



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**ELETRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO  
COM POLIETILENOIMINA PARA DETECÇÃO DE  
ÁCIDO CAFEICO**

**FELIPE ZAMARCHI**

Florianópolis  
Julho/2019

**FELIPE ZAMARCHI**

**ELETRODO DE PASTA DE CARBONO MODIFICADO COM  
POLIETILENOIMINA PARA DETECÇÃO DE  
ÁCIDO CAFEICO**

Relatório apresentado ao Departamento de Química  
da Universidade Federal de Santa Catarina,  
como requisito parcial da disciplina de  
Estágio II (QMC 5512)

---

**Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. IOLANDA CRUZ VIEIRA  
ORIENTADORA**

**Dr<sup>a</sup>. TÂNIA REGINA SILVA  
COORIENTADORA**

Florianópolis  
Julho/2019

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a minha família. Aos meus pais, Antonio e Nilva, e a minha irmã, Priscila, por tudo que fizeram por mim e pelo apoio que deram às minhas decisões;

Agradeço também aos meus amigos. Aos que conheci ainda na escola, Amanda, Kimberly, Aline e Zani e que ainda mantemos contato, e em especial à Pamela, minha amiga desde os cinco anos e uma das pessoas que mais me incentivou a vir à Florianópolis;

Meu obrigado às pessoas que a UFSC trouxe para minha vida e que se tornaram grandes amigos: Lucas, Matheus, Vinícius, Vanessa e Duda e especialmente à Bruna e ao Dagwin pela amizade e companheirismo ao longo desses anos;

Às minhas colegas e ex-colegas de laboratório, Aline, Amanda, Eduarda, Nicole, Rávila e em especial à minha coorientadora Tânia, que me guiou nos meus primeiros passos no LaBios;

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Iolanda, pela oportunidade, pelos ensinamentos, incentivos e dedicação passados

A todos os professores que de alguma forma contribuíram para a minha formação;

À UFSC, ao CFM e ao departamento de química pela infraestrutura;

À CAPES, ao CNPq e à FAPESC pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA.....	11
2.1 Eletrodo de pasta de carbono .....	11
2.1.1 Eletrodo quimicamente modificado .....	11
2.2 Polietilenoimina .....	12
2.3 Voltametria.....	13
2.3.1 Voltametria cíclica .....	14
2.3.2 Voltametria de onda quadrada .....	16
2.4 Compostos fenólicos.....	17
2.4.1 Ácido cafeico .....	19
3. OBJETIVOS .....	21
3.1 Objetivo Geral.....	21
3.2 Objetivos Específicos.....	21
4. METODOLOGIA.....	22
4.1 Reagentes e soluções .....	22
4.2 Equipamentos .....	22
4.3 Eletrodos.....	23
4.4 Determinação do analito .....	23
4.5 Otimizações .....	24
4.5.1 Eletrólito de suporte .....	24
4.5.2 Construção do EPC/PEI.....	25
4.5.3 Parâmetros da SWV.....	25
4.6 Comparação entre EPC e EPC/PEI.....	25
4.7 Curva de calibração .....	26
4.8 Determinação em amostras reais .....	26
4.10 Segurança e tratamento de resíduos.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Estudo e escolha do composto fenólico.....	28
5.2 Otimização do método.....	30
5.2.1 Estudo do eletrólito de suporte e do pH da solução .....	30
5.2.2 Estudo da porcentagem e do volume PEI .....	30

5.2.3 Otimização dos parâmetros da SWV .....	31
5.3 Estudo da reação.....	32
5.4 Estudos eletroquímicos em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ .....	34
5.4.1 Voltametria cíclica .....	34
5.4.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica .....	34
5.4.3 Determinação da área eletroativa do eletrodo e efeito da velocidade de varredura .....	35
5.5 Comparação de resposta entre EPC e o EPC/PEI .....	37
5.6 Repetibilidade e reprodutibilidade.....	38
5.7 Curva de calibração .....	38
5.8 Determinação de ácido cafeico em amostras comerciais .....	40
6. CONCLUSÃO.....	42
7. REFERÊNCIAS.....	43

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Estrutura química do polieletrólito polietilenoimina (PEI) em sua forma linear (A) e ramificada (B).....	12
<b>Figura 2.</b> Ilustração de uma célula eletroquímica de três eletrodos, tal que (A) representa o eletrodo de trabalho, (B) o eletrodo de referência e (C) o eletrodo auxiliar.....	13
<b>Figura 3.</b> (A) Representação do sinal de excitação do potencial ao longo do tempo na voltametria cíclica. (B) Representação de um voltamograma cíclico genérico.....	15
<b>Figura 4.</b> Voltamogramas cíclicos para sistemas reversíveis (A), não reversíveis (B) e semi reversíveis (C).....	15
<b>Figura 5.</b> Voltamograma modelo para sistema reversível empregando a SWV.....	16
<b>Figura 6.</b> Representação do sinal de excitação da voltametria de onda quadrada.....	18
<b>Figura 7.</b> Estrutura química da apigenina, representando modelo de estruturas de flavonoides.....	19
<b>Figura 8.</b> Estrutura química do ácido tânico como exemplo de taninos.....	19
<b>Figura 9.</b> Estrutura química do ácido hidroxicinâmico (A) e ácido hidroxibenzóico (B).....	20
<b>Figura 10.</b> Estrutura química do ácido cafeico.....	20
<b>Figura 11.</b> Estruturas químicas de compostos fenólicos testados. (A) ácido <i>p</i> -cumárico, (B) paracetamol, (C) rutina, (D) ácido cafeico, (E) ácido ferúlico e (F) metildopa.....	24
<b>Figura 12.</b> Respostas de corrente para os compostos ácido cafeico (A), rutina (B) ácido <i>p</i> -cumárico (C), metil-dopa (D), ácido ferúlico (E) e paracetamol (F) na concentração $3,85 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , empregando o EPC/PEI.....	28
<b>Figura 13.</b> Gráfico de resposta relativa do estudo de pH.....	30
<b>Figura 14.</b> (A) Resposta relativa da concentração da solução de PEI (B) Estudo da resposta relativa do EPC/PEI pelo volume de solução de PEI.....	31
<b>Figura 15.</b> Respostas de corrente para estudo de otimização dos parâmetros da SWV: frequência, incremento e amplitude.....	32

- Figura 16.** Voltamograma cíclico da reação de oxirredução do ácido cafeico na concentração  $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .....33
- Figura 17.** Esquema da reação de oxirredução do ácido cafeico.....33
- Figura 18.** Voltamogramas cíclicos de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  na velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$  para EPC/PEI (A) e EPC (B).....34
- Figura 19.** Diagramas de Nyquist obtidos com solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  ( $5 \text{ mmol L}^{-1}$ ) em KCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), modo de circuito aberto,  $10 \text{ mV}$  de amplitude e faixa de frequência de  $0,1 - 100.000 \text{ Hz}$  para EPC/PEI (vermelho) e EPC (preto), ampliada, encontra-se o diagrama para o EPC/PEI.....35
- Figura 20.** Gráficos de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  para (A) EPC e (C) EPC/PEI e voltamogramas cíclicos referentes a cada eletrodo (B) EPC e (D) EPC/PEI, obtidos em solução  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$   $5 \text{ mmol L}^{-1}$  em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , com velocidade de varredura de  $10$  a  $100 \text{ mV s}^{-1}$  variada em intervalos de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .....36
- Figura 21.** Gráficos de  $\log i_p$  vs  $\log v$  para (A) EPC e (B) EPC/PEI obtidos em solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$   $5 \text{ mmol L}^{-1}$  em KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .....37
- Figura 22.** Voltamogramas comparando as respostas entre o EPC/PEI, em vermelho, e o EPC, em preto, para solução de ácido cafeico  $3,85 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Na ampliação encontra-se o voltamograma relativo ao EPC.....38
- Figura 23.** Curva de calibração para ácido cafeico empregando EPC/PEI.....39
- Figura 24.** Voltamogramas de onda quadrada empregando EPC/PEI nas concentrações ( $\text{mol L}^{-1}$ )  $1,25 \times 10^{-6}$  (a),  $2,49 \times 10^{-6}$  (b),  $3,72 \times 10^{-6}$  (c),  $4,95 \times 10^{-6}$  (d),  $7,39 \times 10^{-6}$  (e),  $9,80 \times 10^{-6}$  (f),  $1,5 \times 10^{-5}$  (g) e  $1,99 \times 10^{-5}$  (h).....39

### Lista de tabela

<b>Tabela 1.</b> Estruturas, respostas de corrente e de potencial dos compostos fenólicos testados.....	29
<b>Tabela 2.</b> Valores de concentração de ácido cafeico para café verde, tomilho e sálvia determinados experimentalmente.....	40
<b>Tabela 3.</b> Equação da reta, coeficientes de correlação e concentração recuperada através das curvas de calibração das amostras estudadas.....	41

