



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ÁCIDO
TARTÁRICO / ÍON TARTARATO POR OXIDAÇÃO
ELETROCATALÍTICA EM ELETRODO DE PASTA DE
CARBONO MODIFICADO COM FTALOCIANINA DE
COBALTO (II)**

Anabel Santos Lourenço

**Recife
Julho/2016**

Anabel Santos Lourenço*

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ÁCIDO
TARTÁRICO / ÍON TARTARATO POR OXIDAÇÃO
ELETROCATALÍTICA EM ELETRODO DE PASTA DE
CARBONO MODIFICADO COM FTALOCIANINA DE
COBALTO (II)**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Química
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Química pela
Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Prof. Dr. Valberes Bernardo do Nascimento

Co-Orientador: Prof. Dr. Williame Farias Ribeiro

***Bolsista FACEPE**

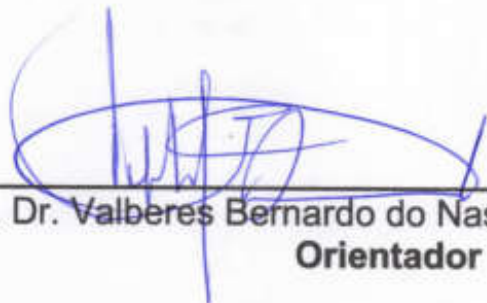
**Recife
Julho/2016**

Anabel Santos Lourenço

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE ÁCIDO
TARTÁRICO / ÍON TARTARATO POR OXIDAÇÃO
ELETROCATALÍTICA EM ELETRODO DE PASTA DE
CARBONO MODIFICADO COM FTALOCIANINA DE
COBALTO (II)**

DISSERTAÇÃO AVALIADA E APROVADA PELA BANCA EM:

29/07/2016



Prof. Dr. Valberes Bernardo do Nascimento (DQ/UFRPE)
Orientador



Prof. Dr. Williane Farias Ribeiro (DCFS / UFPB)
Co-orientador



Prof. Dr. Severino Carlos B. de Oliveira (DQ/UFRPE)
1º Examinador



Prof. Dra. Madalena Carneiro da Cunha Areias (DQF/UFPE)
2º Examinador

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, por estar sempre presente, me ensinando, dando força e discernimento para ultrapassar todos os obstáculos encontrados nessa jornada.

A minha família, meu pai **José Lourenço**, minha mãe **Sebastiana Maria** e minha irmã **Ana Paula Lourenço**, que ao meu lado, superou todos os obstáculos encontrados nesta caminhada e que me encorajou através de palavras e de orações. Se hoje comemoro uma vitória, esta se deve a vocês que sempre estiveram comigo.

Ao Professor **Valberes Nascimento** pela orientação e pelos valiosos ensinamentos, os quais contribuíram significativamente para meu crescimento.

Ao Professor **Williame Farias** pela amizade, apoio e pelos valiosos ensinamentos desde a graduação.

Ao Professor **Severino Carlos** por todas as contribuições, dúvidas e discussão sobre eletroanalítica.

Ao doutorando **Raphael Nascimento** pelas relevantes contribuições para o desenvolvimento deste trabalho.

À Professora **Kátia Bichinho**, pelas valiosas contribuições na banca de qualificação.

À Professora **Madalena Areias**, pelas valiosas contribuições na banca de defesa.

Aos amigos **Amanda Cecília, Gláucio Jefferson, Mayara Barbosa e Flaviana Severo** por toda força, apoio, incentivos, conversas e momentos de descontração.

À **equipe da eletroanalítica, Nathalia Lopes, Ingrid Freire, José Ailton, Thaís Mendes, Elaine Cristina e Maysa Lima** pela amizade e companheirismo.

A todos que fazem parte do **Laboratório de Análise Química, Inorgânica e Sensores (LAQIS), Aline, Amanda, Bianca, Carine, Daniele, Gabriela, Heliana, Jamerson, Lidiane, Ludhimilla, Nattany, Nayara, Rêne e Rômulo**, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Aos colegas da Pós-Graduação, **Aldicéia Moura, Claudia Laís, Claudio Dantas, Cosme Silva, Jonh Anderson, Fábria Martins, Karina Carvalho, Iago José, Roberta Felix, Mauricélia Mata, Marcílio Silva, Giselle Barbosa e Luiz Alberto** por toda amizade e transmissão de conhecimentos durante essa jornada.

Ao **LAQIS** pelo apoio instrumental.

À **FACEPE** pela bolsa concedida.

RESUMO

Lourenço A. S. **TÍTULO** 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Química. Programa de pós-graduação em química. Recife, 2016.

O ácido tartárico (AT) pertence a um importante grupo de ácidos orgânicos de baixo peso molecular. Os sais de AT são utilizados na indústria farmacêutica como excipiente ou componente do princípio ativo de vários medicamentos, dentre eles o Tartarato de Metoprolol (TM). Este composto apresenta solubilidade relativamente alta em água, proporcionada pela presença do contra-íon tartarato. Vários métodos analíticos podem ser encontrados para determinação do TM, alguns utilizam a determinação direta do metoprolol e outros são fundamentados na determinação indireta. O AT não é eletroativo em eletrodos convencionais. No entanto, este trabalho identificou a oxidação eletrocatalítica do AT em eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto (II) (CoPC-CPE). O comportamento eletroquímico do CoPC-CPE foi investigado por voltametria cíclica e de onda quadrada. Esta última mostrou-se muito eficiente para aplicações analíticas. Desenvolveu-se um método analítico aplicável à determinação indireta do metoprolol através de medição de íon tartarato no TM, que pode também ser aplicado a outros fármacos similares. Os estudos mostraram que a elevada sensibilidade e o potencial de pico são dependentes do pH, podendo-se obter uma resposta ótima em tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 4,5$. A ausência de efeito de memória, combinada com a facilidade da preparação eletrodo, levou ao desenvolvimento de um método altamente sensível e confiável para AT. Todas as medidas foram realizadas em triplicata e apresentaram resposta linear na faixa de 15 a $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,9992$). O método apresenta limite de detecção de $4,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (3σ) e limite de quantificação de $15,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ para determinação em amostras reais.

Palavras-chave: Ácido tartárico, ftalocianina de cobalto(II), eletrodo modificado, pasta de carbono, voltametria de onda quadrada, metoprolol.

ABSTRACT

Lourenço A. S. **TÍTULO** 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Química. Programa de pós-graduação em química. Recife, 2016.

Tartaric acid (TA) belongs to an important group of organic acids of low molecular weight. TA salts are employed in the pharmaceutical industry as an excipient or as a component of the active principle of various drugs, among them the Metoprolol Tartrate (MT). This compound shows relatively high solubility in water, provided by the presence of tartrate as a counter-ion. Several analytical methods can be found in the literature for MT, some of them utilizes direct determination of metoprolol, while others are based on indirect determination. Limitations of their methodologies demand the development of new analytical methods. The TA is not electroactive in conventional electrodes, however this work identified its electrocatalytic oxidation in a carbon paste electrode modified with cobalt-phthalocyanine (CoPC-CPE). The electrochemical behavior of the modified electrode was investigated by square wave voltammetry and cyclic voltammetry. The former showed well suitable for analytical applications. An analytical method, applicable to indirect determination of metoprolol in the MT and similar medicines was developed. Studies have shown that high sensitivity and peak potential is pH-dependent, and can attain a noptimum response in acetate buffer 0.05 mol L⁻¹, pH 4.5. The absence of memory effect combined with the easy electrode preparation, led to the development of a highly sensitive and reliable method for TA. All measurements were performed in triplicate and showed a linear response in the range of 15 to 100 µmol L⁻¹ ($r = 0,9992$). The method presents a limit of detection of 4.8 µmol L⁻¹ (3σ) and a limit of quantitation of 15.9 µmol L⁻¹ for determination in real samples.

Keywords: Tartaric acid, cobalt(II)-Phthalocyanine, carbon paste electrode, square wave voltammetry, metoprolol.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
1. Introdução	1
1.1. Ácido Tartárico	1
1.2. Tartarato de metoprolol (TM)	2
1.3. Técnicas Eletroquímicas	4
1.3.1. Voltametria cíclica (CV)	5
1.3.2. Técnicas pulsadas	6
1.3.2.1. Voltametria de pulso diferencial (DPV)	8
1.3.2.2. Voltametria de onda quadrada (SWV)	9
1.4. Eletrodos Quimicamente Modificados	10
1.5. Ftalocianinas	11
2. Objetivos	16
2.1. Geral	16
2.2. Específicos	16
3. Experimental	17
3.1. Reagentes e soluções.....	17
3.2. Instrumentação	17
3.3. Preparação do eletrodo de pasta de carbono	18
3.4. Procedimento experimental.....	19
3.5. Amostra.....	20
4. Resultados e discussão	21
4.1. Comportamento eletroquímico do CoPC–CPE	21
4.2. Comportamento voltamétrico do ácido tartárico em CoPC–CPE	23
4.3. Influência da percentagem do modificador.....	25
4.4. Influência do pH	26

4.5. Comportamento voltamétrico de outros ácidos orgânicos do grupo do ácido tartárico em CoPC–CPE.....	28
4.6. Curva analítica	28
4.7. Efeito de memória	29
4.8. Aplicação analítica do CoPC-CPE	30
5. Conclusão	32
Perspectivas	33
Referências	34

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1. Ácido tartárico (ácido 2,3-di-hidroxiбутanodióico)	1
Figura 2. Estrutura do tartarato de metoprolol, $(C_{15}H_{25}NO_3)_2 \cdot C_4H_6O_6$	3
Figura 3. Circuito potenciostático de três eletrodo	5
Figura 4. Sinal de excitação e sinal de resposta na CV. a) Sinal de excitação com varredura linear, b) Sinal de excitação com varredura <i>staircase</i> c) Sinal de resposta (voltamograma) para sistemas reversíveis	6
Figura 5. Variação das correntes faradaica e capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso	7
Figura 6. Sinais de excitação e de resposta para voltametria de pulso diferencial	9
Figura 7. Sinal de excitação e sinais de resposta da SWV	10
Figura 8. Estruturas de uma ftalocianina. (A) Molécula na forma ácida (H_2PC). (B). Metaloftalocianina (MPC), onde M representa um metal. (C). Ftalocianina de cobalto(II)	12
Figura 9. Diagrama dos potenciais redoxes das ftalocianinas de cobalto na presença de diferentes solventes orgânicos	14
Figura 10. Imagem do potenciostato/galvanostato Eco Chemie/Autolab (Modelo PGSTAT128N)	18
Figura 11. Ilustração do eletrodo de pasta de carbono modificado	19
Figura 12. SWV do CoPC-CPE. Tampão de ácido acético/acetato, pH = 4,5. CoPC-CPE: I_t - corrente total, I_d - corrente direta e I_r – corrente reversa e CPE (— — —). $E_{p1} = 0,77$ V, $E_{p2} = 1,037$ V e $E_{p3} = 1,19$ V. $f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,0 V à 1,25 V.....	21
Figura 13. Comportamento eletroquímico do CoPC–CPE em SWV, tampão acetato, pH = 4,5. (A) 10 voltamogramas sucessivos em janela de potencial 0,8 V à 1,25 V ($E_{p2} = 1,037$ V, $E_{p3} = 1,19$ V) e (B) 10 voltamogramas sucessivos em janela de potencial de 0,8 V à 1,067 V ($E_{p2} = 1,037$ V). ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,8 V à 1,25 V)	22

