



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – CCET
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – PPGQuim



CHARBEL NAGIB MOUCHREK

**Sensor eletroquímico à base de *carbon black super-P* e
ftalocianina de cobalto para detecção de L-cisteína**

**São Luís – MA
2023**

CHARBEL NAGIB MOUCHREK

**Sensor eletroquímico à base de *carbon black super-P* e
ftalocianina de cobalto para detecção de L-cisteína**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal do Maranhão para
obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Iranaldo Santos da
Silva

**São Luís – MA
2023**

CHARBEL NAGIB MOUCHREK

**Sensor eletroquímico à base de *carbon black super-P* e ftalocianina de cobalto para
detecção de L-cisteína**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade
Federal do Maranhão para obtenção do título
de Mestre em Química.

Aprovada em: 15/09/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Iranaldo Santos da Silva (Orientador-UFMA)

Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka (UFMA)

Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Dr. Gabriel Negrão Meloni (USP)

Universidade de São Paulo –USP

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

Mouchrek, Charbel.

Sensor eletroquímico à base de carbon black super-P e ftalocianina de cobalto para detecção de L-cisteína / Charbel Mouchrek. - 2023.

60 p.

Orientador(a): Iranaldo Silva.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, Google Meet, 2023.

1. Amperometria. 2. Análise por injeção em batelada.
3. Sensor eletroquímico. I. Silva, Iranaldo. II. Título.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos vão primeiramente a Deus por me proporcionar a oportunidade de crescer moralmente e racionalmente a cada dia.

Aos meus pais Nagib Elias Mouchrek Filho e Iracema Santos Mouchrek por estarem ao meu lado me amando, apoiando e me educando.

A meu padrinho José Varão Monteiro Filho e à minha tia Sâmia Maria Mouchrek Monteiro, por todo apoio, amor, carinho e ensinamentos.

A meu irmão Nagib Elias Mouchrek Neto, por também me apoiar e estar comigo me ajudando com seu companheirismo desde criança.

A à minha namorada Rayse Ferreira, por me apoiar, sempre ajudando quando precisei, por todo carinho e amorosidade.

Ao Prof. Dr. Iranaldo Santos da Silva, pelo papel de orientador durante toda essa trajetória acadêmica.

Ao grupo de Eletroquímica (LELQ) e ao Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NUPE), tanto aos professores quanto colegas que sempre me ajudaram e passaram seus conhecimentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) BM-00792/22, pelo suporte financeiro ao projeto vinculado a este trabalho.

À UFMA e ao programa de pós-graduação em Química (PPGQUIM) pela oportunidade da realização desse mestrado e suporte durante toda essa trajetória acadêmica.

RESUMO

Neste trabalho, foi produzido um novo material compósito usando *carbon black super-P* e ftalocianina de cobalto (CoPc/CBSP). A formação do material compósito foi confirmada por técnicas espectroscópicas (Raman e infravermelho), microscopia eletrônica de varredura e difração de raios X. Esse material foi depositado na superfície do eletrodo de carbono vítreo e suas propriedades de detecção eletroquímica foram verificadas usando a cisteína (CYS), um aminoácido importante e amplamente utilizado na medicina, em aditivos alimentares e cosméticos, como molécula modelo. Estudos por voltametria cíclica revelaram que o eletrodo modificado apresentou propriedades electrocatalíticas consideráveis (detecção em potencial próximo a 0 V) e um aumento na corrente de pico (12 vezes maior) em relação ao eletrodo não modificado. Quando acoplado ao sistema de análise por injeção em batelada (BIA) com detecção amperométrica, obteve-se ampla faixa linear (1 – 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e LD na faixa de submicromolar (LOD = 0,133 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Testes de repetibilidade (n = 20) em dois níveis de concentração (20 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$) confirmaram a precisão do método (RSD < 11%). Para avaliar a reprodutibilidade no preparo do sensor, quatro eletrodos diferentes foram testados contra uma solução de concentração 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e produziram um erro de 13,5%. O método proposto foi aplicado para a determinação de CYS em amostras farmacêuticas, e a exatidão do método foi avaliada tanto por testes de adição/recuperação (valores entre 89 e 110%), e comparando os resultados pelo método proposto com os obtidos por eletroforese capilar.

Palavras-chave: Análise por injeção em batelada, sensor eletroquímico, amperometria.

ABSTRACT

In this work, was produced a novel composite material using carbon black and cobalt phthalocyanine (CoPc/CBSP). Characterizations by spectroscopic techniques (Raman and infrared), scanning electron microscopy, and X-ray diffraction confirmed the formation of the composite material. This material was anchored on the glassy carbon electrode surface, and its electrochemical sensing properties was checked using cysteine (CYS), an important amino widely used in medicine, food additives, and cosmetics, as a model molecule. Preliminary studies by cyclic voltammetry revealed that the modified electrode caused considerable electrocatalytic effects (detection at potential close to 0 V) and an increase in peak current (12-fold) compared to the unmodified electrode. When coupled to the BIA analysis system with amperometric detection, a wide linear range (1 – 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and adequate detectability (LOD = 0.133 $\mu\text{mol L}^{-1}$) were achieved. Repeatability tests ($n = 20$) at two concentration levels (20 and 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$) confirmed the precision of the method (RSD < 11%). To evaluate the reproducibility of sensor preparation, four different electrodes were tested against a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ concentration solution and produced an error of 13.5%. The proposed method was applied for the determination of CYS in pharmaceutical samples, where addition/recovery studies (values between 89 and 110%), as well as results statistically similar to those achieved by capillary electrophoresis, indicated the accuracy and reliability of the electrochemical analyses.

Keywords: Batch injection analysis, electrochemical sensor, amperometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural da L-Cisteína.....	16
Figura 2: Estrutura da metalofotalocianina, onde M representa o metal.	19
Figura 3: Estrutura da ftalocianina de cobalto.	20
Figura 4: Gráfico de Nyquist.	24
Figura 5: Figura representativa do circuito de Randles equivalente ao gráfico de Nyquist.....	24
Figura 6: a) experimento chronoamperométrico onde é descrito a escada de potencial, b) mudança nos perfis de concentração à medida que o tempo avança e c) a plotagem gráfica da resposta corrente \times tempo(WANG, 2023).	25
Figura 7: Etapas de como um sistema BIA detecta um analito pela técnica amperométrica. Fonte: adaptado de (QUINTINO; ANGNES, 2004).	26
Figura 8: Imagem da célula eletroquímica: 1) Eletrodo de trabalho CV; 2) Eletrodo de referência (Ag/AgCl, KCl 3M); 3) Eletrodo auxiliar de platina. Fonte: Autor, 2023.	29
Figura 9: Imagem da célula BIA: 1) Eletrodo de trabalho CV; 2) Eletrodo de referência (Ag AgCl, KCl 3 M); 3) Eletrodo auxiliar de platina 4) Micropipeta automática. Fonte: Autor, 2023.	30
Figura 10: Representação esquemática da síntese do composto CoPc/CBSP.	32
Figura 11: Representação esquemática do preparo da suspensão do modificante e a modificação do eletrodo de carbono vítreo.	32
Figura 12: (a) Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras (I- CBSP), (II- CoPc), (III- CoPc/CBSP). (b) Espectro Raman do CBSP e do CoPc/CBSP. (c) Imagem XDR de CBSP, CoPc e CoPc/CBSP. (d) FTIR de CBSP, CoPc e CoPc/CBSP.	36
Figura 13: (a) VCs registrados nos eletrodos CV e CoPc/CBSP/NAF/CV, na ausência de CYS usando NaOH 0,1 mol L ⁻¹ como eletrólito de suporte, numa taxa de varredura de 50 mV s ⁻¹ , onde α : Co(I)Pc/Co(II)Pc e β : Co(II)Pc/Co(I)Pc (b) CVs obtidos na presença de CYS 10 mmol L ⁻¹ nos eletrodos GC, NAF/CV, CBSP/NAF/CV, CoPc/NAF/CV, CoPc/CBSP/NAF/CV (1:2); (c) VCs registrados na presença de CYS 10 mmol L ⁻¹ no eletrodo CoPc/CBSP/NAF/GC em diferentes proporções CBSP:CoPc (1:2, 1:1, 2:1 e 4:1).....	39
Figura 14: a: Estudo do efeito do pH. (a) CVs obtidos na presença de CYS 5 mmol L ⁻¹ usando eletrodo CoPC/CBSP/NAF/CV. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,12 mol L ⁻¹ com diferentes valores de pH (2,69-preto, 3,59-vermelho, 4,08-azul, 5,12-rosa, 6,07-verde, 7,35-azul marinho, 8,35-roxo, 9,27-magenta, 10,08 -marrom, 11,1-amarelo e 12,3-cinza) e NaOH 0,1 mol L ⁻¹ (pH 13,0-ciano) a uma taxa de varredura de 50 mV s ⁻¹ ; (b) valores de potencial de pico (E; quadrados pretos) e corrente de pico (I; quadrados azuis) da oxidação de CYS versus pH, coeficiente de correlação linear(R ²) = 0,9879.	40
Figura 15: a: (a) VCs no eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV em 0,1 mol L ⁻¹ NaOH contendo 10 mmol L ⁻¹ CYS em diferentes taxas de varredura (da parte inferior: 30, 40, 50, 60, 80, 100 mV s ⁻¹). (b) o gráfico da densidade de corrente do pico de oxidação versus a raiz quadrada da taxa de varredura. (c) o gráfico apresentando a relação linear entre log Ip e v. (d) o gráfico apresentando a relação linear entre Ep e log v. Todos os dados para obtenção das relações lineares foram obtidos do gráfico a.....	41
Figura 16: (a)Gráfico de Nyquist para um comparativo das impedâncias e (b) Gráfico de Nyquist para um comparativo das impedâncias na região de alta frequência.....	43
Figura 17: a: voltamograma hidrodinâmico obtido com o sistema EGC-CBSP-CoPc-BIA pela técnica amperométrica com injeções de 62 μ mol L ⁻¹ de cisteína em eletrólito suporte de NaOH 0,1 mol L ⁻¹ ; b: avaliação do volume de injeção (25-200 μ L) no sistema BIA com detecção amperométrica em triplicata para detecção de 62 μ mol L ⁻¹ de cisteína; c: avaliação da velocidade de injeção da micropipeta (16,9 - 299 μ L s ⁻¹) com injeção de volume de 75 μ L no sistema BIA com detecção amperométrica triplicata para detecção de 62 μ mol L ⁻¹ de cisteína.	45

Figura 18: a: Avaliação da repetibilidade da injeção de 75 μL a uma taxa de injeção de 227 $\mu\text{L s}^{-1}$ no sistema BIA com detecção amperométrica para detecção de 10 e 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína, b: respectiva corrente da repetibilidade com o erro para o 10 e detecções de cisteína de 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$, c: avaliação da repetibilidade da modificação, a uma taxa de injeção de 227 $\mu\text{L s}^{-1}$ no sistema BIA com detecção amperométrica para detecção de 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína ($n = 10$ para cada modificação), d: avaliação respectiva de a repetibilidade da mudança com o erro total das 4 mudanças. 46

Figura 19: (a): Avaliação do efeito memória e curva de calibração (a)1, (b)5, (c)10 (d) 20, (e) 40, (f) 60, (g) 80, (h) 100, (i) 130, (j) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$, potencial aplicado 0,1 V vs Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}), volume de injeção 75 μL e taxa de injeção de 227 $\mu\text{L s}^{-1}$. O eletrólito suporte foi NaOH 0,1 mol L^{-1} . (b):Respectivas curvas de calibração (sensibilidade: 0,0564 e 0,0514 para injeções em ordem crescente e decrescente de concentração, respectivamente). 47

Figura 20: a: Estudo dos interferentes na concentração de 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína mais 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do interferente; A: Cisteína, B: Cisteína mais Glucose, C: Cisteína mais Uréia, D: Cisteína mais Lisina, E: Cisteína mais Ácido Úrico, F: Cisteína mais Ácido Ascórbico, b: respectiva porcentagem de sinal dos interferentes. 50

Figura 21: a: Amperograma para determinação de cisteína pelo sistema BIA em amostra de fármaco cisteína (A) e duas enriquecidas (AF1, AF2). Curva analítica (a) 1, (b) 5, (c) 10, (d) 40, (e) 80, (f) 100 e (g) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$. b: Amperograma para determinação de cisteína pelo sistema BIA em amostra de fármaco cisteína (B) e duas enriquecidas (BF1, BF2,). Curva analítica (a) 1, (b) 5, (c) 10, (d) 40, (e) 80 e (f) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ potencial aplicado 0,1V Vs Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}), injeção volume de 75 μL e taxa de injeção de 227 $\mu\text{L. s}^{-1}$. O eletrólito suporte foi NaOH 0,1 mol L^{-1} . c: respectiva curva analítica para as injeções triplicadas do gráfico a; d: respectiva curva analítica para as injeções triplicadas do gráfico b. 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Lista de produtos químicos utilizados para o desenvolvimento do trabalho.	28
Tabela 2: Parâmetros analíticos para a quantificação amperométrica BIA de CYS usando sensor CoPc/CBSP/NAF/GC.	47
Tabela 3: Comparação das características analíticas obtidas pelo método BIA e métodos eletroanalíticos anteriores para a determinação de CYS.	49
Tabela 4: Valores de concentração e porcentagens de recuperação obtidos para CYS em amostras de fármacos.	51
Tabela 5: Resultados comparativos obtidos usando o método proposto de BIA e EC para quantificar CYS em amostras de fármacos.	52

LISTA DE SIGLAS

Ag AgCl	Eletrodo de prata com cloreto de prata
EPt	Eletrodo de Platina
ECV	Eletrodo de Carbono Vítreo
CBSP	<i>Carbon Black Super-P</i>
CoPc	Ftalocianina de Cobalto
NAF	Náfion
CoPc/CBSP	Compósito sintetizado de Ftalocianina de Cobalto imobilizado em <i>Carbon Black</i>
CBSP/NAF	Eletrodo de carbono vítreo modificado com Náfion
CBSP/NAF/CV	Eletrodo de carbono vítreo modificado com Náfion e <i>Carbon Black</i>
CoPc/CBSP/NAF/CV	Eletrodo de carbono vítreo modificado com Náfion e o compósito de Ftalocianina de Cobalto com carbon black
CYS	Cisteína
Ep	Potencial de Pico
Ip	Corrente de Pico
BR	Britton-Robinson
μ A	Microampére
LOD	Limite de Detecção
LOQ	Limite de Quantificação
AMP	Amperometria
VC	Voltametria Cíclica
pH	Potencial de Hidrogênio
BIA	Análise por Injeção em Batelada
EC	Eletrforese Capilar

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1. Biotióis	16
2.1.1. Cisteína.....	16
2.2. Carbon Black	17
2.2.1. Carbon Black super-P.....	17
2.3. Sensor eletroquímico	18
2.4. Desenvolvimento de sensor à base de metalofalocianina	18
2.5. Técnicas de caracterizações físicas	20
2.5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	20
2.5.2. Espectroscopia Raman	21
2.5.3. Difração de raios X	21
2.5.4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier	22
2.6. Técnicas eletroquímicas	23
2.6.1. Voltametria cíclica	23
2.6.2. Espectroscopia de impedância eletroquímica.....	23
2.6.3. Chronoamperometria.....	25
2.6.3.1. Análise por Injeção em Batelada (BIA)	26
3. OBJETIVOS	27
3.1. Objetivo Geral	27
3.2. Objetivos Específicos	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1. Reagentes e soluções	28
4.2. Soluções aquosas e limpeza das vidrarias	28
4.3. Aparelhagem	28
4.4. Síntese do CoPc/CBSP	31
4.5. Preparo do eletrodo e modificação	32
4.6. Análise de amostras	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. Caracterizações físico-químicas do CoPc/CBSP	33
5.2. Voltametria Cíclica	36
5.2.1. Comportamento voltamétrico do CoPc no eletrodo CoPc/CBSP.....	36
5.2.2. Oxidação eletrocatalítica de cisteína.	37

5.2.3.	Estudos de pH e velocidade de varredura.	39
5.3.	Espectroscopia de Impedância eletroquímica	42
5.4.	Otimização e aplicação real da metodologia pela técnica amperométrica utilizando o sistema BIA.	43
5.4.1.	Performance analítica do sensor para CYS	43
5.4.2.	Estudo de repetibilidade de injeção e reprodutibilidade de modificação.	45
5.4.3.	Curva analítica e comparação com outros métodos	46
5.4.4.	Seletividade do sensor.....	50
5.4.5.	Aplicação do sensor em amostra real.....	50
6.	CONCLUSÃO	52
7.	REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

Biotióis são compostos bioativos organosulfurados caracterizados pela presença do grupo funcional tiol (-SH) e podem ser classificados como de baixo e alto peso molecular. Dentre os biotióis de baixo peso molecular, a cisteína está presente na maioria das proteínas e desempenha um papel essencial no sistema biológico, servindo também, como um indicador significativo ao risco de doenças (YUAN; WANG; CAI; PENG *et al.*, 2019). Entretanto, têm despertado o interesse de muitos pesquisadores por estarem associados a muitos distúrbios à saúde humana. Níveis elevados desse biotiol no corpo humano podem causar vários danos à saúde, tais como câncer, hipoglicemia, danos cerebrais e hepáticos, retardação embrionária, lesões cutâneas e toxinas (MIEYAL; SRINIVASAN; STARKE; GRAVINA *et al.*, 1995) (MASELLA; MAZZA, 2009). Por essa razão, o desenvolvimento de metodologias rápidas e sensíveis para o monitoramento de biotióis tem atraído atenção da comunidade científica, onde métodos eletroquímicos simplificados e de baixo custo tem sido divulgados como uma proposta promissora para sua detecção na literatura.