## RESUMO

Neste trabalho é descrito a construção e otimização de um eletrodo de pasta de carbono modificado com o polieletrólito polietilenoimina (PEI) aplicado à determinação de ácido cafeico (AC) em amostras vegetais. A construção do eletrodo foi otimizada em relação à concentração e ao volume de solução de PEI, sendo a melhor condição obtida contendo 250  $\mu\text{L}$  de solução 1,5 % (m/V) do polieletrólito. As condições experimentais que resultaram nas melhores respostas de corrente utilizaram solução tampão acetato (pH 5,0) como eletrólito de suporte. Ademais, o eletrodo foi caracterizado em relação a sua resistência à passagem de corrente elétrica por espectroscopia de impedância eletroquímica e sua área eletroativa também foi determinada. A técnica voltamétrica selecionada para a realização das análises foi a voltametria de onda quadrada (SWV), cujos parâmetros foram investigados sendo as melhores respostas obtidas em 30 Hz de frequência, 3 mV de incremento e 70 mV de amplitude. Após a otimização dos parâmetros experimentais, a comparação da resposta do eletrodo modificado (EPC/PEI) e um eletrodo sem modificação (EPC) foi realizada através da SWV, sendo que as respostas apresentadas pelo EPC/PEI foram muito superiores ao do EPC. A reprodutibilidade das respostas do EPC/PEI foi avaliada pelo desvio padrão relativo (RDS %), sendo esse desvio igual a 5,38%. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ),  $3,48 \times 10^{-8}$  e  $1,15 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> para o ácido cafeico, respectivamente, foram obtidos a partir da curva de calibração obtida com concentrações crescente de AC de  $1,25 \times 10^{-6}$  a  $1,99 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Por fim, aplicou-se o eletrodo modificado na determinação de AC em amostras vegetais de *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis* e cápsula de multivitamínico a base de café verde sendo encontradas concentrações (mg/g)  $5,46 \pm 1,14$ ;  $1,96 \pm 0,18$  e  $3,09 \pm 0,39$ , respectivamente.

*Palavras-chave: Eletrodo de pasta de carbono, polietilenoimina, ácido cafeico.*

## 1. INTRODUÇÃO

O ácido cafeico é um composto fenólico conhecido por suas propriedades antioxidantes e por se apresentar amplamente distribuído na natureza. Essas características combinadas podem tornar tal composto um excelente conservante da indústria alimentícia, já que a oxidação é um dos principais fatores da redução do tempo de prateleira de diversos alimentos.

O fato de poder ser classificado como um conservante natural torna os compostos fenólicos, dentre eles o ácido cafeico, uma opção consideravelmente mais segura e saudável de preservar alimentos quando comparado aos aditivos artificiais comumente utilizados na indústria. Além disso, sua extração é relativamente simples e de baixo custo, visto que são várias as suas fontes. Isso viabiliza seu uso, pois o torna uma matéria prima barata. Além disso, o ácido cafeico está presente em diversas ervas e temperos muito consumidos pela população, logo a determinação de sua concentração é de grande importância, pois afeta diretamente a saúde humana, uma vez que tanto a falta quanto o excesso de antioxidantes são prejudiciais.

Apesar de já existirem reportados na literatura metodologias para a detecção de ácido cafeico, essas podem ser aperfeiçoadas. A exemplo dos métodos eletroanalíticos, onde a modificação de um eletrodo pode trazer várias vantagens referentes a detecção de diferentes analitos, especialmente no quesito sensibilidade e seletividade. No âmbito de modificadores, os polímeros, especialmente os polieletrólitos, possuem um grande potencial de aplicação, pois sua inserção no eletrodo se dá de forma fácil e a melhora da resposta obtida é alta. Logo, modificações simples em eletrodos são vantajosas, uma vez que essas são mais facilmente reproduzíveis e as possibilidades de aplicação são aumentadas.

Portanto, novas metodologias para a detecção de antioxidantes são relevantes, uma vez que essas podem apresentar limites de detecção e quantificação mais baixos comparados as metodologias já estabelecidas, tornando os resultados obtidos pelas análises mais confiáveis.

## 2. REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA

### 2.1 Eletrodo de pasta de carbono

No âmbito da eletroanalítica, eletrodo é qualquer sólido condutor ou semicondutor que, quando imerso em uma solução, pode ser utilizado para determinação de um analito a partir da análise de reações de oxirredução. Existe uma grande variedade de materiais que podem ser empregados como eletrodos, tais como ouro, platina e carbono. Dentre esses, destaca-se o eletrodo de pasta de carbono (EPC), o qual é amplamente aplicado em análises eletroquímicas devido a sua boa resposta, baixo custo e facilidade de construção e modificação.<sup>1</sup>

Os eletrodos de pasta de carbono foram primeiramente descritos por Ralph Norman Adams, em 1958, como uma alternativa ao eletrodo de mercúrio gotejante. No trabalho de Adams foi analisada a reação de oxidação do íon iodeto, cujos resultados foram descritos pelo autor como “excelentes”. Indicando que o novo dispositivo era promissor.<sup>2,3</sup>

Os EPCs são formados a partir da mistura de pó de grafite e um aglutinante, o qual deve ser um líquido orgânico hidrofóbico que impede que a pasta de carbono seja solubilizada pela solução a ser analisada. Tais componentes devem obedecer a certos critérios, sendo que o grafite deve possuir partículas do tamanho de micrometros além de estar bem distribuídas e apresentar alta pureza.<sup>4,5</sup> A pasta formada a partir da mistura do pó de grafite com o aglutinante precisa ser então inserida em um “recipiente” como um tubo de teflon ou vidro, ou mesmo uma seringa de polietileno.<sup>3</sup>

#### 2.1.1 Eletrodo quimicamente modificado

Eletrodos quimicamente modificados são caracterizados por terem sua superfície alterada. As mudanças químicas realizadas nesses dispositivos têm por objetivo melhorar a sensibilidade e a seletividade frente a certo composto ou grupo de compostos, ou mesmo proteger a superfície do eletrodo de reações não desejadas. Existem diversos exemplos de substâncias que podem ser empregadas em eletrodos com o intuito de alterar sua superfície, dentre elas destacam-se os complexos metálicos<sup>6,7</sup>, as enzimas<sup>8,9</sup>, materiais nano estruturados<sup>10,11</sup>, polímeros<sup>12,13</sup>, entre outros.<sup>14</sup>

A modificação química nos EPCs ocorre na pasta de carbono, diferentemente de outros eletrodos sólidos, como o carbono vítreo, onde o modificador é aplicado somente na superfície do sensor. As principais formas de alterar quimicamente um eletrodo de pasta de carbono se dão pela adsorção, onde uma substância é adsorvida pelo pó de grafite, pela dissolução do modificador em solvente orgânico que será adicionado à pasta ou pela mistura do pó de grafite com determinado composto sólido.<sup>1,15</sup>

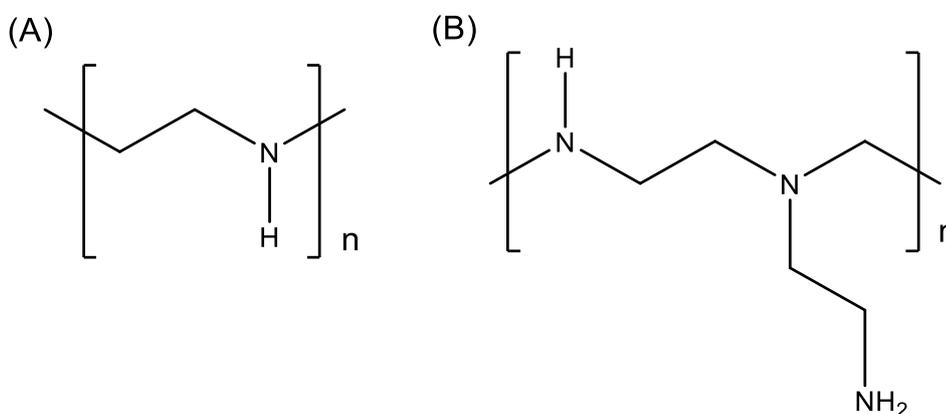
## 2.2 Polietilenoimina

Neste trabalho, o EPC será modificado pela adsorção do polieletrólito polietilenoimina (PEI) em seu material interno. Polieletrólitos são macromoléculas com grupos ionizáveis, podendo ser classificados em catiônicos, aniônicos e não-iônicos, no caso da PEI trata-se de um polieletrólito catiônico.<sup>16,17</sup>