- Figura 14.** SWV do CoPC–CPE após condicionamento eletroquímico. Tempo de repouso: 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min, (a-g), respectivamente em solução quiescente. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,6 V à 1,25 V)23
- Figura 15.** SWV para CPE e CoPC–CPE na ausência e presença de AT. CPE [(a) e (c)] e CoPC - CPE [(b) e (d)]. (a) e (b) na ausência e (c) e (d) na presença de $90 \mu\text{mol L}^{-1}$ AT24
- Figura 16.** SWV do NiPC – CPE. Tampão acetato, pH 4,5. Primeira varredura do NiPC - CPE (—), segunda varredura (.....) e varredura na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AT (—)24
- Figura 17.** Estudo da percentagem de CoPC no CoPC-CPE. (A) Voltamogramas cíclicos em diferentes percentagens de CoPC: (a) 0%, (b) 1% (c) 3%, e (d) 6% CoPC. (B) Influência da percentagem de CoPC sobre a corrente de pico. CoPC–CPE na presença de 4 mmol L^{-1} de AT em tampão acetato, pH = 4,5. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,6 V à 1,25 V)26
- Figura 18.** Influência do pH na resposta eletrocatalítica do AT em CoPC–CPE. (A) Voltamogramas cíclicos correspondente. CoPC – CPE na presença de $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de AT em tampão acetato, pH = 3,0 (----), 4,5 (—) e 6,2 (.....); (B) Influência do pH sobre a corrente e o potencial de pico. CoPC–CPE na presença de $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de AT em tampão acetato, $f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,6 V à 1,25 V27
- Figura 19.** SWV de diferentes ácidos em CoPC – CPE e CPE. Voltamogramas cíclicos de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ dos ácidos tartárico (- . - .), cítrico (- - -), málico (—), láctico (.....) e succínico (----) em CoPC - CPE e todos juntos em CPE (—)28
- Figura 20.** Curva analítica do AT em CoPC–CPE. Adições sucessivas de AT em tampão de acetato (pH = 4,5) em concentrações de $15 - 180 \mu\text{mol L}^{-1}$. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,8 V à 1,25 V)29
- Figura 21.** Efeito de memória. SWV consecutivos em tampão de acetato (pH = 4,5) para o AT (a) $45 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) $75 \mu\text{mol L}^{-1}$. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,8 V à 1,25 V)30

Figura 22. SWV de uma amostra de tartarato de metoprolol em tampão acetato, pH = 4,5. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,6 V à 1,25 V)31

Tabela 1. Soluções usadas como eletrólito suporte17

LISTA DE ABREVIATURAS

AT – Ácido tartárico

Ag/AgCl – Prata cloreto de prata (eletrodo de referência)

EQM – Eletrodos quimicamente modificados

EPC – Eletrodo de pasta de carbono

CoPC – Ftalocianina de cobalto (II)

NiPC – Ftalocianina de níquel (II)

TM – Tartarato de metoprolol

CV– Voltametria cíclica (do inglês “Cyclic Voltammetry”)

DPV – Voltametria de pulso diferencial (do inglês “Differential Pulse Voltammetry”)

SWV – Voltametria de onda quadrada (do inglês “Square Wave Voltammetry”)

I_t – corrente total

I_d – corrente direta

I_r – Corrente reversa

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês “High Performance Liquid Chromatography”).

1. Introdução

1.1. Ácido Tartárico

O ácido tartárico (AT), **Figura 1**, é um ácido orgânico, diprótico [1] e faz parte de um importante grupo de ácidos orgânicos de baixo peso molecular (ácidos tartárico, málico, láctico, succínico e cítrico). O AT pode ser encontrado naturalmente em uvas em elevadas concentrações, sendo produzido industrialmente em grande escala e podendo ser obtido a partir da secagem e moagem do subproduto da vinificação. A produção mundial deste ácido é de aproximadamente 50,000-70,000 toneladas por ano, sendo amplamente utilizado na indústria alimentícia, química, farmacológica e em outros campos, principalmente como regulador de acidez, mas também na forma de emulsificante [1-3].

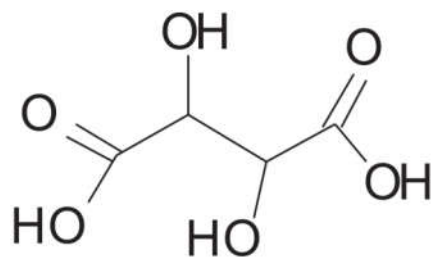


Figura 1. Ácido tartárico (ácido 2,3-di-hidroxibutanodióico).

Os principais métodos encontrados na literatura para determinação de AT baseiam-se em sua reação colorimétrica com metavanadato, que é a base do método oficial da Organização Internacional do Vinho (OIV) [4]. Exemplos típicos incluem análise fotométrica por injeção em fluxo [5] e procedimento espectrofotométrico automático empregando multicomutação combinado com sistema de diálise [6]. Outros métodos incluem eletroforese capilar com detecção UV [7], cromatografia líquida de alta eficiência - HPLC [8] e quimiluminescência [9].

Apesar do AT não ser eletroativo em eletrodos convencionais, alguns métodos eletroquímicos também têm sido propostos com base em eletrodos

modificados [2,10]. A literatura recente reportou o desenvolvimento de um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro e carbono para determinação de AT, porém com baixa sensibilidade, numa faixa de concentração de 0,0 a 0,4 mmol L⁻¹ [2]. Outro trabalho recente utilizou eletrodo de carbono vítreo modificado com nanofio de germanato de cobre II, também apresentando baixa sensibilidade, numa faixa de concentração de 0,01 a 5 mmol L⁻¹ [10]. Os métodos eletroquímicos apresentam diversas vantagens quando comparados a outros métodos para determinação de AT, como rapidez, sensibilidade e seletividade.

Sais de AT são muito utilizados na indústria farmacêutica como excipiente ou como contra-íon do princípio ativo de alguns medicamentos, dentre eles encontra-se o tartarato de metoprolol, extensamente empregado para o tratamento de várias doenças como a hipertensão [11].

1.2. Tartarato de metoprolol (TM)

Segundo a Organização Mundial da Saúde, em 2010 mais de 29% de todas as mortes mundiais foram causadas por doenças cardiovasculares [12].

Pertencente a um grupo de medicamentos conhecidos como betabloqueadores, amplamente utilizados no tratamento e prevenção do ataque cardíaco [11], o TM (**Figura 2**) é um antagonista β -adrenérgico relativamente seletivo, que tem sido amplamente empregado para o tratamento de algumas doenças como a hipertensão, angina, infarto do miocárdio e hipertireoidismo [13]. Após a ingestão do TM pelo paciente, sua absorção é facilitada pela presença do AT em sua composição, que eleva sua solubilidade em água [14]. A terapia prolongada com os bloqueadores β -adrenérgicos reduz a morbidade e a mortalidade em pessoas com insuficiência cardíaca crônica. Embora o TM seja um importante fármaco para o tratamento dessas doenças, uma overdose desse medicamento pode causar diversos efeitos colaterais como hipoglicemia, fadiga, hipotensão, broncoespasmo e insuficiência cardíaca [11,15].

Diversos métodos analíticos têm sido relatados para a determinação de metoprolol. Os principais são baseados na determinação direta, como a HPLC [16], espectrometria [12] e eletroforese capilar [15]. Determinações indiretas do fármaco têm também se mostrado bastante eficiente devido à algumas impossibilidades encontradas na determinação direta. Exemplos típicos envolvem espectrometria de absorção atômica [17], com base na formação de um complexo com cobre envolvendo os grupamentos aminas presentes na molécula; isotacoforese capilar [13], técnica baseada na diferença de mobilidade dos íons presentes na amostra, e análise por injeção em fluxo [XXX] com detecção por quimiluminescência, utilizando uma reação redox do SO_3^{-2} com o Ce(IV). A literatura recente relata a determinação eletroquímica do metoprolol utilizando eletrodos de carbono vítreo e de mercúrio numa faixa de concentração de 3,2 a 101 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [18] e eletrodo de carbono vítreo modificado com nafion-carbono e nanotubo-nano-compósito numa faixa de concentração de 0,07 a 9,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [11].

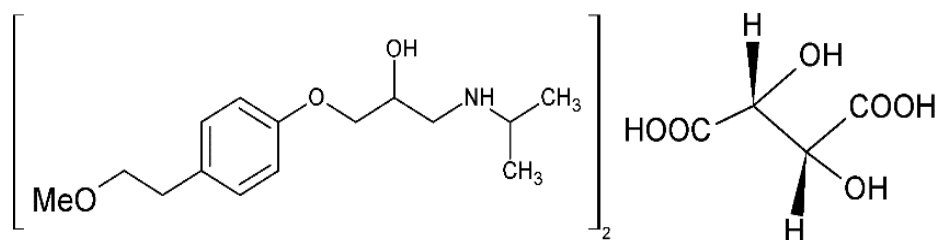


Figura 2. Estrutura do tartarato de metoprolol, $(\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{NO}_3)_2 \cdot \text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$.

Neste trabalho apresenta-se o desenvolvimento de um método eletroanalítico para determinação de AT, aplicável a determinação indireta de metoprolol via determinação do contra-íon tartarato.

1.3. Técnicas Eletroquímicas

A eletroquímica e eletroanalítica começaram a ser estudadas na Itália no final do século XVIII (1791) por Luigi Galvani e sua versatilidade merece destaque, visto que essas técnicas possibilitam relacionar a concentração do analito com algumas grandezas elétricas, como corrente, potencial, condutividade e resistência, além de controlar criteriosamente o potencial aplicado à célula [19, 20]. Essas técnicas estão sendo cada vez mais utilizadas em diferentes áreas do conhecimento como medicina, bioquímica molecular, química ambiental e físico-química [21].

Em meio às técnicas eletroquímicas, destacam-se as voltamétricas, que se baseiam nos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície [20].

A voltametria baseia-se na medida da corrente em uma célula eletroquímica resultante de uma reação de oxirredução, decorrente de uma eletrólise na superfície de um eletrodo de trabalho, durante a aplicação controlada de um potencial, favorecendo a transferência de elétrons. A corrente de eletrólise flui entre o eletrodo de trabalho e o contra eletrodo. A velocidade de oxidação ou redução é controlada pela velocidade da transferência de elétrons e também pela velocidade de transferência de massa do analito para a superfície do eletrodo [20,22]. As técnicas voltamétricas mais utilizadas atualmente são a Voltametria Cíclica (CV), Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) e Voltametria de Onda Quadrada (SWV) [23].

Inicialmente, as técnicas eletroquímicas utilizavam uma célula eletroquímica composta apenas de dois eletrodos, o de trabalho e o de referência. Entretanto, o processo que ocorria no eletrodo de trabalho necessitava de uma reação complementar no eletrodo de referência, exigindo que este eletrodo apresentasse grandes áreas para garantir que a reação complementar ocorresse sem causar mudança no potencial do mesmo. Com o avanço da eletrônica computacional, nos anos 50/60, surgiram os potenciostatos que utilizam células de três eletrodos, onde a corrente flui entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, enquanto a diferença de potencial é

aplicada entre o eletrodo de trabalho e o de referência. Dessa forma assegura-se que o potencial irá se manter constante, elevando a precisão na resposta analítica [22].

Um circuito potenciostático para uma célula de três eletrodos à base de amplificadores operacionais impede a passagem de corrente pelo eletrodo de referência, isto porque o mesmo é ligado a um sistema de altíssima impedância de entrada [23]. Um circuito potenciostático simples para uma célula de três eletrodos é mostrado na **Figura 3**.

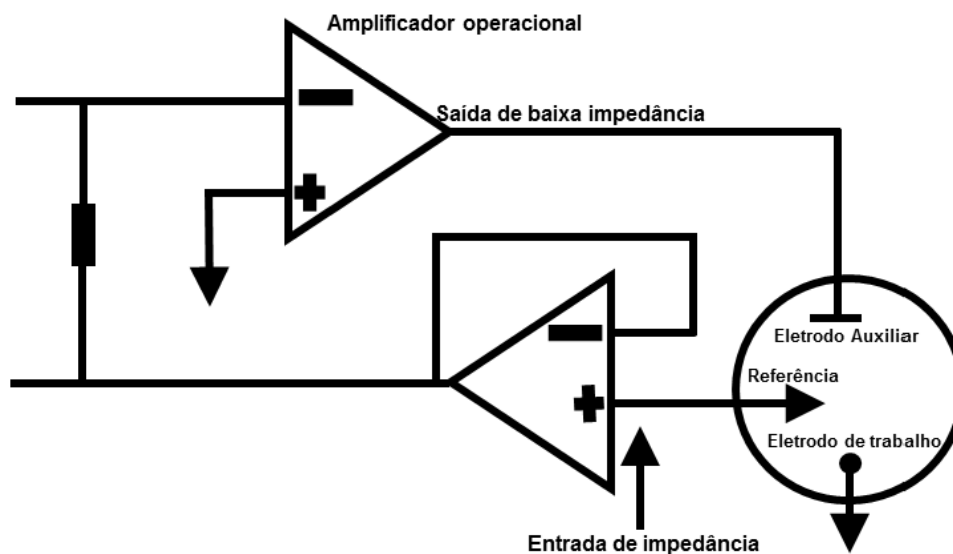


Figura 3. Circuito potenciostático de três eletrodos.

