, tem surgido como um método alternativo para a determinação de inúmeras moléculas, pois oferece desempenho semelhante e vantagens adicionais quando comparadas aos sistemas eletroquímicos convencionais, além de apresentar um excelente desempenho analítico e uma alta sensibilidade, com uma ampla capacidade para proporcionar elevados intervalos de resposta (HAN *et al.*, 2016), o que justifica a utilização desse sistema para a detecção do analito no presente trabalho.

Nos subitens a seguir abordar-se-á um pouco sobre os sensores eletroquímicos convencionais e fotoeletroquímicos para melhor entendimento de ambos os sistemas.

### **3.3. Sensores eletroquímicos: Aplicação para a detecção de ácido clorogênico**

Os sensores eletroquímicos representam uma subclasse importante de sensores químicos e têm sido amplamente relatados como um método barato e simples para detectar sensivelmente uma variedade de analitos (HANRAHAN *et al.*, 2004; YANG *et al.*, 2015). Um sensor eletroquímico consiste em um transdutor eletroquímico (eletrodo quimicamente modificado (EQM)) revestido com uma película química ou bioquímica como material condutor, e que por meio de reações faradaicas (transferência de carga) ou diferenças de potencial exibem propriedades químicas, eletroquímicas e/ou ópticas do filme (BARROSO *et al.*, 2011; RAGAVAN *et al.*, 2013).

Sensores eletroquímicos geralmente compreendem um eletrodo de detecção (como elemento de transdução), um contra-eletrodo, um eletrodo de referência e um eletrólito. A informação analítica é obtida a partir do sinal elétrico resultante da interação do analito alvo e da camada de reconhecimento no eletrodo de detecção (RASSAEI *et al.*, 2011; BAHADIR e SEZGINTÜRK, 2016; WANG, 1995). Neste sentido, vários sensores têm sido desenvolvidos para a detecção de ácido clorogênico, dos quais, alguns serão relatados a seguir:

Ma *et al.*, (2016) propuseram um método eletroquímico para a determinação de ACG empregando voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial, utilizando um eletrodo de tela impressa (ETI) modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPMs). Todos os estudos foram realizados em solução tampão de acetato de sódio-ácido acético 0,10 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,2). O analito apresentou um par de picos redox bem definidos, o potencial do pico de oxidação e do pico de redução foi de 0,08 V e -0,19 V, respectivamente. Uma curva de calibração foi construída empregando a técnica de voltametria de pulso diferencial (VPD) para a determinação de ACG, obtendo-se intervalos de resposta linear de 0,17 a 15,8 µg mL<sup>-1</sup> (R= 0,9976). O limite de detecção calculado foi de 0,12 µg mL<sup>-1</sup>. O sensor proposto foi aplicado em amostras de grãos de café e os valores de recuperação variaram entre 94,74 a 106,65 %, os quais foram similares aos encontrados pelo método de CLAE, corroborando a acurácia do método proposto.

Mohammadi *et al.*, (2017) desenvolveram um sensor eletroquímico baseado em carbono mesoporoso altamente defeituoso, RTIL [BMIM.PF<sub>6</sub>] e óleo mineral para a determinação de ACG em solução tampão Britton-Robson 0,04 mol L<sup>-1</sup> a pH 2,0. O comportamento eletrocatalítico do sensor foi explorado pela técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ) devido à sua sensibilidade de corrente muito maior e melhor resolução quando comparado com a técnica de voltametria cíclica. Sob as condições previamente otimizadas, uma faixa de resposta linear variando entre 2x10<sup>-8</sup> a 2,5x10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> foi obtida com uma sensibilidade de 4,55 µA L µmol<sup>-1</sup> e limite de detecção de 1x10<sup>-8</sup> mol L<sup>-1</sup>. O método para a determinação de ACG foi aplicado em amostras de extratos de ervas (*Calendula Officinalis* e *Echinacea purpurea*) em determinadas concentrações mostrando recuperações entre 98,6 a 105,8% demonstrando uma boa acurácia.

Vasilescu *et al.*, (2015) construíram um biossensor amperométrico para a determinação de ACG a base de lacase. O eletrólito utilizado foi uma solução tampão acetato pH 5,0. A curva analítica foi obtida para o analito, apresentando uma faixa de resposta linear variando entre 2,91 a 26,47 µmol L<sup>-1</sup> (R= 0,9889) com uma sensibilidade de 0,02 µA L µmol<sup>-1</sup> e limite de detecção de 2,67 µmol L<sup>-1</sup>. O biossensor mostrou-se estável durante duas

semanas, e após dois meses, obteve-se uma resposta de cerca de 80% do seu valor inicial. O método proposto foi aplicado para a quantificação de ACG em amostras de café usando as equações das curvas de calibração dando concentrações na faixa de 92,67 a 297,28  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Os resultados foram plotados em relação a resultados obtidos por CLAE, mostrando valores mais elevados para este antioxidante usando a matriz desenvolvida do que os valores obtidos por CLAE.

Chao e Ma, (2014) modificaram um eletrodo de carbono vítreo (ECV) com um filme de poli (ácido aminossulfônico, (PASA)) para a determinação de ACG em solução tampão fosfato pH 8,0 por voltametria cíclica. O eletrodo modificado apresentou uma alta atividade electrocatalítica para o pico redox do ACG quando comparado ao ECV e dessa forma, a taxa de transferência de elétrons no filme foi muito mais rápida. A faixa linear variou entre  $4 \times 10^{-7}$  a  $1,20 \times 10^{-5}$   $\text{mol L}^{-1}$  ( $R = 0,9996$ ), o limite de detecção de  $8,0 \times 10^{-8}$   $\text{mol L}^{-1}$  foi estimado pela diminuição gradual dos níveis de concentração de ACG. O sensor foi aplicado em uma variedade de produtos farmacêuticos e os valores de recuperação de ACG obtidos com o método proposto variaram entre 96,3 a 102,8 %. Os resultados analíticos das amostras farmacêuticas obtidos foram validados usando CLAE como método tradicional, os quais estão de acordo, demonstrando a boa acurácia do método proposto.

Tomac *et al.*, (2017) descrevem a determinação de ACG empregando a cronopotenciometria de fluxo contínuo com um eletrodo de carbono vítreo microporoso (ECVM) em tampão fosfato (pH 7,0). Sob as condições otimizadas, o sensor apresentou uma resposta linear para o antioxidante de 5 a 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  ( $R = 0,9998$ ), com um limite de detecção de  $5,7 \times 10^{-7}$   $\mu\text{mol L}^{-1}$ . O ECVM foi aplicado em amostras de extrato aquoso de café usando a curva de calibração para o ácido 5-cafeoilquínico como padrão para a quantificação. Os resultados foram apresentados pelos valores médios de cinco medidas separadas para cada amostra de café com desvio padrão relativo (DPR) no intervalo de 2,20 a 6,91%, indicando uma boa precisão (repetibilidade) na determinação do teor total de ACG nas amostras de café. Os autores compararam os resultados obtidos com resultados realizados por VOQ e VPD para as mesmas marcas de café, os quais mostraram uma excelente correlação.

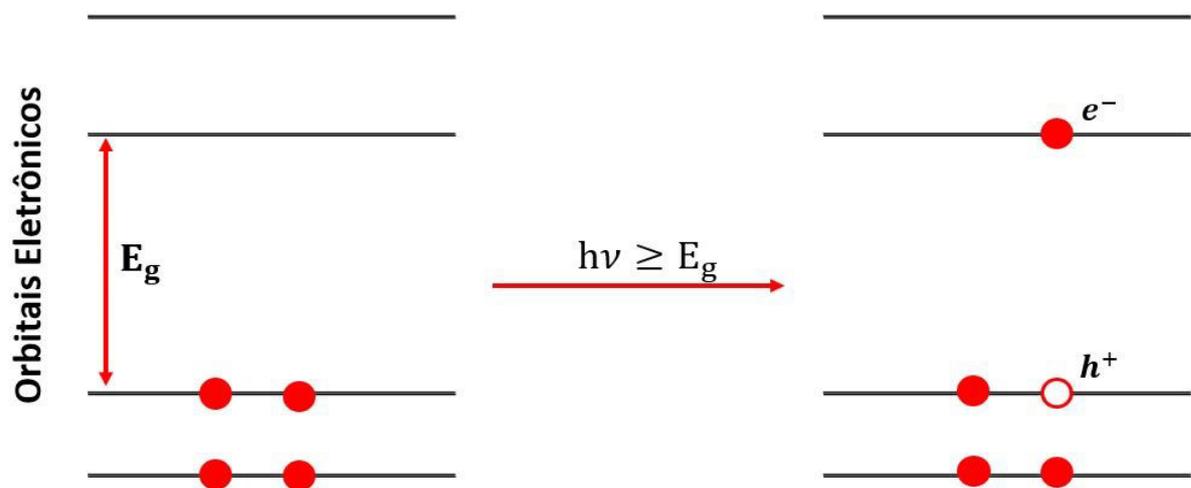
### 3.4. Sensores fotoeletroquímicos

O uso da energia solar para a produção direta de eletricidade tem se tornado um campo de bastante interesse nos últimos anos e atraído novas investigações a respeito da interação entre a luz, fluxo de elétrons e reações químicas na superfície de eletrodos em

células eletroquímicas. Uma das abordagens mais promissoras no planejamento desses sistemas envolve o desenvolvimento de células fotoeletroquímicas, as quais abrem espaço para a construção e aplicação de sensores fotoeletroquímicos (BARD, 1980).

Os sistemas fotoeletroquímicos são sistemas que mantêm as vantagens dos métodos eletroquímicos tradicionais combinadas as dos métodos ópticos, acoplando fotorradiação com detecção eletroquímica (LI, X. *et al.*, 2015; WU *et al.*, 2017). O processo fotoeletroquímico refere-se à conversão de fótons para eletricidade, resultante da separação da carga e posterior transferência de carga após absorção de fótons durante a iluminação (DEVADOSS *et al.*, 2015). A luz age como um impulsionador de elétrons, resultando na geração de energia elétrica ou química através de reações redox. Quando um átomo ou molécula com propriedades fotoeletroquímicas absorve um fóton, um elétron é transferido de um orbital de menor energia para um orbital de maior energia (Figura 3), e a frequência de luz absorvida que causa esta transição apresenta energia igual ou superior à diferença de energia entre os dois orbitais. Com isso, tem-se a formação de um par elétron-buraco ( $e^-/h^+$ ) (BARD, 1980).

**Figura 3:** Orbitais eletrônicos e formação do par  $e^-/h^+$  em uma molécula S após absorção de luz.



Fonte: Bard, 1980 (adaptado)

Um sensor fotoeletroquímico é um tipo de método analítico recentemente desenvolvido baseado na técnica fotoeletroquímica, onde a detecção ocorre pelo processo de transferência de elétrons fotoinduzidos na interface eletrodo/solução (PENG *et al.*, 2014; SHI *et al.*, 2016). Estes sensores combinam as vantagens dos sensores eletroquímicos e ópticos, tais como baixo sinal de fundo – devido à separação entre a fonte de excitação (luz) e o sinal

de detecção (fotocorrente), alta sensibilidade, instrumentação simples, baixo custo, portabilidade e fácil miniaturização, pois possuem a capacidade de acoplar o processo de fotoexcitação com detecção eletroquímica (LISDAT *et al.*, 2013; WANG, L *et al.*, 2014; DEVADOSS *et al.*, 2015; MOAKHAR *et al.*, 2017).

O mecanismo de detecção dos sensores fotoeletroquímicos baseia-se na mudança da fotocorrente/fotopotencial, que é gerada pelas interações físicas/químicas entre analitos e materiais fotoeletroquímicos, de modo que a fotocorrente de saída possa ser aproveitada de forma eficiente (WANG *et al.*, 2009). Quase todos os sistemas de detecção fotoeletroquímica atuais estão focados em fotoanodos constituídos por semicondutores do tipo *n* ou semicondutores do tipo *p* sensibilizados, isso porque os orifícios fotogerados em semicondutores do tipo *n* transferem-se para a superfície do fotoeletrodo que recebe a radiação eletromagnética e reagem com substâncias redutoras (atuando como doadores de elétrons) (WANG, G.-L., LIU, K.-L., *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2015).

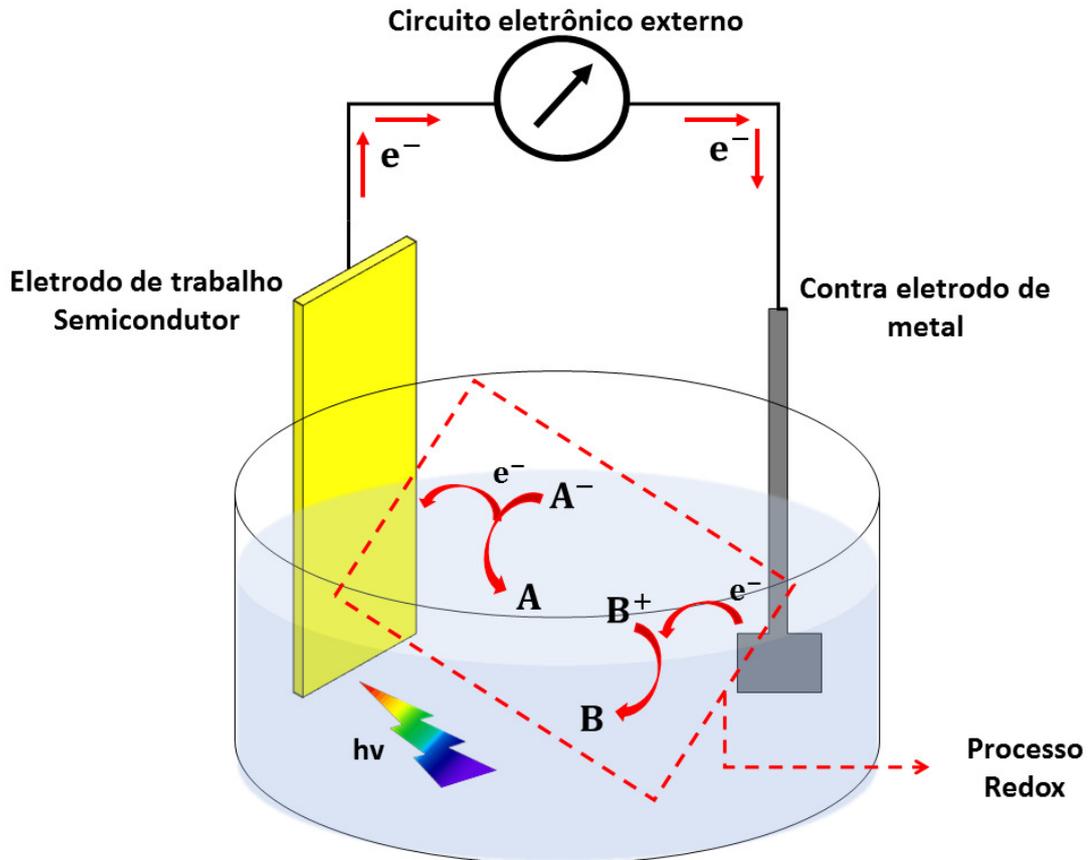
O desempenho analítico dos sensores fotoeletroquímicos é determinado por materiais de eletrodos, isso porque a eficiência de conversão fotoelétrica é um parâmetro importante para a sensibilidade da detecção, pois a eficiência de conversão fotoelétrica do sensor depende principalmente de materiais fotoativos imobilizados no eletrodo. Assim, o “design” de sistemas fotocatalíticos e a manipulação de captura e transporte de elétrons em fotoeletrodos são características importantes que definem a eficiência geral dos sensores fotoeletroquímicos (DEVADOSS *et al.*, 2015; SHEN, Q., SHI, X., *et al.*, 2015). Atualmente, diversos materiais com excelentes propriedades optoeletrônicas estão sendo estudados e preparados para a aplicação em sensores fotoeletroquímicos (ZHOU *et al.*, 2014; SHEN, Q., HAN, L., *et al.*, 2015; MONTEIRO *et al.*, 2017).

### **3.5. Materiais semicondutores e compostos orgânicos/inorgânicos empregados em sistemas fotoeletroquímicos**

A fotoeletroquímica geralmente requer a utilização de um eletrodo semicondutor para permitir a interação da luz com sistemas eletroquímicos, a Figura 4 ilustra o conceito básico de uma célula fotoeletroquímica, onde um semicondutor está conectado a um contato metálico e também a um circuito eletrônico externo e finalmente a um contra eletrodo metálico. O eletrodo semicondutor também está conectado ao contra eletrodo através da solução que completa o circuito. Após a absorção de luz pelos materiais semicondutores, ocorre a formação do par elétron/buraco ( $e^-/h^+$ ) na interface o que causaria a reação redox das

espécies em solução e assim, o elétron seria coletado pelo contato de metal. Um terceiro eletrodo pode ser utilizado para controle e medição do potencial aplicado, esse eletrodo é chamado de eletrodo de referência. Esse princípio fotoconduzido tem sido aplicado há muito tempo à fotocatalise, fotoeletrossíntese, bem como a conversão de energia solar (ZHAO *et al.*, 2014).