Em soluções de pH abaixo de 6,6 a PEI tem um considerável número de grupos amino protonados, tal fato lhe confere propriedades condutoras, sendo, portanto capaz de aumentar a condutividade gerando uma maior sensibilidade do eletrodo.<sup>17,18</sup>

A PEI é encontrada em duas configurações: linear e ramificada, como apresentado na Figura 1. Na forma ramificada, a qual será utilizada nesse projeto, são encontradas três diferentes formas de aminas – secundárias e terciárias na cadeia principal e primárias nas ramificações. Já na configuração linear não há aminas primárias.<sup>18</sup>

**Figura 1.** Estrutura química do polieletrólito polietilenoimina (PEI) em sua forma linear (A) e ramificada (B).



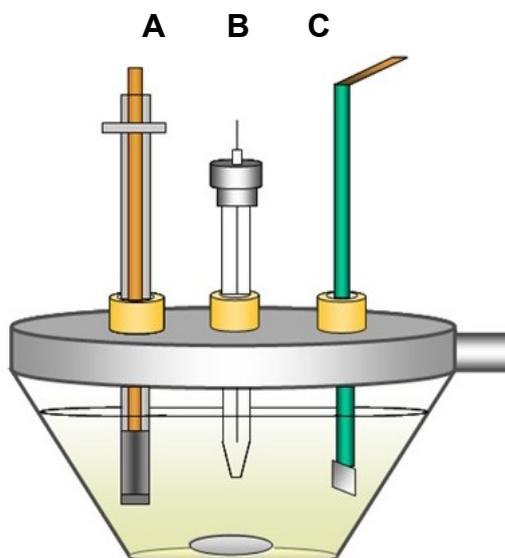
Tal polímero é utilizado como estabilizador de partículas coloidais, floculante no processo de purificação de água e na indústria de celulose fornecendo maior resistência ao papel.<sup>19</sup> Além de usos industriais a PEI possui várias aplicações na pesquisa científica, sendo muito empregada na modificação de sensores eletroquímicos, como modificador ou estabilizante de enzimas ou nanopartículas.<sup>20,21</sup>

### 2.3 Voltametria

Dentre as técnicas eletroanalíticas a voltametria é muito utilizada em diversas áreas do conhecimento. Uma das principais vantagens das técnicas voltamétricas é a possibilidade de as análises poderem ser realizadas sem, ou com mínimos, processos de preparação de amostra como pré-purificação ou separação, além de ser considerada uma técnica simples, de baixo custo, que apresenta boa sensibilidade e análises rápidas.<sup>22, 23</sup>

As análises voltamétricas são realizadas em uma célula eletroquímica, exemplificada na Figura 2, onde se faz uso de três eletrodos: o de referência, geralmente um fio de prata em solução saturada de cloreto de prata com cloreto de potássio, o eletrodo de pasta de carbono como eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar (ou contra-eletrodo), sendo comumente utilizado uma placa de platina, todos imersos em uma solução contendo o analito e o eletrólito de suporte.<sup>24, 25</sup>

**Figura 2.** Ilustração de uma célula eletroquímica de três eletrodos; (A) representa o eletrodo de trabalho, (B) o eletrodo de referência e (C) o eletrodo auxiliar (Zapp, E., 2012).



Cada eletrodo desempenha uma função: o eletrodo de referência, o qual mantém seu potencial constante durante toda a análise, tem a função de criar a diferença de potencial na célula eletroquímica juntamente com o eletrodo de trabalho, o qual se polariza, enquanto que o eletrodo auxiliar com o eletrodo de trabalho são responsáveis pela medida do fluxo de elétrons proveniente do processo redox. Os eletrodos são ligados a um potenciostato, o qual registra os dados de corrente e potencial que são processados por um computador e apresentados na forma de um gráfico de corrente por potencial, denominado voltamograma.<sup>24, 26</sup>

Os eletrodos são mergulhados em uma solução que contenha alguma espécie de eletrólito dissolvido. Caso o solvente seja a água, é possível empregar ácidos, bases ou mesmo sais como eletrólitos. Além disso, a solução pode, ou não, encontrar-se em meio tamponado, sendo que a concentração do eletrólito na solução deve ser de 50 a 100 vezes superior as concentrações das espécies estudadas.<sup>26,27</sup>

É de extrema importância que o eletrólito escolhido para a solução seja química e eletroquimicamente estável, ou seja, não deve reagir com as outras espécies presentes na solução, analitos, por exemplo, e também não deve sofrer processos de oxidação e redução na faixa de potencial estudada.<sup>26, 27</sup>

As principais razões do uso de eletrólitos de suporte em análises eletroquímicas são o aumento da condutividade elétrica do meio, facilitando a mobilidade dos elétrons, além da garantia do controle da força iônica e do pH durante as medidas.<sup>27</sup>

### **2.3.1 Voltametria cíclica**

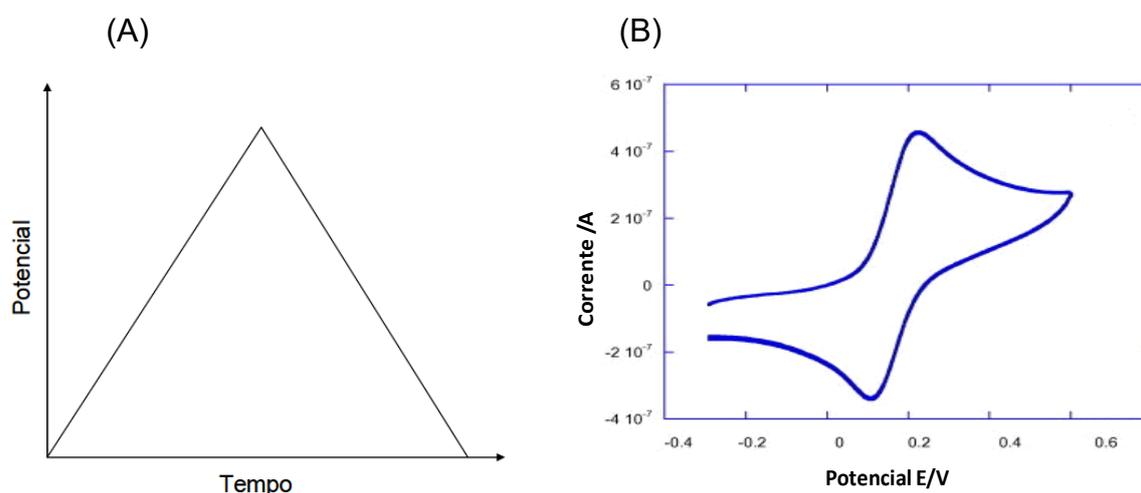
A voltametria cíclica é uma das técnicas voltamétricas mais importantes, não somente para a eletroanalítica, mas para diversos ramos da ciência, pois essa técnica é capaz de fornecer dados quantitativos e qualitativos de diversos sistemas, contudo é mais utilizada a fim de se obter informações qualitativas da reação estudada, como potenciais de oxirredução, intermediários e acompanhar reações.<sup>24, 25</sup>

Na voltametria cíclica, a varredura do potencial é feita em uma direção e, em seguida, na outra, completando um ciclo, sendo que o ponto onde ocorre a inversão é chamado de potencial de inversão. A variação do potencial ocorre de forma linear e em velocidade constante. A corrente é medida durante todo esse processo, revelando os potenciais redox, quando o potencial é varrido para regiões mais positivas ocorre a

oxidação das espécies e, no inverso, onde a aplicação do potencial se desloca para faixas mais negativas, acontece a redução.<sup>24, 25, 28,29</sup>

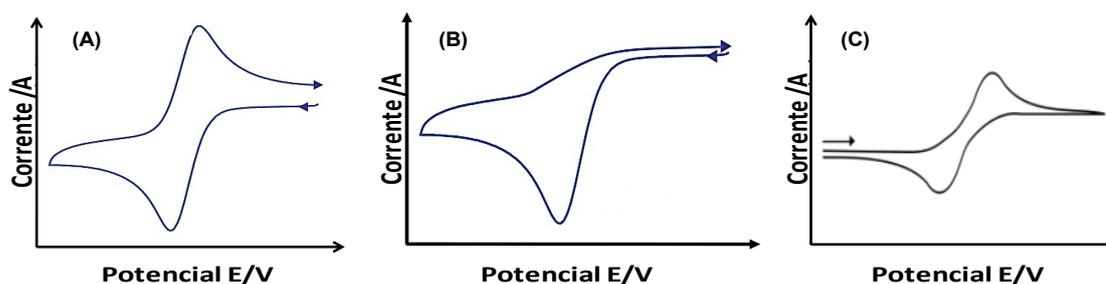
O diagrama da Figura 3 (A) representa a variação do potencial de forma linear no decorrer no tempo da análise, através dessa imagem é possível observar que o potencial inicia em determinado valor, aumenta até um máximo e cai novamente para o potencial de início. Sendo que o potencial mais alto é o potencial de inversão. Já na Figura 3 (B) é representado um voltamograma cíclico, nele se observa a variação da corrente elétrica pela variação de potencial, além dos potenciais de oxidação e redução do composto.<sup>30, 31</sup>

**Figura 3.** (A) Representação do sinal de excitação do potencial ao longo do tempo na voltametria cíclica. (B) Representação de um voltamograma cíclico genérico (adaptado de BRONDANI, D., 2010).



