



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA – RENORBIO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**Tese de Doutorado**

**DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO SENSOR ELETROQUÍMICO  
PARA DETECÇÃO DE GLUTATIONA REDUZIDA: BASEADO NO  
METAL ORGANIC FRAMEWORK COBRE (II) – BENZENO - 1, 3, 5 –  
TRICARBOXILATO**

**NADJA VANESSA DE ALMEIDA FERRAZ**

**Recife - PE**

**2017**

**NADJA VANESSA DE ALMEIDA FERRAZ**

**DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO SENSOR ELETROQUÍMICO  
PARA DETECÇÃO DE GLUTATIONA REDUZIDA: BASEADO NO  
METAL ORGANIC FRAMEWORK COBRE (II) – BENZENO - 1, 3, 5 –  
TRICARBOXILATO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

**Orientador: Prof. Dr. Manoel Adrião Gomes Filho**

**Co-orientadores: Prof. Dr. Severino Alves Junior**

**Profª Drª. Railda Shelsea Taveira Rocha do Nascimento**

**Recife - PE**

**2017**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

F381d Ferraz, Nadja Vanessa de Almeida  
Desenvolvimento de um novo sensor eletroquímico para  
detecção de glutatona reduzida: baseado no metal organic  
framework cobre (ii) - benzeno - 1, 3, 5 – tricarboxilato / Nadja  
Vanessa de Almeida Ferraz. – 2017.  
156 f. : il.

Orientador: Manoel Adrião Gomes Filho.

Coorientador: Severino Alves Junior.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia – RENORBIO, Recife, BR-PE, 2017.

Ponto focal em Pernambuco – Universidade Federal Rural  
de Pernambuco.

Inclui referências e anexo(s).

1. Glutatona 2. Rede metal-orgânica 3. Nanopartículas de ouro  
4. Eletrodo quimicamente modificado 5. Sensor eletroquímico  
I. Gomes Filho, Manoel Adrião, orient. II. Alves Junior, Severino,  
coorient. III. Título

CDD 620.8

# **TERMO DE APROVAÇÃO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA  
RENORBIO**

**TESE DE DOUTORADO ELEBORADA POR:**

**NADJA VANESSA DE ALMEIDA FERRAZ**

**DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO SENSOR ELETROQUÍMICO PARA  
DETECÇÃO DE GLUTATIONA REDUZIDA: BASEADO NO METAL ORGANIC  
FRAMEWORK COBRE (II) – BENZENO - 1, 3, 5 – TRICARBOXILATO**

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 18/09/2017

## **BANCA EXAMINADORA**

### **Orientador:**

---

Prof. Dr. Manoel Adrião Gomes Filho  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

### **Examinadores**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr. Valdemiro Amaro da Silva Junior  
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - UFRPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria de Mascena Diniz Maia  
Departamento de Biologia - UFRPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Madalena Carneiro da Cunha Areias  
Departamento de Química Fundamental - UFPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Silveira Paim  
Departamento de Química Fundamental - UFPE

“A verdadeira medida de um homem não se vê na forma como se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas em como se mantém em tempos de controvérsia e desafio”. (Marthin Luther King)

## DEDICATÓRIA

*Á Deus pela vida, saúde e fé e a minha família por ser fortaleza em todos os momentos.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me dar força e coragem pra alcançar os meus objetivos, assim como, me levantar quando fraquejo.

Aos professores e orientadores Manoel Adrião Gomes Filho, Severino Alves Junior e Railda Shelsea T. R. do Nascimento, pela orientação, amizade, pela confiança e oportunidade que me foi oferecida e pelos valiosos ensinamentos, que contribuíram de maneira muito positiva para a minha formação profissional e pessoal.

À agência de fomento CAPES pelo apoio financeiro para a pesquisa e pela bolsa concedida. À Prof<sup>a</sup> Maria Conceição Branco e ao Prof. Alberto Araújo, pela atenção, orientação e aprendizados durante o doutorado sanduíche na Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. À prof<sup>a</sup> Ana Paula Paim por esta oportunidade.

Aos meus pais, Marcos e Vera, pelo carinho, amor e principalmente por todas as oportunidades a mim oferecidas, para formação acadêmica e pessoal. E a todos os meus familiares e amigos, em especial as minhas irmãs Natália e Mariana, que me incentivaram para a construção deste trabalho.

Aos amigos dos laboratórios BSTR-Giba, BSTR-Malta, LCTS e FAMA, com os quais foram divididos os últimos anos de aprendizado, pela amizade, pelos momentos de descontração, apoio e pela grande contribuição para a realização deste trabalho. Agradecimento especial a Cecília pela síntese do material, conversas, apoio, trocas de experiências e sentimentos, e o mais importante de tudo a amizade conquistada ao longo destes quatro anos.

Aos colegas Gilvaldo Gentil e Wellyton Vasconcelos pelo auxílio nos experimentos.

À Prof<sup>a</sup>. Madalena Areias pela concessão do laboratório de Eletroanalítica, para realização dos experimentos e por todas as sugestões, ensinamentos e interesse pelo trabalho.

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (RENORBIO), pelos valiosos e inestimáveis ensinamentos. À banca examinadora, pela atenção dispensada à leitura deste trabalho. A todos que de forma direta ou indireta contribuíram.

## RESUMO

A glutatona (GSH) é o principal tiol de baixo peso molecular encontrado nas células humanas, cuja função está relacionada à biotransformação e eliminação de xenobióticos e a defesa das células contra o estresse oxidativo. Tem sido estabelecido que uma redução nos seus níveis fisiológicos pode ser indicativa de diversas doenças, destacando-se como um importante biomarcador. Várias técnicas são utilizadas para detecção da glutatona, a exemplo da cromatografia líquida, entretanto, o método dos sensores eletroquímicos tem despertado interesse crescente. Recentemente, a contribuição de nanomateriais na fabricação desses dispositivos, tem se traduzido no aumento na reprodutibilidade e alcance de baixos limites de detecção, destacando-se como ferramentas promissoras para diagnóstico clínico. Neste trabalho foram desenvolvidos dois sensores a base de nanomateriais para a detecção de GSH. O primeiro sensor foi constituído por um eletrodo de ouro modificado com um filme baseado na rede metal-orgânica cobre(II)-benzeno-1,3,5-tricarboxilato (CuBTC) e o copolímero acrilamida acrilato de sódio (CuBTC/EAu). As medidas eletroquímicas foram realizadas pelo método da voltametria cíclica numa célula eletroquímica, utilizando-se como eletrodo de referência prata/cloreto de prata ( $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{KCl}_{\text{sat}})}$ ), um eletrodo auxiliar de fio de platina e como eletrodo de trabalho o sensor CuBTC/EAu. De acordo com os resultados, o sensor desenvolvido obteve uma boa atividade eletrocatalítica para a oxidação da glutatona, no potencial de 0,41 V, com baixo limite de detecção ( $0,03 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), faixa de trabalho linear de  $0,05 - 2 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH e um tempo de resposta de 15 minutos. O segundo sensor aborda a eletrossíntese de um nanocompósito baseado no CuBTC e nanopartículas de ouro estabilizadas com PVP, o qual foi denominado Au@CuBTC. As características morfológicas e estruturais do novo composto foram investigadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA), difração de raios-X de pó (XRPD) e espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e sua aplicação como sensor eletroquímico para quantificação da GSH foi avaliada pela voltametria de onda quadrada. De acordo com os resultados obtidos, foi observado que o uso das nanopartículas na estrutura da rede metal-orgânica aumentou significativamente a sensibilidade e o tempo de resposta do eletrodo. A curva analítica do sensor mostrou uma faixa de resposta linear entre  $10 - 40 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH e um limite de detecção de  $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ , com tempo de resposta de 60 segundos. Os sensores propostos apresentam-se como tecnologias inovadoras e abre caminhos para aplicações das redes metal orgânicas na eletrocatalise e na construção de sensores atrativos para a detecção de glutatona em fluidos biológicos.

**Palavras-Chave:** Glutatona. Metal Organic Framework. Cobre. Nanopartículas de ouro. Eletrodo Quimicamente Modificado. Sensor Eletroquímico.



## ABSTRACT

Glutathione (GSH) is the major low molecular weight thiol found in human cells, whose function is related to the biotransformation and elimination of xenobiotics, and protection of cells against oxidative stress. It has been found that a decrease in their physiological levels may be indicative of several diseases, standing out as an important biomarker. Several techniques are used to detect glutathione, as in the case of liquid chromatography. However, the electrochemical sensors method has been of increasing interest. Recently, the contribution of nanomaterials in the manufacture of these devices has been translated into an increase in the reproducibility and reach of low detection limits, highlighting themselves as promising tools for clinical diagnosis. In this work, two different sensors based on nanomaterials were developed for the detection of the GSH. The first sensor was composed of a gold electrode modified with a film based on the metal-organic framework copper (II) -benzene-1,3,5-tricarboxylate (CuBTC) and the acrylamide sodium acrylate copolymer (CuBTC/EAu). Electrochemical measurements were performed using the cyclic voltammetry method in an electrochemical cell, using silver/silver chloride ( $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{KCl}_{\text{sat}})}$ ) as a reference electrode, platinum wire as an auxiliary electrode, and the CuBTC/EAu sensor as the working electrode. According to the results, the developed sensor exhibited a good electrocatalytic activity for the glutathione oxidation, in a potential of 0,41 V, with a low detection limit ( $0,03 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), and a linear range operating range of  $0,05 - 2 \mu\text{mol L}^{-1}$  of GSH and a response time of 15 minutes. The second sensor deals with the electrosynthesis of a nanocomposite based on CuBTC and gold nanoparticles stabilized with PVP, which was denominated Au@CuBTC. The morphological and structural characteristics of the new compound were investigated by scanning electron microscopy (SEM), thermal gravimetric analysis (TGA), diffraction Xray powder (XRPD) and absorption spectroscopy in the infrared region (FTIR) and its application as an electrochemical sensor for GSH quantification was evaluated by square wave voltammetry. In accordance with the results, it was observed that the use of nanoparticles in the structure of the metal-organic framework significantly increased the sensitivity and the response time of the electrode. The analytical curve of the sensor showed a linear response range between  $10 - 40 \mu\text{mol L}^{-1}$  of GSH, and a detection limit of  $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ , with response time of 60 seconds. The proposed sensors are presented as an innovative technology and open paths for applications of metal organic frameworks in electrocatalysis and the construction of attractive sensors for the detection of glutathione in biological fluids.

**Keywords:** Glutathione. Metal-Organic Framework. Copper. Gold nanoparticles. Chemically Modified Electrode. Electrochemical Sensor.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura da Glutathione .....	23
<b>Figura 2.</b> Biossíntese da glutathione e enzimas envolvidas: (a) $\gamma$ - glutamylcysteine synthetase e (b) glutathione synthetase; Inibição da biossíntese da glutathione através da butionina sulfoximine (BSO) e a enzima envolvida (c) $\gamma$ - glutamylcyclotransferase .....	24
<b>Figura 3.</b> Ciclo catalítico da Glutathione .....	25
<b>Figura 4.</b> I - Desenho esquemático de um sistema eletroquímico com três eletrodos. <b>(A)</b> célula eletroquímica de vidro; <b>(B)</b> eletrodo de trabalho; <b>(C)</b> eletrodo de referência; <b>(D)</b> eletrodo auxiliar e <b>(E)</b> Eletrólito de suporte. II - Foto de uma célula eletroquímica.....	32
<b>Figura 5.</b> (a) Sinal de excitação da VC. (b) Sinal de resposta de um voltamograma típico, representando os parâmetros obtidos com esta técnica: ( $I_{pa}$ ) corrente de pico anódica, ( $I_{pc}$ ) corrente de pico catódica, ( $E_{pa}$ ) potencial de pico anódico e ( $E_{pc}$ ) potencial de pico catódico, potencial de inversão ( $E_i$ ).....	33
<b>Figura 6.</b> Representação esquemática do princípio geral de funcionamento de um sensor voltamétrico. CE, ET e ER são respectivamente os contra-eletrodo, eletrodo de trabalho e de referência .....	36
<b>Figura 7.</b> Esquema de funcionamento e componentes de um sistema sensor .....	38
<b>Figura 8.</b> Representação esquemática do mecanismo de ação do modificador na superfície de um eletrodo com função catalítica .....	39
<b>Figura 9.</b> Formação das redes metalo-orgânicas .....	43
<b>Figura 10.</b> Aplicações potenciais das MOFs .....	45
<b>Figura 11.</b> Estrutura cristalina da CuBTC e a representação dos dois tipos de poros.....	47
<b>Figura 12.</b> (A) Potenciostato/galvanostato Autolab (B) Célula eletroquímica de três eletrodos (1) contra-eletrodo de fio de Pt, (2) Eletrodo de trabalho modificado com a CuBTC (3) eletrodo de referência $Ag/AgCl_{(KCl \text{ saturado})}$ . Representação do sistema Eletroquímico .....	52
<b>Figura 13.</b> <b>A)</b> Representação do modo de preparação do Eletrodo Quimicamente Modificado. <b>B)</b> Foto do eletrodo base após modificação com camada de CuBTC.do Eletrodo Quimicamente Modificado .....	53
<b>Figura 14.</b> Voltamogramas do EQM CuBTC-EPt utilizando diferentes polímeros como imobilizadores: <b>A)</b> Poliéster; <b>B)</b> Tetra-acetato de Celulose; <b>C)</b> PVC e <b>D)</b> Acrilamida- acrilato de sódio, em solução tampão fosfato pH 7 .....	55
<b>Figura 15.</b> Voltamogramas do eletrodo de Pt e do Eletrodo de platina com o copolímero Acrilamida-acrilato de sódio como imobilizador, em solução tampão fosfato pH 7, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , $E_a = -0,4 \text{ a } 0,4 \text{ V}$ , registrado no 1º ciclo .....	57
<b>Figura 16.</b> Voltamogramas do eletrodo de Pt e do Eletrodo quimicamente modificado CuBTC/EPt, em solução tampão fosfato pH 7, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , $E_a = -0,4 \text{ a } 0,4 \text{ V}$ , registrados no 3º ciclo .....	58

<b>Figura 17. (A)</b> Influência da velocidade de varredura sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC-EPt em solução tampão fosfato pH 7, $E_a = -0,4$ a $0,4$ V, voltamogramas registrados no 3º ciclo. <b>(B)</b> Densidade de corrente de pico anódico vs. raiz quadrada da velocidade de varredura .....	60
<b>Figura 18.</b> Voltamogramas cíclicos do EQM CuBTC/EPt obtidos em diferentes soluções tampão: (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Fosfato de potássio, (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de CBPS, (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de TRIS, (—) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HEPES, registrados no 3º Ciclo. Velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ .....	62
<b>Figura 19.</b> Influência do pH sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC-EPt em solução tampão fosfato, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , $E_a = -0,4$ a $0,4$ V, registrado no 1º ciclo.....	63
<b>Figura 20.</b> Influência do número de ciclos sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt em solução tampão fosfato, pH 7,2, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , $E_a = -0,4$ a $+0,1V$ .....	65
<b>Figura 21.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/EPt na ausência (—) e presença de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH (—), em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2), com velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 3º ciclo .....	67
<b>Figura 22.</b> Voltamograma cíclico obtidos para o EPt na presença de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de GSH (—), em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 7,2), com velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrado no 3º ciclo.....	68
<b>Figura 23.</b> Mecanismo de reação de eletrodo CuBTC/EPt na presença de GSH.....	70
<b>Figura 24.</b> Influência do pH sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt na presença de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH na solução, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , $E_a = -0,4$ a $0,4$ V, registrado no 3º ciclo .....	71
<b>Figura 25. A)</b> Influência da concentração de glutatona sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , pH 7,2, $E_a = -0,4$ a $0,1$ V, registrados no 3º ciclo. <b>B)</b> Curva analítica para o pico anódico. <b>C)</b> Curva analítica para o pico catódico.....	72
<b>Figura 26.</b> Voltamogramas do eletrodo de Au (—) e do Eletrodo quimicamente modificado CuBTC/EAu (—), em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de solução tampão fosfato pH 7,2, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , $E_a = -0,4$ a $0,4$ V, registrados no 3º ciclo .....	74
<b>Figura 27.</b> Resposta do eletrodo para diferentes quantidades de MOF CuBTC utilizadas em sua preparação, em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,2, velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ , 3º ciclo .....	75
<b>Figura 28.</b> Comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EAu em solução tampão fosfato em diferentes valores de pH, $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , $E_a = -0,8$ a $+0,4$ V, registrado no 3º ciclo.....	76
<b>Figura 29. (A)</b> Influência da velocidade de varredura sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EAu em solução tampão fosfato pH=3, $E_a = -0,4$ a $+0,4$ V. Voltamogramas registrados no 1º ciclo após 20 seg. de contato. <b>(B)</b> Intensidade da corrente de pico anódico vs. raiz quadrada da velocidade de varredura.....	78

<b>Figura 30.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/EAu na ausência (—) e presença de 1 mmol L <sup>-1</sup> de GSH (—), em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de 50 mV s <sup>-1</sup> , registrados no 3º ciclo.....	79
<b>Figura 31.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/EAu na ausência (—) e presença de 10 µmol L <sup>-1</sup> de GSH (—), em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH 3,0), com velocidade de varredura de 50 mV s <sup>-1</sup> , registrados no 1º ciclo. Tempo de contato = 15 min.....	81
<b>Figura 32.</b> Voltamograma cíclico obtido para o eletrodo de ouro na presença de 1 mM de GSH, em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH3), com velocidade de varredura de 50 mV s <sup>-1</sup> , registrados no 1º ciclo. Tempo de contato = 15 min.....	82
<b>Figura 33.</b> Mecanismo proposto para o funcionamento do eletrodo CuBTC/Au para a determinação de Glutaciona .....	83
<b>Figura 34.</b> . <b>(A)</b> Voltamogramas cíclicos do EQM CuBTC/EAu em 100 µmol L <sup>-1</sup> de GSH (pH 3,0) em diferentes velocidades de varredura; <b>(B)</b> relação entre corrente de pico anódica (µA) e raiz quadrada da velocidade de varredura (mV s <sup>-1</sup> ). Tempo de Contato = 15 minutos .....	84
<b>Figura 35.</b> Voltamogramas do CuBTC/EAu em soluções com concentrações progressivas de Glutaciona (GSH) em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de Solução Tampão Fosfato pH 3,0 após 15 min, de contato. Curva de calibração .....	86
<b>Figura 36.</b> Voltamogramas do CuBTC/EAu em soro sanguíneo diluído em 0,1 mol L <sup>-1</sup> de Solução Tampão Fosfato pH 3,0 após 15 min, de contato, realizado em triplicata .....	88
<b>Figura 37.</b> Esquema ilustrativo das diferentes formas de síntese dos compósitos .....	93
<b>Figura 38.</b> Processo de redução do [AuCl <sub>4</sub> ] <sup>-</sup> a ouro metálico.....	97
<b>Figura 39.</b> Esquema ilustrativo da obtenção de nanocompósitos Au@CuBTC.....	98
<b>Figura 40.</b> Difratogramas de raios-X do padrão de pó das amostras Au@CuBTC, CuBTC e CIF .....	102
<b>Figura 41.</b> Espectros de absorção na região do infra-vermelho das amostras CuBTC e Au@CuBTC sintetizadas.....	103
<b>Figura 42.</b> Espectros de TGA das amostras CuBTC e Au@CuBTC sintetizadas.....	104
<b>Figura 43.</b> Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos materiais CuBTC <b>(A)</b> e Au@CuBTC <b>(B)</b> .....	105
<b>Figura 44.</b> Imagens obtidas por MET das <b>(A)</b> AuNPs e <b>(B)</b> AuNPs estabilizadas com PVP.....	106
<b>Figura 45.</b> Imagens de MET das amostras sintetizadas <b>(A)</b> CuBTC e <b>(B)</b> Au@CuBTC.....	107
<b>Figura 46.</b> Voltamograma do ECV, em solução tampão fosfato pH 3, V = 50 mV s <sup>-1</sup> , Ea= -0,4 a 0,8V, registrado no 1º Ciclo.....	108
<b>Figura 47.</b> Voltamogramas dos eletrodos CuBTC/ECV (—) e Au@CuBTC/ECV (—), em solução tampão fosfato pH 3, V = 50 mV s <sup>-1</sup> , registrados no 1º ciclo.....	109

<b>Figura 48.</b> Influência do pH sobre o comportamento eletroquímico do EQM Au@CuBTC/ECV em solução tampão fosfato, $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrado no 1º ciclo.....	110
<b>Figura 49.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos para o Au@CuBTC/ECV na ausência (—) e presença de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de GSH (—), e para o EVC na presença de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de GSH (—), em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo .....	111
<b>Figura 50.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos para o Au@CuBTC/ECV na ausência (—) e presença de $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH (—), em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.....	113
<b>Figura 51.</b> Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/ECV (—) e Au@CuBTC/ECV (—) na presença de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de GSH, em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.....	114
<b>Figura 52.</b> Influência do pH sobre o comportamento eletroquímico do EQM Au@CuBTC/ECV na presença de GSH na solução, $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.....	115
<b>Figura 53.</b> Comportamento eletroquímico do EQM Au@CuBTC/ECV na presença de GSH, pH 3, $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.....	116
<b>Figura 54.</b> (A) Voltamogramas de onda quadrada de $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em Au@CuBTC/ECV em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato (pH 3,0) com diferentes tempos de deposição; (B) relação entre a corrente de pico de redissolução (A) e o tempo de deposição.....	117
<b>Figura 55.</b> A) Voltamogramas de Onda quadrada para o Au@CuBTC/ECV em soluções com concentrações progressivas de GSH em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Solução Tampão Fosfato pH 3. B) Curva de calibração .....	119

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Variáveis estudadas e selecionadas na análise do comportamento eletroquímico do eletrodo CuBTC/EPt .....66
- Tabela 2.** Comparações das propriedades eletroquímicas do Eletrodo CuBTC/EPt em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão, na ausência e na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH .....69
- Tabela 3.** Comparações das propriedades eletroquímicas do Eletrodo CuBTC/EAu em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão, na ausência e na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH.....80
- Tabela 4.** Comparações das propriedades eletroquímicas dos Eletrodos CuBTC/EPt e CuBTC/EAu na presença de Glutathiona .....87
- Tabela 5.** Comparações das propriedades eletroquímicas do Eletrodo Au@CuBTC/ECV em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão, na ausência e na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH.....112

## LISTA DE ABREVIATURAS

GSH - Glutathiona  
GSSG – Glutathiona dissulfeto  
CuBTC - Cobre(II)-benzeno-1,3,5 - tricarboxilato  
MOFs – Metal Organic Frameworks – (Estruturas Metal Orgânicas)  
ERO – Espécies reativas de oxigênio  
ERN – Espécies reativas de nitrogênio  
ATP – Trifosfato de adenosina  
DNA – Ácido desoxirribonucleico  
SOD - Superóxido Dismutase (SOD),  
CAT - Catalase Glutathiona Peroxidase  
GPx - Glutathiona Peroxidase  
SH – Sulfidrila  
BSO - Butionina sulfoximina  
GO - Glutathiona oxidase  
GR - Glutathiona redutase  
NADPH – Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate  
SIDA - Síndrome da imuno-deficiência adquirida  
CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência  
RMN <sup>1</sup>H - Ressonância magnética nuclear de hidrogênio  
DTNB - Ácido 5',5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico  
TNB - Ácido 5-mercapto-2-nitrobenzóico  
OPA - o-ftadialdeido  
m-BBr - mono-bromobimano  
VC - Voltametria Cíclica  
VOQ - Voltametria de Onda Quadrada  
VPD - Voltametria de Pulso Diferencial  
I<sub>pa</sub> - Corrente de pico anódica  
I<sub>pc</sub> - Corrente de pico catódica  
E<sub>pa</sub> – potencial de pico anódico  
E<sub>pc</sub> - Potencial de pico catódico  
V - Velocidade de varredura do potencial

Ei - Potencial de inversão

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada

EQM – Eletrodo Quimicamente Modificado

BTC - Benzeno - 1, 3, 5 – tricarboxilato

FAP – Fundação Assistencial da Paraíba

EDTA - Ácido Etilenodiaminoacético

CNS – Conselho Nacional de Saúde

TAC - Tetra-acetato de celulose

PVC - Policloreto de vinila

Em - Potencial médio

CuBTC/EPt – Cobre(II)-benzeno-1,3,5 – tricarboxilato em eletrodo de platina

CPBS - Citrato fostato

TRIS - Tris-(hidroximetil)-aminometano

HEPES - N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-(2-ácido etanosulfônico)

CuBTC/EAu - Cobre(II)-benzeno-1,3,5 – tricarboxilato em eletrodo de ouro

ECV – Eletrodo de Carbono vítreo

PVP - polivinilpirrolidona

AuNPs – Nanopartículas de ouro



# SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO .....	19
<b>CAPÍTULO I - SENSOR ELETROQUÍMICO PARA DETECÇÃO DE GLUTATIONA BASEADO NA REDE METAL-ORGÂNICA COBRE(II)-BENZENO-1,3,5-TRICARBOXILATO .....</b>	<b>20</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1 Glutaciona .....</b>	<b>23</b>
<b>2.2 Determinação da Glutaciona .....</b>	<b>27</b>
<b>2.3 Métodos Eletroquímicos .....</b>	<b>30</b>
2.3.1 Voltametria Cíclica.....	30
<b>2.4 Sensores Eletroquímicos .....</b>	<b>34</b>
<b>2.5 Eletrodos Quimicamente Modificados .....</b>	<b>37</b>
<b>2.6 Métodos de imobilização em eletrodos .....</b>	<b>41</b>
<b>2.7 Redes Metal-orgânicas (MOF) .....</b>	<b>43</b>
<b>2.8 CuBTC.....</b>	<b>46</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>49</b>
<b>3.1 Objetivo Geral .....</b>	<b>49</b>
<b>3.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>49</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>50</b>
<b>4.1. Reagentes e materiais .....</b>	<b>50</b>
<b>4.2. Amostras de soro .....</b>	<b>50</b>
<b>4.3 Preparação das soluções tampão.....</b>	<b>51</b>
<b>4.4 Instrumentação .....</b>	<b>51</b>
<b>4.5 Pré-Tratamento do eletrodo .....</b>	<b>52</b>
<b>4.6 Preparação do Eletrodo Modificado com a CuBTC.....</b>	<b>53</b>
<b>4.7 Caracterização eletroquímica do sensor .....</b>	<b>54</b>
<b>4.8 Medidas Analíticas .....</b>	<b>54</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>5.1 Estudos com Eletrodo Quimicamente Modificado CuBTC/EPt .....</b>	<b>55</b>
5.1.1 Tipo de Imobilizador.....	55
5.1.2 Propriedades Eletroquímicas do EQM CuBTC/EPt .....	56

5.1.3	Influência da Velocidade de varredura no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EPt .....	59
5.1.4.	Influência da natureza da solução tampão no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EPt .....	61
5.1.5	Influência do pH da solução tampão no comportamento eletroquímico do CuBTC/EPt .....	63
5.1.6	Estabilidade do EQM CuBTC/EPt.....	64
5.1.7	Resposta Eletrocatalítica do EQM CUBTC/EPt para a Glutaciona .....	66
5.1.8	Efeito do pH na resposta do CuBTC/Pt na presença da Glutaciona .....	70
5.1.9	Curva Analítica para determinação da Glutaciona pelo EQM CuBTC/EPt ....	72
<b>5.2</b>	<b>Estudos com Eletrodo Quimicamente Modificado CuBTC/EAu .....</b>	<b>74</b>
5.2.1	Propriedades Eletroquímicas do EQM CuBTC/EAu .....	74
5.2.2	Avaliação da Influência da Quantidade de MOF CuBTC depositada no eletrodo CuBTC/Au.....	75
5.2.3	Influência do pH da solução tampão no comportamento Eletroquímico do EQM CuBTC/EAu .....	76
5.2.4	Influência da Velocidade de varredura no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EAu .....	77
5.2.5	Resposta Eletrocatalítica do EQM CUBTC/EAu para a Glutaciona.....	78
5.2.6	Tempo de contato entre o Eletrodo CuBTC/EAu e a Glutaciona .....	80
5.2.7	Influência da Velocidade de varredura no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EAu na presença da Glutaciona .....	83
5.2.8	Curva analítica para determinação da Glutaciona pelo EQM CuBTC/EAu ...	85
5.2.9	Comparações das características eletroquímicas entre os eletrodos modificados CuBTC/EPt e CuBTC/EAu .....	86
5.2.10	Medidas analíticas em amostras reais.....	88
<b>CAPÍTULO II - NANOCOMPÓSITO AU@CUBTC: SÍNTESE, PROPRIEDADES E APLICAÇÃO COMO SENSOR ELETROQUÍMICO PARA DETECÇÃO DE GLUTATIONA .....</b>		<b>89</b>
<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>89</b>
1.1	Síntese da MOF CuBTC.....	90
1.2	Nanopartículas .....	91
1.3	Nanopartículas@MOFs .....	92
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>95</b>
2.1	Objetivo Geral.....	95
2.2	Objetivos Específicos.....	95
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>96</b>

<b>3.1 Reagentes</b> .....	96
<b>3.2. Síntese da MOF CuBTC</b> .....	96
<b>3.3. Síntese das Nanopartículas de Ouro (AuNPs)</b> .....	96
<b>3.4. Obtenção do compósitos Au@CuBTC</b> .....	97
<b>3.5. Caracterização do compósito Au@CuBTC obtido</b> .....	98
3.5.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) .....	98
3.5.2 Difração de Raios-X (DRX).....	99
3.5.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) .....	99
3.5.4 Análise Termogravimétrica.....	99
3.5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	99
3.5.6 Medidas Eletroquímicas .....	100
<b>3.6 Pré-Tratamento do eletrodo</b> .....	100
<b>3.7 Preparação do Eletrodo Modificado com o Compósito Au@ CuBTC</b> .....	100
<b>3.8 Caracterização eletroquímica do Sensor</b> .....	101
<b>3.9 Medidas Analíticas</b> .....	101
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	102
<b>4.1 Caracterização do compósito Au@CuBTC</b> .....	102
4.1.1. Difratomia de Raios-X de Pó (XRPD).....	102
4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) .....	103
4.1.3 Análise Termogravimétrica (TGA) .....	104
4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) .....	105
4.1.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	105
<b>4.2 Propriedades Eletroquímicas do EQM Au@CuBTC/ECV</b> .....	108
<b>4.3 Influência do pH da solução tampão no comportamento eletroquímico do Au@CuBTC/ECV</b> .....	110
<b>4.4 Resposta Eletrocatalítica do EQM Au@CuBTC/ECV para a Glutaciona</b> 111	
<b>4.5 Efeito do pH na Resposta do Au@CuBTC/ECV na presença da Glutaciona</b> 114	
<b>4.6 Efeito do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico por Voltametria de Onda Quadrada</b> .....	116
<b>4.7 Curva Analítica para determinação da Glutaciona pelo EQM Au@CuBTC/ECV</b>	
118	
<b>CAPÍTULO III – CONCLUSÃO</b> .....	120
<b>CAPÍTULO IV - PERSPECTIVAS</b> .....	122
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	123

## APRESENTAÇÃO

Para melhor organização e compreensão da proposta deste trabalho, a tese foi dividida em dois capítulos. O primeiro capítulo refere-se ao desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados baseados na rede metal-orgânica CuBTC. Para este objetivo, dois tipos diferentes de eletrodos convencionais, de platina e de ouro, com áreas de superfície similares foram testados e caracterizados eletroquimicamente. Após o estabelecimento das melhores condições operacionais, ambos foram aplicados na detecção eletrocatalítica da glutatona.

O segundo capítulo, por sua vez, trata da eletrossíntese e caracterização de um novo material nanocompósito baseado na rede metal orgânica CuBTC e nanopartículas de ouro (AuNPs), e sua aplicação na construção de eletrodos quimicamente modificados para detecção de glutatona. Primeiramente serão abordados o que já vêm sendo relatado na literatura acerca de materiais compósitos envolvendo MOFs e nanopartículas metálicas, além das características gerais das nanopartículas de ouro. E, em seguida serão abordados: a descrição da síntese, através do método eletroquímico, metodologia inédita para a obtenção desse tipo de compósito e os aspectos relacionados à caracterização do novo composto obtido. Finalmente, serão apresentados os resultados referentes à aplicabilidade do nanocompósito Au@CuBTC como plataforma sensora para detecção de glutatona.

# CAPÍTULO I - SENSOR ELETROQUÍMICO PARA DETECÇÃO DE GLUTATIONA BASEADO NA REDE METAL-ORGÂNICA COBRE(II)-BENZENO-1,3,5-TRICARBOXILATO

---

## 1. INTRODUÇÃO

A glutatona,  $\gamma$ -Glutamil-L-Cisteína-Glicina, é um tripeptídeo formado por ácido glutâmico, cisteína e glicina, consistindo no composto tiólico mais predominante em mamíferos e células eucarióticas (DENG *et al.*, 2011; YUAN *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2015). Ela atua no organismo em suas formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), sua função está direta ou indiretamente relacionada a processos biológicos importantes, tais como a síntese proteica, metabolismo celular, eliminação de xenobióticos e proteção das células contra o estresse oxidativo (PASTORE *et al.*, 2003; AHMED, 2014; YUAN *et al.*, 2013).

Devido as múltiplas funções e, principalmente, a sua capacidade antioxidante, a glutatona apresenta-se como um fator chave na manutenção da saúde e tem despertado interesse crescente em virtude do seu papel na fisiopatologia de várias doenças, metabolismo e idade (LEE *et al.*, 2015). Estudos recentes tem sugerido que níveis alterados de glutatona nos tecidos têm sido diretamente relacionados à algumas doenças envolvendo diferentes tipos de câncer, doenças cardiovasculares, doenças neuropsiquiátricas como autismo e distúrbio bipolar, e neurodegenerativas à exemplo da Distrofia muscular, Esclerose Lateral Amiotrófica e doenças de Alzheimer e Parkinson (REID e JAHOR, 2001; FRANCO *et al.*, 2007; ALMADORI *et al.*, 2007; HUANG *et al.*, 2009; JAMES *et al.*, 2009; ROSA *et al.*, 2014).

Sendo assim, pode-se considerar que os níveis de glutatona em matrizes biológicas podem fornecer informações valiosas acerca de diferentes estados clínicos, bem como para o acompanhamento da conduta terapêutica. Neste contexto, seu potencial como biomarcador do estresse oxidativo tem sido marcado pelo interesse no desenvolvimento de metodologias analíticas para sua detecção (YUAN *et al.*, 2013; RAOOF *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2017).

Em se tratando de análises clínicas, cada vez mais são exigidos métodos robustos, econômicos, que conduzam a resultados mais rápidos, exatos e reprodutíveis, com manipulação de quantidades reduzidas de amostras e que possam ser aplicáveis a medidas “in vitro”, substituindo as metodologias tradicionalmente utilizadas nesta área.

As técnicas eletroquímicas com finalidades analíticas constituem-se em poderosas ferramentas para este tipo de análise, especialmente por causa de algumas características vantajosas como rapidez, baixo custo e portabilidade. Entretanto, uma das suas grandes limitações está relacionada à carência de seletividade das determinações (LIU *et al.*, 2017).

Neste sentido, a estratégia de controlar as reações eletródicas na interface eletrodo-solução, através da modificação química do eletrodo base, tem proporcionado resultados favoráveis. A utilização de materiais modificadores apropriados que sejam seletivos à molécula alvo em solução, contribui para a melhoria da capacidade de reconhecimento e/ou para amplificação dos sinais de corrente. Isto faz com que as determinações se tornem mais seletivas, seja pelo efeito eletrocatalítico ou pela restrição da passagem de espécies interferentes (RAOOF *et al.*, 2015).

Nos últimos anos, as novas tecnologias tem impulsionado a utilização de vários tipos de compostos químicos para modificação de eletrodos bases a serem empregados como sensores eletroquímicos.

Dentre os vários materiais químicos utilizados para a modificação de eletrodos, as Redes metal-orgânicas (do inglês Metal Organic Frameworks - MOFs) ou Polímeros de coordenação são uma alternativa interessante. Trata-se de uma classe, relativamente nova, de materiais cristalinos porosos e com uma ampla gama de aplicações (ZHUANG *et al.*, 2012). São constituídos por íons metálicos que se articulam a ligantes orgânicos multidirecionais, formando materiais sólidos, com estruturas periódicas que podem ser 1-D, 2-D ou 3-D (HOSSEINI *et al.*, 2013).

O complexo de cobre (II) – benzeno - 1, 3, 5 – tricarboxilato (CuBTC), o qual é uma estrutura metal-orgânica constituída por íons de  $\text{Cu}^{2+}$  e ligantes BTC, formando cristais cúbicos, foi escolhido como material modificador para a preparação de

eletrodos. As vantagens de usar CuBTC para aplicações em eletroquímica, está na sua grande área superficial, alto volume de poros e estabilidade química.

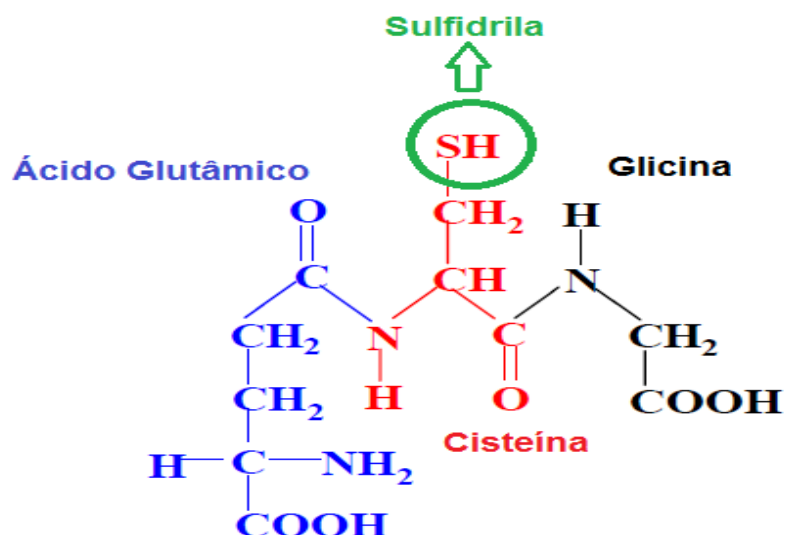
Assim, o objetivo deste trabalho centrou-se no desenvolvimento e otimização de um sensor eletroquímico nanoestruturado baseado na rede metal-orgânica CuBTC para a determinação da glutathiona.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Glutationa

Em 1888, J. de Rey-Pailhade isolou um composto contendo enxofre, extraído de células de fermento, ao qual chamou de *philothion*. Este continha um átomo de hidrogênio reativo como parte de um grupo – SH e, como observado, desempenhava uma função análoga a da hemoglobina em relação ao oxigênio. Naquela época, pouca importância foi dada, até que em 1921 Hopkins redescobriu esta molécula e a renomeou de glutathione (DOLPHIN *et al.*, 1989).

A glutathione (GSH) é o tiol mais comum, de baixo peso molecular, encontrado intracelularmente em altas concentrações, 0,5 a 10 mmol L<sup>-1</sup>, em todos os organismos aeróbicos. Trata-se de um tripeptídeo, constituído por cisteína, glicina e ácido glutâmico, cuja capacidade redutora é determinada pelo grupo sulfidril (SH) presente na cisteína (**Figura 1**). A maioria das reações da GSH envolvem o grupo SH, altamente polarizável, tornando-o um bom nucleófilo para reações com compostos químicos eletrofílicos (HUBER *et al.*, 2008; AHMED, 2014).

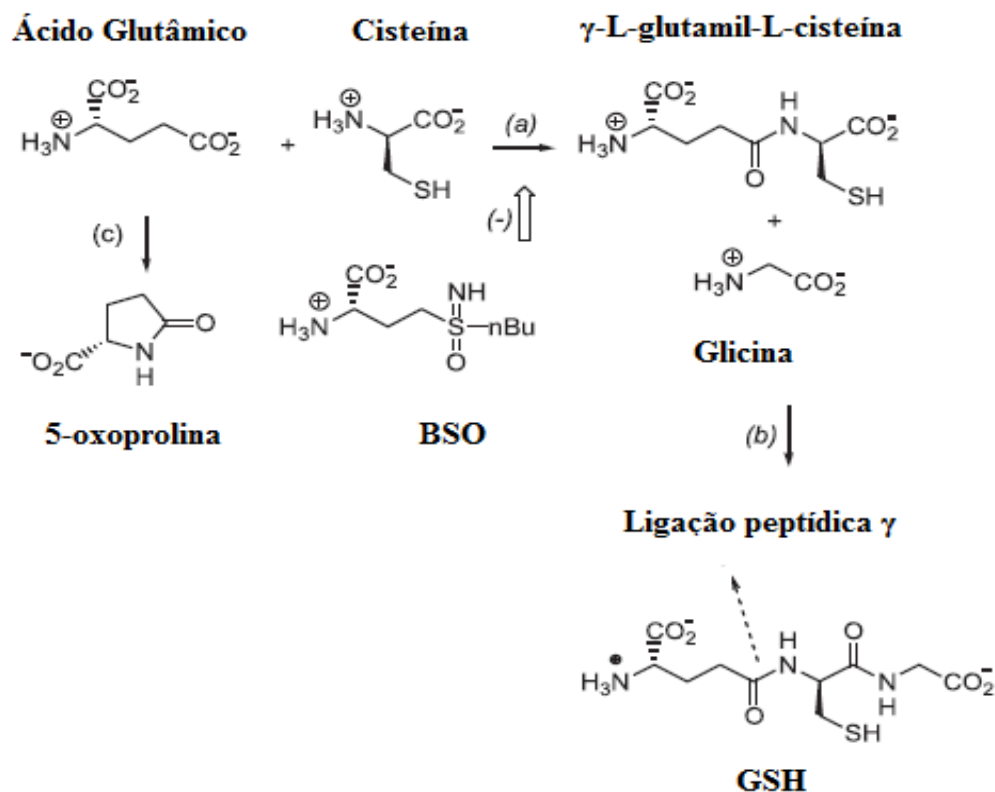


**Figura 1.** Estrutura da Glutationa (Adaptada de MARZAL, 2005).

A biossíntese da GSH (**Figura 2**) ocorre no meio intracelular pela ação consecutiva de duas enzimas, a  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase e a glutathione sintetase,



com consumo de ATP e  $Mg^{+2}$ . Na primeira reação, é formada uma ligação peptídica entre o ácido glutâmico e a cisteína, pela atividade da enzima  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase, levando à formação da  $\gamma$ -L-glutamil-L-cisteína. Este dipeptídeo, por sua vez, é ligado à glicina, mediado pela ação da glutathione sintetase. A  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase sofre, portanto, regulação pela GSH através de um *feedback* negativo, de modo a prevenir a produção excessiva desta molécula ou o acúmulo do seu intermediário  $\gamma$ -glutamilcisteína. Uma reação alternativa consiste na conversão à 5-oxoprolina, catalisada pela  $\gamma$ -glutamilciclotransferase. A biossíntese da GSH pode ser inibida pela butionina sulfoximina (BSO), um inibidor com estrutura similar a um intermediário ativado na reação catalisada pela  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase (HUBER *et al.*, 2008).