Entre as metodologias mais promissoras estudadas para o desenvolvimento de sensores para detecção de biotióis destaca-se a amperometria que interligado ao método de automação de Análise por Injeção em Batelada (BIA) promove rápidas análises, com baixo consumo de amostras e de reagentes e fácil manuseio. O sistema BIA com detecção amperométrica (BIA-AMP) é comumente empregado em análises de fármacos como uma ferramenta analítica de quantificação, destacando-se por sua rapidez, elevada sensibilidade e baixo limite de detecção (DE JESUS GUEDES; PIO DOS SANTOS, 2018). Além disso, os sistemas BIA-AMP são portáteis, exigindo apenas uma célula BIA, uma micropipeta eletrônica e um minipotenciostato, fornecem análises rápidas (cerca de 150 análises por hora) e combinados com eletrodos modificados promovem recursos de detecção aprimorados (ROCHA; CARDOSO; TORMIN; DE ARAUJO *et al.*, 2018).

O uso de eletrodos modificados para determinação de biotióis é um campo crescente de pesquisa. Dentre os recentes materiais promissores para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos, pode-se ressaltar o *carbon black super-P*(CBSP)(VELOSO; ALMEIDA; RIBEIRO; DE ASSIS *et al.*, 2022). Além disso, a modificação com ftalocianina cobalto tem recebido muita atenção por ser um atrativo eletrocatalisador, devido a sua estabilidade química, ser economicamente viável, boa ancoragem e interação

eletrostática (MAZZARACCHIO; TOMEI; CACCIOTTI; CHIODONI *et al.*, 2019; SORNAMBIKAI; KADIR; KUMAR; PONPANDIAN *et al.*, 2017; YUAN; WANG; CAI; PENG *et al.*, 2019) O compósito formado por *carbon black* e ftalocianina de cobalto fornece a atividade eletrocatalítica para a oxidação de diversas espécies, como pesticidas organofosforados (CINTI; NEAGU; CARBONE; CACCIOTTI *et al.*, 2016). No entanto, até onde se sabe, a oxidação eletroquímica de biotióis não foi explorada usando este compósito.

Assim, no presente trabalho, um eletrodo de carbono vítreo foi modificado com compósito CoPc/CBSP criando uma nova plataforma catalisadora à base de nanocarbonos. Como prova de conceito, o material proposto foi utilizado na quantificação eletroquímica da biomolécula CYS em amostras farmacêuticas utilizando BIA com técnica amperométrica. As amostras também foram analisadas por eletroforese capilar para verificar a precisão do método eletroquímico proposto.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Biotióis

Os biotióis são biomoléculas que apresentam o grupo funcional sulfidrílica(-SH), os quais estão envolvidos em processos biológicos antioxidantes principalmente, fornecendo proteção, manutenção das células, regulando o sistema imunológico e inibindo o dano lipídico causado pela oxidação e reciclagem das vitaminas *E* e *C* (KAUR; CHOPRA; SINGH; RAJ *et al.*, 2018). Os biotióis podem ser obtidos através da ingestão de alimentos, tais como: ovo, carnes e peixes sendo classificado como processo não enzimático, bem como serem produzidos pelo organismo animal sendo classificado como processo enzimático. Os biotióis em níveis descontrolados no corpo humano resultam em vários problemas à saúde humana (ZHANG; WANG; JI; TAO *et al.*, 2020). Essas moléculas podem ser classificadas como de alto e baixo peso molecular, onde destaca-se a cisteína.

2.1.1. Cisteína

A cisteína é um aminoácido nutricionalmente classificado como semi essencial ou condicionalmente essencial. Obtida pela ingestão de alimentos é encontrada principalmente pela forma da L-cisteína (figura 1) que é rapidamente oxidada a L-cistina em condições de normoxia (níveis normais de oxigênio). Dentro das células, a cisteína é encontrada na sua forma reduzida pelas condições internas da célula. Extracelular, o desequilíbrio L-cisteína/L-cistina é um indicador significativo ao risco de doenças (YIN; REN; YANG; DUAN *et al.*, 2016).

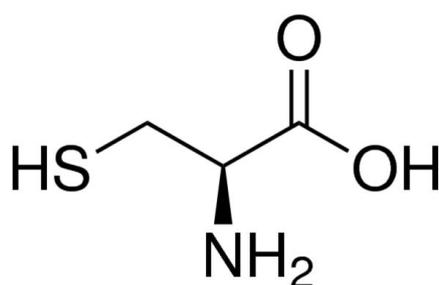


Figura 1: Fórmula estrutural da L-Cisteína

Níveis elevados de cisteína no corpo humano estão relacionados a dano hepático, lesões cutâneas, descolorimento capilar, crescimento retardado e câncer (KAUR; CHOPRA; SINGH; RAJ *et al.*, 2018), assim como, a deficiência de cisteína

levaria a muitas doenças como: diminuição da hematopoiese, perda de leucócitos e psoríase (HAN; YUAN; WANG, 2009).

2.2. Carbon Black

O *carbon black* ou negro de fumo é um produto carbonáceo (basicamente composto por carbono elementar), oriundo da indústria manufatureira e é comercializado por mais de um século (LONG; NASCARELLA; VALBERG, 2013). Suas aplicações são bem corriqueiras no dia a dia, presente na composição dos pneus automotivos com a finalidade de reforçá-los, em plásticos, tintas, pinturas e revestimentos (RIGBI, 2005). Atualmente existem seis tipos de *carbon black* que são produzidos a nível mundial: *acetylene black*, *channel black*, *furnace black*, *gas black*, *lamp black* and *thermal black* (KHODABAKHSHI; FULVIO; ANDREOLI, 2020). O negro de fumo pode ser obtido através da combustão parcial de hidrocarbonetos pesados. Dentre os negros de fumo pode-se destacar o negro térmico, o negro de forno e o negro de canal pelo qual recebem esses nomes devido o processo de produção.

2.2.1. Carbon Black super-P

O negro de fumo de forno ou fornalha (*furnace black* → *carbon black super-P*) atualmente é o mais usado nas aplicações do dia a dia, estando presente até na composição de baterias (CHO; CHOI; KIM; RYOU *et al.*, 2015; GNANAMUTHU; LEE, 2011). Entretanto, para se produzir 1 tonelada de negro de fumo gera-se como subproduto, 2,4 toneladas de dióxido de carbono (FAN; FOWLER; ZHAO, 2020).

Os materiais carbonáceos nanoestruturados, apresentam características singulares, como alta área superficial e eletrocatalise. Desse modo, como o negro de fumo é formado por carbono elementar dispostos em partículas finas, possuindo aspecto amorfo e de estrutura quase gráfica, o tamanho médio das suas partículas é de cerca de 40 nm. Quando submetidos a temperatura de 700°C podem apresentar um aumento de carbonos conjugados com hibridização sp^2 fazendo que haja um aumento progressivo na condutividade elétrica desse material, sendo que esse fator pode estar associado a elétrons com ligações π deslocalizados, criando assim um ambiente para imobilizar moléculas orgânicas (CHO; CHOI; KIM; RYOU *et al.*, 2015; FAN; FOWLER; ZHAO, 2020; SILVA; MORAES; JANEGITZ; FATIBELLO-FILHO, 2017).

2.3. Sensor eletroquímico

Sensor é um dispositivo que responde a algum impulso físico-químico transformando em um sinal mensurável. Etimologicamente, a palavra sensor vem do latim *sentire* que significa sentir (SIMÕES; XAVIER, 2017). Os sensores eletroquímicos estão englobados no grupo de sensores, que por sua vez utilizam eletrodos nos quais são responsáveis por interagirem com substâncias ou moléculas de propriedades eletrônicas intrínsecas do sistema a ser investigadas (GUTH; VONAU; ZOSEL, 2009).

As medidas eletroquímicas amperométricas produzem como resultado, uma corrente que pode ser decomposta em duas: a faradaica e a corrente capacitiva decorrente da mudança da carga da dupla camada elétrica durante variações de potenciais (GUAN; YU; CHEN, 2016), desse modo, técnicas eletroanalíticas que minimizam a corrente capacitiva são as mais recomendadas em aplicação de um sensor eletroquímico (SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Os sensores eletroquímicos aproveitam as propriedades elétricas inerentes das reações químicas para detectar e quantificar analitos específicos, tornando-os componentes versáteis dos sistemas de detecção modernos dessa forma a química eletroanalítica concentra-se no desenvolvimento e utilização de técnicas eletroquímicas para analisar e quantificar espécies químicas. Dentre as técnicas eletroquímicas temos a voltamétrica, onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas e observa-se uma relação de corrente (I) e potencial (E/V); a amperométrica onde o potencial se mantém fixo o que proporciona uma corrente faradaica proporcional ao analito e coulométrica onde se fundamentam na medida do número de elétrons que participam da reação química (HARRIS, 2012).

2.4. Desenvolvimento de sensor à base de metaloftalocianina

As ftalocianinas(Pc) são unicamente obtidas sinteticamente, pois não são encontradas na natureza e foram acidentalmente descobertas no início do século XX (PEREIRA MONTEIRO; FERREIRA FAUSTINO; PINHO MORGADO SILVA NEVES; QUIALHEIRO SIMÕES *et al.*, 2021). São moléculas macrocíclicas que fazem parte da classe de complexos de metais de transição conhecidos como N₄, que compõem comumente moléculas encontradas na natureza, como a clorofila, os grupos heme, presentes no sangue na hemoglobina, na vitamina B12, etc (ZAGAL; GRIVEAU; SILVA; NYOKONG *et al.*, 2010). As ftalocianinas por sua variedade de cor foram muito utilizadas como corante, obtido como subproduto na preparação do cianobenzamida.

Partindo do aquecimento em uma solução alcoólica da benzamida, foi precipitado um material insolúvel de coloração azulada (GUILLAUD; SIMON; GERMAIN, 1998).

Em meados do século XXI, pesquisadores propuseram um estudo da estrutura das ftalocianinas como uma molécula com um sistema contendo quatro anéis isolados, unidos por átomos de hidrogênio, ligados aos átomos de nitrogênio do pirrol (H₂Pc- ftalocianina livre de metais) (KONAREV; ZORINA; KHASANOV; LITVINOV *et al.*, 2013). Os átomos de hidrogênio presente nessa ftalocianina podem ser substituídos por metais e semimetais, assim formam as metaloftalocianinas (figura 2).

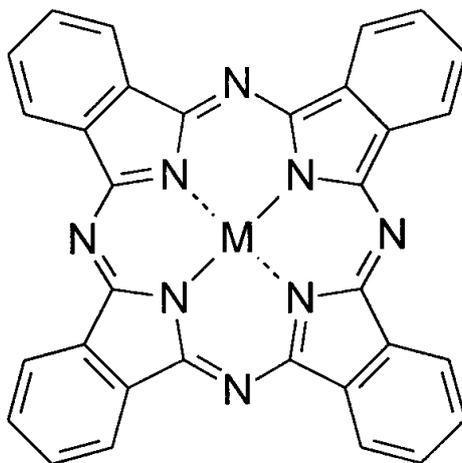


Figura 2: Estrutura da metalofotalocianina, onde M representa o metal.

Dente as metaloftalocianinas (MPc), temos a ftalocianina de cobalto (CoPc) que é muito visada em trabalhos eletroquímicos por sua contribuição eletrocatalítica, reduzindo os potenciais de eletrooxidação e eletroredução de várias espécies químicas (ZHU; CHEN; GUO; XU *et al.*, 2019). A ftalocianina de cobalto (figura 3) possui características intrínsecas de alta estabilidade térmica e química, e possui afinidade a realizar interações eletrônicas do tipo π - π (CHEN; SAGAR; CHEN; LIU *et al.*, 2021).

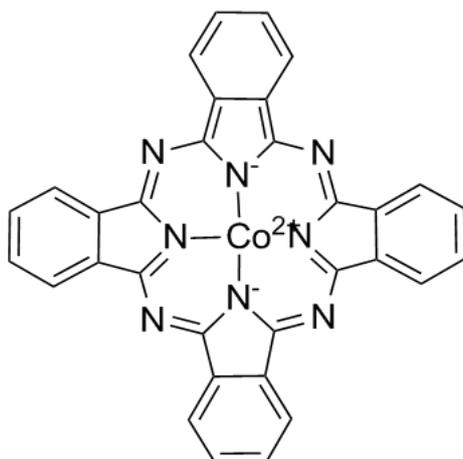


Figura 3: Estrutura da ftalocianina de cobalto.

A ftalocianina de cobalto é uma molécula semicondutora muito utilizada em trabalhos eletroquímicos, como modificante de eletrodos, onde é adsorvida em materiais carbonáceos, com a finalidade de obter-se um aumento da resposta eletroquímica (GHORAI; PAUL; GHORAI; ADALDER *et al.*, 2021; LI; PAN; WANG; YU *et al.*, 2022). A ftalocianina de cobalto tem sido reportada na literatura, na elaboração de diversos sensores eletroquímicos, em detecções de contaminantes de água, como o caso de pesticidas, fenóis e tióis (LEI; ZHOU; ZHU; LIU *et al.*, 2019; LEVER, 1999).

2.5. Técnicas de caracterizações físicas

Para caracterização física dos materiais usados como sensores eletroquímicos, as técnicas mais utilizadas para avaliar a composição e morfologia dos compostos são: microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia Raman, difração de raios-X (DRX) e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (BORAH; SATOKAWA; KATO; KOJIMA, 2008; LU; PENG; YING; LONG, 2020; ZHANG; WANG; LUO; WANG *et al.*, 2020).

2.5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura

O microscópio eletrônico de varredura, conhecido por sua resolução excepcional, é a principal ferramenta para a produção de imagens topográficas e dados fundamentais. Sua capacidade surge do emprego de luz com comprimento de onda de 0,12 Angstroms, estabelecendo um limite de resolução que permite ampliações que variam de 10 a 10.000 vezes com uma profundidade de campo essencialmente ilimitada. No MEV, um feixe de elétrons é empregado para escanear meticulosamente a superfície da amostra, construindo gradativamente uma representação tridimensional. O canhão de elétrons inicia a geração de elétrons, sendo o filamento de tungstênio a fonte mais

comumente utilizada. Quando uma corrente passa pelo filamento, ele aquece e emite elétrons. Após a interação com a amostra, o feixe de elétrons desencadeia uma série diversificada de sinais através de sua interação com os constituintes atômicos da amostra. Este aparelho oferece capacidade para imagens de alta resolução, análise elementar do material e mapeamento elementar rápido (ZHANG, 2008).

2.5.2. Espectroscopia Raman

Espectroscopia Raman é uma técnica baseada no efeito Raman, que leva o nome do cientista que o descobriu. É uma técnica de espalhamento, cuja característica é dada pela alteração na frequência da radiação incidente, quando esta é espalhada por moléculas, estruturas cristalinas ou amorfas (SANTOS; MENEZES; ELLENA; ANDRADE, 2019). Dependendo da energia de radiação empregada, é possível obter diferentes propriedades do sistema a ser analisado (DE FARIA; AFONSO; EDWARDS, 2002).

Pode-se classificar esse espalhamento de duas formas de acordo com a relação da energia incidente com a energia espalhada. Quando o espalhamento consiste na razão de intensidade de frequência de radiação incidente com a energia espalhada, dependendo se a frequência da radiação espalhada for menor que a frequência da radiação incidente, acarreta que o processo de espalhamento absorva a energia e é denominado de Stokes, quando o espalhamento consiste na razão de intensidade de frequência de radiação incidente com a radiação espalhada dependendo, que se a radiação espalhada tiver frequência maior que a radiação incidente, acarreta que o processo de espalhamento cede energia e é denominado de anti-Stokes (RODRIGUES; GALZERANI, 2012).

Portanto o espectro Raman é considerado como um registro da intensidade da radiação espalhada pelo sistema analisado em função da energia dessa radiação. Graficamente o espectro de Raman contém informações similares às de um espectro de absorção no infravermelho (FTIR). O deslocamento Raman (*Raman shift*) é proveniente de uma diferença entre a energia incidente (E_i) com a energia espalhada (E_e). Desse modo, o resultado não é um número absoluto e sim uma diferença entre os parâmetros medidos (DE FARIA; AFONSO; EDWARDS, 2002).

2.5.3. Difração de raios X

DRX é a técnica de caracterização mais amplamente utilizada para prever a estrutura cristalina de compostos. Esta tecnologia de caracterização se baseia

na detecção das espécies metálicas, sejam elas óxidos, carbonetos, nitretos, sulfuretos ou fosforetos, atribuídas a picos de difração característicos (HAN; BIAN; SUN, 2020).

É uma técnica não destrutiva que revela a informação detalhada sobre a composição química e a estrutura cristalográfica de materiais naturais e sintetizados. Cada substância cristalina tem uma disposição característica de átomos que difere os raios-X num padrão único. O reflexo dos raios-X ocorre a partir de planos de rede de acordo com a Lei de Bragg (Equação 1) (ZHANG, 2008):

$$n\lambda = 2d \sin\alpha \quad (1, 2, 3 \dots) \quad \text{Equação 1}$$

Onde λ é o comprimento de onda dos raios-X, d é o espaçamento da rede, α é a metade do valor do ângulo de difração, n é a ordem da reflexão e pode ser qualquer número inteiro, e λ é determinado pelo tubo do raio-X; comprimentos de onda típicos usados para experimentos de raios-X situam-se entre 0,6 e 1,9 Å. A varredura de uma faixa de ângulos de reflexão fornece um padrão de picos com determinados espaçamentos e intensidades. Planos que passam por áreas com alta densidade eletrônica, refletirão fortemente, enquanto planos com baixa densidade eletrônica produzirão, intensidades fracas (ZHANG, 2008).

2.5.4. Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

FTIR é uma técnica de caracterização que avaliam as propriedades vibracionais das moléculas a qual tem uma grande sensibilidade para mínimas mudanças estruturais, desse modo a FTIR é uma das mais poderosas ferramentas para determinação de grupos funcionais e ligações moleculares entre os compostos químicos (BERTHOMIEU; HIENERWADEL, 2009; MOHAMED; JAAFAR; ISMAIL; OTHMAN *et al.*, 2017).