A partir da análise do voltamograma cíclico gerado é possível determinar a reversibilidade do composto estudado, podendo ser classificada como: reversível, irreversível ou quase-reversível, como apresentado na Figura 4.<sup>32</sup>

**Figura 4.** Voltamogramas cíclicos para sistemas reversíveis (A), irreversíveis (B) e quase-reversíveis (C).

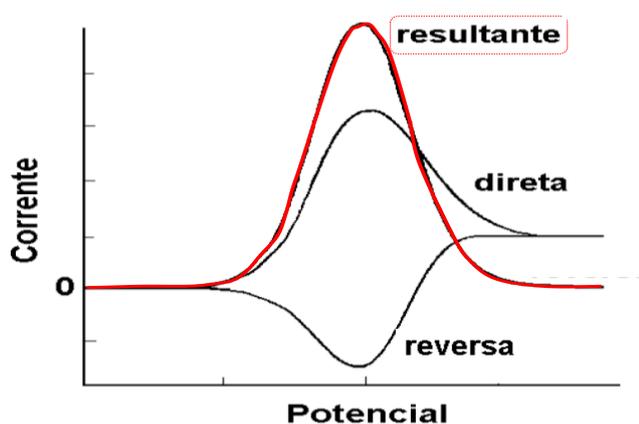


### 2.3.2 Voltametria de onda quadrada

Neste trabalho as análises serão realizadas utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV). Essa é uma das técnicas eletroquímicas de pulso mais utilizadas devido a sua alta sensibilidade, alcançando limites de detecção e quantificação muito baixos, comparáveis às técnicas cromatográficas e espectrométricas. O voltamograma gerado em uma SWV apresenta, geralmente, um único pico, sendo a corrente desse pico igual a soma das correntes dos picos anódico e catódico, como apresentado na Figura 5. Esse fato confere à SWV uma maior sensibilidade, sendo capaz de detectar menores concentrações de analito. Além disso, a técnica é realizada em pouco tempo, promovendo uma alta frequência analítica.<sup>24, 33</sup>

A Figura 5 apresenta um esquema genérico de voltamogramas obtidos para um sistema reversível. Entretanto, a SWV pode também ser utilizada para sistemas quase-reversíveis e irreversíveis, os quais são comuns quando se trata de compostos orgânicos.<sup>33</sup>

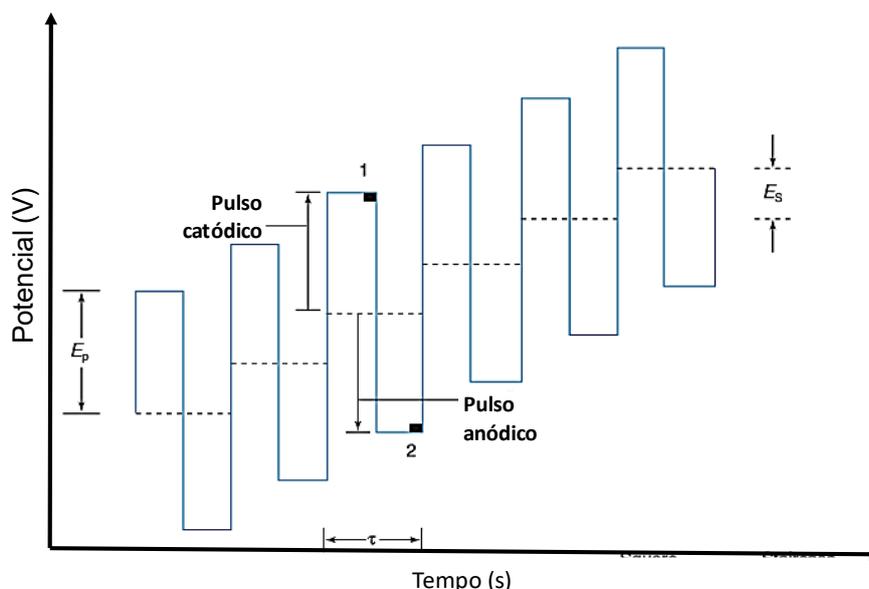
**Figura 5.** Voltamograma modelo para sistema reversível empregando a SWV. Destacando as correntes reversa e direta, cuja soma é apresentada pelo pico resultante (adaptado de SOUZA *et al.*, 2003).



Na SWV a corrente é medida no início e no final do pulso de potencial, conforme apresentado na Figura 6, onde o número 1 indica a medida de corrente do pico catódico e o número 2 a medida da corrente anódica. É também apresentada na Figura 6 a configuração da variação do potencial, sendo perceptível que essa variação se dá através de uma rampa crescente de potenciais.<sup>24</sup>

A Figura 6 apresenta a influência de cada um dos parâmetros no pulso de potencial no decorrer do tempo. Onde  $E_p$  representa a amplitude ou altura do pulso,  $E_s$  indica o incremento ou a quantidade de potencial que será adicionada a cada pulso e  $\tau$  representa a frequência de aplicação do pulso.<sup>24</sup>

**Figura 6.** Representação do sinal de excitação da voltametria de onda quadrada (adaptado de HARRIS, 2005).



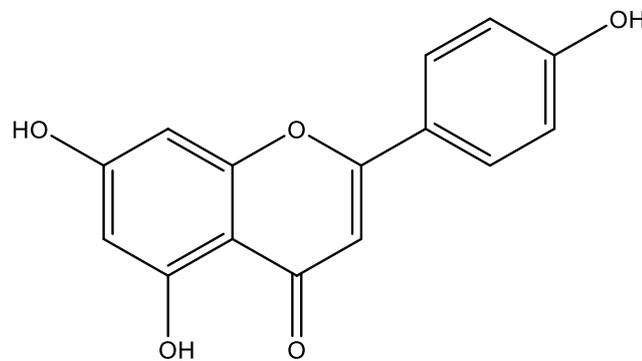
## 2.4 Compostos fenólicos

Dentre as várias classes de compostos que podem ser avaliadas pelas técnicas voltamétricas, está a classe dos compostos fenólicos. Os quais, por definição, possuem um anel aromático com uma ou mais hidroxilas como substituintes. Devido a diferentes ramificações no anel, sua estrutura e, conseqüentemente, suas propriedades variam de composto para composto. Devido ao grupo hidroxila, os compostos fenólicos possuem atividade antioxidante neutralizando radicais livres. Fato esse que possibilita seu uso como conservante de alimentos, prolongando a vida útil dos mesmos.<sup>34, 35</sup>

Esses compostos são encontrados em todas as espécies vegetais. As plantas produzem e acumulam uma gama de substâncias fenólicas justamente pela sua capacidade de combater radicais livres, os quais são formados como subprodutos do processo de fotossíntese, além de auxiliarem na recuperação de danos físicos na estrutura da planta.<sup>36</sup>

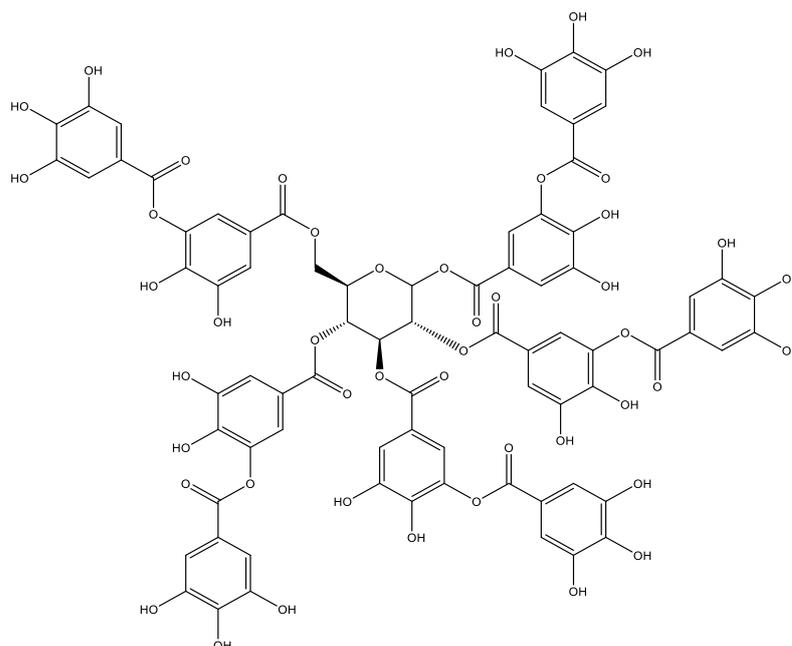
Os compostos fenólicos são classificados em três diferentes grupos de acordo com sua estrutura, tais classes são: flavonoides, taninos e ácidos fenólicos. Flavonoides são compostos que possuem em sua estrutura base dois anéis aromáticos ligados por uma ponte de três carbonos, tal que deve haver pelo menos uma hidroxila ligada a um dos anéis aromáticos. A Figura 7 mostra um exemplo de estrutura à base de flavonoides. Alguns flavonoides são responsáveis pela coloração alaranjada, vermelha e roxa de diversos vegetais. Estudos apontam que sua ingestão diminui as chances de desenvolvimento de câncer e doenças cardíacas.<sup>37-39</sup>