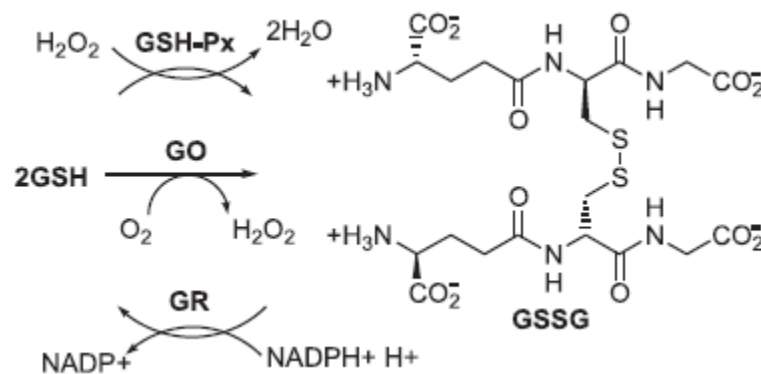


**Figura 2.** Biossíntese da glutathione e enzimas envolvidas: (a)  $\gamma$ -glutamilcisteína sintetase e (b) glutathione sintetase; Inibição da biossíntese da glutathione através da butionina sulfoximina (BSO) e a enzima envolvida (c)  $\gamma$ -glutamilciclotransferase (Adaptada de HUBER *et al.*, 2008).

No corpo humano, as propriedades antioxidantes da glutatona são bem conhecidas, participando no processo de desintoxicação de xenobióticos e no metabolismo de numerosos compostos celulares. Além de participar da síntese de proteínas e DNA, transporte de aminoácidos, atividade enzimática e proteção celular contra o estresse oxidativo e nitrosativo (PACSIAL-ONG *et al.*, 2006; WU *et al.*, 2003; FRANCO *et al.*, 2007; LAWRENCE *et al.*, 2001; SEYMOUR *et al.*, 2002).

Tipicamente, a glutatona pode ser encontrada nas células e em fluidos biológicos, tais como o plasma e urina, na forma livre ou ligada a proteínas, permitindo a formação de proteínas glutationiladas. A GSH livre está presente principalmente em sua forma reduzida, a qual pode ser convertida à sua forma oxidada (Glutationa dissulfeto - GSSG) durante o estresse oxidativo (LEE *et al.*, 2015).

A atividade antioxidante da glutatona, descrita pela capacidade de redução de espécies oxidantes, e conseqüentemente de sua própria oxidação à GSSG, ocorre através do ciclo catalítico (**Figura 3**), representado pela atividade de três enzimas. São elas a glutatona oxidase (GO), a glutatona peroxidase (GSH-Px) e a glutatona redutase (GR). As duas primeiras enzimas catalisam a oxidação de GSH à GSSG, enquanto a última é responsável pela regeneração de GSH a partir de GSSG, na presença de NADPH (HUBER *et al.*, 2008; CAO *et al.*, 2013; PASTORE *et al.*, 2003).



**Figura 3.** Ciclo catalítico da Glutatona (HUBER *et al.*, 2008).

Normalmente, a GSSG é mantida em concentrações inferiores a 5% da glutathiona total, em humanos. No entanto, o estresse oxidativo pode acarretar uma depleção de GSH, e conseqüentemente, no aumento dos níveis de GSSG em 50% ou mais. Este processo pode, portanto, ser um gatilho para para iniciação da cascata apoptótica, levando à morte celular (CIRCU; AW, 2008; SENTELLAS *et al.*, 2014).

Assim, problemas na síntese e metabolismo da glutathiona estão associados a vários processos patológicos. De forma que, os níveis deste antioxidante no organismo tem se destacado cada vez mais nos estudos clínicos (FRANCO *et al.*, 2007; LEE *et al.*, 2015). Pesquisas mostraram que quantidades reduzidas de glutathiona podem ter implicações para vários tipos de câncer (WHITE *et al.*, 2002; ALMADORI *et al.*, 2007; HUANG *et al.*, 2009; HARFIELD *et al.*, 2012).

Além disso, alterações na concentração da glutathiona a nível celular têm sido medidas e associadas a outras doenças tais como a arterosclerose, diabetes e Síndrome da imuno-deficiência adquirida (SIDA). Apresenta também, um importante papel na instalação e progressão de doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas como autismo, distúrbio bipolar, esquizofrenia, doenças de Alzheimer e Parkinson e esclerose lateral amiotrófica. Portanto, atribui-se a este tripeptídeo, uma função promissora como biomarcador para o estresse oxidativo, sendo relevante para a identificação de pacientes com risco aumentado de desenvolvimento de condições patológicas (KLEINMAN; RICHIE, 2000; TOYO'OKA, 2009; SEYMOUR *et al.*, 2002; JAMES *et al.*, 2009; YUAN *et al.*, 2013; AREIAS *et al.*, 2016a; LEE *et al.*, 2015a; LEE *et al.*, 2015b).

Nesse contexto, o interesse na detecção eficaz e precoce deste biomarcador tem aumentado na última década, onde o desenvolvimento de métodos rápidos, sensíveis, baratos e robustos torna-se crucial para o auxílio no diagnóstico e tratamento clínico de várias doenças (HARFIEL *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2015b; RAOOF *et al.*, 2015).

## 2.2 Determinação da Glutaciona

Um grande número de métodos tem sido descrito para a determinação da GSH, onde se pode destacar: a titulometria (NAGENDRA *et al.*, 2002); espectrofotometria (BALD; GLOWACKI, 2005; NI *et al.*, 2015); espectrofluorimetria (LIANG *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2005; KAND'ÁR *et al.*, 2007); cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (JONES *et al.*, 2000; WANG *et al.*, 2004; KATRUSIAK *et al.*, 2001; KANDAR *et al.*, 2007); eletroforese capilar (MUSCARI *et al.*, 1998; CAUSSE *et al.*, 2000; ZHANG *et al.*, 2005; HODÁKOVÁ *et al.*, 2015); espectrometria de massa (TSIKAS *et al.*, 2000); ressonância magnética nuclear de próton (RMN <sup>1</sup>H) (TRABESINGER *et al.*, 1999; TRABESINGER; BOESIGER *et al.*, 2001; ZHAO *et al.*, 2006; KITAMURA *et al.*, 2013); método enzimático e análise por injeção em fluxo (ENSAFI *et al.*, 2008); e, métodos eletroquímicos (INOUE *et al.*, 2002; XU *et al.*, 2002; RAOOF *et al.*, 2009a; RAOOF *et al.*, 2009b; ENSAFI *et al.*, 2010; ENSAFI *et al.*, 2012; KARIMI-MALEH *et al.*, 2012; KEYVANFARD *et al.*, 2013).

O mensuramento da concentração de glutaciona é, entretanto, complicado devido à sua instabilidade em solução, uma vez que ela é rapidamente oxidada para sua forma dissulfeto, na presença de oxigênio molecular dissolvido (AREIAS *et al.*, 2016<sup>a</sup>). Por esta razão, a maioria dos métodos convencionais, envolve a derivatização da GSH para um composto estável antes de sua análise (POSSARI *et al.*, 2006).

Dentre estes variados métodos, uma das técnicas mais utilizadas tem sido a espectrofotometria, na qual o reagente ácido 5',5'-ditio-bis-2-nitrobenzóico (DTNB), também conhecido como reagente de Ellman, é utilizado nas determinações de GSH. O fundamento do ensaio espectrofotométrico clássico para determinação da concentração de glutaciona está baseado na reação cinética de oxidação da GSH a GSSG, promovida pelo DTNB. Neste processo, o grupo sulfidril da glutaciona quebra a ligação dissulfeto do DTNB, gerando o aduto GSTN e liberando o ácido 5-mercapto-2-nitrobenzóico (TNB), que é detectado em 412 nm (ELLMAN, 1959; MARZAL, 2005; HUBER *et al.*, 2008).

O método fluorimétrico também tem sido aplicado para a determinação da glutaciona em amostras biológicas. Neste método, devido à ausência de fluoróforos

na estrutura da glutathiona torna-se necessária a sua derivatização, para aumentar o limite de detecção. Assim, o reagente selecionado para a derivatização deve ser inerte na matriz, além de apresentar alta sensibilidade, especificidade, e dispensar extração com solvente para remover excesso. Embora a GSH tenha três sítios susceptíveis à derivatização, apenas os grupos amino e sulfidrilas têm sido utilizados como alvos para estas reações, destacando-se este último (HUBER *et al.*, 2008).

O método fluorimétrico, inicialmente proposto por Cohn e Lyle, foi desenvolvido baseando-se na reação de derivatização do grupo sulfidrilas da GSH com o marcador de fluorescência *o*-ftaldialdeído (OPA). Posteriormente, Cohn e Lyle modificaram o procedimento da reação com OPA para determinação de GSH em amostras sanguíneas através da precipitação das proteínas com ácido metafosfórico a 25% (m/v). A glutathiona reage com OPA, em pH 8,0, produzindo um produto altamente fluorescente após 15 minutos de reação à temperatura ambiente, o qual é estável durante 30 minutos. A banda de absorção ocorre em 350 nm e a banda de emissão de fluorescência em 420 nm, com uma faixa de resposta linear de 60 µmol L<sup>-1</sup> a 32,5 mmol L<sup>-1</sup> (COHN; LYLE, 1966; MARZAL, 2005).

Em se tratando da eletroforese capilar, a separação eletroforética é realizada aplicando-se um campo elétrico relativamente alto à amostra introduzida em um capilar contendo um eletrólito apropriado. Isso permite separações eficientes em pouco tempo. O método, por sua vez, exige cuidado na fase de pré-tratamento das amostras biológicas, pois as proteínas podem ser facilmente adsorvidas na parede capilar, afetando o tempo de migração dos compostos analisados e a sua resolução. Dentre as principais características deste método destacam-se o baixo custo e a possibilidade de se usar solvente polar orgânico ou aquoso em pequena quantidade quando comparada com as técnicas cromatográficas. Já a detecção, esta pode ser por fotometria, fluorimetria, eletroquímica ou por espectrometria de massa (HUBER *et al.*, 2008).

Lada e Kennedy (1997) desenvolveram um método totalmente automático para monitorizar tióis *in vivo*, como a glutathiona e cisteína, usando microdiálise acoplada à eletroforese de zona capilar com detecção por fluorescência. Neste caso, a emissão de fluorescência foi induzida por um outro fluoróforo, o monobromobimano (mBBR), o qual é um reagente específico para o grupo sulfidrilas,

formando adutos BrB-tio, com alta fluorescência. O método resultou, portanto, em recuperações relativas de quase 100%, o que permitiu a monitorização quantitativa dos tióis, mesmo em concentrações muito baixas.

Em outro estudo, realizado por Zhang e colaboradores (2005), um novo método de eletroforese capilar com detecção por fluorescência induzida por laser foi desenvolvido para a rápida e seletiva separação e detecção de glutathione (GSH) e glutathione oxidada (GSSH) após derivatização pelo 4-cloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol (NBD-Cl). Nas condições experimentais, figuras de mérito foram obtidas para uma faixa linear de 0,22 - 45,00  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com limites de detecção para glutathione e glutathione oxidada de 0,046 e 0,012  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. O método foi aplicado para a análise de glutathione e glutathione dissulfeto no plasma humano e folhas de tabaco, com resultados satisfatórios.

Atualmente, a utilização da Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a mais popular quando comparada com os outros métodos referidos, devido à sua elevada sensibilidade e seletividade (PASTORE *et al.*, 2003). A maioria destes métodos cromatográficos, por sua vez, está acoplada a modos de detecção eletroquímicos ou espectrofluorimétricos. (PICCOLI *et al.*, 1994; ORWAR *et al.*, 1995; ROVER JÚNIOR *et al.*, 2001).

De modo geral, a utilização desses métodos convencionais em ambientes relacionados a saúde está limitada, devido a necessidade de etapas de preparação de amostras mais criteriosas, instrumentação complexa, tempos de análise longos, além de pessoal especializado para operar o equipamento (KLEINMAN; RICHIE, 2000; PASTORE *et al.*, 2003; GONZÁLES-GARCÍA *et al.*, 2005). Desta forma, a análise de custo-benefício fica aquém do desejável, na medida em que as técnicas envolvidas são geralmente caras e complexas tanto em funcionamento quanto em processamento, pelo que é desejável recorrer às estratégias mais simples, rápidas e de baixo custo para estudos biológicos e clínicos deste analito (TOYO'OKA, 2009; RAOOF *et al.*, 2015; AREIAS *et al.*, 2016a).

Nesta perspectiva, as técnicas eletroquímicas têm demonstrado vantagens notáveis na análise de diferentes compostos tiólicos em amostras reais, apresentando-se como uma alternativa promissora para os métodos convencionais. Estas vantagens são principalmente devido à simplicidade, baixo custo, mínima

preparação de amostras e tempo de análise relativamente curto destes compostos (KARIMI-MALEH *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2015; RAOOF *et al.*, 2015).

## 2.3 Métodos Eletroquímicos

Os métodos eletroquímicos possibilitam estabelecer a relação entre a concentração da molécula alvo e as propriedades elétricas. Esse processo ocorre a partir dos fenômenos químicos associados à transferência de elétrons, que podem ocorrer homoganeamente em solução ou heterogeneamente na superfície do eletrodo (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

As principais vantagens dessas técnicas estão relacionadas à possibilidade de análise direta da amostra, sem a necessidade de etapas de separação ou pré-tratamento; necessidade de pequena quantidade de reagente e fácil controle das variáveis tais como corrente, potencial, condutividade, resistência e cargas elétricas. Combinadas de formas diversas, essas variáveis, levam a técnicas eletroquímicas específicas à exemplo da amperometria, voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial (POWER; MORRIN, 2013; SOUZA, 2014).

Na prática, a determinação de glutatona tem sido realizada por diferentes técnicas eletroquímicas como amperometria (LIU *et al.*, 2017), voltametria (AREIAS *et al.*, 2016a; LEE *et al.*, 2014), detecção eletroquímica pulsada entre outras, utilizando diferentes tipos de eletrodos de trabalho ou eletrodos quimicamente modificados, de modo a melhorar a seletividade do método.

### 2.3.1 Voltametria Cíclica

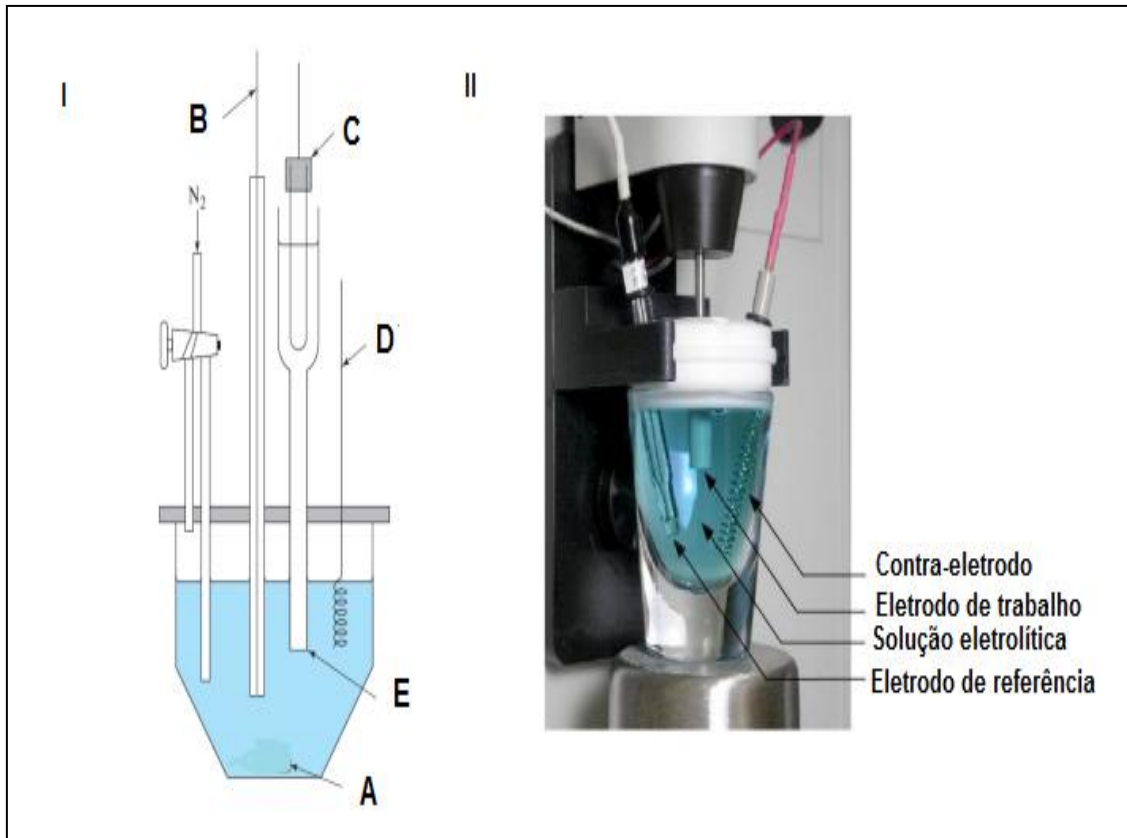
Dos diversos métodos dinâmicos em química eletroanalítica, a voltametria cíclica (VC) é dos mais versáteis, pois, além de permitir uma quantificação do analito, permite também o estudo do mecanismo da reação que lhe está associada. Essa versatilidade, combinada com a facilidade de medida dos parâmetros de interesse, faz com que ela seja largamente utilizada em química orgânica, química

inorgânica ou bioquímica, no estudo de processos de adsorção, de transferência eletrônica em eletrodos semicondutores e em muitos outros tipos de processos dependentes do potencial.

A voltametria Cíclica é conceituada como uma técnica eletroquímica onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas durante a sua eletrólise num sistema eletroquímico.

O sistema eletroquímico (**Figura 4**) é geralmente composto por três eletrodos: 1 Eletrodo de trabalho - onde ocorre a reação de interesse e pode ser composto de diferentes materiais, tais como carbono, ouro, prata, platina, carbono vítreo, entre outros. E podem apresentar diferentes configurações (disco, fio, anel); 2 Eletrodo de referência - permite o monitoramento de potencial do eletrodo de trabalho, sendo composto geralmente por um eletrodo saturado de calomelano (SCE) ou prata/cloreto de prata (Ag/AgCl); 3 Eletrodo auxiliar, por sua vez, atua no controle da corrente necessária para sustentar a eletrólise que ocorre no eletrodo de trabalho (NOORBAKSH; SALIMI, 2011; YANG *et al.*, 2009; HUANG *et al.*, 2012).



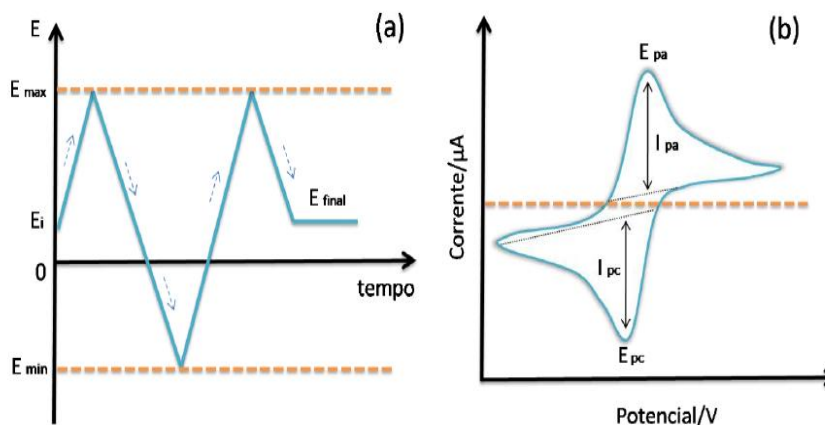


**Figura 4.** - Desenho esquemático de um sistema eletroquímico com três eletrodos. **(A)** célula eletroquímica; **(B)** eletrodo de trabalho; **(C)** eletrodo de referência; **(D)** eletrodo auxiliar e **(E)** Eletrólito de suporte. II - Foto de uma célula eletroquímica.

A técnica da voltametria cíclica consiste no varrimento de potencial de um eletrodo de trabalho em relação a um eletrodo de referência, medindo-se a corrente resultante a uma velocidade constante, em função do tempo. (MEDEIROS *et al.*, 2012; WANG, 2001; SOUZA *et al.*, 2003). A representação gráfica deste potencial, denominada voltamograma (**Figura 5b**), é uma curva simples e de fácil interpretação quantitativa, tanto em termos termodinâmicos (potencial redox) quanto cinéticos (transferência de carga homogênea e heterogênea, reações químicas acopladas) (SILVA, 1998; SOUZA, 2014).

Na VC, o potencial elétrico aplicado corresponde a uma onda triangular, ou seja, primeiramente a varredura de potencial é feita em uma direção e, em seguida, na direção oposta, enquanto a corrente é medida. Assim, os processos de oxidação e de redução são representados por ondas anódicas e catódicas, onde as correntes máximas são representadas pelas correntes de pico anódica (ipa) e catódica (ipc),

respectivamente. Outros parâmetros importantes a serem considerados são os potenciais de pico anódico ( $E_{pa}$ ) e catódico ( $E_{pc}$ ), a velocidade de varredura do potencial ( $v$ ) e o potencial de inversão ( $E_i$ ), o qual representa o ponto onde ocorre a reversão do potencial. Este deve ser escolhido de maneira que se possa observar a oxidação ou redução, controlada por difusão ou outros fenômenos, de uma ou mais espécies de interesse (SKOOG *et al.*, 2002; HARRIS, 2005).



**Figura 5.** (a) Sinal de excitação da VC. (b) Sinal de resposta de um voltamograma típico, representando os parâmetros obtidos com esta técnica: ( $I_{pa}$ ) corrente de pico anódica, ( $I_{pc}$ ) corrente de pico catódica, ( $E_{pa}$ ) potencial de pico anódico e ( $E_{pc}$ ) potencial de pico catódico, potencial de inversão ( $E_i$ ). (BARD; FAULKNER, 2006).

A voltametria cíclica mostra-se particularmente eficiente quando se deseja conhecer a eletroatividade de compostos, investigar reações químicas acopladas, analisar íons e estudar superfícies de eletrodos (BRUSCIOTTI; DUBY, 2007; SILVA, 2010). Além disso, a técnica pode fornecer informações a respeito da reversibilidade eletroquímica de um sistema, a qual está associada à troca rápida de elétrons entre as espécies redox e o eletrodo (WANG, 2001; SOUZA, 2014).

As técnicas voltamétricas encontram aplicações nas mais diversas áreas do conhecimento, tais como ambiental, médica, química e bioquímica (WANG, 2001; SOUZA *et al.*, 2003). Atualmente, a construção de sistemas analíticos compactos, na forma de sensores eletroquímicos tem sido largamente proposta, trazendo como aspecto diferencial a possibilidade de realizar todas as operações analíticas de

maneira integrada e contínua com elevada sensibilidade (HIERLEMANN *et al.*, 2003; AHN *et al.*, 2004; YUAN *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2017).

Os avanços da micro-engenharia favoreceram o desenvolvimento da área dos sensores eletroquímicos, através de processos de construção simples com tempo de resposta rápida e baixo custo. Como consequência, existe na literatura um vasto conjunto de trabalhos onde se abordam novos materiais, novos métodos de fabricação e estratégias para melhoria na seletividade e dos limites de detecção. Além disso, apresentam uma vasta alternativa de aplicações dos sensores eletroquímicos em amostras ambientais, biológicas ou de interesse industrial, destacando, portanto, a importância desta área de pesquisa no contexto social, econômico e da saúde (BRETT, 2001; MARZAL, 2005).

Em se tratando da determinação de compostos tiólicos, como a glutatona, estas técnicas apresentam-se especialmente apropriadas, dado a flexibilidade da capacidade redox que caracteriza a maioria dos compostos orgânicos de enxofre. Portanto, o desenvolvimento de medições eletroquímicas diretas, na forma de sensores eletroquímicos, para detecção de glutatona em amostras não tratadas é vantajoso devido a sua simplicidade, sensibilidade, baixo custo e uso prático em amostras reais (SEYMOUR *et al.*, 2002).

## **2.4 Sensores Eletroquímicos**

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), sensores químicos são dispositivos integrados que transformam uma informação química, numa determinada zona de concentração, num sinal analítico útil. Nestes, a coleta de dados e obtenção de informações é conseguida com manipulação mínima do sistema em estudo e, assim, os resultados obtidos podem ser analisados e correlacionados com outros parâmetros no ambiente em que estão inseridos.

Estes dispositivos possuem características peculiares que os distinguem de métodos instrumentais tradicionais, uma vez que, são mais precisos, sensíveis e seletivos, permitindo a obtenção de informações *in situ* e em tempo real. Características vantajosas também inerentes ao uso de sensores eletroquímicos

referem-se à portabilidade, facilidade de automação, possibilidade de miniaturização e baixo custo de produção (WANG, 2000; BARD; FAULKNER, 2001).

De modo geral, o tempo de resposta de um sensor deve ser baixo, para que os dados sobre os eventos possam ser adquiridos em tempo real, e tanto a seletividade quanto a sensibilidade das determinações devem ser suficientemente altas, para que os sinais medidos tenham perfeita correlação com as informações desejadas (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

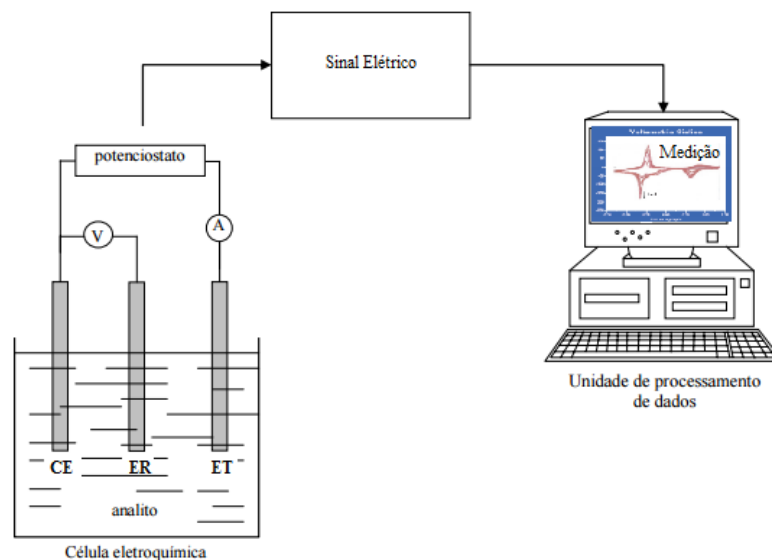
Existe uma ampla gama de motivações e inovações tecnológicas que contribuíram para ampliar de maneira exponencial as fronteiras de atuação da eletroanalítica e, de maneira particular, o campo dos sensores eletroquímicos. Nos últimos anos, estes tornaram-se mais atraentes por causa das vantagens que oferecem no que diz respeito ao tamanho, ao custo reduzido, à pequena quantidade de amostra que utilizam e às reduzidas necessidades de energia para poderem operar, o que os torna valiosos para análise de amostras de origem biomédica e ambiental. Além disso, o equipamento de medida é pouco sofisticado e facilmente miniaturizável (WANG, 2005).

Na constituição de um sensor, o transdutor representa o componente físico-químico que traduz o evento de reconhecimento químico num sinal de formato quantificável e passível de ser processado, amplificado, armazenado e analisado. Para um dado sistema analito-receptor podem ser utilizados vários esquemas de transdução e a escolha dependerá essencialmente da grandeza físico-química gerada no processo de reconhecimento e do fim a que se destina (RIBEIRO, 2013).

Os transdutores eletroquímicos têm se destacado no desenvolvimento de sensores para clínica médica, devido a sua alta sensibilidade, baixo custo e compatibilidade com as tecnologias de micro fabricação (QIU *et al.*, 2009; ZHANG *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2011). Entretanto, dentre os sensores eletroquímicos, os elementos de transdução amperométrico e potenciométrico são os mais utilizados.

Em se tratando dos sensores voltamétricos, o potencial do eletrodo de trabalho é controlado por um potenciostato e, durante a varredura, a corrente produzida devido às reações de oxirredução dos compostos com a superfície do eletrodo de trabalho é medida (**Figura 6**). Nestes sensores, a detecção é baseada

nas mudanças das propriedades elétricas da superfície, por exemplo, aumento na constante dielétrica e resistência, na presença da molécula-alvo (AHAMMAD *et al.*, 2009; SOUZA, 2014).



**Figura 6.** Representação esquemática do princípio geral de funcionamento de um sensor voltamétrico. CE, ET e ER são respectivamente os contra-eletródo, eletródo de trabalho e de referência. (Adaptado de MEDEIROS *et al.*, 2012b).

O grupo tiol da GSH sofre oxidação na superfície do eletródo, formando dímeros, os quais podem ser analisados quantitativamente usando as várias técnicas voltamétricas e amperométricas. Vários métodos eletroanalíticos baseados na oxidação direta do grupo tiol, em eletrodos sólidos como carbono vítreo (ZHANG *et al.*, 2005), grafite pirolítico (MOORE *et al.*, 2004) e ouro (LACOURSE; OWENS, 1995) são citados na literatura.

Entretanto, em alguns casos, os efeitos de matriz no eletródo podem causar perda de sinal ou irreprodutibilidade nas medidas, de forma que estes eletrodos são geralmente utilizados acoplados a técnicas de separação, o que exige etapas pré-tratamentos das amostras ou adição de reagentes para aumentar a seletividade e/ou evitar a interferência de outros tióis na medição. Além disso, as análises de compostos tiólicos utilizando eletrodos sólidos geralmente requerem alto

potencial para a oxidação (MARZAL, 2005; TOYO'OKA, 2009; CARVALHO *et al.*, 2005; SALEHZADEH *et al.*, 2014; SCAMPICCHIO *et al.*, 2007).

Apesar destas dificuldades, recentemente, Areias e colaboradores (2016a, 2016b, 2016c) mostraram em seus estudos sobre determinação voltamétrica de compostos tiólicos, que glutatona, cisteína e captopril (droga terapêutica para hipertensão contendo tiol) podem ser detectados eletroquimicamente em eletrodo de carbono vítreo (GCE) na presença do íons cobre (II), em baixos potenciais de oxidação, respectivamente, -0,24V e +0,24V vs. Ag/AgCl.

Outra forma de melhorar a afinidade eletrodo-substrato e diminuir o alto potencial de oxidação, o que têm sido sugerido constantemente na literatura, são as técnicas envolvendo a modificação química da superfície do eletrodo, resultando, em melhoria da resposta eletroquímica, da sensibilidade e eliminação de interferentes, sobretudo na análise de amostras complexas (LACOURSE; OWENS, 1995; MANNA *et al.*, 1999; MOORE; BANKS, 2004, MARZAL, 2005)

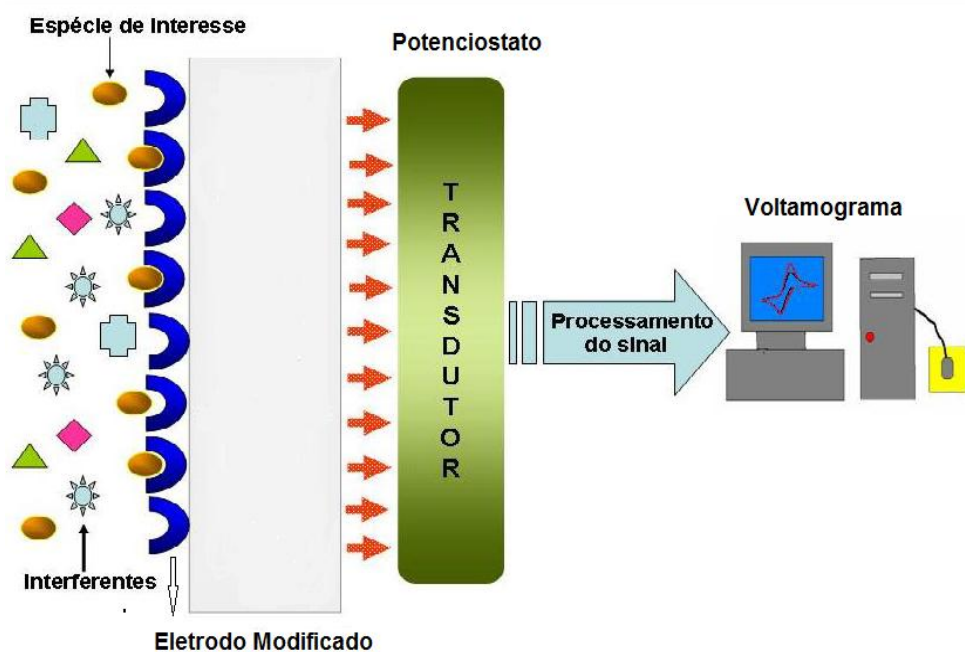
## 2.5 Eletrodos Quimicamente Modificados

Por muito tempo, em experimentos eletroquímicos, os principais atributos que eram requeridos para um eletrodo de trabalho estavam relacionados com a boa condutividade, estabilidade química perante processos redox em solução e larga faixa de potencial de trabalho. Atualmente, essas características passaram a ter um significado menos importante uma vez que, para determinados sistemas químicos, a necessidade de reconhecer espécies de interesse de maneira seletiva tornou-se prioritário. Assim, estratégias que envolvem a modificação da superfície do eletrodo tem proporcionado resultados favoráveis que superam a melhoria da atividade química (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).

A denominação eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi inicialmente utilizada na eletroquímica por Murray e colaboradores, na década de 70, para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, convenientemente imobilizadas na superfície desses dispositivos (MOSES *et al.*, 1975). O principal objetivo dessa modificação era pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química

da interface eletrodo/solução, como uma forma de alterar a reatividade e seletividade do eletrodo base. Este procedimento favoreceu assim o desenvolvimento de eletrodos para vários fins e aplicações, desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas de interesse (PEREIRA *et al.*, 2002).

Um EQM (**Figura 7**) é constituído por um eletrodo base e uma camada do modificador químico. A forma de preparação é determinada pelas características analíticas desejadas para o sensor - como maior sensibilidade e/ou seletividade, melhor estabilidade, tempo de vida mais longo, tamanho do sensor, aplicações *in vivo* entre outras – de forma a aperfeiçoar seu desempenho (PEREIRA *et al.*, 2002). Em termos analíticos, a modificação do eletrodo deve realizar-se de tal forma que o sensor obtenha sensibilidade, seletividade, estabilidade, reprodutibilidade e aplicabilidade superiores àquelas de um eletrodo base sem prévia modificação, para que seu emprego seja justificado (LI; LIN, 2006; ZARE *et al.*, 2006).

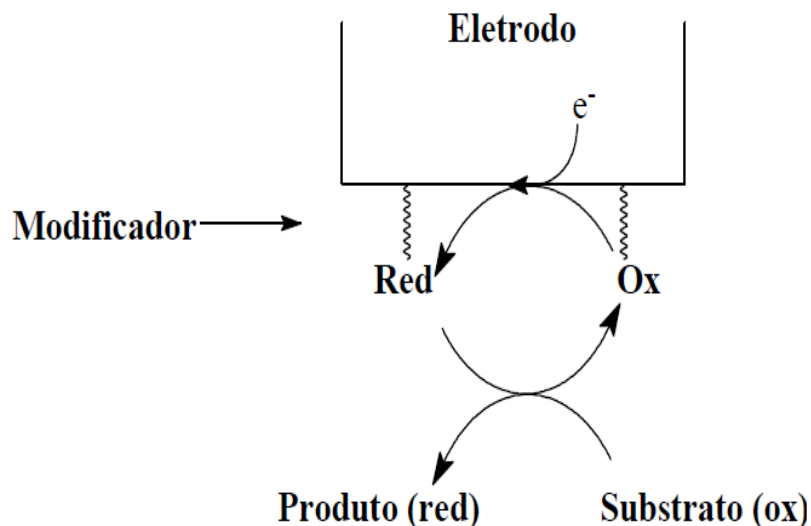


**Figura 7.** Esquema de funcionamento e componentes de um sistema sensor (Adaptado de SILVA *et al.*, 2014).

De modo geral, o mecanismo de ação do agente modificador na superfície de um eletrodo está fundamentado na sua função eletrocatalítica (**Figura 8**), ou seja, na

sua capacidade de reduzir a energia de ativação da transferência de elétrons, aumentando a velocidade da reação e, portanto, ampliando o sinal analítico. Assim, o processo de oxidação/redução de um determinado substrato que, na maioria das vezes, seguiria com uma cinética de transferência de elétrons lenta e acima do seu valor termodinâmico pode, por sua vez, ser catalisada pela modificação da superfície do eletrodo. Isso resultará não só numa troca de elétrons mais rápida entre o eletrodo e o analito, como também na diminuição do sobrepotencial de ativação da reação, o que conseqüentemente, proporcionará aumento na seletividade (MARCOLINO Jr., 2007).

A obtenção de informação analítica depende essencialmente da capacidade que a membrana modificadora tem de reconhecer seletivamente a espécie de interesse. Portanto, no processo de fabricação de sensores, esta é uma característica de grande importância, embora também seja importante considerar os aspectos referentes à sensibilidade, estabilidade e robustez (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006).



**Figura 8.** Representação esquemática do mecanismo de ação do modificador na superfície de um eletrodo com função catalítica (MARCOLINO Jr., 2007).



Na literatura, vários métodos eletroanalíticos são citados usando diferentes eletrodos modificados e mediadores, como pasta de carbono (KEYVANFARD *et al.*, 2013; KARIMI-MALEH *et al.*, 2012; SOLTANI *et al.*, 2014), complexos de transferência de carga (MARZAL, 2005), enzimas (ROVER Jr *et al.*, 2001), nanocompósitos (RAOOF *et al.*, 2015); polímeros (LOWINSOHN, 2007) entre outros. Entretanto, a identificação de novos modificadores que ofereçam vantagens eletrocatalíticas, facilitem os processos de transferência de elétrons e que possam ser utilizados em eletrodos base como - carbono vítreo, platina, ouro, pasta de carbono, fibras de carbono e outros - constitui um desafio importante no que diz respeito à detecção de substâncias alvos.

A funcionalização da superfície eletródica tem propiciado um avanço tecnológico na área dos EQMs, abrangendo desde estudos fundamentais até aplicações práticas. A fabricação de EQM tem sido, portanto, amplamente empregada com o objetivo de promover seletividade e sensibilidade para determinação de materiais eletroativos como poluentes, formulações farmacêuticas, aminoácidos, vitaminas e outras biomoléculas (ZEN *et al.*, 2003; RAOOF *et al.*, 2015).

Neste aspecto, a aplicação de sensores eletroquímicos no estudo de sistemas biológicos tem recebido incentivo devido às atraentes perspectivas. Na saúde pública, por exemplo, sensores com rápida detecção, alta sensibilidade e especificidade são cada vez mais requeridos para determinação de substratos de interesse clínico, importante para diagnóstico precoce e análise de condições clínicas (PEREIRA *et al.*, 2002; ZEN *et al.*, 2003).

Considerando que o objetivo do uso de sensores eletroquímicos para análise da glutatona está centrado na medição de sinais de corrente em matrizes de natureza complexa (fluidos biológicos, águas naturais, alimentos, etc), a modificação da superfície eletródica é, na maioria dos casos, necessária para que se atinjam os propósitos desejados. Assim, para a determinação de tióis, os materiais modificadores de eletrodos utilizados e relatados na literatura baseiam-se principalmente em óxido de níquel (CHEE *et al.*, 2011; PANG *et al.*, 2012), nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (RAOOF *et al.*, 2009), hidróxido de cobre (SAFAVI *et al.*, 2009), nanoclusters de ouro (GE *et al.*, 2012), e eletrodos baseado em carbono,

incluindo o grafite pirolítico (MOORE *et al.*, 2004), nanotubos de carbono (HENSTRIDGE *et al.*, 2008) e grafeno (YUAN *et al.*, 2013).

## **2.6 Métodos de imobilização em eletrodos**

Nos últimos anos, a necessidade de desenvolvimento de sensores cada vez mais sensíveis e com baixos limites de detecção, tem proporcionado o surgimento de novas estratégias de imobilização para melhorar o desempenho eletroquímico na detecção de analitos alvo (CHENG *et al.*, 2012).

Os métodos de imobilização de moléculas na superfície do eletrodo consistem num dos aspectos mais fundamentais no desenvolvimento de novos sensores e exercem influência direta na reprodutibilidade e sensibilidade do sistema. Assim, a escolha mais adequada depende da natureza da molécula a ser imobilizada, do transdutor e do método de detecção que será empregado (QI *et al.*, 2013).

A escolha do material para o eletrodo base, cuja superfície sofrerá a modificação, também é um aspecto muito importante na preparação de um EQM. Este deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e também ser adequado para o método de imobilização selecionado (SOTIROPOULOU *et al.*, 2003; GALLI *et al.*, 2006).

Em geral, a preparação de EQMs pode envolver o emprego de filmes finos, partículas de compostos condutores ou polímeros que revestem ou são ligados à superfície do eletrodo base, para detectar os analitos alvos (ARVAND; GHOLIZADEH, 2013; RAOOF *et al.*, 2015).

Levando em consideração que fatores como precisão e repetibilidade são fortemente influenciados pela estabilidade da molécula imobilizada, os filmes poliméricos tem alcançado, nos últimos tempos, grande popularidade. A modificação dos eletrodos com filmes poliméricos eletroativos é frequentemente preferida relativamente a outros métodos, uma vez que, representa uma técnica de fácil aplicação, que possibilita o controle da espessura do filme e, conseqüentemente, do grau de amplificação do sinal analítico (ZHU *et al.*, 2007).

A imobilização de nanoestruturas poliméricas, obtidas por diversas rotas químicas e físicas, tem sido um método altamente privilegiado uma vez que é possível o controle da morfologia e das propriedades químicas da superfície do eletrodo (SOUZA, 2014; DU *et al.*, 2012; HU *et al.*, 2013; YANG *et al.*, 2013).

Alguns estudos referem também, à incorporação de filmes poliméricos porosos a superfície do eletrodo, criando-se assim um eletrodo de compósito. Essa aplicação tem resultado no aumento da densidade da corrente elétrica, obtendo-se um sinal analítico com maior sensibilidade para a detecção dos analitos alvos (LEE *et al.*, 2014; KANG, *et al.*, 2010; SASSOLAS *et al.*, 2012).