A técnica de espectrofotometria se baseia na interação da radiação incidente com a matéria, onde é detectada e transformada em sinal analítico. Basicamente o espectro de infravermelho (IR) obtido do espectrômetro FTIR encontram-se na região do infravermelho médio entre 660 a 4000 cm^{-1} . Com a aplicação de energia IR várias moléculas começam a vibrar pois há uma mudança de energia vibracional na molécula e vários grupos funcionais estão localizados na região do infravermelho médio, resultando em bandas de absorção desta energia nessa região o que pode ser utilizado para determinar a existência de grupos funcionais específicos dentro das moléculas (BERTHOMIEU; HIENERWADEL, 2009).

2.6. Técnicas eletroquímicas

As técnicas eletroquímicas estão relacionadas com a interação entre a eletricidade e a química. São necessários pelo menos dois eletrodos (condutores) e habitualmente um meio aquoso de contato (eletrólito), para que uma célula eletroquímica seja funcional. O caminho elétrico do eletrodo é, portanto, uma interface entre o condutor iônico e um condutor elétrico (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017).

Alguns testes são explorados atualmente para identificar o desempenho eletroquímico de materiais como sensores eletroanalíticos. Dentre esses testes são aplicadas técnicas voltamétricas, como a voltametria cíclica, espectroscopia de impedância eletroquímica e técnicas amperométricas (LU; PENG; YING; LONG, 2020; PRIVETT; SHIN; SCHOENFISCH, 2010).

2.6.1. Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é uma das técnicas eletroanalíticas considerada como mais flexível, na qual pode-se sugerir os processos de reações eletroquímicas intrínsecos do sistema (RAMACHANDRAN; CHEN; KUMAR, 2015). O teste de voltametria cíclica comumente envolve a aplicação de um potencial elétrico linearmente entre o eletrodo de trabalho e o de referência. A velocidade de varredura desse potencial é medida em $V s^{-1}$ (Volts por segundo). A janela de medida percorrida pela mudança de potencial é denominada de intervalo de potencial. A corrente instantânea durante a variação de potencial no sentido negativo (catódica) e no sentido positivo (anódica) são registradas para caracterizar os processos redox. Os resultados são plotados geralmente em função de corrente (I) *versus* potencial (V) (BARD; FAULKNER, 2001).

2.6.2. Espectroscopia de impedância eletroquímica

O teste de espectroscopia de impedância eletroquímica, também conhecido como teste espectroscópico dielétrico, mede a impedância da interface eletrodo-eletrólito, como uma função da frequência aplicando uma tensão de baixa amplitude (normalmente 5 mV), sobreposta a um potencial de estado estacionário (BARD; FAULKNER, 2001). Os dados resultantes são geralmente expressos em gráfico do tipo Bode para demonstrar a resposta entre o ângulo de fase e a frequência, e em um gráfico de Nyquist (Figura 4), para mostrar as partes imaginárias e reais das impedâncias da célula eletroquímica em um plano complexo. A partir do estudo de impedância, é possível correlacionar as resistências presente na célula eletroquímica e representar um circuito equivalente. O circuito de Randles (Figura 5), engloba a resistência da solução, a resistência de transferência de

carga, a resistência de difusão e saturação de carga (CARVALHO; ANDRADE; BUENO, 2006).

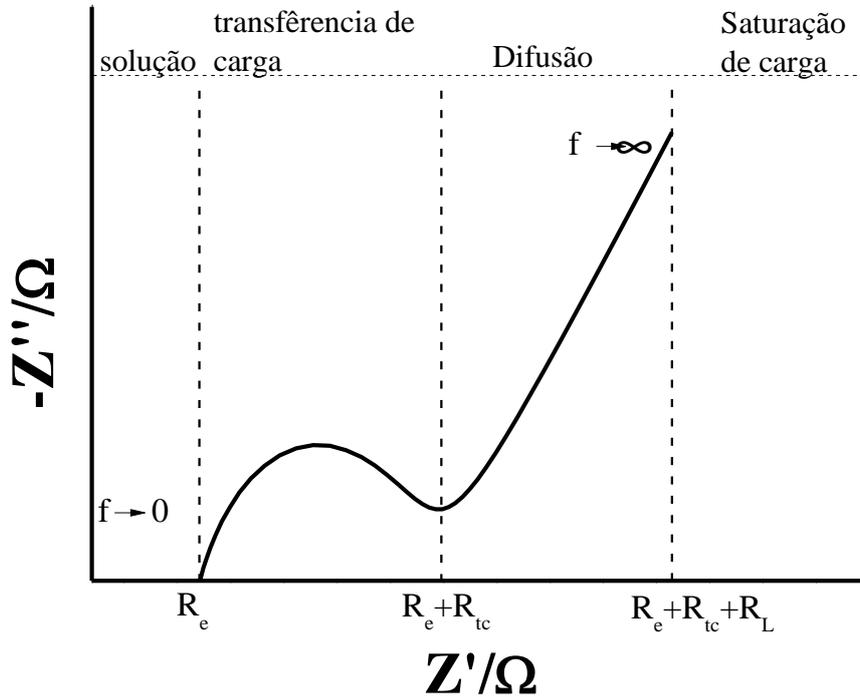


Figura 4: Gráfico de Nyquist.

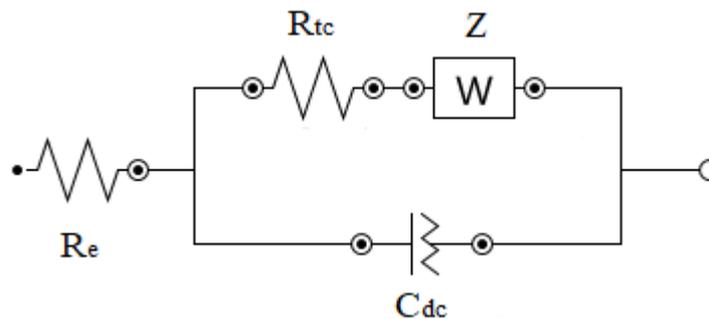


Figura 5: Figura representativa do circuito de Randles equivalente ao gráfico de Nyquist.

R_e representa a resistência da solução, onde a faixa de frequência é alta, R_{tc} representa a resistência elétrica na interface (eletrodo de trabalho), cuja a faixa de frequência é intermediária, fazendo que o produto de R_{tc} e C_{dc} (capacitância da dupla camada do eletrodo), seja observado no gráfico de Nyquist na forma de um semicírculo, Z representa a difusão da impedância de Warburg e R_L é a resistência limite determinada pela intersecção com o eixo real. Dessa forma, a partir da análise do semicírculo, obtém-se a resistência elétrica da interface (R_{tc}) (CARVALHO; ANDRADE; BUENO, 2006).

2.6.3. Chronoamperometria

A técnica da chronoamperometria consiste no aumento do potencial do eletrodo de trabalho a um valor onde não ocorre nenhuma reação de magnitude faradaica (E_1) e tem como função carregar a dupla camada elétrica na interface do eletrodo (eletrodo estacionário). Após isso, usa-se um segundo potencial onde ocorrem reações apenas do tipo faradaica (E_2), onde a corrente resultante é proporcional a oxidação ou redução da espécie eletroativa (Figura 6.a). O resultado obtido é representado por um sinal de corrente (A) em função do tempo (s), onde o transporte de massa é regido predominantemente por difusão, o que resulta em uma expansão gradual da camada de difusão associada ao esgotamento do reagente e, portanto, diminui a inclinação do perfil de concentração à medida que o tempo avança (Figura 6.b). Assim, a corrente (em um eletrodo planar) decai com o tempo (Figura 6.c), conforme dado pela equação de Cottrell (Equação 2) (WANG, 2023).

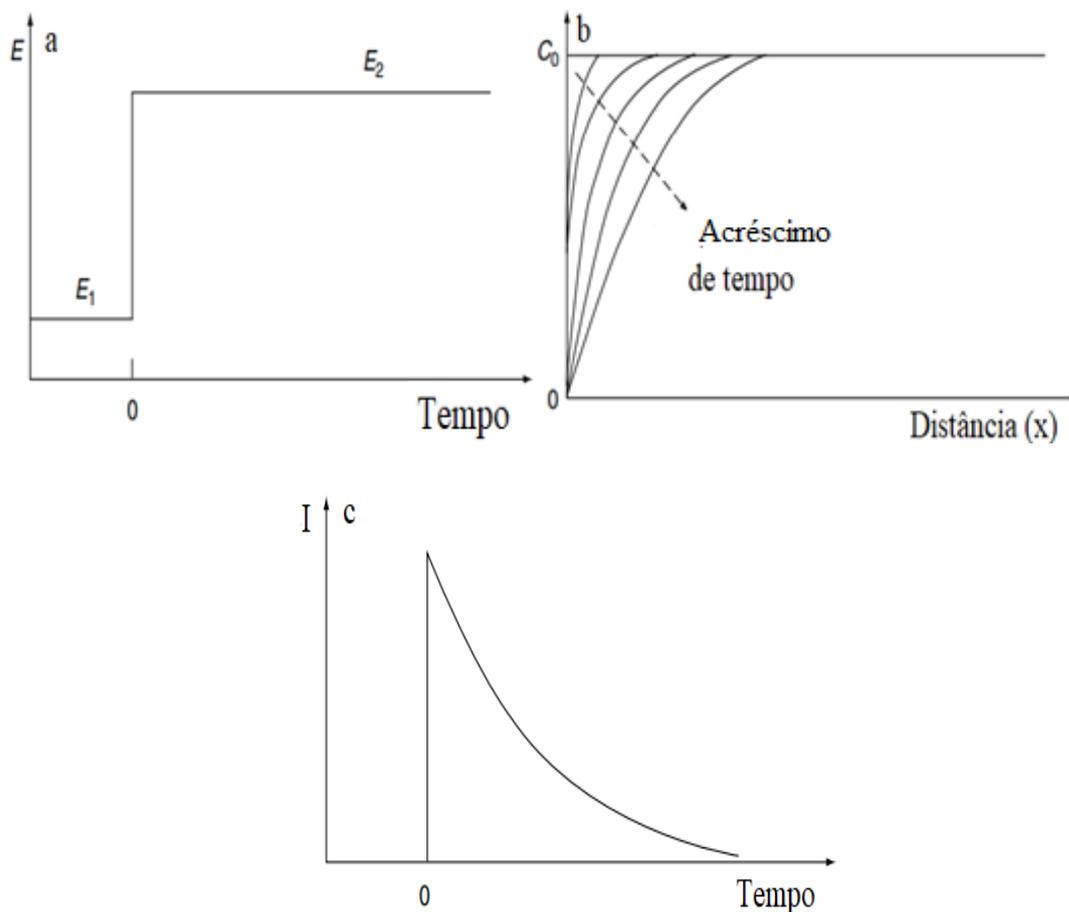


Figura 6: a) experimento chronoamperométrico onde é descrito a escada de potencial, b) mudança nos perfis de concentração à medida que o tempo avança e c) a plotagem gráfica da resposta corrente \times tempo (WANG, 2023).

$$i(t) = id(T) = \frac{nFAD^{1/2} C_0}{\pi^{1/2} t^{1/2}}$$

Equação 2

Onde: $I(t)$ é a corrente a um tempo t , n é o número de elétrons, F é a constante de Faraday, A é a área do eletrodo, C_0 é a concentração das espécies oxidadas e D é o coeficiente de difusão das espécies oxidadas (WANG, 2023).

2.6.3.1. Análise por Injeção em Batelada (BIA)

Em meados da década de 90 foi desenvolvido e proposto por Wang e Taha um sistema de análise quantitativo rápido e portátil nomeado como análise por injeção em batelada (do inglês *Batch Injection Analysis*) (WANG; TAHA, 1991).

A amperometria pode ser usada como técnica de detecção associada com sistema por injeção em bateladas (BIA), no qual pequenas alíquotas são injetadas com um auxílio de uma micropipeta diretamente à superfície do eletrodo de trabalho, que permanece imerso no eletrólito de suporte. O sistema BIA-AMP aplica perturbações elétricas que são transformadas em um sinal mensurável de elevada frequência analítica e boa estabilidade (SILVA; SILVA; MUÑOZ; RICHTER, 2017). A utilização desse método é relatada em vários trabalhos. Os sinais analíticos gerados são representados por picos transientes, nos quais a altura ou área do pico é proporcional à concentração do analito (Figura 7) (QUINTINO; ANGNES, 2004).

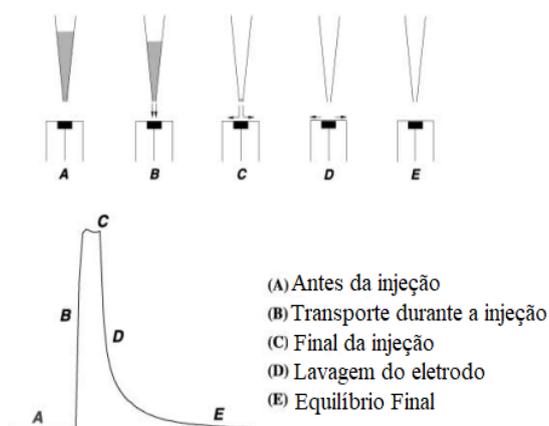


Figura 7: Etapas de como um sistema BIA detecta um analito pela técnica amperométrica. Fonte: adaptado de (QUINTINO; ANGNES, 2004).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

- Desenvolver sensor eletroquímico à base de *carbon black super-P* e ftalocianina de cobalto para detecção de L-cisteína em amostras de fármacos.

3.2. Objetivos Específicos

- Sintetizar o compósito de *carbon black* e ftalocianina de cobalto e estudar sua composição.
- Realizar a caracterização físico-química do compósito.
- Investigar o comportamento eletroquímico da L-cisteína no compósito.
- Desenvolver e otimizar um método BIA com detecção amperométrica para determinação de L-cisteína.
- Aplicar o método proposto em amostra farmacêutica de L-cisteína.
- Comparar o sensor eletroquímico desenvolvido com a eletroforese capilar

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Pesquisa em Automação Analítica (LPAA), Laboratório do Grupo de Eletroquímica (GELQ) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e no Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NUPE) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

4.1. Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico. Os produtos químicos utilizados neste trabalho foram:

Tabela 1: Lista de produtos químicos utilizados para o desenvolvimento do trabalho.

Produtos Químicos	Fórmula	Procedência
Hidróxido de Sódio	NaOH	Isofar
Alumina em pó	Al ₂ O ₃	Buehler
Náfion 5 wt. %		Aldrich
Etanol	C ₂ H ₅ OH	Isofar
Dimetilformamida	C ₃ H ₇ NO	Isofar
Ftalocianina de Cobalto	C ₃₂ H ₁₆ CoN ₈	Aldrich
<i>Carbon Black Super-P</i>		TIMCAL Graphite & Carbon Super P
Cloridrato Monoidratado de L-Cisteína	C ₃ H ₈ ClNO ₂ S*H ₂ O	Aldrich

4.2. Soluções aquosas e limpeza das vidrarias

As soluções aquosas foram preparadas utilizando água deionizada, purificada através de um sistema Milli-Q® Direct 8 (Darmstadt, Alemanha), com lâmpada ultravioleta ($\lambda = 185$ nm). A solução de eletrólito suporte NaOH foi preparada na concentração 0,1 mol L⁻¹.

A limpeza das vidrarias foi conduzida por lavagem com água purificada e detergente neutro.

4.3. Aparelhagem

As medidas de voltametria cíclica foram realizadas em uma célula eletroquímica (Figura 8), utilizando um potenciostato Ivium CompactStat.h (Ivium Technologies, Eindhoven, Holanda), conectado a um computador com o software IviumSoft versão 4.1054 e as análises de BIA foram registradas em uma célula BIA (Figura 9), utilizando um potenciostato Autolab PGSTAT 128N (Metrohm, Herisau, Suíça) conectado a um computador controlado pelo software NOVA versão 2.1.5. Na montagem da célula foram utilizados um eletrodo de carbono vítreo (CV) com 3 mm de diâmetro, previamente polido, um eletrodo de referência Ag|AgCl (KCl 3 mol L⁻¹) e um

eletrodo auxiliar de platina. O potencial do eletrodo foi varrido entre $-1,0$ a $0,4$ V, tanto para estudos comparativos na velocidade de varredura do potencial de 50 mV s^{-1} , quanto para estudos variando a velocidade de varredura entre 10 a 140 mV s^{-1} . Antes de cada experimento, a solução de eletrólito suporte NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi purgada com N_2 (g) durante estudos eletroquímicos por pelo menos 90 segundos antes de cada medida.



Figura 8: Imagem da célula eletroquímica: **1)** Eletrodo de trabalho CV; **2)** Eletrodo de referência (Ag/AgCl, KCl 3M); **3)** Eletrodo auxiliar de platina. Fonte: Autor, 2023.



Figura 9: Imagem da célula BIA: **1)** Eletrodo de trabalho CV; **2)** Eletrodo de referência (Ag|AgCl, KCl 3 M); **3)** Eletrodo auxiliar de platina **4)** Micropipeta automática. Fonte: Autor, 2023.

A morfologia dos materiais sintetizados foi caracterizada por um microscópio eletrônico de varredura de intensidade de campo utilizando o VEGA3 LMU TESCAN (Kohoutovice, Republica Tchêquia), operando em 5 kV.

As medidas de Difração de Raios X foram realizadas utilizando um Lab X XrD-6000 (SHIMADZU, Quioto, Japão) interfaceado a um computador controlado pelo Software ICDD. Os materiais foram submetidos a uma fonte de radiação de cobre com o alfa de $1,5416\text{\AA}$ a uma varredura de $1^\circ/\text{min}$ do ângulo de 5 a 50° .