1.3.1. Voltametria cíclica (CV)

A CV fornece informações sobre o comportamento redox de espécies eletroquimicamente ativas, além de possibilitar a identificação de intermediários ou de produtos de reação. Esta é uma técnica de grande importância para as áreas de eletroquímica e eletroanalítica, sendo amplamente utilizada em diversas outras áreas da química. A CV é também utilizada para adquirir informações quantitativas e possui grande habilidade de fornecer informações rápidas sobre a termodinâmica dos processos redox e a cinética da reação de transferência de elétrons [24].

O sinal de excitação da CV corresponde à aplicação de uma onda triangular de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, enquanto o sinal de resposta corresponde à corrente elétrica resultante, tipicamente um pico de oxidação e um pico de redução para sistemas reversíveis (**Figura 4**).

O tipo de voltamograma obtido na CV depende do tipo de reação redox que o composto sofre no eletrodo, isto faz da CV uma ferramenta valiosa para estudos mecanísticos [20, 25].

O potencial aplicado no eletrodo de trabalho é varrido linearmente com o tempo. O potencial pode ser varrido também na forma de escada (*staircase*), degraus de pequenos potenciais (da ordem de 10 mV), com pequenos tempos de duração, onde a corrente é lida apenas no final deste intervalo. O motivo desta variação é obter contribuições mínimas da corrente capacitiva na corrente total. As equações para as respostas da CV *staircase* são idênticas àsquelas provenientes da CV de varredura linear [20, 25, 26, 27].

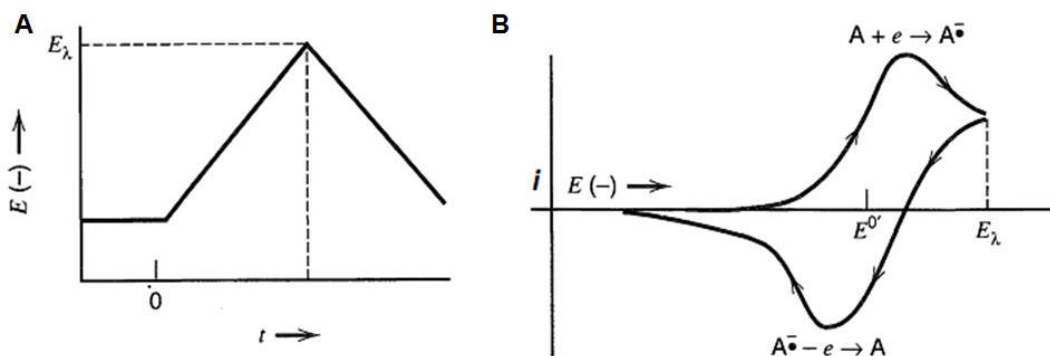


Figura 4. Sinal de excitação e sinal de resposta na CV. a) Sinal de excitação com varredura linear, b) Sinal de resposta (voltamograma) para sistemas reversíveis.

1.3.2. Técnicas pulsadas

As técnicas de pulso são amplamente utilizadas na atualidade em eletroquímica/eletroanalítica para a determinação de espécies eletroativas e também em estudos eletroquímicos [28].

As técnicas de pulso começaram a ser estudadas na década de 50 do século passado, onde começaram a substituir as técnicas polarográficas clássicas. Isto resultou dos avanços da eletrônica digital, que se valeram da evolução da informática e juntas possibilitaram o interfaceamento dos equipamentos eletroquímicos a microcomputadores e o controle digital da perturbação (rampa de potencial) imposta ao eletrodo de trabalho, assim como da aquisição do sinal resultante desta perturbação [21].

As técnicas de pulso são baseadas na medida da corrente elétrica em função do tempo de aplicação de um determinado pulso de potencial. À medida que o potencial é aplicado no eletrodo de trabalho ocorre um carregamento/ descarregamento da dupla camada elétrica, dando origem à corrente capacitiva. Outro tipo de corrente, surge quando se trabalha com reagentes impuros ou quando se tem oxigênio dissolvido em solução, esta é chamada de corrente faradaica residual. Quando uma diferença de potencial é aplicada, as duas correntes (capacitiva e faradaica) decaem com o tempo, entretanto a contribuição da capacitiva que inicialmente é muito elevada diminui muito rapidamente, tendendo a zero, enquanto a faradaica decai mais lentamente, como mostrado na **Figura 5**. Assim, a leitura pode ser realizada em um tempo tal que a contribuição da capacitiva é minimizada, levando a uma leitura essencialmente faradaica, que é função da concentração do analito. Daí decorre o aumento da sensibilidade das técnicas de pulso [21,25].

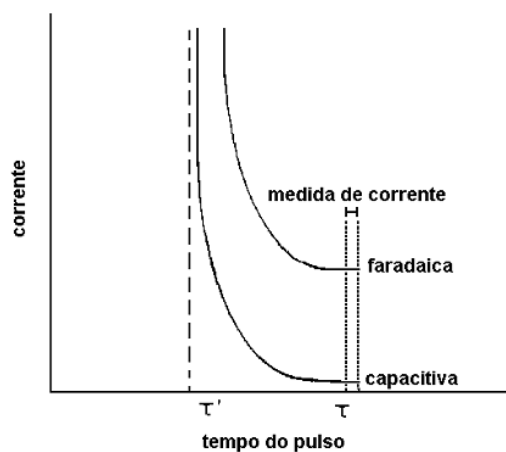


Figura 5. Variação das correntes faradaica e capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso.

1.3.2.1. Voltametria de pulso diferencial (DPV)

A DPV, foi proposta por Barker e Gardner a fim de diminuir os limites de detecção e quantificação de compostos eletroquimicamente ativos. Esta é uma das técnicas de pulso mais sensíveis e extremamente útil para quantificar compostos orgânicos e inorgânicos em níveis de traços [28]. O sinal de excitação da DPV corresponde a aplicação de pulsos de igual amplitude por um curto intervalo de tempo, sobre uma rampa linear de potencial, entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. O sinal de resposta é a corrente elétrica resultante da eletrólise, cujo gráfico tem forma de pico (**Figura 6**). A corrente medida é lida duas vezes, uma antes da aplicação do pulso e outra no final da vida do pulso. Estas correntes são subtraídas, tendo em vista que a primeira possui contribuição apenas da corrente capacitiva e a segunda inclui a corrente faradaica e, então, registradas versus o potencial aplicado [24]. A corrente de pico do voltamograma de pulso diferencial é proporcional à concentração da espécie eletroativa, conforme a equação a seguir [20].

Para se fazer a escolha da amplitude do pulso de potencial (ΔE_p) deve-se levar em conta a reação em estudo e a sensibilidade exigida, tendo em vista que grandes amplitudes geram elevadas correntes capacitivas que podem diminuir a possibilidade de detectar a corrente faradaica. O número de elétrons envolvidos na reação deve ser inversamente proporcional à largura à meia altura ($W_{1/2}$) do pico de corrente, quando se trabalha com pequenas amplitudes de pulso [20, 21, 25, 29].

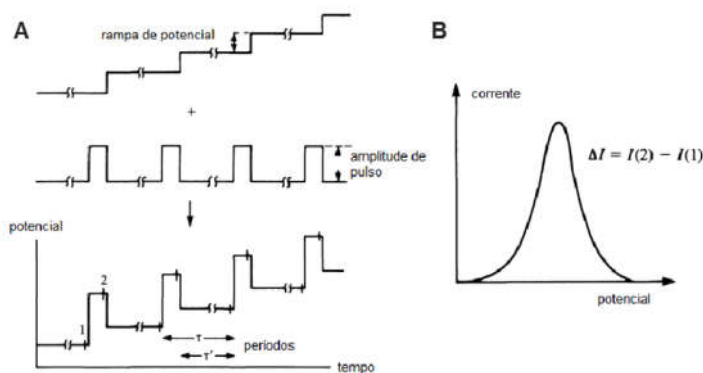


Figura 6. Sinais de excitação (A) e sinal de resposta (B) para voltametria de pulso diferencial.

1.3.2.2. Voltametria de onda quadrada (SWV)

A SWV é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis. Começou a ser estudada por Geoffery Barker e colaboradores em 1953 com o objetivo de compensar a corrente capacitiva residual obtida nas análises polarográficas [21].

O sinal de excitação da SWV corresponde a aplicação uma onda quadrada de potencial com amplitude constante sobreposta a uma varredura de potencial *staircase* (ambas com igual período) entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, enquanto o sinal de resposta corresponde a corrente elétrica resultante, tipicamente um pico de oxidação e um pico de redução para sistemas reversíveis (**Figura 7**). Ao final de cada pulso da onda quadrada, o potencial recai no degrau seguinte da *staircase*, o que promove a varredura de potencial. A corrente elétrica é amostrada no final de cada pulso direto (quando a direção do pulso é igual à direção da varredura *staircase*) e no final de cada pulso reverso (quando a direção do pulso é inversa à direção da varredura *staircase*), donde são obtidos, simultaneamente, os dois sinais de resposta, um referente à corrente direta, relativo ao pulso direto, e outro à corrente reversa, relativo ao pulso reverso. Um terceiro sinal de resposta corresponde a diferença entre a corrente direta e a reversa.

A elevada sensibilidade da SWV advém da eliminação quase perfeita da corrente capacitiva, uma vez que as correntes são sempre amostradas em

iguais intervalos de tempo e, adicionalmente, no caso de sistemas reversíveis, do efeito de pré-concentração da espécie de interesse na interface eletrodo-solução, uma vez que cada pulso reverso repõe parcialmente o material oxidado/reduzido para o pulso posterior [20, 29].

Os limites de detecção da SWV podem ser comparados com as técnicas cromatográficas e espectroscópicas. A maior vantagem desta técnica é a velocidade de varredura, que varia de 100 a 1000 mV s^{-1} , com frequência de 1 a 100 ciclos de onda por segundo [20].

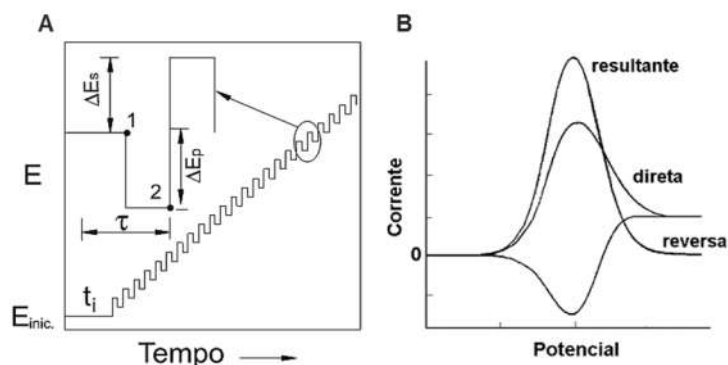


Figura 7. Sinal de excitação (A) e sinais de resposta (B) da SWV.

1.4. Eletrodos Quimicamente Modificados

A crescente necessidade de identificação e quantificação de analitos de forma rápida e específica deu origem ao desenvolvimento dos EQMs. O termo EQM é utilizado para denominar eletrodos com espécies quimicamente ativas através da imobilização de um agente modificador sobre a superfície de eletrodos sólidos convencionais. A modificação visa estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução [30].

Os EQMs apresentam vantagens como estabilidade, sensibilidade e seletividade, além de diminuir o sobrepotencial que vários analitos necessitam para se oxidar ou se reduzir [31,32]. A modificação pode ser feita, por adsorção, recobrimento físico, atração eletrostática ou pela ligação covalente das espécies, dentre outras. Geralmente, a camada de modificação é eletroativa, agindo como mediador de elétrons na interface eletrodo/solução [30]. Um dos aspectos mais importantes é a escolha do substrato a ser modificado, este

deve apresentar características eletroquímicas favoráveis ao método de modificação. Dentre os materiais mais utilizados e adequados para modificação estão o ouro, platina, carbono vítreo e pasta de carbono [32].