**Figura 7.** Estrutura química da apigenina, representando modelo de estruturas de flavonoides.



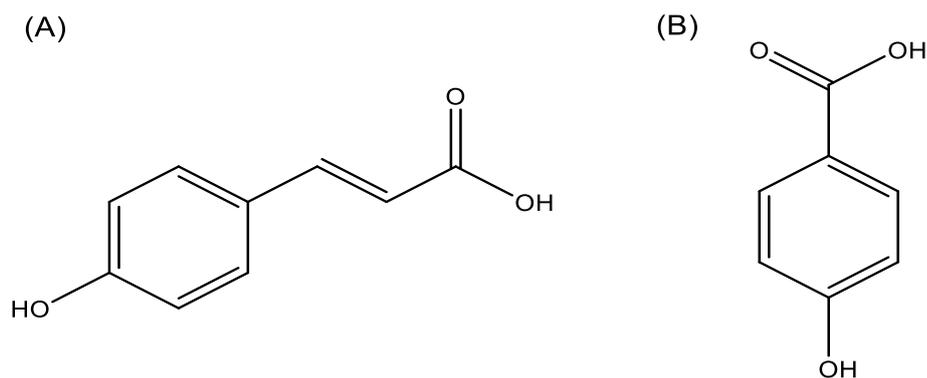
Taninos são polifenóis de alta massa molar solúveis em água, amplamente encontrados em diversas espécies vegetais, a Figura 8 apresenta a estrutura do ácido tânico, exemplo de tanino. Tais compostos também possuem propriedades antifúngicas, além de prover característica adstringente a certas plantas.<sup>40</sup>

**Figura 8.** Estrutura química do ácido tânico como exemplo de taninos.



Os ácidos fenólicos são caracterizados por conter em sua estrutura, além do grupo fenol, um grupo de ácido carboxílico. Esses compostos podem ser derivados do ácido hidroxibenzóico ou do ácido hidroxicinâmico, cujas estruturas são representadas na Figura 9, exemplos de derivados do ácido hidroxicinâmico são o ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico e o ácido cafeico.<sup>41</sup>

**Figura 9.** Estrutura química do ácido hidroxicinâmico (A) e ácido hidroxibenzóico (B).

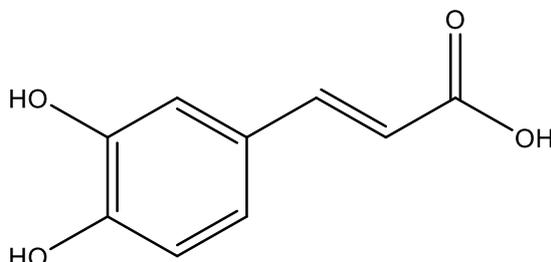


#### 2.4.1 Ácido cafeico

O ácido cafeico (AC) (ácido 3-(3,4-di-hidroxifenil)2-propenóico), cuja estrutura química é apresentada na Figura 10, é um composto fenólico derivado do ácido hidroxicinâmico, sendo um dos fenólicos mais amplamente distribuídos nas espécies vegetais. Esse ácido é encontrado em variados alimentos, ervas e bebidas, tais como:

café<sup>42</sup>, vinhos<sup>43</sup>, maçãs<sup>43</sup>, chá verde<sup>43</sup>, cogumelos comestíveis<sup>44</sup>, orégano<sup>45</sup>, tomilho<sup>45</sup> entre outros<sup>42-45</sup>, além de medicamentos de uso comum pela população, em especial aqueles que contêm própolis em sua composição.<sup>46,47</sup>

**Figura 10.** Estrutura química do ácido cafeico.



A presença de hidroxilas em posição *orto* uma a outra, faz com que o ácido cafeico tenha uma maior atividade antioxidante quando comparado a compostos que contenham apenas uma hidroxila, como o ácido ferúlico. A razão dessa melhora nas propriedades antioxidantes se dá devido a alta estabilização de sua forma oxidada.<sup>36</sup>

Além das propriedades antioxidantes conferidas a todos os compostos fenólicos, o ácido cafeico também possui propriedades anti-carcinogênicas<sup>48</sup>, antimicrobianas<sup>49</sup> e estudos apontam que o AC tem potencial para uso como agente fotoprotetor quando aplicado em cosméticos para a pele.<sup>50, 51</sup>

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Desenvolver um eletrodo de pasta de carbono modificado com polietilenoimina (EPC/PEI) e aplicá-lo detecção de ácido cafeico em amostras de chás, temperos ou medicamentos.

#### 3.2 Objetivos Específicos

- Testar compostos fenólicos (ácido *p*-cumárico, paracetamol, rutina, ácido cafeico, ácido ferúlico e metildopa) e selecionar um analito para determinação;
- Estudar a natureza do eletrólito de suporte;
- Avaliar a influência do volume e da concentração da solução de polietilenoimina na construção e resposta do eletrodo;
- Otimizar os parâmetros da voltametria de onda quadrada;
- Comparar as respostas do EPC/PEI frente a um eletrodo de pasta de carbono sem modificação;
- Determinar a área eletroativa e a impedância do eletrodo modificado comparando com eletrodo sem modificação;
- Construir uma curva de calibração para o composto fenólico selecionado;
- Determinar a concentração do composto fenólico selecionado em amostra comercial.

## 4. METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biossensores, LaBios, no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

### 4.1 Reagentes e soluções

Os reagentes utilizados no preparo de todas as soluções foram de grau analítico e, portanto, não passaram por processos de purificação.

As soluções de ácido cafeico (Fluka), ácido *p*-cumárico (Sigma-Aldrich) e ácido ferúlico (Sigma-Aldrich) foram preparadas com água ultrapura purificada em sistema Milli-Q® (Millipore) e etanol absoluto (Synth), na proporção 1:1, já as soluções de paracetamol (Sigma-Aldrich), rutina (Sigma-Aldrich) e metildopa (Sigma-Aldrich) utilizaram somente água ultrapura como solvente. Todas as soluções foram confeccionadas em temperatura ambiente, sendo preparadas no dia da análise e descartadas posteriormente.

A solução de polietilenoimina (Sigma-Aldrich) também foi confeccionada com água ultrapura e o armazenamento da solução se deu em frasco âmbar em geladeira.

A solução tampão fosfato foi feita utilizando fosfato monopotássico (Neon) e fosfato dipotássico (Neon), tendo seu pH ajustado para 6,0, 7,0 e 8,0 em três soluções distintas. A solução tampão acetato foi preparada usando ácido acético (Neon) e acetato de sódio (Neon) também em três soluções distintas em pH 3,0, 4,0 e 5,0. O pH das soluções foi ajustado utilizando ácido clorídrico 2,0 mol L<sup>-1</sup> (Neon) ou hidróxido de sódio 6,0 mol L<sup>-1</sup> (F.Maia).

As amostras empregadas para determinação da concentração de ácido cafeico foram adquiridas no comércio local.

Para construção do eletrodo de pasta de carbono foi utilizado pó de grafite (Fischer Scientific) e Nujol (Sigma-Aldrich) como aglutinante.

### 4.2 Equipamentos

O pH dos eletrólitos de suporte foi medido utilizando um pHmetro Micronal modelo B474 com eletrodo de vidro combinado. Para os processos que necessitaram de pesagem, incluindo massa de reagentes e de amostras, fez-se uso de uma balança analítica Marte AY220 ou Shimadzu AUW220D, dependendo da precisão necessária.

As medidas voltamétricas foram realizadas em uma cela eletroquímica de vidro com três eletrodos acoplados. Um eletrodo Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L<sup>-1</sup>) como eletrodo de referência, uma placa de platina como contra-eletrodo e o EPC/PEI como eletrodo de trabalho. A cela contendo os eletrodos foi conectada ao potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 101, e os dados obtidos processados em um computador com o software NOVA 1.10.