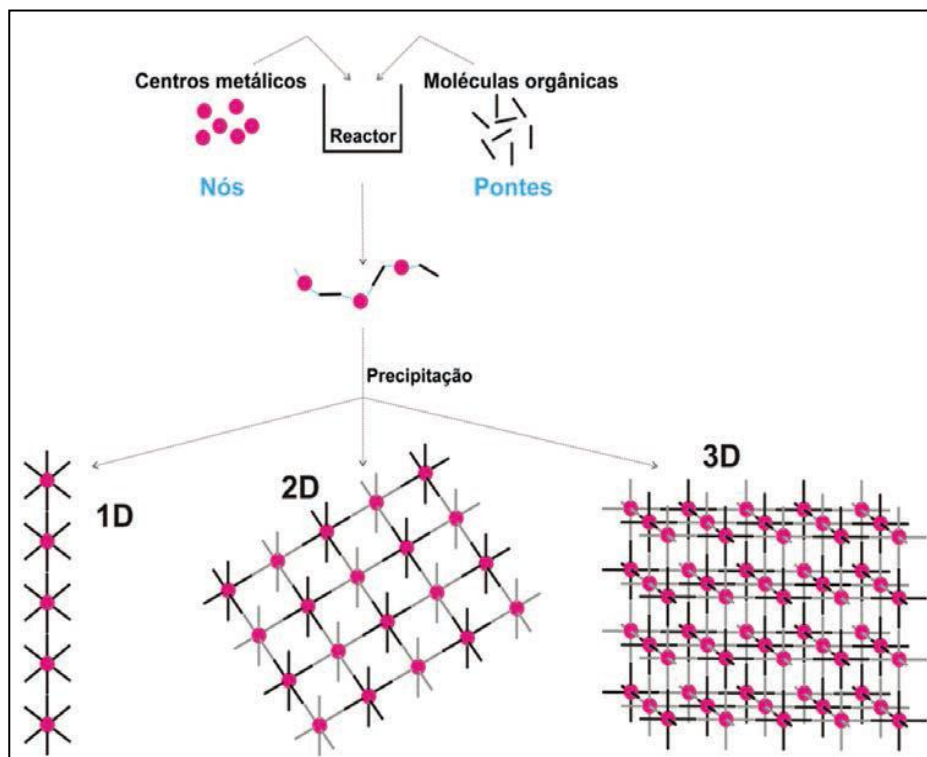
Como exemplos de membranas poliméricas convencionalmente utilizadas podem se destacar o Nafion, o polipirrol, a polianilina e o acetato de celulose (RIBEIRO, 2013; PEREIRA *et al.*, 2002; LOWINSOHN *et al.*, 2007). Estas devem ser condutoras ou permeáveis ao eletrólito de suporte e à espécie de interesse e seu modo de atuação baseia-se, geralmente, na restrição por carga ou tamanho. No caso do acetato de celulose, por exemplo, as substâncias químicas são excluídas devido à dimensão das moléculas, uma vez que a porosidade do filme pode ser controlada adequadamente alterando-se o pH da solução e o tempo de hidrólise. Desta forma, somente espécies relativamente pequenas têm acesso à superfície do eletrodo ou aos sítios catalíticos. No caso do Nafion, o controle da passagem de espécies carregadas é efetuado devido aos sítios aniônicos (sulfonato) dispostos de maneira estruturada no filme quando da sua imobilização. Desta forma, o polímero depositado restringe severamente a passagem de ânions, mas é permeável a cátions e espécies eletricamente neutras (FUNGARO; BRETT, 2000; BROWN; LOWRY, 2003).

Para fins analíticos, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos para glutatona tem atraído o contínuo interesse de pesquisadores ligados à eletroanalítica e impulsionado pesquisas com vistas à aplicações rotineiras destes dispositivos (O'CONNELL; GUILBAULT, 2001; AVRAMESCU *et al.*, 2002). Entretanto, nenhum trabalho foi encontrado utilizando como material de reconhecimento químico uma rede metal-orgânica catalítica devidamente imobilizada sobre um eletrodo base.

## 2.7 Redes Metal-orgânicas (MOF)

Os materiais porosos têm atraído muito o interesse científico e industrial para diversas aplicações, como armazenamento de gases, catálise seletiva, transporte de fármacos e diagnóstico por imagem (ABUÇAFY *et al.*, 2016).

Uma classe de materiais porosos que vem ganhando destaque são as redes metal-orgânicas (do inglês, Metal Organic Framework – MOF), as quais consistem em uma nova classe de materiais porosos cristalinos, com propriedades de ambos os materiais orgânicos e inorgânicos, introduzidos pela primeira vez por Yaghi e colaboradores. São constituídos por íons metálicos que se articulam com ligantes orgânicos multidirecionais, formando materiais sólidos porosos, com estruturas periódicas de 1-D, 2-D ou 3-D (**Figura 9**), (YAGHI; LI, 1995).



**Figura 9.** Formação das redes metal-orgânicas (SILVA, 2013).

O fato da classe das redes metal-orgânicas ter sido descoberta há pouco tempo e ser um campo de pesquisa multidisciplinar que envolve química sólida, inorgânica e de coordenação, faz com que ainda não exista uma nomenclatura

padrão. Existe uma interposição de conceitos e terminologias, por exemplo, os termos “polímeros de coordenação” e “redes metal-orgânicas” são muitas vezes considerados sinônimos, ou ainda, que o segundo é um subgrupo do primeiro (FARRUSSENG *et al.*, 2009).

A IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) classifica a MOF como sendo um polímero de coordenação. Porém, define de forma mais específica como redes cristalinas bi ou tridimensional com propriedades porosas (IUPAC, 2013).

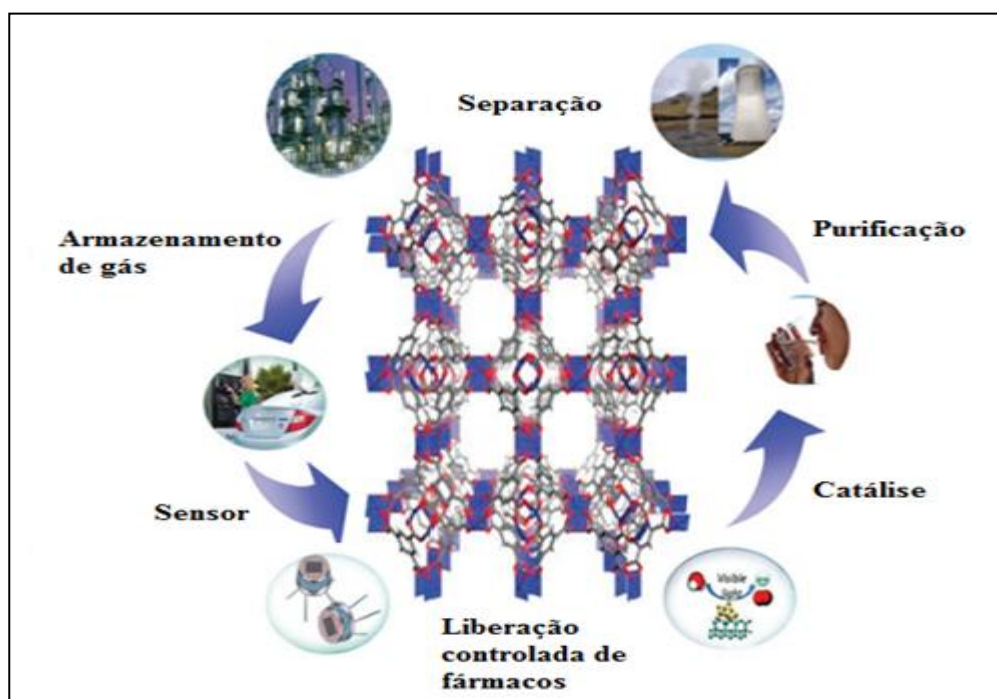
Dessa forma, um polímero de coordenação é classificado como uma MOF quando o mesmo apresenta alta porosidade, cristalinidade, larga área de superfície interna e a forte interação entre ligantes orgânicos e íons metálicos. Estas características conferem a esses compostos estabilidade química e térmica, e estrutura com geometria bem definida (YAGHI *et al.*, 2003; FARHA *et al.*, 2012; MARTIN; HARANCZYK, 2013).

Assim, as MOFs são conhecidas como os materiais de maior área superficial já relatado. A maioria das MOFs até agora descritas são, tal como definido pela IUPAC, microporosas (diâmetros de poros inferiores a 2 nm), com base no tipo de isotermia de adsorção de gás. No entanto, tem surgido exemplos recentes demonstrando estruturas mesoporosas (diâmetros de poro de 2-50 nm) (KLIMAKOW *et al.*, 2010).

Além da elevada área de superfície interna, as MOFs oferecem vantagens significativas no que diz respeito à possibilidade de alteração previsível das unidades orgânicas, visando fornecer materiais adaptados para aplicações específicas. As várias combinações entre conectores (metal ou clusters) e ligantes oferecem um número quase infinito de combinações, enorme flexibilidade, tamanho de poro, forma e estrutura, e muitas oportunidades de funcionalizações (DHAKSHINAMOORTHY; GARCIA, 2014). Por exemplo, o comprimento do ligante orgânico, em geral, define o tamanho dos poros de um dado material, enquanto que a funcionalização da unidade orgânica pode proporcionar poros previsivelmente funcionalizados. Assim, é possível realizar sínteses sob demanda de poros funcionais, ajustando o tamanho, forma e propriedades químicas (HORIKE *et al.*, 2009; CORMA *et al.*, 2010).

Os íons metálicos de transição são, geralmente, utilizados como conectores versáteis na construção de polímeros de coordenação. Dependendo do metal e do seu estado de oxidação, os números de coordenação podem variar de 2 a 12, dando origem a diversas geometrias, que podem ser lineares, em forma de T ou Y, tetraédrica, quadrado-planar, quadrado-piramidal, trigonal-bipiramidal, octaédrica, trigonal-prismático e pentagonal-bipiramidal (FLOR, 2017).

Embora os estudos iniciais sobre estes materiais tenham sido impulsionados principalmente para a sua aplicação como materiais para purificação, separação e armazenamento de gás ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2$  e  $\text{CO}_2$ ), uma gama de outras aplicações potenciais foram igualmente propostas e demonstradas, incluindo, catálise, sensores, carreadores de nanomateriais, liberação controlada de drogas, dispositivos óticos e eletrônicos, entre outras, como demonstradas na **Figura 10** (ABNEY & LIN, 2009; KRENO *et al.*, 2011; BÉTARD; FISCHER, 2012; HORCAJADA *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2012; HOSSEINI *et al.*, 2013; STAVILA *et al.*, 2014).



**Figura 10** . Aplicações potenciais das MOFs (Adaptado de CHAEMCHEN *et al.*, 2013)

Em geral, a flexibilidade e a estrutura altamente porosa das MOFs permitem que moléculas hóspedes, tais como metais, se difundam para a estrutura em bloco. Além disso, a geometria e o tamanho dos poros exercem um papel de seletividade

sobre quais as moléculas alvos poderão ser incorporadas. Estas características tornam estes materiais em candidatos ideais para preparação de eletrodos sólidos catalisadores (HOSSEINI *et al.*, 2013a).

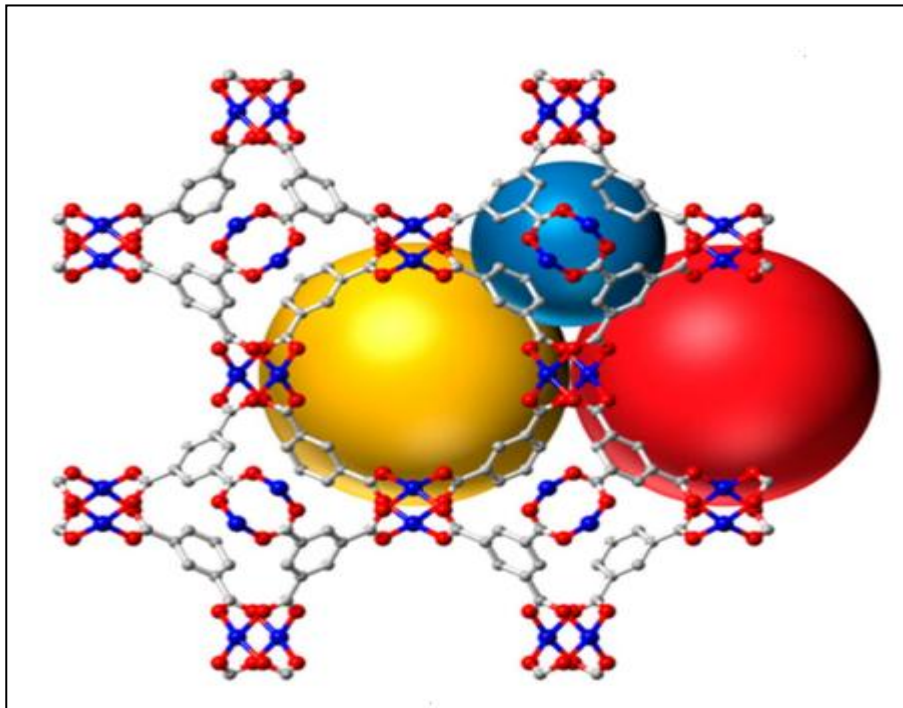
Até a presente data, poucos dados estão disponíveis sobre as propriedades eletroquímicas das redes metal-orgânicas, e o estudo de sua aplicação na eletroquímica ainda é recente. Muito recentemente, Mao *et al* (2012) apresentou a primeira aplicação de MOFs baseadas em cobre como agente eletrocatalítico em reações de redução do oxigênio. Também, Kumar *et al.* (2012), relataram a redução eletrocatalítica de CO<sub>2</sub> em eletrodos de pasta de carbono modificados com filme de MOFs de cobre. Outros estudos relatam o uso de compósitos baseados em MOF, os quais apresentaram ótima atividade eletrocatalítica para oxidação da L-Cisteína, hidrazina, metanol, NADH e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (HOSSEINI *et al.*, 2013a; HOSSEINI *et al.*, 2013b; ZHANG *et al.*, 2013a; ZHANG *et al.*, 2013b; JIA *et al.*, 2013a).

As MOFs são de interesse fundamental e uso prático em eletroquímica porque a maioria dos íons metálicos usados em sua estrutura são ativos eletroquimicamente (WANG *et al.*, 2014). Assim, combinando suas características de porosidade, alta área superficial, bem como as propriedades eletrocatalíticas dos seus íons metais, o uso das MOFs para a modificação da superfície de eletrodos, produzindo EQMs, pode ser promissor no desenvolvimento de novos sensores eletroquímicos e biossensores com propriedades analíticas e eletroquímicas favoráveis.

## 2.8 CuBTC

Relatado pela primeira vez por Chui e colaboradores (1999), o material Cobre-benzeno-1,3,5-tricarboxilato [Cu<sub>3</sub>(BTC)<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O], também conhecido como MF-199 ou HKUST-1, e nesta tese denominado CuBTC, é uma das redes metal-orgânicas mais estudadas, tanto teórica como experimentalmente. Trata-se de um sólido microporoso constituído por íons de cobre (II) que formam estruturas cúbicas do tipo paddlewheel, onde cada íon metálico é coordenado a quatro oxigênios, provenientes do ligante benzeno-1,3,5- tricarboxilato (H<sub>3</sub>BTC, ácido trimésico) e moléculas de água nos sítios axiais (BORDIGA *et al.*, 2007; FLOR, 2017).

Apresentando dois tipos de poros esféricos, de 0,4 nm e 1,1 nm (**Figura 11**), a CuBTC pode ser facilmente sintetizada, com rendimentos elevados, utilizando uma variedade de métodos, incluindo síntese convencional solvotérmica, assistida por radiação micro-ondas, síntese à temperatura ambiente, síntese por ultrassom, por precipitação, eletroquímica, entre outras (O'NEILL *et al.*, 2010; ZHUANG *et al.*, 2011; DAVYDOVSKAY *et al.*, 2014; SRIMUK *et al.*, 2015).



**Figura 11.** Estrutura cristalina da CuBTC e a representação dos dois tipos de poros (WU *et al.*, 2015).

Ultimamente, a CuBTC tem se destacado pela sua vasta utilização no campo tecnológico, apresentando uma variedade de aplicações, incluindo catálise (KUMAR *et al.*, 2013), adsorção seletiva, sensores (KUMAR *et al.*, 2015) e atividade biológica (CHIERICATTI *et al.*, 2012).

Além disso, no organismo, a glutatona se liga naturalmente a íons metálicos endógenos tais como cobre, selênio, cromo e zinco, via reações não enzimáticas. A ligação da GSH a estes íons metálicos cumpre importantes funções, como: (1) limitar e regular a atividade dos íons metálicos, (2) facilitar o transporte destes íons na



membrana e sua eliminação da célula e do organismo, (3) conduzir à formação de mediadores biológicos essenciais (MLADENOV, 2004).

Já é bem relatado na literatura, a formação de complexos entre a glutatona e o íon de cobre (II) em meio aquoso, facilitando a formação de dímeros oxidativos de grupos tiol, os quais são aplicados para detecção de GSH em solução aquosa (SAFAVI *et al.*, 2009; AREIAS *et al.*, 2016a,b). Assim, escolheu-se a CuBTC, de forma a mimetizar essa afinidade.

Apenas três artigos foram encontrados na literatura utilizando a CuBTC como modificador de eletrodo. Entretanto, os sensores construídos com este material foram utilizados para detecção de outros analitos alvos, respectivamente, cisteína (HOSSEINI *et al.*, 2013a), hidrazina (HOSSEINI *et al.*, 2013b) e captopril (VASCONCELOS *et al.*, 2017).

Tendo em vista o que está descrito na literatura para este composto, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um sistema eletroquímico para detecção de glutatona, baseado na modificação de eletrodos com a CuBTC.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Desenvolver um sensor eletroquímico para detecção de glutatona baseado na CuBTC.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Desenvolver uma plataforma sensora empregando a imobilização da CuBTC na superfície de eletrodos convencionais, visando aplicação em ensaios eletroquímicos;
- Desenvolver um método para imobilização da CuBTC na superfície de eletrodos base de platina e de ouro;
- Realizar testes eletroquímicos, através da técnica de voltametria cíclica (VC) para caracterização eletroquímica dos eletrodos quimicamente modificados desenvolvidos;
- Avaliar as propriedades eletrocatalíticas do eletrodo modificado e as condições ótimas de resposta para a Glutaciona, tais como concentração da MOF, potencial aplicado, velocidade de varredura, valores de pH e faixa de resposta linear, visando o aumento do desempenho analítico do sensor;
- Avaliar as respostas eletroquímicas do sensor em amostras reais.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Reagentes e materiais

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Todas as soluções estoque foram preparadas previamente, antes de cada experimento, utilizando água ultrapura obtida a partir de um sistema de purificação pelo sistema Milli-Q da Millipore ( $\rho > 18\text{M}\Omega$ ) (Billerica, EUA). A eliminação de oxigênio ( $\text{O}_2$ ) dissolvido foi feita pelo borbulhamento de gás nitrogênio durante 5 minutos antes das medidas, de forma a minimizar a sua interferência.

Glutathiona Reduzida (GSH) e a rede metal orgânica Basolite C300 produzida pela BASF foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Millwaukee, USA). Ácido fosfórico, fosfato de sódio monobásico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), fosfato de sódio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), hidróxido de sódio (NaOH) e peróxido de Oxigênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foram obtidos da Dinâmica Química (São Paulo, BR). Copolímero acrilamida e acrilato de sódio (Bozefloc A) da Daneto (Ceará, BR).

Pós de alumina (1,0, 0,3 e 0,05  $\mu\text{m}$ ) e tecido para polimento metalográfico, foram obtidos a partir da Teglogo (São Paulo, BR).

Os eletrodos de trabalho de disco de platina (1,5 mm de diâmetro), de ouro (1,7 mm de diâmetro), o contra- eletrodo de fio de platina e o eletrodo de referência Prata/Cloreto de Prata (Ag/AgCl) foram adquiridos da Labsolutions (São Paulo, BR).

### 4.2. Amostras de soro

As amostras de soro sanguíneo foram coletadas de doadores saudáveis, no Laboratório de análises clínicas do Hospital Fundação Assistencial da Paraíba (FAP), localizado na cidade de Campina Grande – PB. Estas foram obtidas através de punção da veia intermédia do braço, no volume de 5 mL, por um profissional qualificado, de acordo com as recomendações de segurança.

As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo solução anticoagulante (EDTA- ácido etileno diaminoacético) e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos, a uma temperatura de  $4^\circ\text{C}$ , extraíndo-se o sobrenadante. Após

centrifugação, estes foram armazenados em tubos criogênicos a  $-80^{\circ}\text{C}$  e devidamente identificados, para posterior análise.

Para as medidas eletroquímicas, uma alíquota de amostra de 500  $\mu\text{L}$  foi diluída em solução tampão fosfato de potássio com concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

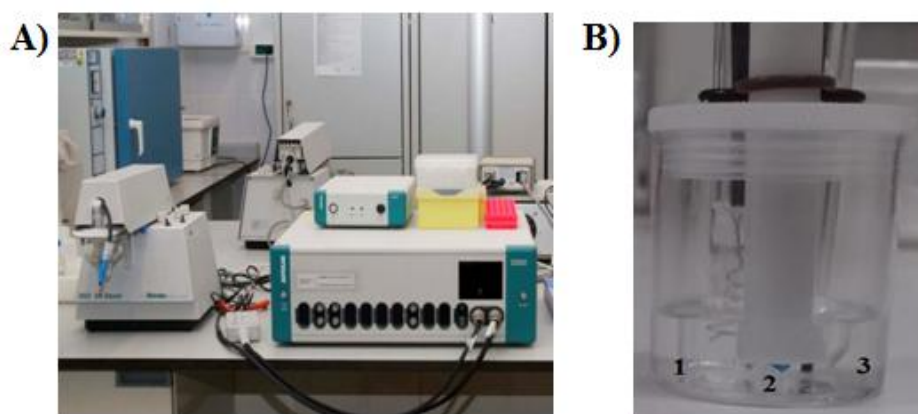
A pesquisa segue as diretrizes e normas aprovadas na Resolução nº 466/2012 do CNS e foi aprovada pelo comitê de ética da Universidade Estadual da Paraíba sob o nº de registro 041512/2014 (**ANEXO 1**).

### **4.3 Preparação das soluções tampão**

Como eletrólito suporte, soluções de tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) foram preparadas a partir de fosfato de sódio monobásico ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) e fosfato de sódio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), com pH ajustado com solução diluída de ácido fosfórico ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ).

### **4.4 Instrumentação**

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C}$ ), em uma gaiola de Faraday, com auxílio de um potenciostato/Galvanostato (Autolab PGSTAT 10, marca Eco Chemie), interfaciado a um microcomputador com software NOVA 1.11 para controle do potencial, aquisição e tratamento de dados. Um sistema de três eletrodos foi utilizado, sendo constituído de uma célula eletroquímica de capacidade volumétrica de 20 mL, contendo 10 mL de solução tampão fosfato, um eletrodo de referência de prata/cloreto de prata ( $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{KCl}_{\text{sat}})}$ ), um contra-eletrodo de fio de platina e como eletrodo de trabalho platina ou ouro modificados com a rede metal-orgânica CuBTC (**Figura 12A e B**).



**Figura**

**12.** (A) Potenciostato/galvanostato Autolab (B) Célula eletroquímica de três eletrodos (1) contra-eletrodo de fio de Pt, (2) Eletrodo de trabalho modificado com a CuBTC (3) eletrodo de referência Ag/AgCl<sub>(KCl saturado)</sub>.

Um medidor de pH digital (Hanna instruments, modelo HI) com precisão de  $\pm 0,001V$  foi utilizado para medições de pH, quando necessárias. O medidor de pH foi previamente calibrado usando tampões de pH  $4,00 \pm 0,01$  e  $pH 7,00 \pm 0,01$ .

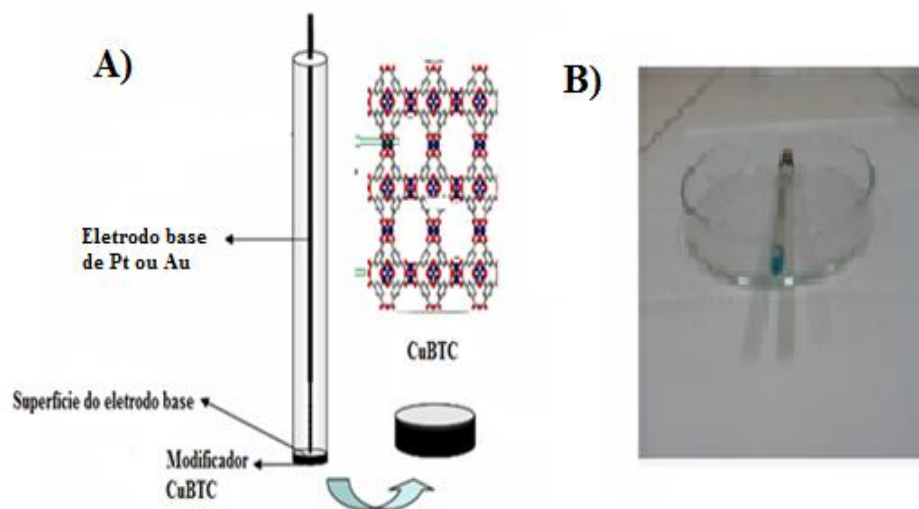
#### 4.5 Pré-Tratamento do eletrodo

O pré-tratamento das superfícies dos eletrodos de trabalho foi realizado através de um procedimento mecânico, consistindo no polimento em tecido de polimento metalográfico, apoiado em placa de cerâmica lisa, embebido por soluções de suspensão de alumina ( $1,0, 0,3$  e  $0,05 \mu m$ ), em ordem decrescente, até que as suas superfícies apresentassem aspecto espelhado. Após cada etapa de polimento, os eletrodos foram lavados com água ultrapura.

Finalmente, os eletrodos foram submetidos à voltametria cíclica ( $-0,4 V$  e  $+0,8 V$  *versus* Ag/AgCl), numa velocidade de varredura de  $50 mV s^{-1}$ , em  $0,1 mol L^{-1}$  de solução tampão fosfato de sódio até os voltamogramas tornarem-se reprodutíveis (cerca de 5 ciclos). Em seguida, o eletrodo tratado foi então, lavado com água ultrapura e armazenado em condições ambientais de temperatura ( $25^{\circ}C$ ) e exposto a  $O_2$ , para posterior modificação de sua superfície. Todo o processo de limpeza foi repetido antes de cada medição.

#### 4.6 Preparação do Eletrodo Modificado com a CuBTC

Uma resina polimérica foi preparada a partir de 2g do copolímero acrilamida-acrilato de sódio, diluído em uma solução alcoólica de 80 mL, e submetidos a aquecimento e agitação até adiquirir a consistência de gel. Em seguida, 100 mg de CuBTC em sua forma comercial (Basolite C300), foi adicionada á uma alíquota de 20 mL da solução copolimérica e sonicada por 30 minutos para completa homogenização da solução, formando uma resina polimérica. Para preparação do eletrodo modificado, uma alíquota (2  $\mu$ L) da resina polimérica foi depositada em eletrodos de disco de platina e ouro (**Figura 13**). Após secagem, com auxílio de um secador de cabelos, um filme fino da Rede Metal-Orgânica cobre (II) – benzeno - 1, 3, 5 – tricarboxilato foi formado na superfície dos eletrodos de platina e Ouro e identificados, respectivamente, pelas siglas CuBTC/EPt e CuBTC/EAu.



**Figura 13. A)** Representação do modo de preparação do Eletrodo Quimicamente Modificado. **B)** Foto do eletrodo base após modificação com camada de CuBTC.

#### 4.7 Caracterização eletroquímica do sensor

Antes de serem utilizados como sensores, as performances eletroquímicas dos eletrodos modificados foram avaliadas por voltametria cíclica em 10 mL de solução tampão fosfato ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), utilizada como eletrólito de suporte.

As variáveis que foram examinadas para caracterização do sensor eletroquímico foram: escolha do eletrodo base, o tipo de imobilizador, concentração de MOF, tipo de eletrólito de suporte, pH da solução e velocidade de varredura.

Após a caracterização, a atividade dos EQMs com CuBTC foi avaliada na presença da glutatona por Voltametria Cíclica, nas condições otimizadas. E, posteriormente, os resultados obtidos com estes eletrodos foram comparados com os obtidos nos eletrodos de platina e ouro sem modificar, no intuito de verificar a capacidade eletrocatalítica do filme de CuBTC como mediador na análise e detecção desse composto.

#### 4.8 Medidas Analíticas

Para avaliar a resposta analítica do sensor, alíquotas (10 mL) de GSH em diferentes concentrações foram submetidas a análise pelos eletrodos quimicamente modificados CuBTC/EPt e CuBTC/EAu. A detecção voltamétrica foi monitorada através da intensidade da corrente de pico anódica para a eletro-oxidação catalítica da glutatona. As medições foram realizadas em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato. As faixas de potenciais aplicadas foram de  $-0,4$  a  $+0,4 \text{ V vs. Ag/AgCl}$  para o eletrodo CuBTC/EPt e a partir de  $-0,4$  a  $+1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}$  para o eletrodo CuBTC/EAu, com uma velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

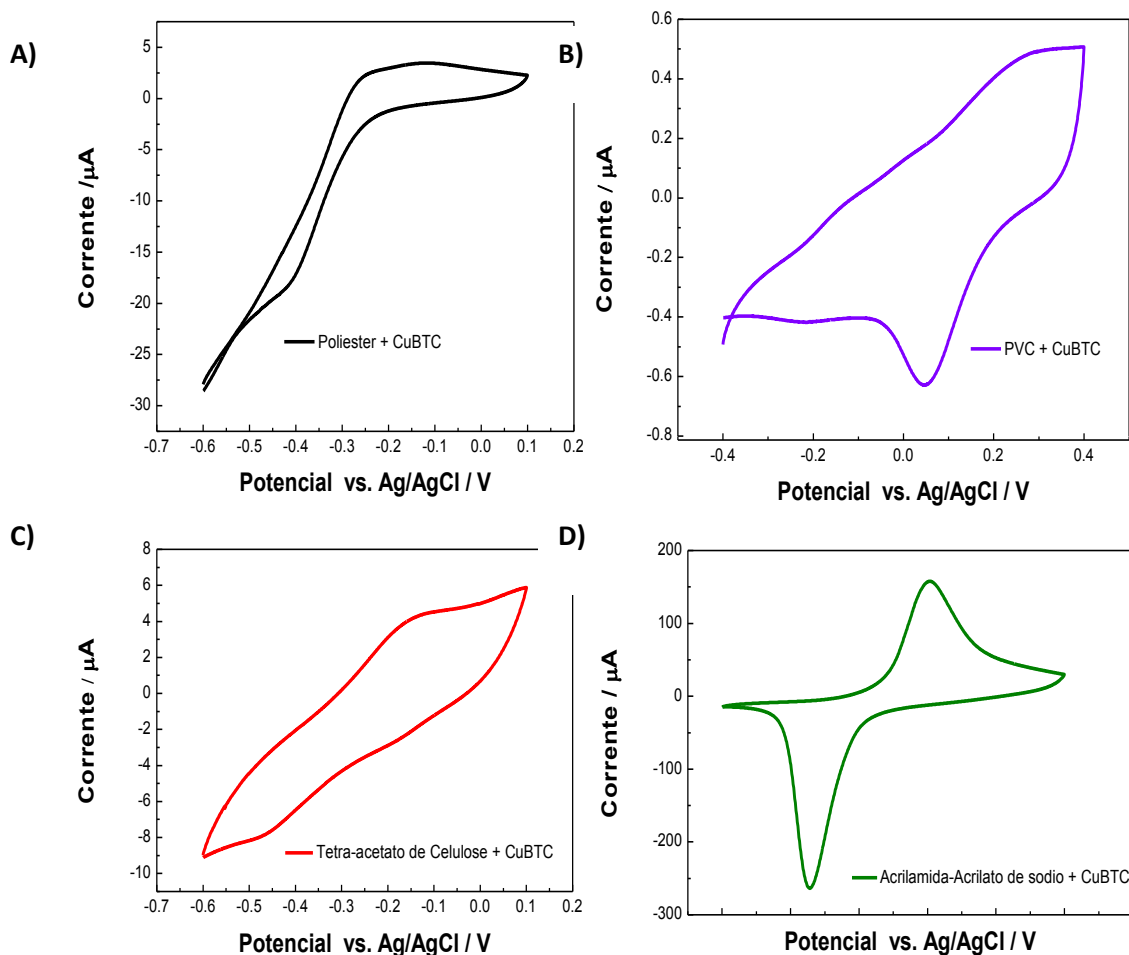
A detecção de glutatona em amostras reais de soro sanguíneo demonstrou a aplicação prática do sensor desenvolvido.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Estudos com Eletrodo Quimicamente Modificado CuBTC/EPt

#### 5.1.1 Tipo de Imobilizador

Com o objetivo de modificar o eletrodo com a rede metal-orgânica CuBTC, vários polímeros foram testados como material imobilizador, sendo eles: Poliéster; Policloreto de vinila (PVC) ; Tetra-acetato de celulose (TAC) e o copolímero Acrilamida/acrilato de sódio, **Figura 14 A, B, C e D**, respectivamente.



**Figura 14.** Voltamogramas do EQM CuBTC/EPt utilizando diferentes polímeros como imobilizadores: **A)** Poliéster; **B)** PVC; **C)** Tetra-acetato de Celulose e **D)** Acrilamida- acrilato de sódio, em solução tampão fosfato pH 7.



Como pode ser visualizado na **Figura 14**, a modificação do eletrodo com CuBTC, utilizando o copolímero Acrilamida/acrilato de sódio (**D**) como imobilizador, foi o que apresentou melhor comportamento eletroquímico, com picos de oxidação e redução de cobre bem definidos, quando submetido à voltametria cíclica em solução tampão. Em conformidade com o padrão de oxidação/redução do cobre descrito na literatura (HOSSEINI *et al.*, 2013a; AL-JANEBI *et al.*, 2016). Este então foi o material escolhido como imobilizador no processo de construção do sensor eletroquímico para detecção de glutatona.

Uma vez que a CuBTC é fracamente condutora, espera-se respostas eletroquímicas para oxidação e redução do cobre não tão intensas, assim como observadas em trabalhos anteriores (HOSSEINI *et al.*, 2013a; 2013b). Entretanto, com a utilização do copolímero acrilamida-acrilato de sódio, como imobilizador da MOF na superfície do eletrodo de Pt, as respostas obtidas para oxidação e redução do cobre foram potencializadas. Esse fator pode ser atribuído inicialmente às características condutoras do polímero, que em solução tem caráter aniônico e ao interagir com os terminais de cobre acessíveis na MOF facilita o processo de transferência de elétrons e conseqüentemente, aumenta a resposta eletroquímica (LEE *et al.*, 2005).

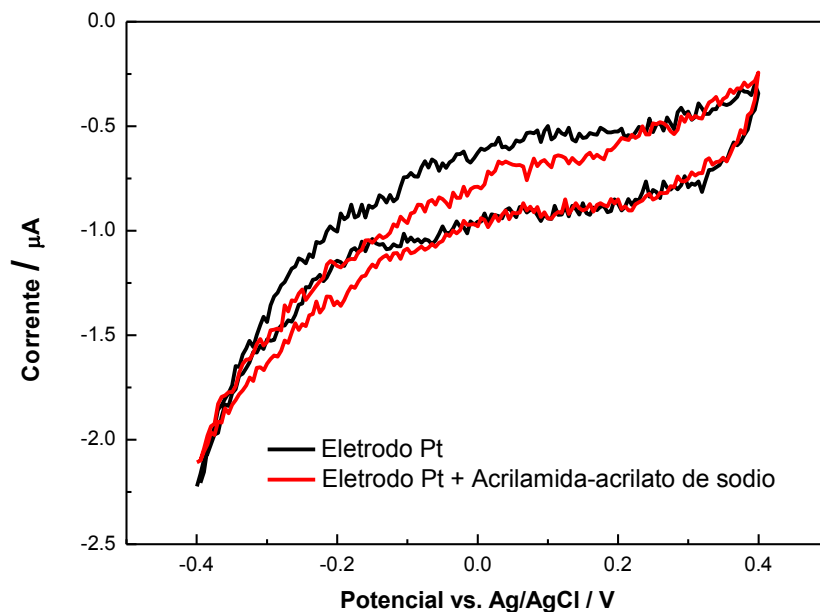
Este resultado fez-nos concluir que o polímero é determinante na resposta catalítica do sensor podendo ele propiciar as reações de oxidação/ redução ou eventualmente, condicioná-las.

### 5.1.2 Propriedades Eletroquímicas do EQM CuBTC/EPt

Segundo Fleker *et al.* (2016), as estruturas metal-orgânicas apresentam propriedades únicas que as tornam excelentes candidatas para muitas aplicações de alta tecnologia. As MOFs constituem uma nova geração de materiais cristalinos porosos, que entraram recentemente em foco, para as tecnologias de sensores, uma vez que podem ser usados como elementos ativos específicos para um determinado analito, quando aplicadas sob a forma de filmes finos.

Por apresentarem propriedades analíticas e eletroquímicas favoráveis, devido às suas características de porosidade, alta área superficial, bem como às propriedades eletrocatalíticas dos seus íons metálicos, as MOFs oferecem vantagens importantes para utilização como modificadores de eletrodos.

Assim, voltamogramas cíclicos foram registrados para o eletrodo de platina sem modificar e para o eletrodo de platina apenas com o copolímero acrilamida-acrilato de sódio imobilizado em sua superfície (**Figura 15**).

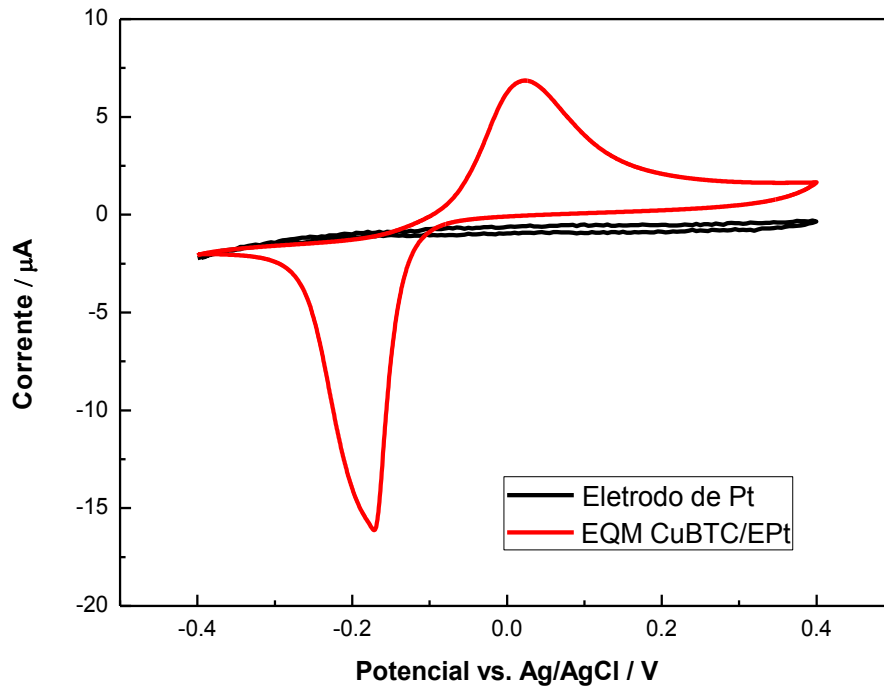


**Figura 15.** Voltamogramas do eletrodo de Pt (—) e do Eletrodo de platina com o copolímero Acrilamida-acrilato de sódio (—) como imobilizador, em solução tampão fosfato pH 7,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4$  a  $0,4 \text{ V}$ , registrado no 1º ciclo.

Segundo demonstrado na **Figura 15**, o eletrodo base de platina em solução tampão não apresenta nenhuma atividade eletroquímica, na faixa de potencial aplicada. O mesmo acontece para o copolímero depositado na superfície do eletrodo de platina, demonstrando que o mesmo é inerte, não influenciando na resposta do eletrodo, uma vez que apresentou resposta semelhante ao do eletrodo sozinho.

Na **Figura 16** são apresentados os voltamogramas cíclicos para os eletrodos de platina modificados com a MOF CuBTC e sem modificar, na faixa de potencial de -

0,4 V a 0,4 V vs. Ag/AgCl. Foram realizadas 5 leituras e a terceira varredura de cada medida foi plotada neste gráfico.



**Figura 16.** Voltamogramas do eletrodo de Pt (—) e do Eletrodo quimicamente modificado CuBTC/EPt (—), em solução tampão fosfato pH 7,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4$  a  $+0,4$  V, registrados no 3º ciclo.

Como demonstrado anteriormente, para o eletrodo de platina nenhum pico é observado nesta faixa de potencial. Entretanto, para o eletrodo quimicamente modificado CuBTC/EPt em solução tampão, este apresentou atividade eletroquímica com picos de oxidação e redução de cobre bem definidos, devido a rede metal-orgânica devidamente imobilizada na superfície do eletrodo base. Este resultado leva à conclusão que o sistema nanoestruturado é imprescindível para aumentar a sensibilidade da resposta catalítica.

Assim, o voltamograma cíclico apresentou um pico anódico durante o varrimento anódico (no sentido positivo), correspondente à oxidação do cobre metálico (**Equação 1**) ( $E_{pa} = + 0,025$  V) e, durante o varrimento catódico, sentido inverso em direção a potenciais mais negativos, há o aparecimento de um novo pico, o qual está relacionado à redução ( $E_{pc} = - 0,17$  V) do íon cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) a cobre

metálico (**Equação 2**), com potencial médio ( $E_m$ ) de -0,072 V vs. Ag/AgCl. Onde  $E_m = (E_{pa} + E_{pc})/2$ , sendo que  $E_{pa}$  e  $E_{pc}$  são os potenciais de pico anódico e catódico, respectivamente (HOSSEINI *et al.*, 2013a; AL-JANEBI *et al.*, 2016).



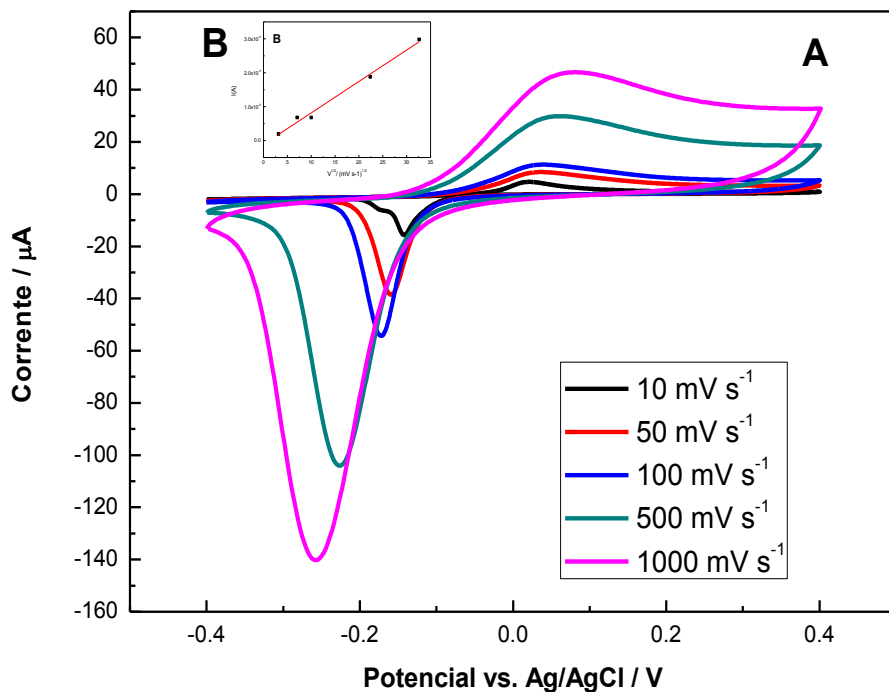
### 5.1.3 Influência da Velocidade de varredura no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EPt

Nas reações de eletrodo, normalmente, são considerados três modos de transferência de massa: a migração (movimento de íons através da solução causada pela atração ou repulsão entre as espécies iônicas em solução e o eletrodo de trabalho), a convecção (movimentação das espécies causadas por perturbação mecânica do fluxo da solução) e a difusão. Este último, trata-se do processo de transferência de massa mais largamente estudado, sendo definido como a movimentação espontânea da espécie química devido à formação de um gradiente de concentração do analito de interesse (Pacheco *et al.*, 2013).