Em 1964, French e Kuwana estudaram o comportamento eletroquímico de alguns compostos orgânicos incorporados à pasta de carbono, e em 1965, Kuwana e Schultz, publicaram um trabalho estudando o eletrodo de pasta de carbono (CPE) e compostos orgânicos [33, 34]. A partir desses estudos surgiu o termo agente modificador, qualquer espécie química que apresente propriedades para melhorar a sensibilidade, seletividade e estabilidade de um eletrodo sólido convencional [35]. Posteriormente, outros grupos começaram a fazer uso desse método de modificação de CPE, que vem sendo utilizado amplamente até os dias atuais nas áreas da eletroquímica e eletroanalítica, por apresentar vantagens em relação aos demais eletrodos sólidos convencionais, como baixo custo, facilidade de fabricação, sensibilidade e seletividade, facilidade de renovação de sua superfície, ampla faixa de potencial de trabalho e baixa corrente de fundo [35, 36]. Além disso, procedimentos de modificação empregados para CPE são também aplicáveis a outros substratos, como tintas condutoras utilizadas na fabricação de eletrodos impressos descartáveis [37], aumentando significativamente a importância das pesquisas nesta área.

Espécies químicas geralmente usadas na modificação de eletrodos são mediadores de elétrons, que podem ser espécies orgânicas (quinonas, tetratiofulvaleno; tetracianoquinodimetano etc.) e compostos organometálicos (ferrocenos, ftalocianinas, óxidos de rutênio, metaloporfirinas etc.) ou enzimas, entre outros [38], com destaque para as ftalocianinas.

1.5. Ftalocianinas

As ftalocianinas (PC) são, em geral, azuis ou verdes no seu estado de oxidação normal. Foram descobertas acidentalmente em 1907 por Brun e Tcherniac e, logo após a sua descoberta, foram predominantemente utilizadas como pigmentos e corantes nas indústrias têxteis e de papel, devido sua

estabilidade química, térmica e fotoquímica [39]. São complexos planares que apresentam estruturas na forma de anel, formado por átomos de nitrogênio e dois átomos centrais de hidrogênio, molécula na sua forma ácida (H_2Pc), como pode ser visto na **Figura 8A**. Os átomos de hidrogênio podem ser substituídos por metais de transição, formando compostos conhecidos por metalofalocianinas ou ftalocianinas metálicas (MPC), (**Figura 8B**) [40]. A atividade eletrocatalítica desses macrocíclicos depende do íon metálico central e do estado de oxidação total do complexo [41].

As ftalocianinas são reconhecidas como eletrocatalisadores eficientes e, imobilizadas na superfície de eletrodos, são catalisadores ativos para um grande número de reações eletroquímicas, podendo sofrer processos redox muito rapidamente com um pequeno gasto de energia e podendo atuar como mediadores de elétrons para uma grande variedade de moléculas [42].

As ftalocianinas de cobalto (CoPC) (**Figura 8C**) são conhecidas como eletrocatalisadores muito eficazes para uma gama de sistemas redox, onde o estado de oxidação do complexo metálico varia durante o ciclo catalítico, além de apresentarem ampla aplicação na modificação de superfícies de eletrodos devido à manutenção da atividade eletrocatalítica frente a diferentes reações, mesmo quando estão imobilizadas [43-45].

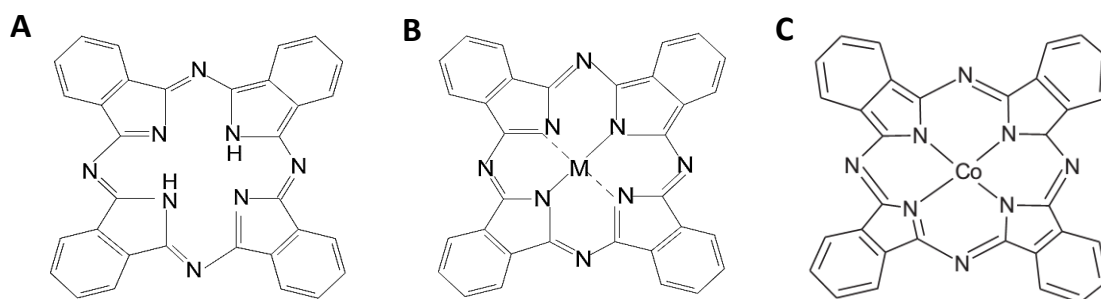


Figura 8. Estruturas de uma ftalocianina. (A) Molécula na forma ácida (H_2Pc). (B). Metalofalocianina (MPC), onde M representa um metal. (C). Ftalocianina de cobalto (II).

A CoPC e seus derivados apresentam comportamento eletrocatalítico quando adsorvidos em eletrodo de carbono, sendo bastante utilizadas na construção de eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados

paradiferentes aplicações analíticas [44]. A seletividade observada para complexos de CoPC em análises, nas quais esses complexos foram utilizados, pode estar associada às variações nos substituintes ligados ao anel da ftalocianina [46]. O comportamento eletroquímico da CoPC está associado tanto ao átomo central quanto a processos redoxes do anel da ftalocianina. Os processos redoxes que ocorrem no átomo central podem envolver os pares Co(II)/Co(III) e Co(I)/Co(II), ao passo que os processos que ocorrem no anel da PC podem envolver os pares PC(-2)/PC(-1) e PC(-3)/PC(-2) [41, 46].

Em seu estado normal de oxidação o cobalto possui duas cargas positivas, sendo geralmente representado como Co(II) e a ftalocianina também possui duas cargas, sendo estas negativas, onde normalmente é representada por PC(-2). Portanto, os possíveis processos redoxes podem ser representados como descrito a seguir:

- **Oxidação do Co(II):** Co(II)PC(-2) / Co(III)PC(-2)
- **Oxidação do anel da ftalocianina:** Co(III)PC(-2) / Co(III)PC(-1)
- **Redução do Co(II):** Co(II)PC(-2) / Co(I)PC(-2)
- **Redução do anel da ftalocianina:** Co(I)PC(-2) / Co(I)PC(-3)

Apesar de diversos trabalhos utilizarem a CoPC como eletrocatalisador, o mecanismo redox ainda não foi completamente esclarecido. No entanto, Nevin e colaboradores apresentaram um estudo mecanístico sobre as ftalocianinas de cobalto, onde foi observado que há uma competição entre os processos redoxes envolvendo o anel da ftalocianina e o átomo central, Co(II). Em certas situações é difícil descrever onde está ocorrendo a reação, se no centro metálico ou no anel da ftalocianina, porém sabe-se que a reação sofre uma importante influência de espécies ligadas ao complexo, em que grupos retiradores de elétrons favorecem a redução, assim como a presença de grupo doadores de elétrons resulta complexos mais fáceis de oxidar [46].

A **Figura 9** mostra o diagrama de potenciais redoxes relacionados as reações que ocorrem nas ftalocianinas de cobalto na presença de diferentes solventes orgânicos. No entanto, a atenção aqui será voltada apenas para o

comportamento da CoPC mostrado neste diagrama. Os solventes utilizados foram N,N-dimetilformamida (DMF), diclorobenzeno (DCB) e diclorometano (DCM). O DMF é considerado um solvente coordenante por agir como um forte doador de elétrons, enquanto que os solventes DCM e DCB são considerados solventes não coordenantes. A partir do diagrama pode ser observado que na presença dos solventes DCM e DCB a oxidação do Co(II) ocorre em potenciais mais positivos, próximo a +1,0 V, entretanto quando se usa o DMF é visto claramente que há uma inversão nos potenciais de resposta dos pares Co(II)/Co(III) e PC(-2)/PC(-1), onde a oxidação do Co(II) pode ser observada em potencial bem menos positivo, demonstrando a efetiva contribuição do DMF na estabilização do Co(III). Ressalta-se que o meio em que a reação ocorre também exerce uma forte influência no potencial redox do complexo. Em meio alcalino o par Co(II)/Co(III) não apresenta estabilidade ^[47] e em meio fortemente ácido (H₂SO₄ 0,05 M) o sinal de resposta atribuído ao par Co(II)/Co(I) desloca-se para potenciais mais positivos em comparação com os resultados vistos em meio alcalino ^[43].

Os potenciais redoxes do par Co(II)/Co(I) são essencialmente os mesmos nos diferentes solventes utilizados, o que demonstra a não influência dos ligantes na redução do Co(II), comportamento que também pode ser claramente identificado no diagrama da **Figura 9**.

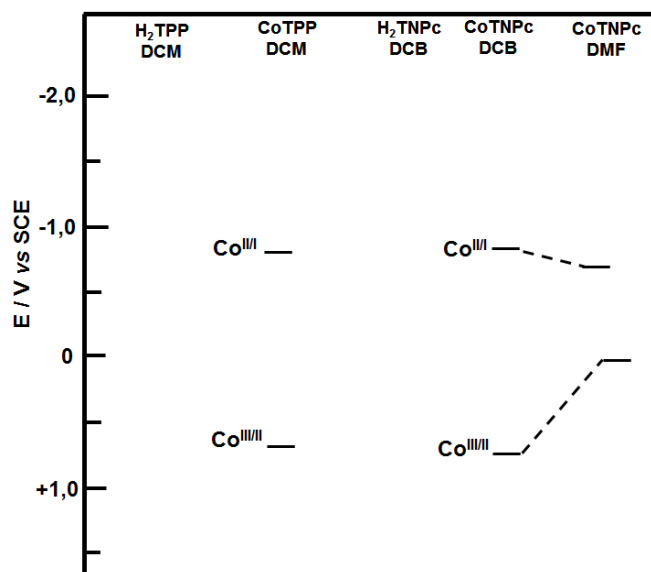


Figura 9. Diagrama dos potenciais redoxes das ftalocianinas de cobalto na presença de diferentes solventes orgânicos. Adaptado de Nevin et al ^[50].

Vários outros importantes estudos do mecanismo redox das ftalocianinas são encontrados na literatura [48-52]. Dentre eles encontra-se o trabalho de Zecevic e colaboradores que apresentam estudos com a ftalocianina de cobalto (II) tetrasulfonada (TsPC) adsorvida em substrato de grafite pirolítico e platina realizados em meio fortemente alcalino (pH 10,7), que atribuiu o sinal observado em aproximadamente -1,2 V à redução do anel da ftalocianina, TsPc(-2)/TsPc(-3), e um segundo sinal observado em aproximadamente -0,5 V relacionado a redução do centro metálico, Co(II)/Co(I), além de um terceiro sinal em aproximadamente +0,7 V associado a oxidação do par Co(II)/Co(III) [52]. Dois trabalhos do Abbaspour e colaboradores, mostram o aparecimento de sinais na faixa de potencial entre +0,9 V e +1,2 V, em tampão acetato pH = 5,1, os quais foram atribuídos ao par Co(II)/Co(III), ambos utilizando eletrodos de CPE [50, 51]. Estudos em DMF demonstraram que uma primeira redução ocorre em torno de +0,8 V, no íon central para o par Co(III)/Co(II) e uma segunda redução é relacionada ao par Co(II)/Co(I) ocorre em torno de -0,2 V [44]. Halber e Baldwin [49] atribuíram a oxidação em +0,93V em meio ácido (H_2SO_4 0,5 M) ao par Co(II)/Co(III), dizendo que esta atribuição é sustentada pelo fato de não haver mudança do sinal com o tempo, indicando não haver degradação do CoPC, atribuindo a oxidação em +0,77 V também a Co(II)/Co(III), porém adsorvido na superfície de um CPE, para a qual alega que o sinal se mantém após mudança de meio. Assim, a adsorção estaria facilitando o processo de oxidação [49]. Esses e outros trabalhos deixam claro que a oxidação do par Co(II)/Co(III) ocorre na faixa de potenciais de 0,7 V à 1,2 V [41, 44, 48, 53-55].

Neste trabalho verificou-se que um CPE modificado com CoPC promove a oxidação eletrocatalítica de AT, possibilitando o desenvolvimento de um novo método eletroanalítico para determinação deste ácido.

2. Objetivos

2.1. Geral

- Investigar as potencialidades do eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de cobalto II empregando técnicas voltamétricas para a determinação de ácido tartárico.