Os espectros Raman foram registrados em uma microscópio confocal WITec 300R Alpha, equipada com um laser Ar de 488 nm (potência = $0,06\text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$), objetiva de $100\times$ ($0,80\text{ NA}$), grade de $1800\text{ linhas mm}^{-1}$ e tempo de integração de 60 s . Imagens Raman foram obtidas mapeando ponto a ponto uma superfície de $20 \times 20\text{ }\mu\text{m}$ (400 pontos) com uma mesa XYZ acionada por piezo, e os espectros de materiais puros foram usados como padrões para a deconvolução da imagem. Os raios cósmicos foram removidos e a linha de base foi subtraída de cada espectro bruto.

As análises de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas usando um IR-Prestige-21 (SHIMADZU, Quioto, Japão), onde as amostras foram diluídas em brometo de potássio (KBr) para fazer uma

pastilha e os parâmetros usados foram: resolução equivalente a 4 cm^{-1} , número de varreduras igual a 40, faixa de varredura de 400 a 4000 cm^{-1} .

As análises de eletroforese capilar (EC) foram realizadas em um sistema caseiro de EC equipado com dois detectores de C^4D (FRANCISCO; DO LAGO, 2009) posicionados, respectivamente, a 10 e 40 cm da extremidade do ponto de injeção da amostra (lado de entrada). As separações foram realizadas em um capilar de sílica fundida de 50 cm de comprimento total (Agilent, Folsom, CA, EUA, $50 \mu\text{m id} \times 375 \mu\text{m od}$). Todas as medições foram realizadas pelo primeiro detector (comprimento efetivo de 10 cm), que opera em potencial (4-Vpp) e frequência (1,1 MHz) constantes (não foi necessária nenhuma otimização). O software na versão LabView 8 (National Instruments, Austin, TX) foi utilizado para controlar o equipamento e adquirir os dados. CHES 20 mol L^{-1} (ácido N-ciclohexil-2-aminoetanossulfônico) ajustado para pH 9, usando NaOH como eletrólito de fundo. Antes da análise, o capilar de sílica fundida foi condicionado com NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, água deionizada e BGE (10 min cada). O padrão e as amostras foram injetados hidrodinamicamente por 1 s a 25 kPa. Todos os experimentos foram realizados com uma tensão de separação de +25 kV (lado de entrada) e usando condição de Fluxo Eletrosmótico (EOF) normal. Estas condições foram adaptadas de um trabalho publicado anteriormente (ISMAIL; D'ORLYÉ; GRIVEAU; BEDIQUI *et al.*, 2015).

4.4. Síntese do CoPc/CBSP

A preparação e modificação do eletrodo seguiu um método simplificado proposto por Yuan *et al* (Figura 10)(YUAN; WANG; CAI; PENG *et al.*, 2019). A molécula de CoPc foi adsorvida no CBSP misturando estes dois materiais em dimetilformamida (DMF) com a ajuda de sonicação. DMF é um solvente adequado para dissolver CoPc e dispersar CBSP, permitindo a imobilização de CoPc molecular em CBSP. 1 mg de CBSP foi ultrassonicamente disperso com 2 mg de CoPc dissolvido nos mesmos 5 mL de DMF e mantido a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ por 60 min com o auxílio de Banho ultrassônico. Após sonicação, foi seco a $100 \text{ }^\circ\text{C}$ em estufa por 24 horas, recuperado e armazenado em Eppendorf. A proporção de CBSP:CoPc foi testada em ensaios eletroquímicos em que as proporções 1:1, 2:1 e 4:1 foram sintetizadas pelo mesmo método.



Figura 10: Representação esquemática da síntese do composto CoPc/CBSP.

4.5. Preparo do eletrodo e modificação

Para limpeza e ativação do eletrodo de CV, o mesmo foi polido sucessivamente em suspensão de alumina 1; 0,3; 0,05 μm , lavados com água destilada e álcool. Para a preparação do eletrodo modificado CBSP/CoPc, 3 mg de CBSP/CoPc, 20 μL de solução de náfion a 5% em massa, 490 μL de etanol e 490 μL de água foram misturados e sonicados por 60 min para formar uma tinta catalisadora uniforme. O eletrodo CV modificado por CBSP/CoPc (CBSP/CoPc/CV) foi preparado colocando 5 μL de uma suspensão (3 mg/mL) em um eletrodo de CV limpo (técnica do drop-casting) e colocado para secar em temperatura ambiente (Figura 11). Para experimento controle, o NAF/CV; CBSP/CV; CoPc/CV foram preparados pelos mesmos procedimentos.

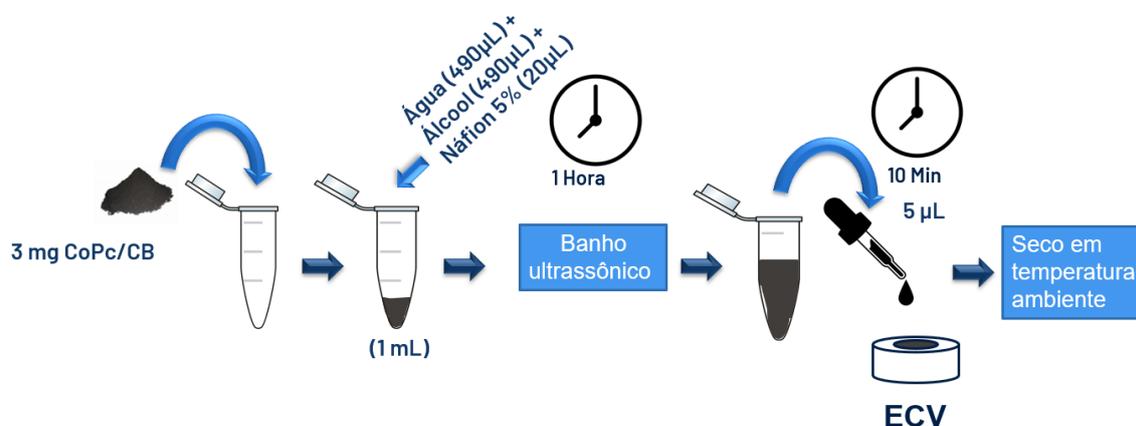


Figura 11: Representação esquemática do preparo da suspensão do modificante e a modificação do eletrodo de carbono vítreo.

4.6. Análise de amostras

Amostras de medicamentos manipulados contendo 300 mg de cisteína adquiridas em drogaria local, na cidade de Uberlândia – MG, foram utilizadas tanto para avaliar o desempenho do sensor proposto, quanto para o estudo comparativo de eletroforese capilar. Cada comprimido do medicamento foi aberto e uma solução foi preparada na concentração aproximada de 10 mmol L^{-1} em água deionizada

(considerando o valor indicado no rótulo). Uma curva de calibração externa foi obtida usando soluções padrão para realizar a quantificação de cisteína nas amostras.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram divididos em quatro tópicos: 1) estudos da caracterização físico-química do compósito sintetizado; estudo voltamétrico do perfil do eletrodo modificado com o compósito proposto para oxidação de cisteína. 3) estudo por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica; 4) otimização e aplicação real da do método proposto pela utilizando o sistema BIA com detecção amperométrica.

5.1. Caracterizações físico-químicas do CoPc/CBSP

Para avaliar a presença de CoPc adsorvido à rede de carbon black, a morfologia dos diferentes materiais foi confirmada através da observação por MEV para o CBSP (figura 12a.I), CoPc (figura 12a.II) e após a heterojunção dos dois materiais para formar o compósito CB/CoPc (figura 12a.III). A figura 12a.I mostra a superfície do CBSP caracterizada por flocos distribuídos aleatoriamente, enquanto que, na figura 12a.II, a amostra de CoPc revelou estruturas na forma de bastonetes, bem ordenados e distribuídos de maneira uniforme. Já na figura 12a.III, foi possível observar que a mesma estrutura do CoPc está distribuída sob uma rede de flocos agregados que podem ser atribuídos ao CBSP, sugerindo que, à partir da comparação entre as três imagens, pode-se confirmar que ocorreu um processo de adsorção do CoPc sobre a rede de CBSP, indicando que o processo de síntese foi bem sucedido.

A espectroscopia Raman foi realizada para avaliar as ligações moleculares e químicas, após a modificação do CBSP com CoPc. Assim, para entender melhor o efeito da modificação, foram coletados os espectros Raman das amostras CBSP e CoPc/CBSP (Figura 12.b). A figura mostra bandas características representando modos de vibração das bandas D (em 1346 cm^{-1}) e G (em 1583 cm^{-1}), relacionados à desordem da estrutura hexagonal do carbono grafitico e às vibrações das ligações C=C do composto, respectivamente (MAZZARACCHIO; TOMEI; CACCIOTTI; CHIODONI *et al.*, 2019). Nesse sentido, a amostra CoPc/CBSP apresenta ambas as bandas descritas anteriormente; no entanto, foram observados desvios visíveis: 1333 cm^{-1} (banda D) e 1590 cm^{-1} (banda G). Tal deslocamento pode estar relacionado à interação do CoPc com a superfície do CBSP; além disso, como os picos são mais proeminentes em comparação com o CBSP puro, o deslocamento era esperado para o compósito CoPc (YUAN; SUN; FERNANDEZ; WANG *et al.*, 2022).

Pode-se notar que não houve apenas um aumento na intensidade dos sinais da amostra CoPc/CBSP, houve também alteração na proporção das bandas D e G (I_D/I_G) em relação ao material puro. Especificamente, a amostra CBSP apresenta $I_D/I_G = 1,58$, enquanto a CoPc/CBSP apresenta $I_D/I_G = 2,02$. Tal variação indica um aumento no nível de desordem das amostras após a modificação, o que pode ser interessante para questões de detecção, pois promove uma diminuição no tamanho das camadas grafíticas do material, sugerindo um aumento na área superficial (MAZZARACCHIO; TOMEI; CACCIOTTI; CHIODONI *et al.*, 2019; SEONG; BOEHMAN, 2013). De posse dos dados Raman, foram realizadas mais caracterizações físico-químicas para auxiliar no entendimento das propriedades do material.

Para investigar a possível presença de outras fases, medições de DRX foram realizadas em amostras de CBSP, CoPc e CoPc/CBSP e podem ser vistas na Figura 12.c. O padrão CBSP DRX exibiu um pico amorfo localizado em $2\theta = 25,5^\circ$, indicando o plano (111), e outro em $2\theta = 43,06^\circ$, que corresponde ao plano (010), ambos característicos de materiais de carbono, como previsto em recentes literaturas de referência (WANG; LI; LI; CUI *et al.*, 2022); (ZENG; RICE; WANG; SUN, 2004). A análise de fases da amostra de CoPc corrobora a formação da estrutura monoclinica do Co (fase β , grupo espacial P 21/n), sem a presença de outras fases, apresentando picos em $2\theta = 6,93^\circ, 9,17^\circ, 12,51^\circ, 18,43^\circ, 23,74^\circ$ e $26,24^\circ$, que podem ser atribuídos aos planos (100), (102), (202), (104), (112) e (212), respectivamente, do cobalto metálico indicando o que está de acordo com os dados para CoPc encontrados na literatura de referência (KUNPATEE; CHAMSAI; MEHMETI; STANKOVIC *et al.*, 2019). Um refinamento Rietveld ($R_{wp} = 17,53$; G.O.F = 2,05) foi obtido considerando apenas esta fase com cristalitos de 390 nm, sem melhorias significativas ao permitir que o tamanho dos cristalitos possua dependência com a direção cristalina. Assim, a amostra e sua morfologia estão de acordo com o observado na literatura para CoPc. Os parâmetros de rede e microdeformação também foram estimados na ordem de $14,54 \text{ \AA}$ e $7,3 \times 10^{-3}$, respectivamente. Os padrões encontrados no compósito CoPc/CBSP apresentam todos os picos encontrados nas amostras anteriores, confirmando a incorporação de CBSP e CoPc. No entanto, a amostra CoPc/CBSP também apresentou um pico característico que sugere a presença de cobalto metálico com estrutura cúbica de face centrada (fase α , grupo espacial Fm3m). Os picos de difração encontrados podem ser atribuídos às estruturas cúbicas (encontradas na amostra CoPc/CBSP) e monoclinicas (encontradas na amostra

CoPc) de Co de acordo com as folhas cristalográficas 9012949 e 1482845, respectivamente, do banco de dados COD (Crystallography Open Database) contidos no BDEC (Banco de Dados de Estruturas Cristalinas).

Os espectros FTIR de CBSP, CoPc e CoPc/CBSP são representados na Figura 12d. A banda em torno de 3420 cm^{-1} corresponde à vibração de alongamento OH da absorção de água ou grupos hidroxila presentes nos materiais (ZAPPIELO; NANICUACUA; DOS SANTOS; DA SILVA *et al.*, 2016). A banda em torno de 1616 cm^{-1} foi observada para todas as amostras, com maior intensidade em CoPc/CBSP, e pode ser atribuída à vibração de estiramento C=C presente nos materiais (CINTI; NEAGU; CARBONE; CACCIOTTI *et al.*, 2016; ZAPPIELO; NANICUACUA; DOS SANTOS; DA SILVA *et al.*, 2016). As bandas em $731\text{-}1085\text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídas a vibrações estruturais de ftalocianina e do metal ligante, respectivamente (ZHANG; SHAO; GUO; ZHANG *et al.*, 2011). A presença do perfil típico de ftalocianina de cobalto pelas bandas discretas entre $731\text{-}1085\text{ cm}^{-1}$ aponta para a síntese bem-sucedida do composto CoPc/CBSP. Além disso, o aumento na interação de ligação C=C pode estar relacionado à adsorção de ftalocianina de cobalto no *carbon black*.

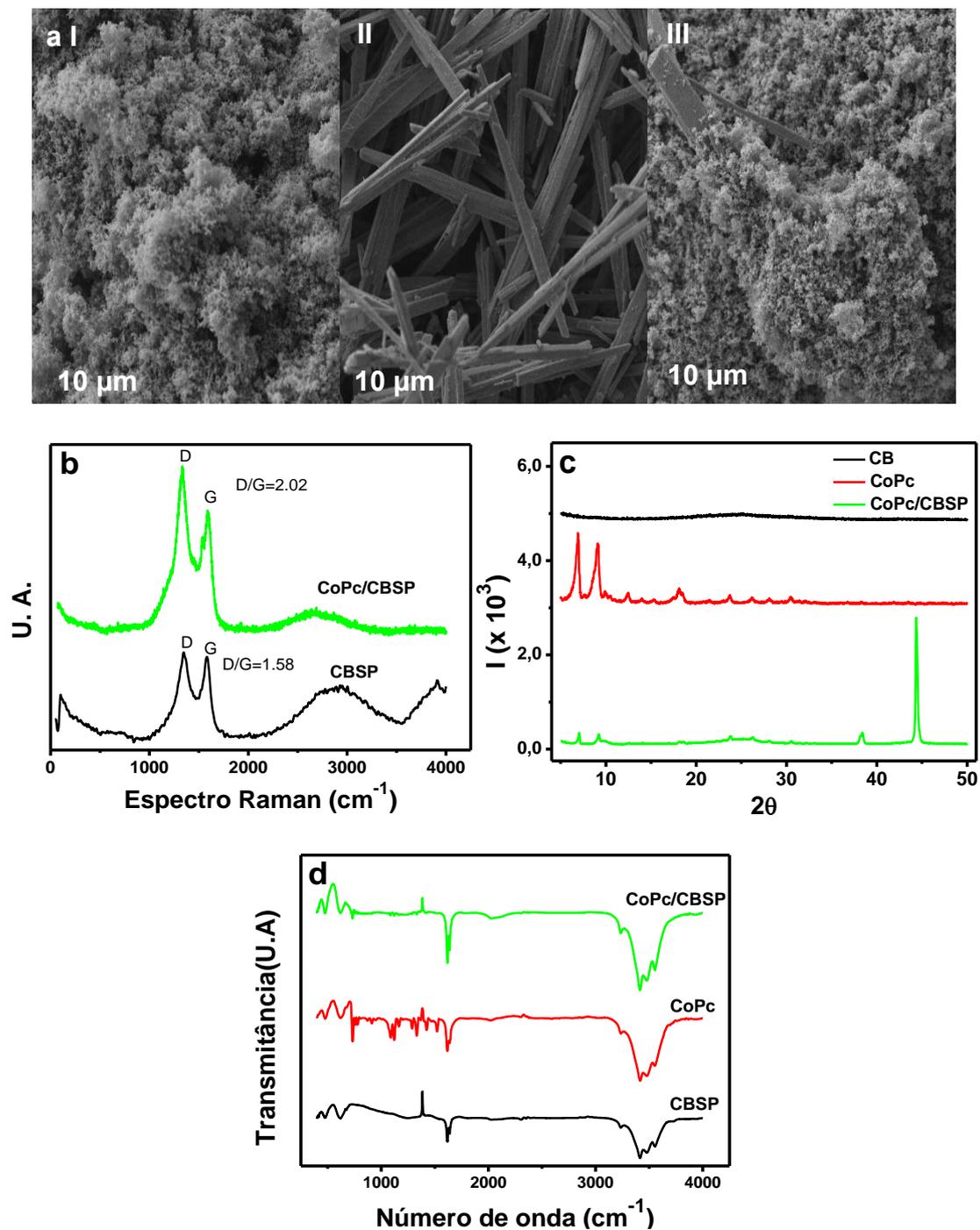


Figura 12: (a) Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras (I- CBSP), (II- CoPc), (III- CoPc/CBSP). (b) Espectro Raman do CBSP e do CoPc/CBSP. (c) Imagem XDR de CBSP, CoPc e CoPc/CBSP. (d) FTIR de CBSP, CoPc e CoPc/CBSP.