**Figura 4:** Diagrama esquemático de uma célula fotoeletroquímica.



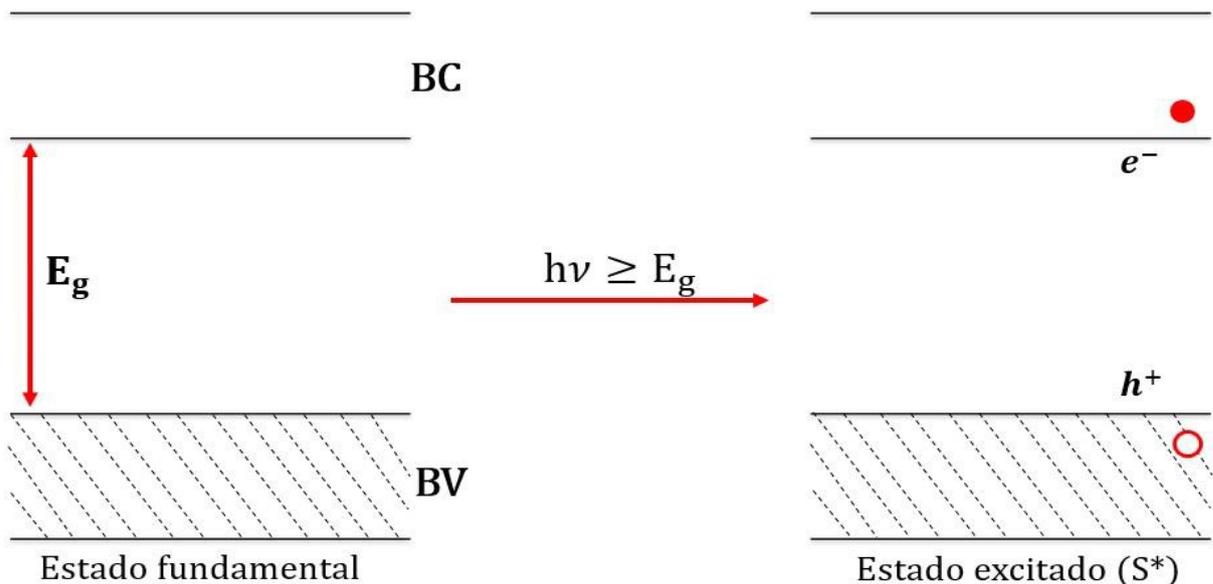
Fonte: Zhao *et al.*, 2014 (adaptado)

Um aspecto chave para a construção de uma célula fotoeletroquímica eficiente é encontrar materiais fotoeletrodos semicondutores abundantes capazes de absorver a luz solar e conduzir, por exemplo, reações de divisão de água para produzir hidrogênio. Um semicondutor ideal deve apresentar baixo custo, obtido a partir de materiais abundantes em terra, caracterizados por alta estabilidade fotoquímica e redox e com um intervalo de banda apropriado para ter uma forte absorção de luz visível (NGUYEN *et al.*, 2017; PASSALACQUA *et al.*, 2017).

Em um semicondutor, os orbitais estão contidos em uma banda de valência (BV) preenchida e uma banda de condução (BC) vazia, separadas por uma diferença de energia

denominada *band gap* ( $E_g$ ) ou banda proibida (BARD, 1980). Desse modo, quando um semicondutor absorve fótons com energias superiores à energia de sua  $E_g$ , os elétrons da banda de valência são excitados para a banda de condução deixando buracos, de carga oposta, na banda de valência do semicondutor. A formação do par  $e^-/h^+$  (Figura 5) resulta na formação de um estado excitado no semicondutor ( $S^*$ ). Os pares fotogerados migram, na escala de tempo de picossegundos, para locais ativos de superfície onde as reações de redução e oxidação podem ser viáveis se a termodinâmica dos processos for favorável antes da ocorrência da recombinação de carga. As vias de migração e o tempo de vida dos transportadores de carga são cruciais, porque eles se recombinam mais rápido do que o esperado, de modo que a eficiência de conversão de energia é muito baixa. Como o interesse do processo fotoeletroquímico é converter energia luminosa em corrente elétrica, a separação dos pares  $e^-/h^+$  deve ser mantida efetivamente para evitar a recombinação, e tal separação pode ser promovida através de uma diferença de potencial elétrico (como em um eletrodo) ou utilizando espécies aceitadoras ou doadoras de elétrons, que capturam os elétrons fotogerados e transformam a energia em energia química redox (BARD, 1980; GRATZEL, 2001; NGUYEN *et al.*, 2017; PASSALACQUA *et al.*, 2017).

**Figura 5:** Banda de valência e de condução de um semicondutor e formação do par  $e^-/h^+$ .

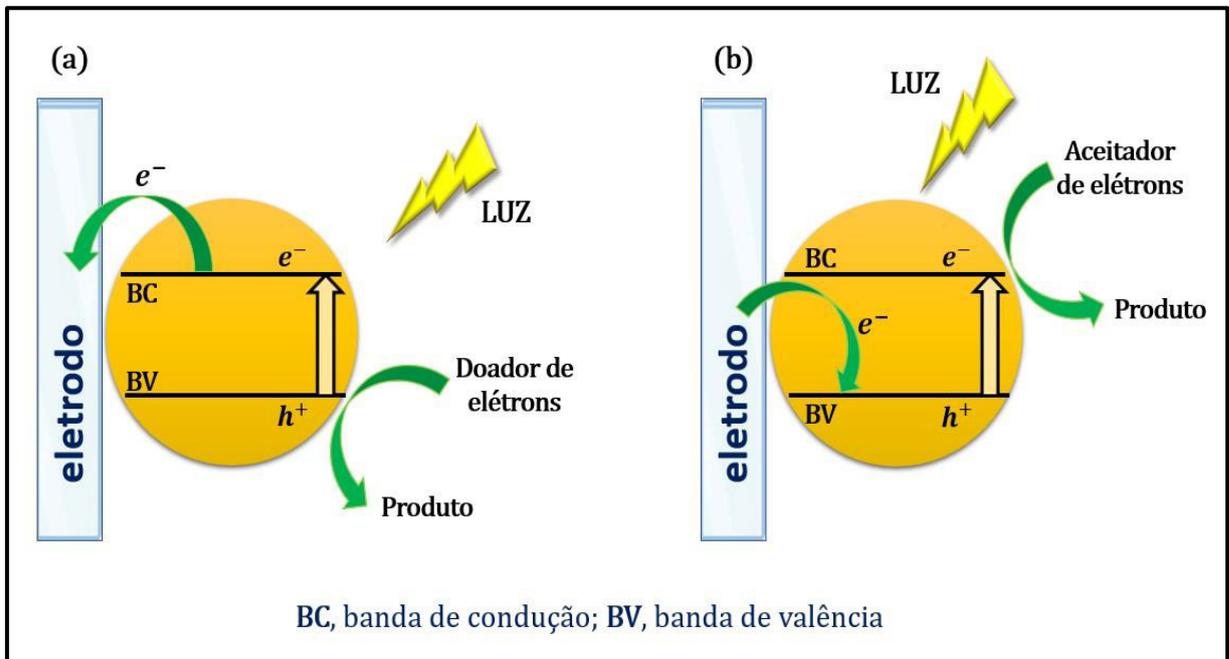


Fonte: Bard, 1980 (adaptado)

Uma espécie doadora de elétrons em solução, captura os buracos fotogerados na banda de valência do material e reduz a recombinação dos pares  $e^-/h^+$ , desse modo, depois desse processo há um aumento de fluxo de corrente do material para o eletrodo, o que resulta

em uma fotocorrente anódica (Figura 6a). Também vai ocorrer uma redução na recombinação, quando uma espécie aceitadora de elétrons, captura os elétrons transferidos para a banda de condução do material e o buraco na banda de valência é preenchido por um elétron a partir do eletrodo, em consequência, o fluxo de corrente do material para o eletrodo é bloqueado, resultando em uma fotocorrente catódica que flui do eletrodo para o material neutralizando o excesso de buracos (Figura 6b). A fotocorrente anódica e catódica geradas no eletrodo são proporcionais à quantidade de analito que interage com o material, logo, à sua concentração no meio (WANG *et al.*, 2009; SHI *et al.*, 2011; WANG, L. *et al.*, 2014).

**Figura 6:** Mecanismo de geração de fotocorrentes de um material semiconductor inorgânico  
(a) Fotocorrente anódica; (b) Fotocorrente catódica.



Fonte: Wang *et al.*, 2009 (adaptado)

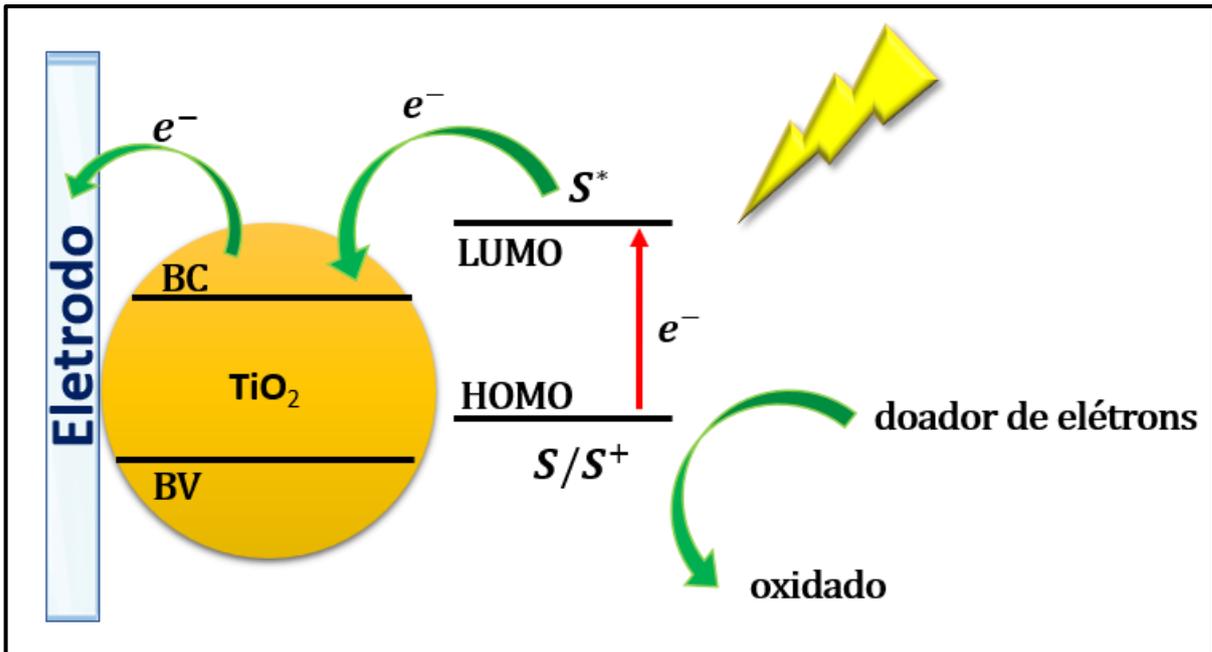
A utilização de materiais compósitos tem maior eficiência de conversão fotoelétrica do que um material único, sendo estes usados em sistemas analíticos fotoeletroquímicos com mais frequência, e normalmente também referem-se a materiais fotoelétricos orgânicos ou complexos com material fotoelétrico inorgânico, ou a diferentes materiais de dois semicondutores inorgânicos com diferentes larguras de banda de energia (ZHANG e ZHAO, 2013).

Um grande número de semicondutores que apresentam propriedades fotoeletroquímicas têm sido explorados, incluindo óxidos metálicos, sulfetos metálicos e calcogenetos (CHEN *et al.*, 2010). Dentre estes, os óxidos metálicos nanoestruturados (como

dióxido de titânio -  $\text{TiO}_2$ , óxido de zinco -  $\text{ZnO}$ , óxido de cobre -  $\text{CuO}$  e dióxido de estanho -  $\text{SnO}_2$ ) têm sido explorados intensivamente em uma ampla faixa de aplicações, apresentando excelentes propriedades catalíticas, ópticas e elétricas que levam a uma variedade de aplicações (MASSAGLIA e QUAGLIO, 2017). Entretanto, o  $\text{TiO}_2$  é um dos semicondutores mais utilizados em sistemas fotoeletroquímicos devido seu baixo custo, não toxicidade e estabilidade fotoeletroquímica, porém seu amplo *band gap* ( $\sim 3.2$  eV para o polimorfo anatase) limita sua adsorção principalmente na região UV, apenas cerca de 4 % da energia solar recebida é utilizada pelo  $\text{TiO}_2$ , limitando o efeito fotoelétrico e assim suas aplicações diretas (DING *et al.*, 2016; PARK *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2017). Sendo assim, muitas pesquisas estão atualmente em andamento para ampliar a absorção do  $\text{TiO}_2$  e de outros semicondutores na região visível do espectro eletromagnético.

Um método simples para aumentar a região de absorção de radiação eletromagnética na região do visível é usar um corante orgânico para aumentar a fotossensibilidade. Muitos corantes, tais como eritrosina B, eosina, rodamina B, tionina, feofórbido, porfirina, laranja de acridina, ftalocianina podem ser utilizados como sensibilizantes (JAYAWEERA *et al.*, 2005; ZHANG e ZHAO, 2013). Neste método, o corante absorve a luz que não pode ser absorvida pelo  $\text{TiO}_2$ , de modo que a espécie sensibilizadora é promovida a um estado excitado  $S^*$  (Figura 7). Quando a molécula fotossensibilizante no  $\text{TiO}_2$  absorve os fótons incidentes, os elétrons dessa molécula são excitados do orbital HOMO (orbital molecular ocupado de mais alta energia) para o orbital LUMO (orbital molecular desocupado de mais baixa energia) e, conseqüentemente, ocorre uma transferência rápida de elétrons do orbital LUMO do sensibilizador para a banda de condução do semicondutor, os quais são coletados pelo eletrodo e assim, a fotocorrente é gerada. Para tornar a transferência de carga energeticamente favorável, o orbital LUMO do corante deve ser maior do que a banda de condução do semicondutor. Com a transferência de elétrons, o sensibilizador passa do estado  $S^*$  para  $S^+$  (oxidado), o qual pode retornar para o estado fundamental (S) na presença de espécies doadoras de elétrons em solução (analito). A separação de cargas fotogeradas é, portanto, garantida pela transferência rápida de elétrons do sensibilizador para o  $\text{TiO}_2$  (WANG *et al.*, 2009; LI e WU, 2015; JAAFAR *et al.*, 2017).

**Figura 7:** Mecanismo de geração de fotocorrente em um compósito de TiO<sub>2</sub>-sensibilizador.



Fonte: Wang *et al.*, 2009 (adaptado)

Para obter uma fotossensibilização altamente eficiente em um sistema fotoeletroquímico, o fotossensibilizador deve exibir as seguintes propriedades (JAAFAR *et al.*, 2017):

- boa absorção na superfície do semicondutor através de subgrupos;
- forte absorção no espectro de luz visível;
- alinhamento adequado do nível de energia do estado excitado do corante e da borda da banda de condução do semicondutor;
- alta taxa de transferência do corante para o óxido de metal semicondutor com uma pequena perda de elétrons; e
- boa estabilidade térmica e eletroquímica.

Portanto, a sensibilização de corantes orgânicos melhora a fotocatalise de semicondutores na região do visível, formando um material compósito que tem uma maior eficiência na conversão fotoelétrica.

Neste contexto, o presente trabalho teve como propósito o desenvolvimento de um sensor fotoeletroquímico à base de ITO modificado com nanopartículas de TiO<sub>2</sub> sensibilizadas com laranja de acridina (LA) para a detecção de ACG em amostras de

alimentos, usando luz LED visível como fonte de energia. Ressalta-se que este foi o primeiro sensor fotoeletroquímico desenvolvido e aplicado para a determinação deste analito explorando a interação de LA e nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ .

## 4. PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Sensores, Dispositivos e Métodos Analíticos (LabS) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), em São Luís – MA. Os reagentes, soluções, equipamentos e procedimentos analíticos empregados no presente trabalho são descritos a seguir:

### 4.1. Reagentes e soluções

Todos os reagentes químicos utilizados no presente trabalho foram de grau analítico e usados sem mais passos de purificação. Laranja de acridina (LA), nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  na forma anatase ( $d < 25$  nm), ácido clorogênico (ACG), cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl), sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), hidróxido de sódio (NaOH), fosfato de sódio monobásico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), fosfato de sódio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), etanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ), ácido ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), ácido cítrico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ), glicose ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ), L-cisteína ( $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$ ), ácido tartárico ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$ ), ácido acético ( $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ), ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) e ácido [4-(2-HidroxiEtil)-1-PiperazinEtanolSulfônico] (HEPES) foram adquiridos da Sigma-Aldrich®, St. Louis, EUA.