### 4.3 Eletrodos

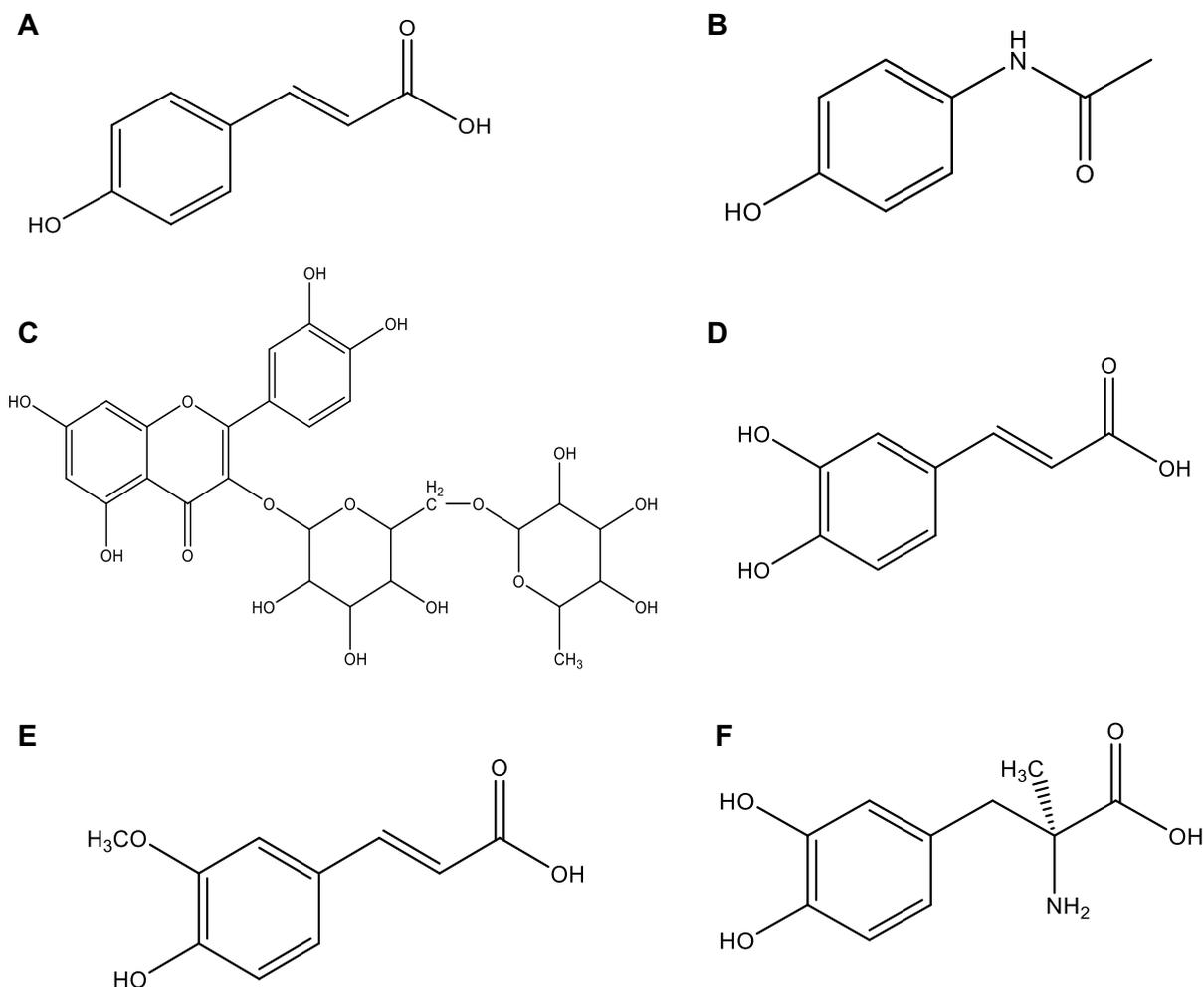
O eletrodo de trabalho foi construído utilizando 150 mg de pó de grafite e 100 µL de solução de polietilenoimina 1,5 % (m/V), tal concentração e volume foram variados conforme descrito na seção 4.5.2. Em seguida, essa mistura foi seca em dessecador com bomba de vácuo sendo então transferida para um almofariz. Quatro gotas de Nujol foram adicionadas neste material e macerado por 10 minutos. A construção do eletrodo deu-se pela inserção da pasta formada em uma seringa sendo a mesma comprimida por um fio de cobre, o qual atua como contato elétrico.

Para construção do EPC o processo ocorreu seguindo a mesma metodologia da aplicada ao EPC/PEI, exceto pela adição da solução polimérica de PEI e consequente secagem.

### 4.4 Determinação do analito

Tendo como objetivo a escolha de um analito, uma série de compostos fenólicos foi selecionada, dentre eles o ácido *p*-cumárico, paracetamol, rutina, ácido cafeico, ácido ferúlico, metildopa, cujas estruturas químicas são apresentadas na Figura 11, para análise do desempenho do eletrodo. Todas as soluções avaliadas se encontravam com a mesma concentração e o mesmo eletrodo modificado foi utilizado para comparação das respostas do EPC. O composto que apresentou a maior e mais reprodutível resposta de corrente foi selecionado como analito para o desenvolvimento desse trabalho.

**Figura 11.** Estruturas químicas de compostos fenólicos testados. (A) ácido *p*-cumárico, (B) paracetamol, (C) rutina, (D) ácido cafeico, (E) ácido ferúlico e (F) metildopa.



Nessa etapa, o EPC/PEI foi modificado com um volume de 100  $\mu$ L de uma solução de PEI a 1,5 % (m/V) e tampão acetato no pH 5,0 como eletrólito de suporte.

#### 4.5 Otimizações

Tendo em vista melhorar a sensibilidade do eletrodo proposto, diversos fatores foram otimizados, tanto no que diz respeito a construção do eletrodo, quanto a parâmetros da técnica voltamétrica.

##### 4.5.1 Eletrólito de suporte

Após a seleção do analito, foi analisada o melhor desempenho do eletrodo em diferentes eletrólitos de suporte, variando-se a solução tampão e o pH. Foram estudados tampões acetato nos pH 3,0; 4,0 e 5,0 e fosfato nos seguintes pH: 6,0; 7,0

e 8,0. As soluções tampão foram preparadas na concentração  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , o seu pH ajustado com soluções de hidróxido de sódio  $6,0 \text{ mol L}^{-1}$  e ácido clorídrico  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ . A solução e seu respectivo pH que apresentou a melhor resposta de corrente para o composto analisado foi selecionada para a continuidade do projeto.

#### **4.5.2 Construção do EPC/PEI**

Um dos mais importantes parâmetros da otimização ocorre na construção do EPC/PEI, uma vez que dois fatores precisam ser estudados, a concentração da solução polimérica e o volume aplicado ao pó de grafite, o qual, em ambos os procedimentos teve sua massa fixada em 150 mg.

Primeiro, construiu-se eletrodos conforme procedimento descrito na Seção 4.3, cuja concentração da solução de PEI variou de 0,25 a 2,0 % (m/V), mantendo o volume aplicado fixo em  $100 \mu\text{L}$ .

No estudo da variação do volume aplicado ao pó de grafite, novos eletrodos foram construídos, fixando-se a concentração previamente estabelecida como ótima e variando a quantidade de solução utilizada no eletrodo. Estudaram-se volumes de 50 a  $250 \mu\text{L}$  e, em ambos os estudos, as condições que ofereceram as melhores respostas de corrente foram fixadas como ótimas.

#### **4.5.3 Parâmetros da SWV**

Devido a sua velocidade e maior sensibilidade, utilizou-se a voltametria de onda quadrada para as determinações, essa técnica possui três parâmetros otimizáveis: incremento, frequência e amplitude. Para selecionar as melhores condições, estudou-se o comportamento da reação variando um dos parâmetros enquanto os outros dois permaneceram fixos. Ao selecionar um parâmetro como ótimo, o mesmo foi mantido fixo durante a otimização dos outros.

Avaliou-se a faixa de incremento de 1 a 10 mV, em intervalos de 1 mV; a frequência de 10 a 100 Hz, cuja variação foi de 10 Hz por análise e a amplitude de 10 a 100 mV, em intervalos de 10 mV.

#### **4.6 Comparação entre EPC e EPC/PEI**

Ao fim do processo de otimização comparou-se as respostas de corrente obtidas pelo EPC e pelo EPC/PEI, ambas as análises realizadas nas melhores condições de trabalho e para a mesma concentração de analito. Com isso, foi possível verificar o aumento de sensibilidade provocado no eletrodo devido a sua modificação.