5.2. Voltametria Cíclica

5.2.1. Comportamento voltamétrico do CoPc no eletrodo CoPc/CBSP

A Figura 13a mostra as VC obtidas com os eletrodos CV (linha preta) e CoPc/CBSP/NAF/CV (linha verde) em NaOH 0,1 mol L⁻¹ previamente desaerado. A VC registrada com o eletrodo CV mostra uma baixa corrente de fundo em uma ampla janela

de potencial (-1,0 a +0,4 V), de acordo com os resultados relatados anteriormente (DA SILVA; ARAÚJO; FERREIRA; VARELA JR *et al.*, 2011). No eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV, dois picos bem definidos apareceram em torno de -0,60 V com $E_{1/2} = -0,605$ V. De acordo com estudos anteriores, esses picos podem ser atribuídos à presença do centro de íons metálicos e estão associados ao processo redox envolvendo o par redox Co(II)Pc/Co(I)Pc (CHOI; WAGNER; GAMBHIR; JALILI *et al.*, 2019; DA SILVA; ARAÚJO; FERREIRA; VARELA JR *et al.*, 2011). O pico associado ao processo Co(III)/Co(II) na porção CoPc não apareceu nos VCs devido à sua lenta cinética heterogênea de transferência de elétrons (SARAVIA; SUKERI; GONÇALVES; AGUIRRE-ARAQUE *et al.*, 2016). Além disso, estudos relataram que a formação de compósitos entre materiais de carbono (por exemplo, NTC, CMK-3 e CBSP) e metal-ftalocianina aumenta as respostas eletroquímicas em comparação com estudos realizados apenas com ftalocianina (NXELE; OLUWOLE; NYOKONG, 2019).

5.2.2. Oxidação eletrocatalítica de cisteína.

A oxidação de compostos contendo tiol em eletrodos não modificados é difícil, e a necessidade de potenciais altamente positivos tem sido relatada em vários estudos (BURMISTROVA; GALUSTYAN; SMOLYANINOV; BERBEROVA, 2021). Então, para demonstrar a atividade eletrocatalítica de CoPc no processo de oxidação envolvendo CYS uma série de experimentos foram realizados. Estudos por VC foram realizados para investigar o comportamento eletroquímico de CYS em solução de 0,1 mol L⁻¹ NaOH como eletrólito de suporte contendo 10 mmol L⁻¹ em diferentes eletrodos na faixa de potencial de -1,0 V a 0,4 V, conforme mostrado na Figura 13b. Os eletrodos CV, NAF/CV e CBSP/NAF/CV não apresentaram sinal significativo de oxidação para CYS na faixa de potencial avaliada. Por outro lado, para os eletrodos incorporados com CoPc, um pico de oxidação em -0,05 V foi notado e atribuído à oxidação do CYS. Como mencionado anteriormente, o processo Co(III)Pc/Co(II)Pc não gera uma onda observável devido à sua cinética de transferência de elétrons, no entanto, essa reação redox ocorre no eletrodo. A oxidação de Co(II)Pc resulta na formação de Co(III)Pc, e esta última espécie induz a oxidação de CYS. Além disso, todos os processos redox em pH 13 ocorrem de acordo com as equações 3 a 5 (MAREE; NYOKONG, 2000). Como a oxidação do CYS resulta na regeneração do compósito inicial, formando Co(II)Pc eq. 4, a onda referente ao processo Co(III)Pc para Co(II)Pc não é observada, explicando a forma

da onda catalítica. Desta forma, o potencial de oxidação do CYS está relacionado ao potencial de oxidação do Co(II) no compósito CoPc/CBSP como segue:



O eletrodo CoPc/NAF/CV apresentou uma corrente de pico duas vezes maior que o CV, porém, o eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV apresentou um aumento abrupto na corrente de pico de oxidação CYS (12 vezes) em relação ao eletrodo CoPc/NAF/CV. Essas observações indicam que o eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV pode oferecer maior sensibilidade à detecção de CYS. Além disso, o eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV permitiu a oxidação de CYS usando menor potencial de oxidação inicial, o que pode ser explicado pela excelente atividade eletrocatalítica das espécies CoPc combinada com a condutividade de CBSP.

Para investigar a influência da concentração do compósito escolhido para a preparação do sensor eletroquímico, foram avaliadas as proporções de CBSP e CoPc de 1:2, 1:1, 2:1 e 4:1 (massa/massa). Conforme mostrado na Figura 13.c, os resultados indicaram que a melhor resposta foi obtida com a proporção de 4:1, que apresentou a maior corrente de pico. Este resultado indica o aumento da sensibilidade para oxidação de L-cisteína em CoPc/CBSP/NAF/CV nesta proporção CBSP:CoPc (4:1) e, portanto, essa concentração foi escolhida para a preparação do eletrodo. Por outro lado, maiores concentrações de CoPc no compósito (1:2) produziram respostas mais baixas em comparação com proporções envolvendo uma maior proporção de concentração de CBSP (4:1 e 2:1). Isso sugere que grandes quantidades de CoPc podem criar uma barreira para as interações eletrocatalíticas necessárias para gerar sinais de corrente mais significativos, bem como menor energia potencial necessária no sistema sensorial para detecção de cisteína, devido à sua menor atividade condutiva, o que aumenta a resistência na transferência de carga (YUAN; WANG; CAI; PENG *et al.*, 2019).

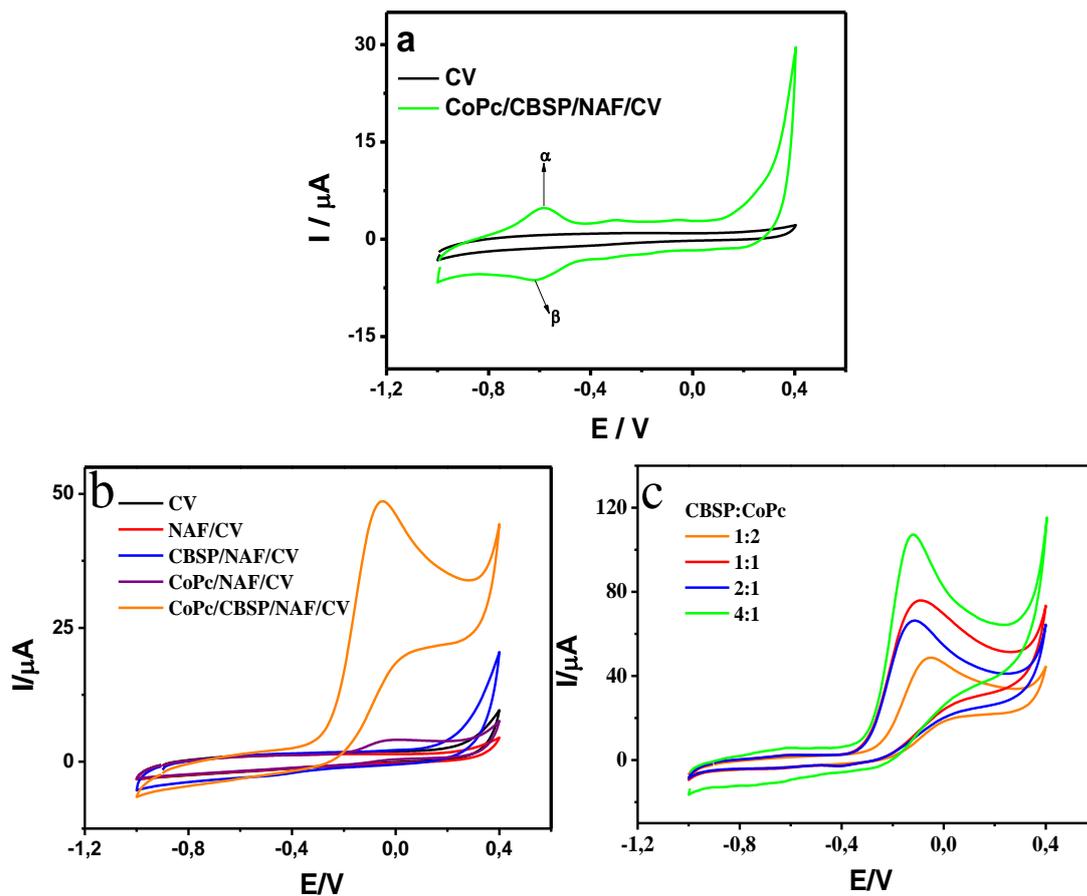


Figura 13: (a) VCs registrados nos eletrodos CV e CoPc/CBSP/NAF/CV, na ausência de CYS usando NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito de suporte, numa taxa de varredura de 50 mV s^{-1} , onde α : Co(I)Pc/Co(II)Pc e β : Co(II)Pc/Co(I)Pc (b) CVs obtidos na presença de CYS 10 mmol L^{-1} nos eletrodos GC, NAF/CV, CBSP/NAF/CV, CoPc/NAF/CV, CoPc/CBSP/NAF/CV (1:2); (c) VCs registrados na presença de CYS 10 mmol L^{-1} no eletrodo CoPc/CBSP/NAF/GC em diferentes proporções CBSP:CoPc (1:2, 1:1, 2:1 e 4:1)..

5.2.3. Estudos de pH e velocidade de varredura.

Como parâmetro importante, o valor do pH do eletrólito de suporte pode afetar a resposta eletroquímica da CYS e, assim, influenciar sua quantificação. Assim, a oxidação de CYS foi avaliada através dos sinais obtidos pelo registro de VCs na presença de 10 mmol L^{-1} CYS usando tampão BR $0,12 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 2,0 a 12,0) e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ NaOH (pH 13,0), como os eletrólitos de suporte (Figura 14a).

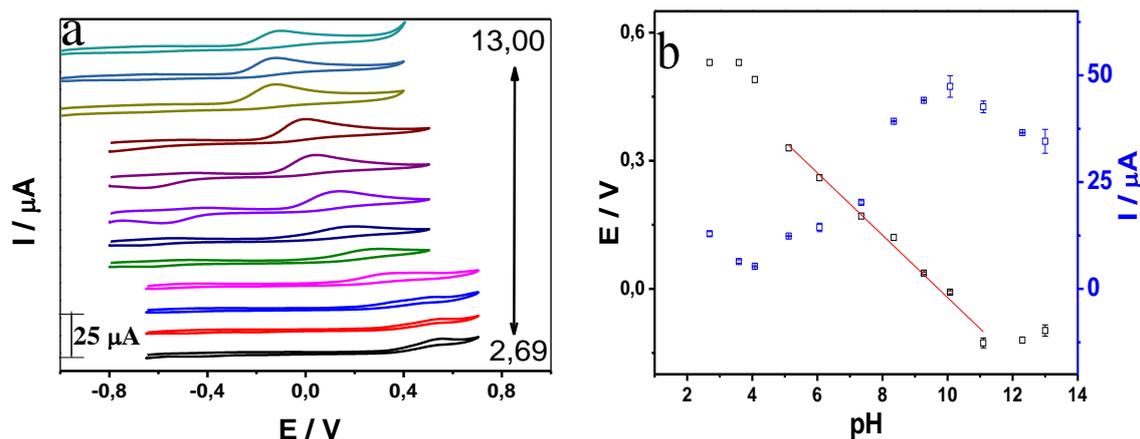


Figura 14: a: Estudo do efeito do pH. (a) CVs obtidos na presença de CYS 5 mmol L⁻¹ usando eletrodo CoPC/CBSP/NAF/CV. Eletrólito de suporte: tampão BR 0,12 mol L⁻¹ com diferentes valores de pH (2,69-preto, 3,59-vermelho, 4,08-azul, 5,12-rosa, 6,07-verde, 7,35-azul marinho, 8,35-roxo, 9,27-magenta, 10,08-marrom, 11,1-amarelo e 12,3-cinza) e NaOH 0,1 mol L⁻¹ (pH 13,0-ciano) a uma taxa de varredura de 50 mV s⁻¹; (b) valores de potencial de pico (E; quadrados pretos) e corrente de pico (I; quadrados azuis) da oxidação de CYS versus pH, coeficiente de correlação linear (R²) = 0,9879.

Como pode ser visto, o sinal referente a oxidação da CYS mudou para valores de potencial mais negativos com o aumento do pH do eletrólito de suporte, isso se deve à diminuição do potencial redox do par Co(III)PC/Co(II)Pc que segue a mesma mudança de pH (GULPPI; PAEZ; COSTAMAGNA; CÁRDENAS-JIRÓN *et al.*, 2005). Este comportamento mostra que os prótons estão envolvidos na oxidação do CYS. Uma dependência linear entre o potencial de pico e o pH foi alcançada, e é dada por $E_p = 0,709 - 0,072 \text{ pH}$, que, relacionado à equação de Nernst, sugere que o número de prótons envolvidos no mecanismo de oxidação do CYS é igual ao número de elétrons (CABRAL; SOUZA; ALVES; MACHADO, 2003).

Avaliando o comportamento da corrente de pico em função do pH, observou-se uma corrente de pico máxima em pH 10,08, onde a corrente observada foi de 47,38 μA conforme Figura 14.b, mas o potencial máximo de oxidação foi de -0,008 V. Foi observado a diminuição da corrente em pH 13, em contrapartida houve um ganho de energético de 0,09 V. Assim, o pH do eletrólito suporte foi definido como aquele que apresentasse um sinal decorrente elevado, um ganho de energia para o estudo e a facilidade de preparo da solução, e por isso foi selecionado o NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Na sequência, o efeito da velocidade de varredura (v) na oxidação da CYS foi avaliado em uma faixa entre 30 e 100 mV s⁻¹ (Figura 15.a). Essa faixa linear foi definida pelo motivo de antes de 30 mV s⁻¹ e depois de 100 mV s⁻¹ existir perda de linearidade que podem ser atribuídos a área do eletrodo e sua porosidade. Como pode ser visto, os resultados ilustram uma dependência linear da corrente de pico (I_p) com a raiz

quadrada da taxa de varredura (Figura 15b), bem como uma relação linear do logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da taxa de varredura (Figura 15.c), com um valor de inclinação próximo a 0,5, o que sugere que essas características são de um processo químico irreversível sob controle difusional (ZHANG, 2008)

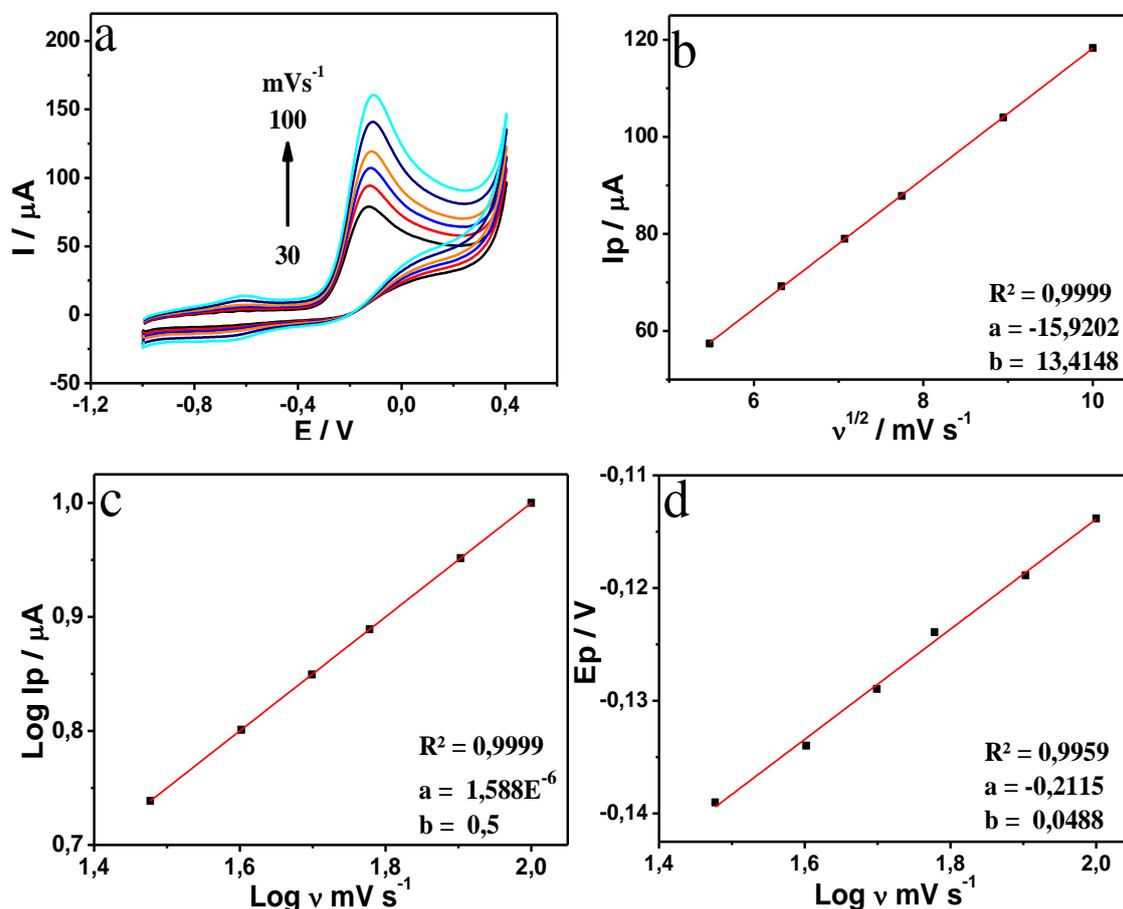


Figura 15: a: (a) VCs no eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV em 0,1 mol L⁻¹ NaOH contendo 10 mmol L⁻¹ CYS em diferentes taxas de varredura (da parte inferior: 30, 40, 50, 60, 80, 100 mV s⁻¹). (b) o gráfico da densidade de corrente de pico de oxidação versus a raiz quadrada da taxa de varredura. (c) o gráfico apresentando a relação linear entre log Ip e v. (d) o gráfico apresentando a relação linear entre Ep e log v. Todos os dados para obtenção das relações lineares foram obtidos do gráfico a

Para estimar o processo totalmente irreversível de oxidação da cisteína na superfície do eletrodo modificado, o número de transferência de elétrons pode ser expresso pela equação de Laviron modificada, para reações irreversíveis (Equação 6) (KARIM-NEZHAD; HASANZADEH; SAGHATFOROUSH; SHADJOU *et al.*, 2009):

$$E_p - E^{\circ} = \frac{2,303.R.T}{(1-\alpha).n.F} \quad \text{Equação 6}$$

Onde $E_p - E^{\circ}$ representa o potencial formal, n é o número de elétrons transferidos, α é o coeficiente de transferência de elétrons (para sistemas ideais = 0,5), F é a constante de Faraday (96500 C mol⁻¹), R é a constante do gás (8,314 mol⁻¹ K⁻¹) a

298,15 K representado por T. Através da combinação da Equação (6) com a inclinação extraída da Figura 15.d, estima-se que o valor do número de elétrons transferidos seja de aproximadamente de dois elétrons por molécula de CYS oxidada conforme as equações 3-5 onde duas moléculas de cisteína se oxidam resultando uma molécula de cistina.