Todas as soluções foram preparadas com água purificada utilizando um sistema OS10LXE (Gehaka, São Paulo, Brasil) com resistividade maior ou igual a 18,2 M $\Omega$ . Para o ajuste do pH das soluções tampão utilizou-se um pHmetro modelo Q400AS.

As soluções-padrão de ACG foram preparadas diariamente por meio da diluição apropriada das soluções estoque preparada em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de uma solução tampão fosfato pH 7,0. A solução tampão fosfato (STF) foi preparada a partir de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e  $\text{NaHPO}_4$ , sendo o pH ajustado com soluções 0,1 mol L<sup>-1</sup> de HCl e 0,2 mol L<sup>-1</sup> de NaOH. A solução tampão Britton-Robinson (B-R) foi preparada pela mistura de ácido acético, ácido bórico e ácido fosfórico de forma que a concentração final da solução fosse 0,1 mol L<sup>-1</sup>. A solução tampão McIlvaine (0,1 mol L<sup>-1</sup>) foi preparada empregando-se 0,1 mol L<sup>-1</sup> de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ajustada com 0,1 mol L<sup>-1</sup> de ácido cítrico. A solução tampão HEPES foi preparada empregando-se 0,1 mol L<sup>-1</sup> do ácido [4-(2-HidroxiEtil)-1-PiperazinEtanolSulfônico] ajustado com 0,2 mol L<sup>-1</sup> de NaOH.

#### **4.2. Construção do sensor fotoeletroquímico ITO/LA/TiO<sub>2</sub>**

Inicialmente, o eletrodo de trabalho (ITO) foi previamente sonificado em ultrassom por 10 minutos e lavado com água e detergente, seguida de enxague com água destilada e etanol a fim de remover qualquer espécie adsorvida. Em seguida, preparou-se uma suspensão contendo 196,5 mg de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> e 6,6 mg de LA em 5 mL de água com o auxílio de sonicação para obter uma dispersão homogênea. Após um período de 24 h, foi realizada a filtração da suspensão e o sólido retido foi lavado com água e, em seguida, seco em estufa a 50 °C durante 2 h, obtendo-se o compósito LA/TiO<sub>2</sub>.

Uma segunda suspensão foi preparada para a modificação do eletrodo de ITO, misturando-se 3,5 mg do compósito LA/TiO<sub>2</sub> com 350 µL de água com o auxílio de sonicação durante 10 min. Dessa suspensão, foi retirada uma alíquota de 10 µL para modificar o substrato ITO. Após esta etapa o fotoeletrodo foi deixado secar à temperatura ambiente por aproximadamente 20 min para a modificação do ITO com o nanocompósito LA/TiO<sub>2</sub>. O fotossensor foi denominado ITO/LA/TiO<sub>2</sub>.

#### **4.3. Caracterização por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)**

A caracterização estrutural dos materiais (LA, TiO<sub>2</sub> e LA/TiO<sub>2</sub>) utilizados para modificar o fotoeletrodo, foi realizada em um Espectrofotômetro de Infravermelho Shimadzu, modelo FT-IR Prestige-21, conforme mostrado na Figura 8, o qual está instalado na Central Analítica da Pós-Graduação em Química da UFMA. Os espectros IV foram obtidos na faixa de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. Foram preparadas pastilhas KBr 1% para a análise de cada material (LA, TiO<sub>2</sub> e LA/TiO<sub>2</sub>).

**Figura 8:** Espectrofotômetro Shimadzu FT-IR Prestige-21.



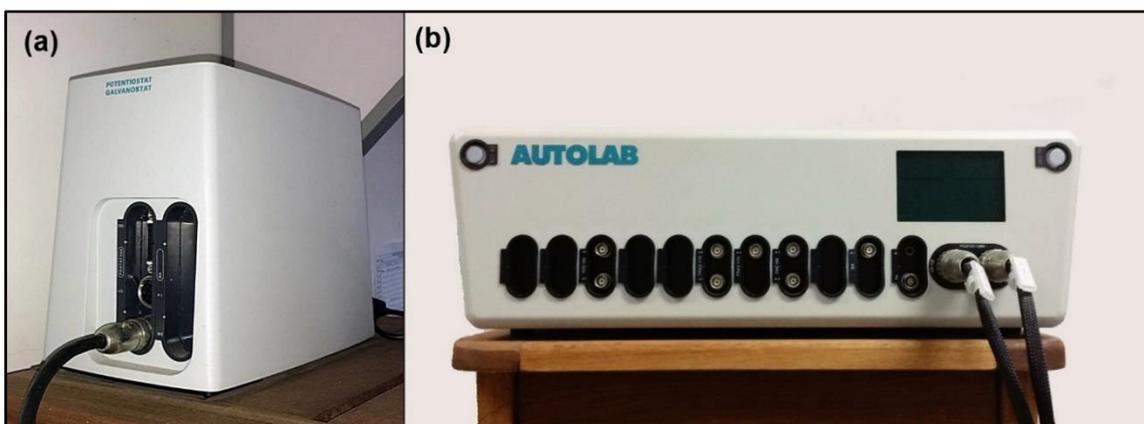
#### **4.4. Medidas fotoeletroquímicas e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE)**

Todas as medidas fotoeletroquímicas foram realizadas com um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT204 (Metrohm Autolab B.V., Utrecht, the Netherlands) (Figura 9a) controlado por software Nova 2.1.1 por meio de um microcomputador. O sistema fotoeletroquímico utilizado (Figura 10) foi constituído de uma célula eletroquímica com capacidade de 5,0 mL, em um sistema de três eletrodos constituído por Ag/AgCl<sub>(saturado)</sub> como eletrodo de referência (ER), Au como contra eletrodo (CE) e o eletrodo de ITO como eletrodo de trabalho (ET). Durante as medidas, a célula era mantida no interior de uma caixa contendo uma lâmpada LED de luz visível de 20 W, usada como fonte de energia de irradiação, sendo as respostas de fotocorrente coletadas na ausência e na presença de luz em um intervalo de 10 s.

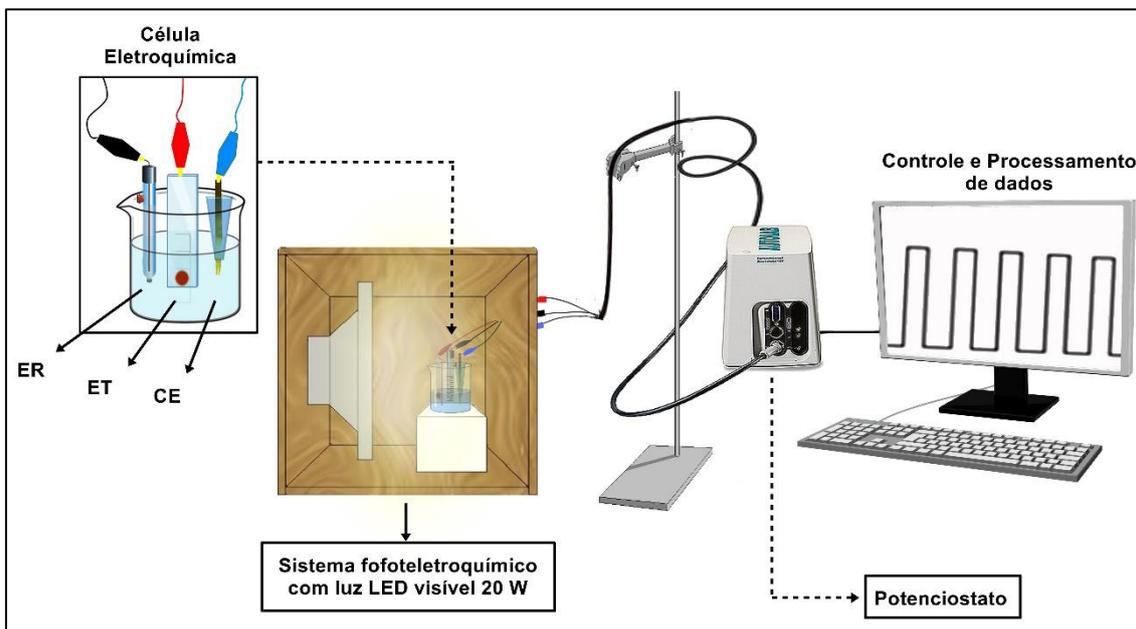
Os estudos de EIE foram realizados em um potenciostato/galvanostato Autolab® modelo PGSTAT 128 N da *Echo Chemie* (Utrecht, The Netherlands) (Figura 9b), com módulo de impedância e de baixas correntes acoplado a um microcomputador com o *software* FRA 2 para controle dos parâmetros impedimétricos, bem como para a aquisição de dados numa faixa de frequência de  $10^{-2}$  a  $10^5$  Hz e amplitude de potencial de 10 mV. Um sistema de célula eletroquímica contendo três eletrodos também foi utilizado nesse sistema, sendo utilizados os mesmos eletrodos descritos anteriormente, o eletrólito utilizado foi 5 mL de uma solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  contendo  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de

$K_3[Fe(CN)_6]$  para o estudo eletroquímico na ausência de luz e 5 mL de uma solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de  $Na_2SO_4$  para o estudo eletroquímico na presença de luz.

**Figura 9:** Potenciostato/galvanostato da (a) Autolab PGSTAT204 utilizado para as medidas fotoeletroquímicas e (b) Autolab PGSTAT 128 N utilizado para a medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica.



**Figura 10:** Esquema de trabalho do sistema fotoeletroquímico utilizado.



#### 4.5. Estudo do comportamento eletroquímico do fotossensor na presença e ausência de ACG

As respostas do sensor fotoeletroquímico ITO/LA/TiO<sub>2</sub> foram avaliadas por meio de medidas cronoamperométricas na ausência e presença de ACG. Este estudo foi

realizado em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de uma solução tampão fosfato pH 7,0, cujo potencial aplicado foi de 300 mV.

#### **4.6. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico**

A fim de se obter um melhor desempenho para o sensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> proposto, os parâmetros experimentais e operacionais do sistema que influenciam a sensibilidade do sistema, a estabilidade e o perfil da resposta analítica foram investigados.

##### **4.6.1. Parâmetros experimentais**

Primeiramente realizou-se o estudo da influência do pH do meio sobre a resposta do sensor para o processo de oxidação do analito, utilizando-se  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de uma solução tampão fosfato como eletrólito suporte, variando-se o pH numa faixa de 5,0 a 9,0. Após a otimização do pH, verificou-se também o sinal analítico referente à detecção de ACG em soluções tampão HEPES, STF, B-R e McIlvaine, ambos em concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e no mesmo valor otimizado de pH.

##### **4.6.2. Parâmetros operacionais**

Para a construção da curva analítica foi empregada a técnica cronoamperométrica. Desse modo, otimizou-se o potencial aplicado ( $E_{\text{apl}}$ ) para a oxidação do analito. Os potenciais estudados foram: 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400 mV vs Ag/AgCl, empregando-se a solução tampão e o pH sob as condições otimizadas.

#### **4.7. Caracterização analítica do sensor**

Após a otimização dos parâmetros experimentais e operacionais construiu-se a curva analítica para a determinação de ACG empregando-se a cronoamperometria. O limite de detecção (LD) foi estimado utilizando a relação estatística  $[3\sigma(DP/b)]$ , onde DP é o desvio padrão entre as medidas de corrente para o “branco” (solução que não

contém o analito) e  $b$  é o coeficiente angular ou sensibilidade da curva analítica que foi determinada pela equação da reta ( $Y=a + bx$ ).

#### 4.8. Aplicação em amostras de alimentos

Para se avaliar o desempenho do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub>, o mesmo foi aplicado em amostras comerciais de café solúvel, chá de sachê e suco de maçã de caixa. O preparo de cada amostra está descrito a seguir:

**Amostra de café solúvel:** Preparou-se uma solução misturando 0.5 g da amostra de café solúvel com 10 mL de água, a qual foi agitada vigorosamente até a completa solubilização da amostra.

**Amostra de chá:** A infusão foi preparada por imersão de uma bolsa de chá em 10 mL de água fervente durante 3 min.

**Amostra de suco de maçã:** A amostra de suco de maçã foi utilizada sem qualquer tratamento prévio, sendo a alíquota retirada diretamente da caixa do suco.

Para análises individuais das amostras citadas utilizou-se alíquotas de 10  $\mu$ L, 200  $\mu$ L e 500  $\mu$ L das soluções de café solúvel, chá e suco de maçã, respectivamente, as quais foram adicionadas à célula eletroquímica contendo 5,0 mL de uma solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH = 8,0) para posterior análise.

#### 4.9. Determinação de ACG em amostras de alimentos empregando o fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> e avaliação da sua exatidão por meio de estudos de adição e recuperação

A quantidade de ACG nas amostras de alimentos foi determinada pelo método de adição padrão, utilizando-se 5,0 mL de solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de STF (pH = 8,0) contidos na célula eletroquímica, onde foram adicionadas as amostras, e logo em seguida fez-se adições sucessivas do analito a partir de uma solução padrão estoque 1 mmol L<sup>-1</sup> de ACG. A partir dos resultados obtidos construiu-se uma curva analítica relacionando as quantidades de ACG adicionadas às amostras com os respectivos sinais analíticos obtidos, e, por extrapolação obteve-se a concentração real do analito presente nas amostras. Os valores adicionados das amostras e da solução padrão podem ser vistos na Tabela 1.

**Tabela 1:** Adições das amostras e da solução padrão do analito.

Amostras	Adição da amostra ( $\mu\text{L}$ )	Adição do padrão ACG ( $\mu\text{L}$ )
Café solúvel	10	25, 75, 175 e 475
Chá	200	50, 100, 500, 700, 1150 e 2650
Suco de maçã	500	50, 150, 250, 500, 900 e 2200

Após a determinação de ACG nas amostras fez-se estudos de adição e recuperação do analito nas amostras, os quais serviram para avaliar a exatidão do fotossensor proposto. Nestes estudos preparou-se uma solução contendo a amostra fortificada com uma concentração conhecida do analito, seguida pela adição de diferentes concentrações do analito na célula eletroquímica. As porcentagens de recuperação foram calculadas pela razão entre a concentração de ACG (amostra + solução do analito adicionado) encontrada e a concentração total esperada multiplicada por 100. As determinações do analito foram feitas em cinco replicatas para maior confiabilidade dos resultados.

#### 4.10. Avaliação da precisão do fotossensor

A precisão do sensor desenvolvido foi avaliada considerando-se a repetibilidade das medidas através de 50 medições sucessivas da fotocorrente do analito ( $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), e logo após, foi calculado o desvio padrão relativo (DPR) para cada fotocorrente obtida, bem como considerou-se a repetibilidade no preparo de quatro sensores preparados da mesma forma e em dias diferentes, a qual também foi avaliada pelo cálculo do DPR dos valores de fotocorrente dos amperogramas obtidos.

Todas as medidas foram realizadas sob condições experimentais já otimizadas para o ITO/LA/TiO<sub>2</sub>.