#### **4.7 Curva de calibração**

A curva de calibração foi construída utilizando a técnica de adição de padrão, para essa metodologia volumes crescentes de solução estoque do analito são adicionados na célula eletroquímica, sendo que análises são realizadas a cada adição de solução. A partir da equação da reta gerada, determinou-se os limites de detecção e quantificação, além da avaliação da linearidade das respostas obtidas, através do coeficiente de correlação, com o método proposto.

#### **4.8 Determinação em amostras reais**

A determinação do ácido cafeico foi realizada da seguinte forma: pesou-se 1,0456 g e 1,0500 g de tomilho (*Thymus vulgaris*) e sálvia (*Salvia officinalis*), respectivamente, ambos secos. Também foi empregado como amostra o conteúdo de uma cápsula de um complexo vitamínico de café verde, cuja massa foi igual a 0,5999 g. As amostras foram dispostas em béqueres individuais e 10,0 mL de água ultrapura a 40 °C foram adicionadas às ervas e ao conteúdo da cápsula. O sistema foi deixado sobre chapa de aquecimento com controle de temperatura, a qual foi mantida a 40 °C, por 10 minutos com agitação magnética constante. Do extrato produzido coletou-se alguns mililitros, os quais foram acondicionados em eppendorfs e centrifugados a 13.000 rpm por 3 min. O sobrenadante foi empregado nas análises e nenhum outro preparo ou método de purificação da amostra foi utilizado para as análises.

Para a construção da curva de calibração, o método de adição de padrão foi selecionado, essa metodologia é indicada quando a composição da matriz é complexa e pode afetar as respostas obtidas. Nesse método, uma alíquota de volume conhecido do extrato foi adicionada na cela eletroquímica, e a análise foi realizada. Na sequência, foram adicionados volumes conhecidos de solução padrão do AC, sendo que a cada alíquota adicionada leituras foram realizadas. A concentração do composto foi determinada a partir da equação de reta gerada.

#### **4.10 Segurança e tratamento de resíduos**

A maior parte dos resíduos gerados no LaBios compreende a classe de resíduos aquosos, sendo raro o uso de solventes orgânicos. Os resíduos aquosos são compostos em sua maioria de soluções tampão e soluções de compostos fenólicos. O descarte dos tampões é realizado após a correção de seu pH, já as soluções com os compostos fenólicos, se utilizarem água como solvente, não possuem necessidade

de tratamento, uma vez que esses compostos são amplamente distribuídos na natureza e se degradam rapidamente na presença de oxigênio. Caso se faça necessário o uso de solventes orgânicos, os resíduos desses serão armazenados e posteriormente coletados por uma empresa contratada da UFSC para tratamento.

No âmbito de resíduos sólidos, como luvas e ponteiros, as mesmas são armazenadas no laboratório, sendo depois coletadas e incineradas pela mesma empresa contratada pela universidade.

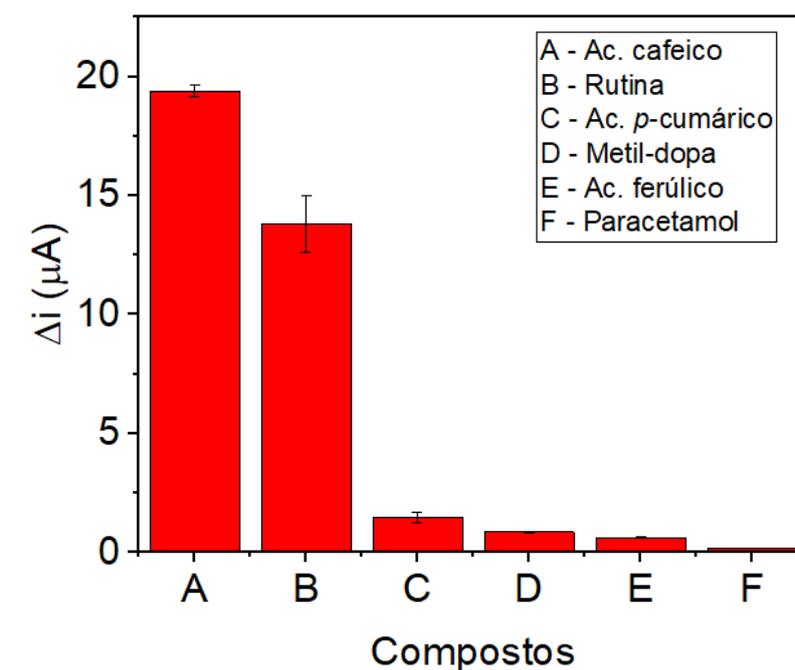
Em relação à segurança, sempre se fará uso de vestimenta adequada e, para qualquer manipulação de reagentes, será utilizado jaleco e, se necessário, luva e capela.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

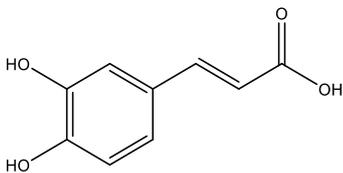
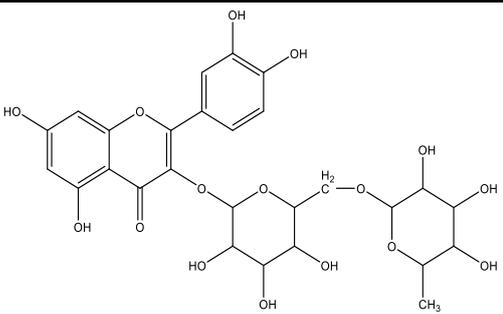
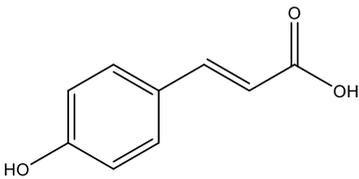
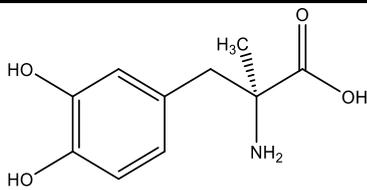
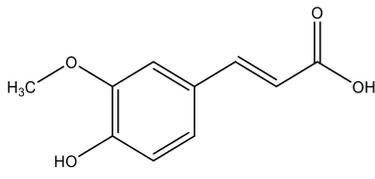
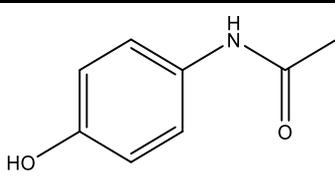
### 5.1 Estudo e escolha do composto fenólico

Inicialmente, os compostos fenólicos: ácido cafeico (AC), ácido ferúlico (AF), ácido *p*-cúmarico (ApC), metildopa (Met), paracetamol (PA) e rutina (Rut) foram selecionados e as respostas usando o EPC/PEI foram avaliadas. Para as análises foi empregada uma concentração de  $3,85 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  das soluções dos analitos sendo utilizado solução tampão acetato de pH 5,0 como eletrólito de suporte. A Figura 12 mostra as respostas de corrente ( $\mu\text{A}$ ) para os compostos testados e a Tabela 1 mostra a estrutura, valores de corrente e do potencial (V) obtidos através da técnica de voltametria de onda quadrada.

**Figura 12.** Respostas de corrente para os compostos: ácido cafeico (A), rutina (B) ácido *p*-cumárico (C), metil-dopa (D), ácido ferúlico (E) e paracetamol (F) na concentração  $3,85 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , empregando o EPC/PEI e SWV.



**Tabela 1.** Estrutura, resposta de corrente e de potencial dos compostos fenólicos testados.

Composto	Estrutura	Corrente ( $\mu\text{A}$ )	Potencial (V)
Ácido Cafeico		19,40	0,322
Rutina		13,10	0,385
Ácido <i>p</i> -Cumárico		1,47	0,620
Metildopa		0,842	0,302
Ácido Ferúlico		0,612	0,453
Paracetamol		0,198	0,529

Como pode ser observado na Tabela 1 e Figura 12, percebe-se que o ácido cafeico foi o composto que obteve a maior resposta de corrente, o que significa que o EPC/PEI possui maior sensibilidade na detecção deste composto, portanto, foi esse o analito escolhido para o desenvolvimento deste trabalho.