5.3. Espectroscopia de Impedância eletroquímica

A EIE foi aplicada para descrever as características cinéticas dos íons e elétrons na interface eletrodo-eletrólito a partir de sua resistência interna, como é mostrado na Figura 19. Foi realizada com CoPc/CBSP na presença de Náfion em comparação com eletrodos modificados de diferentes formas para comparação, conduzidos em potencial de circuito aberto (OCP). O ajuste dos espectros foi realizado utilizando o circuito elétrico equivalente de Randles, que compreende a resistência do eletrólito (acerca de 34 Ω), em série com uma combinação paralela de resistência de transferência de carga interfacial (R_{tc}), difusão de analitos em solução (Z_w) e sua impedância de Warburg correspondente (linha reta da curva de Nyquist) e elemento de fase constante (CPE).

A Figura 16 mostra o espectro de impedância de plano completo ou gráficos de Nyquist desenhados pela parte imaginária Z'' em função da parte real Z' . Como observado na Figura 19, os diagramas de Nyquist dos eletrodos CV, NAF/CV, CBSP/NAF/CV, CoPc/NAF/CV, e CoPc/CBSP/NAF/CV exibem tendências diferentes. As resistências ôhmicas (R_{tc}) obtidas para os eletrodos CV, NAF/CV, CBSP/NAF/CV, CoPc/NAF/CV, e CoPc/CBSP/NAF/CV foram 267 Ω , 1540 Ω , 23,2 Ω , 547 Ω e 30 Ω , respectivamente. Os valores encontrados representam as resistências ôhmicas do total da célula do ânodo para o cátodo, incluindo solução e eletrodo modificado com o catalisador. A célula apenas se diferiu em relação aos catalisadores, possuindo a mesma solução ($K_3[Fe(CN)_6]$ 5 mmol L⁻¹ e $K_4[Fe(CN)_6]$ 5 mmol L⁻¹ em solução KCl 0,5 mol L⁻¹). Na região de alta frequência, é possível identificar a quase ausência do semicírculo característico dessa região para o eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV, indicando a baixa resistência interna deste catalisador em comparação com os eletrodos CV, NAF/CV, CBSP/NAF/CV, CoPc/NAF/CV, sugerindo uma boa condutividade do catalisador, visto que, menos energia foi desprendida para realizar o processo de transferência de carga, sobre o qual, promove uma cinética mais rápida para eletrooxidação de CYS. Previsivelmente, a R_{tc} encontrada para o eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV é maior que a encontrada para o eletrodo CBSP/NAF/CV, com uma diferença de 6,8 Ω , devido à

presença de CoPc (CINTI; NEAGU; CARBONE; CACCIOTTI *et al.*, 2016), sobre o qual foi possível confirmar através do eletrodo CoPc/NAF/CV uma resistência maior em relação ao CBSP/NAF/CV, sugerindo que apenas a incorporação de CoPc como catalisador aumenta a resistência na interface eletrodo-eletrólito.

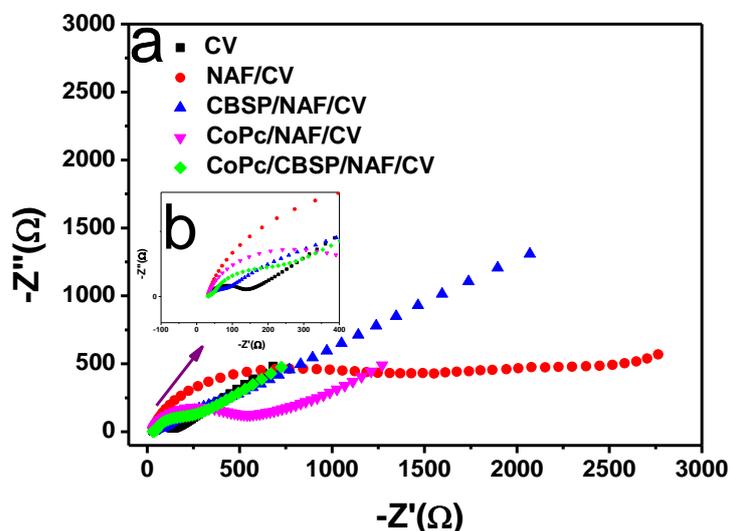


Figura 16: (a) Gráfico de Nyquist para um comparativo das impedâncias e (b) Gráfico de Nyquist para um comparativo das impedâncias na região de alta frequência.

5.4. Otimização e aplicação real da metodologia pela técnica amperométrica utilizando o sistema BIA.

5.4.1. Performance analítica do sensor para CYS

O material CoPc/CBSP/NAF/CV foi avaliado pelo sistema BIA com detecção amperométrica para quantificação de CYS. Essa técnica foi escolhida devido à sua versatilidade e portabilidade, características importantes para análise de rotina. Injeções de alto rendimento na superfície do eletrodo podem avaliar a estabilidade da superfície modificada (ROCHA; CARDOSO; TORMIN; DE ARAUJO *et al.*, 2018). Sobre este aparato instrumental, uma micropipeta eletrônica conectada à célula BIA fornece injeções de microlitros em vazões de até $300 \mu\text{L s}^{-1}$ diretamente na superfície do eletrodo de trabalho em uma configuração de jato na parede (*wall-jet*).

Visando melhores respostas analíticas, seletividade e menor consumo de reagente/amostra, os parâmetros do sistema BIA (potencial aplicado, volume de injeção e velocidade de injeção) foram otimizados. Uma solução CYS padrão ($62 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi usada para este estudo. A primeira etapa deste estudo avaliou o comportamento da oxidação eletroquímica da CYS em condições hidrodinâmicas aplicando um potencial de $-0,2$ a $+0,2$ V (Figura 17.a). A oxidação eletroquímica de CYS começou em $-0,1$ V atingindo a corrente máxima em $+0,1$ V, que foi

selecionada. Em relação ao volume de injeção (Figura 17.b), a corrente de pico aumentou significativamente quando passou de 25 para 75 μL e permaneceu relativamente constante entre 75 e 200 μL . No entanto, foi observado um tempo de lavagem mais longo do eletrodo com volumes injetados maiores (restabelecimento da corrente de fundo foi mais longo). Visando alta resposta analítica associada à rápida lavagem da superfície do eletrodo e baixo consumo de amostra, o volume de injeção de 75 μL foi escolhido para medições posteriores. Os resultados da velocidade de injeção (Figura 17.c) mostram que a resposta amperométrica do CYS aumentou em toda a faixa estudada. Valores altos da velocidade de injeção geraram sinais de corrente de pico mais altos; no entanto, a corrente de pico aumentou significativamente quando foi aumentada de 17 para 166 $\mu\text{L s}^{-1}$ e permaneceu relativamente constante entre 166 e 300 $\mu\text{L s}^{-1}$, porém maiores valores de RSD foram verificados quando maiores taxas de aplicação foram injetadas. Visando alta resposta analítica associada a boa precisão, a velocidade de injeção de 166 $\mu\text{L s}^{-1}$ foi escolhida para medições posteriores. Neste trabalho, o sistema não exigiu agitação da solução dentro da célula BIA, o que indica um rápido processo de transferência de elétrons entre CYS e a interface CoPc/CBSP/NAF/GC, bem como a ausência de adsorção dos produtos redox na superfície do eletrodo.

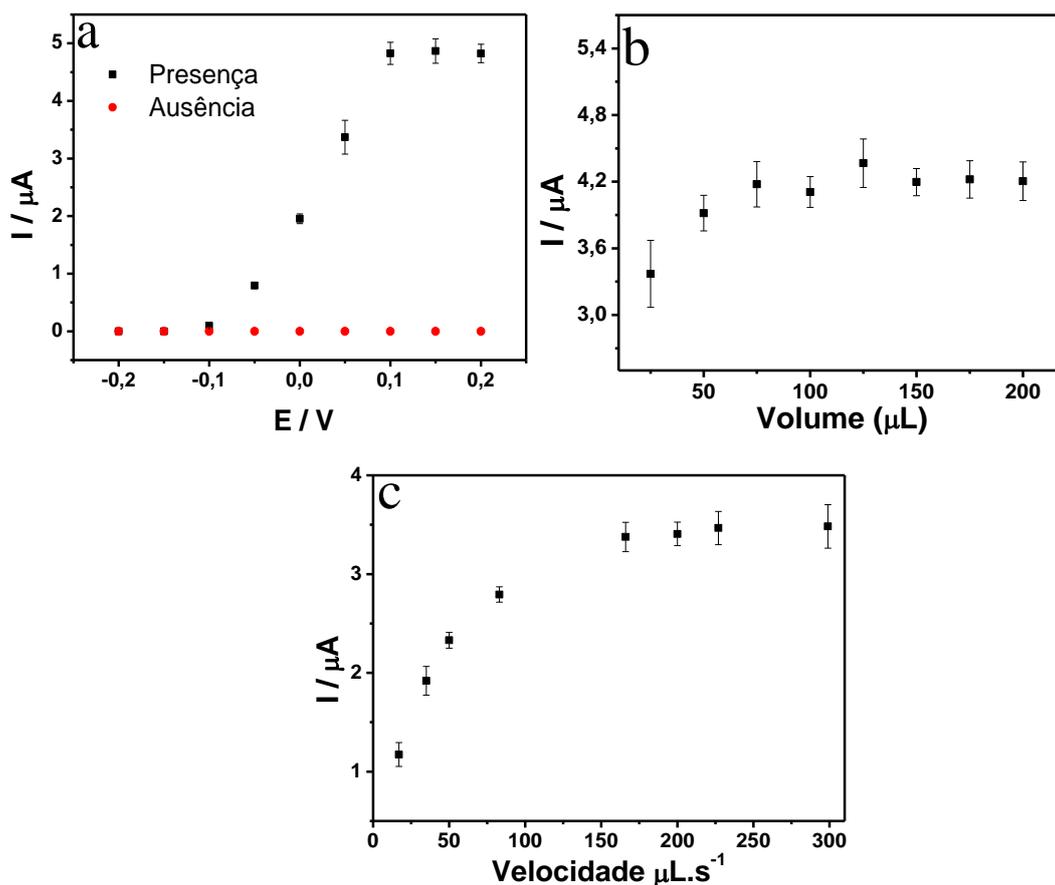


Figura 17: a: voltamograma hidrodinâmico obtido com o sistema EGC-CBSP-CoPc-BIA pela técnica amperométrica com injeções de $62 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína em eletrólito suporte de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; b: avaliação do volume de injeção (25-200 μL) no sistema BIA com detecção amperométrica em triplicata para detecção de $62 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína; c: avaliação da velocidade de injeção da micropipeta (16,9 - 299 $\mu\text{L s}^{-1}$) com injeção de volume de 75 μL no sistema BIA com detecção amperométrica triplicada para detecção de $62 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína.

5.4.2. Estudo de repetibilidade de injeção e reprodutibilidade de modificação.

Para estabilidade do método proposto, usando as condições pré-estabelecidas, a precisão da resposta eletroquímica do sensor proposto foi investigada por injeções sucessivas ($n = 20$) de CYS em dois níveis de concentração 10 e $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 18.a, 18.b). Valores de RSD de 11 e 5%, respectivamente, atestam a precisão das medidas eletroquímicas. A reprodutibilidade do processo de modificação via drop-casting também foi verificada. Para isso, quatro ($n = 4$) processos de modificação foram executados, e em cada eletrodo modificado, dez ($n = 10$) medições consecutivas usando $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS foram realizadas (Figura 18.c). Um valor RSD de 13,5% indicou que o processo de modificação da superfície é razoavelmente reprodutível (Figura 18.d).

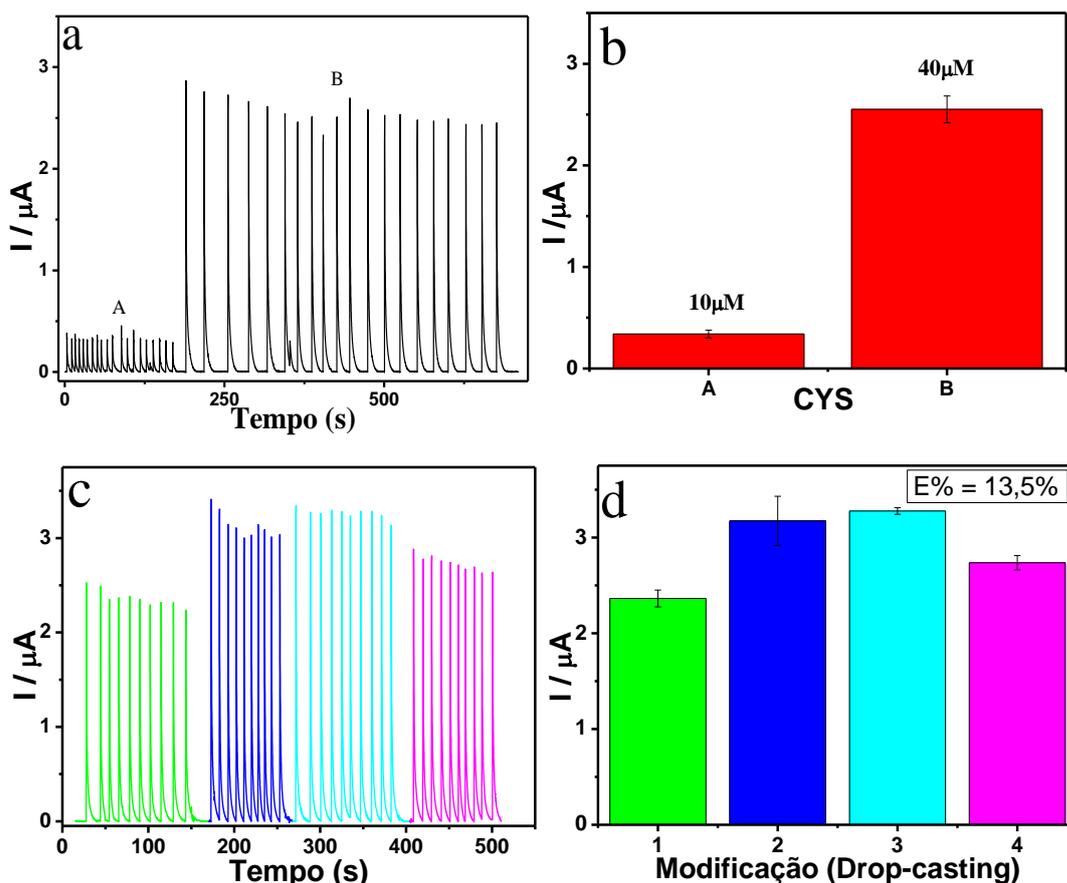


Figura 18: a: Avaliação da repetibilidade da injeção de $75 \mu\text{L}$ a uma taxa de injeção de $227 \mu\text{L s}^{-1}$ no sistema BIA com detecção amperométrica para detecção de 10 e $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína, b: respectiva corrente da repetibilidade com o erro para o 10 e detecções de cisteína de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$, c: avaliação da repetibilidade da modificação, a uma taxa de injeção de $227 \mu\text{L s}^{-1}$ no sistema BIA com detecção amperométrica para detecção de $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína ($n = 10$ para cada modificação), d: avaliação respectiva de a repetibilidade da mudança com o erro total das 4 mudanças.

5.4.3. Curva analítica e comparação com outros métodos

Curvas de calibração foram preparadas com níveis ascendentes e descendentes de concentração de CYS na faixa de (a) $1,0$ a (j) $150,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ para examinar a linearidade e os efeitos de memória após injeções consecutivas de soluções padrão de CYS (Figura 19a). Na direção crescente (a - j), a equação linear obtida foi $I (\mu\text{A}) = 0,5039 + 0,0564 [\text{CYS} (\mu\text{mol L}^{-1})]$, $R^2 = 0,9901$, enquanto na direção decrescente (j - a) a equação linear obtida foi $I (\mu\text{A}) = 0,2042 + 0,0514 [\text{CYS} (\mu\text{mol L}^{-1})]$, $R^2 = 0,9953$. Valores de inclinação semelhantes ($0,0564$ e $0,0514 \mu\text{mol}^{-1} \text{L} \mu\text{A}$) sugerem a ausência de efeito de memória na superfície do eletrodo CoPc/CBSP/NAF/CV e mostram que no decorrer das sessenta injeções sobre a superfície do eletrodo houve uma perda de sensibilidade de apenas $8,9\%$. Os limites de quantificação (LOQ) e de detecção (LOD) foram respectivamente estimados através das equações 8 e 9:

$$\text{LOQ}=10\sigma/s \text{ (8)}$$

$$\text{LOD}=3\sigma/s \text{ (9)}$$

Onde s corresponde ao coeficiente angular da reta obtida na curva analítica da Figura 19.b, e σ corresponde ao desvio padrão do branco, portanto, calculado segundo as normas da IUPAC (MOCÁK; BOND; MITCHELL; SCOLLARY, 1997). Os valores de LOD e LOQ foram estimados em $0,133 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,445 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. A Tabela 2 resume os parâmetros para quantificação de CYS usando o sensor CoPc/CBSP/NAF/CV acoplado no sistema BIA com detecção amperométrica.