2.2. Específicos

- Estudar o comportamento eletroquímico do CoPC–CPE utilizando voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada;
- Investigar as potencialidades analíticas do CoPC–CPE para oxidação eletrocatalítica de ácido tartárico;
- Desenvolver método eletroanalítico para determinação ácido tartárico com base em sua oxidação eletrocatalítica;
- Efetuar aplicação analítica do método desenvolvido.

3. Experimental

3.1. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e todas as soluções foram preparadas com água purificada num sistema Milli-Q da Millipore (condutividade $\leq 0.1 \mu\text{S cm}^{-1}$). CoPC (97%), óleo mineral, pó de grafite ($\leq 20 \mu\text{m}$) e ácido málico foram todos adquiridos da Sigma–Aldrich. Ácidos tartárico, cítrico, láctico e succínico foram adquiridos da VETEC. Soluções estoque dos ácidos foram preparadas diariamente na concentração de $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ em eletrólito suporte. Menores concentrações foram obtidas por diluição diretamente na célula eletroquímica na presença do eletrólito. A **Tabela 1** mostra as composições das soluções tampão usadas como eletrólito suporte. Para um segundo estudo de pH foi utilizado como eletrólito suporte tampão acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, ajustando os valores de pH para 3,0, 4,5 e 6,2.

Tabela 1. Soluções usadas como eletrólito suporte.

pH	Composição (Volume em mL)
1,2	H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (20)
3,0	$\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50) + HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (20,3) + H_2O (29,7)
4,5	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50) + $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50)
6,0	$\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50) + NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (50)
7,0	KH_2PO_4 $0,34 \text{ mol L}^{-1}$ (50) + K_2HPO_4 $0,32 \text{ mol L}^{-1}$ (50)
9,0	NH_4OH $0,3 \text{ mol L}^{-1}$ (50) + NH_4Cl $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ (50)

3.2. Instrumentação

Todos os experimentos foram realizados à temperatura ambiente utilizando um potenciostato/galvanostato Eco Chemie/Autolab (Modelo PGSTAT128N) (**Figura 10**) acoplado a um microcomputador controlado pelo software NOVA versão 1.10.4. Para os estudos eletroquímicos utilizou-se uma

célula eletroquímica com compartimento único, equipada com três eletrodos, um de Ag/AgCl (KCl, 3 mol L⁻¹), como eletrodo de referência, um bastão de carbono vítreo, como auxiliar e um eletrodo de pasta de carbono como eletrodo de trabalho. Foi utilizado papel manteiga para fazer o polimento da superfície do eletrodo de trabalho.



Figura 10. Imagem do potenciostato/galvanostato Eco Chemie/Autolab (Modelo PGSTAT128N).

3.3. Preparação do eletrodo de pasta de carbono

Após estabelecer as quantidades de pó de carbono, ftalocianina e óleo mineral, as pastas de carbono (modificada e não modificada) foram preparadas através da mistura direta em almofariz durante 10 minutos. Posteriormente, a mistura com a ftalocianina foi dissolvida em acetona e, em seguida, promovida a completa evaporação do solvente. Com base na literatura ^[56], a proporção investigada de pó de carbono foi de (60-x) % e 40% de óleo mineral, em que x% corresponde a 0, 1, 3 e 6 de CoPC. Os eletrodos foram construídos por inserção da pasta no interior de um tubo de vidro de 3 mm de diâmetro interno contendo um fio de cobre soldado (contato fixo) no lado oposto para contato elétrico, como ilustrado na **Figura 11**.

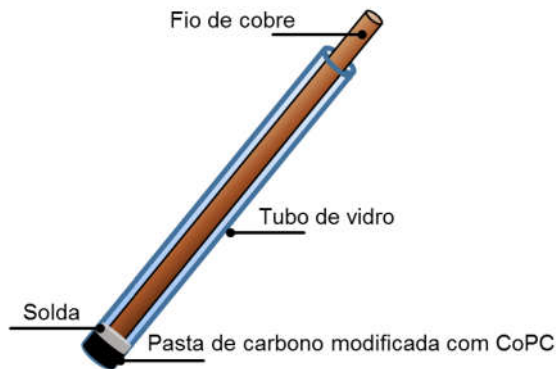


Figura 11. Ilustração do eletrodo de pasta de carbono modificado.

3.4. Procedimento experimental

Antes de cada medição, a superfície do eletrodo foi polida com um papel manteiga e submetida a um pré-tratamento eletroquímico, realizando-se 10 varreduras sucessivas no eletrólito suporte, utilizando SWV, para obter uma melhor linha de base. Após adição do AT, o sistema foi deixado sob agitação durante 20s em circuito aberto e um tempo de equilíbrio de 5s. Nenhum tratamento adicional foi necessário para regenerar a superfície do eletrodo.

As medições voltamétricas foram todas realizadas utilizando-se as técnicas de CV e SWV em tampão acetato, pH = 4,5, em temperatura ambiente. Todas as medidas foram realizadas em triplicata e para construção da curva analítica utilizaram-se diluições numa faixa de concentrações de 15 a 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com adições consecutivas. Os parâmetros experimentais típicos utilizados nas técnicas foram norteados pela literatura ^[56]:

✓ Voltametria de onda quadrada (parâmetros)

- Janela de potencial: 0,8 V à 1,25 V
- Incremento de potencial: 5mV
- Amplitude de pulso: 20 mV
- Frequência: 20 Hz

- Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}

✓ **Voltametria Cíclica (parâmetros)**

- Janela de potencial: $0,8 \text{ V}$ à $1,25 \text{ V}$ / $1,3 \text{ V}$
- Velocidade de varredura: 100 mV s^{-1}

3.5. Amostra

A amostra de TM foi adquirida em farmácia local. O teor de tartarato de metoprolol descrito no medicamento é de 100 mg por comprimido e cada comprimido pesa em média $0,495 \text{ g}$. Dessa forma, inicialmente pesou-se uma porção de 10 comprimidos para adquirir um peso médio com cerca de $4,95 \text{ g}$. O material foi triturado em um almofariz até a obtenção de um pó finíssimo, que posteriormente foi dissolvido em 100 mL de solução tampão ácido acético/acetato $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 4,5$, em temperatura ambiente. Essa mistura foi submetida à agitação durante 10 minutos e posteriormente filtrada para remover partículas insolúveis, utilizando-se uma membrana porosa de $0,45 \mu\text{m}$. Por fim, retirou-se um volume de $500 \mu\text{L}$ do filtrado e diluiu-se para um volume final de $20,5 \text{ mL}$ com a mesma solução tampão, com o objetivo de se obter uma concentração final de TM dentro da faixa linear da curva analítica.

4. Resultados e discussão

4.1. Comportamento eletroquímico do CoPC–CPE

O comportamento eletroquímico do CoPC–CPE foi investigado por SWV em solução tampão de acetato pH = 4,5. Observou-se a existência de dois processos eletroquímicos reversíveis em 0,70 V (a) e 1,10 V (b), juntamente com um processo irreversível em 1,15 V (c), **Figura 12**. Tal comportamento eletroquímico da CoPC imobilizada em outros substratos de carbono já foi fundamentado na literatura [50-52, 57] e os picos decorrente são atribuídos aos processos redoxes que podem ocorrer no íon metálico central ou no anel da ftalocianina. De acordo com a literatura, os picos “1” e “2” podem ser atribuídos ao processo de oxidação Co(II)PC/Co(III)PC [49-51], enquanto o pico “3” pode ser atribuído à oxidação do anel da ftalocianina [46], em concordância com resultados experimentais que serão discutidos mais adiante na seção 4.2.

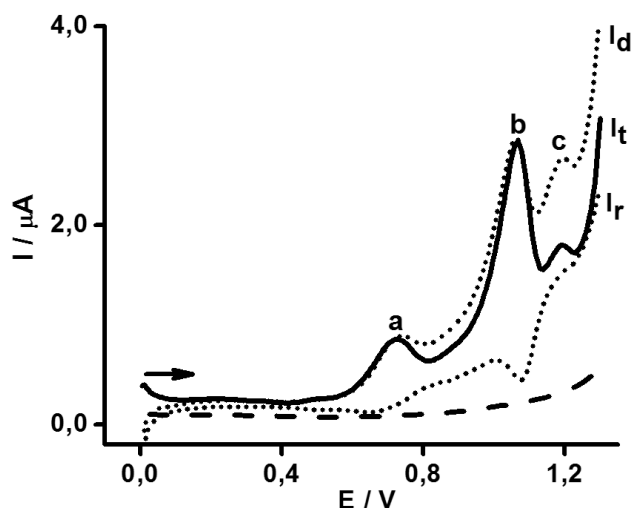


Figura 12. SWV do CoPC-CPE. Tampão de ácido acético/acetato, pH = 4,5. CoPC-CPE: It - corrente total, Id - corrente direta e Ir – corrente reversa e CPE (— — —). $E_{p1} = 0,77$ V, $E_{p2} = 1,037$ V e $E_{p3} = 1,19$ V. $f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,0 V à 1,25 V.

Os picos "2" e "3" desaparecem completamente após 10 varreduras SWV consecutivas entre 0,8V e 1,25V (**Figura 13A**), o que atribui-se a um certo grau de irreversibilidade do sistema, especialmente em relação ao pico "3", uma vez que o desaparecimento do pico "2" é bem mais lento quando o potencial final da varredura é definido antes do início da onda "3", como mostrado na **Figura 13B**.

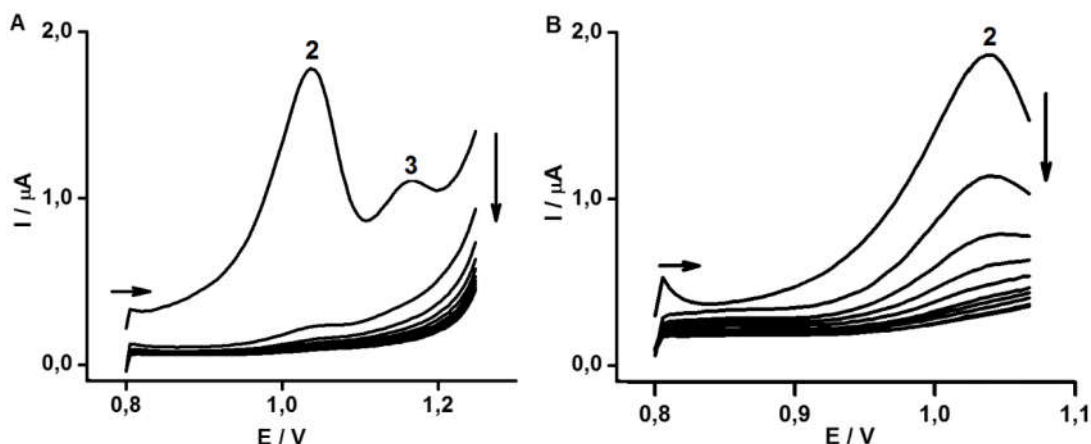


Figura 13. Comportamento eletroquímico do CoPC–CPE em SWV, tampão acetato, pH = 4,5. (A) 10 voltamogramas sucessivos em janela de potencial 0,8 V à 1,25 V ($E_{p2} = 1,037 \text{ V}$, $E_{p3} = 1,19 \text{ V}$) e (B) 10 voltamogramas sucessivos em janela de potencial de 0,8 V à 1,067 V ($E_{p2} = 1,037 \text{ V}$). ($f = 20 \text{ Hz}$, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5 \text{ mV}$, em janela de potencial de 0,8 V à 1,25 V).

É importante registrar que, após o tratamento eletroquímico para eliminar completamente os picos "2" e "3", estes picos reaparecem quando o eletrodo é deixado em repouso, em circuito aberto, por cerca de 1h no eletrólito suporte (tampão acetato pH = 4,5), **Figura 14**. O desaparecimento dos sinais deve estar associado mais diretamente ao processo de oxidação irreversível relativo ao pico "3", tendo em vista que o desaparecimento do pico "2" ocorre bem mais lentamente na ausência do processo redox relativo ao pico "3" (quando se corta a varredura antes do pico "3"). O reaparecimento dos picos (**Figura 14**), com o passar do tempo, pode estar relacionado a difusão de algum produto de oxidação ou de algum contra-íon envolvido neste processo.