#### 4.11. Estudo de Interferentes

A capacidade seletiva do ITO modificado com LA/TiO<sub>2</sub> foi avaliada medindo-se a intensidade do sinal na presença de ACG ( $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e de algumas espécies ( $5, 25$  e  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) que podem ser encontradas em amostras que contém esse analito, tais como L-cisteína, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, glicose e

possíveis íons interferenciais ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ ). O estudo foi realizado sob condições experimentais e operacionais otimizadas.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização dos materiais que compõem o sensor por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

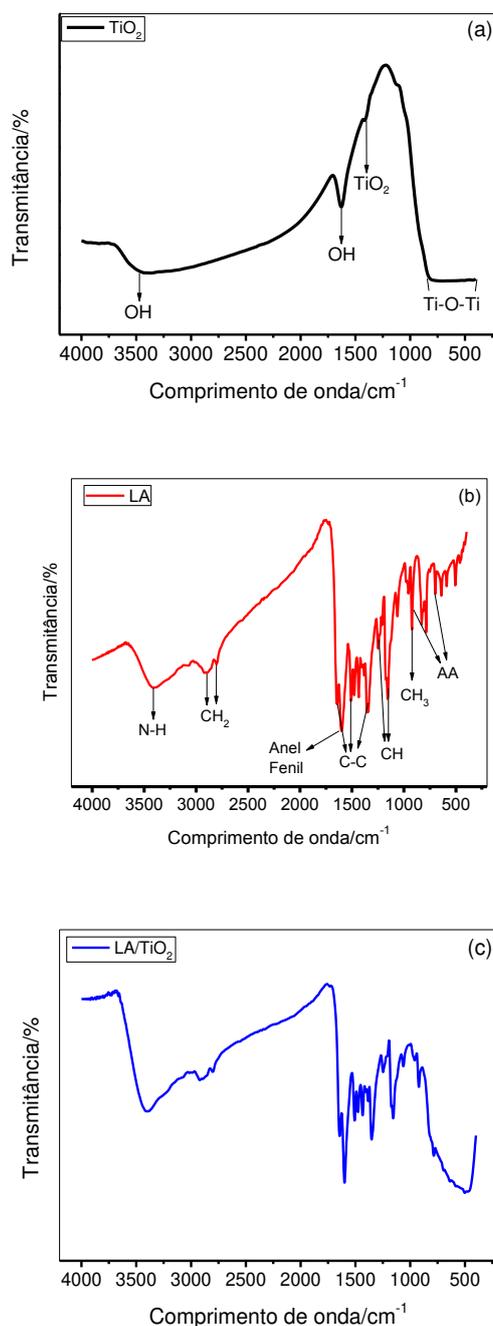
A fim de se investigar as possíveis interações entre o LA e o  $\text{TiO}_2$ , foram realizadas análises utilizando a espectroscopia vibracional no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR, do inglês Fourier Transform Infrared). Desse modo, obteve-se espectros para o sensibilizador, para as nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  e para o compósito LA/ $\text{TiO}_2$ , como mostra a Figura 11. O espectro obtido para o  $\text{TiO}_2$  apresentado na Figura 11a mostra uma banda em torno de  $3500\text{ cm}^{-1}$  e um pico em  $1630\text{ cm}^{-1}$  atribuídos respectivamente às vibrações de alongamento e flexão dos grupos O-H das moléculas de água adsorvidas. O pico localizado em  $1400\text{ cm}^{-1}$  está associado as vibrações de rede do  $\text{TiO}_2$ . E por fim, observa-se uma ampla banda de absorção característica da forma anatase entre  $820\text{-}400\text{ cm}^{-1}$  indicando a presença de vibrações da ligação Ti-O-Ti (HAMADANIAN *et al.*, 2009; CUI *et al.*, 2016; HEYDARI-BAFROOEI *et al.*, 2016).

O espectro de FTIR obtido para o corante LA (Figura 11b) mostra sinais em torno de  $3418\text{ cm}^{-1}$  atribuído a vibração de alongamento N-H e uma banda em torno de  $1594\text{ cm}^{-1}$  característica da vibração de estiramento do anel fenil (SHARMA e ILANCHELIAN, 2014). As bandas de absorção em  $2896\text{ cm}^{-1}$  e  $2807\text{ cm}^{-1}$  são referentes as deformações das ligações  $\text{CH}_2$ , enquanto que os três picos localizados a  $1635\text{ cm}^{-1}$ ,  $1503\text{ cm}^{-1}$  e  $1338\text{ cm}^{-1}$  correspondem as deformações das ligações C-C. Outras bandas de absorção foram observadas em  $1231\text{ cm}^{-1}$ ,  $1164\text{ cm}^{-1}$  e  $1061\text{ cm}^{-1}$  correspondentes as deformações CH, CH e  $\text{CH}_3$ , respectivamente. Finalmente, os picos em  $918$  e  $697\text{ cm}^{-1}$  são relacionados aos anéis aromáticos da molécula (LAGUTSCHENKOV e DOPFER, 2011).

O espectro obtido para o compósito LA/ $\text{TiO}_2$  (Figura 11c) confirma a modificação do  $\text{TiO}_2$  pelo laranja de acridina por meio de um processo físico de adsorção, uma vez que as bandas características referentes ao corante e ao  $\text{TiO}_2$  verificados nas Figuras 11a e 11b, foram novamente observadas após a modificação do

TiO<sub>2</sub> sem o aparecimento de novas bandas no espectro do compósito. O espectro do compósito também mostrou que a banda entre 820 a 400 cm<sup>-1</sup> observada no espectro do TiO<sub>2</sub> deslocou-se para números de onda mais baixos e apresentou uma melhor nitidez, devido a menor quantidade do TiO<sub>2</sub> no material compósito LA/TiO<sub>2</sub>, esse comportamento também foi observado por Ganesh *et al.*, 2012. Os picos do corante (no intervalo entre 820 cm<sup>-1</sup> e 400 cm<sup>-1</sup>) foram suprimidos devido à faixa intensa do TiO<sub>2</sub>.

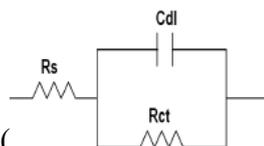
**Figura 11:** (a) Espectro de FTIR do TiO<sub>2</sub> (b) do LA (c) e do compósito LA/TiO<sub>2</sub>.



## 5.2. Caracterização da plataforma fotoeletroquímica por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

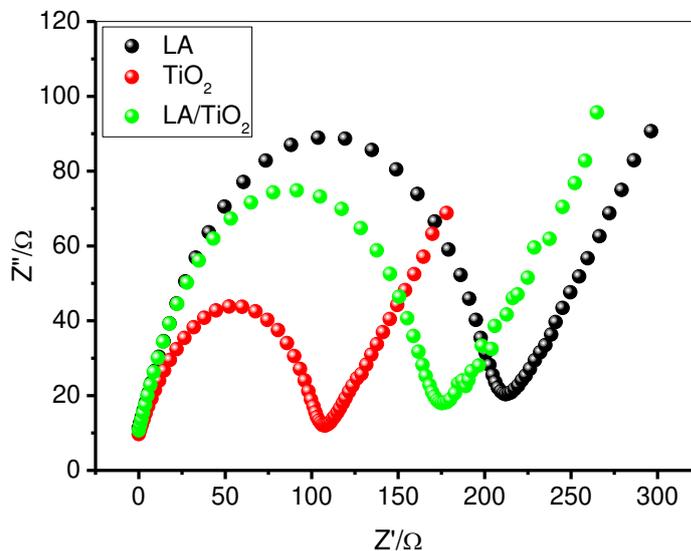
O desempenho do fotossensor LA/TiO<sub>2</sub> foi avaliado em relação a cada um dos componentes isolados utilizando a técnica de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) com a lâmpada LED ligada e desligada. Os espectros de impedância incluem uma região de semicírculo e uma região linear. O diâmetro do semicírculo em frequências mais altas corresponde à resistência à transferência de cargas (R<sub>ct</sub>) e a parte linear em frequências mais baixas corresponde ao processo de difusão (LI, S. *et al.*, 2015).

A Figura 12 mostra os diagramas de Nyquist para os fotoeletrodos ITO/LA, ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LA/TiO<sub>2</sub> obtidos em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução de KCl contendo 5 mmol L<sup>-1</sup> de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. O experimento foi realizado no intervalo de frequência de 100 kHz a 0,01 Hz na ausência de luz. Os valores de R<sub>ct</sub> para os fotoeletrodos ITO/LA, ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LA/TiO<sub>2</sub> na ausência de luz foram 212, 106 e 175 Ω, respectivamente,



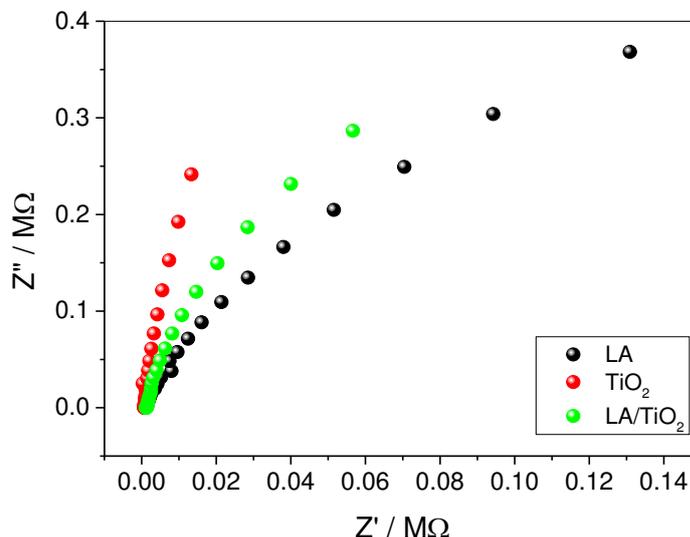
considerando um circuito simples ( , onde R<sub>s</sub> é a resistência da solução, R<sub>ct</sub> é a resistência a transferência de carga e C<sub>dl</sub> é a capacitância da dupla camada), indicando que o nanocompósito na ausência de luz apresenta uma resistência à transferência de carga maior que a do eletrodo ITO/TiO<sub>2</sub> e menor que a do ITO/LA.

**Figura 12:** Diagramas de Nyquist para os fotoeletrodos ITO/LA, ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LA/TiO<sub>2</sub> em solução de 0,1 mol L<sup>-1</sup> de KCl contendo 5 mmol L<sup>-1</sup> de K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] na ausência de luz. E<sub>appl(LA)</sub> = 0,203 V; E<sub>appl(TiO2)</sub> = 0,204 V; E<sub>appl(LA/TiO2)</sub> = 0,216 V.



A EIE também foi utilizada para caracterizar o fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> sob irradiação de luz LED na região do visível em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de uma solução de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Figura 13). Os valores de R<sub>ct</sub> para os fotoeletrodos de ITO/LA, ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LATiO<sub>2</sub> são de 0,28, 0,42 e 0,14 MΩ, respectivamente. Os espectros para os fotoeletrodos ITO/LA, ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LA/TiO<sub>2</sub> na presença de luz mostraram que a resistência do nanocompósito foi levemente menor que as dos demais materiais, porém esse fato não é suficiente para saber se a velocidade à transferência de carga será maior ou menor e se apresentará, conseqüentemente, uma maior fotocorrente para o analito. Para tanto, realizaram-se estudos amperométricos.

**Figura 13:** Espectros de impedância eletroquímica para os fotoeletrodos ITO/LA, ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LA/TiO<sub>2</sub> em solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sob iluminação LED visível sob potencial de circuito aberto.



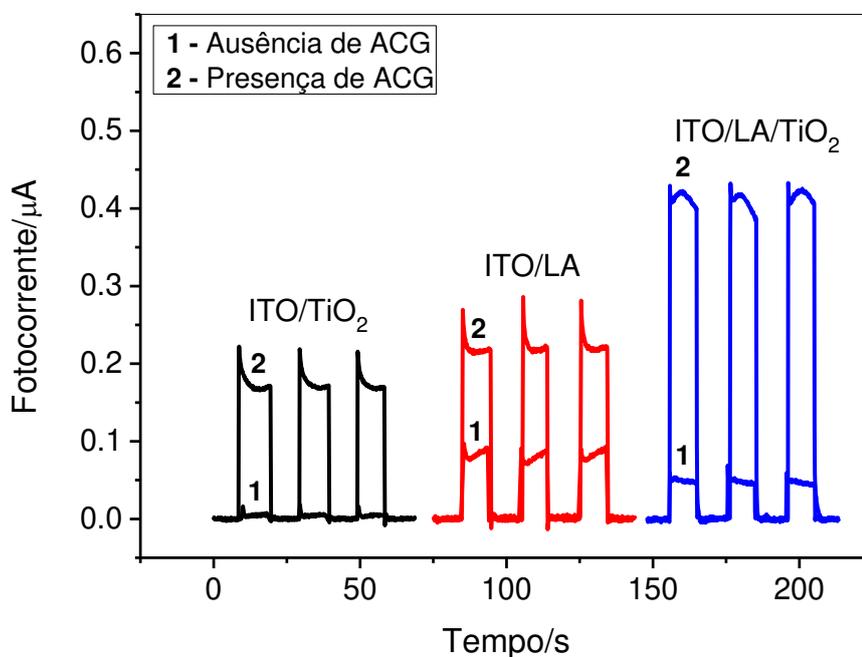
Estes resultados mostram que a  $R_{ct}$  para o eletrodo modificado com TiO<sub>2</sub> foi maior sob irradiação luminosa, o que pode estar relacionado ao fato deste semiconductor apresentar uma baixa absorção na região do visível, dificultando a formação dos pares  $e^-/h^+$  e assim apresentando uma baixa mobilidade eletrônica. Enquanto que o espectro do fotoeletrodo ITO/LA na presença de luz mostrou uma  $R_{ct}$  intermediária, evidenciando que este fotoeletrodo apresenta uma boa absorção na região do visível, o que implica em uma melhor mobilidade de elétrons com separação mais efetiva de cargas. No entanto, sob irradiação de luz LED visível, pode-se observar uma tendência de um semicírculo de menor  $R_{ct}$  para o eletrodo modificado com LA/TiO<sub>2</sub>, em relação aos componentes isolados no ITO. Estes resultados sugerem que a fotossensibilização do TiO<sub>2</sub> com o corante LA, contribui para a diminuição da  $R_{ct}$ , pois este corante promove uma melhor taxa de transferência de elétrons com o TiO<sub>2</sub> e o ITO, resultando em uma excelente eficiência de separação dos pares  $e^-/h^+$ , e assim, melhora o desempenho do sensor, que está de acordo com os resultados obtidos pelas análises amperométricas.

### 5.3. Influência dos materiais que compõem o fotossensor na resposta de ACG e o efeito da concentração do analito na intensidade da fotocorrente

Primeiramente, medidas de cronoamperometria foram realizadas em solução de ACG numa concentração de  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$ , preparadas em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão fosfato (pH 7,0) sob um potencial aplicado de  $0,3 \text{ V}$  para investigar a atividade catalítica do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub>, e assim, comparou-se a resposta amperométrica do fotossensor com a resposta dos sensores ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LA na ausência (1) e presença (2) de ACG, sob luz LED, ligada e desligada (Figura 14). O tempo de resposta do sensor foi de um segundo e os valores de fotocorrente obtidos para os fotossensores ITO/TiO<sub>2</sub>, ITO/LA e ITO/LA/TiO<sub>2</sub>, foram, respectivamente: a) na ausência de ACG:  $0,005 \mu\text{A}$ ,  $0,081 \mu\text{A}$  e  $0,052 \mu\text{A}$  e b) na presença de ACG:  $0,17 \mu\text{A}$ ,  $0,22 \mu\text{A}$  e  $0,42 \mu\text{A}$ . Com base nos dados da Figura 14 podemos observar que a presença do ACG proporcionou um aumento da fotocorrente para os três sensores, pois este analito vai atuar como uma espécie doadora de elétrons em todos os casos, suprimindo os buracos foto gerados no modificador e, portanto, diminuindo a recombinação dos pares  $e^-/h^+$ . Além disso, a fotossensibilização do TiO<sub>2</sub> com o corante também promove uma amplificação do sinal analítico, já que o aprimoramento na fotocorrente obtida com o sensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> é aproximadamente 2 vezes maior do que com os sensores ITO/TiO<sub>2</sub> e ITO/LA, o que sugere que com o sensor composto há uma melhor separação das cargas foto geradas, dificultando sua recombinação, resultando em maior eficiência no processo de transferência eletrônica entre o analito e a superfície do sensor, fator importante para determinar o ACG com maior sensibilidade (WANG, G.-L., JIAO, H.-J., *et al.*, 2014; WANG, L. *et al.*, 2014).