Em voltametria, as condições experimentais são ajustadas para que os transportes por migração e convecção sejam minimizados. Assim, considera-se que o transporte de massa seja feito basicamente por difusão (SKOONG *et al.*, 2002). Neste caso, o fluxo de espécies eletroativas ( $J$ ) é descrito pela primeira lei de Fick, que descreve  $J$  como o produto entre o coeficiente de difusão ( $D$ ) multiplicado pela variação de concentração na interface eletrodo/solução (onde a distância ( $x$ ) entre a superfície do eletrodo e a solução é zero).

$$J = D \frac{dc^0}{dx} \quad \text{(Equação 3)}$$

A velocidade de varredura do potencial é uma variável extremamente importante, pois ela pode determinar o tipo de interação de uma espécie eletroativa com o eletrodo e o tipo de transporte desta espécie para a superfície do mesmo. Assim, o efeito da velocidade de varredura foi estudado em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,0. A **Figura 17** representa os voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo modificado para a janela potenciais entre -0,4 a +0,4 V, para diferentes velocidades de varredura (10 a  $1000 \text{ mV s}^{-1}$ ). Os diagramas obtidos correspondem ao registro do terceiro ciclo.



**Figura 17. (A)** Influência da velocidade de varredura sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt em solução tampão fosfato pH=7,  $E_a = -0,4$  a  $+0,4 \text{ V}$ , voltamogramas registrados no 3º ciclo. **(B)** Intensidade da corrente de pico anódico vs. raiz quadrada da velocidade de varredura.

Os voltamogramas cíclicos plotados, **Figura 17 (A)**, mostram a variação da corrente de potencial em função da velocidade de varredura. Observa-se que com o aumento da velocidade de varredura há um aumento na separação de pico ( $\Delta E_p$ ). Segundo Silva (1998), os pares redox que apresentam uma separação entre os potenciais de pico catódico e anódico que aumenta com a velocidade de varrimento de potencial denominam-se, usualmente, de quase-reversíveis. Nestes casos, tanto

o processo de transferência de carga heterogênea como o de transporte de massa, determinam a corrente.

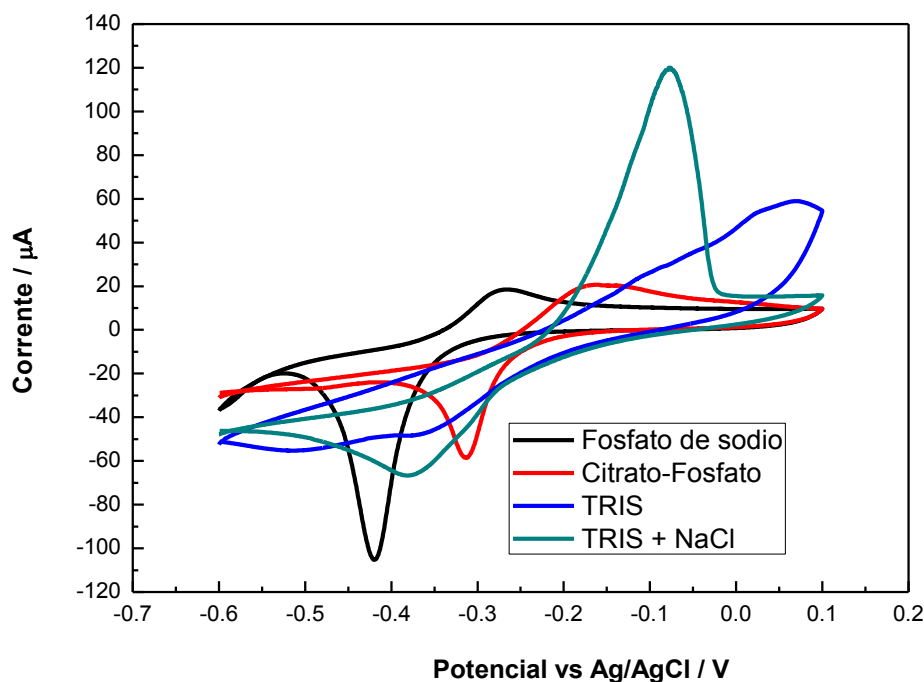
A intensidade de corrente depende de duas contribuições predominantes, uma devida à reação de transferência eletrônica à superfície do eletrodo, e a outra devida ao transporte da espécie eletroativa para esta superfície. A velocidade de transferência eletrônica será tanto maior quanto maior for o potencial, e o mesmo acontece para a intensidade de corrente respectiva, a qual aumenta exponencialmente com o potencial (fase ascendente do voltamograma).

Por sua vez, no gráfico **(B)**, correspondente às parcelas de corrente de pico anódica em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ( $v^{1/2}$ ) observa-se que os valores de Intensidade de corrente variam linearmente com  $v^{1/2}$  em todas as velocidades de varredura. Este comportamento indica que, no pH de trabalho, os íons migram para a solução e em seguida sofrem o processo redox. Ou seja, mesmo a direção sendo anódica, os íons  $\text{Cu}^{2+}$  em solução são reduzidos, indicando que o processo é controlado por difusão.

Portanto, a velocidade de  $50\text{mV s}^{-1}$  foi escolhida para os próximos experimentos envolvendo o estudo do eletrodo CuBTC/EPt.

#### 5.1.4. Influência da natureza da solução tampão no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EPt

Seguindo com a otimização das condições experimentais, também foram realizados estudos, com o eletrodo desenvolvido, em diferentes soluções tampão, entre eles: fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), fosfato-citrato, o qual trata-se de uma mistura de solução de ácido cítrico com uma solução de fosfato de sódio), Tris-(hidroximetil)-aminometano (TRIS) e o Tris-(hidroximetil)-aminometano com adição de cloreto de sódio (TRIS+NaCl), com concentração igual a  $0,1\text{ mol L}^{-1}$ , em pH 7,0 (**Figura 18**).



**Figura 18.** Voltamogramas cíclicos do EQM CuBTC/EPt obtidos em diferentes soluções tampão: (—)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de Fosfato de sódio, (—)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de CBPS, (—)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de TRIS, (—)  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de TRIS+NaCl, registrados no 3º Ciclo. Velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$

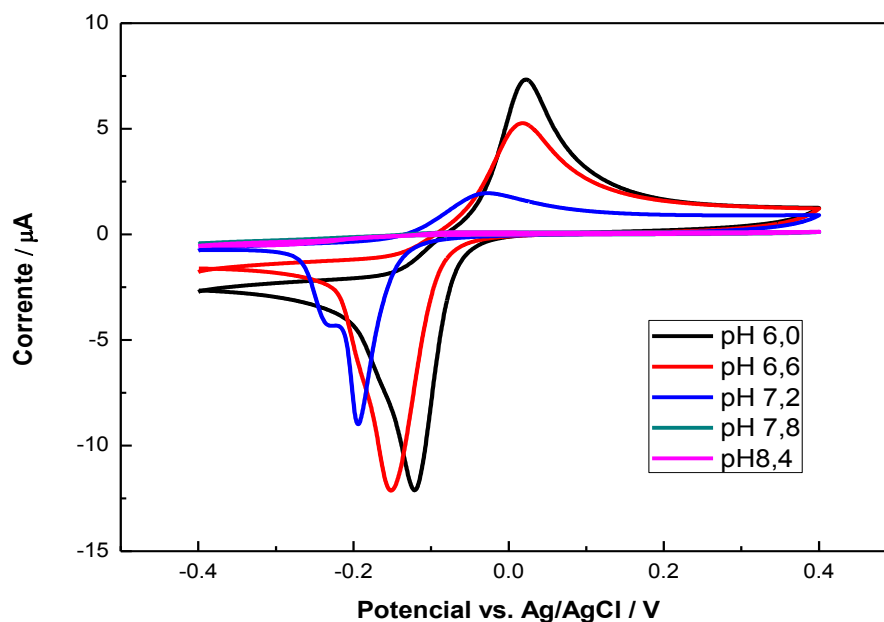
Observa-se na **Figura 18**, que as melhores respostas, correspondentes aos valores de corrente anódica mais elevados, foram obtidas para as soluções tampão TRIS+NaCl e o fosfato de sódio. Isto se deve, provavelmente, ao íon sódio presente nessas soluções, que parece intensificar a resposta do EQM.

Assim, a resposta do eletrodo depende dos íons presentes na solução, visto que para o tampão TRIS não se observam os picos de oxidação e redução bem definidos da MOF CuBTC, pelo fato do cátion do TRIS não ser capaz de interagir com a rede cristalina da MOF, devido ao seu tamanho. Possivelmente, o tamanho da cavidade da rede cristalina da MOF permite que somente cátions pequenos se difundam através desta, mantendo a eletroneutralidade. Entretanto, quando se adiciona NaCl a solução, a resposta modifica, possibilitando, o aparecimento do processo redox.

Embora, a solução tampão TRIS+NaCl tenha se destacado com os valores de corrente anódica mais elevada, a solução tampão fosfato de sódio foi escolhida por apresentar menor potencial de oxidação.

#### 5.1.5 Influência do pH da solução tampão no comportamento eletroquímico do CuBTC/EPt

Em geral, o pH é uma variável que influencia tanto a corrente de pico quanto a forma dos voltamogramas obtidos. Sendo assim, é importante investigar o efeito que ele exerce sobre sistemas eletroquímicos (ZARGAR *et al.*, 2015). Assim, para determinar o valor de pH ótimo, avaliou-se o seu efeito sobre a resposta voltamétrica do EQM CuBTC/EPt. Os estudos foram realizados em soluções tampão fosfato de sódio com valores pH compreendidos entre 6,0 e 8,4 (**Figura 19**).



**Figura 19.** Influência do pH sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt em solução tampão fosfato,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4 \text{ a } 0,4 \text{ V}$ , registrado no 1º ciclo.

Verificou-se que o comportamento eletroquímico do eletrodo modificado era dependente do valor do pH da solução. No intervalo entre 6,0 a 7,2 observa-se ainda que, quanto menor era o valor de pH, melhor era a resposta eletroquímica.



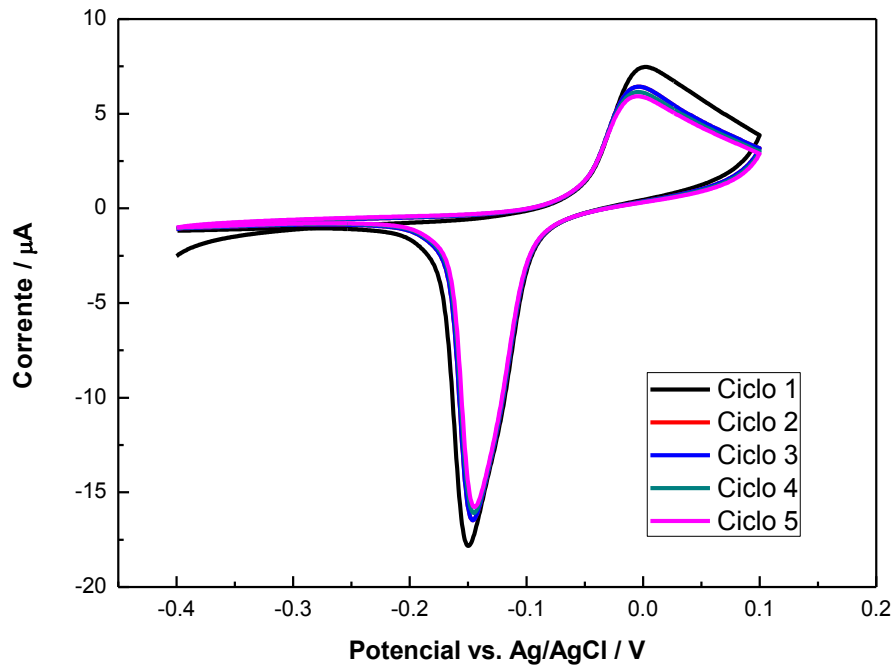
Entretanto, para valores de pH superior a 7,8 praticamente não se registrava qualquer resposta eletroquímica, ou seja, os processos de oxidação/redução eram mascarados. Isso ocorre pois, segundo Chughtai *et al.* (2015), em meios alcalinos ocorre o enfraquecimento e a consequente quebra da rede metalorgânica, levando à formação de nanopartículas de CuO.

Também é possível observar que no intervalo de pH entre 6,0 e 7,2, há um deslocamento dos picos de oxidação e redução do cobre da MOF para potenciais mais positivos sempre que o pH decresce, sendo mais evidente para os potenciais catódicos. Esse comportamento pode estar associado à redução do cobre ser dependente do pH do meio (RICHARDSON *et al.*, 2001).

Como resultado, o estudo do efeito do pH neste experimento mostra uma corrente de pico máxima com uma curva voltamétrica bem formada em pH 6,0. Embora esse pH seja considerado ótimo para os fins analíticos, assegurando curvas voltamétricas bem formadas e com alta densidade de corrente, optou-se por escolher o valor de pH de 7,2, visando a aplicabilidade do método. Isto justificou-se pelo fato de ser o mais próximo do pH natural das amostras reais, soro sanguíneo (pH 7,35 a 7,45), em que o sensor será aplicado analiticamente, evitando desta forma o ajuste de pH.

#### 5.1.6 Estabilidade do EQM CuBTC/EPt

A influência do número de varreduras cíclicas sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt foi avaliada em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,2,  $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4 \text{ a } +0,1 \text{ V}$  (**Figura 20**).



**Figura 20.** Influência do número de ciclos sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt em solução tampão fosfato, pH 7,2,  $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4 \text{ a } +0,1 \text{ V}$ .

Durante as contínuas varreduras cíclicas foi observado um pequeno decréscimo das correntes de oxidação e redução nos primeiros ciclos, tornando-se gradualmente repetível a partir do terceiro ciclo (média da corrente de pico anódica igual a  $6,48 \mu\text{A}$  e desvio padrão igual a  $\pm 0,59$ ). Provavelmente isso se deve a necessidade de condicionamento prévio do sistema, o qual se estabiliza após o varrimento dos primeiros ciclos.

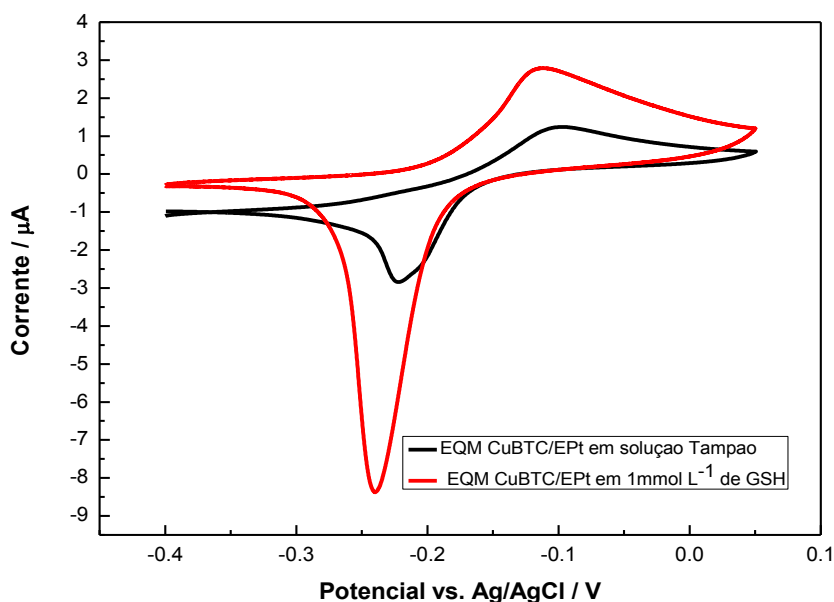
A **Tabela 1** representa o resumo das variáveis estudadas e selecionadas na análise do comportamento eletroquímico do eletrodo CuBTC/EPt.

**Tabela 1.** Variáveis estudadas e selecionadas na análise do comportamento eletroquímico do eletrodo CuBTC/EPt.

<b>EQM CuBTC/EPt</b>	<b>Estudado</b>	<b>Selecionado</b>
<b>Imobilizador</b>	Poliéster, PVC, Tetra-acetato de celulose e Acrilamida/acrilato de sódio	Acrilamida/acrilato de sódio
<b>Velocidade de varredura</b>	10, 50, 100, 500 e 1000 mV s <sup>-1</sup>	50 mV s <sup>-1</sup>
<b>Eletrólito de Suporte</b>	Fosfato de sódio, citrato-fosfato, TRIS e TRIS+NaCl, citrato-fosfato, TRIS e TRIS+NaCl	Fosfato de sódio
<b>pH da solução</b>	6,0; 6,6; 7,2; 7,8 e 8,4	7,2
<b>Nº de ciclos</b>	5 ciclos	3º ciclo

#### 5.1.7 Resposta Eletrocatalítica do EQM CUBTC/EPt para a Glutaciona

Após se estabelecer as melhores condições experimentais que favoreciam um melhor comportamento eletroquímico do eletrodo de platina modificado com a rede metal-orgânica CuBTC, efetuou-se o estudo em solução de Glutaciona no sentido de estabelecer a faixa analítica para o sensor desenvolvido. Os voltamogramas da **Figura 21** ilustram a resposta eletrocatalítica do EQM CuBTC/EPt na presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH em comparação com a resposta do mesmo eletrodo em solução tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,2), com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>. Os registros apresentados correspondem ao 3º ciclo de varredura.



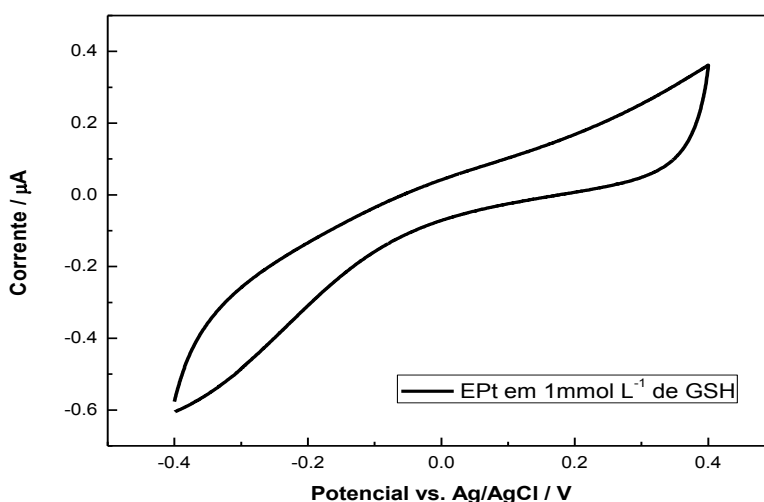
**Figura 21.** Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/EPt na ausência (—) e presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH (—), em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 7,2), com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 3º ciclo.

No voltamograma cíclico representado na **Figura 21**, verifica-se que para potenciais acima de  $-0,11 \text{ V}$  obteve-se um aumento significativo da corrente anódica comparativamente com o que acontece em solução tampão enquanto que, para a corrente catódica, o aumento do pico se verifica para potenciais acima de  $-0,23 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ .

Como bem discutido na literatura, a maioria das determinações eletroquímicas de compostos organossulfurados, em eletrodos sólidos, está baseada em reações anódicas (LACOURSE; MODI, 2005; MODI *et al.*, 2005). Entretanto, curiosamente, essa aplicação requer a redução catódica no eletrodo antes da detecção anódica para regenerar a superfície para posterior análise (POSSARI *et al.*, 2006). Assim, pode-se perceber que para o EQM CuBTC/EPt o pico catódico também aumenta na presença da glutatona, devido a mesma se complexar com o  $\text{Cu}^{2+}$  e adsorver na superfície do eletrodo, o que faz com que exista mais cobre para ser reduzido (AREIAS *et al.*, 2016 a).

Se comparar as duas situações (em solução tampão e em solução de glutatona) observa-se também um ligeiro deslocamento de ambos os picos

(catódico e anódico) para potenciais mais negativos. Como representado na **Figura 22**, é importante destacar que, quando o eletrodo base de platina foi testado para glutatona nenhuma corrente foi observada na faixa de potencial estudada o que significa que a presença da MOF contribuiu para o sinal eletroquímico observado, justificando por isso a sua utilização. Segundo Li e Lin (2006), em termos analíticos, a modificação do eletrodo deve realizar-se de tal forma que o sensor obtenha sensibilidade, seletividade, estabilidade, reprodutibilidade e aplicabilidade superiores às daquelas de um eletrodo base sem prévia modificação, para que seu emprego seja justificado.



**Figura 22.** Voltamograma cíclico obtidos para o EPT na presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH (—), em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH 7,2), com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>, registrado no 3º ciclo.

A resposta observada ocorre, provavelmente, porque a rede metal-orgânica CuBTC é capaz de mudar as propriedades eletroquímicas do eletrodo, destacando-se como um novo material para a construção de eletrodos mais sensíveis, neste caso para GSH.

Como relatado na literatura (MOORE *et al.*, 2004; MARZAL, 2005), a GSH apresenta potenciais de oxidação altos, geralmente acima de +0,9 V em eletrodos sólidos. Como observado no voltamograma cíclico da **Figura 21**, o eletrodo CuBTC/EPT foi capaz de reduzir o potencial de oxidação da glutatona para um valor de -0,11 V. De acordo com os dados da literatura (MARZAL, 2005), a determinação

de GSH a baixos potenciais apresenta-se como uma grande vantagem, sobretudo na análise de amostras complexas, uma vez que interferentes que apresentam altos potenciais de oxidação podem ser eliminados.

Na **Tabela 2** representa-se um quadro comparativo das propriedades eletroquímicas do Eletrodo CuBTC/EPt em 0,1 mmol L<sup>-1</sup> de solução tampão na ausência e presença de GSH na solução.

**Tabela 2.** Comparações das propriedades eletroquímicas do Eletrodo CuBTC/EPt em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução tampão, na ausência e na presença de 1mmol L<sup>-1</sup> de GSH.

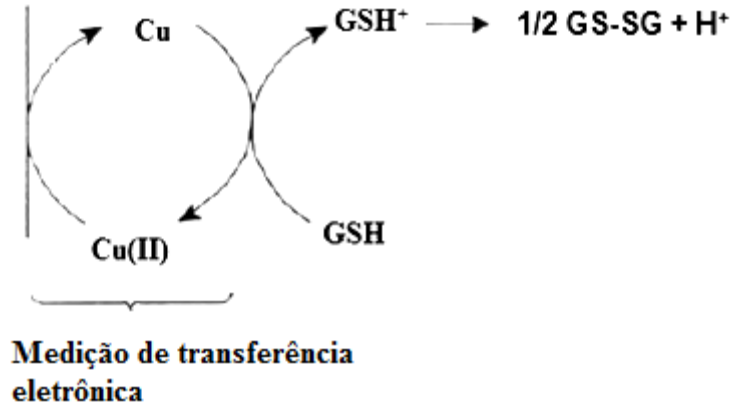
EQM CuBTC/EPt	Ausência de GSH	Presença de 1mmolL <sup>-1</sup> de GSH
<b>Epa (V)</b>	-0,10	-0,11
<b>Epc (V)</b>	-0,22	-0,23
<b>ΔE=Epc-Epa</b>	-0,12	-0,12
<b>Ipa (μA)</b>	1,24	2,79
<b>Ipc (μA)</b>	-2,84	-8,34

Como pode ser observado na **Tabela 2**, as correntes de pico, tanto anódicas (Ipa's), quanto catódicas (Ipc's) apresentam valores bastante diferentes, sendo mais intensas para a solução contendo uma concentração de 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH. Este fenômeno pode ser atribuído a atividade da MOF CuBTC, a qual demonstra ser capaz de mediar a transferência de elétrons entre o eletrodo e a GSH, permitindo a oxidação/redução catalítica da GSH na faixa de potencial aplicada.

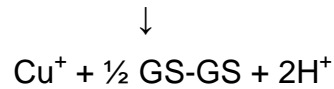
Comparando as propriedades eletroquímicas, no que se diz respeito aos potenciais anódicos (EPa) apresentados pelo eletrodo CuBTC/EPt nas duas soluções (solução tampão e solução GSH), verifica-se que a oxidação da glutatona ocorre sobre a superfície do eletrodo, juntamente com a oxidação do cobre da MOF. Isto está coerente com os valores apresentados na **Tabela 2**, onde a janela de potencial entre Epc e Epa (ΔEp = -0,12 V) não varia.

De acordo com os resultados obtidos, a eletro-oxidação da glutatona sobre a superfície do eletrodo CuBTC/EPt, levando à forma dissulfeto de glutatona (GSSG),

pode ser descrita como representado pela **Figura 23** e pelas **Equações (4), (5) e (6)** abaixo:

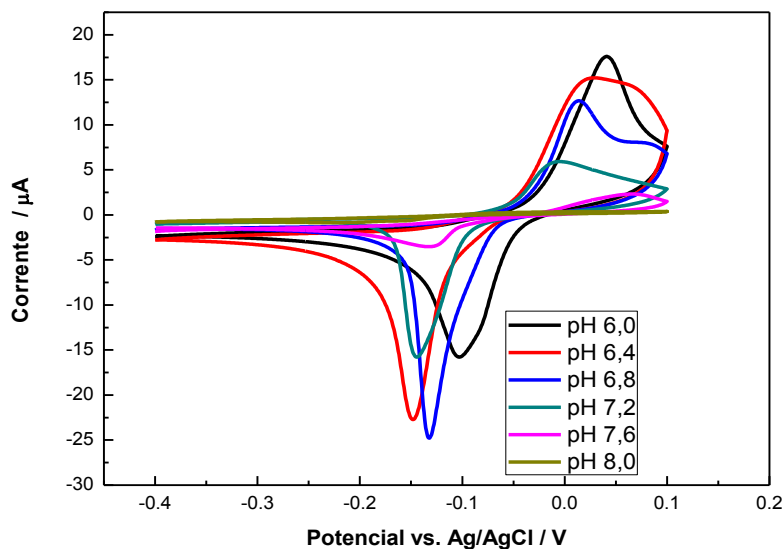


**Figura 23.** Mecanismo de reação de eletrodo CuBTC/EPt na presença de GSH.



#### 5.1.8 Efeito do pH na resposta do CuBTC/Pt na presença da Glutathiona

O efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do EQM CuBTC/EPt foi avaliado para soluções de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de concentração de GSH com valores diferentes de pH que variavam entre 6,0 e 8,0 (**Figura 24**).



**Figura 24.** Influência do pH sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH na solução,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4$  a  $+0,4 \text{ V}$ , registrado no 3º ciclo.

Como pode ser verificado na resposta voltamétrica do eletrodo CuBTC/EPt em diferentes soluções tamponadas de pH 6 a 8 (**Figura 24**), o comportamento redox da glutathiona é dependente do pH. No intervalo de pH entre 6,0 a 7,6 observa-se que a resposta eletroanalítica melhora à medida que decresce o pH. Para valores de pH 8,0, a oxidação da GSH é mascarada e, portanto, dados confiáveis para os potenciais não podem ser obtidos. Observa-se também que no intervalo de pH de 6,0 a 7,2, com a diminuição do pH da solução, há um deslocamento do pico de oxidação da GSH para potenciais mais positivos.

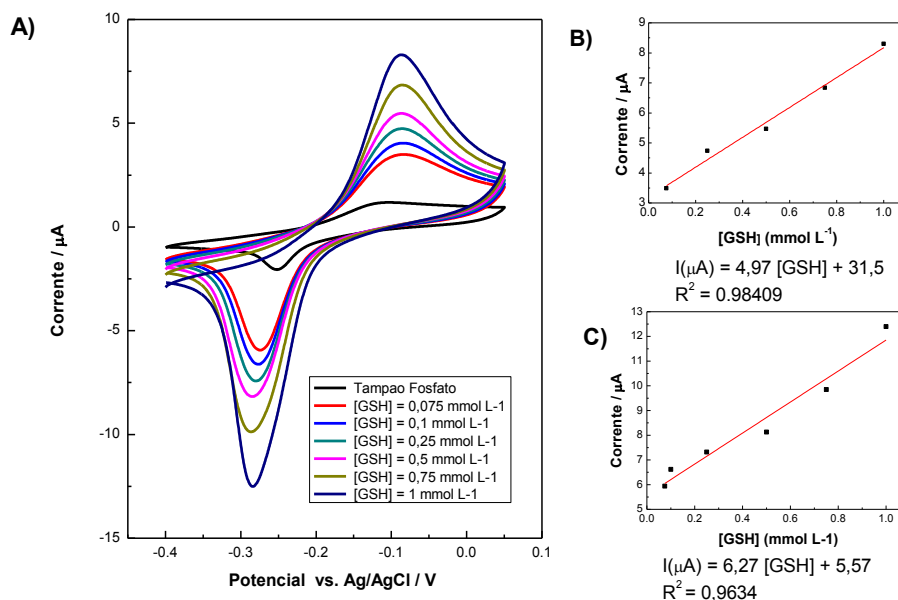
Os resultados mostraram que a corrente de pico depende, em grande parte, do valor do pH da solução tampão, atingindo o seu máximo em pH 6, com uma curva voltamétrica bem formada. Assim, uma vez que o grupo SH da glutathiona possui uma forte tendência oxidante e, conseqüentemente, facilidade de formação de ligações dissulfeto, pode-se sugerir que essas reações são predominantes neste pH. Embora esse pH seja adequado para fins analíticos, assegurando curvas voltamétricas bem formadas e com alta intensidade de corrente, neste trabalho, foi escolhido o pH de 7,2 para as análises eletroquímicas, por ser o mais próximo do pH natural das amostras reais, soro sanguíneo (pH 7,35 a 7,45), em que o sensor será aplicado.



Estudos anteriores também demonstraram que o comportamento eletroquímico da GSH era dependente das características do eletrodo, da solução (tipo de solução e pH) e do processo oxidação da espécie eletroativa (MARZAL, 2005; KARIMI-MALEH *et al.*, 2012; KEYVANFARD *et al.*, 2013; SOLTANI *et al.*, 2014).

### 5.1.9 Curva Analítica para determinação da Glutathiona pelo EQM CuBTC/EPt

Após a otimização do eletrodo de platina quimicamente modificado com CuBTC, procedeu-se à avaliação de sua performance na determinação da glutathiona. Para isto, curvas analíticas (**Figura 25**) foram construídas através da análise de soluções com diferentes concentrações de GSH (pH 7,2). Mantendo uma velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  e efetuando um varrimento numa faixa de potencial de -0,4 a +0,1 V vs. Ag/AgCl obtiveram-se potenciais de pico anódico e catódico na ordem de  $E_{pa} = -0,08 \text{ V}$  e  $E_{pc} = -0,27 \text{ V}$ .



**Figura 25.** **A)** Influência da concentração de glutathiona sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EPt,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , pH 7,2,  $E_a = -0,4$  a  $0,1 \text{ V}$ , registrados no 3º ciclo. **B)** Curva analítica para o pico anódico. **C)** Curva analítica para o pico catódico.

O eletrodo CuBTC/EPt desenvolvido, nas condições otimizadas, mostrou um intervalo de resposta linear entre 0,075 e 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH, com um coeficiente de correlação de 0,98409 para n = 6, ajustado pela equação:

$$I_p (\mu\text{A}) = 4,97 [\text{GSH}] (\text{mmol L}^{-1}) + 31,5$$

Onde  $I_p$  é a intensidade de corrente de pico anódica em  $\mu\text{A}$  e  $[\text{GSH}]$  é a concentração da GSH em mmol L<sup>-1</sup>. O limite de detecção do eletrodo foi de 0,01 mmol L<sup>-1</sup>. Os resultados mostraram, portanto, que o pico de corrente catalítica de oxidação responde linearmente à concentração de GSH (**Figura 25B**).

Assim como também a corrente de pico catódica demonstrada na **Figura 25C**, apresentou um coeficiente de correlação de 0,9634 para n = 6, ajustado pela equação:

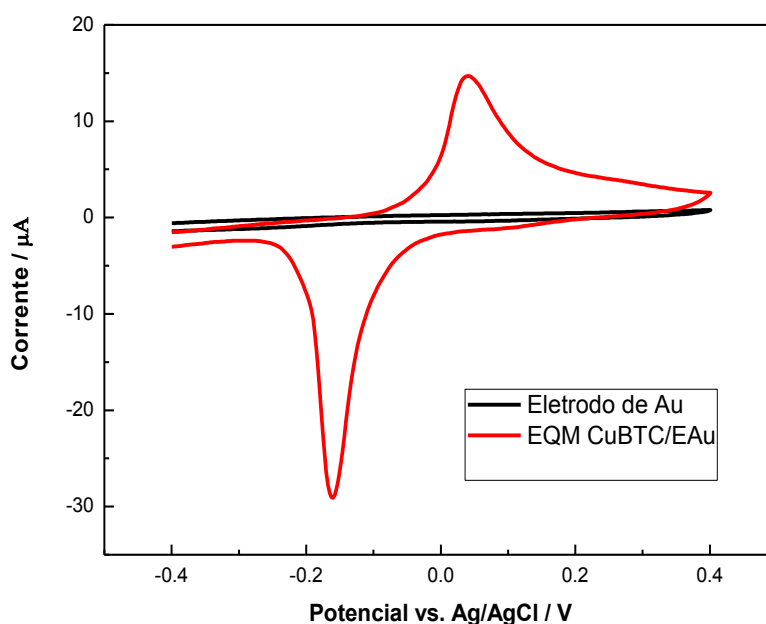
$$I_p (\mu\text{A}) = 6,27 [\text{GSH}] (\text{mmol L}^{-1}) + 5,57$$

Entretanto, devido a falta de repetibilidade das medidas, o uso do eletrodo base de platina ficou comprometido e, por esse motivo, outros eletrodos foram testados para tentar melhorar a sensibilidade do método e conseguir menores limites de detecção. Dentre os eletrodos testados, o que apresentou melhor resposta após a modificação com a MOF CuBTC foi o eletrodo de ouro e, portanto, foi escolhido para os estudos seguintes de detecção da glutatona.

## 5.2 Estudos com Eletrodo Quimicamente Modificado CuBTC/EAu

### 5.2.1 Propriedades Eletroquímicas do EQM CuBTC/EAu

As mesmas condições otimizadas para o eletrodo CuBTC/Pt foram também testadas para um eletrodo de disco de ouro, com 1,7 mm de superfície de contato, modificado com a rede metal-orgânica CuBTC pelo mesmo procedimento indicado anteriormente. Assim, voltamogramas cíclicos foram registrados para o eletrodo de ouro sem modificar e para o eletrodo de ouro modificado – CuBTC/EAu, em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão fosfato, pH 7,2, com velocidade de varredura  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , faixa de potencial  $-0,4$  a  $+0,4 \text{ V}$  vs Ag/AgCl, registrados no 3º ciclo (**Figura 26**).



**Figura 26.** Voltamogramas do eletrodo de Au (—) e do Eletrodo quimicamente modificado CuBTC/EAu (—), em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão fosfato pH 7,2,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4$  a  $+0,4 \text{ V}$ , registrados no 3º ciclo.

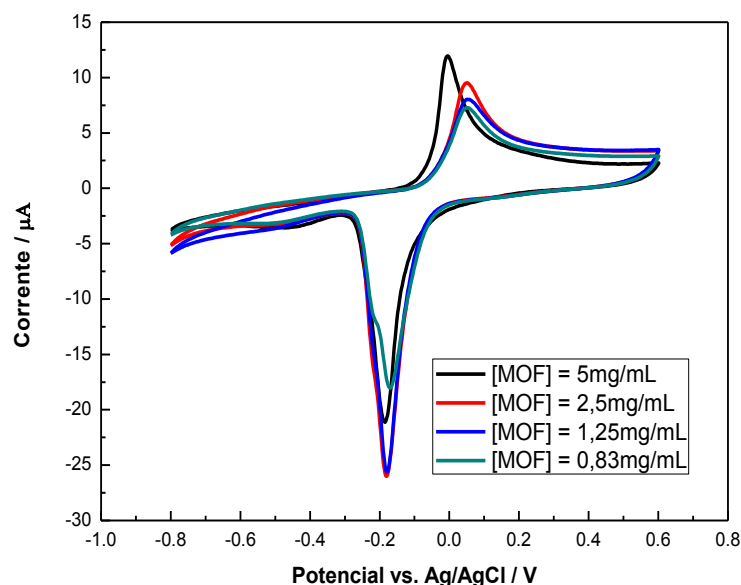
Como observado na **Figura 26**, o eletrodo de ouro utilizado isoladamente em solução de tampão fosfato não apresentou nenhuma atividade eletroquímica na faixa de potencial estudada. Por outro lado, no eletrodo quimicamente modificado CuBTC/EAu, observa-se picos de oxidação e redução bem definidos: um pico

anódico, correspondente à oxidação do cobre metálico ( $E_{pa} = + 0,04 \text{ V}$ ) e um pico catódico, o qual está relacionado à redução ( $E_{pc} = - 0,14 \text{ V}$ ) do íon cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) à cobre metálico, com potencial médio ( $E_m$ ) de  $- 0,05 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ . Onde  $E_m = (E_{pa} + E_{pc})/2$ , sendo que  $E_{pa}$  e  $E_{pc}$  são os potenciais de pico anódico e catódico, respectivamente.

Tal atividade redox deve-se a rede metal-orgânica CuBTC devidamente imobilizada na superfície do eletrodo de disco de ouro, enfatizando mais uma vez o potencial deste material para aplicações tecnológicas em dispositivos sensores utilizando filmes finos.

### 5.2.2 Avaliação da Influência da Quantidade de MOF CuBTC depositada no eletrodo CuBTC/Au

Com o objetivo de otimizar a performance do eletrodo, a quantidade de MOF depositada na sua superfície foi avaliada, e os resultados obtidos estão representados na **Figura 27**.

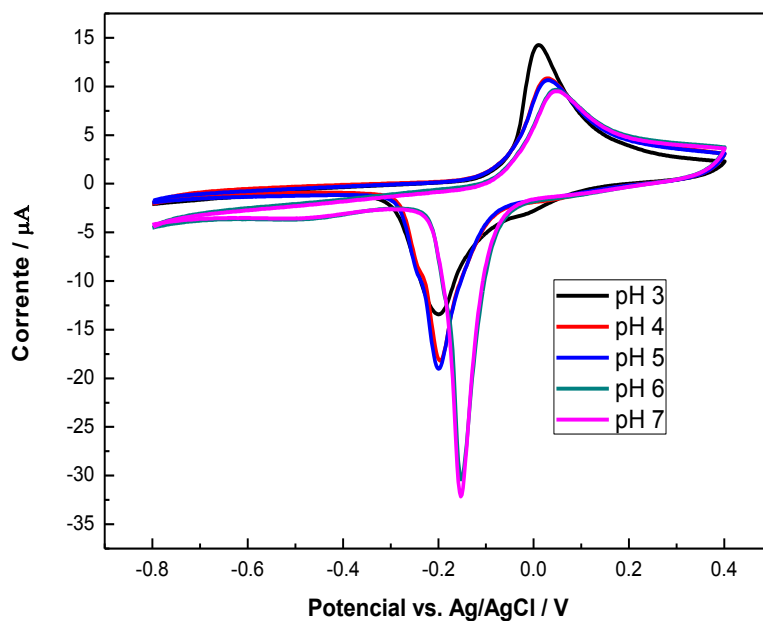


**Figura 27.** Resposta do eletrodo para diferentes quantidades de MOF CuBTC utilizadas em sua preparação, em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão, pH 7,2, velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , 3º ciclo.

Pode-se observar que há um aumento da corrente de pico anódica quando maiores quantidades da MOF CuBTC é acrescentada à solução copolimérica. Contudo para uma concentração de 5 mg/mL há deslocamento dos picos de oxidação e redução para valores de potenciais mais negativos. Apesar disto, a concentração de 2,5 mg/mL foi escolhida para a preparação do eletrodo CuBTC/EAu, pois o excesso de cobre pode mascarar o sinal da analito. Além disso, a partir dessa concentração a atividade do eletrodo fica mais estável, fixando seus potenciais de pico anódico e catódico.

### 5.2.3 Influência do pH da solução tampão no comportamento Eletroquímico do EQM CuBTC/EAu

O efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do EQM CuBTC/EAu foi analisado através de medidas voltamétricas realizadas em soluções de tampão fosfato com diferentes valores de pH, variando de 3,0 a 7,0 (**Figura 28**).



**Figura 28.** Comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EAu em solução tampão fosfato em diferentes valores de pH,  $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,8 \text{ a } +0,4 \text{ V}$ , registrado no 3º ciclo.

Como pode ser visto, o comportamento eletroquímico do eletrodo modificado é dependente do valor de pH da solução, obtendo-se melhor resposta eletroquímica em valores baixos de pH (ácido). Esse resultado corrobora com o estudo de Babu *et al.* (2010) relacionado à avaliação da atividade eletrocatalítica da MOF FeBTC, onde foi observado que a atividade redox do ferro (Fe(III/II)) é catalisada com a adição de ácido (HCl) à solução eletrolítica.

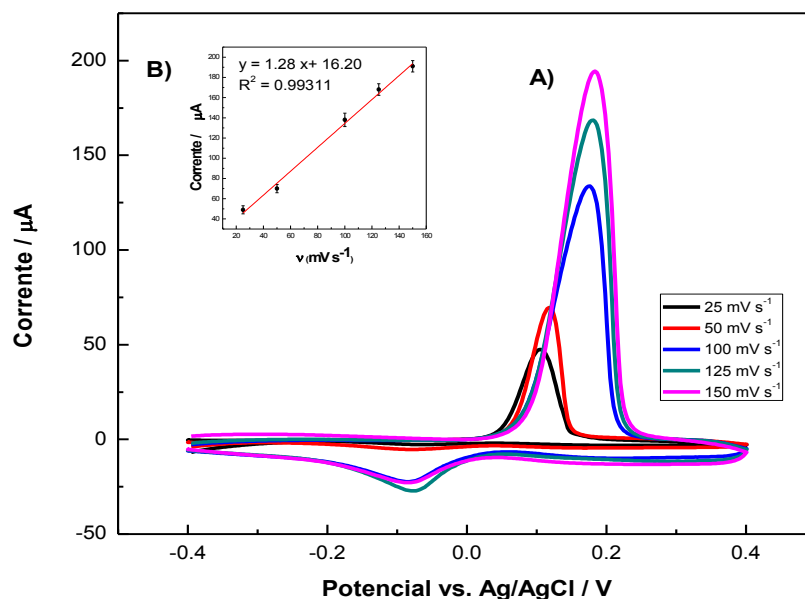
Isso ocorre muito provavelmente devido à desprotonação dos compostos tiólicos em meios mais ácidos, o que facilita a sua acumulação na superfície do eletrodo para ser oxidada pelo cobre (ZARGAR *et al.*, 2015; VASCONCELOS *et al.*, 2017).

Além disso, no intervalo de pH de 3,0 a 5,0, com a diminuição do pH da solução, há um deslocamento dos potenciais anódico e catódico, referentes à oxidação e redução do cobre da MOF, para potenciais mais negativos. Ao mesmo tempo em que se observa uma diminuição significativa da intensidade da corrente de pico para o processo de redução ( $I_{pc}$ ).

Segundo Chughtai *et al.* (2015), em meios alcalinos ocorre o enfraquecimento e a consequente quebra da rede metalorgânica, levando à formação de nanopartículas de CuO. Por esse motivo valores de pH acima de 7,0 não foram avaliados. Portanto, o estudo da influência do pH na resposta do eletrodo modificado CuBTC/EAu mostra uma corrente de pico anódica máxima e uma curva voltamétrica bem formada em valor de pH 3,0, o qual foi utilizado para os demais experimentos.