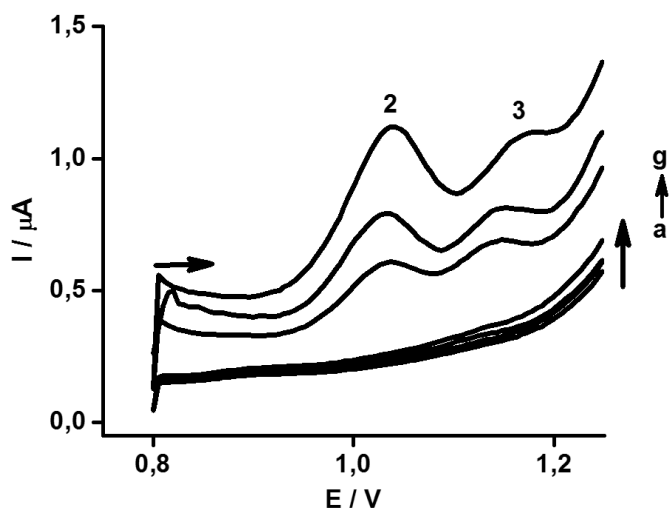


Figura 14. SWV do CoPC–CPE após condicionamento eletroquímico. Tempo de repouso: 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120min, (a-g), respectivamente em solução quiescente. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,6 V à 1,25 V).

4.2. Comportamento voltamétrico do ácido tartárico em CoPC–CPE

Os estudos mostram que o AT não é eletroativo em eletrodo de pasta de carbono nem em outros eletrodos convencionais. No entanto, sofre oxidação eletrocatalítica em CPE modificado com o mediador de elétrons CoPC, apresentando uma onda catalítica bem definida em torno de 1,15 V, como pode ser visto na **Figura 15**.

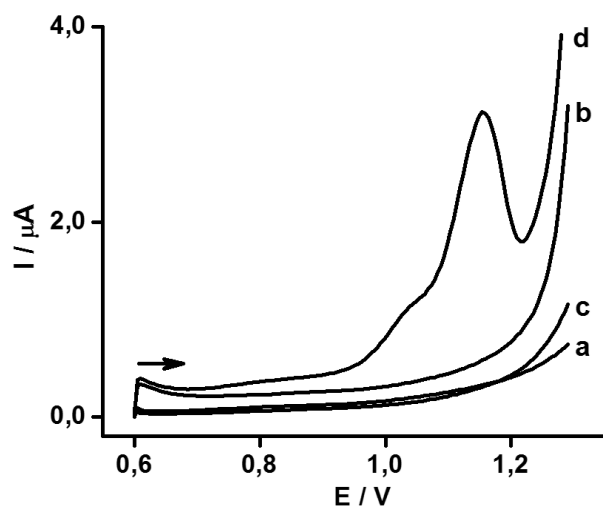


Figura 15. SWV para CPE e CoPC–CPE na ausência e presença de AT. CPE [(a) e (c)] e CoPC - CPE [(b) e (d)]. (a) e (b) na ausência e (c) e (d) na presença de $90 \mu\text{mol L}^{-1}$ AT.

A fim de investigar o mecanismo eletrocatalítico envolvido na oxidação do AT na superfície do CoPC–CPE, foram realizados ensaios com um eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de níquel (NiPC–CPE), confeccionado similarmente ao CoPC–CPE. A **Figura 16** apresenta os voltamogramas na ausência e na presença de AT.

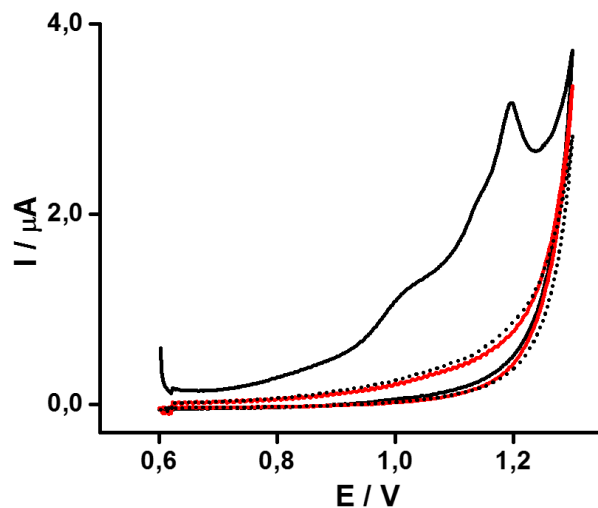
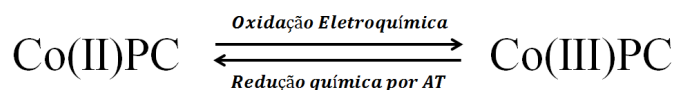


Figura 16. SWV do NiPC – CPE. Tampão acetato, pH 4,5. Primeira varredura do NiPC - CPE (—), segunda varredura (.....) e varredura na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de AT (—).

O processo redox para o metal em ftalocianinas de níquel ocorre na região de potenciais entre 0,0 V e 0,3 V [53, 58, 60]. Por conseguinte, o pico de oxidação observado em 1,19 V na primeira varredura pode ser atribuído à oxidação do anel da ftalocianina, corroborando com os resultados observados para a CoPC–CPE (**Figura 12**). Além disso, o completo desaparecimento da onda na segunda varredura pode ser atribuído à irreversibilidade do processo de oxidação do anel da ftalocianina, resultado também visto para o CoPC–CPE (**Figura 13A**). Por outro lado, o não aparecimento de qualquer sinal de oxidação do AT no NiPC–CPE permite concluir que o ciclo catalítico da oxidação em CoPC–CPE envolve a conversão Co(II)/Co(III), o que está em pleno acordo com a literatura [56]. Portanto, a atividade eletrocatalítica do CoPC–CPE para oxidação do AT está associada a um processo redox do metal central da ftalocianina, envolvendo a oxidação eletroquímica do Co(II) a Co(III) seguida da recondução do cobalto ao seu estado de oxidação original através da redução química do Co(III) a Co(II) pelo AT em solução, como representado no esquema a seguir.



4.3. Influência da percentagem do modificador

A carga/percentagem do modificador foi estudada para otimizar a resposta analítica. Observou-se que os melhores resultados foram obtidos quando se utilizou cerca de 3% de CoPC. A **Figura 17** mostra o registro dos voltamogramas em tampão acetato, pH = 4,5. Pode-se observar que, quando se usou 1% de CoPC na pasta de carbono, a corrente diminuiu consideravelmente, o que pode estar associado ao baixo número de centros ativos para oxidação do AT, e quando se usou 6% de CoPC a corrente também caiu consideravelmente, o que deve estar associado a um aumento da resistência elétrica no interior do sensor, afetando drasticamente o seu desempenho. Portanto uma percentagem de 3% de CoPC foi escolhida para elaboração deste sensor. Estes dados estão de acordo com resultados da literatura [56]. É importante destacar que o potencial de pico não apresentou

variações significativas com a variação da percentagem de CoPC na pasta, apenas a corrente de pico foi influenciada consideravelmente.

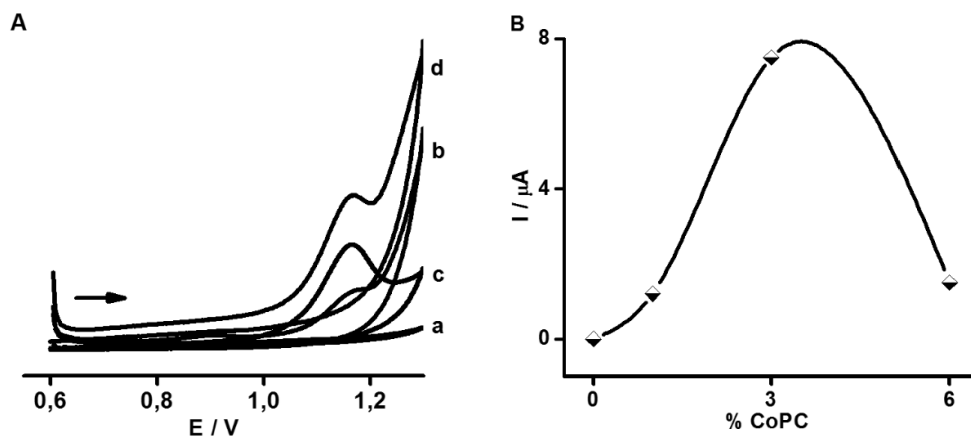


Figura 17. Estudo da percentagem de CoPC no CoPC-CPE. (A) Voltamogramas cíclicos em diferentes percentagens de CoPC: (a) 0%, (b) 1% (c) 3%, e (d) 6% CoPC. (B) Influência da percentagem de CoPC sobre a corrente de pico. CoPC-CPE na presença de 4 mmol L^{-1} de AT em tampão acetato, $\text{pH} = 4,5$. ($f = 20 \text{ Hz}$, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5 \text{ mV}$, em janela de potencial de $0,6 \text{ V}$ à $1,25 \text{ V}$).

4.4. Influência do pH

A influência do pH no comportamento eletroquímico do ácido tartárico em CoPC-CPE foi investigada na faixa de pH de 1 a 9. Diferentemente da faixa alcalina, onde não se observou nenhuma definição de onda, na faixa ácida observa-se claramente uma onda catalítica muito bem definida, com destaque para uma maior sensibilidade em $\text{pH} = 4,5$.

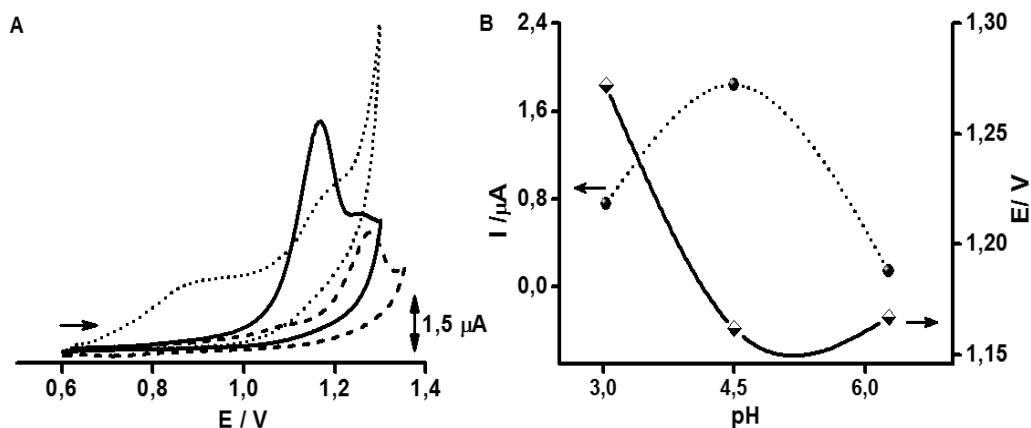


Figura 18. Influência do pH na resposta eletrocatalítica do AT em CoPC–CPE. (A) Voltamogramas cíclicos correspondente. CoPC – CPE na presença de $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de AT em tampão acetato, pH = 3,0 (----), 4,5 (—) e 6,2 (.....); (B) Influência do pH sobre a corrente e o potencial de pico. CoPC–CPE na presença de $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ de AT em tampão acetato, $f = 20 \text{ Hz}$, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5 \text{ mV}$, em janela de potencial de $0,6 \text{ V}$ à $1,25 \text{ V}$.

A **Figura 18** mostra a influência do pH sobre a oxidação eletrocatalítica do AT no CoPC–CPE, na faixa ácida. Verifica-se um deslocamento significativo do potencial de pico para potenciais mais positivos com o abaixamento do pH, o que pode estar associado à protonação dos íons tartarato, em concordância com os valores de pKa do ácido tartárico (2,9 e 4,2) e com resultados encontrados na literatura [56]. Um significativo deslocamento de pico para potenciais de oxidação menos positivos pode ser observado quando se passa de pH 3,0 para pH = 4,5. Paralelamente, verifica-se um aumento expressivo na sensibilidade do sinal, obtendo-se um máximo de corrente em pH = 4,5. Uma solução tampão ácido acético/acetato de sódio ($0,05 \text{ mol L}^{-1}$) foi, portanto, escolhida como eletrólito suporte.