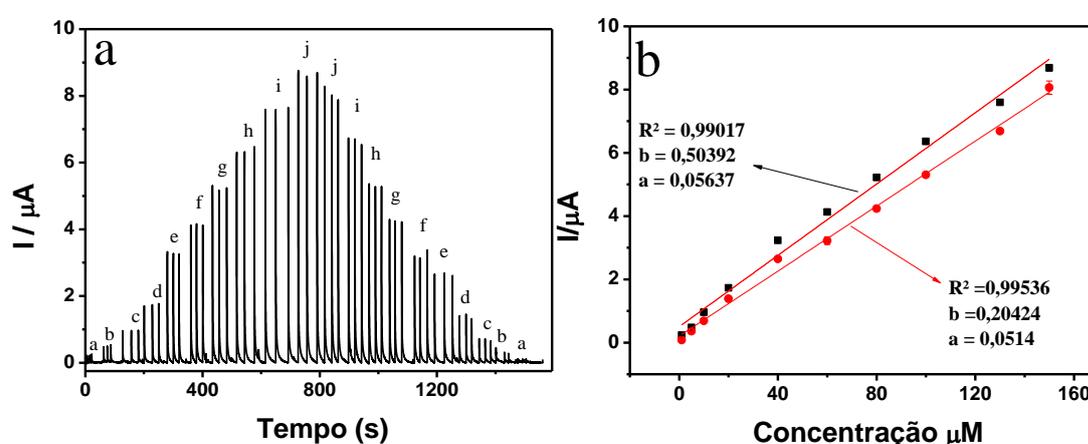


Figura 19: (a): Avaliação do efeito memória e curva de calibração (a)1, (b)5, (c)10 (d) 20, (e) 40, (f) 60, (g) 80, (h) 100, (i) 130, (j) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$, potencial aplicado 0,1 V vs Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}), volume de injeção 75 μL e taxa de injeção de 227 $\mu\text{L s}^{-1}$. O eletrólito suporte foi NaOH 0,1 mol L^{-1} . (b):Respectivas curvas de calibração (sensibilidade: 0,0564 e 0,0514 para injeções em ordem crescente e decrescente de concentração, respectivamente).

Tabela 2: Parâmetros analíticos para a quantificação amperométrica BIA de CYS usando sensor CoPc/CBSP/NAF/GC.

Parametros Analíticos	Valores
LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,133
LOQ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,445
Sensibilidade ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	0,05637
Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	1 – 150
RSD% (n = 20)	11*/5**
Reprodutibilidade%	96***

* Estudo de repetibilidade usando solução 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS,

** Estudo de repetibilidade usando solução 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS

*** Estudo de reprodutibilidade usando 4 modificações

O desempenho analítico do sensor desenvolvido foi comparado a outros sensores eletroquímicos não enzimáticos relatados na literatura para determinação de CYS (Tabela 3). Muitos dos sensores também exigiram modificação de superfície com nanomateriais à base de carbono (nanotubos e grafeno) e metálicos (ouro, paládio e titânio), que aumentam o número de sítios ativos. No entanto, esses materiais são caros e o processo de modificação é trabalhoso (envolve várias etapas) e demorado. Ao contrário, a proposta de modificação CoPc/CBSP/NAF/GC é simples, rápida, de baixo custo e, aliada ao sistema BIA, permite a promissora ferramenta de alto rendimento (injeção de aproximadamente 150 análises por hora) (ROCHA; CARDOSO; TORMIN; DE ARAUJO *et al.*, 2018). Este sensor apresentou ainda uma faixa linear ampla, LOD semelhante a outros sensores e excelente seletividade (potencial de análise de 0,1 V), permitindo aplicação satisfatória em amostras de fármacos.

Tabela 3: Comparação das características analíticas obtidas pelo método BIA e métodos eletroanalíticos anteriores para a determinação de CYS.

Eletródo	Eletrólito	Técnica	Sensibilidade ($\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1} \text{cm}^{-2}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	FL ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref
CoPc/CBSP/NAF/CV	NaOH 0,1 mol L ⁻¹	BIA-AMP	0,7973	0,133	1 – 150	Esse trabalho
20% Pd@Ti3C2Tx-CV	TF 0,1 mol L ⁻¹ pH 7	AMP	5,71	0,140	0,5 – 10	(RASHEED; PANDEY; JABBAR; PONRAJ <i>et al.</i> , 2019)
Au-Cu@CuxO NWs	TF 0,1 mol L ⁻¹	AMP	2,945	1,250	1,25 – 1940	(LE; TRAN; LUYEN DOAN; KIM <i>et al.</i> , 2019)
Cu ²⁺ -phen-dione@ERGO-CV	TF 0,1 mol L ⁻¹ pH 7	AMP	0,0127	2,000	10 – 32,344	(KUMAR; BAYNOSA; SHIM, 2019)
Pt-Fe3O4/rGO-GC	NaOH 0,1 mol L ⁻¹	DPV	103,95	10,100	100 – 1000	(WANG; WANG; LI; LIU <i>et al.</i> , 2016)

Abreviações: LOD: Limite de Detecção; Ref: referências; FL: Faixa linear TF: Tampão Fosfato; BIA-AMP: análise por injeção em batelada pela técnica eletroquímica de amperometria; AMP: técnica eletroquímica de amperometria, DPV: voltametria de pulso diferencial. 20% Pd@Ti3C2Tx-GC: nanopartículas de paládio MXene-, Au-Cu@CuxO NWs: nanofios de óxido de cobre nanopontos de ouro revestidos com matrizes, Cu²⁺-fen-diona@ERGO-GC: cobre 1,10-fenantrolina-5,6- dione@óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente modificado e Pt-Fe3O4/rGO-GC: nanocompósito de platina, magnetita e óxido de grafeno reduzido.

5.4.4. Seletividade do sensor

Para aplicação do sensor em uma amostra complexa, como no caso de uma amostra biológica, é necessário um estudo de interferentes. Algumas possíveis interferências biológicas, como glicose, ureia, lisina, ácidos úrico e ascórbico, foram avaliadas usando uma relação (1:1) entre CYS e agente interferente no nível de concentração de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$, conforme mostrado na Figura 20.a. Apenas o ácido úrico influenciou significativamente as respostas do CYS (aumento em torno de 200%) e pode ser considerado uma espécie potencialmente interferente na quantificação do CYS pelo método proposto (Figura 20.b). As demais espécies causaram variações menores que 19% na resposta do CYS, demonstrando uma seletividade adequada.

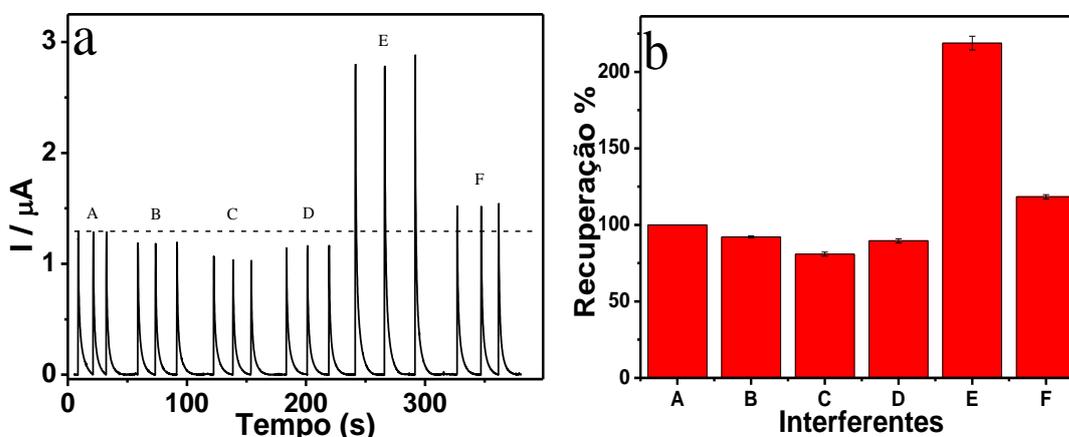


Figura 20: a: Estudo dos interferentes na concentração de $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cisteína mais $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ do interferente; A: Cisteína, B: Cisteína mais Glucose, C: Cisteína mais Uréia, D: Cisteína mais Lisina, E: Cisteína mais Ácido Úrico, F: Cisteína mais Ácido Ascórbico, b: respectiva porcentagem de sinal dos interferentes.

5.4.5. Aplicação do sensor em amostra real

Para demonstrar a aplicabilidade do método, duas amostras farmacêuticas (A e B) foram analisadas (Figuras 21). Estudos de adição/recuperação em dois níveis de concentração (20 e $40 \mu\text{mol L}^{-1}$) também foram conduzidos para avaliara a exatidão do método proposto, e valores de recuperação entre 89 e 110 % indicaram ausência de efeito de matriz (Tabela 4). Para confirmar a confiabilidade dos resultados eletroquímicos, as amostras também foram submetidas à análise de eletroforese capilar (EC) usando um método previamente relatado para quantificação de CYS (TAO; ZHANG; WANG; WANG *et al.*, 2012). Como pode ser visto na Tabela 5, foram encontrados níveis de CYS próximos aos fornecidos pelos fabricantes (300 mg). Além disso, os resultados eletroquímicos foram comparados estatisticamente com os obtidos pela EC por meio do teste t de Student pareado. Como o valor t_{calc} (1,881 e 0,000) foi inferior ao t_{crit} (2,78) ao

nível de confiança de 95%, não há evidências de diferenças significativas no nível de confiança entre os resultados, confirmando a confiabilidade das análises pelo método desenvolvido.

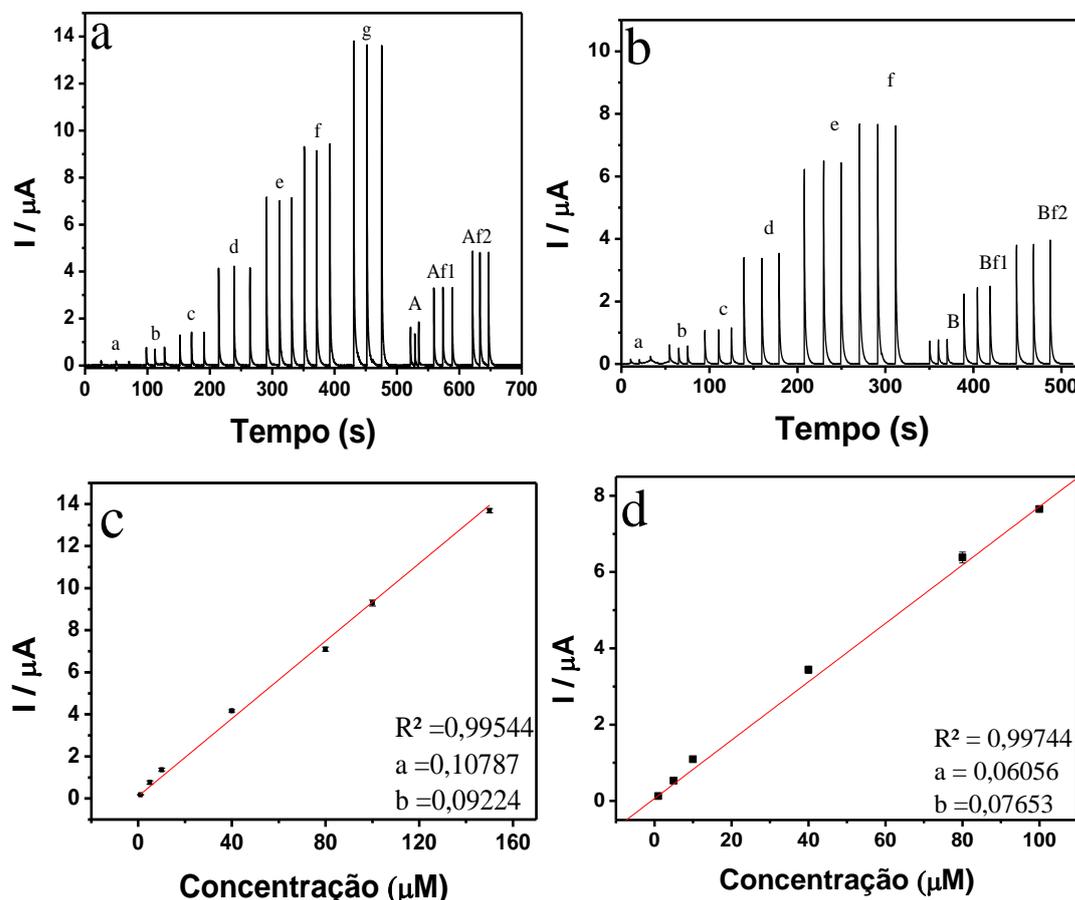


Figura 21: a: Amperograma para determinação de cisteína pelo sistema BIA em amostra de fármaco cisteína (A) e duas enriquecidas (AF1, AF2). Curva analítica (a) 1, (b) 5, (c) 10, (d) 40, (e) 80, (f) 100 e (g) 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$. b: Amperograma para determinação de cisteína pelo sistema BIA em amostra de fármaco cisteína (B) e duas enriquecidas (BF1, BF2). Curva analítica (a) 1, (b) 5, (c) 10, (d) 40, (e) 80 e (f) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ potencial aplicado 0,1V Vs Ag/AgCl (KCl 3 mol L^{-1}), injeção volume de 75 μL e taxa de injeção de 227 $\mu\text{L. s}^{-1}$. O eletrólito suporte foi NaOH 0,1 mol L^{-1} . c: respectiva curva analítica para as injeções triplicadas do gráfico a; d: respectiva curva analítica para as injeções triplicadas do gráfico b.

Tabela 4: Valores de concentração e porcentagens de recuperação obtidos para CYS em amostras de fármacos.

Amostra	Concentração ^a ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ^a ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperado (%)
Fármaco 1	16.5 \pm 1,1	20	35.6 \pm 0,2	96
		40	52.0 \pm 0,4	89
Fármaco 2	9.1 \pm 0,3	20	31.1 \pm 1,7	110
		40	49.1 \pm 1,1	99

^a Resultados apresentados como valor médio \pm sd (n = 3).

Tabela 5: Resultados comparativos obtidos usando o método proposto de BIA e EC para quantificar CYS em amostras de fármacos.

Amostra	Tabelado (mg/ comprimido)	BIA (mg/comprimido)	EC (mg/ comprimido)	Er
A*	300	300 ± 23	316 ± 8	-5,3
B**	300	303 ± 12	303 ± 6	0,0

n = 3, nível de confiança 95% (t_{calc} 1,881*; $0,000^{**} < t_{crit}$ 2,78).

Er (Erro relativo — BIA vs. referência).

6. CONCLUSÃO

Foi demonstrado que o sensor eletroquímico proposto CoPc/CBSP/NAF/GC apresentou desempenho adequado para detecção de CYS. Tal superfície facilitou consideravelmente a oxidação do CYS, devido aos efeitos de aumento de sensibilidade causados pelas espécies CoPc e pelo aumento da condutividade elétrica causado pelo CBSP. O composto formado (CoPc/CBSP) é barato, facilmente preparado e altamente estável na superfície do CV, mesmo sob condições de fluxo alto (60 injeções na superfície da modificação diminuíram em 8,9% a sensibilidade). Combinado com o sistema BIA com detecção amperométrica, o método proposto permitiu que CYS fosse quantificada em amostras farmacêuticas. Resultados estatisticamente semelhantes aos obtidos por eletroforese capilar destacam a confiabilidade das análises. Portanto, o material compósito proposto aqui pode ser útil para quantificar outras moléculas, criando assim uma nova geração de plataformas de detecção inteligente.

7. REFERÊNCIAS

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. Fundamentals and applications. **Electrochemical methods**, 2, n. 482, p. 580-632, 2001.

BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Photosynthesis research**, 101, p. 157-170, 2009.

BORAH, D.; SATOKAWA, S.; KATO, S.; KOJIMA, T. Characterization of chemically modified carbon black for sorption application. **Applied Surface Science**, 254, n. 10, p. 3049-3056, 2008.

BROWNSON, D. A.; KAMPOURIS, D. K.; BANKS, C. E. Graphene electrochemistry: fundamental concepts through to prominent applications. **Chemical Society Reviews**, 41, n. 21, p. 6944-6976, 2012.

BURMISTROVA, D. A.; GALUSTYAN, A.; SMOLYANINOV, I. V.; BERBEROVA, N. T. Substituted o-Aminophenols as Redox-Mediators in the Thiol Oxidation to Unsymmetrical Disulfides. **Journal of The Electrochemical Society**, 168, n. 5, p. 055501, 2021.

CABRAL, M.; SOUZA, D. D.; ALVES, C.; MACHADO, S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. **Eclética Química**, 28, p. 41-47, 2003.

CARVALHO, L. A. D.; ANDRADE, A. R. D.; BUENO, P. R. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis. **Química Nova**, 29, p. 796-804, 2006.

CHEN, L.; SAGAR, R. U. R.; CHEN, J.; LIU, J. *et al.* Cobalt phthalocyanine as an efficient catalyst for hydrogen evolution reaction. **International Journal of Hydrogen Energy**, 46, n. 37, p. 19338-19346, 2021/05/28/ 2021.

CHO, I.; CHOI, J.; KIM, K.; RYOU, M.-H. *et al.* A comparative investigation of carbon black (Super-P) and vapor-grown carbon fibers (VGCFs) as conductive additives for lithium-ion battery cathodes. **Rsc Advances**, 5, n. 115, p. 95073-95078, 2015.