#### 5.2.4 Influência da Velocidade de varredura no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EAu

O efeito da velocidade de varredura foi estudado em solução tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 3. A **Figura 29** representa os voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo modificado para a janela de potenciais entre -0,4 a +0,4 V, para diferentes velocidades de varredura ( $25 \text{ a } 150 \text{ mV s}^{-1}$ ). Os diagramas obtidos correspondem ao registro do primeiro ciclo, após 20 segundos de contato entre o eletrodo e a solução.



**Figura 29. (A)** Influência da velocidade de varredura sobre o comportamento eletroquímico do EQM CuBTC/EAu em solução tampão fosfato pH=3,0.  $E_a = -0,4$  a  $+0,4$  V. Voltamogramas registrados no 1º ciclo após 20 seg. de contato. **(B)** Intensidade da corrente de pico anódico vs. raiz quadrada da velocidade de varredura.

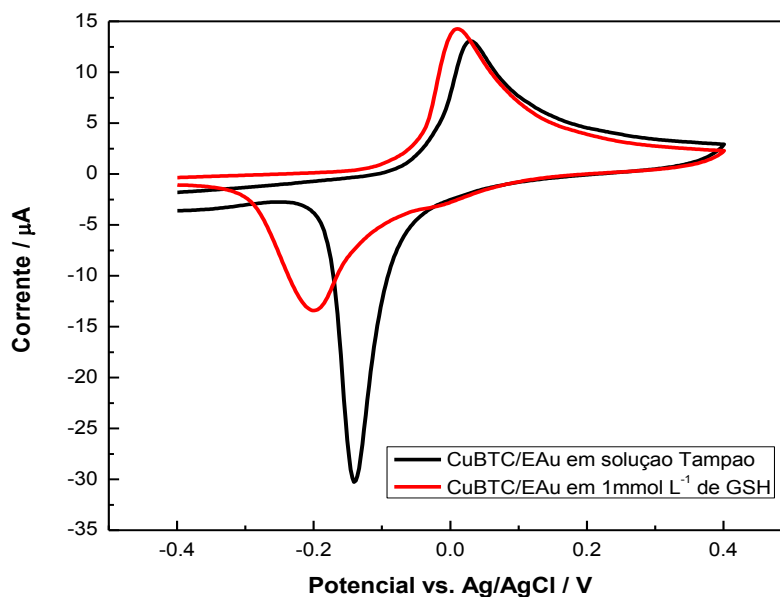
Os voltamogramas cíclicos apresentados na **Figura 29 (A)** mostram a variação da corrente de pico *versus* o potencial, em função da velocidade de varredura. Observa-se que com o aumento da velocidade de varredura há um aumento na separação de pico ( $\Delta E_p$ ). Como comentado anteriormente, isso indica que tanto o processo de transferência de carga heterogênea como o de transporte de massa determinam a corrente e a reação classifica-se como quase-reversível (SILVA, 1998). Entretanto, nota-se também que a intensidade das correntes de pico catódicas não aumentam muito com o aumento da velocidade devido a interação com a superfície.

Assim, a velocidade de varredura escolhida para os próximos experimentos, envolvendo estudo do comportamento do eletrodo CuBTC/EAu, foi de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

### 5.2.5 Resposta Eletrocatalítica do EQM CuBTC/EAu para a Glutaciona

Após a avaliação do comportamento e das propriedades eletroquímicas do eletrodo de ouro modificado com a rede metal-orgânica CuBTC, realizou-se a

análise da resposta do eletrodo na presença da glutatona. Os voltamogramas representados na **Figura 30** mostram a resposta eletrocatalítica do EQM CuBTC/EAu na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH em comparação a sua resposta em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão fosfato, com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 3º ciclo.



**Figura 30.** Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/EAu na ausência (—) e presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH (—), em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 3º ciclo.

No voltamograma cíclico do CuBTC/EAu em  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de GSH, verifica-se um discreto aumento da corrente anódica, a qual atinge o seu máximo no potencial em  $+0,02 \text{ V}$ , e uma diminuição da corrente catódica, a qual aparece no potencial ligeiramente deslocado para  $-0,19 \text{ V vs. Ag/AgCl}$  como mostram os dados da **Tabela 3**.



**Tabela 3.** Comparações das propriedades eletroquímicas do Eletrodo CuBTC/EAu em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução tampão, na ausência e na presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH.

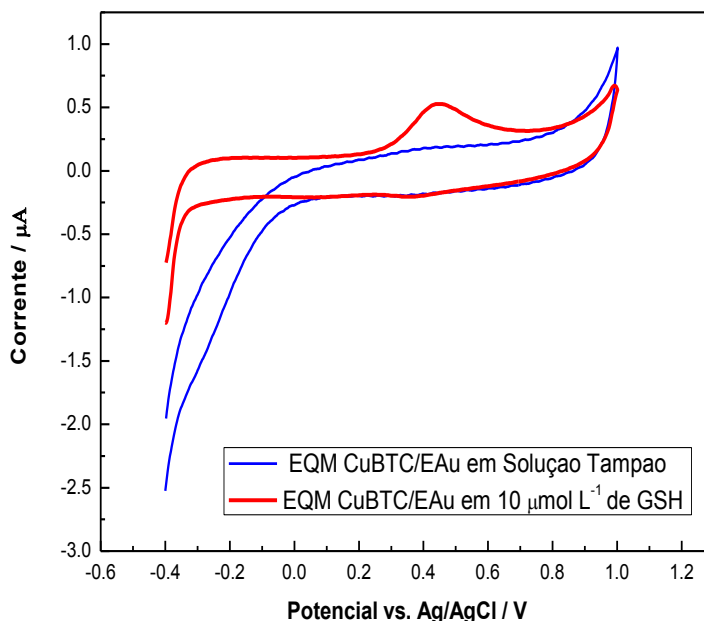
EQM CuBTC/EAu	Ausência de GSH	Presença de 1 mmol L <sup>-1</sup> de GSH
Epa (V)	+0,04	+0,02
Epc (V)	-0,15	-0,19
$\Delta E = E_{pc} - E_{pa}$	-0,19	-0,21
Ipa ( $\mu A$ )	10,52	11,65
Ipc ( $\mu A$ )	-29,66	-16,84

Como pode ser observado na **Tabela 3**, as correntes de pico anódicas (Ipa's) apresentam valores bastante próximos, sendo apenas um pouco mais intensa para a solução contendo uma concentração de 1mmol L<sup>-1</sup> de GSH, com uma variação de densidade de corrente de 1,13  $\mu A$ . Observa-se também que a janela de potencial entre Epc e Epa ( $\Delta E_p$ ) não varia muito entre as soluções.

Segundo Li e Lin (2006), em termos analíticos, a modificação do eletrodo deve realizar-se de tal forma que o sensor obtenha sensibilidade, seletividade, estabilidade, reprodutibilidade e aplicabilidade superiores àquelas de um eletrodo base sem prévia modificação, para que seu emprego seja justificado. Assim, embora a rede metal-orgânica CuBTC tenha sido capaz de mudar as propriedades eletroquímicas do eletrodo de ouro, as condições operacionais aqui utilizadas não foram suficientes para causar uma eletro-oxidação catalítica da glutatona de forma significativamente sensível.

### 5.2.6 Tempo de contato entre o Eletrodo CuBTC/EAu e a Glutaciona

Com o objetivo de melhorar o desempenho do eletrodo CuBTC/EAu para a determinação da Glutaciona, o mesmo foi exposto a um maior tempo de contato com a solução antes da realização das medições eletroquímicas. A **Figura 31** apresenta os voltamogramas cíclicos para o eletrodo CuBTC/EAu em solução tampão e em solução contendo 10  $\mu mol L^{-1}$  de GSH após 15 minutos de contato.



**Figura 31.** Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/EAu na ausência (—) e presença de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH (—), em  $0,1 \text{mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 3,0), com velocidade de varredura de  $50 \text{mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo. Tempo de contato = 15 min.

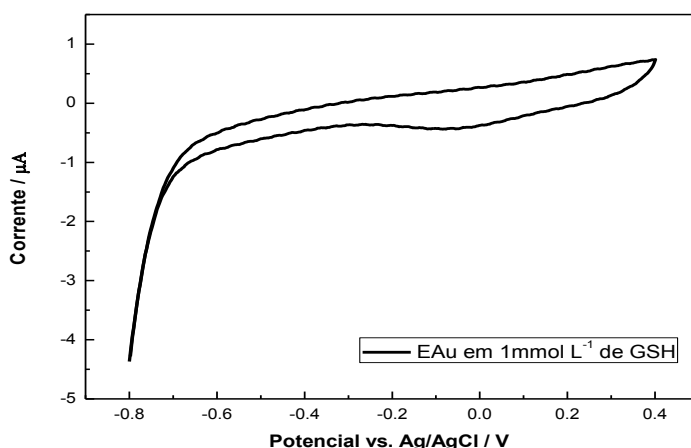
Após os 15 minutos de contato, no eletrodo quimicamente modificado CuBTC/EAu em solução tampão, não se observou nenhuma atividade eletroquímica, possivelmente, devido a lixiviação da MOF para a solução em virtude da acidez do meio reacional e da hidrossolubilidade do copolímero utilizado como imobilizador. Entretanto, para a solução contendo glutathione é possível observar a presença de um pico de oxidação no potencial de  $E_{p_a} = +0,41\text{V}$ , o qual é devido a interação do metal do eletrodo modificado com o grupo  $-\text{SH}$  da glutathione, o qual possui uma forte tendência oxidante e pode formar a ligação dissulfeto (GS-SG) facilmente.

O resultado demonstra claramente que o filme de CuBTC tem uma forte característica electrocatalítica para a oxidação de GSH. O aumento na corrente de oxidação (com pico bem definido) e a redução do potencial podem ser atribuídos às suas características de porosidade e elevada área de superfície, além da sua capacidade electrocatalítica de aumentar a taxa de transferência eletrônica entre o eletrodo e a solução. Este sinal, portanto, pode ser utilizado para detectar a

presença e a quantidade de glutatona em uma amostra, levando em consideração, respectivamente, o potencial de pico anódico e a intensidade da corrente.

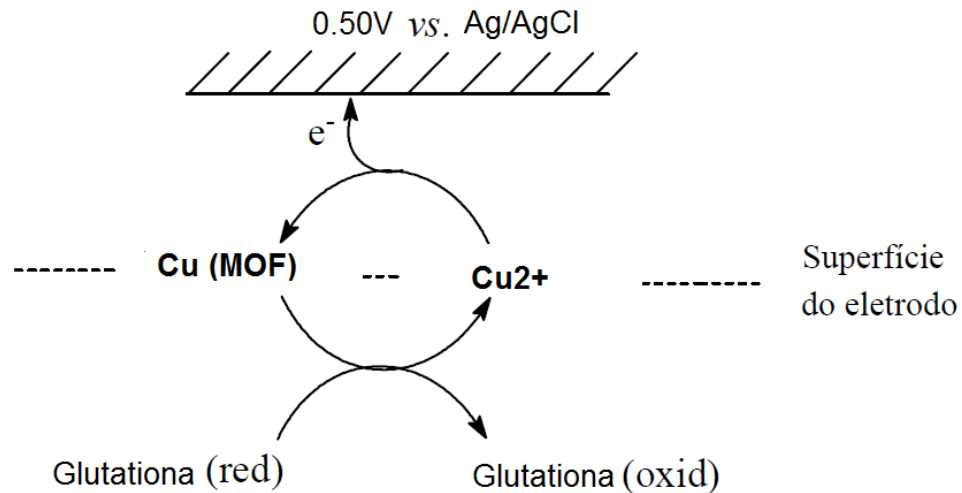
Como relatado na literatura (MOORE *et al.*, 2004; MARZAL, 2005), a GSH apresenta potenciais de oxidação altos, geralmente acima de +0,9 V em eletrodos sólidos. Como observado no voltamograma cíclico da **Figura 31**, o eletrodo CuBTC/EAu foi capaz de eletro-oxidar a glutatona em um potencial de oxidação de +0,41V. Segundo Marzal (2005), a determinação em baixos potenciais de GSH apresenta-se como uma grande vantagem, sobretudo na análise de amostras complexas, uma vez que interferentes que apresentam altos potenciais de oxidação podem ser eliminados.

De acordo com os resultados obtidos, pode-se sugerir que a rede metal orgânica CuBTC tem a possibilidade de atuar como mediador de transferência eletrônica na oxidação eletrocatalítica de tióis como a glutatona. A natureza catalítica das ondas anódicas é evidenciada pelo aumento da intensidade da corrente de pico anódico na presença de quantidades crescentes de GSH para o qual, na ausência da MOF imobilizada no eletrodo, não se observou qualquer oxidação direta (**Figura 32**). Este aumento de corrente resulta da oxidação do cobre da MOF, o qual é regenerado em meio homogêneo através da oxidação da GSH pelo  $\text{Cu}^{2+}$ .



**Figura 32.** Voltamograma cíclico obtido para o eletrodo de ouro na presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH, em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH3), com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>, registrados no 1º ciclo. Tempo de contato = 15 min.

Assim, por eletrólise anódica da GSH, obtêm-se a forma dissulfeto de glutatona (GSSG), resultante da perda de  $H^+$  e acoplamento SS, como representado na **Figura 33** e pelas **Equações (7), (8) e (9)**:



**Figura 33.** Mecanismo proposto para o funcionamento do eletrodo CuBTC/Au para a determinação de Glutatona.

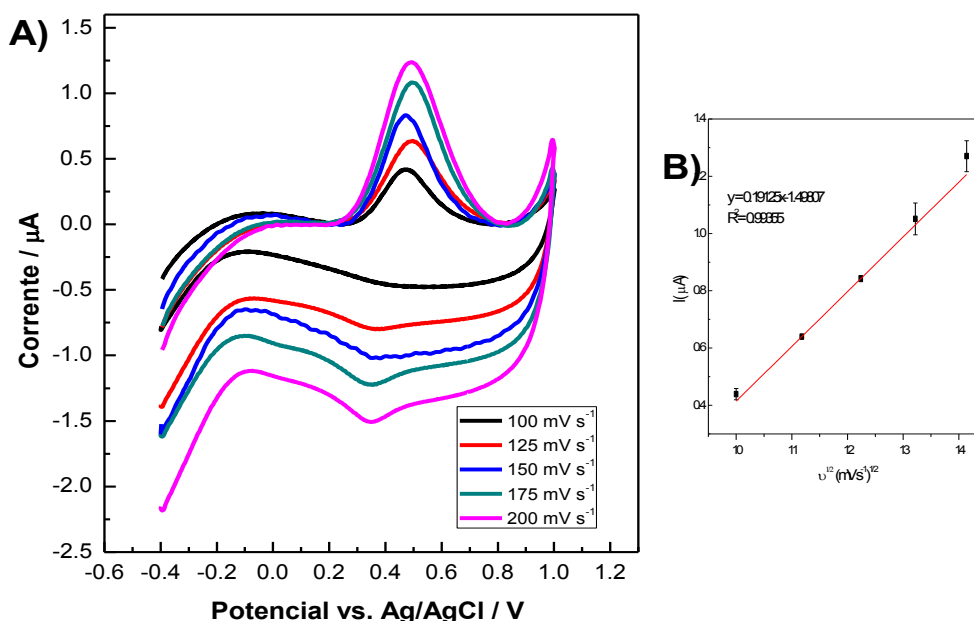


↓



5.2.7 Influência da Velocidade de varredura no comportamento Eletroquímico do CuBTC/EAu na presença da Glutatona

Para melhor compreensão do mecanismo envolvido no processo de oxidação da GSH na superfície do eletrodo CuBTC/EAu, o efeito da velocidade de varredura foi estudado também em solução contendo  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH, em pH 3,0. A **Figura 34** representa os voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo modificado, na janela de potenciais entre -0,4 a +1,0 V, para diferentes velocidades de varredura ( $100$  a  $200 \text{ mV s}^{-1}$ ). Os diagramas obtidos correspondem ao registro do primeiro ciclo, após 15 minutos de contato entre o eletrodo e a solução.



**Figura 34.** (A) Voltamogramas cíclicos do EQM CuBTC/EAu em  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH (pH 3,0) em diferentes velocidades de varredura; (B) relação entre corrente de pico anódica ( $\mu\text{A}$ ) e raiz quadrada da velocidade de varredura ( $\text{mV s}^{-1}$ ). Tempo de Contato = 15 minutos

Os voltamogramas cíclicos apresentados na **Figura 34 (A)** mostram a variação da corrente de pico *versus* o potencial, em função da velocidade de varredura. Assim, para este eletrodo, nota-se o aumento das intensidades das correntes de pico anódica e catódica com o aumento da velocidade de varredura. Observa-se também, na **Figura 34 (B)**, a dependência da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando um processo controlado por difusão, em que a corrente de pico é dada pela equação de Randles-Sevcik (a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ):

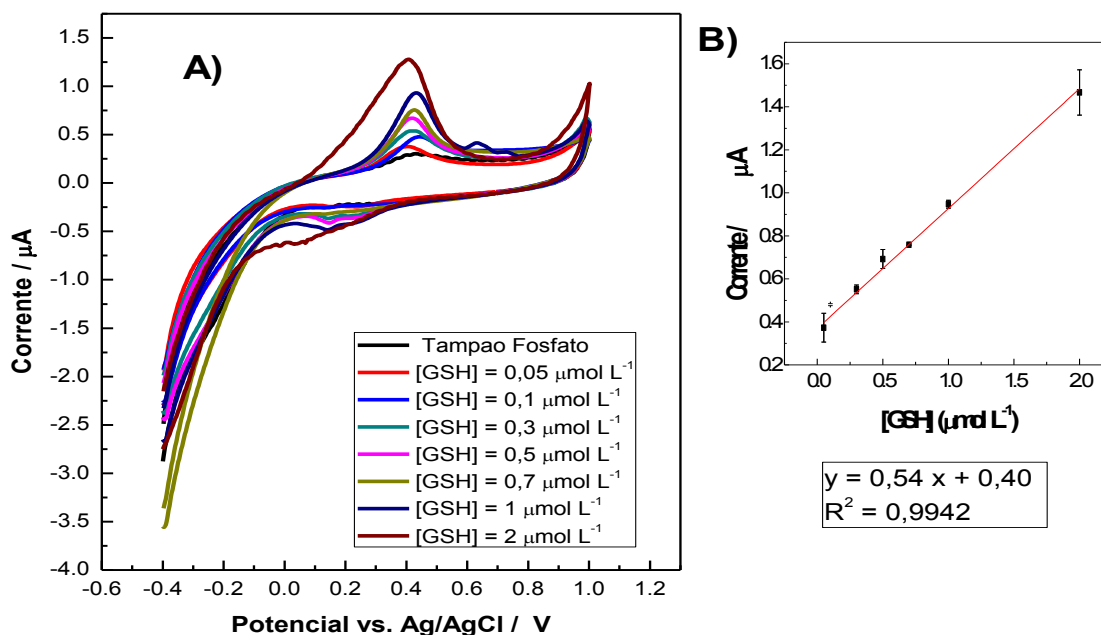
$$I_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D_0^{1/2} v^{1/2} C_0 \quad \text{(Equação 10)}$$

Onde ( $I_p$ ) é a corrente de pico em amperes;  $A$  é a área de eletrodo ( $\text{cm}^2$ );  $D_0$  é o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ );  $c_0$  é a concentração ( $\text{mol cm}^{-3}$ ) e  $v$  é a velocidade de varredura ( $\text{V s}^{-1}$ ).

Diferente comportamento foi observado no estudo de Areias *et al.* (2016a) envolvendo a detecção de glutathiona por voltametria cíclica usando eletrodo de carbono vítreo sem modificação na presença de íons  $\text{Cu}^{2+}$ . Os autores relatam a formação de um complexo Cobre(II) - GSH, o qual é adsorvido na superfície do eletrodo e sofre oxidação eletroquímica.

#### 5.2.8 Curva analítica para determinação da Glutathiona pelo EQM CuBTC/EAu

Após otimização das condições operacionais do sensor, uma curva analítica foi construída através da análise de diferentes soluções com concentrações progressivas de GSH em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 3,0). O método voltamétrico com base na oxidação da GSH em  $E_{pa}=+0,41 \text{ V}$ , foi aplicado em uma velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , numa faixa de potencial de  $-0,4$  a  $+1,0 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ , tempo de resposta de 15 minutos (**Figura 35**).



**Figura 35:** **A)** Voltamogramas do CuBTC/EAu em soluções com concentrações progressivas de Glutationa (GSH) em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de Solução Tampão Fosfato pH 3,0 após 15 min, de contato. **B)** Curva de calibração.

Nas condições aqui apresentadas, com o aumento da concentração de glutatona na solução há um aumento proporcional do valor de corrente. A glutatona é oxidada cataliticamente pelo CuBTC/EAu gerando um sinal elétrico, e uma equação de regressão linear,  $I_p (\mu A) = 0,54 [GSH] (\mu mol L^{-1}) + 0,40$ , foi estabelecida de acordo com a mudança da intensidade da corrente e a concentração de glutatona na solução, com um coeficiente de correlação ( $r^2$ ) de 0,9942,  $n=7$  (**Figura 35B**). Onde  $I_p$  é a densidade de corrente de pico anódica em A e  $[GSH]$  é a concentração da GSH em  $\mu mol L^{-1}$ .

O sensor desenvolvido apresenta, portanto, uma boa atividade eletrocatalítica para a oxidação da glutatona, com uma faixa linear de resposta de 0,05 - 2  $\mu mol L^{-1}$  e um limite de detecção (LOD) de 0,03  $\mu mol L^{-1}$ , definido como  $3S_b/m$  (onde  $S_b$  é o desvio padrão do sinal do branco ( $n=3$ ) e  $m$  é o slope da curva de calibração).

5.2.9 Comparações das características eletroquímicas entre os eletrodos modificados CuBTC/EPt e CuBTC/EAu

A **Tabela 4** demonstra de forma comparativa as características eletroquímicas de ambos os eletrodos modificados CuBTC/EPt e CuBTC/EAu.

**Tabela 4.** Comparações das propriedades eletroquímicas dos Eletrodos CuBTC/EPt e CuBTC/EAu na presença de Glutaciona.

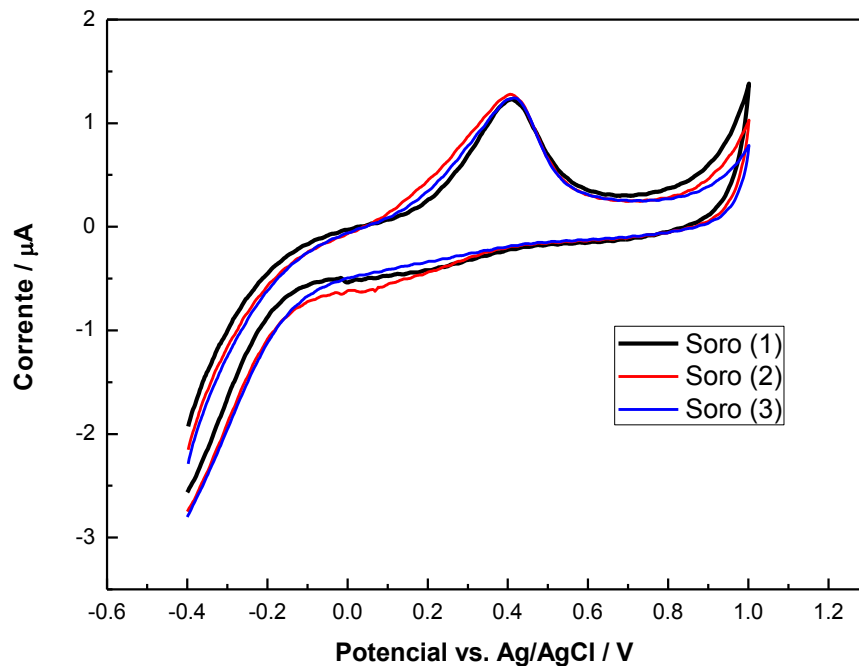
<b>Características</b>	<b>EQM CuBTC/EPt</b>	<b>EQM CuBTC/EAu</b>
<b>Imobilizador</b>	Acrilamida/Acrilato de sódio	Acrilamida/Acrilato de sódio
<b>Quantidade de MOF</b>	5 mg/mL	2,5 mg/mL
<b>Superfície do eletrodo</b>	1,5 mm	1,6 mm
<b>Solução eletrolítica</b>	Fosfato de sódio	Fosfato de sódio
<b>pH</b>	7,2	3
<b>Tempo de contato</b>	0 seg	15 min
<b>Faixa de potencial</b>	-0,4 a 0,1 V	-0,4 a 1 V
<b>Velocidade de varredura</b>	50 mV s <sup>-1</sup>	50 mV s <sup>-1</sup>
<b>Epa (V)</b>	-0,11V	+0,41V
<b>Faixa linear de trabalho</b>	0,1 a 1 mmol L <sup>-1</sup>	0,05 a 2 μmol L <sup>-1</sup>
<b>Coefficiente de correlação</b>	0,9841	0,9942
<b>Limite de detecção</b>	0,001 mmol L <sup>-1</sup>	0,03 μmol L <sup>-1</sup>

Como mostra a **Tabela 4**, no que se diz respeito à quantidade de material (MOF), faixa linear de trabalho, melhor correlação linear e limite de detecção inferior, o eletrodo modificado CuBTC/EAu apresentou melhor performance e por isso, foi escolhido para aplicação como sensor para determinação de glutaciona em amostras biológicas.



### 5.2.10 Medidas analíticas em amostras reais

A aplicação do novo sensor foi avaliada para o processo de eletro-oxidação e detecção da glutatona em amostras biológicas (**Figura 36**).



**Figura 36:** Voltamogramas do CuBTC/EAu em soro sanguíneo diluído em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de Solução Tampão Fosfato pH 3,0 após 15 min, de contato, realizado em triplicata.

A concentração de Glutaciona na amostra de soro analisada pelo método de voltametria cíclica, usando o Sensor eletroquímico CuBTC/EAu, foi de aproximadamente  $1,74 \pm 0,05 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , determinada pela equação estabelecida pela curva de calibração. Esse resultado corrobora com os dados da literatura (LEE et al., 2015; AREIAS et al., 2016 a) quanto aos valores de referência deste antioxidante em sangue humano, que variam entre  $1 - 12 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ .

## CAPÍTULO II - NANOCOMPÓSITO AU@CUBTC: SÍNTESE, PROPRIEDADES E APLICAÇÃO COMO SENSOR ELETROQUÍMICO PARA DETECÇÃO DE GLUTATIONA

---

### 1. INTRODUÇÃO

Os estudos das redes metal-orgânicas tem se expandido muito rapidamente motivado pelas suas propriedades únicas como alta superfície de área, adaptabilidade estrutural, flexibilidade e capacidade de modificação. Entretanto, devido à sua baixa condutividade e natureza microporosa, as aplicações eletroquímicas das MOFs tem sido pouco exploradas (HOSSEINI *et al.*, 2013a; SRIMUK *et al.* 2015; FARHA *et al.*, 2010).

Neste sentido, a obtenção de materiais compósitos contendo combinações entre estruturas metal-orgânicas e nanopartículas inorgânicas ou biopolímeros, vem atraindo a atenção de grupos de pesquisa em todo o mundo, sobretudo devido à reunião de características dos componentes individuais e à possibilidade do surgimento de novas propriedades, em virtude do sinergismo entre os componentes.

Em seu estudo, Srimuk *et al.* (2015) sintetizaram um novo material compósito mesoporoso, constituído de óxido de grafeno reduzido e a MOF CuBTC, obtendo-se um composto com boa condutividade, o qual foi utilizado como material de eletrodo supercondutor. Os autores concluíram que a adição de óxido de grafite reduzido à MOF CuBTC pode superar as características de baixa eletrocondutividade da MOF, o que possibilita a sua utilização em aplicações eletroquímicas. Também, Hosseini *et al.* em seus trabalhos (2013a,b), utilizaram nanopartículas de ouro incorporadas na matriz estrutural da MOF, com o objetivo de aumentar a performance eletroquímica pelo aumento da taxa de transferência de elétrons e diminuição do potencial em ambos os processos de oxidação e redução.

Assim, combinando as características de porosidade e alta área superficial da MOF com as propriedades eletrocatalíticas das nanopartículas de ouro, acredita-se ser possível obter um material nanocompósito, do tipo Metal@MOF, com características estruturais e morfológicas favoráveis para aplicações eletroquímicas.

## 1.1 Síntese da MOF CuBTC

Nos últimos anos, as redes metal-orgânicas têm se destacado como uma classe promissora de compostos híbridos orgânico-inorgânicos que podem ser usados como suporte para o desenvolvimento de materiais multifuncionais. Suas propriedades únicas, como alta área de superfície e porosidade, tem despertado o interesse para aplicações em diversos setores industriais (KITAGAWA *et al.*, 2004; ZHOU, 2015),

Neste sentido, o desenvolvimento de rotas econômicas e seguras para a obtenção de redes metal-orgânicas tem se tornado um importante desafio para aplicações práticas. Observando os trabalhos disponíveis na literatura nota-se que a síntese de MOFs é, frequentemente, realizada por métodos solvotérmicos. Nestes casos, a reação química entre o ligante orgânico e o sal metálico se processa em ambiente fechado a uma dada temperatura, tipicamente superior ao ponto de ebulição do solvente utilizado sob pressão auto-gerada.

Este método viabiliza a obtenção de cristais estáveis para sua determinação estrutural, porém, requer um tempo reacional relativamente longo (de horas a semanas) e muitas vezes oferece condições instáveis para precursores termicamente sensíveis. Desse modo, pesquisadores vêm propondo metodologias alternativas, com condições mais brandas, para a obtenção das MOFs. Nos últimos anos, uma variedade de outros métodos de síntese tem se destacado, à exemplo das técnicas assistidas por radiação micro-ondas, eletroquímica, mecanoquímica, sonoquímica, entre outras (LEE *et al.*, 2013; DEY *et al.*, 2014).

A síntese de MOFs por via eletroquímica baseia-se no fornecimento contínuo de íons metálicos através da dissolução anódica como fonte de íons metálicos em substituição aos sais de metais. Esses íons reagem então com as moléculas do ligante dissolvidos em solução condutora (solução salina ou com líquido iônico). Uma vantagem interessante dessa metodologia é a possibilidade de executar um processo contínuo para se obter maior quantidade de produto em comparação com reações descontínuas normais (STOCK & BISWAS, 2012).

Além das rotas de síntese, muitos pesquisadores vêm explorando também novas estratégias como combinar esses polímeros de coordenação com uma variedade de partículas funcionais em tamanhos nano, como quantum dots (QDs), nanoesferas de sílica e nanopartículas metálicas. A finalidade, por sua vez, está centrada na obtenção de novos compósitos com propriedades avançadas, para serem aplicados no âmbito da inovação tecnológica (MEILIKHOV *et al.*, 2010; RICCO *et al.*, 2013; LI & HUO, 2015; FALCARO *et al.*, 2015).

Compostos nanoestruturados tais como nano-folhas, nanopartículas, nanotubos de carbono e nanocompositos estão sendo usados para inúmeras aplicações bioanalíticas na forma de sensores eletroquímicos (KIM *et al.*, 2012; RAOOF *et al.*, 2012; RAOOF *et al.*, 2015 ).

## 1.2 Nanopartículas

O termo *nanotecnologia* se refere ao desenvolvimento e aproveitamento de materiais em escala nanométrica com propriedades diferenciadas ou potencializadas (ISLAM; MIYAZAKI, 2009). A nanotecnologia tem assumido um papel importante no desenvolvimento de sensores (VASHIST *et al.*, 2012). permitindo promover a reação eletroquímica e aumentar o sinal do reconhecimento (VASHIST *et al.*, 2012).

Existem muitos tipos de nanomateriais utilizados para a modificação de eletrodos para detecção eletroquímica incluindo: nanopartículas de carbono, nanopartículas de óxido metálico e nanopartículas bimetálicas (ARAGAY *et al.*, 2011). AS nanopartículas metálicas são conhecidas por exibir propriedades físicas e químicas peculiares em virtude do seu tamanho quantum, que resulta em uma estrutura eletrônica específica (ZHAO *et al.*, 2013).

Dependendo do material que são constituídas, podem possuir uma diversidade de propriedades, tal como alta densidade eletrônica e forte absorção óptica. Neste sentido, vem recebendo atenção crescente para aplicações em eletroquímica, devido ao seu bom desempenho para aumentar a taxa de transferência de elétrons e reduzir o potencial nos processos de oxidação e redução (ZEN *et al.*, 2003) .

As nanopartículas de ouro (NpAu), de modo especial, tem apresentado um grande potencial para este tipo de aplicação, devido a suas inúmeras propriedades, como grande área superficial específica, biocompatibilidade, baixa toxicidade, alta condutividade, facilidade de fabricação, entre outras (BATTEN, *et al.*, 2012; MARTIN & HARANCZYK, 2013).

Vários métodos foram desenvolvidos e empregados para a síntese das NPs incluindo redução química, fotoativação UV, laser pulsado e métodos sonoquímicos. Entre estas opções, a redução química de sais metálicos é um dos métodos mais populares devido a várias vantagens em relação a métodos físicos (ARAGAY *et al.*, 2011).

As propriedades químicas e físicas das NPs estão diretamente relacionadas com fatores como o tamanho, composição e forma. Porém, as NPs podem sofrer agregação, resultando em um aumento de tamanho de partícula, o que afeta suas propriedades catalíticas. Ou seja, partículas maiores geralmente têm menos atividade em comparação com nanopartículas bem dispersas ou menores. Portanto, controlar o tamanho e a forma das NPs é muito importante nas propriedades eletrocatalíticas.

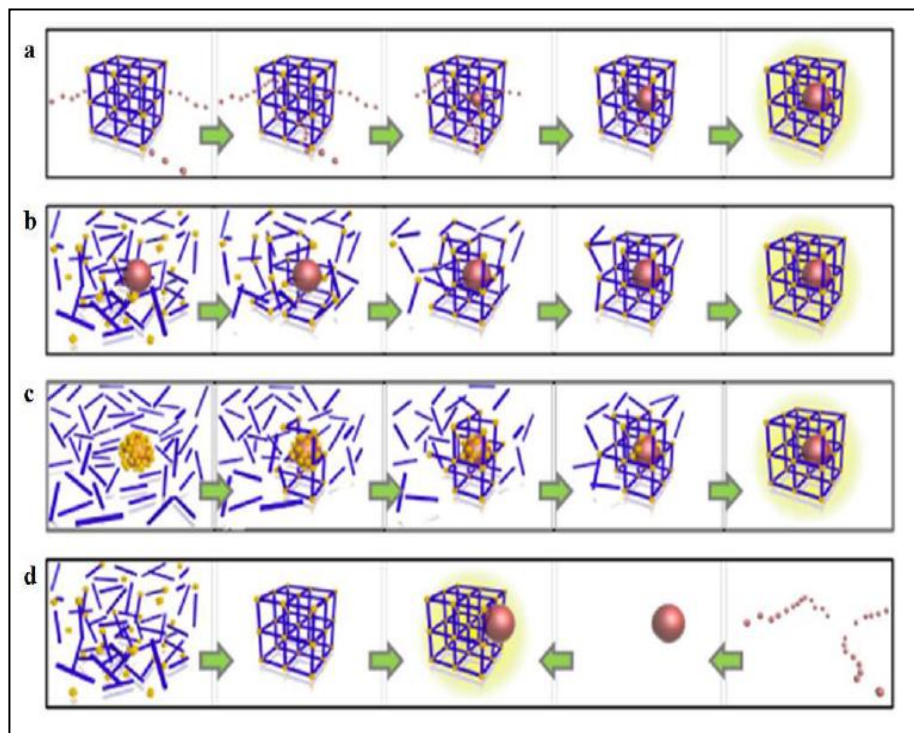
Um grande número de novos métodos para a preparação de sistemas catalíticos e/ou eletrocatalíticos de alto desempenho baseiam-se na imobilização de NPs metálicas na superfície de materiais de suporte sólidos. As principais vantagens do uso de suportes sólidos são a boa acessibilidade, morfologia e tamanhos de partículas controladas, alta dispersão, alto nível de carga e alta estabilidade (SCHLOGL E HAMID, 2004, ZHANG E ZHAO, 2009).

### **1.3 Nanopartículas@MOFs**

A encapsulação das nanopartículas no interior de MOFs atrai muita atenção por gerar nanocompósitos com funções híbridas, ou seja, com propriedades físicas e químicas das respectivas classes de nanopartículas e de MOFs agrupadas em um só material. Em geral, as MOFs apresentam-se como ótimos candidatos para templates, no qual sua natureza porosa pode fornecer sítios para a nucleação das

nanopartículas, além de minimizar a agregação e controlar a forma e tamanho das mesmas (HU *et al.*, 2014; GOLE *et al.*, 2015).

Mediante o grande interesse pelos nanocompósitos, somado a versatilidade de síntese dos seus componentes (nanopartículas e MOFs), diferentes estratégias de obtenção desses novos materiais vêm sendo desenvolvidas. Na **Figura 37**, pode-se visualizar as diferentes abordagens que podem ser utilizadas para a obtenção dos nanocompósitos. O primeiro caso consiste na infiltração dos precursores das nanopartículas na MOF já pré-formada (Figura 37.a). A segunda forma se dá pela automontagem da MOF, que cristaliza na presença das nanopartículas funcionais pré-formadas. Nesse caso então a MOF encapsula as nanopartículas (Figura 37.b). Partindo de partículas inorgânicas formada por um núcleo (core) e uma casca envolta (shell), no qual o core consiste das nanopartículas e o shell do nodo inorgânico da MOF, pode ocorrer que, em condições controladas, o shell reage com ligantes orgânicos precursores para crescer a MOF ao redor das nanopartículas (Figura 37.c). E por último, é possível preparar individualmente as MOFs e nanopartículas para subsequente mistura (Figura 37.d) (FALCARO *et al.*, 2015).



**Figura 37.** Esquema ilustrativo das diferentes formas de síntese dos compósitos nanopartículas@MOF. (Adaptado de FALCARO *et al.*, 2015).

Entre as nanopartículas metálicas utilizadas para a formação de nanocompósitos com potenciais aplicações, nota-se que as nanopartículas de ouro (AuNPs) são as mais utilizadas. Esse fato é consequência de suas propriedades importantes para diversas áreas, sobretudo propriedade ópticas e facilidade de funcionalização da superfície (SPERLING & PARAK, 2010; HUANG & EL-SAYED, 2010).

Essa nova classe de compósitos já vem apresentando uma variedade de funcionalidades em diferentes áreas, tais como catálise (LI *et al.*, 2012), sensores (SUGIKAW *et al.*, 2013; HOSSEINI, 2013a,b), estocagem de gás (LI *et al.*, 2014) e liberação controlada de fármaco (LOHE *et al.*, 2011).

Diante do que foi discutido acerca da produção de nanocompósitos, a síntese de materiais híbridos do tipo Nanopartícula@MOF, através do método eletroquímico, ainda não foi relatado na literatura. Considerando que este método é rápido e eficiente, e que leva a ótimos rendimentos, o presente estudo busca desenvolver um material compósito Au@CuBTC vislumbrando sua aplicação como modificadores de eletrodos para detecção de glutathione.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo central a síntese, caracterização e aplicação do material compósito Au@CuBTC como sensor eletroquímico para detecção de glutatona.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Utilizar o método eletroquímico na obtenção dos compósitos do tipo Au@CuBTC;
- Investigar as propriedades estruturais e morfológicas do material Au@CuBTC
- Desenvolver um eletrodo de carbono vítreo modificado com o compósito Au@CuBTC;
- Realizar testes eletroquímicos, através da técnica de voltametria cíclica (VC) para caracterização eletroquímica dos eletrodos quimicamente modificados;
- Avaliar as propriedades eletrocatalíticas do eletrodo modificado e as condições ótimas de resposta para a glutatona;
- Avaliar o uso como sensor para a glutatona através da voltametria de onda quadrada.



### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Reagentes

O reagente ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (H<sub>3</sub>BTC) foi obtido da Alfa Aesar, o nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>) da Vetec e o dimetilformamida (DMF) da Dinâmica, todos de grau analítico, e foram utilizados sem prévia purificação.

#### 3.2. Síntese da MOF CuBTC

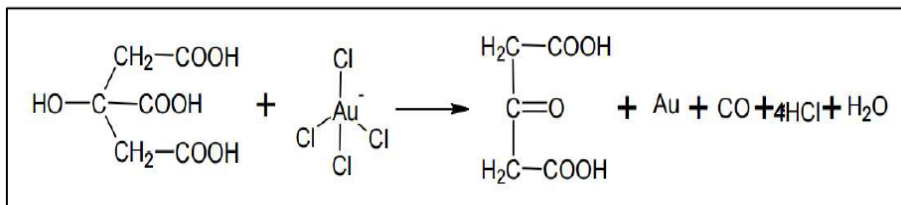
A síntese da MOF CuBTC foi realizada a partir do método eletroquímico, utilizando o modo amperométrico, no qual a tensão foi fixada em 12 V.

Uma solução estoque foi preparada, dissolvendo-se 5 mmol do ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico, H<sub>3</sub>BTC, em DMF suficiente para 50 mL de solução. Em seguida misturou-se a esta solução, 50 mL de uma solução aquosa 0,5 mol L<sup>-1</sup> de NaNO<sub>3</sub>. Uma alíquota de 30mL da solução estoque foi adicionada na célula reacional e imersas duas lâminas de cobre como eletrodos. Após 8 minutos de reação, um precipitado azul foi separado e lavado duas vezes com água e em seguida com uma mistura de etanol/acetona (1:1) por três vezes. Por fim, o sólido azul foi seco e ativado por aquecimento à 100°C, até que o sólido adquirisse uma coloração violeta.

#### 3.3. Síntese das Nanopartículas de Ouro (AuNPs)

Para a síntese das AuNPs, foi escolhida a metodologia baseada no método Turkevich (ZHAO *et al.*, 2013), já bem estabelecido na literatura, e talvez o mais simples, uma vez que envolve apenas três materiais de partida: ácido cloroáurico (HAuCl<sub>4</sub>), citrato de sódio e água. O método de síntese se fundamenta na redução de íons [AuCl<sub>4</sub>]<sup>-</sup> por íons citrato que, uma vez possuindo vários grupos com carga negativa, tem a capacidade de atuar como passivante, evitando assim a ocorrência de processos de agregação e fusão através da repulsão eletrostática entre as

nanopartículas. Na **Figura 38** são ilustradas as reações de oxidação e redução durante o processo de síntese descrito.