4.5. Comportamento voltamétrico de outros ácidos orgânicos do grupo do ácido tartárico em CoPC–CPE

A resposta eletrocatalítica do CoPC-CPE foi também investigada para outros ácidos orgânicos de baixo peso molecular (cítrico, málico, láctico e succínico) comumente encontrados conjuntamente com AT em amostras importantes como frutas e vinho [61], **Figura 19**. Pode-se ver claramente que o CoPC–CPE responde também aos ácidos cítrico, málico, láctico e succínico, o que, por um lado, é uma limitação do sensor, por exigir uma separação prévia destes ácidos antes de sua determinação analítica, mas, por outro lado, abre uma importante perspectiva de aplicação como detector eletroquímico para determinação simultânea destes ácidos em amostras complexas como frutas e vinho por HPLC. O voltamograma em vermelho na **Figura 19** mostra que nenhum dos ácidos investigados mostrou qualquer eletroatividade em CPE.

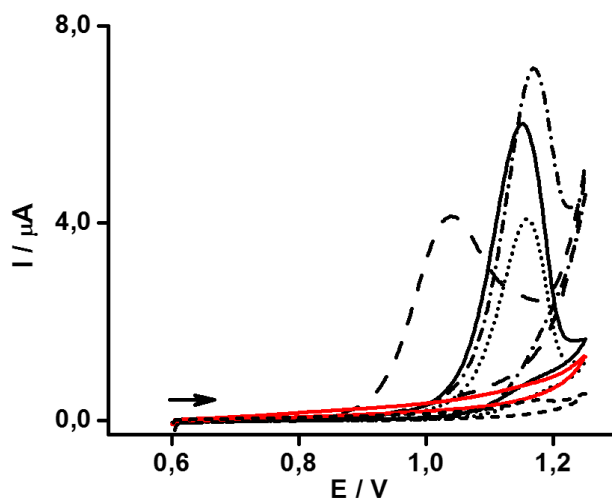


Figura 19. SWV de diferentes ácidos em CoPC – CPE e CPE. Voltamogramas cíclicos de $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ dos ácidos tartárico (— . . .), cítrico (— — —), málico (———), láctico (.....) e succínico (-----) em CoPC - CPE e todos juntos em CPE (———).

4.6. Curva analítica

A **Figura 20** mostra as respostas voltamétricas por SWV ea respectiva curva analítica para concentrações crescentes de AT nas condições

experimentais otimizadas para CoPC–CPE, utilizando tampão acetato pH = 4,5. Picos bem definidos são obtidos para a oxidação de AT com potenciais de pico em torno de 1,15 V. Uma excelente relação linear entre a corrente de pico e concentração foi verificada no intervalo de concentração de 15 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,9992$, para $n = 7$, e $i/\mu\text{A} = 0,06 (\pm 0,02) + 0,013 (\pm 0,0002) [\text{TA}]/\text{mol L}^{-1}$), com um limite de detecção de $4,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($3\sigma/S$) e limite de quantificação de $15,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($10\sigma/S$), onde σ é o desvio padrão do sinal do branco e S é a sensibilidade.

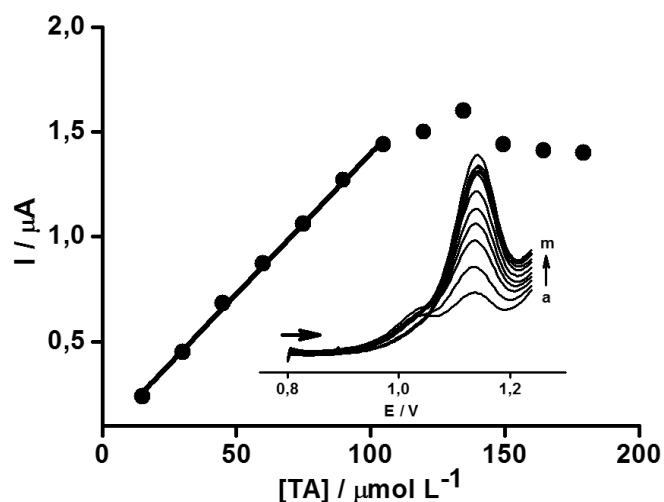


Figura 20. Curva analítica do AT em CoPC–CPE. Adições sucessivas de AT em tampão de acetato (pH = 4,5) em concentrações de 15 – 180 $\mu\text{mol L}^{-1}$. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,8 V à 1,25 V).

4.7. Efeito de memória

Varreduras consecutivas utilizando duas soluções de diferentes concentrações de AT foram realizadas para avaliar a existência do efeito de memória no sensor. As duas soluções foram usadas alternadamente após uma simples lavagem com água da superfície do eletrodo entre os experimentos. A partir do registro dos voltamogramas, pode ser visto claramente que o sensor não apresenta qualquer efeito de memória (**Figura 21**), o que demonstra a pronta regeneração de sua atividade entre os

experimentos. Assim, o sensor pode ser utilizado diversas vezes sem perda de atividade, bastando para isso uma simples lavagem com água.

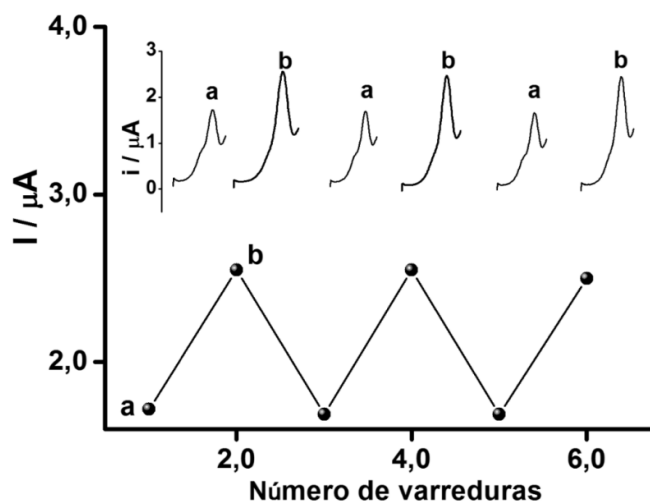


Figura 21. Efeito de memória. SWV consecutivos em tampão de acetato (pH = 4,5) para o AT (a) $45 \mu\text{mol L}^{-1}$ e (B) $75 \mu\text{mol L}^{-1}$. ($f = 20 \text{ Hz}$, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5 \text{ mV}$, em janela de potencial de $0,8 \text{ V}$ à $1,25 \text{ V}$).

4.8. Aplicação analítica do CoPC-CPE

A fim de avaliar uma aplicação prática do sensor eletroquímico proposto, o CoPC-CPE foi empregado para determinação de metoprolol indiretamente, através da determinação do contra-íon tartarato em amostras do medicamento TM. A **Figura 22** mostra a resposta analítica deste medicamento no CoPC-CPE. Uma resposta quantitativa voltamétrica pode ser observada em $1,15 \text{ V}$. A análise revelou $101,3 \text{ mg}$ de tartarato de metoprolol na amostra, ($\text{rsd} = 1,26\%$, $n = 3$), em plena concordância com o valor relatado pelo fabricante (100 mg) bem como o descrito pela Farmacopeia Brasileira ^[62] (mínimo de 95% e máximo de $105,0\%$), demonstrando a confiabilidade do método e do sensor desenvolvido.

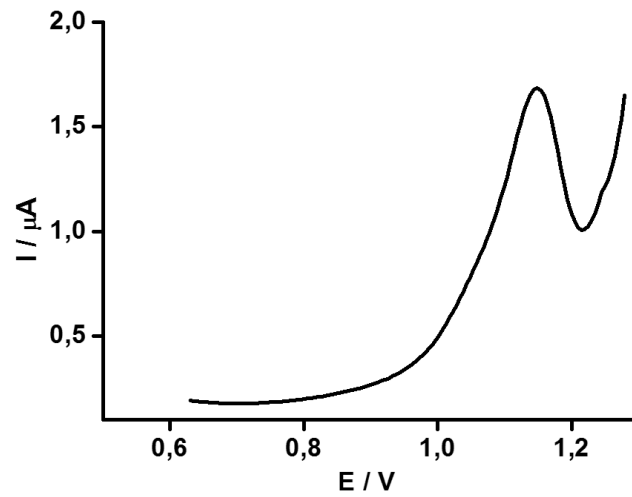


Figura 22. SWV de uma amostra de tartarato de metoprolol em tampão acetato, pH = 4,5. ($f = 20$ Hz, amplitude de pulso = 20 mV e $\Delta E = 5$ mV, em janela de potencial de 0,6 V à 1,25 V).

5. Conclusão

Este trabalho demonstra pela primeira vez a atividade eletrocatalítica da CoPC para oxidação de AT.

O CoPC–CPE mostrou-se eficiente para aplicações analíticas como sensor para AT via oxidação eletrocatalítica com elevada sensibilidade, se prestando para determinações na faixa de concentração de micromolar por SWV. Além, o sensor não apresenta efeito de memória.

Desenvolveu-se um método altamente sensível e confiável para determinação de AT, com excelente linearidade de resposta na faixa de 15 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($r = 0,9992$), limite de detecção de 4,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (3σ) e limite de quantificação de 15,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

O sensor foi aplicado com sucesso para determinação indireta de um fármaco que contém tartarato como contra-íon, através da medição do contra-íon tartarato, sendo potencialmente aplicável para fármacos similares.

O sensor responde também para outros ácidos orgânicos de baixo peso molecular, tais como o ácido cítrico, málico, láctico e succínico em potenciais muito próximos ao do AT, o que abre uma importante perspectiva de sua utilização como detector eletroquímico para estes ácidos via HPLC.

Perspectivas

- Determinar o AT em amostra que contenha ácidos orgânicos como ácido málico, láctico, cítrico e succínico, utilizando o CoPC-CPE associado a artifícios químicos para eliminar o efeito de interferência causado por esses ácidos.
- Utilizar ferramentas quimiométricas para a quantificação de AT em amostras complexas contendo outros ácidos de baixo peso molecular.

Referências

1. Kontogiannopoulos, K. N.; Patsios, S. I.; Karabela, A. J.; Tartaric acid recovery from winery lees using cation exchange resin: Optimization by Response Surface Methodology. **Separat. and Purif. Technology**, v. 165, p. 32–41, 2016.
2. Song, Y.; Song, Y.; Xu, J.; Electrochemical Determination of Tartaric Acid at Nano Gold/Nano Carbon Modified Glassy Carbon Electrode. **Russian J. of Physical Chemistry**, v. 86, p. 1458–1464, 2012.
3. Regueiro, J.; Vallverdú-Queralt, A.; Simal-Gàndara, J.; Estruch, R.; Lamuela-Raventós, R. M.; Urinary tartaric acid as a potential biomarker for the dietary assessment of moderate wine consumption: a randomised controlled trial. **British J. of Nutrition**, v. 111, p. 1680 – 1685, 2014.
4. **International Organisation of Vine and Wine (OIV)**, Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis, Tartaric acid, vol. 1, Paris, 2007, MA-E-AS313-05-ACITAR.
5. Lázaro, F.; Castro, M. D. L.; Valcárcel, M.; Photometric Determination oftartaric acid in wine byFlow Injection Analysis. **Analyst**, v. 111, p. 729 – 732, 1986.
6. Oliveira, S. M.; Lopes, T. I. M. S; Tóth, I. V.; Rangel, A. O. S. S.; Simultaneous determination of tartaric acid and potassium in wines using a multicommuted flow system with dialysis. **Talanta**, v. 81, p. 1735–1741, 2010.
7. Mallet, S.; Arellano, M.; Boulet, J. C.; C, F.; Determination of tartaric acid in solid wine residues by capillary electrophoresis and indirect UV detection. **J. of Chromatography**, v. 853, p. 181 – 184, 1999.
8. Lima, L. L. A.; Schuler, A.; Guerra, N. B.; Otimização e validação de método para determinação de ácidos orgânicos em vinhos por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, v. 33, p. 1186-1189, 2010.
9. He, Z.; Gao, H.; Yuan, L.; Luo, Q.; zeng, Y.; Simultaneous Determination of oxalic and tartaric acid with Chemiluminescence Detection. **Analyst**, v. 122, p. 1343 – 1345, 1997.