CHOI, J.; WAGNER, P.; GAMBHIR, S.; JALILI, R. *et al.* Steric modification of a cobalt phthalocyanine/graphene catalyst to give enhanced and stable electrochemical CO₂ reduction to CO. **ACS Energy Letters**, 4, n. 3, p. 666-672, 2019.

CINTI, S.; NEAGU, D.; CARBONE, M.; CACCIOTTI, I. *et al.* Novel carbon black-cobalt phthalocyanine nanocomposite as sensing platform to detect organophosphorus pollutants at screen-printed electrode. **Electrochimica Acta**, 188, p. 574-581, 2016.

DA SILVA, I. S.; ARAÚJO, M. F. A.; FERREIRA, H. A.; VARELA JR, J. D. J. G. *et al.* Quantification of N-acetylcysteine in pharmaceuticals using cobalt phthalocyanine modified graphite electrodes. **Talanta**, 83, n. 5, p. 1701-1706, 2011.

DE FARIA, D. L. A.; AFONSO, M. C.; EDWARDS, H. G. Espectroscopia Raman: uma nova luz no estudo de bens culturais. **Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia**, 12, p. 249, 2002.

DE JESUS GUEDES, T.; PIO DOS SANTOS, W. T. Fast and simple electrochemical analysis kit for quality control of narrow therapeutic index drugs. **Electroanalysis**, 30, n. 8, p. 1740-1749, 2018.

FAN, Y.; FOWLER, G. D.; ZHAO, M. The past, present and future of carbon black as a rubber reinforcing filler—A review. **Journal of Cleaner Production**, 247, p. 119115, 2020.

FRANCISCO, K. J. M.; DO LAGO, C. L. A compact and high-resolution version of a capacitively coupled contactless conductivity detector. **Electrophoresis**, 30, n. 19, p. 3458-3464, 2009.

GHORAI, U. K.; PAUL, S.; GHORAI, B.; ADALDER, A. *et al.* Scalable production of cobalt phthalocyanine nanotubes: efficient and robust hollow electrocatalyst for ammonia synthesis at room temperature. **ACS nano**, 15, n. 3, p. 5230-5239, 2021.

GNANAMUTHU, R. M.; LEE, C. W. Electrochemical properties of Super P carbon black as an anode active material for lithium-ion batteries. **Materials Chemistry and Physics**, 130, n. 3, p. 831-834, 2011.

GUAN, L.; YU, L.; CHEN, G. Z. Capacitive and non-capacitive faradaic charge storage. **Electrochimica Acta**, 206, p. 464-478, 2016.

GUILLAUD, G.; SIMON, J.; GERMAIN, J. Metallophthalocyanines: Gas sensors, resistors and field effect transistors. **Coordination Chemistry Reviews**, 178, p. 1433-1484, 1998.

GULPPI, M. A.; PAEZ, M. A.; COSTAMAGNA, J. A.; CÁRDENAS-JIRÓN, G. *et al.* Inverted correlations between rate constants and redox potential of the catalyst for the electrooxidation of 2-aminoethanethiol mediated by surface confined substituted cobalt-phthalocyanines. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 580, n. 1, p. 50-56, 2005/06/15/ 2005.

GUTH, U.; VONAU, W.; ZOSEL, J. Recent developments in electrochemical sensor application and technology—a review. **Measurement Science and Technology**, 20, n. 4, p. 042002, 2009/01/27 2009.

HAN, B.; YUAN, J.; WANG, E. Sensitive and selective sensor for biothiols in the cell based on the recovered fluorescence of the CdTe quantum dots– Hg (II) system. **Analytical chemistry**, 81, n. 13, p. 5569-5573, 2009.

HAN, J.; BIAN, J.; SUN, C. Recent advances in single-atom electrocatalysts for oxygen reduction reaction. **Research**, 2020, 2020.

HARRIS, D. Análise Química Quantitativa. 8ª Edição. LTC–Livros Técnicos e Científicos Editora Lda. 2012.

ISMAIL, A.; D'ORLYÉ, F.; GRIVEAU, S.; BEDIQUI, F. *et al.* Capillary electrophoresis coupled to contactless conductivity detection for the analysis of S-nitrosothiols decomposition and reactivity. **Electrophoresis**, 36, n. 16, p. 1982-1988, 2015.

KARIM-NEZHAD, G.; HASANZADEH, M.; SAGHATFOROUSH, L.; SHADJOU, N. *et al.* Kinetic study of electrocatalytic oxidation of carbohydrates on cobalt hydroxide modified glassy carbon electrode. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 20, p. 141-151, 2009.

KAUR, N.; CHOPRA, S.; SINGH, G.; RAJ, P. *et al.* Chemosensors for biogenic amines and biothiols. **Journal of Materials Chemistry B**, 6, n. 30, p. 4872-4902, 2018.

KHODABAKHSHI, S.; FULVIO, P. F.; ANDREOLI, E. Carbon black reborn: Structure and chemistry for renewable energy harnessing. **Carbon**, 162, p. 604-649, 2020/06/01/ 2020.

KONAREV, D. V.; ZORINA, L. V.; KHASANOV, S. S.; LITVINOV, A. L. *et al.* Molecular structure, optical and magnetic properties of metal-free phthalocyanine radical anions in crystalline salts (H₂Pc⁻)(cryptand [2, 2, 2][Na⁺])·1.5 C₆H₄Cl₂ and (H₂Pc⁻)(TOA⁺)·C₆H₄Cl₂ (TOA⁺ is tetraoctylammonium cation). **Dalton Transactions**, 42, n. 19, p. 6810-6816, 2013.

KUMAR, D. R.; BAYNOSA, M. L.; SHIM, J.-J. Cu²⁺-1, 10-phenanthroline-5, 6-dione@ electrochemically reduced graphene oxide modified electrode for the electrocatalytic determination of L-cysteine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 293, p. 107-114, 2019.

KUNPATEE, K.; CHAMSAI, P.; MEHMETI, E.; STANKOVIC, D. M. *et al.* A highly sensitive fenobucarb electrochemical sensor based on graphene nanoribbons-ionic liquid-cobalt phthalocyanine composites modified on screen-printed carbon electrode coupled with a flow injection analysis. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 855, p. 113630, 2019.

LE, H. T.; TRAN, D. T.; LUYEN DOAN, T. L.; KIM, N. H. *et al.* Hierarchical Cu@Cu_xO nanowires arrays-coated gold nanodots as a highly sensitive self-supported electrocatalyst for L-cysteine oxidation. **Biosensors and Bioelectronics**, 139, p. 111327, 2019/08/15/ 2019.

LEI, P.; ZHOU, Y.; ZHU, R.; LIU, Y. *et al.* Facile synthesis of iron phthalocyanine functionalized N, B-doped reduced graphene oxide nanocomposites and sensitive electrochemical detection for glutathione. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 297, p. 126756, 2019.

LEVER, A. The phthalocyanines—molecules of enduring value; a two-dimensional analysis of redox potentials. **Journal of Porphyrins and Phthalocyanines**, 3, n. 6-7, p. 488-499, 1999.

LI, H.; PAN, Y.; WANG, Z.; YU, Y. *et al.* Coordination engineering of cobalt phthalocyanine by functionalized carbon nanotube for efficient and highly stable carbon dioxide reduction at high current density. **Nano Research**, p. 1-9, 2022.

LONG, C. M.; NASCARELLA, M. A.; VALBERG, P. A. Carbon black vs. black carbon and other airborne materials containing elemental carbon: Physical and chemical distinctions. **Environmental pollution**, 181, p. 271-286, 2013.

LU, S.-M.; PENG, Y.-Y.; YING, Y.-L.; LONG, Y.-T. Electrochemical Sensing at a Confined Space. **Analytical Chemistry**, 92, n. 8, p. 5621-5644, 2020/04/21 2020.

MAREE, S.; NYOKONG, T. Electrocatalytic behavior of substituted cobalt phthalocyanines towards the oxidation of cysteine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 492, n. 2, p. 120-127, 2000/10/20/ 2000.

MARKEN, F.; NEUDECK, A.; BOND, A. M. Cyclic voltammetry. **Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications**, p. 57-106, 2010.

MASELLA, R.; MAZZA, G. Glutathione and sulfur amino acids in human health and disease. 2009.

MAZZARACCHIO, V.; TOMEI, M. R.; CACCIOTTI, I.; CHIODONI, A. *et al.* Inside the different types of carbon black as nanomodifiers for screen-printed electrodes. **Electrochimica Acta**, 317, p. 673-683, 2019.

MCCREERY, R. L. Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry. **Chemical reviews**, 108, n. 7, p. 2646-2687, 2008.

MIEYAL, J.; SRINIVASAN, V.; STARKE, D.; GRAVINA, S. *et al.* Biothiols in health and disease. *In: Specificity of thioltransferases: mechanistic and physiological implications*: Marcel Dekker New York, 1995. v. 14, p. 305-372.

MOCAK, J.; BOND, A. M.; MITCHELL, S.; SCOLLARY, G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques (Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, 69, n. 2, p. 297-328, 1997.

MOHAMED, M. A.; JAAFAR, J.; ISMAIL, A.; OTHMAN, M. *et al.* Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *In: Membrane characterization*: Elsevier, 2017. p. 3-29.

NXELE, S. R.; OLUWOLE, D. O.; NYOKONG, T. Electrocatalytic activity of a push pull Co (II) phthalocyanine in the presence of graphitic carbon nitride quantum dots. **Electrochimica Acta**, 326, p. 134978, 2019.

PAIXÃO, T. R. Measuring electrochemical surface area of nanomaterials versus the Randles-Ševčík equation. **ChemElectroChem**, 7, n. 16, p. 3414-3415, 2020.

PEREIRA MONTEIRO, C. J.; FERREIRA FAUSTINO, M. A.; PINHO MORGADO SILVA NEVES, M. D. G.; QUIALHEIRO SIMÕES, M. M. *et al.* Metallophthalocyanines as Catalysts in Aerobic Oxidation. **Catalysts**, 11, n. 1, p. 122, 2021.

PRIVETT, B. J.; SHIN, J. H.; SCHOENFISCH, M. H. Electrochemical Sensors. **Analytical Chemistry**, 82, n. 12, p. 4723-4741, 2010/06/15 2010.

QUINTINO, M. S.; ANGNES, L. Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. **Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis**, 16, n. 7, p. 513-523, 2004.

RAMACHANDRAN, R.; CHEN, S.-M.; KUMAR, G. P. G. Recent developments in electrode materials for oxygen reduction reaction. **International Journal of Electrochemical Science**, 10, n. 10, p. 8581-8606, 2015.

RASHEED, P. A.; PANDEY, R. P.; JABBAR, K. A.; PONRAJ, J. *et al.* Sensitive electrochemical detection of L-cysteine based on a highly stable Pd@ Ti₃C₂T_x (MXene) nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Analytical Methods**, 11, n. 30, p. 3851-3856, 2019.

RIGBI, Z. Reinforcement of rubber by carbon black. *In: Properties of polymers*: Springer, 2005. p. 21-68.

ROCHA, D. P.; CARDOSO, R. M.; TORMIN, T. F.; DE ARAUJO, W. R. *et al.* Batch-injection Analysis Better than ever: New Materials for Improved Electrochemical Detection and On-site Applications. **Electroanalysis**, 30, n. 7, p. 1386-1399, 2018.

RODRIGUES, A. D. G.; GALZERANI, J. C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementaridades. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, 34, 2012.

SANTOS, A. R.; MENEZES, D. B.; ELLENA, J.; ANDRADE, M. B. Aplicação da espectroscopia Raman na caracterização de minerais pertencentes a uma geocoleção. **Química Nova**, 42, n. 5, p. 489-496, 2019.

SARAVIA, L. P. H.; SUKERI, A.; GONÇALVES, J. M.; AGUIRRE-ARAQUE, J. S. *et al.* CoTRP/Graphene oxide composite as efficient electrode material for dissolved oxygen sensors. **Electrochimica Acta**, 222, p. 1682-1690, 2016/12/20/ 2016.

SEONG, H. J.; BOEHMAN, A. L. Evaluation of Raman parameters using visible Raman microscopy for soot oxidative reactivity. **Energy & Fuels**, 27, n. 3, p. 1613-1624, 2013.

SILVA, T. A.; MORAES, F. C.; JANEGITZ, B. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Electrochemical biosensors based on nanostructured carbon black: A review. **Journal of Nanomaterials**, 2017, 2017.

SILVA, W. P.; SILVA, L. A. J.; MUÑOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. Determinação rápida e simultânea de propifenazona, paracetamol e cafeína utilizando análise por injeção em batelada com detecção amperométrica. **Química Nova**, 40, p. 1180-1185, 2017.

SIMIONI, N. B.; SILVA, T. A.; OLIVEIRA, G. G.; FATIBELLO-FILHO, O. A nanodiamond-based electrochemical sensor for the determination of pyrazinamide antibiotic. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 250, p. 315-323, 2017/10/01/ 2017.

SIMÕES, F. R.; XAVIER, M. G. Electrochemical sensors. **Nanoscience and its Applications**, 1, p. 155-178, 2017.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Principles of instrumental analysis**. Cengage learning, 2017. 1337468037.

SORNAMBIKAI, S.; KADIR, M. R. A.; KUMAR, A. S.; PONPANDIAN, N. *et al.* Selective and low potential electrocatalytic oxidation and sensing of l-cysteine using metal impurity containing carbon black modified electrode. **Analytical methods**, 9, n. 48, p. 6791-6800, 2017.

SOUZA, D. D.; MACHADO, S. A.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química nova**, 26, p. 81-89, 2003.

TAO, Y.; ZHANG, X.; WANG, J.; WANG, X. *et al.* Simultaneous determination of cysteine, ascorbic acid and uric acid by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence. **Journal of electroanalytical chemistry**, 674, p. 65-70, 2012.

VELOSO, W. B.; ALMEIDA, A. T. D. F. O.; RIBEIRO, L. K.; DE ASSIS, M. *et al.* Rapid and sensitivity determination of macrolides antibiotics using disposable electrochemical sensor based on Super P carbon black and chitosan composite. **Microchemical Journal**, 172, p. 106939, 2022/01/01/ 2022.

WANG, C.; LI, F.; LI, J.; CUI, L. *et al.* Highly sensitive determination of niclosamide based on chitosan functionalized carbon nanotube/carbon black scaffolds with interconnected long-and

short-range conductive network. **Journal of Materials Research and Technology**, 19, p. 4525-4535, 2022.

WANG, J. **Analytical electrochemistry**. John Wiley & Sons, 2023. 1119787718.

WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection analysis. **Analytical chemistry**, 63, n. 10, p. 1053-1056, 1991.

WANG, Y.; WANG, W.; LI, G.; LIU, Q. *et al.* Electrochemical detection of L-cysteine using a glassy carbon electrode modified with a two-dimensional composite prepared from platinum and Fe₃O₄ nanoparticles on reduced graphene oxide. **Microchimica Acta**, 183, p. 3221-3228, 2016.

YIN, J.; REN, W.; YANG, G.; DUAN, J. *et al.* L-Cysteine metabolism and its nutritional implications. **Molecular Nutrition & Food Research**, 60, n. 1, p. 134-146, 2016.

YUAN, B.; SUN, P.; FERNANDEZ, C.; WANG, H. *et al.* Molecular fluorinated cobalt phthalocyanine immobilized on ordered mesoporous carbon as an electrochemical sensing platform for sensitive detection of hydrogen peroxide and hydrazine in alkaline medium. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, p. 116019, 2022.

YUAN, B.; WANG, H.; CAI, J.; PENG, Y. *et al.* A novel oxidation-reduction method for highly selective detection of cysteine over reduced glutathione based on synergistic effect of fully fluorinated cobalt phthalocyanine and ordered mesoporous carbon. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 288, p. 180-187, 2019.

ZAGAL, J. H.; GRIVEAU, S.; SILVA, J. F.; NYOKONG, T. *et al.* Metallophthalocyanine-based molecular materials as catalysts for electrochemical reactions. **Coordination Chemistry Reviews**, 254, n. 23, p. 2755-2791, 2010/12/01/ 2010.

ZAPPIELO, C. D.; NANICUACUA, D. M.; DOS SANTOS, W. N. L.; DA SILVA, D. L. F. *et al.* Solid phase extraction to on-line preconcentrate trace cadmium using chemically modified nano-carbon black with 3-mercaptopropyltrimethoxysilane. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 27, p. 1715-1726, 2016.

ZENG, H.; RICE, P. M.; WANG, S. X.; SUN, S. Shape-controlled synthesis and shape-induced texture of MnFe₂O₄ nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, 126, n. 37, p. 11458-11459, 2004.

ZHANG, J. **PEM fuel cell electrocatalysts and catalyst layers: fundamentals and applications**. Springer Science & Business Media, 2008. 1848009364.

ZHANG, J.; WANG, N.; JI, X.; TAO, Y. *et al.* BODIPY-based fluorescent probes for biothiols. **Chemistry—A European Journal**, 26, n. 19, p. 4172-4192, 2020.

ZHANG, M.; SHAO, C.; GUO, Z.; ZHANG, Z. *et al.* Hierarchical nanostructures of copper (II) phthalocyanine on electrospun TiO₂ nanofibers: controllable solvothermal-fabrication and enhanced visible photocatalytic properties. **ACS applied materials & interfaces**, 3, n. 2, p. 369-377, 2011.

ZHANG, W.; WANG, R.; LUO, F.; WANG, P. *et al.* Miniaturized electrochemical sensors and their point-of-care applications. **Chinese Chemical Letters**, 31, n. 3, p. 589-600, 2020/03/01/ 2020.

ZHU, M.; CHEN, J.; GUO, R.; XU, J. *et al.* Cobalt phthalocyanine coordinated to pyridine-functionalized carbon nanotubes with enhanced CO₂ electroreduction. **Applied Catalysis B: Environmental**, 251, p. 112-118, 2019.