**Figura 38.** Processo de redução do  $[\text{AuCl}_4]^-$  a ouro metálico.

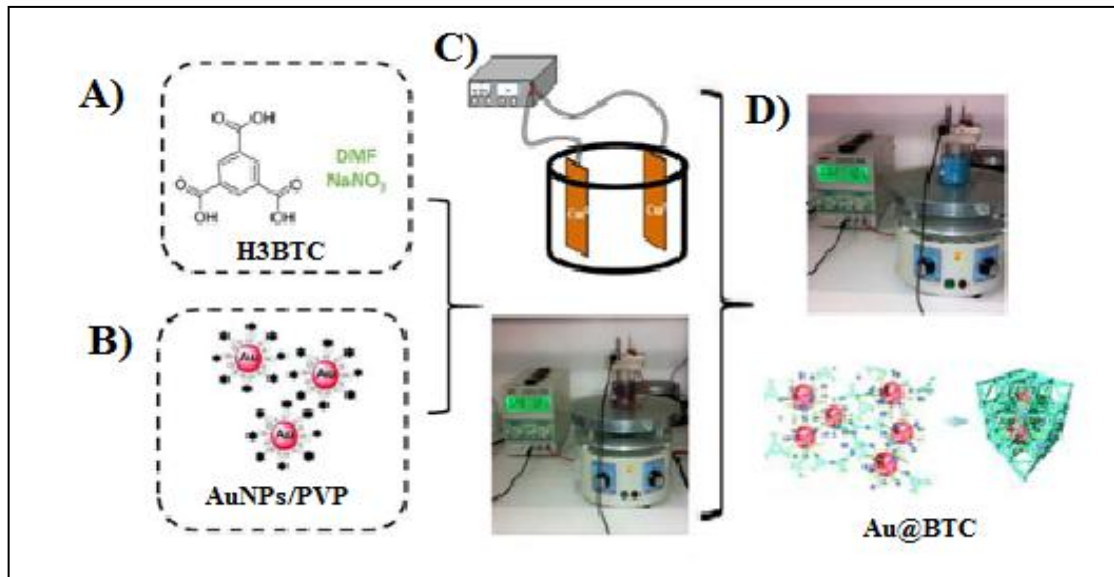
Inicialmente, 5 mL de solução aquosa  $5 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HAuCl}_4$  foi diluída em 90 mL de água ultra pura, em um béquer de 200 mL, e foram aquecidos com uma chapa aquecedora, sob agitação, até a ebulição. Em seguida, 5 mL de solução 0,5% (m/m) de citrato de sódio foi adicionado à solução inicial, mantendo o aquecimento por 10 minutos. O produto final da reação, solução de cor vermelho-cereja, foi resfriado até a temperatura ambiente.

Em virtude do papel duplo do polivinilpirrolidona (PVP) em estabilizar várias nanopartículas e em controlar o seu tamanho e forma no decorrer da síntese de redes metal-orgânicas (LU *et al.*, 2012), foi adotada a estratégia de adicionar este polímero na solução de nanopartículas de ouro. Assim, após a síntese das AuNPs, 13 mL de uma solução aquosa  $0,45 \text{ mmol L}^{-1}$  de polivinilpirrolidona (MM= 44,000) foi adicionado gota a gota na dispersão de AuNPs sob agitação e a mistura obtida foi então, mantida em temperatura ambiente e deixada por 24 horas. A solução final, AuNPs estabilizadas com PVP, foi lavada 3x com metanol, empregando ciclos de precipitação-resuspensão utilizando centrifugação com rotação de 14.000 rpm por 30 minutos, e finalmente, deixada dispersa em metanol.

### 3.4. Obtenção do compósitos Au@CuBTC

síntese do compósito Au@CuBTC foi obtida utilizando a mesma abordagem sintética da MOF CuBTC pura, ou seja, através do método eletroquímico. Contudo,

as nanopartículas de ouro foram adicionadas no meio antes do processo eletroquímico ser iniciado (**FIGURA 39**).



**Figura 39.** Esquema ilustrativo da obtenção de nanocompósitos Au@CuBTC: soluções estoques de H<sub>3</sub>BTC e NaNO<sub>3</sub> em DMF (**A**) e solução de nanopartículas de ouro (**B**) foram adicionadas na célula reacional e imersas duas lâminas de cobre como eletrodos (**C**). Após 8 minutos de reação, um precipitado azul foi formado, o qual foi denominado Au@CuBTC (**D**).

### 3.5. Caracterização do compósito Au@CuBTC obtido

#### 3.5.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi utilizada com o objetivo de visualizar a distribuição de tamanho das AuNPs. As amostras foram preparadas a partir do gotejamento da suspensão das amostras nas grades de cobre recobertas com carbono, e deixadas secar à temperatura ambiente. Foram realizadas também análise da distribuição de tamanho de partícula da MOF CuBTC, bem como do nanocompósito Au@CuBTC.

Para essas análises foi utilizado um microscópio eletrônico de transmissão FEI de 200Kv, modelo Tecnai20, emissor LAB6 ou W, módulo EDAX, tomografia Xplore3D com suporte de aquecimento controlado.

### 3.5.2 Difração de Raios-X (DRX)

A difração de raios-x de pó (DRX) foi utilizada a fim de analisar cristalinidade e fases das amostras. A aquisição dos espectros se deram num intervalo de  $2\theta$  entre  $5 - 50^\circ$ , utilizando um passo angular de  $0,01^\circ$  e tempo de aquisição de 1 s, com difratômetro marca Bruker, modelo D8 Advance, usando como fonte de radiação o  $\text{CuK}\alpha$  ( $1,537 \text{ \AA}$ ).

### 3.5.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos a temperatura ambiente em um espectrofotômetro FTIR Bruker, modelo IFS66 entre  $4000 \text{ cm}^{-1}$  e  $400 \text{ cm}^{-1}$ , usando pastilha de KBr.

### 3.5.4 Análise Termogravimétrica

A avaliação da estabilidade térmica foi realizada através da análise termogravimétrica em um analisador termogravimétrico da Shimadzu, modelo TGA-60/60H. Foi utilizado porta amostra de alumina e fluxo de  $100 \text{ mL/min}$  de  $\text{N}_2$  com taxa de aquecimento de  $10 \text{ }^\circ\text{C/min}$  até  $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ .

### 3.5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia do material obtido foi avaliada qualitativamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura Scanning Eletron Microscopy JSM – 5900 Jeol, com voltagem de 15 KV.

### 3.5.6 Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas em temperatura ambiente (25°C), em uma gaiola de Faraday, com auxílio de um potenciostato/Galvanostato (Autolab PGSTAT 10, marca Eco Chemie), interfaciado a um microcomputador com software NOVA 1.11 para controle do potencial, aquisição e tratamento de dados.

Um sistema de três eletrodos foi utilizado, sendo constituído de uma célula eletroquímica de polietileno de capacidade volumétrica de 20 mL, contendo 3 mL de solução, um eletrodo de referência de prata/cloreto de prata ( $\text{Ag}/\text{AgCl}_{(\text{KCl}_{\text{sat}})}$ ), um contra-eletrodo de fio de platina e como eletrodo de trabalho um eletrodo de carbono vítreo (3 mm) modificado com o material compósito  $\text{Au}@ \text{CuBTC}$ .

### 3.6 Pré-Tratamento do eletrodo

O pré-tratamento da superfície do eletrodo de trabalho foi realizado através de um procedimento mecânico, consistindo no polimento em pano de polimento metalográfico, apoiado em placa de cerâmica lisa, embebido por soluções de suspensão de alumina (1,0, 0,3 e 0,05  $\mu\text{m}$ ), em ordem decrescente, até que as suas superfícies apresentassem aspecto espelhado. Após cada etapa de polimento, os eletrodos foram lavados com água ultrapura e submetidos à limpeza através da imersão em um solução de  $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}_2$  (3:1; v/v) recém-preparada, por 5 min, para remoção de partículas residuais, que possam interferir na medição eletroquímica. Finalmente, o eletrodo foi submetido a ativação por voltametria cíclica (-0,4 V e +0,8 V *versus*  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ , numa velocidade de varredura de 50  $\text{mV s}^{-1}$ ) em 0,1  $\text{mol L}^{-1}$  de solução tampão fosfato até os voltamogramas tornarem-se reproduzíveis (cerca de 5 ciclos). Em seguida, o eletrodo tratado foi então, lavado com água ultra-pura e armazenado em condições ambientais para posterior modificação de sua superfície.

### 3.7 Preparação do Eletrodo Modificado com o Compósito $\text{Au}@ \text{CuBTC}$

Para a preparação do eletrodo de carbono vítreo, inicialmente, foi preparada uma suspensão do compósito  $\text{Au}@ \text{CuBTC}$  pré-sintetizado na concentração de 0,5 mg/ml em DMF, e submetida a sonicação por 30 minutos para homogeneização da

solução. Uma alíquota (5  $\mu\text{L}$ ) desta suspensão foi então, depositada na superfície pré-tratada do eletrodo de carbono vítreo. Após secagem, com auxílio de um secador, foi obtido o eletrodo quimicamente modificado Au@CuBTC/ECV.

### **3.8 Caracterização eletroquímica do Sensor**

Antes de ser utilizado como sensor, a performance eletroquímica do eletrodo modificado Au@CuBTC/ECV foi avaliada por voltametria cíclica em 3 mL de solução tampão fosfato (0,1 mol L<sup>-1</sup>), utilizada como eletrólito de suporte. Antes de cada medida eletroquímica, as soluções foram desoxigenadas por 5 min em ar N<sub>2</sub>. As faixas de potenciais aplicadas foram de -0,4 a +0,8 V vs. Ag/AgCl, com uma velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>.

### **3.9 Medidas Analíticas**

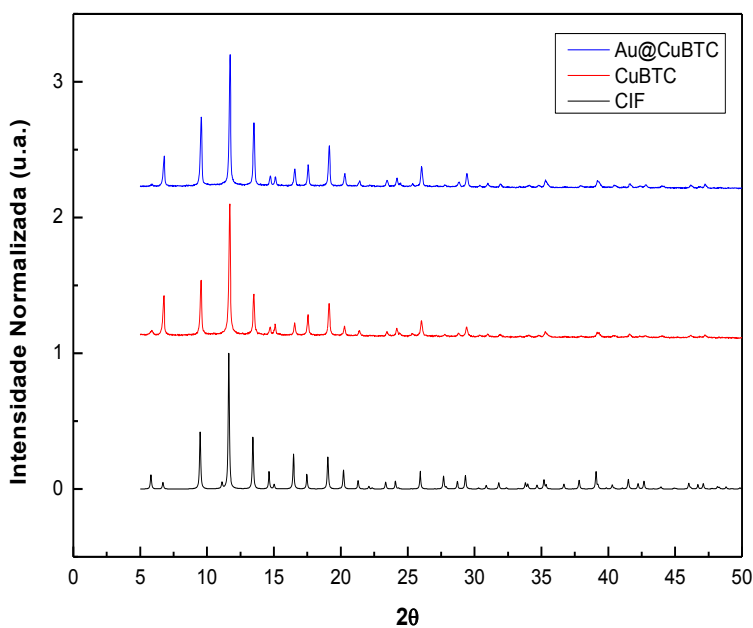
A resposta analítica do sensor Au@CuBTC/ECV na presença da glutatona foi avaliada pela técnica da Voltametria de Onda Quadrada. Nestes experimentos, procedeu-se inicialmente a etapa de deposição ou pré-eletrólise, onde o potencial inicial foi mantido em +0,1 V, durante 60 s sem agitação, seguido por uma etapa de repouso de 5 s. Na etapa posterior, a redissolução, foi empregada utilizando os seguintes parâmetros: Frequência de 15Hz; Amplitude de onda de 50 mV; passo de potencial: 5 mV e varredura de potencial no sentido anódico no intervalo de 0,1 a 0,8 V vs. Ag/AgCl. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do composto Au@CuBTC

#### 4.1.1. Difratometria de Raios-X de Pó (XRPD)

Na **Figura 40c** são apresentados os padrões de Raios-X de pó, das amostras de Au@CuBTC. Em comparação com a estrutura da MOF CuBTC, calculada teoricamente, não são detectados picos que correspondem a impurezas nem da MOF CuBTC, nem do nanocompósito Au@CuBTC sintetizados eletroquimicamente. Apesar do nanocompósito obtido, conter AuNPs, não foram identificados picos de difração correspondentes à sua fase cristalina. A não observação destes picos de difração pode ser atribuído à baixa concentração e/ou ao tamanho reduzido das mesmas. Este resultado sugere que houve a preservação da estrutura da MOF mesmo após o encapsulamento das AuNPs.

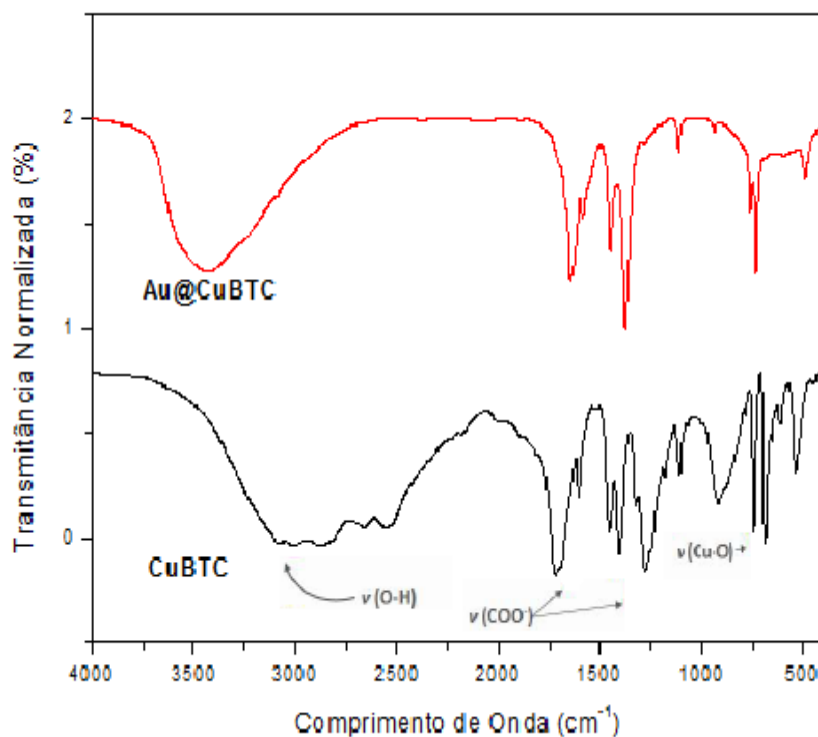


**FIGURA 40.** Difratomogramas de raios-X do padrão de pó das amostras de Au@CuBTC, CuBTC e CIF.

#### 4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

O espectro de FTIR do material obtido é muito similar (**Figura 41**), com o da MOF CuBTC pura, mesmo com a possível presença das nanopartículas de ouro. Em todos os espectros pode-se observar claramente bandas relacionadas com os modos de coordenação ligante-metal.

Por exemplo, as bandas em aproximadamente 1648 e 1380  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas aos estiramentos assimétricos e simétricos, respectivamente, relacionadas aos grupos carboxilatos ( $\text{COO}^-$ ). Os estiramentos em torno de 763  $\text{cm}^{-1}$  correspondem à ligação Cu-O. Já a banda larga em torno de 3440  $\text{cm}^{-1}$ , é característica de ligações O-H de moléculas de água. A não observação de estiramento com energias tipicamente na região de absorção do ligante livre, reforçam a hipótese de pureza levantada através da análise de difratometria de Raios-X, para os materiais obtidos.

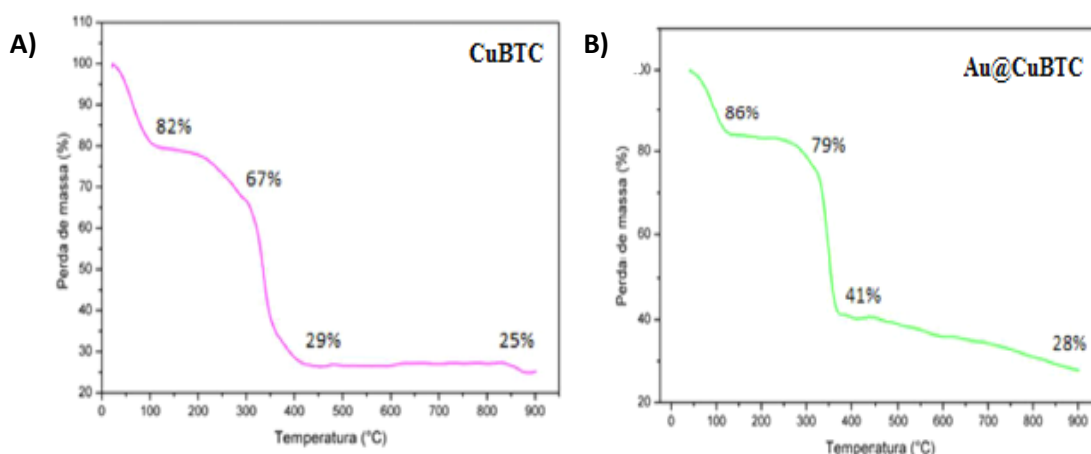


**Figura 41.** Espectros de absorção na região do infra-vermelho das amostras CuBTC e Au@CuBTC sintetizadas



#### 4.1.3 Análise Termogravimétrica (TGA)

São mostrados na **Figura 42**, os perfis de perda de massa dos materiais CuBTC e Au@CuBTC em função da temperatura. Os termogramas destes materiais apresentaram eventos distintos de perdas de massa: o primeiro entre 25 e 100°C, correspondem a perdas de moléculas de água da superfície e poros da MOF. O segundo evento ocorre entre 100 e 300°C, e corresponde a perdas de moléculas de água dos poros da MOF e coordenadas aos íons  $\text{Cu}^{2+}$ . Os terceiro e quarto eventos são observados entre 300 e 900°C e são atribuídas ao colapso das MOFs e decomposição do ligante orgânico, com posterior formação de material carbonáceo.

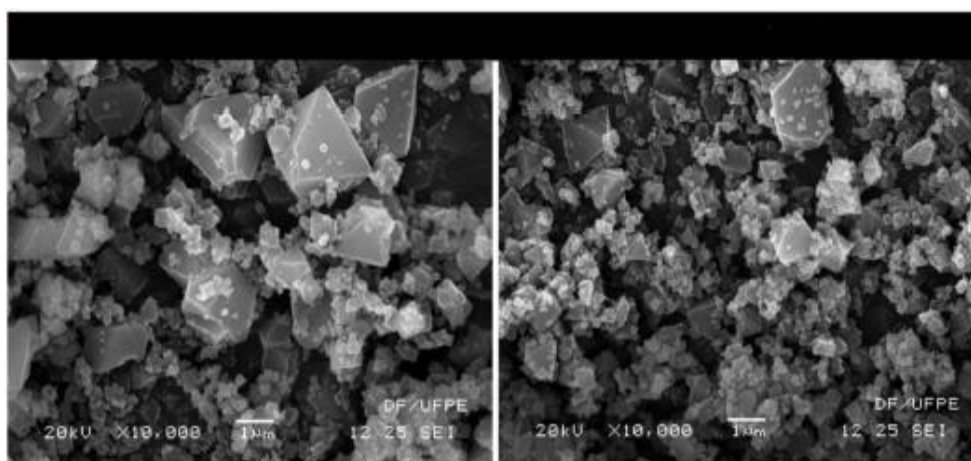


**Figura 42.** Espectros de TGA das amostras CuBTC e Au@CuBTC sintetizadas.

Contudo, a partir dos termogramas acima, pode-se fazer algumas correlações acerca dos diferentes comportamentos térmicos em função da presença das nanopartículas de ouro na estrutura da MOF. Apesar de apresentarem grande similaridade nos perfis de perda de massa, nota-se no termograma do compósito Au@CuBTC, a presença de perdas de massa contínua entre 400 e 900°C, que pode ser atribuída à decomposição do PVP presente nas nanopartículas.

#### 4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura, representadas na **Figura 43**, demonstram as morfologias dos cristais dos compostos obtidos CuBTC **(A)** e Au@CuBTC **(B)**. Através destas imagens observa-se, em ambos os compostos, uma morfologia octaédrica, com tamanho na faixa de 0,1 – 2  $\mu\text{m}$ . Em geral, os diâmetros dos cristais obtidos, por via eletroquímica, são menores do que aqueles obtidos por métodos convencionais, tais como hidrotérmico e por radiação microondas (SEO *et al.*, 2009; LIN *et al.*, 2012).



**(A)**

**(B)**

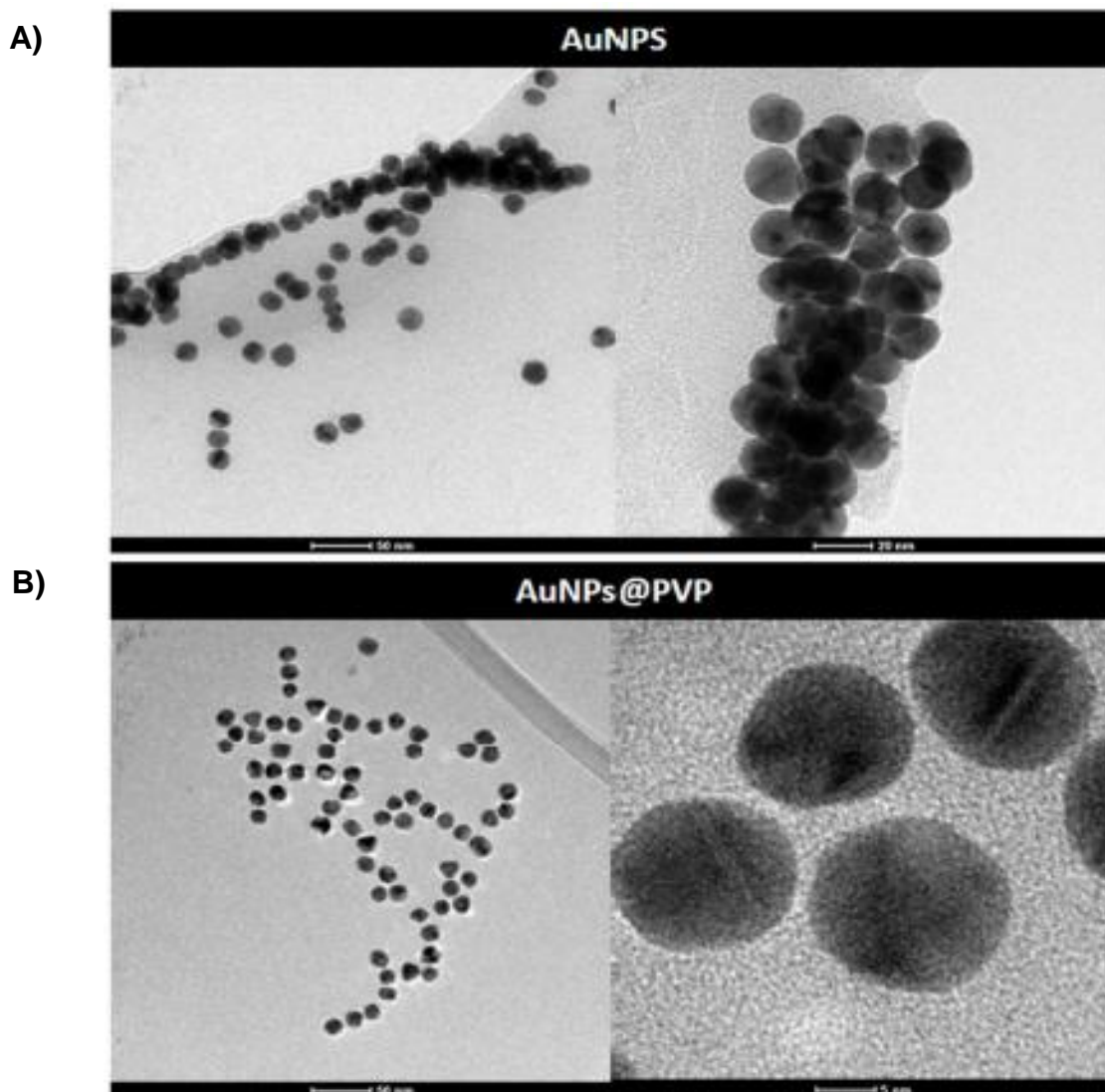
**Figura 43.** Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos materiais CuBTC **(A)** e Au@CuBTC **(B)**.

#### 4.1.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Na **Figura 44** estão representadas as imagens de microscopia eletrônica de transmissão para as AuNPs com e sem o agente estabilizante PVP. As imagens evidenciam a formação de nanopartículas esféricas com diâmetro de aproximadamente 20 nm.

Como pode ser observado na **Figura 44 (A)**, antes das AuNPs serem estabilizadas com PVP, identifica-se uma certa aglomeração das mesmas em determinadas regiões, impedindo a identificação de uma única nanopartícula.

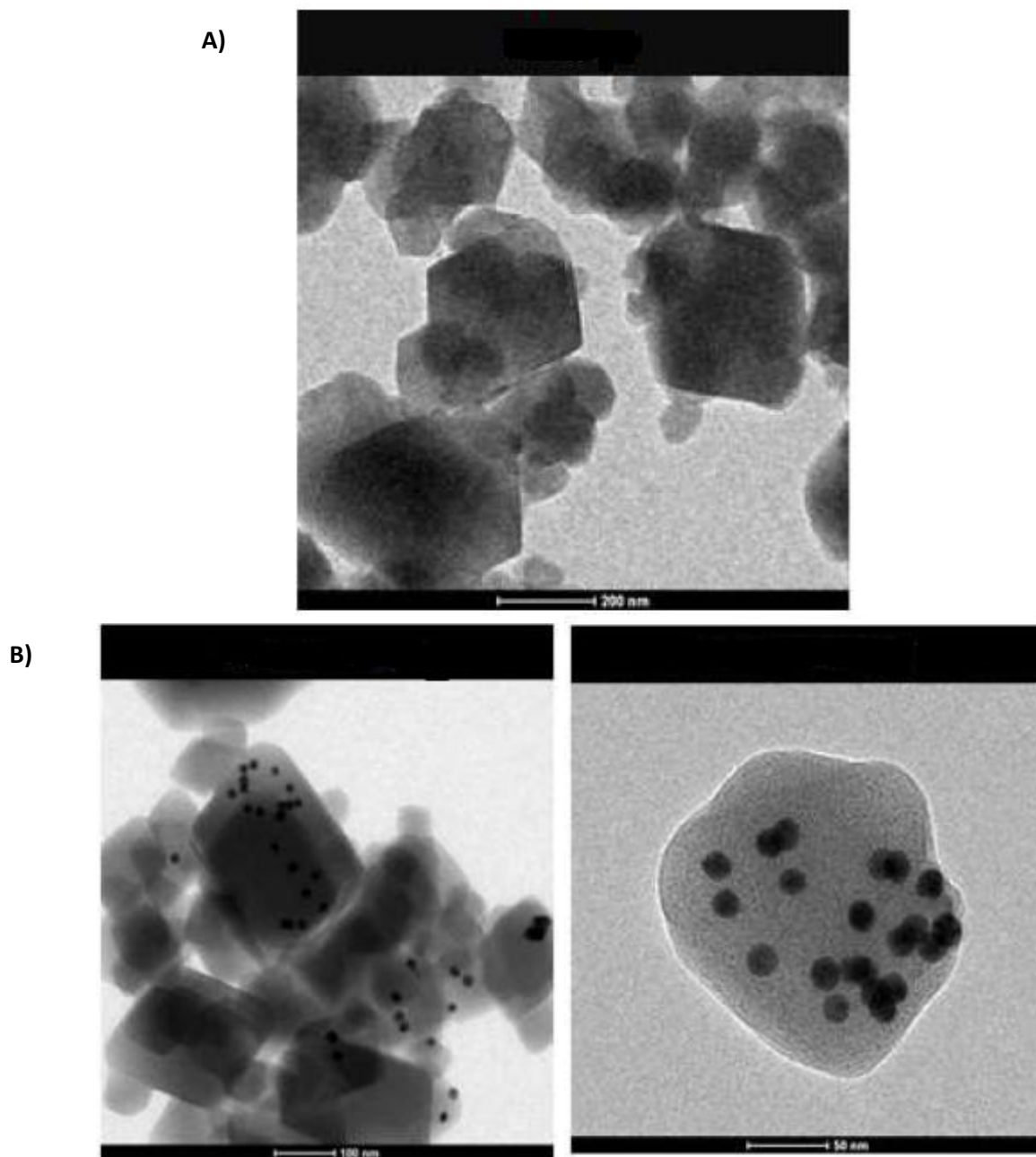
Entretanto, ao serem estabilizadas com PVP, **Figura 44 (B)**, apresentaram uma grande melhora na dispersão.



**Figura 44.** Imagens obtidas por MET das (A) AuNPs e (B) AuNPs estabilizadas com PVP.

A **Figura 45** apresenta imagens obtidas por MET para a MOF CuBTC e o nanocompósito Au@CuBTC. Observa-se, no primeiro caso (A), a presença de cristais medindo tamanhos em torno de 200–300 nm e com morfologias bem definidas. Já na imagem referente ao nanocompósito Au@CuBTC, as AuNPs aparecem como pontos escuros encrustados nos cristais da MOF (**Figura 45 B**). O tamanho das nanopartículas são uniformes e correspondentes aos verificados para

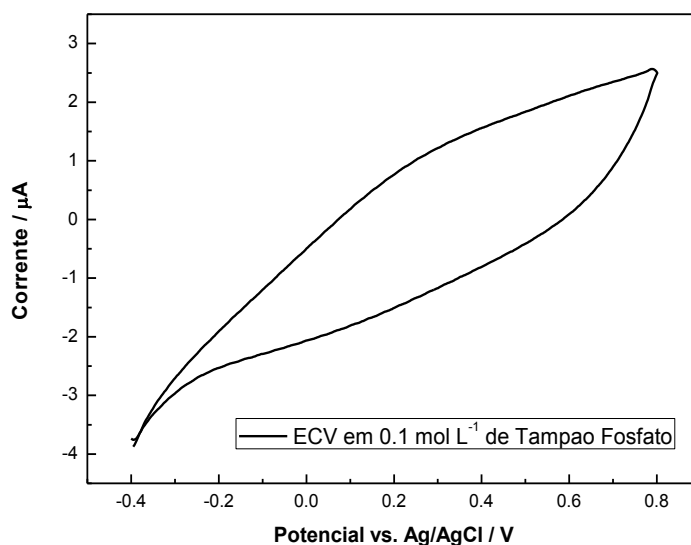
as mesmas isoladas (**Figura 44**), entretanto, não são igualmente distribuídas nos cristais da MOF.



**Figura 45.** Imagens de MET das amostras sintetizadas (A) CuBTC e (B) Au@CuBTC.

#### 4.2 Propriedades Eletroquímicas do EQM Au@CuBTC/ECV

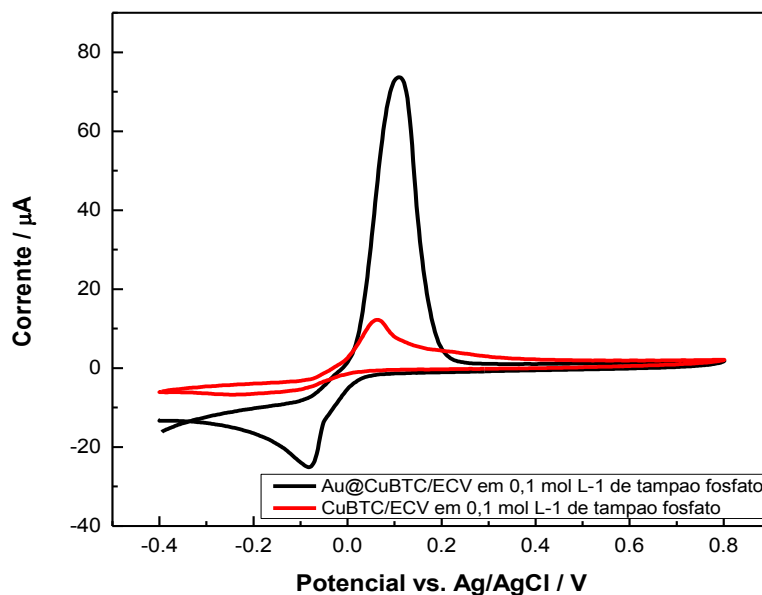
Voltamogramas cíclicos foram registrados para o eletrodo de disco de carbono vítreo (ECV) com 3 mm de superfície de contato sem prévia modificação (**Figura 46**). As medidas foram realizadas em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão, pH 3, após 5 minutos de contato, com velocidade de varredura  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , faixa de potencial  $-0,4$  a  $+0,8 \text{ V vs Ag/AgCl}$ , registrados no 1º ciclo.



**Figura 46.** Voltamograma do ECV, em solução tampão fosfato pH 3,0,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $E_a = -0,4$  a  $0,8 \text{ V}$ , registrado no 1º Ciclo.

Como demonstrado na **Figura 46**, para o experimento com o eletrodo base de carbono vítreo em solução tampão, não se observa nenhuma atividade eletroquímica na faixa de potencial aplicada.

Na **Figura 47** estão representados os voltamogramas cíclicos para os eletrodos quimicamente modificados com os compostos sintetizados por via eletroquímica, CuBTC e Au@CuBTC na concentração de  $0,5 \text{ mg/mL}$ .



**Figura 47.** Voltamogramas dos eletrodos CuBTC/ECV (—) e Au@CuBTC/ECV (—), em solução tampão fosfato pH 3,  $V = 50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.

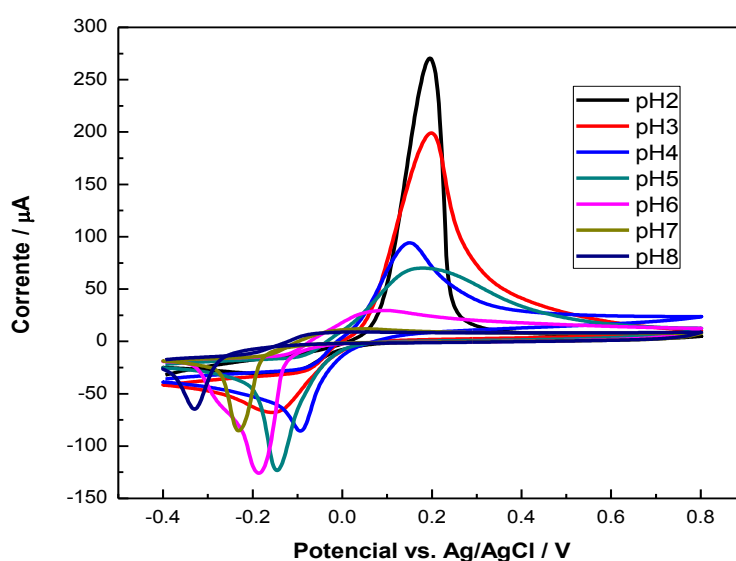
Como pode-se observar na **Figura 47**, para faixa de potencial estudada, o primeiro eletrodo citado apresentou atividade eletroquímica com picos de oxidação ( $E_{pa} = + 0,06 \text{ V}$ ) e redução ( $E_{pc} = - 0,24 \text{ V}$ ), correspondendo às reações de oxidação do cobre metálico e redução do íon  $\text{Cu}^{2+}$  à cobre metálico, respectivamente, com potencial médio ( $E_m$ ) de  $- 0,09 \text{ V}$ . Este comportamento corrobora com os dados da literatura, a partir dos trabalhos que descrevem a caracterização eletroquímica de eletrodos com modificadores baseados em cobre (DOMÉNECH *et al.*, 2007; WAEL *et al.*, 2007; RICHARDSON *et al.*, 2001; HOSSEINI *et al.*, 2013a).

Para o nanocompósito Au@CuBTC, utilizado como modificador da superfície do eletrodo, a resposta eletroquímica foi similar consistindo em um pico anódico em  $+0,11 \text{ V}$  e um pico catódico em  $-0,08 \text{ V}$ . Entretanto, observa-se o deslocamento de ambos os potenciais de pico para valores mais positivos, além de uma aumento significativo das correntes de pico, quando comparado aos valores do CuBTC/ECV. Esse aumento está provavelmente relacionado a presença das AuNPs na estrutura da MOF, que por também sofrerem processos de oxidação e redução, se sobrepõem com os picos da mesma. Assim, o pico anódico pode ser descrito como o processo de oxidação das AuNPs e Cu a Au e óxido de cobre, enquanto que a

redução do ouro e dos óxidos de cobre é responsável pelo pico catódico. Esse mesmo comportamento foi verificado por Burke e Nugent (1998) que descrevem as características electrocatalíticas do ouro em solução aquosa, bem como por Hosseini e colaboradores (2013a,b) em seus estudos com eletrodos modificados com nanopartículas do tipo Au-Sh-SiO<sub>2</sub> suportadas em MOFs. Tais características, enfatizam o uso das AuNPs como um importante aliado para aumentar a condutividade e resposta catalíticas das MOFs.

### 4.3 Influência do pH da solução tampão no comportamento electroquímico do Au@CuBTC/ECV

Afim de determinar o valor ótimo de pH para a realização das medidas electroquímicas, a resposta voltamétrica do EQM Au@CuBTC/ECV foi avaliada em soluções tampão fosfato com diferentes valores de pH (2 a 8) (**Figura 48**).



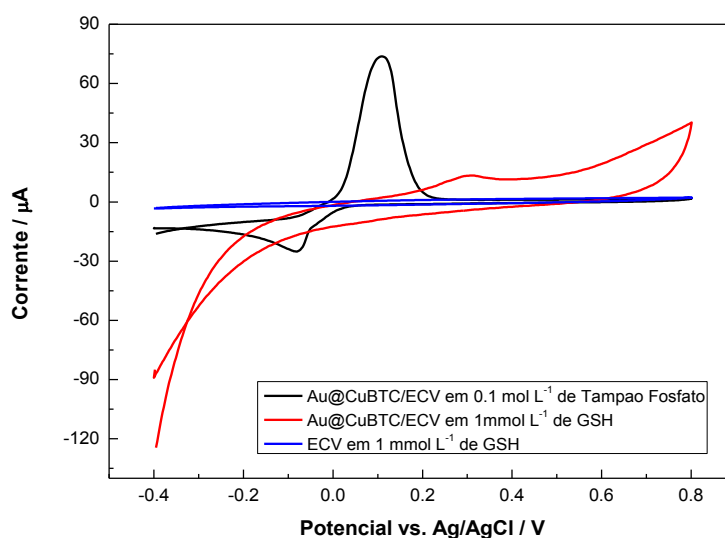
**Figura 48.** Influência do pH sobre o comportamento electroquímico do EQM Au@CuBTC/ECV em solução tampão fosfato,  $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrado no 1º ciclo.

Como bem evidenciado na **Figura 48**, o comportamento voltamétrico do Au@CuBTC/EVC é dependente do valor de pH da solução, de forma que melhores respostas electroquímicas podem ser observadas a medida que se diminui o pH. Ou seja, as correntes de pico anódica aumentam com a diminuição dos valores de pH.

Outro fator importante, é que com o aumento do pH, os potenciais de pico tanto anódico quanto catódico, se deslocam para potenciais mais negativos. Portanto, o pH selecionado foi 3,0.

#### 4.4 Resposta Eletrocatalítica do EQM Au@CuBTC/ECV para Glutaciona

A potencial aplicação do novo sensor foi avaliada para eletro-oxidação e detecção da glutaciona. Primeiramente, o comportamento eletroquímico da glutaciona foi avaliado por voltametria cíclica e, em seguida, por voltametria de onda quadrada. Na **Figura 49**, observa-se os voltamogramas referentes às respostas dos eletrodos ECV e Au@CuBTC/ECV na ausência e na presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de solução tampão fosfato (pH 3,0), a uma velocidade de varredura de 50,0 mV s<sup>-1</sup>, após 5 minutos de contato entre o eletrodo e a solução. Os registros apresentados correspondem ao 1º ciclo de varredura.



**Figura 49.** Voltamogramas cíclicos obtidos para o Au@CuBTC/ECV na ausência (—) e presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> de GSH (—), e para o ECV na presença de 1 mmol L<sup>-1</sup> M de GSH (—), em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de 50 mV s<sup>-1</sup>, registrados no 1º ciclo.

Nos voltamogramas cíclicos representados na **Figura 49**, verifica-se que, na janela de potencial estudada, nenhum processo de oxidação ocorre na superfície do eletrodo base de carbono vítreo (linha azul), sem prévia modificação, uma vez que a oxidação direta da glutaciona acontece em potenciais mais positivos de 0,9 a 1,2 V.



Entretanto, para o eletrodo quimicamente modificado com o nanocompósito Au@CuBTC, comparativamente com o que acontece em solução tampão (linha preta), nota-se que na presença da glutatona há o surgimento de um pico de oxidação em  $E_{pa} = +0,31 \text{ V vs. Ag/AgCl}$  (linha vermelha) e nenhum pico de redução é observado. Esse comportamento indica que o novo material sintetizado possui capacidade eletrocatalítica de oxidação para a GSH.

A **Tabela 5** demonstra um comparativo entre as propriedades eletroquímicas do eletrodo Au@CuBTC/ECV em solução tampão, na ausência e na presença de GSH.

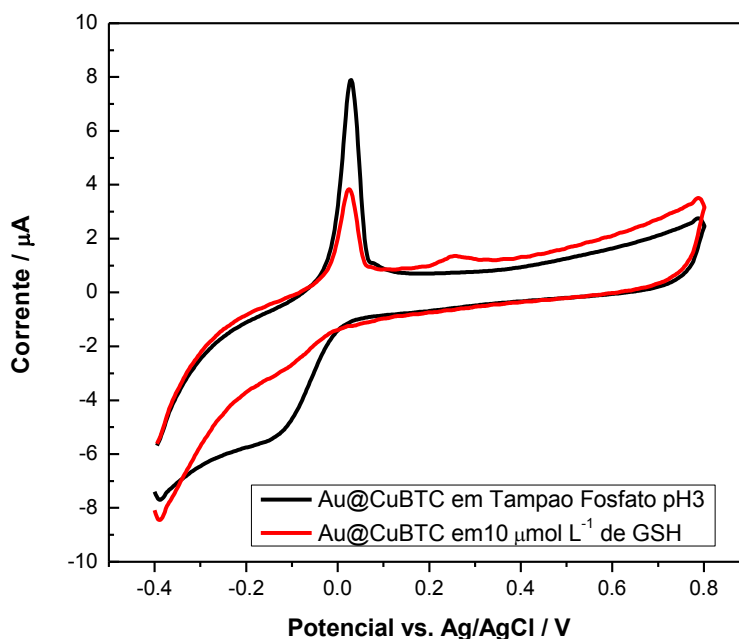
**Tabela 5.** Comparações das propriedades eletroquímicas do Eletrodo Au@CuBTC/ECV em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão, na ausência e na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH.

EQM Au@CuBTC/ECV	Ausência de GSH	Presença de $1 \text{ mmol L}^{-1}$ de GSH
<b><math>E_{pa}</math> (V)</b>	+0,11	+0,31
<b><math>E_{pc}</math> (V)</b>	-0,08	-
<b><math>\Delta E = E_{pc} - E_{pa}</math></b>	-0,19	-
<b><math>I_{pa}</math> (<math>\mu\text{A}</math>)</b>	73,7	13,3
<b><math>I_{pc}</math> (<math>\mu\text{A}</math>)</b>	-25,1	-

Como pode ser observado na **Tabela 5**, comparando as propriedades eletroquímicas no que se diz respeito aos potenciais anódicos ( $E_{pa}$ ) apresentados pelo eletrodo Au@CuBTC/ECV nas duas soluções (solução tampão e solução GSH), verifica-se que a oxidação da glutatona ocorre em um potencial mais positivo. Isso pode ser atribuído a capacidade do Au@CuBTC de mediar a transferência de elétrons entre o eletrodo e a GSH, permitindo sua oxidação neste potencial.