10. Cai, Z. Y.; Pei, L. Z.; Yang, Y.; Pei, Y. Q.; Fan, C. G.; Electrochemical behavior of tartaric acid at CuGeO₃ nanowire modified glassy carbon electrodes. **J. Solid State Electrochemistry**, v. 16, p. 2243 – 2249, 2012.
11. Desai, P. B.; Srivastava, A. K.; Adsorptive stripping differential pulse voltammetric determination metoprolol at Nafion-CNT-nano-composite film sensor. **Sens. and Actuators B: Chemical**, v. 176, p. 632 – 638, 2013.
12. Mohammad, S. T.; Taghi, V. M.; Waqif, H. S.; Parviz, A. A; Solid-Phase Extraction of Metoprolol onto (Methacrylic acidethylene glycol dimethacrylate)-based Molecularly Imprinted Polymer and Its Spectrophotometric Determination. **Chinese J. of Chemistry**, v 28, p. 647 – 655, 2010.
13. Kurzawa, M., Determination of metoprolol tartrate by capillary isotachopheresis. **Chem. Papers**, v. 64, p. 294–300, 2010.
14. Vidales, M. J. M., Sàez, C., Cañizares, P., Rodrigo, M. A., Metoprolol abatement from wastewaters by electrochemical oxidation with boron doped diamond anodes. **J. Chem. Technol Biotechnol**, v. 87, p. 225–231, 2012.
15. Huang, J.; Sun, J.; Zhou, X.; You, T.; Determination of Atenolol and Metoprolol by Capillary Electrophoresis with Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) Electrochemiluminescence Detection. **Anal. sciences**, v. 23, p. 183 – 188, 2007.
16. Cenicerros, C.; Maguregui, M.I.; Jimenez, R.M.; Alonso, R.M., Quantitative determination of the b-blocker labetalol in pharmaceuticals and human urine by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. **J. of Chromatography B**, v. 705, p. 97–103, 1998.
17. Alpdogan, G., Sungur, S., AAS and spectrophotometric methods for the determination metoprolol tartrate in tablets. *Spectrochim Acta Part A*, v. 55 p. 2705–2709, 1999.
18. Zorluoglu, S. L.; Tasdemir, I. H.; Ece, A.; Kiliç, E.; A cooperative computational and experimental investigation on electrochemical behavior of metoprolol and its voltammetric determination. **Canadian J. of Chemistry**, v. 91, p. 951 – 959, 2013.
19. Ticianelli, E. A.; González, E. R. **Eletroquímica, Princípios e aplicações**. 2^a ed. São Paulo, 2005.

20. SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A., Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos, **Química Nova**, v. 26, p. 81, 2003.
21. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R.; Fundamentos de Química Analítica, Trad. Sob a direção de Marco Tadeu Grassi. 8ª edição. São Paulo: Cengage Learning, 2008.
22. BARD, A. J.; INZELT, G.; SCHOLZ, F.; Electrochemical Dictionary. 1º edição. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2008.
23. BARD, A. J.; FAULKNER, L. R.; Electrochemical Methods Fundamentals and Applications. 2º edição. New York: John Wiley & Sons, 2001.
24. BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A.; Eletroquímica Princípios, Métodos e Aplicações. Coimbra: Livraria Almedina, 1996.
25. GIINZLER, H.; WILLIAM, A.; Handbook of Analytical Techniques. 1º edição. Weinheim: Wiley-CVh, 2001.
26. WANG, J.; Analytical Electrochemistry. 2ª edição. New York: John Wiley, 2000.
27. OZKAN, S. A.; KAUFFMANN, J. M.; ZUMAN, P.; **Electroanalysis in Biomedical and Pharm. Sciences: Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications**. Heidelberg: Springer-Verlag, 2015.
28. HARRIS, D. C.; Análise química quantitativa. Tradução de Carlos Alberto da Silva Riehl e Alcides Wagner Serpa Guarino. 5. edição. Rio de Janeiro: LTC, 2001.
29. SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A., Voltametria de onda quadrada. Segunda Parte: Aplicações. **Química Nova**, v. 27, p. 790 - 797, 2004.
30. Carvalho, S. E. Q., **Desenvolvimento e aplicações de eletrodos quimicamente modificados com Hexacianoferratos do metais Fe, Ni e Co**, 2011. São Carlos – SP.
31. Fagan-Murphy, A.; Allen, M. C.; Patel, B. A.; Chemically modified multiwall carbon nanotube composite electrodes: An assessment of fabrication strategies. **Electrochim. Acta**, v. 152, p. 249–254, 2015.
32. Chillawar, R. R.; Tadi, K. K.; Motghare, R. V.; Voltammetric Techniques at Chemically Modified Electrodes. **J. of Anal. Chemistry**, Vol. 70, p. 399–418 2015.

33. Kuwana, T.; French, W. G.; Eletrooxidation or reduction of organic compound into aqueous solutions using carbon paste electrode. **Anal. Chemistry**, V. 36, p. 241 – 242, 1964.
34. Schultz, F. A.; Kuwana, T.; Electrochemical studies of organic compounds dissolved in carbon-paste electrodes. **J. Electroanal. Chemistry**, V. 10, p. 95 – 103, 1965.
35. Parsaei, M.; Asadi, Z.; Khodadoust, S.; A sensitive electrochemical sensor for rapid and selective determination of nitrite ion in water samples using modified carbon paste electrode with a newly synthesized cobalt(II)-Schiff base complex and magnetite nanospheres. **Sensors and Actuators B**, v. 220, p. 1131–1138, 2015.
36. Conceição, C. D. C.; **Construção e aplicação analítica de eletrodos de pasta de carbono modificada com ftalocianina de cobalto para determinação de analitos de interesse**, 2004. São Carlos – SP.
37. Nascimento, V. B.; Angnes, L.; Eletrodos Fabricados Por “Silk-Screen”, **Química Nova**, v. 21, p. 614-629, 1998.
38. Pereira, A. C.; Santos, A. S.; Kubota, L. T.; Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, p. 1012-1021, 2002.
39. Nemykin, V. N., Dudkin, S. V., Dumoulin, F., Hirel, C., Gurek, A. G., Ahsen, V., Synthetic approaches to asymmetry phthalocyanines and their analogues. **Arkivoc**, v. 1, 142-204, 2014.
40. Corrêa, G. T. **Determinação eletroanalítica do herbicida Paraquat em soluções aquosas sobre eletrodos Modificados com o sistema quitosana –NiTsPc**, 2013. São Luís.
41. Isaacs, M., Aguirre, M. J., Toro-Labbè, A., Costamagna, J., Pàez M., Zagal, J. H., Comparative study of the electrocatalytic activity of cobalt phthalocyanine and cobalt naphthalocyanine for the reduction of oxygen and the oxidation of hydrazine. **Electrochim. Acta**, v. 43, p. 1821 – 1827, 1997.
42. Zagal, J. H.; Griveau, S.; Silva, F.; Nyokong, T.; Bedioui, F.; Metallophthalocyanine-based molecular materials as catalysts for electrochemical reactions. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 254, p. 2755 – 2791, 2010.

43. Zagal, J.; Páez, M.; Tanaka, A. A.; Santos, Jr.; Linkous, C. A.; Electrocatalytic activity of metal phthalocyanines for oxygen reduction. **J. of Electroanal. Chemistry**, v. 339, p. 13 -30, 1992.
44. Maree, S.; Nyokong, T.; Electrocatalytic behavior of substituted cobalt phthalocyanines towards the oxidation of cysteine. **J. of Electroanal. Chemistry**, v. 492, p. 120 – 127, 2000.
45. Boni, A. C.; Wong, A.; Dutra, R. A.F.; Sotomayor, M. D. P. T.; Cobalt phthalocyanine as a biomimetic catalyst in the amperometric quantification of dipyrone using FIA. **Talanta**, v. 85, p. 2067 – 2073, 2011.
46. Nevin, W. A., Hempstead, M. R., Liu, W., Leznoff, C. C., Lever, A. B. P., Electrochemistry Phthalocyanines and Spectroelectrochemistry of Mononuclear and Binuclear Cobalt. **Inorg. Chemistry**, v. 26, p. 570 – 577, 1987.
47. Geraldo, D. A., Togo, C. A., Limson, J., Nyokong, T., Electrooxidation of hydrazine catalyzed by noncovalently functionalized single-walled carbon nanotubes with CoPc. **Electrochim. Acta**, v. 53, p. 8051 – 8057, 2008.
48. Zagal, J. Sen, R. K., Yeager, E., Oxygen reduction by co(ii) tetrasulfonatephthalocyanine irreversibly adsorbed on a stress-annealed pyrolytic graphite electrode surface. **J. Electroanal. Chemistry**, v. 83, p. 207 – 213, 1977.
49. Halbert, M. K., Baldwin, R. P., Electrocatalytic and Analytical Response of Cobalt Phthalocyanine Containing Carbon Paste Electrodes toward Sulfhydryl Compounds. **Anal. Chemistry**, v. 57, p. 591 – 595, 1985.
50. Abbaspour, A., Mehrgardi, M. A., Kia R., Electrocatalytic oxidation of guanine and ss-DNA at a cobalt (II) phthalocyanine modified carbon paste electrode. **J. of Electroanal. Chemistry**, v. 568, p. 261 – 266, 2004.
51. Abbaspour, A., Mehrgardi, M. A., Electrocatalytic Oxidation of Guanine and DNA on a Carbon Paste Electrode Modified by Cobalt Hexacyanoferrate Films. **Anal. Chemistry**, v. 76, p. 5690 – 5696, 2004.
52. Zecevic, S.; Simic-Glavaski, B.; Yeager, E.; Part v. Voltammetric studies of adsorbed tetrasulfonated phthalocyanines (mtspc) in aqueous solutions. **J. of Electroanal. Chemistry**, v. 196, p. 339 – 358, 1985.
53. Rollmann, L. D., Iwamoto, R. T., Electrochemistry, Electron Paramagnetic Resonance, and Visible Spectra of Cobalt, Nickel, Copper, and Metal-Free

- Phthalocyanines in Dimethyl Sulfoxide. **J. American Chem. Society**, p. 1455 – 1463, 1968.
54. Shepard, V. R., Armstrong, N. R., Electrochemical and Photoelectrochemical Studies of copper and cobalt phthalocyanine – Tin Oxide electrodes. **J. Physic. Chemistry**, v. 83, p. 1268 – 1275, 1979.
55. Amini, M. K., Khorasani, J. H., Khaloo, S. S., Tangestaninejad, S., Cobalt(II) salophen-modified carbon-paste electrodes for potentiometric and voltammetric determination of cysteine. **Anal. Biochemistry**, v. 320, p. 32 – 38, 2003.
56. Nascimento, R. F.; Selva, T. M. G.; Ribeiro, W. F.; Belian, M. F.; Angnes, L.; Nascimento, V. B.; Flow-injection electrochemical determination of citric acid using a cobalt(II)–phthalocyanine modified carbon paste electrode. **Talanta**, v. 105, p. 354 – 359, 2013.
57. Kozub, B. R.; Compton, R. G.; Voltammetric studies of the redox mediator, cobalt phthalocyanine, with regard to its claimed electrocatalytic properties. **Sens. and Actuators B: Chemical**, v. 147, p. 350 – 358, 2010.
58. Kang, T. F.; Shen, G. L.; Yu, R. Q.; Voltammetric behaviour of dopamine at nickel phthalocyanine polymer modified electrodes and analytical applications. **Anal. Chim. Acta**, v. 356, p. 245 – 251, 1997.
59. Abbaspour, A.; Norouz-sarvestani, F.; Mirahmadi, E.; Electrocatalytic behavior of carbon paste electrode modified with metal phthalocyanines nanoparticles toward the hydrogen evolution. *Electrochim. Acta*, v. 76, p. 404–409, 2012.
60. Agboola, B. O.; Ozoemena, K. I.; Nyokong, T.; Electrochemical properties of benzylmercapto and dodecylmercapto tetra substituted nickel phthalocyanine complexes: Electrocatalytic oxidation of nitrite. **Electrochim. Acta**, v. 51, p. 6470 – 6478, 2006.
61. Kritsunankul, O.; Pramote B.; Jakmunee, J.; Flow injection on-line dialysis coupled to high performance liquid chromatography for the determination of some organic acids in wine. *Talanta*, v. 79, p. 1042–1049, 2009.
62. Farmacopeia Brasileira. 5^a. Ed. Brasília: Fiocruz 2 (2010) 7–807.