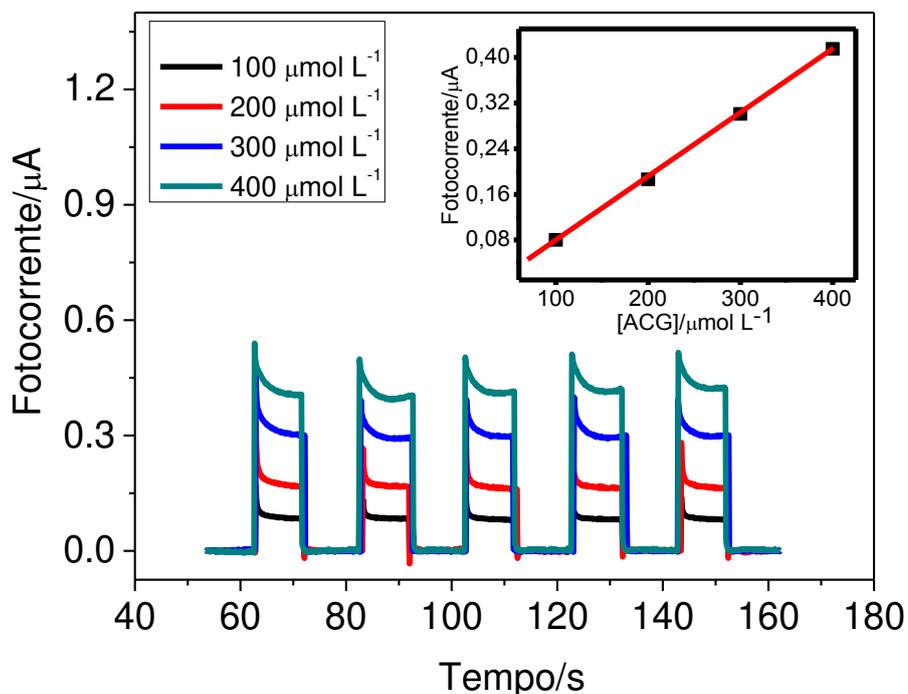
**Figura 14:** Resposta de fotocorrente do sensor ITO/TiO<sub>2</sub>, ITO/LA e ITO/LA/TiO<sub>2</sub> na ausência (1) e presença (2) de 200 μmol L<sup>-1</sup> de ACG em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de STF (pH 7,0).

$$E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs. Ag/AgCl}_{\text{saturado}}.$$



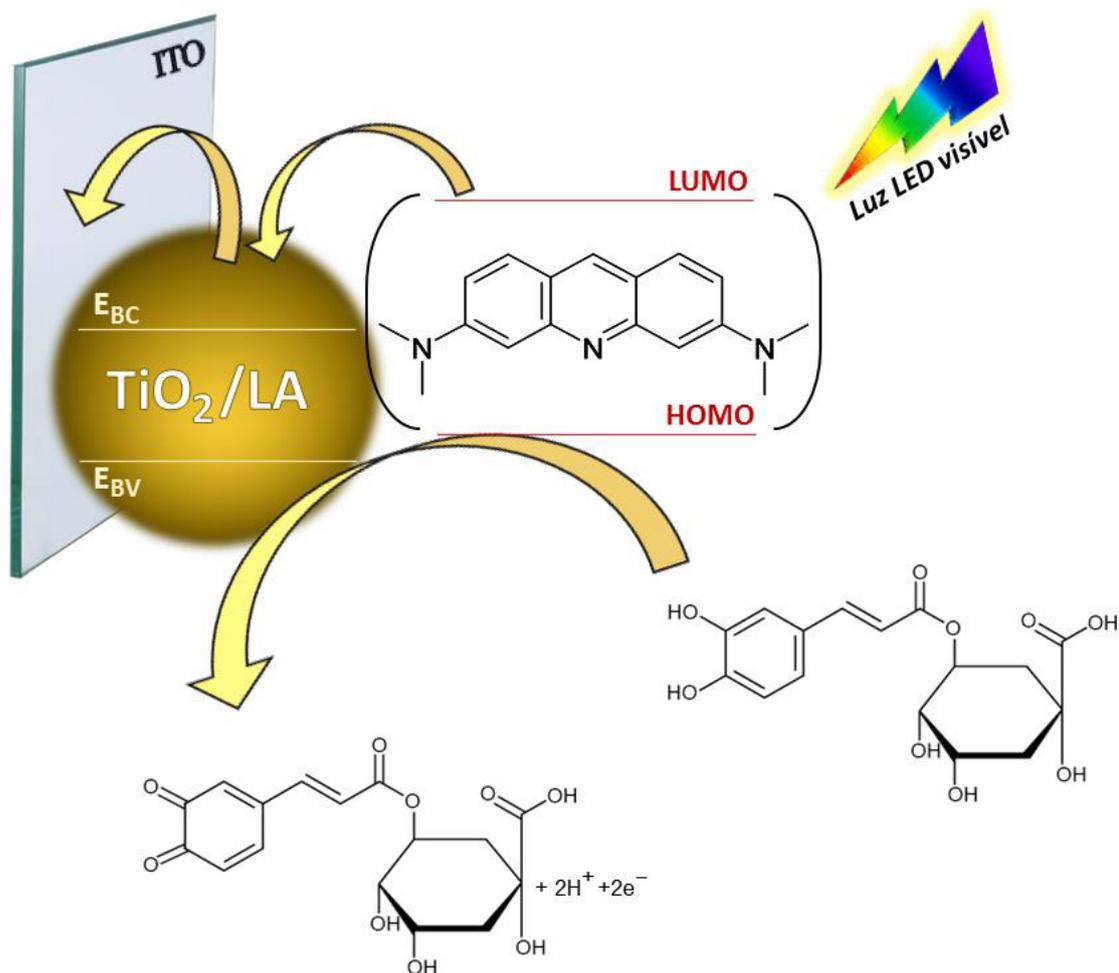
Para verificar se a sensibilidade do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> aumenta com o aumento da concentração de ACG, foram obtidos amperogramas em diferentes concentrações de ACG (100, 200, 300 e 400 μmol L<sup>-1</sup>), conforme pode ser observado na Figura 15. Com base nesses dados, observa-se um aumento proporcional nas fotocorrentes em função da concentração, mostrando uma relação linear entre a fotocorrente e a concentração do analito, com um coeficiente de correlação de ( $R = 0,999$ ). Assim, o fotossensor proposto não apenas apresenta uma boa resposta para a detecção do ACG, mas também permite a quantificação/determinação desse analito.

**Figura 15:** Amperogramas do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> na presença de diferentes concentrações do analito (100, 200, 300 e 400 μmol L<sup>-1</sup>) em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de STF (pH 7,0). Figura inserida: Gráfico de fotocorrente versus concentração do analito. E<sub>apl</sub> = 0,3 V vs. Ag/AgCl<sub>saturado</sub>.



A representação esquemática proposta para a oxidação fotoeletroquímica do ACG é apresentada na Figura 16. O material compósito formado por laranja de acridina e TiO<sub>2</sub> absorve radiação quando iluminado com luz LED visível, de forma que os elétrons do corante são excitados e promovidos do orbital HOMO para o orbital LUMO, e os elétrons do semiconductor são promovidos da banda de valência para a banda de condução. Concomitantemente ocorre uma rápida transferência de elétrons do LUMO do corante para a banda de condução do TiO<sub>2</sub> anatase, e esses elétrons são coletados pelo eletrodo gerando uma fotocorrente anódica. Enquanto isso, o ACG atua como uma espécie doadora de elétrons, que por sua vez é oxidada por buracos positivos fotogerados na banda de valência do TiO<sub>2</sub> e no HOMO do corante. O ACG suprime os buracos que são fotogerados no material compósito, contribuindo, portanto, para uma melhor separação das cargas fotogeradas e assim melhorando a resposta de fotocorrente do sensor.

**Figura 16:** Representação esquemática da detecção fotoeletroquímica usando o sensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub>.

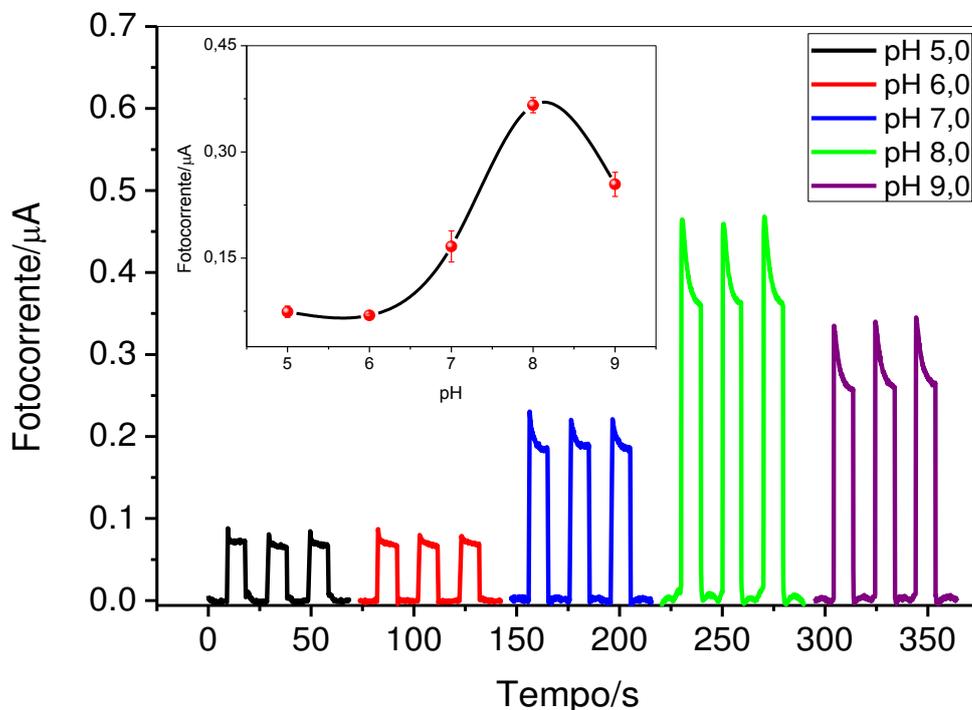


#### 5.4. Otimização dos parâmetros experimentais e operacionais do sistema fotoeletroquímico

##### 5.4.1. pH

Inicialmente, foi investigada a influência do pH da solução tampão sobre a oxidação de 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG utilizando o sensor fotoeletroquímico ITO/LA/TiO<sub>2</sub> em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução tampão fosfato em diferentes valores de pH (5,0 a 9,0) sob potencial aplicado de 0,3 V vs Ag/AgCl (Figura 17).

**Figura 17:** Influência do pH da solução sobre a resposta do fotossensor para 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG.  $E_{\text{ap}} = 0,3 \text{ V vs Ag/AgCl sat.}$

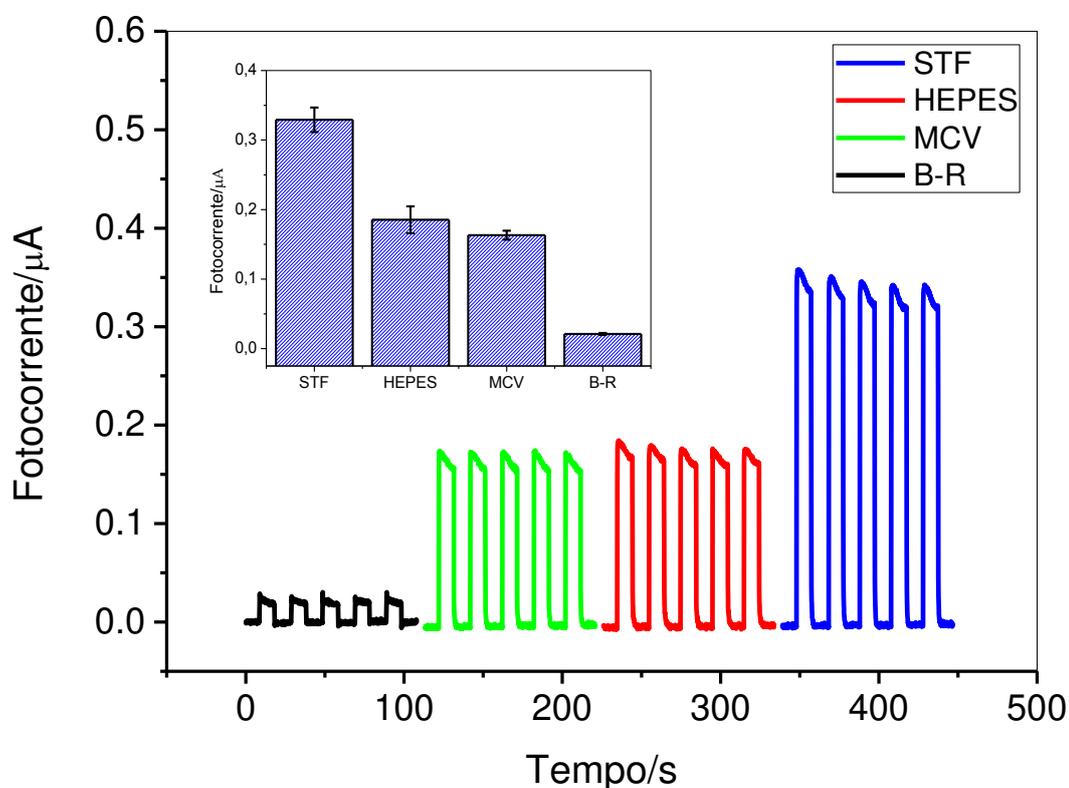


De acordo com os resultados apresentados na Figura 17, observa-se que a resposta de fotocorrente do sensor aumenta ligeiramente do pH 5,0 ao pH 8,0 e diminui em valores de pH maiores que 8,0. Dois aspectos relacionados ao sistema investigado se apresentam como prováveis fatores responsáveis por esse comportamento, como a boa estabilidade do corante sensibilizador (laranja de acridina) em valores de pH levemente alcalino (LIU *et al.*, 2014), bem como a maior fotocorrente apresentada para esse corante nesse meio, evidenciando uma melhor separação das cargas sobre a superfície do eletrodo. Conseqüentemente esses dois fatores influenciam na resposta do fotossensor, inferindo diretamente em uma melhor resposta para o analito em solução, visto que o ACG vai se oxidar mais facilmente, pois este antioxidante reage com os buracos fotogerados no fotoeletrodo evitando a recombinação de cargas e, aumentando, portanto, a resposta da fotocorrente. Por isso, o pH 8,0 foi escolhido como o valor de pH ideal para as próximas medições realizadas com o sensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub>.

### 5.4.2. Solução tampão

Para o estudo dos tipos de soluções eletrolíticas testou-se tampão fosfato, MacIlvaine, HEPES e Britton-Robinson, as quais foram preparadas em concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e pH 8,0 contendo  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG, para se avaliar qual destes eletrólitos proporcionaria a melhor resposta para o sensor fotoeletroquímico proposto. A Figura 18 mostra as respostas de fotocorrente para o eletrodo de ITO modificado com LA/TiO<sub>2</sub> nas diferentes soluções tampões. Observa-se que a solução tampão que proporcionou a melhor resposta de fotocorrente para o ACG foi a solução tampão fosfato. Esse resultado pode ser associado a grande mobilidade iônica dos íons fosfatos decorrentes do pequeno tamanho que apresentam, o que possibilita um melhor transporte de carga na solução de forma a favorecer a compensação de carga durante a oxidação do ACG. Desse modo, a solução tampão fosfato foi escolhida para os demais experimentos.

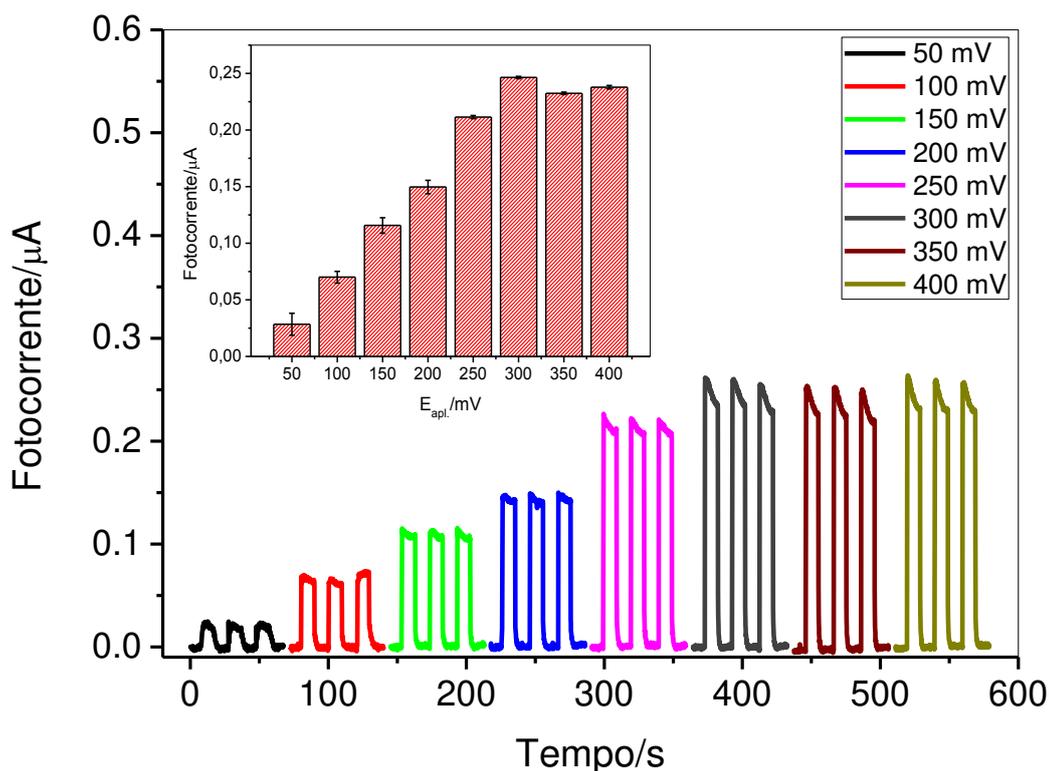
**Figura 18:** Influência do tipo de solução tampão na resposta do fotosensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> para  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de ACG.  $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V}$  vs Ag/AgCl sat.



### 5.4.3. Potencial aplicado

Em amperometria, o potencial aplicado ( $E_{\text{apl}}$ ) ao sistema é um parâmetro diretamente relacionado com a sensibilidade do sistema analítico. Sendo assim, avaliou-se a influência do potencial aplicado sobre a resposta do fotossensor para  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG. As medidas cronoamperométricas foram realizadas em tampão fosfato pH 8,0 ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) variando-se o potencial de 50 a 400 mV *vs.* Ag/AgCl<sub>sat</sub> (Figura 19). Conforme mostrado na Figura 19, a resposta do fotossensor para o ACG aumenta de 50 a 300 mV, tornando-se praticamente constante em potenciais acima deste. Portanto, o potencial de 300 mV foi fixado para todas as determinações subsequentes de ACG.