Para melhor compreensão do mecanismo de reação do eletrodo Au@CuBTC/ECV na presença da glutatona, medidas voltamétricas foram realizadas para concentrações menores, tanto do compósito quanto da GSH. Assim, a **Figura 50**, mostra os resultados obtidos para uma concentração de  $0,05 \text{ mg/mL}$  do material Au@CuBTC imobilizado na superfície do ECV, após 2 minutos de contato

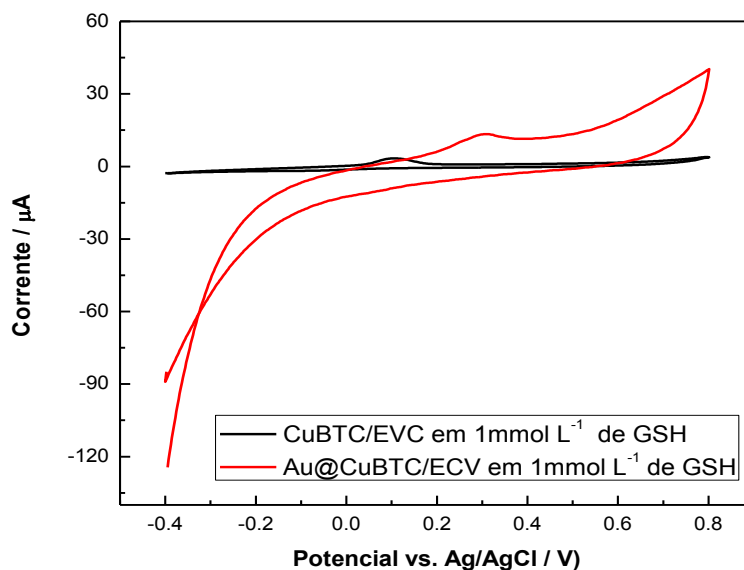
em uma solução de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH, pH 3, velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.



**Figura 50.** Voltamogramas cíclicos obtidos para o Au@CuBTC/ECV na ausência (—) e presença de  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH (—), em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.

Como podemos observar nos voltamogramas acima, na presença da glutatona a corrente de pico anódica, referente a oxidação das AuNPs e do Cu, diminui, ao passo que um segundo pico de oxidação surge. Este por sua vez, está relacionado a oxidação da glutatona na superfície do eletrodo, levando à forma dissulfeto de glutatona (GSSG).

O comportamento eletrocatalítico para a glutatona foi comparado também entre o eletrodo de carbono vítreo modificado só com a MOF CuBTC e com o nanocompósito Au@CuBTC, utilizando a mesma metodologia na preparação dos eletrodos. A **Figura 51** mostra as respostas voltamétricas obtidas na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH, pH 3, velocidade de varredura de  $50,0 \text{ mV s}^{-1}$ , após 5 minutos de contato entre o eletrodo e a solução. Os voltamogramas foram registrados no 1º ciclo.



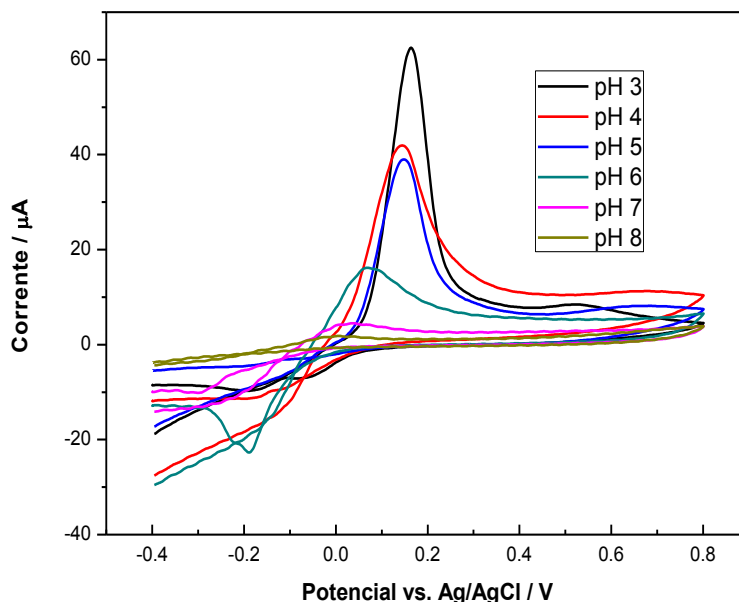
**Figura 51.** Voltamogramas cíclicos obtidos para CuBTC/EVC (—) e Au@CuBTC/EVC (—) na presença de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$  de GSH, em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 3), com velocidade de varredura de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.

Como observado na **Figura 51**, a atividade catalítica do material Au@CuBTC supera, em termos de intensidade da corrente de pico anódica, a obtida para a MOF sozinha. A resposta observada está relacionada a presença das AuNPs na estrutura da MOF, que por também sofrerem processos de oxidação e redução são capazes de influenciar as propriedades eletroquímicas do eletrodo, e portanto, auxiliar na eletro-oxidação da glutathiona. O pico anódico pode ser descrito, então, como o processo de interação das AuNPs e o Cu da MOF com a glutathiona. Assim, o novo composto sintetizado destaca-se como um material promissor para a construção de eletrodos mais sensíveis, neste caso para GSH.

#### 4.5 Efeito do pH na Resposta do Au@CuBTC/EVC na presença da Glutathiona

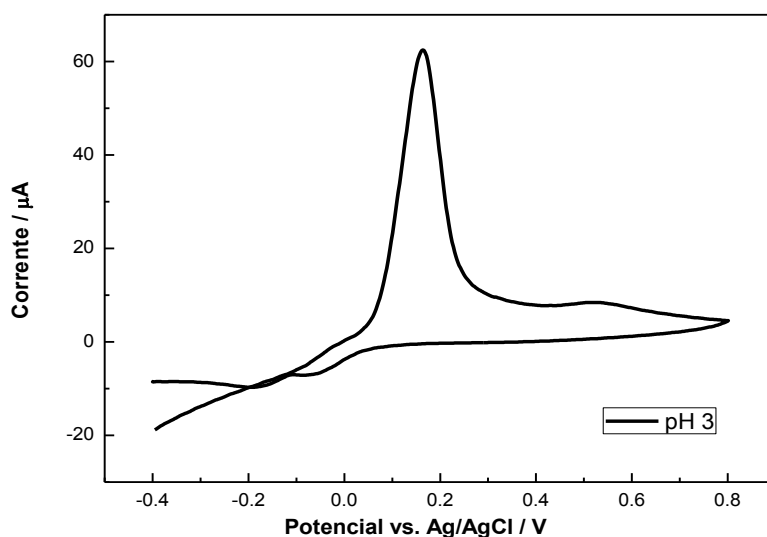
O efeito do pH sobre a resposta voltamétrica do EQM Au@CuBTC/EVC foi avaliado para soluções de GSH com concentração de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ , com diferentes

valores de pH que variavam entre 3,0 e 8,0 (**Figura 52**). O tempo de contato foi de 2 minutos.



**Figura 52.** Influência do pH sobre o comportamento eletroquímico do EQM Au@CuBTC/ECV na presença de GSH na solução,  $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.

Como pode ser demonstrado na **Figura 52**, o comportamento redox da glutatona é dependente do pH. Observa-se que à medida que decresce o pH, há um deslocamento do pico de oxidação da GSH para potenciais mais positivos e aumento da corrente de pico anódica, ou seja, melhora da resposta eletroanalítica. Além disso, no pH 3, observa-se o surgimento do segundo pico anódico, referente a oxidação da glutatona, como observado na **Figura 53**, a qual mostra o voltamograma isolado da resposta do eletrodo em solução de GSH neste pH. Assim, este valor de pH foi utilizado nas medidas analíticas.



**Figura 53.** Comportamento eletroquímico do EQM Au@CuBTC/ECV na presença de GSH, pH 3,  $V=50 \text{ mV s}^{-1}$ , registrados no 1º ciclo.

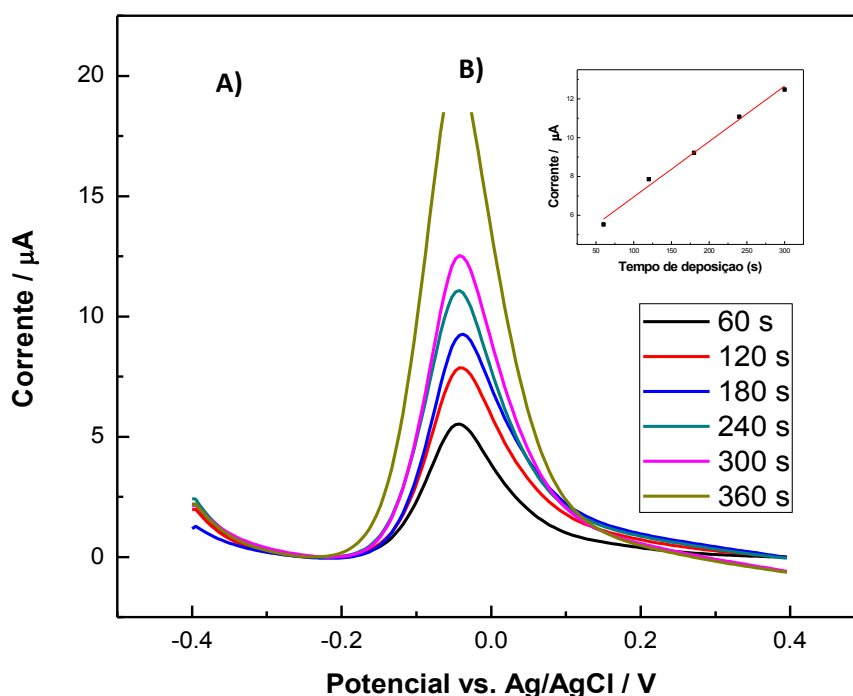
#### 4.6 Efeito do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico por Voltametria de Onda Quadrada

A avaliação da faixa linear de trabalho do eletrodo Au@CuBTC para detecção da glutatona, foi realizada através da técnica da Voltametria de Onda Quadrada. Esta, por sua vez, consiste em uma técnica voltamétrica de pulso onde a forma do pico de corrente resultante é proveniente da sobreposição de pulsos de potencial de altura  $a$  (amplitude de pulsos), a uma escada de potenciais de largura  $DEs$  (incremento de varredura de potenciais) e duração  $2t$  (período). As medidas de corrente são feitas no final dos pulsos diretos e reversos e o sinal obtido, após derivação, é dado como uma intensidade da corrente resultante. Esta técnica apresenta excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas (SOUZA *et al.* 2004).

Segundo Possari (2006), as técnicas pulsadas melhoram a detecção de tióis, uma vez que eles podem ser facilmente adsorvidos à superfície do eletrodo sem concorrência de óxidos. Assim, como a voltametria cíclica não era suficientemente sensível para ver o pico do aducto em baixas concentrações, então,

a voltametria da onda quadrada foi utilizada para prover maior sensibilidade, de modo a quantificar GSH.

Entretanto, antes da avaliação da faixa linear de trabalho, voltamogramas de onda quadrada para  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 3,0) foram obtidos aumentando o tempo de deposição do analito. A **Figura 54** mostra, portanto, a dependência da corrente de pico de redissolução com o tempo de deposição.



**Figura 54.** (A) Voltamogramas de onda quadrada de  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH em Au@CuBTC/ECV em  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 3,0) com diferentes tempos de deposição; (B) relação entre a corrente de pico de redissolução (A) e o tempo de deposição.

Segundo Bard (2001), em geral, a corrente de pico aumenta com o aumento do tempo de deposição do analito alvo na superfície do eletrodo. Isso ocorre devido ao analito ser pré-concentrado na superfície do eletrodo por aplicação de um potencial. O mesmo comportamento foi verificado para o eletrodo Au@CuBTC/ECV em solução de GSH (**Figura 54**), um vez que com o aumento do tempo de

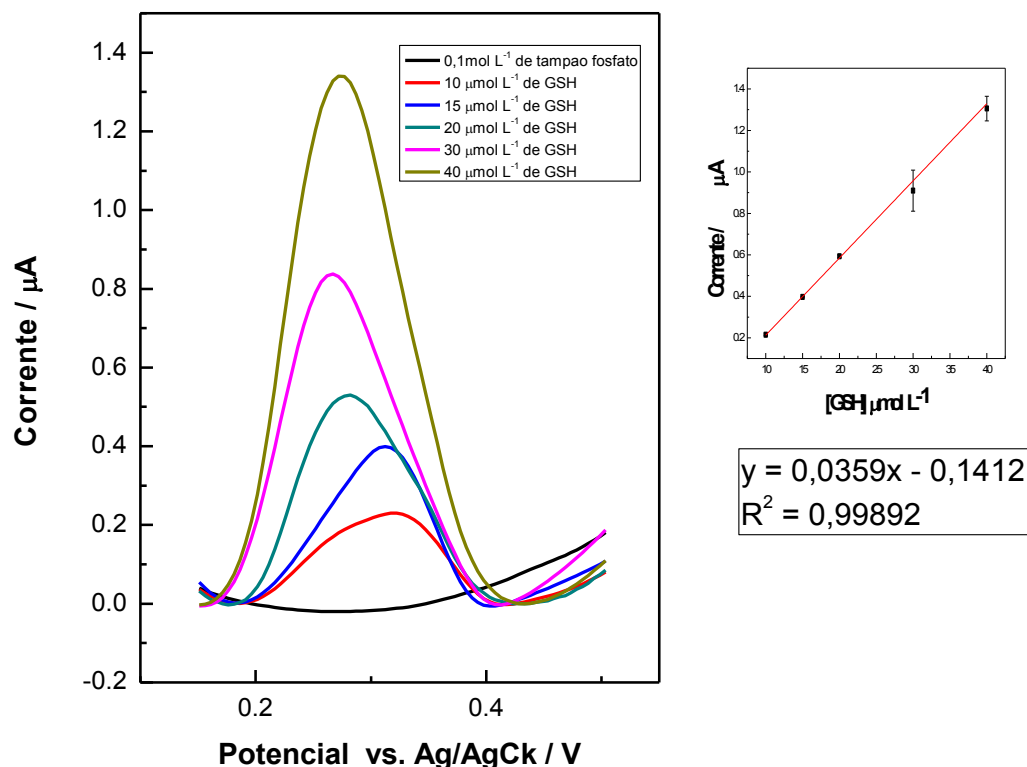
deposição, uma maior quantidade de complexo Cu-GSH é formado e adsorvido na superfície do eletrodo.

Entretanto, como o objetivo deste trabalho é desenvolver um sensor que tenha, entre outras vantagens, um tempo de resposta rápido para detecção do analito, o tempo de deposição de 60 segundos foi utilizado para construção da curva analítica.

#### **4.7 Curva Analítica para determinação da Glutathione pelo EQM Au@CuBTC/ECV**

Uma vez que a Voltametria de Onda Quadrada tem uma alta sensibilidade, esta foi utilizada para avaliação da performance do eletrodo Au@CuBTC/ECV na determinação da Glutathione em soluções padrão. Assim, os parâmetros analíticos do método, tais como a faixa linear da curva de calibração, o coeficiente de determinação, a equação de regressão linear e o limite de detecção, foram examinados a fim de validar o método proposto.

Para isto, uma curva analítica (**Figura 55**) foi construída através da análise de diferentes soluções com concentrações progressivas de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>, (pH 3). As condições operacionais utilizadas foram passo de potencial de 5 mV, amplitude de potencial de 50 mV, frequência de 15 Hz, tempo de deposição de 60 s.



**Figura 55. A)** Voltamogramas de Onda quadrada para o Au@CuBTC/ECV em soluções com concentrações progressivas de GSH em 0,1 mol L<sup>-1</sup> de Solução Tampão Fosfato pH 3. **B)** Curva de calibração.

Os resultados mostraram que, nas condições analíticas utilizadas, uma faixa linear de resposta para a determinação de glutathiona pelo sensor Au@CuBTC/ECV foi obtida entre 10 - 40 μmol L<sup>-1</sup>, estabelecida pela equação de regressão linear  $I_p(\mu A) = 0,0359 [GSH] (\mu mol L^{-1}) - 0,1412$  ( $r^2 = 0,9989$ ,  $n = 5$ ). O limite de detecção (LOD) encontrado para o método proposto, foi de 0,3 μmol L<sup>-1</sup>, definido como  $3S_b/m$  (onde  $S_b$  é o desvio padrão do sinal do branco ( $n = 3$ ) e  $m$  é o slope da curva de calibração). Portanto, o novo sensor exibe uma boa atividade eletrocatalítica para GSH, com faixa linear de trabalho mais ampla que permite sua futura aplicação na determinação de GSH tanto em amostras fisiológicas quanto em amostras de suplementação alimentar.



### CAPÍTULO III – CONCLUSÃO

---

A modificação da superfície de eletrodos sólidos com diferentes materiais tem sido bastante empregada na construção de sensores com baixo limite de detecção, elevada sensibilidade e redução dos potenciais. Neste trabalho, dois sensores eletroquímicos foram obtidos a partir da modificação de eletrodos sólidos de ouro e carbono vítreo, respectivamente, com a rede metal-orgânica CuBTC e com o nanocompósito Au@CuBTC. Em seguida, as características eletroquímicas bem como sua potencial aplicação para determinação de Glutathione foram avaliadas.

O eletrodo base de disco de ouro modificado com a rede metal-orgânica CuBTC mostrou um bom desempenho para a oxidação eletrocatalítica e determinação da Glutathione. Assim, o novo sensor eletroquímico, o qual foi denominado CuBTC/EAu, apresentou uma faixa linear de 0,05 - 2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e um baixo limite de detecção de 0,03  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com um tempo de resposta total de 15 minutos.

A rede metal-orgânica CuBTC foi, portanto, capaz de mediar a transferência de elétrons entre o eletrodo e a GSH, permitindo a oxidação desta biomolécula num potencial de +0,41 V vs. Ag/AgCl. Este potencial foi menor quando comparado com potenciais para a oxidação da GSH em outros eletrodos modificados descritos na literatura, geralmente na faixa entre +0,7 a +0,9 V. A MOF CuBTC destaca-se, portanto, como material promissor para aplicações em eletrocatalise e na construção de novos dispositivos sensores.

A detecção de glutathione em amostras reais de soro sanguíneo demonstrou a aplicação prática deste eletrodo modificado. O método proposto permitiu a determinação direta e simples da concentração de GSH em soro sanguíneo, sem o uso de reagentes adicionais ou etapas de pré-processamento das amostras. Assim, o sensor pode ser utilizado para a determinação da GSH em matrizes complexas, tais como formulações farmacêuticas ou amostras biológicas como soro e plasma sanguíneo, hemolisados de eritrócitos, saliva e urina, com a rapidez que análises rotineiras relacionadas ao diagnóstico clínico exigem.

Também no presente trabalho, pela primeira vez foi sintetizado um compósito baseado em nanopartículas de ouro estabilizadas com PVP e encapsuladas na MOF CuBTC, pelo método eletroquímico. O composto obtido foi caracterizado e aplicado na modificação de eletrodo para detecção de glutatona. De acordo com os resultados, foi observado que o uso das nanopartículas na estrutura da rede metal-orgânica aumentou significativamente a sensibilidade e o tempo de resposta do eletrodo. A curva de calibração do sensor Au@CuBTC/ECV mostrou uma faixa de resposta linear entre 10 - 40  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de GSH e um limite de detecção de 0,3  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com tempo de resposta de 60 segundos.

Os sensores propostos apresentam-se, então, como tecnologias inovadoras e com futuras aplicações das redes metal orgânicas na eletrocatalise e na construção de sensores para a detecção de glutatona em fluidos biológicos. Ambos os dispositivos podem ter aplicabilidade visando o diagnóstico clínico em estágios iniciais de vários processos patológicos que estão associados ao estresse oxidativo, como câncer, diabetes e doenças de Alzheimer e Parkinson.

## CAPÍTULO IV - PERSPECTIVAS

---

- ✓ Análise de interferentes;
- ✓ Avaliar a resposta do sensor em uma maior quantidade de amostras reais para validar o método;
- ✓ Calcular o desvio padrão relativo
- ✓ O prosseguimento desse trabalho envolverá o desenvolvimento de sensores impressos, pelo método screen-printed, o qual é uma tecnologia bem conhecida e estabelecida para produção de eletrodos em massa, otimizando e aperfeiçoando o método até aqui descrito. Eletrodos impressos compreendem a impressão de eletrodos de trabalho, referência e contra-eletrodo sobre um material de suporte com todo o circuito integrado necessário para satisfazer a aplicação desejada. Estes dispositivos são, em geral, muito vantajosos para bio-aplicações por serem compactos, de baixo custo, versáteis, robustos, descartáveis e não exigirem equipamentos complexos e caros, o que facilita o uso em ambientes hospitalares e laboratoriais e até mesmo em análises em campo.

## REFERÊNCIAS

ABNEY, C.; LIN, W. Enantioselective catalysis with homochiral metal-organic frameworks. **Chem. Soc. Rev.**, v. 38, p. 1248-1256, 2009.

ABUÇAFY, M. P. Desenvolvimento de redes metalo-orgânicas a base de ciclodextrina para liberação controlada de fármaco. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

AHAMMAD, A. J. S.; LEE, J.; RAHMAN, M. D A. Electrochemical Sensors Based on Carbon Nanotubes. **Sensors**, v. 9, n. 4, p. 2289–2319, 2009.

AHMED, M. Synthesis and Structural Analysis of Copper (II) Glutathione Complexes via Cu-S Linkage. **World Appl. Sci. J.**, v. 29, p.1357-1362, 2014.

AHN, C. H.; CHOI, J. W.; BEAUCAGE, G.; NEVIN, J. H.; LEE, J. B.; PUNTAMBEKAR, A.; LEE, J. Y. Disposable Smart Lab on a Chip for Point-of-Care Clinical Diagnostics. **Proceedings of the IEEE**, v. 92, p.154, 2004.

AL-JABENI, N.; ALFUTIMIE, A.; SIPERSTEIN, F. R.; FAN, X. Front. Underlying mechanism of the hydrothermal instability of  $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$  metal organic framework. **Chem. Sci. Eng.**, v.10, p. 103-107, 2016.

ALMADORI, G.; BUSSU, F.; GALLI, J.; LIMONGELLI, A.; PERSICHILLI, S.; ZAPPACOSTA, B.; MINUCCI, A.; PALUDETTI, G.; GIARDINA, B. Salivary glutathione and uric acid levels in patients with head and neck squamous cell carcinoma. **Head Neck**, v, 29, p.648–654, 2007.

AN, J.; GEIB, S. J.; ROSI, N. L. Cation-triggered drug release from a porous zinc-adeninate metal-organic framework. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, p. 8376–8377, 2009.

ARAGAY, G.; PONS, J.; MERKOCI, A. Recent Trends in Macro-, Micro-, and Nanomaterial-Based Tools and Strategies for Heavy-Metal Detection. **Chem. Rev.**, v.111, p.3433-3458, 2011.

AREIAS, M. C. C.; SHIMIZUB, K.; COMPTON, RICHARD G. Voltammetric detection of glutathione: an adsorptive stripping voltammetry approach. **Analyst**, v.141, p.2904-2210, 2016a.

AREIAS, M. C. C.; SHIMIZUB, K.; COMPTON, R. G. Voltammetric Detection of Captopril Using Copper(II) and an Unmodified Glassy Carbon Electrode. **Electroanalysis**, v.28, p.1524 – 1529, 2016b.

AREIAS, M. C. C.; SHIMIZUB, K.; COMPTON, R. G. Cysteine determination via adsorptive stripping voltammetry using a bare glassy carbon electrode. **Analyst**, v.141, p.5563-5570, 2016c.

ARVAND, M.M.; GHOLIZADEH, T.M. Gold nanorods–graphene oxide nanocomposite incorporated carbon nanotube paste modified glassy carbon electrode for voltammetric determination of indomethacin. **Sensors Actuators B**, v.186, p.622–632, 2013.

AVRAMESCU, A.; ANDREESCU, S.; NOGUER, T.; BALA, C.; ANDREESCU, D.; MARTY, J.L. Detection of organophosphorus insecticides with immobilized acetylcholinesterase - comparative study of two enzyme sensors. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 374, p.25, 2002.

BABU, K. F.; KUANDAINATHAN, M. A.; KATSOUNAROS, I.; RASSAEI, L.; BURROWS, A. D.; RAITHBY, P. R.; MARKEN, F. Electrocatalytic activity of Basolite (TM) F300 metal-organic framework structures. **Electrochemistry Communications**, v. 12, p. 632–635, 2010.

BAIQING, Y.; XIAOYING, Z.; CHUNYING, X., LIN, L et al. Electrochemical modification of graphene oxide bearing different types of oxygen functional species for the electro-catalytic oxidation of reduced glutathione. **Sensors and Actuators B**, v. 184, p. 15– 20, 2013.

BALD, E.; GLOWACKI, R. Analysis of saliva for glutathione and metabolically related thiols by liquid chromatography with ultraviolet detection, **AminoAcids**, v.28, p.431–433, 2005.

BARD, A. J., FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2. ed. Danvers: Wiley, 2001.

BARREIROS, L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, 2006.

BÉTARD, A.; FISCHER, R. A. Metal–Organic Framework Thin Films: From Fundamentals to Applications. **Chem. Rev.**, v. 112, p. 1055-1083, 2012.

BISWAL, B. P.; CHANDRA, S.; KANDAMBETH, S.; LUKOSE, B.; HEINE, T.; BANERJEE, R. Mechanochemical synthesis of chemically stable isoreticular covalent organic frameworks. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 135, p. 5328–5331, 2013.

BORDIGA, S. et al. Adsorption properties of HKUST-1 toward hydrogen and other small molecules monitored by IR. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 9, n. 21, p. 2676-2685, 2007.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electroanalysis**, Oxford University Press; Oxford, 1998.

BRETT, C. M. A. Electrochemical sensors for environmental monitoring. Strategy and examples. **Pure Appl. Chem.**, v. 73, p. 1969, 2001.

BROWN, F. O.; LOWRY, J. P. Microelectrochemical sensors for in vivo brain analysis: an investigation of procedures for modifying Pt electrodes using Nafion. **Analyst**, v. 128, p. 700, 2003.

BRUSCIOTTI, F.; DUBY, P. Cyclic voltammetry study of arsenic in acidic solutions. **Elettrochimica Acta**, v.52, n.24, p.6644-6649, 2007.

BURKE, L.D.; NUGENT, P. F. The ELECTROCHEMISTRY OF GOLD: II the electrocatalytic behaviour of the metal in aqueous media. **Gold Bulletin.**, v.31, p.39-50, 1998

CAO, I.; WALDON, D.; TEFFERA, Y.; ROBERTS, J.; WELLS, M.; LANGLEY, M.; ZHAO, Z. Ratios of biliary glutathione disulfide (GSSG) to glutathione (GSH): a potential index to screen drug-induced hepatic oxidative stress in rats and mice. **Anal. Bioanal.Chem.**, n. 405, p.2635–2642, 2013.

CARVALHO, F. D. et al. Glutathione and cysteine measurement in biological samples by HPLC with a glassy carbon working detector. **Biomed. Chromatogr.**, v. 8, p. 134–136, 2005.

CAUSSE, E.; MALATRAY, P.; CALAF, R.; CHARIOTS, P.; CANDITO, M.; BAYLE, C.; VALDIGUIE, P.; SALVAYRE, C.; COUDERC, F. Plasma total homocysteine and other thiols analyzed by capillary electrophoresis/laser-induced fluorescence detection: Comparison with two other methods. **Electrophoresis**, v. 21, p. 2074-2079, 2000.

CHAEMCHUEN, S.; KABIR, N. A.; ZHOU, K.; VERPOORT, F. Metal-organic frameworks for upgrading biogas via CO<sub>2</sub> adsorption to biogas green energy. **Chem. Soc. Rev.** v.42, p.9304–32, 2013.

CHAI, Y. C.; ASHRAF, S. S.; ROKUTAN, K.; JOHNSTON, JR. R. B.; THOMAS, J. A. S-thiolation of individual human neutrophil proteins including actin by stimulation of the respiratory burst: evidence against a role for glutathione disulfide. **Arch. Biochem. Biophys.** V. 310, p. 273-281, 1994.

CHENG, H.; LIANG, J.; ZHANG, Q.; TU, Y. The electrochemical behavior and oxidation mechanism of sertraline on a rutin modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 674, p. 7–11, 2012.

CHIERICATTI, C.; BASILICO, J. C.; ZAPATA BASILICO, M. L.; ZAMARO, J. M. Novel application of HKUST-1 metal-organic framework as antifungal: Biological tests and physicochemical characterizations. **Microporous Mesoporous Mater.**, v.162, p.60–63, 2012.

CHUGHTAI, A. H.; AHMAD, N.; YOUNUS, H. A.; LAYPKOVIC, A.; VERPOORT, F. Metal–organic frameworks: versatile heterogeneous catalysts for efficient catalytic organic transformations. **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, p. 6804, 2015.

CHUI, S. S.-Y. et al. A chemically functionalizable nanoporous material Cu<sub>3</sub>(TMA)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>n. *Science*, v. 283, n. 5405, p.1148-1150, 1999. CIRCU, M.L.; AW, T.Y. Glutathione and apoptosis. **Free Radical Res.** v.42, p. 689–706, 2008.

CLARKSON, P. M.; THOMPSON, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.72, n.2, p.637-646, 2000.

COHN, V. H.; LYLE, J. A fluorometric assay for glutathione. **Anal. Biochem.**, v. 14, p. 434-440, 1996.

CORMA, A.; GARCIA, H.; XAMENA, F. Engineering Metal Organic Frameworks for Heterogeneous Catalysis. **Chem. Rev.**, v.110, p.4606–4655, 2010.

DAVYDOVSKAYA, P.; RANFT, A.; LOTSCH, B. V.; POHLE, R. Analyte detection with Cu-BTC metal–organic framework thin films by means of mass-sensitive and work-function-based readout. **Anal Chem.**; v. 86, n. 14, p. 6948–6958, 2014.

DHAKSHINAMOORTHY, A.; GARCIA, H. Metal-organic frameworks as solid catalysts for the synthesis of nitrogen-containing heterocycles. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 16, p. 5750-5765, 2014.

DENG, R. R.; XIE, X. J.; VENDRELL, M.; CHANG, Y. T.; X.G. LIU, X. G. Intracellular glutathione detection using MnO<sub>2</sub>-nanosheet-modified up conversion nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, p. 20168–20171, 2011.

DEVADAS, B.; RAJKUMAR M.; CHEN, S.-M. Simultaneous Determination of Adenine and Thymine in Presence of Guanine at Electrochemically Activated Glassy Carbon Electrode. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v.8, p.5241-5249, 2013.

DEY, C.; KUNDU, T.; BISWAL, B. P.; MALLICK, A.; BANERJEE, R. Crystalline metal-Organic frameworks (MOFs): Synthesis, structure and function. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science, Crystal Engineering and Materials**, v.70, p.3–10, 2014.

DI ÍLIO, C.; SACCHETTA, P.; ANGELUCCI, S.; ZEZZA, A.; TENAGLIA, R.; ACETO, A. Glutathione peroxidase and glutathione reductase activities in cancerous and non-cancerous human kidney tissues, **Cancer Lett.**, v. 91, p. 19-23, 1995.

DINCA, M.; LONG, J. R. Hydrogen storage in microporous metal–organic frameworks with exposed metal sites. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 47, p. 6766–6779, 2008.

DIRING, S.; FURUKAWA, S.; TAKASHIMA, Y.; TSURUOKA, T.; KITAGAWA, S. Controlled Multiscale Synthesis of Porous Coordination Polymer in Nano/Micro Regimes. **Chem. Mater.**, v. 22, p. 4531-4538, 2010.

DOLPHIN, D.; POULSON, R.; AVRAMOVIC, O. **Glutathione: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects**. Vol. III. Part A. Ed. Wiley Interscience, New York. 1989.

DOMÉNECH, A.; GARCIA, H.; DOMÉNECH-CARBÓ, M. T.; LLABRÉS-I-XAMENA, F. Electrochemistry of metal-organic frameworks: a description from the voltammetry

of microparticles approach. **Journal of Physical Chemistry.**, v.111, p. 13701-13711, 2007.

DU, M.; YANG, T.; LI, X.; JIAO, K. Fabrication of DNA/graphene/polyaniline nanocomplex for label-free voltammetric detection of DNA hybridization. **Talanta**, v. 88, p. 439–444, 2012.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 82, p. 70-77, 1959.

ENSAFI, A. A.; DADKHAH-TEHRANI, S.; KARIMI-MALEH, H. Determination of 6-mercaptapurine in the presence of uric acid using modified multiwall carbon nanotubes-TiO<sub>2</sub> as a voltammetric sensor. **Drug Test. Analysis**, v. 4, n. 12, p. 970-977, 2012.

ENSAFI, A. A.; KHAYAMIAN, T.; HASANPOUR, F. Determination of glutathione in hemolysed erythrocyte by flow injection analysis with chemiluminescence detection. **J. Pharma. Biomed. Anal.**, v. 48, p. 140-144, 2008.

ENSAFI, A. A.; TAEI, M.; KHAYAMIAN, T.; KARIMI-MALEH, H.; HASANPOUR, F. Voltammetric measurement of trace amount of glutathione using multiwall carbon nano-tube as a sensor and chlorpromazine as a mediator. **J. Solid State Electrochem.**, v. 14, p. 1415-1423, 2010.

FALCARO, P. et al. Application of Metal and Metal Oxide Nanoparticles@MOFs. **Coord. Chem. Rev.**, v.307, p.237-254, 2015.

FARHA, O. K.; HUPP, J. T. Rational design, synthesis, purification, and activation of metal-organic framework materials. **Accounts of Chemical Research**, v. 43, p. 1166, 2010.

FARHA, O. K. et al. Metal-organic framework materials with ultrahigh surface areas: Is the sky the limit? **J. Am. Chem. Soc.**, v.134, p.15016–15021, 2012.

FARRUSSENG, D.; AGUADO, S.; PINEL, C. Metal-organic frameworks: opportunities for catalysis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 48, n. 41, p. 7502-7513, 2009.

FÉREY, G. Hybrid porous solids: past, present, future. **Chemical Society Reviews**, v. 37, p. 191-214, 2008.

FERRARI, C. K. B. Functional foods, herbs and nutraceuticals: towards biochemical mechanisms of healthy aging. **Biogerontology**, v. 5, p. 275-279, 2004.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, p.61-68, 1997.



FLEKER, O.; BORENSTEIN, A.; LAVI, R.; BENISVY, L.; RUTHSTEIN, S.; AURBACH, D. Preparation and Properties of Metal Organic Framework/Activated Carbon Composite Materials. **Langmuir**, v. 32, n. 19, p. 4935–4944, 2016.

FLOR, J. B. DA S. Síntese e funcionalização de Metal-Organic Frameworks (MOFs) visando aplicação como catalisadores heterogêneos em reações de conversão de CO<sub>2</sub>. **Tese de Doutorado**. Universidade Estadual Paulista. Araraquara. 2017.

FRANCO, R.; SCHONEVELD, O. J.; PAPPA, A.; PANAYIOTIDIS, M. I. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. **Arch. Physiol. Biochem**, v.113, p. 234–258, 2007.

FREI, B. Cardiovascular disease and nutrient antioxidants: role of low-density lipoprotein oxidation. **Crit Rev Food Sci Nutr.**, v. 35, p. 83-98, 1995.

FUJITA, M.; KWON, Y.J.; WASHIZU, S.; OGURA, K.J., Self-Organization of -Crown Ether Derivatives into Double-Columnar Arrays Controlled by Supramolecular Isomers of Hydrogen-Bonded Anionic Biimidazolate Ni Complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, p. 1151–1152, 1994.

FUNGARO, D. A.; BRETT, C. M. A.; Eletrodos modificados com polímeros perfluorados e sulfonados: aplicações em análises ambientais. **Quim. Nova**, v. 23, p. 805, 2000.

GALLI, A.; DE SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S. et al. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2006.

GAMBHIR, J. K.; LALI, P.; JAIN, A. K. Correlation between blood antioxidants levels and lipid peroxidation in rheumatoid arthritis. **Clin. Biochem.**, v.30, p. 351-352, 1997.

GE, S.G.; YAN, M.; LU, J.J.; ZHANG, M.; YU, F.; YU, J.H.; SONG, X.R.; YU, S.L. Electrochemical biosensor based on graphene oxide–Au nanoclusters composites for l-cysteine analysis. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 31, p.49–54, 2012.

GREEN, K.; BRAND, M. D., MURPHY, M. P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, v. 53, p. 110-118, 2004.

GOLE, B.; SANYAL, U; MUKHERJEE, P. S. A smart approach to achieve an exceptionally high loading of metal nanoparticles supported by functionalized extended frameworks for efficient catalysis. **Chem. Commun. (Camb).**, v.51, p.4872–4875, 2015.

GONZÁLEZ GARCÍA, O.; ARIÑO, C.; DÍAZ-CRUZ, J.M.; ESTEBAN, M. Comparison of voltammetric detection assisted by multivariate curve resolution with amperometric detection in liquid chromatographic analysis of cysteine containing compounds. **Journal of Chromatography A**, v.1062, p.95-101, 2005.

HALIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods Enzymol.**, v.186, p. 1-85, 1990.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? **J Pharmacol.**, v. 142, p. 231-255, 2004.

HARFIEL, D. J. C.; BATCHELOR-MCAULEY, C.; COMPTON, R. G. Electrochemical determination of glutathione: a review. **Analyst**, v. 137, p. 2285–2296, 2012.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005.

HAYES, J. D.; MCLELLAN, L. I. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defense against oxidative stress. **Free Radical Res.**, v.31, p. 273-300, 1999.

HAYES, J. D.; FLANAGAN, J. U.; JOWSEY, I. R. Glutathione transferases. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.**, v. 45, p. 51-88, 2005.

HENSTRIDGE, M.C.; SHAO, L.D.; WILDGOOSE, G.G.; COMPTON, R.G.; TOBIAS, G.; GREEN, M.L.H. The electrocatalytic properties of Arc-MWCNTs and associated 'carbon onions'. **Electroanalysis**, v.20, p.498–506, 2008.

HIERLEMANN, A.; BRAND, O.; HAGLEITNER, C.; BALTES, H. Microfabrication techniques for chemical/biosensors. **Proceedings of the IEEE**, v. 91, p. 839, 2003.

HODÁKOVÁ, J.; PREISLER, J.; FORET, F.; KUBÁN, P. Sensitive determination of glutathione in biological samples by capillary electrophoresis with green (515 nm) laser-induced fluorescence detection. **J. Chromatogr. A**, v.1391, p.102-108, 2015.

HORCAJADA, P.; GREF, R.; BAATI, T.; ALLAN, P. K.; MAURIN, G.; COUVREUR, P.; FÉREY, G.; MORRIS, R. E.; SERRE, C. Metal-organic frameworks in biomedicine. **Chem. Rev.** 2012, v. 112, p. 1232-1268, 2012.

HORIKE, S., SHIMOMURA, S.; KITAGAWA, S. Soft Porous Crystals. **Nat. Chem.**, v.1, p.695–704, 2009.

HOSSEINI, H.; AHMAR, H.; DEHGHANI, A.; BAGHERI, A.; TADJARODI, A.; FAKHARI, A. R. A novel electrochemical sensor based on metal-organic framework for electro-catalytic oxidation of L-cysteine. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 42, p. 426-429, 2013a.

HOSSEINI, H.; AHMAR, H.; DEHGHANI, A.; BAGHERI, A.; FAKHARI, A. R.; AMINI, M. M. Au-SH-SiO<sub>2</sub> nanoparticles supported on metal-organic framework (Au-SH-SiO<sub>2</sub>@Cu-MOF) as a sensor for electrocatalytic oxidation and determination of hydrazine. **Electrochimica Acta**, v. 88, p. 301-309, 2013b.

HUBER; P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, A. Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**, v. 31, n. 5, p. 1170-1179, 2008.

HUANG, G. G.; HAN, X. X.; HOSSAIN, M. K.; OZAKI, Y. Development of a heat-induced surface-enhanced raman scattering sensing method for rapid detection of glutathione in aqueous solutions. **Analytical Chemistry**, v. 81 (2009) p. 5881–5888, 2009.

HUANG, X.; EL-SAYED, M. A. Gold nanoparticles : Optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. **Journal of Advanced Research**, v.1, p.13–28, 2010.

HUANG, Y.; QIN, X.; LI, Z. et al. Fabrication of a chitosan/glucose oxidase-poly(anilineboronic acid)- Au (nano) /Au-plated Au electrode for biosensor and biofuel cell. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 31, p. 357–362, 2012.

HU, Y.; LIAO, J.; WANG, D.; LI, G. Fabrication of gold nanoparticle-embedded metal-organic framework for highly sensitive surface-enhanced raman scattering detection. **Anal. Chem.**, v.86, p.3955–3963, 2014.

HU, Y.; YANG, T.; LI, Q. et al. Conjugated self-doped polyaniline-DNA hybrid as trigger for highly sensitive reagentless and electrochemical self-signal amplifying DNA hybridization sensing. **Analyst.**, v. 138 n.4, p. 1067–1074, 2013.

INOUE, T.; KIRCHHOFF, J. R. Determination of Thiols by Capillary Electrophoresis with Amperometric Detection at a Coenzyme Pyrroloquinoline Quinone Modified Electrode. **Anal. Chem.**, v.74, p. 1349-1354, 2002.

INOUE, K.; NAMIKI, T.; IWASAKI, Y.; YOSHIMURA, Y.; NAKAZAWA, H. Determination of uric acid in human saliva by high-performance liquid chromatography with amperometric electrochemical detection. **J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.**, v.785, p.57–63, 2003.

ISLAM, N.; MIYAZAKI, K. Nanotechnology innovation system: Understanding hidden dynamics of nanoscience fusion trajectories. **Technological Forecasting and Social Change**, v. 76, n. 1, p. 128–140, 2009.

IUPAC Recommendations. Terminology of metal–organic frameworks and coordination polymers. **Pure Appl. Chem.**, v. 85, n. 8, p. 1715–1724, 2013.

JAMES, S. J.; MELNYK, S.; GAYLOR, D. W. Efficacy of methylcobalamin and folic acid treatment on glutathione redox status in children with autism. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.89, p.425–430, 2009.

JIA, G.; GAO, Y. F.; ZHANG, Z. Z. et al. Metal-organic frameworks as heterogeneous catalysts for electrocatalytic carbonylation of methanol to dimethyl carbonate. **Electrochem. Commun.**, v. 34, p. 211-214, 2013.

JIANG, H. L.; XU, Q. Porous metal–organic frameworks as platforms for functional applications. **Chemical Communications**, v. 47, p. 3351–3370, 2011.

JONES, D.P.; CARLSON, J.L.; MODY, J.V.C.; CAI, J; LYNN, M.J.; STERNBERG, J.P. Redox state of glutathione in human plasma, **Free Radical Biol. Med.**, v. 28, p. 625–635, 2000.

JOSEPH, P. D.; MANNERVIK, B.; ORTIZ DE MONTELLANO, P. **Molecular Toxicology**, 1st ed., Oxford University Press: New York, p.152-186, 1997.

KAMATA, K.; TAKAHASHI, M.; TERAJIMA, K.; NISHIJIMA, M. Spectrophotometric determination of sodium chondroitin sulfate in eye drops after derivatization with 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole. **Analyst**, v. 120, p. 2755 -2758, 1995.