**Figura 19:** Influência do potencial aplicado na resposta do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> para  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de ACG.  $E_{\text{apl}} = 0,3 \text{ V vs Ag/AgCl sat.}$



Um maior potencial de polarização anódica gera mais elétrons foto gerados para o eletrodo e suprime a recombinação dos pares elétrons-buracos de forma mais efetiva, levando a uma fotocorrente maior (LIU *et al.*, 2015). Portanto, a fotocorrente

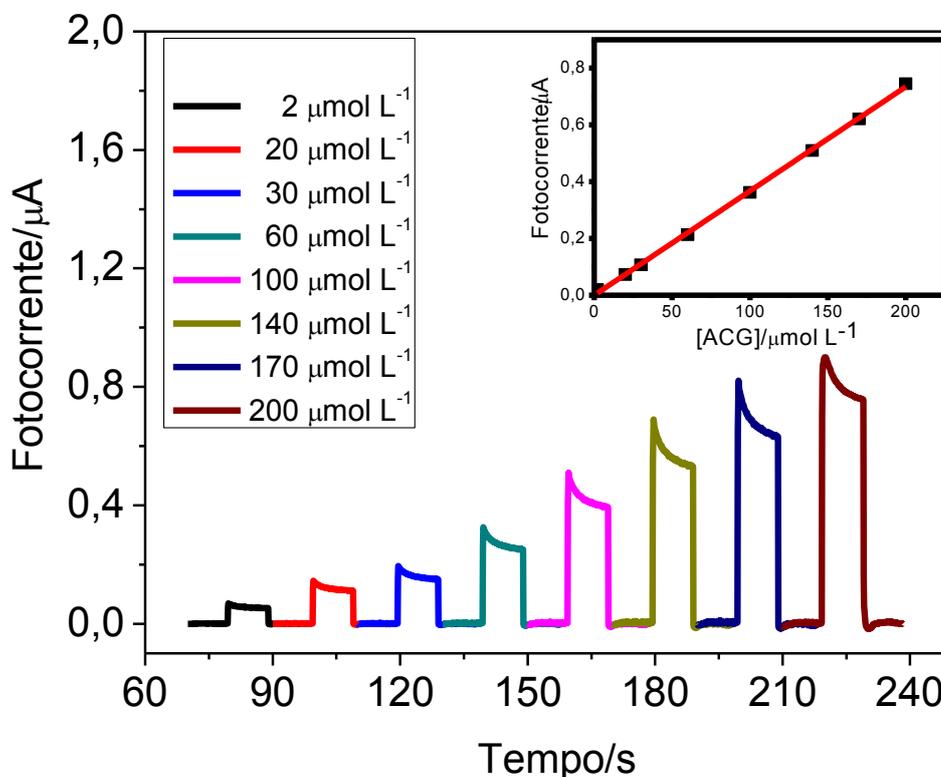
máxima observada em 300 mV pode estar relacionada ao fato de que o ACG se oxida completamente neste potencial, implicando na saturação dos buracos fotogerados na banda de valência consumidos pelo ACG, e por conseguinte, em potenciais mais elevados ocorre uma ligeira redução da fotocorrente, mantendo-se constante após 300 mV.

### 5.5. Caracterização analítica do sensor para a determinação de ACG

Após a otimização dos parâmetros que envolvem a cronoamperometria e demais condições experimentais, construiu-se a curva analítica através de adições sucessivas de alíquotas da solução padrão de ACG à solução do eletrólito suporte. Na Figura 20 são apresentados os amperogramas para as diferentes concentrações de ACG sob as condições previamente otimizadas. A partir destes amperogramas construiu-se um gráfico de  $I_{\text{fotoc}}$  vs. [ACG] (inserção da Figura 20), no qual se observa que a resposta do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> aumenta linearmente com o aumento da concentração apresentando uma ampla faixa linear de trabalho de 2 a 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com  $R = 0,999$  ( $n=8$ ). A equação matemática que define a curva analítica pode ser escrita como:

$$I_{\text{fotocorrente}} (\mu\text{A}) = 1.961 (\pm 0.010) \times 10^{-6} + 3.670 (\pm 0.046) \times 10^{-3} [\text{ACG}] (\mu\text{mol L}^{-1})$$

**Figura 20:** Resposta de fotocorrente de ACG em eletrodo de ITO/LA/TiO<sub>2</sub> nas condições otimizadas, nas concentrações de 2 a 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Figura inserida: Curva analítica obtida.  $E_{\text{apl.}} = 0,3 \text{ V vs Ag/AgCl sat.}$



O limite de detecção (LD) foi determinado seguindo as relações matemáticas recomendadas pela IUPAC, utilizando-se a expressão  $3x(DP/b)$ , onde DP corresponde ao desvio padrão de 10 amperogramas do branco e  $b$  é o coeficiente de regressão angular da curva analítica, correspondente à sensibilidade. O valor do LD encontrado foi de  $0,54 \mu\text{mol L}^{-1}$  e a variação da resposta linear foi comparado com outros trabalhos reportados na literatura para a detecção de ACG utilizando sensores eletroquímicos (Tabela 2). A partir desta comparação, podemos observar que os resultados obtidos com o sensor proposto apresenta um LD e uma faixa de resposta linear próximos ou até melhores em relação a esses outros sensores relatados na literatura. Apenas os sensores eletroquímicos dos estudos realizados por Alpar *et al.*, (2018) e Ma *et al.*, (2016) apresentaram um LD menor que o do fotossensor proposto, contudo, a faixa linear do sensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> foi mais ampla em comparação a esses dois estudos, indicando que o sensor fotoeletroquímico é eficiente na detecção de ACG.

**Tabela 2:** Comparação de alguns parâmetros analíticos de sensores relatados na literatura para a determinação de ACG.

<b>Eletrodo</b>	<b>Técnica</b>	<b>Faixa linear (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>LD (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</b>	<b>Referência</b>
<b>BDD</b>	SW-AdSV	5,64 – 147	1,26	(YARDIM <i>et al.</i> , 2013)
<b>CPT-BDD</b>	SW-AdSV	2,8 – 170	0,40	(ALPAR <i>et al.</i> , 2018)
<b>C-SPE/ Pt-NPs/RGO/lacc</b>	Amp.	2,91 – 26,47	2,67	(VASILESCU <i>et al.</i> , 2015)
<b>GC</b>	FTCP	5 – 100	0,57	(TOMAC <i>et al.</i> , 2017)
<b>GCE</b>	VPD	5 – 50	1,20	(TOMAC e ŠERUGA, 2016)
<b>GCE</b>	VOQ	5 – 50	0,77	(ŠERUGA E TOMAC, 2014)
<b>Ir-BMI.PF6-PPO/CPE</b>	VOQ	3,48 – 49.5	0,91	(FERNANDES <i>et al.</i> , 2009)
<b>MWCNTs/SPE</b>	VPD	0,48 – 44.59	0,34	(MA <i>et al.</i> , 2016)
<b>Tyrosinase/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sol-gel/Sonogel-Carbono</b>	Amp.	5 – 30	0,61	(ZEJLI <i>et al.</i> , 2008)
<b>ITO/LA/TiO<sub>2</sub></b>	FEQ	2 – 200	0,54	Esse trabalho

**Eletrodo:** BDD, diamante dopado com boro; CPT-BDD, diamante dopado com boro pré-tratado catodicamente; C-SPE/Pt-NPs/RGO/lacc, eletrodo de tela impressa de carbono modificado com nanopartículas de platina, óxido de grafeno reduzido e lacase; GC, carbono vítreo microporoso; GCE, carbono vítreo; Ir-BMI.PF6-PPO/CPE, pasta de carbono modificado com nanopartículas de irídio com o líquido iônico 1-*n* hexafluorofosfato-butyl-3-metilimidazólio e polifenol oxidase; MWCNTs/SPE, eletrodo de tela impressa modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas; Tyrosinase/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sol-gel/Sonogel-Carbono, sonogel-carbono modificado com tirosinase e alumina de sol-gel; ITO/LA/TiO<sub>2</sub>, índio óxido e estanho modificado com laranja de acridina e dióxido de titânio. **Técnica:** SW-AsSV, voltametria de remoção adsortiva de onda quadrada; Amp, amperometria; FTCP, cronopotenciometria transitória; VOQ, voltametria de onda quadrada; VPD, voltametria do pulso diferencial; FEQ, fotoeletroquímica.

### 5.6. Determinação de ACG em amostras de alimentos e estudo da exatidão do sensor proposto por meio da adição e recuperação do analito

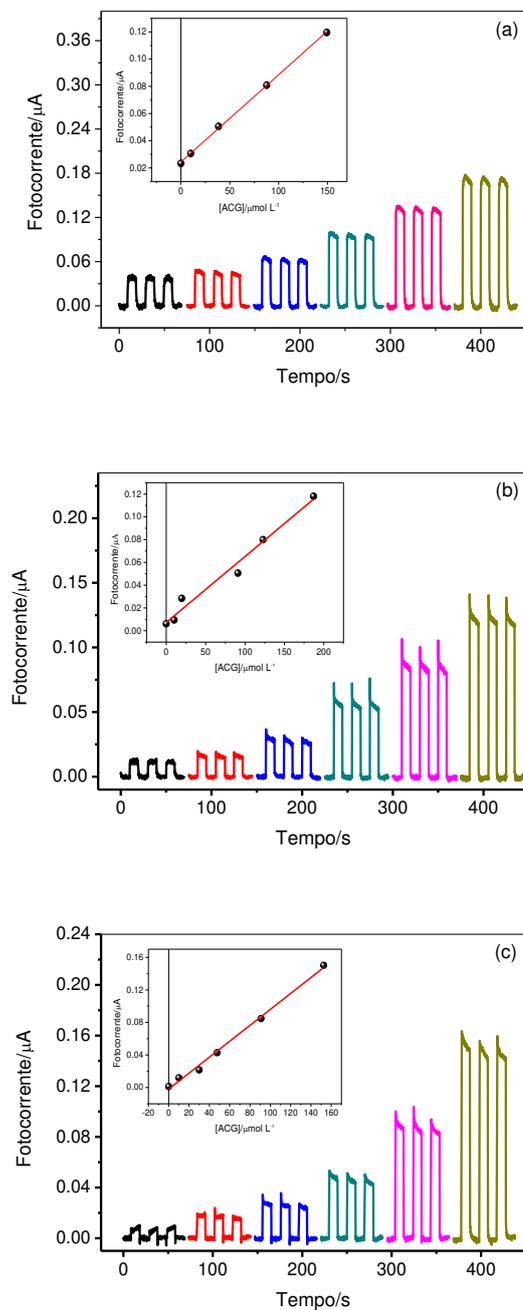
Com o intuito de verificar a compatibilidade do fotossensor desenvolvido (ITO/LA/TiO<sub>2</sub>) para aplicação prática, foi determinada a concentração de ACG em amostras de alimentos utilizando-se o método da adição de padrão. A determinação de ACG para cada amostra foi realizada em 5,0 mL de tampão fosfato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 8,0) contendo 10 µL, 200 µL e 500 µL de café solúvel, chá e suco de maçã, respectivamente. Dessa forma, foram realizadas adições sucessivas da solução padrão de ACG em tampão fosfato para a determinação do antioxidante. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 3 os quais foram obtidos a partir da Figura 21.

**Tabela 3:** Determinação de ACG obtidos para três amostras de alimentos (n=5) e estudos de adição e recuperação.

Amostras	[ACG] adicionada (µM)	[ACG] esperada (µM)	[ACG] encontrada (µM)	Recuperação* (%)
Café solúvel	0	-	37,97 (± 0,03)	-
	10	47,97	48,39 (± 0,05)	102,37
Suco de maçã	0	-	29,00 (± 0,02)	-
	10	19,00	29,41 (± 0,01)	101,41
Chá	0	-	12,60 (± 0,05)	-
	10	22,60	23,14 (± 0,02)	102,42

\*DPR <1%

**Figura 21:** Resposta fotoeletroquímica do sensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> nas condições otimizadas, na presença de (a) 2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de café solúvel com adições sucessivas de 10 a 149,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG, (b) 38,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de chá, com adição de 10,0 a 187,0  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG e (c) 91  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de suco de maçã, com adição de 10,0 a 152,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG. Figura inserida: relação linear da fotocorrente vs [ACG].  $E_{\text{apl.}} = 0,3 \text{ V}$ .

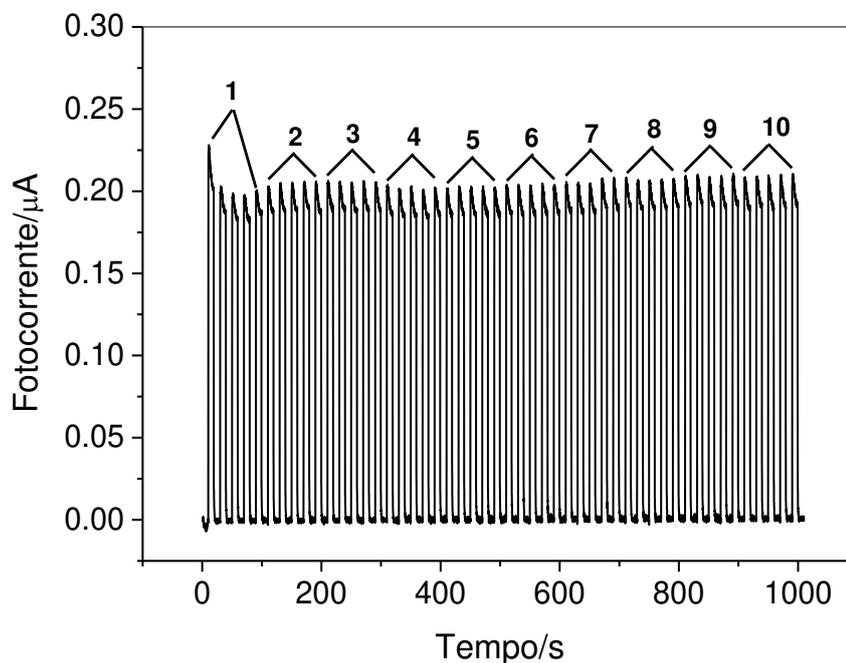


Com base na figura anterior verifica-se um aumento na fotocorrente de oxidação para o ACG cujos valores são diretamente proporcionais à concentração de ACG para a amostra de café (Figura 21a), de chá (Figura 21b) e suco de maçã (Figura 21c). As curvas de adição de padrão correspondentes a estes amperogramas (considerando-se cada amostra), estão inseridas nas Figuras 21a, 21b e 21c, onde observa-se uma correlação linear entre a concentração de ACG e o valor de fotocorrente com um coeficiente de correlação de 0,9992 para o café solúvel, 0,9973 para o chá e 0,9940 para o suco de maçã. Adicionalmente, a Tabela 3 também mostra as percentagens de recuperação de ACG obtidas com o método proposto, os quais variaram de 101,41 a 102,42%. Desse modo observa-se que esses valores foram próximos a 100% indicando que o fotossensor pode ser aplicado nesses tipos de amostras sem interferência significativa da matriz, bem como atestando que o novo sensor permite uma boa exatidão considerando-se as percentagens de recuperação encontradas.

### **5.7. Avaliação da precisão do sensor por meio da repetibilidade das medidas e da repetibilidade do preparo sensor**

Inicialmente, a precisão do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> na presença de 100 µmol L<sup>-1</sup> de ACG foi avaliada considerando-se 50 medidas amperométricas sucessivas, realizadas em solução tampão fosfato (0,1 mol L<sup>-1</sup>, pH 8,0) num tempo de 1000 s (Figura 22). O DPR das medidas foi o parâmetro utilizado para avaliar a precisão do método analítico e os resultados são apresentados na Tabela 4. O desvio padrão foi calculado para um conjunto de 5 valores de fotocorrente, conforme mostrado na Figura 22 e, a partir desses valores calculou-se o valor final do DPR num tempo de 1000 s. Uma outra forma de calcular o DPR foi considerando todos os valores de fotocorrente nesse mesmo tempo. Neste caso o DPR calculado foi de 1 %. De acordo com os resultados observa-se que o sensor proposto forneceu um excelente valor de DPR (1,27%) para medidas realizadas no mesmo dia.

**Figura 22:** Amperogramas do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> na presença de 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de ACG obtida no mesmo dia.



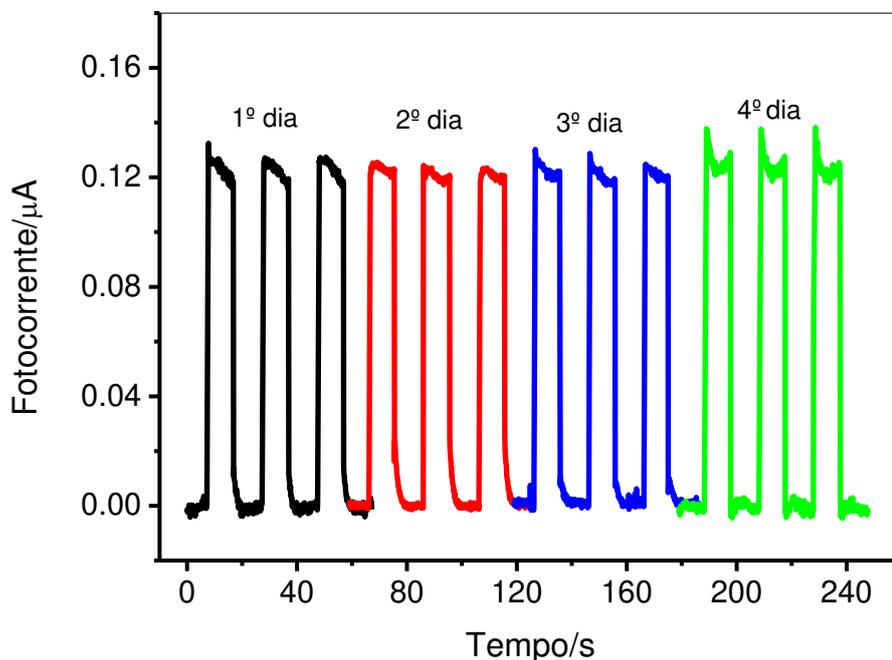
**Tabela 4:** Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com o fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> em solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato, pH 8,0, contendo 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de ACG obtida no mesmo dia.  $E_{\text{apl.}} = 0,3 \text{ V}$ .

Medidas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$I_{\text{fotoc}}$ ( $\mu\text{A}$ )	0,193*	0,193*	0,194*	0,190*	0,191*	0,191*	0,193*	0,195*	0,198*	0,196*
<b>Média das medidas = 0,193</b>					<b>DPR = 1,27%</b>					

\*Média para 5 medidas de fotocorrente

Adicionalmente, também avaliou-se a repetibilidade inter-dia no preparo dos sensores, no qual testou-se quatro eletrodos modificados da mesma maneira (nas condições otimizadas) em dias diferentes. Os cronoamperogramas mostrados na Figura 23, foram obtidos em 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG mantido em solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH 8,0) e um valor de 0,73% de DPR das fotocorrentes foi obtido (Tabela 5).

**Figura 23:** Amperogramas do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> na presença de 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de ACG obtida em dias diferentes.



**Tabela 5:** Avaliação da repetibilidade das medidas obtidas com quatro sensores de ITO/LA/TiO<sub>2</sub> imerso em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de STF, pH 8,0, contendo 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de solução de ACG.  $E_{\text{apl.}} = 0,3 \text{ V}$ .

Sensor	1	2	3	4
$I_{\text{fotoc}} (\mu\text{A})$	0,123*	0,121*	0,122*	0,123*
	<b>Média das medidas</b> 0,122		<b>DPR</b> 0,73 %	

\*Média para 5 medidas de fotocorrente

Com base nos resultados da análise de repetibilidade das medidas e do preparo dos sensores, podemos observar que os valores encontrados de DPR foram inferiores a 2%. Estes resultados podem estar relacionados à boa adsorção do material compósito na superfície do eletrodo de ITO, bem como a simplicidade de modificação do mesmo, indicando, portanto, que o método proposto apresenta elevada precisão.

## 5.8. Estudo de interferentes

A seletividade do fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> foi investigada na presença de 5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG e de compostos interferentes comumente encontrados em amostras que contêm esse analito, tais como ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, glicose, cisteína e alguns íons ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ) em diferentes razões molares (5, 25 e 50  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ). Os interferentes estudados foram escolhidos, pois são substâncias coexistentes em amostras que contem o analito de interesse.

Os resultados são apresentados na Tabela 6, onde se verifica que mesmo com a adição de 10 vezes o excesso das espécies interferentes na solução que continha o analito de interesse, não há alteração significativa no sinal analítico do fotossensor na presença dos compostos testados. Estes resultados demonstram que a determinação deste antioxidante não foi significativamente afetada por esses possíveis interferentes, indicando uma boa seletividade para a determinação do ACG na presença de espécies coexistentes.

**Tabela 6:** Valores da resposta de fotocorrente ( $\mu\text{A}$ ) obtidas com o fotossensor ITO/LA/TiO<sub>2</sub> para 5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de ACG na presença de compostos interferentes em diferentes razões molares (n = 3).

Compostos Interferentes	Razão molar (ácido clorogênico:compostos interferentes- $\mu\text{A}$ ) $\pm$ DPR (%)		
	1:1	1:5	1:10
Ácido ascórbico	1,27 $\pm$ 1,47	1,15 $\pm$ 5,67	1,50 $\pm$ 1,14
Ácido cítrico	1,21 $\pm$ 0,25	1,18 $\pm$ 4,95	1,58 $\pm$ 0,27
Ácido Tartárico	1,28 $\pm$ 0,29	1,14 $\pm$ 2,62	1,60 $\pm$ 1,01
Glicose	1,24 $\pm$ 0,29	1,11 $\pm$ 2,22	1,70 $\pm$ 0,34
L-cisteína	1,20 $\pm$ 2,31	1,14 $\pm$ 1,58	1,58 $\pm$ 3,39
KCl	1,15 $\pm$ 3,69	1,12 $\pm$ 4,76	1,60 $\pm$ 2,26
NaCl	1,25 $\pm$ 2,38	1,11 $\pm$ 0,26	1,73 $\pm$ 2,50

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo foi desenvolvido o primeiro sensor fotoeletroquímico relatado para a detecção e quantificação do antioxidante fenólico, o ACG, em amostras de alimentos com base no material LA/TiO<sub>2</sub> utilizando o eletrodo de ITO e explorando uma lâmpada LED. Adicionalmente, a fotossensibilização do TiO<sub>2</sub> com corante laranja de acridina foi eficiente e proporcionou a absorção de luz na região do visível garantindo um ótimo desempenho analítico para o fotossensor proposto, incluindo rápida resposta (tempo de um segundo).

A caracterização estrutural realizada pela espectroscopia de infravermelho para os materiais LA, TiO<sub>2</sub> e LA/TiO<sub>2</sub> mostrou que ocorreu uma modificação do TiO<sub>2</sub> com o corante por adsorção de espécies, pois as bandas correspondentes ao corante e ao semicondutor também foram observadas no espectro do material compósito. A caracterização eletroquímica realizada para estes materiais incorporados na superfície do eletrodo de ITO demonstrou que com o material compósito na presença de luz há uma menor resistência a transferência de carga, pois a fotossensibilização e a presença da luz proporcionaram uma maior eficiência das cargas fotogeradas que mantém o processo fotoeletroquímico.

O sensor à base de LA/TiO<sub>2</sub> exibiu uma excelente resposta eletrocatalítica para a determinação do ácido clorogênico, evidenciada pelo aumento significativo da fotocorrente em comparação aos demais eletrodos modificados LA e TiO<sub>2</sub>.

A otimização das condições experimentais garantiu ao sistema a obtenção de uma sensibilidade e LD satisfatórios, além de uma ampla faixa linear de trabalho para a determinação do analito, sendo que os resultados obtidos foram próximos ou ainda melhores que muitos trabalhos descritos na literatura.

O fotossensor proposto além de ser de baixo custo e simples, apresentou boa repetibilidade das medidas e do preparo do sensor, refletindo-se nos baixos valores de DPR encontrados, e, conseqüentemente, numa boa precisão. Estes resultados podem estar relacionados à estabilidade do material compósito na superfície do ITO.

O estudo de interferentes comprovou a excelente seletividade do fotossensor desenvolvido, já que apresentou interferência negligenciável a outras espécies comumente presentes em amostras contendo o ACG. Logo, a aplicabilidade do sensor foi promissora, tendo apresentado bons resultados de adição e recuperação do analito

obtido em amostras de alimentos, podendo-se, portanto, considerar o método proposto como um método que apresenta boa exatidão.

Pelo exposto, pode-se afirmar que o fotossensor desenvolvido apresenta-se como uma nova metodologia de baixo custo, fácil operação, precisa, estável, sensível, e seletiva para a determinação deste antioxidante, podendo, portanto, ser aplicado com confiança em amostras de alimentos como café solúvel, chá e suco de maçã, bem como em outros tipos de amostras reais.

## REFERÊNCIA

- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2014.
- ALPAR, N.; YARDIM, Y.; ŞENTÜRK, Z. Selective and simultaneous determination of total chlorogenic acids, vanillin and caffeine in foods and beverages by adsorptive stripping voltammetry using a cathodically pretreated boron-doped diamond electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 257, p. 398-408, 2018.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 66, n. 1, p. 01-09, 2007.
- ARAI, K.; TERASHIMA, H.; AIZAWA, S.; TAGA, A.; YAMAMOTO, A.; TSUTSUMIUCHI, K.; KODAMA, S. Simultaneous determination of trigonelline, caffeine, chlorogenic acid and their related compounds in instant coffee samples by HPLC using an acidic mobile phase containing octanesulfonate. **Analytical Sciences**, v. 31, n. 8, p. 831-835, 2015.
- BAHADIR, E. B.; SEZGINTÜRK, M. K. Applications of graphene in electrochemical sensing and biosensing. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 1-14, 2016.
- BARD, A. J. Photoelectrochemistry. **Science**, v. 207, n. 4427, p. 139-144, 1980.
- BARROSO, M. F.; DE-LOS-SANTOS-ÁLVAREZ, N.; DELERUE-MATOS, C.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Towards a reliable technology for antioxidant capacity and oxidative damage evaluation: Electrochemical (bio)sensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 30, n. 1, p. 1-12, 2011.
- BASGEDIK, B.; UGUR, A.; SARAC, N. Antimicrobial, antioxidant, antimutagenic activities, and phenolic compounds of *Iris germanica*. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 526-530, 2014.
- BELAY, A.; GHOLAP, A. V. Characterization and determination of chlorogenic acid (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 3, n. 11, p. 234-240, 2009.
- BORGES, F. J. **Integração dos processos de eletrodialise e de degradação fotoquímica para o tratamento de efluentes salinos contendo fenol**. 2009. 139 f. Tese (Doutorado em Engenharia) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- CARTEA, M. E.; FRANCISCO, M.; SOENGAS, P.; VELASCO, P. Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. **Molecules**, v. 16, n. 1, p. 251-280, 2011.
- CETIN-KARACA, H.; NEWMAN, M. C. Antimicrobial efficacy of plant phenolic compounds against *Salmonella* and *Escherichia Coli*. **Food Bioscience**, v. 11, p. 8-16, 2015.

CHAO, J.; WANG, H.; ZHAO, W.; ZHANG, M.; ZHANG, L. Investigation of the inclusion behavior of chlorogenic acid with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, n. 1, p. 277-282, 2012

CHAO, M.; MA, X. Voltammetric determination of chlorogenic acid in pharmaceutical products using poly (aminosulfonic acid) modified glassy carbon electrode. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 22, n. 4, p. 512-519, 2014.

CHEN, X. SHEN, S.; GUO, L.; MAO, S. S. Semiconductor-based Photocatalytic Hydrogen Generation. **Chemical Reviews**, v. 110, n. 11, p. 6503-6570, 2010.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 7, p. 1033-1043, 2000.

COLARIETI, M. L.; TOSCANO, G.; GRECO, G. Soil-catalyzed polymerization of phenolics in polluted waters. **Water Research**, v. 36, n. 12, p. 3015-3022, 2002.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Phenols, polyphenols and tannins: an overview. **Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet**, v. 1, p 1-24, 2007.

CUI, S. YANG, L.; WANG, J.; WANG, W. Fabrication of a sensitive gas sensor based on PPy/TiO<sub>2</sub> nanocomposites films by layer-by-layer self-assembly and its application in food storage. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 233, p. 337-346, 2016.

DE MARIA, C. A. B.; MOREIRA, R. F. A. Analytical methods for chlorogenic acid. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 586-592, 2004.

DEVADOSS, A.; SUDHAGAR, P.; TERASHIMA, C.; NAKATA, K.; FUJISHIMA, A. Photoelectrochemical biosensors: New insights into promising photoelectrodes and signal amplification strategies. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 24, p. 43-63, 2015.

DING, L.; MA, C.; LI, L.; ZHANG, L.; YU, J. A photoelectrochemical sensor for hydrogen sulfide in cancer cells based on the covalently and in situ grafting of CdS nanoparticles onto TiO<sub>2</sub> nanotubes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 783, p. 176-181, 2016.

FARAH, A. Coffee Constituents. **Coffee: emerging health effects and disease prevention**, v. 1, p. 21-58, 2012.

FERNANDES, S. C.; MOCCELINI, S. K.; SCHEEREN, C. W.; MIGOWSKI, P.; DUPONT, J.; HELLER, M.; VIEIRA, I. C. Biosensor for chlorogenic acid based on an ionic liquid containing iridium nanoparticles and polyphenol oxidase. **Talanta**, v. 79, n. 2, p. 222-228, 2009.

FURTADO, A. A.; TORRES-RÊGO, M.; LIMA, M. C.; BITENCOURT, M. A.; ESTRELA, A. B.; DA SILVA, N. S.; ZUCOLOTTI, S. M. Aqueous extract from *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) leaves and its phenolic compounds have anti-

inflammatory activity in murine models of edema, peritonitis and air-pouch inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 192, n. 1872-7573 (Electronic), p. 225-235, 2016

GANESH, I.; GUPTA, A. K.; KUMAR, P. P.; SEKHAR, P. S. C.; RADHA, K.; PADMANABHAM, G.; SUNDARAJAN, G. Preparation and Characterization of Ni-Doped TiO<sub>2</sub> Materials for Photocurrent and Photocatalytic Applications. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1-16, 2012.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 2, p. 229-235, 2008.

GRÄTZEL, M. Photoelectrochemical cells. **Nature**, v. 414, n. 6861, p. 338-344, 2001.

GUERRA, R. Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. **Chemosphere**, v. 44, n. 8, p. 1737-1747, 2001.

HAMADANIAN, M.; REISI-VANANI, A.; MAJEDI, A. Preparation and characterization of S-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles, effect of calcination temperature and evaluation of photocatalytic activity. **Materials Chemistry and Physics**, v. 116, n. 2, p. 376-382, 2009.

HAN, D.-M.; JIANG, L. Y.; TANG, W. Y.; JIA, W. P.; ZHOU, Q. Z.; CHEN, J. L. A highly selective photoelectrochemical sensor based on click chemistry for copper (II) determination. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 778, p. 148-151, 2016.

HANRAHAN, G.; PATIL, D. G.; WANG, J. Electrochemical sensors for environmental monitoring: Design, development and applications. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 6, n. 8, p. 657-664, 2004.

HEYDARI-BAFROOEI, E.; AMINI, M.; ARDAKANI, M. H. An electrochemical aptasensor based on TiO<sub>2</sub>/MWCNT and a novel synthesized Schiff base nanocomposite for the ultrasensitive detection of thrombin. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 85, p. 828-836, 2016.

JAAFAR, S. N. H.; MINGGU, L. J.; ARIFIN, K.; KASSIM, M.B; WAN, W. R. D. Natural dyes as TiO<sub>2</sub> sensitizers with membranes for photoelectrochemical water splitting: An overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 78, p. 698-709, 2017.

JAYAWEERA, P. M.; RAJAPAKSHA, R. M. S. P.; TENNAKONE, K. TiO<sub>2</sub> nanoporous photoelectrochemical cells (PECs) sensitized with mixed cationic/anionic dye systems: Role of the second cationic fluorescent dye on the photocurrent enhancement. **Chemical Physics Letters**, v. 412, n. 1, p. 29-34, 2005.

KADOMA, Y.; ITO, S.; ATSUMI, T.; FUJISAWA, S. Mechanisms of cytotoxicity of 2- or 2,6-di-tert-butylphenols and 2-methoxyphenols in terms of inhibition rate constant and a theoretical parameter. **Chemosphere**, v. 74, n. 5, p. 626-632, 2009.

KEMPAHANUMAKKAGARI, S.; DEEP, A.; KIM, K. H.; KAILASA, S. K.; YOON, H. O. Nanomaterial-based electrochemical sensors for arsenic - A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 95, p. 106-116, 2017.

LAGUTSCHENKOV, A.; DOPFER, O. Infrared spectrum of a protonated fluorescence dye: Acridine orange. **Journal of Molecular Spectroscopy**, v. 268, n. 1, p. 66-77, 2011.

LI, F.; ZHANG, X.; ZHENG, S.; LU, K.; ZHAO, G.; MING, J. The composition, antioxidant and antiproliferative capacities of phenolic compounds extracted from tartary buckwheat bran [*Fagopyrum tartaricum* (L.) Gaerth]. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 145-155, 2016.