KANDAR, R.; ZAKOVA, P.; LOTKOVA, H.; KUCERA, O.; CERVINKOVA, Z. Determination of reduced and oxidized glutathione in biological samples using liquid chromatography with fluorimetric detection. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 43, p. 1382-1387, 2007.

KANG, N. K.; JUN, T. S.; LA, D. D.; OH, J. H.; CHO, Y. W.; KIM, Y. S. Evaluation of the limit-of-detection capability of carbon black-polymer composite sensors for volatile breath biomarkers. **Sens. Actuators B, Chem.**, v. 147, p. 55-60, 2010.

KARIMI-MALEH, H.; KEYVANFARD, M.; ALIZAD, K.; KHOSRAVI, V.; ASNAASHARIISFAHANI, M. Electrocatalytic Determination of Glutathione Using Multiwall Carbon Nanotubes Paste Electrode as a Sensor and Isoprenaline as a Mediator. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 7, p. 6816 – 6830, 2012.

KATRUSIAK, A. E.; PATERSON, P. G.; KAMENCIC, H. Pre-column derivatization high-performance liquid chromatographic method for determination of cysteine, cysteinyl-glycine, homocysteine and glutathione in plasma and cell extracts. **J. Chromatogr. B**, v. 758, p. 207-212, 2001.

KEYVANFARD, M.; KARIMI-MALEH, H.; ALIZAD, K. Multiwall carbon nanotube paste electrode with 3,4-dihydroxy-cinnamic acid as mediator for the determination of glutathione in pharmaceutical and urine samples. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 34, p. 1883–1889, 2013

KHAN, N. A.; HAQUE, E.; JHUNG, S. H. Rapid syntheses of a metal–organic framework material Cu<sub>3</sub>(BTC)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub> under microwave: a quantitative analysis of accelerated syntheses. **Phys. Chem.**, v. 12, p. 2625- 2631, 2010.

KIM, K. J.; LI, Y. J.; KREIDER, P. B.; CHANG, C. H.; WANNENMACHER, N.; THALLAPALLY, P. K.; AHN, H. G. High-rate synthesis of Cu-BTC metal-organic frameworks. **Chemical Communications**, v. 49, n. 98, p. 11518-11520, 2013.

KIM, S.K.; KIM, D.; JEON, S. Electrochemical determination of serotonin on glassy carbon electrode modified with various graphene nanomaterials. **Sensors Actuators B**, v.174, p.285–291, 2012.

KITAGAWA, S.; KITAURA, R.; NORO, S. Functional porous coordination polymers. **Angew. Chem. Int.**, v.43, p.2334–2375, 2004.

KITAMURA, N.; TANAKA, K.; CHUJO, Y. Heat-initiated detection for reduced glutathione with  $^{19}\text{F}$  NMR probes based on modified gold nanoparticles. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 23, p. 281-286, 2013.

KLEINMAN, W. A.; RICHIE, J. P., JR. Status of glutathione and other thiols and disulfides in human plasma. **Biochem. Pharmacol.**, v. 60, p. 19–29, 2000.

KLIMAKOW, M.; KLOBES, P.; THUNEMANN, A. F.; RADEMANN, K.; EMMERLING, F. Mechanochemical Synthesis of Metal-Organic Frameworks: A Fast and Facile Approach toward Quantitative Yields and High Specific Surface Areas. **Chem. Mater.**, v. 22, p. 5216-5221, 2010.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Rev Nutr.** 2003.

KRENO, L. E. et al. Metal Organic Framework Materials as Chemical Sensors. **Chem. Rev.**, v.112, p. 1105–1125, 2012.

KUMAR, P.; DEEP, A.; KIM, K.-H. Metal organic frameworks for sensing applications. **TrAC Trends Anal. Chem.**, v.73, p.39–53, 2015.

KUMAR, R. S.; KUMAR, S. S.; KULANDAINNATHAN, M. A. Highly selective electrochemical reduction of carbon dioxide using Cu based metal organic framework as an electrocatalyst. **Electrochem. Commun.**, v. 25, p. 70-73, 2012.

KUMAR, R. S.; KUMAR, S. S.; KULANDAINATHAN, M. A. Microporous and Mesoporous Materials Efficient electrosynthesis of highly active Cu<sub>3</sub>(BTC)<sub>2</sub> MOF and its catalytic application to chemical reduction. **Microporous Mesoporous Mater.**, v.168, p.57–64, 2013.

LACOURSE, W.R.; MODI, S.J. Microelectrode Applications of Pulsed Electrochemical Detection. **Electroanalysis**, v.17, p.1141-1152, 2005.

LACOURSE, W. R., OWENS, G. S. Pulsed electrochemical detection of thiocompounds following microchromatographic separations. **Anal. Chim. Acta**, v. 307, p. 301-319,1995.

LADA, M. W.; KENNEDY, R. T. In vivo monitoring of glutathione and cysteine in rat caudate nucleus using microdialysis on-line with capillary zone electrophoresis-laser induced fluorescence detection. **Journal of Neuroscience Methods**, v.72, p. 153-159, 1997.

LAWRENCE, N.S.; DAVIS, J.; COMPTON, R.G. Electrochemical detection of thiols in biological media. **Talanta**, v. 53, p. 1089–1094, 2001.

LEE, P.T.; COMPTON, R.G. Selective electrochemical detection of thiol biomarkers in saliva using multiwalled carbon nanotube screen-printed electrodes, **Sens. Actuators, B: Chem.**, v.209, p.983–988, 2015a.

LEE, P.T.; COMPTON, R.G. Selective thiol detection in authentic biological samples with the use of screen printed electrodes. **Anal. Sci.** v.7, p.685 -691, 2015b.

LEE, P. T.; GONÇALVES, L. M.; COMPTON, R. G. Electrochemical determination of free and total glutathione in human saliva samples. **Sensors and Actuators B.** v. 221, p. 962–968, 2015.

LEE, P.T.; LOWINSOHN, D.; COMPTON, R.G. The selective electrochemical detection of homocysteine in the presence of glutathione, cysteine, and ascorbic acid using carbon electrodes. **Analyst.** v.139, p.3755–3762, 2014.

LEE, P. T.; WARD, K. R.; TSCHULIK, K. et al. Electrochemical Detection of Glutathione Using a Poly (caffeic acid) Nanocarbon Composite Modified Electrode. **Electroanalysis**, 2014.

LEE, P. Y.; JÉRÔME, F. L. D.; HERMAN, P. V. L. Electrokinetics of Diffuse Soft Interfaces. III. Interpretation of Data on the Polyacrylamide/Water Interface. **Langmuir**, v. 21, p. 6220-6227, 2005.

LEE, Y. R.; KIM, J.; AHN, W. S. Synthesis of metal-organic frameworks: A mini review. **Korean J. Chem. Eng.**, v.30, p.1667–1680, 2013.

LIANG, S. C.; WANG, H.; ZHANG, Z. M.; ZHANG, X.; ZHANG, H. S. Direct spectrofluorimetric determination of glutathione in biological samples using 5-maleimidyl-2-(*m*-methylphenyl) benzoxazole. **Anal. Chim. Acta**, v. 451, p. 211-219, 2002.

LI, G. et al. Hydrogen storage in Pd nanocrystals covered with a metal-organic framework. **Nat. Mater.**, v.13, p.802–806, 2014.

LI, J. R.; SCULLEY, J.; ZHOU, H. C. Metal-organic frameworks for separations. **Chem. Rev.**, v. 112, p. 869-932, 2012.

LI, S.; HUO, F. Metal–organic framework composites: from fundamentals to applications. **Nanoscale**, v.7, p.7482–7501, 2015.

LI, T.; YANG, M.; LI, H. Label-free electrochemical detection of cancer marker based on graphene–cobalt hexacyanoferrate nanocomposite. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.655, p.50-55, 2011.

LI, Y. X.; LIN, X. Q. Simultaneous electroanalysis of dopamine, ascorbic acid and uric acid by poly (vinyl alcohol) covalently modified glassy carbon electrode. **Sensor. Actuator.**, v. 15, p. 134–139, 2006.

LIN, K.-S.; ADHIKARI, A. K.; KU, C.-N.; CHIANG, C.-L.; KUO, H. Synthesis and characterization of porous HKUST-1 metal organic frameworks for hydrogen storage. **Int. J. Hydrogen Energy**, v.37, p.13865–13871, 2012.

LIU, B.; MA, C.; LI, Y.; KOU, Y.; LU, J.; JIANG, X.; TAN, L. Voltammetric determination of reduced glutathione using poly(thionine) as a mediator in the presence of Fenton-type reaction. **Talanta**, v. 170, p.399-405, 2017.

LOHE, M. R. et al. Heating and separation using nanomagnet-functionalized metalorganic frameworks. **Chem. Commun. (Camb)**, v.47, p.3075–3077, 2011.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Quím. Nova**, v. 29, n. 6, 2006.

LOWINSOHN, D. Desenvolvimento de um sensor para análise de lactato para amostras alimentares e biológicas. Tese de doutorado. USP. São Paulo, 2007.

LU, G. et al. Imparting functionality to a metal–organic framework material by controlled nanoparticle encapsulation. **Nat. Chem.**, v.4, p.310–316, 2012.

MANNA, L., VALVO, L., BETTO, P. Determination of oxidized and reduced glutathione in pharmaceuticals by reversed-phase high-performance liquid chromatography with dual electrochemical detection. **J. Chromatogr. A**, v. 846, p. 59-64, 1999.

MAO, J. J.; YANG, L. F.; YU, P.; WEI, X. W.; MAO, L. Q. Electrocatalytic four-electron reduction of oxygen with Copper (II)-based metal-organic frameworks. **Electrochem. Commun.**, v.19, p. 29-31, 2012.

MARCOLINO JUNIOR, H. Eletrodos voltamétricos e amperométricos para a determinação de espécies de interesse farmacêutico. Tese de doutorado em química. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de São Carlos, 2007.

MARTIN, R. L.; HARANCZYK, M. Exploring frontiers of high surface area metal-organic frameworks. **Chem. Sci.**, v.4, p.1781–1785, 2013.

MARZAL, P. C. Desenvolvimento de um eletrodo amperométrico para a determinação de glutathione em eritrócitos. Tese de doutorado. Unicamp. Campinas, 2005.

MEDEIROS, E. S.; OLIVEIRA, J. E.; FILHO, N. C.; PATERNO, L.G.; MATTOSO, L. H. C. Uso de Polímeros Condutores em Sensores. Parte 1: Introdução aos Polímeros Condutores. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.7, p. 62 – 77, 2012a.

MEDEIROS, E. S.; OLIVEIRA, J. E.; FILHO, N. C.; PATERNO, L.G.; MATTOSO, L. H. C. Uso de Polímeros Condutores em Sensores. Parte 2: Aplicações em Sensores. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.7, p. 144-158, 2012b.

MEEK, S. T.; GREATHOUSE, J. A.; ALLENDORF, M. D. Metal-organic frameworks: A rapidly growing class of versatile nanoporous materials. **Advanced Materials**, v. 23, p. 249–267, 2011.

MEILIKHOV, M. et al. Metals@MOFs - Loading MOFs with metal nanoparticles for hybrid functions. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v.24, p.3701–3714, 2010.

MLADENOV, M. Redox kinetic measurements of glutathione at the mercury electrode by means of square-wave voltammetry. The role of copper, cadmium and zinc ions. **Bioelectrochemistry**, v. 65, p. 69-76, 2004.

MODI, S.J.; LACOURSE, W.R.; SHANSKY, R.E. Determination of thio-based additives for biopharmaceuticals by pulsed electrochemical detection following HPLC. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.37, p.19-25, 2005.

MOORE, R.R.; BANKS, C.E.; COMPTON, R.G. Electrocatalytic detection of thiols using an edge plane pyrolytic graphite electrode. **Analyst**, v.129, p.755–758, 2004.

MOSES, P. R.; WIER, P.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, v. 47, p. 1882, 1975.

MURRAY, R. W. Chemically modified electrodes. **Acc. Chem. Rev.**, v. 13, p. 135, 1980.

MURRAY, L. J.; DINCA, M.; LONG, J.R. Hydrogen storage in metal–organic frameworks. **Chemical Society Reviews**, v. 38, p.1294–1314, 2009.

MUSCARI, C.; PAPPAGALLO, M.; FERRARI, D.; GIORDANO, E.; CAPANNI, C.; CALDARERA, M.; GUARNIERI, C. Simultaneous detection of reduced and oxidized glutathione in tissues and mitochondria by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography B**, v.707, p.301-307, 1998.

NAGENDRA, P.; YATHIRAJAN, H. S.; RANGAPPA, K. S. Silver salt of N-bromo-4-methylbenzenesulfonamide as a new oxidimetric reagent. **J. Indian Chem. Soc.**, v. 79, p. 602-604, 2002.

NAVARRO, J.; OBRADOR, E.; CARRETERO, J. et al. Changes in glutathione status and the antioxidant system in blood and in cancer cells associate with tumour growth in vivo. **Free Radical Biol. Med.**, v. 26, p. 410-418, 1999.

NI, P.; SUN, Y.; DAI, H.; HU, J., JIANG, S., WANG, Y., LI, Z. Highly sensitive and selective colorimetric detection of glutathione based on Ag [I] ion–3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB). **Biosens. Bioelectron.**, v. 63, p. 47–52, 2015.

NIU, L.; JIA, M.; CHEN, P. et al. Colorimetric sensors with different reactivity for the quantitative determination of cysteine, homocysteine and glutathione in a mixture. **RSC Adv.**, v. 5, p. 13042-13045, 2015.



NOORBAKHS, A.; SALIMI, A. Development of DNA electrochemical biosensor based on immobilization of ssDNA on the surface of nickel oxide nanoparticles modified glassy carbon electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 30, n.1, p. 188-196, 2011.

O'CONNELL, P. J.; GUILBAULT, G. G. Future trends in biosensor research. **Anal. Lett.**, v. 34, p. 1063, 2001.

O'Neill, L. D.; Zhang, H.; Bradshaw, D. Macro-/microporous MOF composite beads. **J. Mater. Chem.**, v.20, p.5720–5726, 2010.

ORWAR, O.; FISHMAN, H. A.; ZIV, N. E.; SCHELLER, R. H.; ZARE, R. N. Use of 2,3-naphthalenedicarboxaldehyde derivatization for single-cell analysis of glutathione by capillary electrophoresis and histochemical localization by fluorescence microscopy. **Anal. Chem.**, v. 67, p. 4261, 1995.

PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. Voltametry. **Revista Virtual de Química**, v.5, n4, 2013.

PACSIAL-ONG, E. J.; MCCARLEY, R. L.; WANG, W.; STRONGIN, R.M. Electrochemical Detection of Glutathione Using Redox Indicators. **Anal Chem.**, v. 78, p. 7577–7581, 2006.

PANG, H.; SHI, Y.F.; DU, J.M.; MA, Y.H.; LI, G.C.; CHEN, J.; ZHANG, J.S.; ZHENG, H.H.; YUAN, B.Q. Porous nickel oxide microflowers synthesized by calcination of coordination microflowers and their applications as glutathione electrochemical sensor and supercapacitors. **Electrochimica Acta**, v.15, p.256–262, 2012.

PASTORE, A.; FEDERICA, G.; BERTINIB, E.; PIEMONTE, F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. **Clin. Chim. Acta**, v. 333, p. 19–39, 2003.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos. **Quím. Nova**, v. 25, n.6, 2002.

PHAN, A.; DOONAN, C. J.; URIBE-ROMO, F. J.; KNOBLER, C. B.; O'KEEFFE, M.; YAGHI, O. M. Synthesis, Structure, and Carbon Dioxide Capture Properties of Zeolitic Imidazolate Frameworks. **Accounts of Chemical Research**, v. 43, p. 58-67, 2010.

PICCOLI, G.; FIORANI, M.; BIAGIARELLI, B.; PALMA, F.; POTENZA, L.; AMICUCCI, A.; STOCCHI, V.; Simultaneous high-performance capillary electrophoretic determination of reduced and oxidized glutathione in red blood cells in the femtomole range. **Chromatogr. A**, v. 676, p. 239, 1994.

POSSARI, R.; CARVALHAL, R. F.; MENDES, R. K.; KUBOTA, L.T. Electrochemical detection of cysteine in a flow system based on reductive desorption of thiols from gold. **Analytica Chimica Acta.**, v.575, p.172-179, 2006.

POWER, A. C; MORRIN, A. Electroanalytical Sensor Technology (Chapter 7), **Electrochemistry**, 2013.

QI, P.; WAN, Y; ZHANG, D. Impedimetric biosensor based on cell-mediated bioimprinted films for bacterial detection. **Biosensors and Bioelectronics**. v.39, n.1, p. 282-288, 2013.

QIU, J.D.; LIANGA, R.P.; WANGA, R.; FANA, L.X.; CHENA, Y.W.; XIAB, X.H. A label free amperometric immunosensor based on biocompatible conductive redox chitosanferrocene/gold nanoparticles matrix. **Biosensors and Bioelectronics**, v.25, p.852-857, 2009.

RAGGI, M.; NOBILE, L.; GIOVANNINI, A. G. Spectrophotometric determination of glutathione and of its oxidation product in pharmaceutical dosage forms. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 9, p. 1037, 1991.

RAOOF, J.B.; OJANI, R.; AMIRI-AREF, M.; BAGHAYERI, M. Electrodeposition of quercetin at a multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode as a novel and efficient voltammetric sensor for simultaneous determination of levodopa, uric acid and tyramine. **Sensors Actuators B**, v.166, p. 508–518, 2012.

RAOOF, J.B.; OJANI, R.; BAGHAYERI, M. Simultaneous electrochemical determination of glutathione and tryptophan on a nano-TiO<sub>2</sub>/ferrocene carboxylic acid modified carbon paste electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.143, p.261–269, 2009a.

RAOOF, J. B.; OJANI, R.; KARIMI-MALEH, H. Electrocatalytic oxidation of glutathione at carbon paste electrode modified with 2,7-bis (ferrocenyl ethyl) fluorene-9-one: Application as a volumetric sensor. **J. Appl. Electrochem.**, v. 39, p. 1169-1175, 2009b.

RAOOF, J. B.; OJANI, R.; KARIMI-MALEH, H. Voltammetric sensor for glutathione determination based on ferrocene-modified carbon paste electrode. **J. Solid State Electrochem.**, v. 13 (2009b) p. 1411- 1416, 2009c.

RAOOF, J. B.; TEYMOORI, N.; KHALILZADEH, M. A.; OJANI, R. A high sensitive electrochemical nanosensor for simultaneous determination of glutathione, NADH and folic acid. **Materials Science and Engineering**, v. 47, p. 77-84, 2015.

REID, M.; JAHOOOR, F. Glutathione in disease. **Curr. Opin. Clin. Nutr.**, v. 4, p. 65–71, 2001.

RIBEIRO, J. A. O. Caracterização e otimização de sensores eletroquímicos para aminas biogênicas. Tese de Doutorado. Universidade do Porto, Porto, 2013.

RICCO, R.; MALFATTI, L.; TAKAHASHI, M.; HILL, A. J.; FALCARO, P. Applications of magnetic metal–organic framework composites. **J. Mater. Chem. A**, v.1, p.13033-13045, 2013.

RICHARDSON, T. J.; SLACK, J. L.; RUBIN, M. D. Electrochromism in copper oxide thin films. **Electrochim. Acta**, v. 46, p. 2281-2284, 2001.

ROSA, A. R.; SINGH, N.; WHITAKER, E. et al. Altered Plasma Glutathione Levels in Bipolar Disorder Indicates Higher Oxidative Stress; A Possible Risk Factor for Illness Onset Despite Normal Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Levels. **Psychol. Med.**, v. 44, p. 2409-2418, 2014.

ROVER JÚNIOR, L.; FENALTI HÖEHR, N.; VELLASCO, A. P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathiona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Quím. Nova**, v. 24, n. 1, 2001.

SAFAVI, A.; MALEKI, N.; FARJAMI, E.; MAHYARI, F. A. Simultaneous electrochemical determination of glutathione and glutathione disulfide at a nanoscale copper hydroxide composite carbon ionic liquid electrode. **Analytical Chemistry**, v.81, p.7538–7543, 2009.

SALEHZADEH, H.; MOKHTARI, B.; NEMATOLLAHI, D. Selective electrochemical determination of homocysteine in the presence of cysteine and glutathione. **Electrochim. Acta.**, v. 123, p. 353–361, 2014.

SASSOLAS, A.; LECA-BOUVIER, B. D.; BLUM, L. J.; DNA biosensors and microarrays. **Chemical Reviews**. v.108, p.109–39, 2008.

SAYDAM, N.; KIRB, A.; DEMIR, O.; HAZAN, E.; OTO, O.; SAYDAM, O.; GUNER, G. Determination of glutathione, glutathione reductase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase levels in human lung cancer tissues. **Cancer Lett.**, v. 119, p. 13-19, 1997.

SCAMPICCHIO, M.; LAWRENCE, N. S.; ARECCHI, A.; SAVERIO MANNINO, S. Electrochemical Reduction of Ellman's Reagent: A Novel Selective Detection Protocol for Thiol Compounds. **Electroanalysis**, v. 19, p. 2437–2443, 2007.

SCHLESINGER, M.; SCHULZE, S.; HIETSCHOLD, M.; MEHRING, M. Evaluation of synthetic methods for microporous metal–organic frameworks exemplified by the competitive formation of  $[\text{Cu}_2(\text{btc})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$  and  $[\text{Cu}_2(\text{btc})(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})]$ . **Microporo. Mesoporo. Mater.**, v. 132, p. 121-127, 2010.

SCHLOGL, R.; ABD HAMID, S.B. Nanocatalysis: Mature Science Revisited or Something Really New? **Angewandte Chemie-International Edition**, v.43, p.1628–1637, 2004.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. **RBME.**, v. 10, p. 308-313, 2004.

SENTELLAS, S.; MORALES-IBANEZ, O.; ZANUY, M.; ALBERTI, J.J. GSSG/GSH ratios in cryopreserved rat and human hepatocytes as a biomarker for drug induced oxidative stress. **Toxicol. In Vitro.**, v. 28, p.1006–1015, 2014.

SEO, Y. K. et al. Microwave synthesis of hybrid inorganic-organic materials including porous Cu<sub>3</sub>(BTC)<sub>2</sub> from Cu(II)-trimesate mixture. **Microporous Mesoporous Mater.** V.119, p.331–337, 2009.

SEYMOUR, E. H.; WILKINS, S. J.; LAWRENCE, N. S.; COMPTON, R. G. Electrochemical detection of glutathione: an electrochemically initiated reaction pathway. **Anal. Lett.**, v. 35, 1387–1399, 2002.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev Nutr.**, v. 17, p. 227-236, 2004.

SHEKHAH, O.; LIU, J.; FISCHER, R. A.; WOLL, C. 2011. MOF thin films: existing and future applications. **Chemical Society Reviews**. v.40, p. 1081–1106, 2011.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. **European Journal of Biochemistry**, v.215, n.2, p.213-219, 1993.

SILVA, J. S. Biossensor amperométrico à base de peroxidase em matriz de bastão de grafite comercial: estudos preliminares. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2010.

SILVA, M. F. C. G. Voltametria Cíclica — Aplicações ao Estudo de Mecanismos de Reacções Induzidas por Transferência Electronica. Técnicas experimentais. Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, 1998.

SILVA, M. M. S. Contribuição De Nanomateriais No Desenvolvimento De Biossensores Para Diagnóstico Da Infecção Aguda Do Dengue. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, 2014.

SILVA, P. Lanthanide-Organic Frameworks for Optical and Catalytic Applications. Tese de Doutorado. Universidade de Aveiro, 2013.

SKOOG, D. A; HOLLER, F. J; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: **Bookman**, v.836, 2002.

SOLTANI, H.; BEITOLLAHI, H.; HATEFI-MEHRJARDI, A. H.; TAJIK, S.; TORKZADEH-MAHANI, M. Voltammetric Determination of Glutathione Using a Modified Single Walled Carbon Nanotubes Paste Electrode. **Anal. Bioanal. Electrochem.**, v. 6, n. 1, p. 67 – 79, 2014.

SOTIROPOULOU, S.; GAVALAS, V.; VAMVAKAKI, V. et al. Novel carbon materials in biosensor systems, **Biosensors and Bioelectronics**. v. 18, p. 211-215, 2003.

SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. A.; MACHADO, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. **Química Nova**, v. 27, p.790-797, 2004.

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

SOUZA, P. V. V. Desenvolvimento de biossensores para detecção de infecções virais baseados em eletrodos Quimicamente modificados. Tese de Doutorado. PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS. UFPE. Recife. 2014.

SPERLING, R. A; PARAK, W. J. Surface modification, functionalization and bioconjugation of colloidal inorganic nanoparticles. **Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.**, v.368, p.1333–1383, 2010.

SRIMUK, P.; LUANWUTHI, S.; KRITTAYAVATHANANON, A.; SAWANGPHRUK, M. Solid-type supercapacitor of reduced graphene oxide-metal organic framework composite coated on carbon fiber paper. **Electrochimica Acta**, v. 157, p. 69–77, 2015.

STAVILA, V.; TALIN, A. A.; ALLENDORF, M. D. MOF-based electronic and opto electronic devices. **Chem. Soc. Rev.**, v.43 p.5994–6010, 2014.

STOCK, N.; BISWAS, S. Topologies, M. O. F. Synthesis of Metal-Organic Frameworks ( MOFs ): Routes to Various. p.933–969, 2012.

SUGIKAWA, K.; NAGATA, S.; FURUKAWA, Y.; KOKADO, K.; SADA, K. Stable and functional gold nanorod composites with a metal-organic framework crystalline shell. **Chem. Mater.**, v.25, p.2565–2570, 2013.

TOYO'OKA, T. J. Recent advances in separation and detection methods for thiol compounds in biological samples. **Chromatogr.**, v. 877, p. 3318–3330, 2009.

TRABESINGER, A. H.; BOESIGER, P. Improved selectivity of double quantum coherence filtering for the detection of glutathione in the human brain in vivo. **Magn. Reson. Med.**, v.45, p. 708-710, 2001.

TRABESINGER, A. H.; WEBER, O. M.; DUC, C. O.; BOESIGER, P. Detection of glutathione in the human brain in vivo by means of double quantum coherence filtering. **Magn Reson Med.**, v. 42, p. 283-289, 1999.

TSIKAS, D.; RAID, R.; SANDMANN, J.; ROSSA, S.; FORSSMANN, W.-G.; FRÖLICH, J. C. Electrospray ionization mass spectrometry of low-molecular-mass S-nitroso compounds and their thiols. **Journal of Chromatography B**, v.742, p.99-108, 2000.

VASCONCELOS, W. S.; DA SILVA, G. G.; JUNIOR, S. A.; DOS ANJOS, J. V.; AREIAS, M. C. C. Voltammetric Determination of Captopril on a Glassy Carbon Electrode Modified with Copper Metal-Organic Framework. **Electroanalysis**, v.29, p.1-8, 2017.

VASHIST, S. K.; VENKATESH, A. G.; MITSAKAKIS, K.; et al. Nanotechnology Based Biosensors and Diagnostics: Technology Push versus Industrial/Healthcare Requirements. **BioNanoScience**, v. 2, n. 3, p. 115–126, 2012.

Wael, K.; Peeters, K.; Bogaert, D.; Buschop, H.; Vincze, L. Electrochemical and spectroscopic characterization of a gold electrode modified with 3, 4', 4", 4 copper(II) tetrasulphonated phthalocyanine. **Journal of electroanalytical chemistry**. v.603, p.212-218, 2007.

Wang, H.; Liang, S.-C.; Zhang, Z.-M.; Zhang, H.-S. 3-Iodoacetylaminobenzanthrone as a fluorescent derivatizing reagent for thiols in high-performance liquid chromatography. **Anal. Chim. Acta**, v.512, p. 281-286, 2004.

Wang, J. **Analytical Electrochemistry**, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2000.

Wang, J. Glucose biosensors: 40 years of advances and challenges. **Electroanalysis**, v.13, n.12, p. 983-988, 2001.

Wang, J. Nanomaterial-based electrochemical biosensors. **Analyst**, v. 130, p. 42, 2005.

Wang, S. B.; Hou, Y. D.; Lin, S.; Wang, X. C. Water oxidation electrocatalysis by a zeolitic imidazolate framework. **Nanoscale**, v.6, p.9930-9934, 2014.

White, P. C.; Lawrence, N. S.; Davis, J.; Compton, R. G. Electrochemical Determination of Thiols: A Perspective. **Electroanalysis**, v. 14, P. 89, 2002.

Wu, D. et al. Thermodynamics of methane adsorption on copper HKUST-1 at low pressure. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 6, n. 13, p. 2439-2443, 2015.

Wu, G.; Fang, Y.-Z.; Yang, S.; Lupton, J. R.; Turner, N. D. Glutathione metabolism and its implications for health. **Recent Adv. Nutr. Sci.**, p.489-492, 2003.

Xiao, J. D.; Qiu, L. G.; Ke, F.; Yuan, Y. P.; Xu, G. S.; Wang, Y. M.; Jiang, X. Rapid synthesis of nanoscale terbium-based metal-organic frameworks by a combined ultrasound-vapour phase diffusion method for highly selective sensing of picric acid. **J. Mater. Chem. A**, v. 1, p. 8745-8752, 2013.

Xu, F.; Wang, L.; Gao, M.; Jin, L.; Jin, J. Amperometric determination of glutathione and cysteine on a Pd-IrO(2) modified electrode with high performance liquid chromatography in rat brain microdialysate. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 372, p. 791-794, 2002.

Yaghi, O. M. et al. Reticular synthesis and the design of new materials. **Nature**, v.423, p.705-714, 2003.

Yaghi, O.M.; Li, H. Hydrothermal Synthesis of a Metal-Organic Framework Containing Large Rectangular Channels. **Journal of the American Chemical Society**, v. 117, p. 10401- 10402, 1995.

YAGHI, O. M.; O'KEEFFE, M. Design of Solids from Molecular Building Blocks: Golden Opportunities for Solid State Chemistry. **J.Solid State Chem.**, v. 152, p. 1-2, 2000.

YANG, L.; KINOSHITA, S.; YAMADA, T.; KANDA, S.; KITAGAWA, H., TOKUNAGA, M.; ISHIMOTO, T.; OGURA, T.; NAGUMO, R.; MIYAMOTO, A.; AND KOYAMA, M. A metal– organic framework as an electrocatalyst for ethanol oxidation. **Angewandte Chemie International. Edition**, v. 49, n. 31, p. 5348–5351, 2010.

YANG, L.; REN, X.; TANG, F.; ZHANG, L. A practical glucose biosensor based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and chitosan/nafion composite film. **Biosensors and Bioelectronics**. v.25, p. 889 -895, 2009.

YANG, T.; LI, Q.; LI, X. et al. Freely switchable impedimetric detection of target gene sequence based on synergistic effect of ERGNO/PANI nanocomposites. **Biosensors and Bioelectronics**, v.42, p.415–8, 2013.

YUAN, W.; GARAY, A.L.; PICHON, A.; CLOWES, R.; WOOD, C. D.; COOPER, A. I.; JAMES, S. L. Study of the mechanochemical formation and resulting properties of an archetypal MOF: Cu<sub>3</sub> (BTC) <sub>2</sub> (BTC= 1, 3, 5-benzenetricarboxylate). **Eng. Comm.**, v. 12, p. 4063-4065, 2010.

YUGIA. S.; ZHOU, H.-C. Recent progress in the synthesis of metal organic frameworks. **Sci. Technol. Adv. Mater.**, v.16, p.54202, 2015.

ZACHER, D.; SHEKHAH, O.; WOLL, C.; FISCHER, R. A. Thin films of metal–organic frameworks. **Chemical Society Reviews**, v. 38, p. 1418–1429, 2009.

ZARGAR, B., PARHAM, H., HATAMIE, A. Electrochemical investigation and stripping voltammetric determination of captopril at CuO nanoparticles/multi-wall carbon nanotube nanocomposite electrode in tablet and urine samples. **Anal. Methods**, v. 7, p. 1026-1035, 2015.

ZARE, H. R.; RAJABZADE, N.; NASIRIZADEH, N.; ARDAKANI, M. M. Voltammetric studies of an oracet blue modified glassy carbon electrode and its application for the simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. **J. Electroanal. Chem.**, v. 589, p. 60–69, 2006.

ZEN, J. M.; KUMAR, A. S.; TSAI, D. M. Recent updates of chemically modified electrodes in analytical chemistry. **Electroanalysis**, v. 15, p. 1073, 2003.

ZEN, J.; KUMAR, A.S.; TSAI, D. M. "Voltammetric Determination of Thallium(I) on a Prussian Blue/Cinder Paste Electrode" **Electroanalysis**, v. 15, p. 1073–1087, 2003.

ZHANG, G.J.; CHUA, J.H.; CHEE, R.E.; AGARWAL, A.; WONG, S.M. Label-free direct detection of MiRNAs with silicon nanowire biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v.24, p.2504-2508, 2009.

ZHANG, L.L., ZHAO, X.S. Carbon-based materials as supercapacitor electrodes. **Chemical Society Reviews**, v.38, p.2520–2531, 2009.

ZHANG, Y. F.; BO, X. J.; LUHANA, C. et al. Facile synthesis of a Cu-based MOF confined in macroporous carbon hybrid material with enhanced electrocatalytic ability. **Chem. Commun.**, v. 49, p. 6885-6887, 2013.

ZHANG, J. Y.; HU, Z. D.; CHEN, X. G. Quantification of glutathione and glutathione disulfide in human plasma and tobacco leaves by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. **Talanta**, v. 65, p. 986-990, 2005.

ZHAO, T.; HEBERLEIN, K.; JONAS, C.; JONES, D. P.; HU, X. New double quantum coherence filter for localized detection of glutathione in vivo. **Magn. Reson. Med.**, v. 55, p. 676-680, 2006.

ZHAO, P.; LI, N.; ASTRUC, D. State of the art in gold nanoparticle synthesis. **Coord Chem Rev.** V.257, p. 638–665, 2013.

ZHUANG, J.; CEGLAREK, D.; PETHURAJ, S.; TERFORT, A. Rapid Room-Temperature Synthesis of Metal–Organic Framework HKUST-1 Crystals in Bulk and as Oriented and Patterned Thin Films. **Adv. Func.Mater.**, v. 21,p. 1442–1447, 2011.

ZHUANG, J.; FRIEDEL, J.; TERFORT, A. The oriented and patterned growth of fluorescent metal–organic frameworks onto functionalized surfaces. **Beilstein J. Nanotechnol.**, v. 3, p 570–578, 2012.

ZHU, L.; YANG, R.; ZHAI, J.; TIAN, C. Bionzymatic glucose biosensor based on co immobilization of peroxidase and glucose oxidase on a carbon nanotubes electrode. **Biosens. Bioelectron.**, v. 23, p. 528, 2007.



# ANEXOS



## Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2016 022788 7

### Dados do Depositante (71)

---

#### Depositante 1 de 3

**Nome ou Razão Social:** Universidade Federal de Pernambuco

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 24134488000108

**Nacionalidade:** Brasileira

**Endereço:** Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:** 50670-901

**País:** Brasil

**Telefone:** (81)2126 8959

**Fax:** (81)2126 8959

**Email:** patentes\_dine.propesq@ufpe.br

**Depositante 2 de 3**

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 12671814000137

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário

**Cidade:** Campina Grande

**Estado:** PB

**CEP:** 58429-500

**País:** BRASIL

**Telefone:**

**Fax:**

**Email:**

**Depositante 3 de 3**

**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 24416174000106

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:**

**País:** BRASIL

**Telefone:**

**Fax:**

**Email:**

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO NA REDE METAL-ORGÂNICA Cu<sub>3</sub>BTC<sub>2</sub> PARA DETECÇÃO DA GLUTATIONA REDUZIDA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS

**Resumo:** DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR ELETROQUÍMICO BASEADO NA REDE METAL-ORGÂNICA Cu<sub>3</sub>BTC<sub>2</sub> PARA DETECÇÃO DA GLUTATIONA REDUZIDA EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS

A invenção refere-se ao método de preparação de um sensor eletroquímico baseado na rede metal-orgânica cobre (II) – benzeno - 1, 3, 5 – tricarboxilato (Cu<sub>3</sub>BTC<sub>2</sub>) e a aplicação do mesmo na detecção de glutatona reduzida, utilizando o método voltamétrico. O método de preparação do sensor é caracterizado por compreender os seguintes passos: (A) preparação de resina polimérica de Cu-BTC; (B) Imobilização do filme polimérico de CuBTC na superfície de um eletrodo sólido de ouro, obtendo-se um eletrodo quimicamente modificado denominado CuBTC-EAu. A glutatona é oxidada cataliticamente pelo Sensor CuBTC-EAu em solução tampão fosfato (pH 3.0), apresentando baixo limite de detecção (0.05 µM) e uma faixa de trabalho linear de 0.05-2µM, além de boa estabilidade e reprodutibilidade. A aplicabilidade potencial do sensor foi demonstrada pelo seu uso na determinação analítica da concentração de glutatona em amostras biológicas.

**Figura a publicar:** 05

## Dados do Inventor (72)

---

### Inventor 1 de 8

**Nome:** SEVERINO ALVES JUNIOR

**CPF:** 81408307472

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Professor do ensino superior

**Endereço:** Rua Marquês de Maricá, nº 12, Torre

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:** 50711-120

**País:** BRASIL

**Telefone:** (81) 212 67475

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** salvesjr@ufpe.br

### Inventor 2 de 8

**Nome:** NADJA VANESSA DE ALMEIDA FERRAZ

**CPF:** 06599760481

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua Arthur Wanderley, nº 475, apt. 301, Várzea

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:** 50740-310

**País:** BRASIL

**Telefone:** (83) 991 858682

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** nadjavanessa@hotmail.com

### Inventor 3 de 8

**Nome:** MANOEL ADRIÃO GOMES FILHO

**CPF:** 12715620497

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua Irmã Maria David, nº 154, apt. 3002, Casa Forte

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:** 52061-070

**País:** BRASIL

**Telefone:** (81) 332 06344

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** manoeladriao@yahoo.com.br

**Inventor 4 de 8**

**Nome:** RAILDA SHELSEA TAVEIRA ROCHA DO NASCIMENTO

**CPF:** 51176920472

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua Miguel Rodrigues Dantas, nº 67, Catol'í

**Cidade:** Campina Grande

**Estado:** PB

**CEP:**

**País:** BRASIL

**Telefone:** (83) 991 140203

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** raildastrn@yahoo.com.br

**Inventor 5 de 8**

**Nome:** GIVALDO GENTIL DA SILVA

**CPF:** 37259512415

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua Dr. Florentino dos Santos, nº 82, Centro

**Cidade:** Nazaré da Mata

**Estado:** PE

**CEP:**

**País:** BRASIL

**Telefone:** (81) 999 067208

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** ggentill@yahoo.com.br

**Inventor 6 de 8**

**Nome:** WELLYTON SILVA VASCONCELOS

**CPF:** 02069960390

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua do Veiga, nº292, apt. 1, Santo Amaro

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:**

**País:** BRASIL

**Telefone:** (81) 996 143831

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** wellyton@gmail.com

**Inventor 7 de 8**

**Nome:** ANA PAULA SILVEIRA PAIM

**CPF:** 51567148549

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua Azeredo Coutinho, nº 120, b 5, apt. 203, Várzea

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:** 50741-110

**País:** BRASIL

**Telefone:** (81) 212 67469

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** anaspaim@ufpe.br

**Inventor 8 de 8**

**Nome:** MADALENA CARNEIRO DA CUNHA AREIAS

**CPF:** 13854763468

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Outras ocupações não especificadas anteriormente

**Endereço:** Rua Estrada das Ubaias, nº 332, apt. 502, Casa Forte

**Cidade:** Recife

**Estado:** PE

**CEP:** 50061-080

**País:** BRASIL

**Telefone:** (81) 988 980009

**Fax:** (81) 212 68959

**Email:** areias.madalena@gmail.com



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**  
**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS – CEP/UEPB**  
**COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA.**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA/  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**PARECER DO RELATOR**

Prof.<sup>a</sup> Dra. Doralúcia Pedrosa de Araújo  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa

**Número do Protocolo:041512/2014**

**Data da 1ª relatoria PARECER DO AVALIADOR:26/11/2014**

**Pesquisador(a) Responsável:NADJA VANESSA DE ALMEIDA FERRAZ**

**Situação do parecer: Aprovado**

**Apresentação do Projeto:** O projeto é intitulado: “ESTRESSE OXIDATIVO: REPERCUSSÕES NA FADIGA EM PACIENTES COM NEOPLASIA MAMÁRIA MALIGNA DURANTE O TRATAMENTO ONCOLÓGICO”, encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba para Análise e parecer com fins de cumprimento aos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Biotecnologia em Saúde pela Rede Nordeste de Biotecnologia. O presente estudo terá como objetivo investigar a presença de alterações nos marcadores bioquímicos do estresse oxidativo em mulheres submetidas ao tratamento antineoplásico para o câncer de mama e verificar suas relações com a fadiga oncológica. Participarão da pesquisa 72 pacientes do sexo feminino com diagnóstico de neoplasia maligna mamária, submetidas à quimioterapia. Serão coletadas informações do prontuário referentes a fatores individuais, tumorais e relacionados à terapêutica instituída, e em seguida, amostras de sangue periférico serão coletadas para posterior análise. Será avaliada também, a estabilidade hemodinâmica e aplicado o questionário de fadiga FACT-F antes e após o fim do tratamento quimioterápico. A resposta terapêutica monitorada pelos marcadores do estresse oxidativo se dará pelo estudo metabólico por RMN, de modo a identificar o grau de lesões oxidativas. Os dados coletados serão organizados em um banco dados, com dupla entrada e analisados através do software STATA 13. Com este trabalho pretende-se obter um perfil de como o tratamento quimioterápico e outras variáveis influenciam o nível de fadiga apresentado pelo paciente oncológico.

**Objetivo da Pesquisa:** Investigar a presença de alterações nos marcadores bioquímicos do estresse oxidativo em mulheres submetidas ao tratamento antineoplásico para o câncer de mama e verificar suas relações com a fadiga oncológica.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:** Os riscos que podem ser encontrados na realização desse estudo fundamenta-se na recusa de algumas destas pacientes em participar das etapas desse estudo; algum constrangimento a cerca dos temas abordados no processo de aplicação dos questionários; e/ou um leve desconforto no momento da coleta sanguínea, devido ao acesso venoso. O entendimento da resposta terapêutica em face do estresse oxidativo e do processo de fadiga nos pacientes oncológicos poderá servir de subsídios para adequação do tratamento, preparação do pacientes para os possíveis impactos do tratamento, intervenções precoces e/ou desenvolvimento de futuras pesquisas na área.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:** O estudo apresenta uma fundamentação teórica estruturada atendendo as exigências protocolares do Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos, da Universidade Estadual da Paraíba, mediante a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde e RESOLUÇÃO/UEPB/CONSEPE/10/2001 que rege e disciplina este CEP.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória e Parecer do Avaliador:** Encontram-se anexados os termos de autorização necessários para o estudo.

**Recomendações:** Substituir o verbo determinar por analisar no Objetivo geral.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:** O presente estudo encontra-se sem pendências, devendo o mesmo prosseguir com a execução na íntegra de seu cronograma de atividades.