LI, J.; WU, N. Semiconductor-based photocatalysts and photoelectrochemical cells for solar fuel generation: a review. **Catalysis Science & Technology**, v. 5, n. 3, p. 1360-1384, 2015.

LI, S.; WANG, Y.; GAO, C.; GE, S.; YU, J.; YAN, M. "Signal-off" photoelectrochemical DNA sensing strategy based on target dependent DNA probe conformational conversion using CdS quantum dots sensitized TiO<sub>2</sub> nanorods array as photoactive material. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 759, p. 38-45, 2015.

LI, X.; YANG, Q.; HUA, H.; CHEN, L.; HE, X.; HU, C.; XI, Y. CdS/CdSe core/shell nanowall arrays for high sensitive photoelectrochemical sensors. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 630, p. 94-99, 2015.

LIANG, N.; KITTS, D. D. Role of Chlorogenic Acids in Controlling Oxidative and Inflammatory Stress Conditions. **Nutrients**, v. 8, n. 1, p. 16, 2015.

LIANG, N.; LU, X.; HU, Y.; KITTS, D. D. Application of Attenuated Total Reflectance–Fourier Transformed Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy to Determine the Chlorogenic Acid Isomer Profile and Antioxidant Capacity of Coffee Beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 681-689, 2016.

LISDAT, F.; SCHÄFER, D.; KAPP, A. Quantum dots on electrodes–New tools for bioelectroanalysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 11, p. 3739-3752, 2013.

LIU, J.; PU, H.; LIU, S.; KAN, J.; JIN, C. Synthesis, characterization, bioactivity and potential application of phenolic acid grafted chitosan: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 999-1017, 2017.

LIU, J.; ZANG, L.; WANG, Y.; LIU, G. Preparation of acridine orange-doped silica nanoparticles for pH measurement. **Journal of Luminescence**, v. 147, p. 155-158, 2014.

LIU, Y.; WANG, R.; ZHU, Y.; LI, R.; ZHANG, J. Photoelectrochemical sensing of catechol based on CdS-DNA-pristine graphene nanocomposite film. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 210, p. 355-361, 2015.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, India, v. 4, n. 8, p. 118-126, 2010.

MA, X.; YANG, H.; XIONG, H.; LI, X.; GAO, J.; GAO, Y. Electrochemical Behavior and Determination of Chlorogenic Acid Based on Multi-Walled Carbon Nanotubes Modified Screen-Printed Electrode. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 16, n. 11, p. 1797, 2016.

MASSAGLIA, G.; QUAGLIO, M. Semiconducting nanofibers in photoelectrochemistry. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 73, p. 13-21, 2017.

MEINHART, A. D.; DAMIN, F. M.; CALDEIRÃO, L.; DA SILVEIRA, T. F. F.; TEXEIRA FILHO, J.; GODOY, H. T. Chlorogenic acid isomer contents in 100 plants commercialized in Brazil. **Food Research International**, v. 99, p. 522-530, 2017

MOAKHAR, R. S.; GOH, G. K. L.; DOLATI, A.; GHORBANI, M. Sunlight-driven photoelectrochemical sensor for direct determination of hexavalent chromium based on Au decorated rutile TiO<sub>2</sub> nanorods. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 201, p. 411-418, 2017.

MOHAMMADI, N.; NAJAFI, M.; ADEH, N. B. Highly defective mesoporous carbon – ionic liquid paste electrode as sensitive voltammetric sensor for determination of chlorogenic acid in herbal extracts. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 243, p. 838-846, 2017.

MONTEIRO, T. O.; TANAKA, A. A.; DAMOS, F. S.; LUZ, R. D. C. S. Photoelectrochemical determination of tert-butylhydroquinone in edible oil samples employing CdSe/ZnS quantum dots and LiTCNE. **Food Chemistry**, v. 227, p. 16-21, 2017.

NAMAZIAN, M.; ZARE, H. R. Electrochemistry of chlorogenic acid: experimental and theoretical studies. **Electrochimica Acta**, v. 50, n. 22, p. 4350-4355, 2005.

NGUYEN, O.; KRINS, N.; LABERTY-ROBERT, C. Harvesting light with semiconductor: Role of interface in the processes of charge transfer. **Materials Science in Semiconductor Processing**, v. 73, p. 2-12, 2017.

OROIAN, M.; ESCRICHE, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, 2015.

OZYURT, D.; DEMIRATA, B.; APAK, R. Determination of total antioxidant capacity by a new spectrophotometric method based on Ce(IV) reducing capacity measurement. **Talanta**, v. 71, n. 3, p. 1155-1165, 2007.

PARK, S.-Y.; KIM, M. G.; JUNG, J.; HEO, J.; HONG, E. M.; CHOI, S. M.; LIM, D. C. Stable organic-inorganic hybrid multilayered photoelectrochemical cells. **Journal of Power Sources**, v. 341, p. 411-418, 2017.

PASSALACQUA, R.; PERATHONER, S.; CENTI, G. Semiconductor, molecular and hybrid systems for photoelectrochemical solar fuel production. **Journal of Energy Chemistry**, v. 26, n. 2, p. 219-240, 2017.

PELEGRINI, R.; PERALTA-ZAMORA, P.; DE ANDRADE, A. R.; REYES, J. DURAN, N. Electrochemically assisted photocatalytic degradation of reactive dyes. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 22, n. 2, p. 83-90, 1999

PENG, D.; LI, X.; ZHANG, L.; GONG, J. Novel visible-light-responsive photoelectrochemical sensor of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid using molecularly imprinted polymer/BiOI nanoflake arrays. **Electrochemistry Communications**, v. 47, p. 9-12, 2014.

PEREIRA, M. D.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B. Phenolics: From Chemistry to Biology. **Molecules**, v. 14, n. 6, p. 2202-2211, 2009.

PHAM-HUY, L. A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. **International Journal of Biomedical Science : IJBS**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PIAZZON, A.; VRHOVSEK, U.; MASUERO, D.; MATTIVI, F.; MANDOJ, F.; NARDINI, M. Antioxidant Activity of Phenolic Acids and Their Metabolites: Synthesis and Antioxidant Properties of the Sulfate Derivatives of Ferulic and Caffeic Acids and of the Acyl Glucuronide of Ferulic Acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 50, p. 12312-12323, 2012.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 1, p. 1-11, 2007.

QIU, X. Determination of trace chlorogenic acid using chemiluminescence in human serum and Flos Lonicerae. In: **Remote Sensing, Environment and Transportation Engineering (RSETE), 2011 International Conference on**. IEEE, 2011. p. 8193-8196.

QUAN, X.; CHEN, S.; SU, J.; CHEN, J.; CHEN, G. Synergetic degradation of 2,4-D by integrated photo- and electrochemical catalysis on a Pt doped TiO<sub>2</sub>/Ti electrode. **Separation and Purification Technology**, v. 34, n. 1, p. 73-79, 2004.

RAGAVAN, K. V.; RASTOGI, N. K.; THAKUR, M. S. Sensors and biosensors for analysis of bisphenol-A. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 52, p. 248-260, 2013.

RAHMAN, K. Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. **Clinical Interventions in Aging**, v. 2, n. 2, p. 219-236, 2007.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RASSAEI, L.; MARKEN, F.; SILLANPÄÄ, M.; AMIRI, M.; CIRTU, C. M.; SILLANPÄÄ, M. Nanoparticles in electrochemical sensors for environmental monitoring. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 11, p. 1704-1715, 2011.

RAWEL, H. M.; ROHN, S. Nature of hydroxycinnamate-protein interactions. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, n. 1, p. 93-109, 2010.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996.

RODRÍGUEZ, H.; CURIEL, J. A.; LANDETE, J. M.; DE LAS RIVAS, B.; DE FELIPE, F. L.; GÓMEZ-CORDOVES, C.; MUÑOZ, R. Food phenolics and lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 132, n. 2, p. 79-90, 2009.

SCHROETER, H.; BOYD, C.; SPENCER, J. P.; WILLIAMS, R. J.; CADENAS, E.; RICE-EVANS, C. MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide. **Neurobiology of Aging**, v. 23, n. 5, p. 861-880, 2002.

SEFKOW, M. First Efficient Synthesis of Chlorogenic Acid. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2001, n. 6, p. 1137-1141, 2001.

ŠERUGA, M.; TOMAC, I. Electrochemical behaviour of some chlorogenic acids and their characterization in coffee by square-wave voltammetry. **International journal of electrochemical science**, v. 9, n. 11, p. 6134-6154, 2014.

SHARMA, A. S.; ILANCHELIAN, M. Elucidation of photophysical changes and orientation of acridine orange dye on the surface of borate capped gold nanoparticles using multi-spectroscopic techniques. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 13, n. 12, p. 1741-1752, 2014.

SHAH, M. A.; BOSCO, S. J. D.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 21-33, 2014.

SHEN, Q.; HAN, L.; FAN, G.; ABDEL-HALIM, E. S.; JIANG, L.; ZHU, J. J. Highly sensitive photoelectrochemical assay for DNA methyltransferase activity and inhibitor screening by exciton energy transfer coupled with enzyme cleavage biosensing strategy. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 64, p. 449-455, 2015.

SHEN, Q.; SHI, X.; FAN, M.; HAN, L.; WANG, L.; FAN, Q. Highly sensitive photoelectrochemical cysteine sensor based on reduced graphene oxide/CdS:Mn nanocomposites. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 759, p. 61-66, 2015.

SHI, H.; ZHAO, G.; LIU, M.; ZHU, Z. A novel photoelectrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer modified TiO<sub>2</sub> nanotubes and its highly selective detection of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. **Electrochemistry Communications**, v. 13, n. 12, p. 1404-1407, 2011.

SHI, H.; ZHAO, J.; WANG, Y.; ZHAO, G. A highly selective and picomolar level photoelectrochemical sensor for PCB 101 detection in environmental water samples. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 81, p. 503-509, 2016.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, v.15, n. 1, p. 71-81, 2002.

TAUCHERT, E.; PERALTA-ZAMORA, P. Avaliação de processos fotoeletroquímicos no tratamento de líquidos lixiviados de aterros sanitários. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 197-2001, 2004.

TOMAC, I.; ŠERUGA, M. Electrochemical properties of chlorogenic acids and determination of their content in coffee using differential pulse voltammetry. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 11, n. 4, p. 2854-2876, 2016.

TOMAC, I.; ŠERUGA, M.; BEINROHR, E. Characterization of Chlorogenic Acids in Coffee by Flow-Through Chronopotentiometry. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 12, p. 3924-3933, 2017.

UPADHYAY, R.; RAO, L. An outlook on chlorogenic acids—occurrence, chemistry, technology, and biological activities. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 53, n. 9, p. 968-984, 2013.

VASILESCU, I.; EREMIA, S. A.; PENU, R.; ALBU, C.; RADOI, A.; LITESCU, S. C.; RADU, G. L. Disposable dual sensor array for simultaneous determination of chlorogenic acid and caffeine from coffee. **RSC Advances**, v. 5, n. 1, p. 261-268, 2015.

WALDNER, G.; POURMODJIB, M.; BAUER, R.; NEUMANN-SPALLART, M. Photoelectrocatalytic degradation of 4-chlorophenol and oxalic acid on titanium dioxide electrodes. **Chemosphere**, v. 50, n. 8, p. 989-998, 2003.

WANG, G.; XU, J.; CHEN, H. Progress in the studies of photoelectrochemical sensors. **Science in China Series B: Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 1789-1800, 2009.

WANG, G.-L.; JIAO, H. J.; LIU, K. L.; WU, X. M.; DONG, Y. M.; LI, Z. J.; ZHANG, C. A novel strategy for the construction of photoelectrochemical sensors based on quantum dots and electron acceptor: The case of dopamine detection. **Electrochemistry Communications**, v. 41, p. 47-50, 2014.

WANG, G.-L.; LIU, K.-L.; DONG, Y. M.; WU, X. M.; LI, Z. J.; ZHANG, C. A new approach to light up the application of semiconductor nanomaterials for photoelectrochemical biosensors: Using self-operating photocathode as a highly selective enzyme sensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 62, p. 66-72, 2014.

WANG, G.-L.; LIU, K.-L.; SHU, J. X.; GU, T. T.; WU, X. M.; DONG, Y. M.; LI, Z. J. A novel photoelectrochemical sensor based on photocathode of PbS quantum dots utilizing catalase mimetics of bio-bar-coded platinum nanoparticles/G-quadruplex/hemin for signal amplification. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 69, p. 106-112, 2015.

WANG, J. **Electrochemical sensors for environmental monitoring: a review of recent technology**. US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Environmental Monitoring and Support Laboratory, 1995.

WANG, L.; MA, W.; GAN, S.; HAN, D.; ZHANG, Q.; NIU, L. Engineered Photoelectrochemical Platform for Rational Global Antioxidant Capacity Evaluation Based on Ultrasensitive Sulfonated Graphene–TiO<sub>2</sub> Nanohybrid. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 20, p. 10171-10178, 2014.

WANG, X.; WANG, J.; YANG, N. Chemiluminescent determination of chlorogenic acid in fruits. **Food Chemistry**, v. 102, n. 1, p. 422-426, 2007.

WANG, Y.; GAO, C.; GE, S.; ZHANG, L.; YU, J.; YAN, M. Self-powered sensing platform equipped with Prussian blue electrochromic display driven by photoelectrochemical cell. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 89, p. 728-734, 2017.

WU, S.; HUANG, H.; SHANG, M.; DU, C.; WU, Y.; SONG, W. High visible light sensitive MoS<sub>2</sub> ultrathin nanosheets for photoelectrochemical biosensing. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 92, p. 646-653, 2017.

YAN, K.; WANG, R.; ZHANG, J. A photoelectrochemical biosensor for o-aminophenol based on assembling of CdSe and DNA on TiO<sub>2</sub> film electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 53, p. 301-304, 2014.

YAN, K.; ZHU, Y.; CHENG, L.; ZHANG, J. Visible Light-driven Photoelectrochemical Determination of *p*-Nitrophenol Based on CdSe Quantum Dots and DNA Composite Film Modified Electrode. **Analytical Sciences**, v. 31, n. 7, p. 669-675, 2015.

YANG, C.; DENNO, M. E.; PYAKUREL, P.; VENTON, B. J. Recent trends in carbon nanomaterial-based electrochemical sensors for biomolecules: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 887, p. 17-37, 2015.

YARDIM, Y.; KESKIN, E.; ŞENTÜRK, Z. Voltammetric determination of mixtures of caffeine and chlorogenic acid in beverage samples using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 116, p. 1010-1017, 2013.

ZANONI, M. V. B.; BORGES, A. S.; BENEDETTI, A. V.; YAMANAKA, H.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; BESSEGATO, G. G.; ANDRADE, A. R. D. Overview of the electrochemistry and electroanalytical chemistry in Brazil. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 663-669, 2017.

ZEJLI, H.; DE CISNEROS, J. H. H.; NARANJO-RODRIGUEZ, I.; LIU, B.; TEMSAMANI, K. R.; MARTY, J. L. Phenol biosensor based on Sonogel-Carbon transducer with tyrosinase alumina sol–gel immobilization. **Analytica Chimica Acta**, v. 612, n. 2, p. 198-203, 2008.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33-42, 2016.

ZHANG, J.-Y.; ZHANG, Q.; LI, N.; WANG, Z. J.; LU, J. Q.; QIAO, Y. J. Diagnostic fragment-ion-based and extension strategy coupled to DFIs intensity analysis for identification of chlorogenic acids isomers in Flos Lonicerae Japonicae by HPLC-ESI-MS<sup>n</sup>. **Talanta**, v. 104, p. 1-9, 2013.

ZHANG, X.; LI, S.; JIN, S.; ZHANG, S. A new photoelectrochemical aptasensor for the detection of thrombin based on functionalized graphene and CdSe nanoparticles multilayers. **Chemical Communications**, v. 47, n. 17, p. 4929-4931, 2011.

ZHANG, Z.-X.; ZHAO, C.-Z. Progress of Photoelectrochemical Analysis and Sensors. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 436-444, 2013.

ZHAO, W.-W.; XIONG, M.; LI, X. R.; XU, J. J.; CHEN, H. Y. Photoelectrochemical bioanalysis: A mini review. **Electrochemistry Communications**, v. 38, p. 40-43, 2014.

ZHOU, S.; KONG, Y.; SHEN, Q.; REN, X.; ZHANG, J. R.; ZHU, J. J. Chronic Myeloid Leukemia Drug Evaluation Using a Multisignal Amplified Photoelectrochemical Sensing Platform. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 23, p. 11680-11689, 2014.

ZHU, Y.; YAN, K.; XU, Z.; ZHANG, J. Hemin Modified TiO<sub>2</sub> Nanoparticles with Enhanced Photoelectrocatalytic Activity for Electrochemical and Photoelectrochemical Sensing. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 163, n. 9, p. B526-B532, 2016.