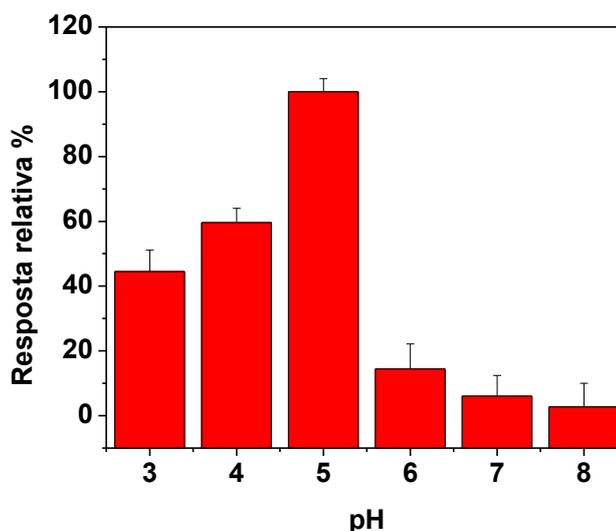
## 5.2 Otimização do método

### 5.2.1 Estudo do eletrólito de suporte e do pH da solução

Para selecionar o melhor eletrólito de suporte e pH da solução, analisou-se duas soluções tampão: acetato e fosfato, ambas  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , as quais tiveram seu pH variado de 3,0 a 5,0 e de 6,0 a 8,0, respectivamente. A solução padrão utilizada para o estudo foi o ácido cafeico na concentração de  $3,85 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

A Figura 13 apresenta a média das respostas das análises, feitas em duplicata, usando as soluções tampão. O eletrólito que exibiu a maior resposta foi a solução tampão acetato pH 5,0, seu valor de corrente foi considerado igual a 100% e os demais resultados das análises estão plotados em função da maior resposta. A solução tampão acetato pH 5,0 foi escolhida como eletrólito de suporte nos estudos decorrentes.

**Figura 13.** Resposta relativa do EPC/PEI para AC em solução tampão acetato (pH 3,0, 4,0 e 5,0) e fosfato (6,0, 7,0 e 8,0).

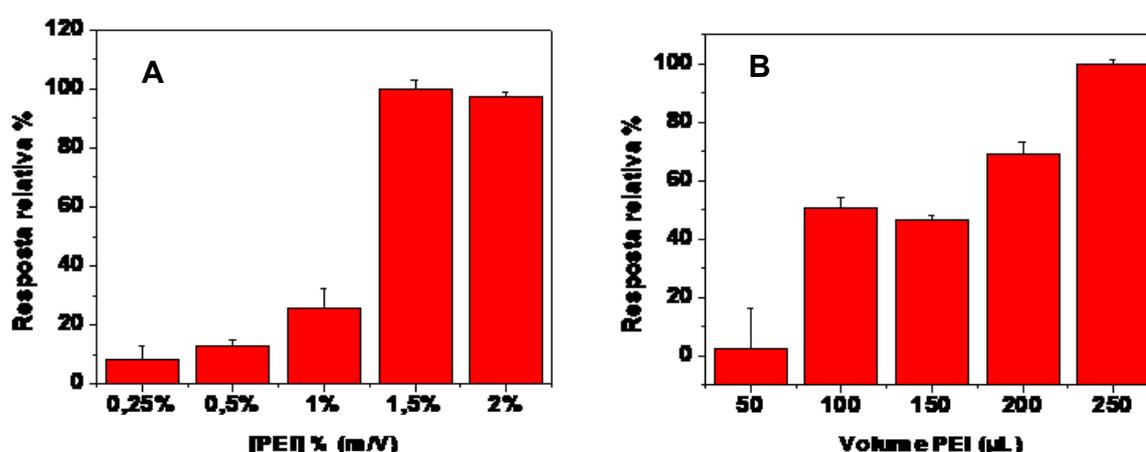


### 5.2.2 Estudo da porcentagem e do volume PEI

Para avaliar a influência da concentração e do volume da solução de PEI na sensibilidade do eletrodo foram realizados dois estudos, ambos utilizando AC  $3,85 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . Primeiramente, construiu-se eletrodos com diferentes porcentagens de PEI variando de 0,25 a 2,0 % (m/V), onde o volume total de solução empregado em cada eletrodo foi fixado em  $100 \mu\text{L}$ . De acordo com a Figura 14 (A), a melhor resposta foi obtida na porcentagem de 1,5 % (m/V), sendo essa utilizada nos próximos estudos.

Após avaliar a % da solução de PEI sobre a resposta do eletrodo, estudou-se a influência do volume da solução polimérica adicionado na pasta. Foram construídos eletrodos com volumes de 50, 100, 150, 200 e 250  $\mu\text{L}$  da solução polimérica na porcentagem de 1,5 % (m/V). Pode-se observar na Figura 14 (B) que a maior resposta foi obtida com 250  $\mu\text{L}$ , logo, esse volume foi utilizado na construção dos demais eletrodos.

**Figura 14.** (A) Estudo da % da solução de PEI e do (B) volume de solução de PEI sobre a resposta relativa do EPC/PEI para AC.



Não foram construídos e avaliados eletrodos com volumes superiores a 250  $\mu\text{L}$ , pois esses necessitariam de um período de secagem muito longo, tornando a frequência analítica baixa.

### 5.2.3 Otimização dos parâmetros da SWV

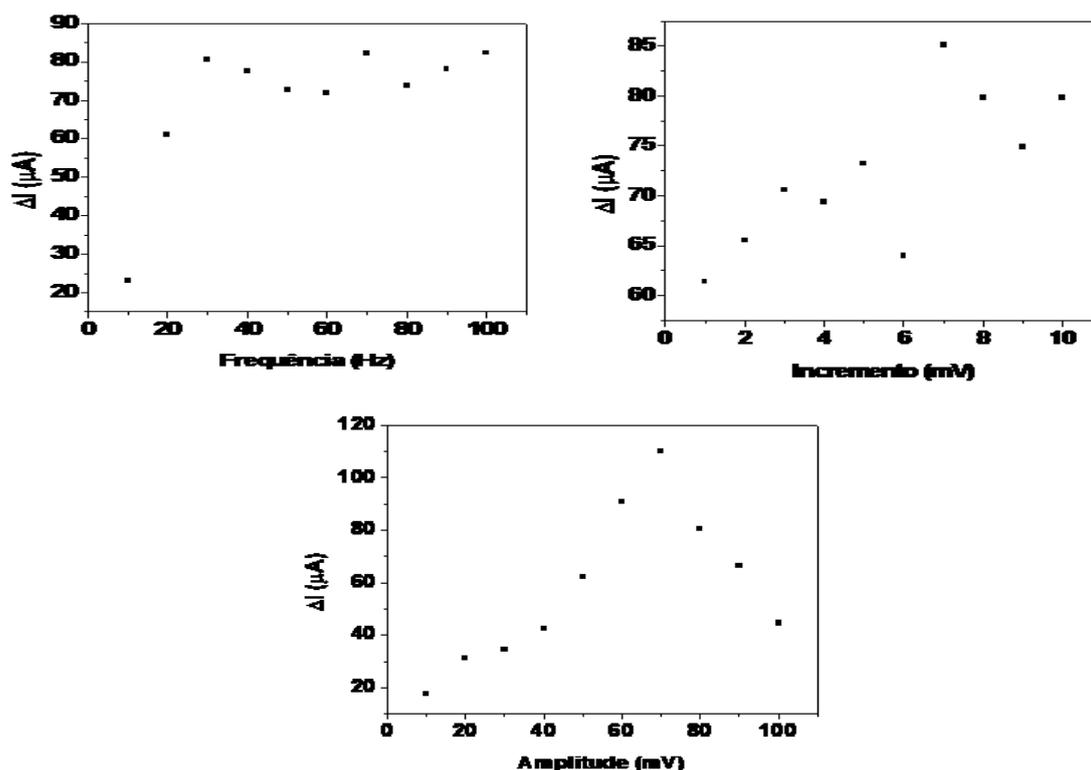
A última etapa de otimização do método foi o estudo dos parâmetros da técnica de voltametria de onda quadrada: amplitude, frequência e incremento. Ao alterar esses parâmetros modifica-se a forma de aplicação do potencial na célula.

O estudo da otimização se deu pela variação de cada um dos parâmetros, sendo que durante o estudo foi fixado dois deles enquanto um foi variado. A frequência selecionada foi na faixa de 10 a 100 Hz, em intervalos de 10 Hz, o incremento de 1 a 10 mV variando-se 1 mV a cada análise e a amplitude de 10 a 100 mV, sendo variada em 10 mV. O parâmetro foi considerado ótimo a partir da maior resposta de corrente até a perda da linearidade da resposta e da definição do pico voltamétrico.

Logo, foi considerada ótimo 30 Hz para a frequência e 3 mV para o incremento. A amplitude não apresentou uma faixa linear bem definida, portanto para a otimização

desse parâmetro optou-se pela escolha do ponto que apresentou a maior resposta de corrente, 70 mV. Os gráficos de resposta de corrente para os estudos de otimização são apresentados na Figura 15.

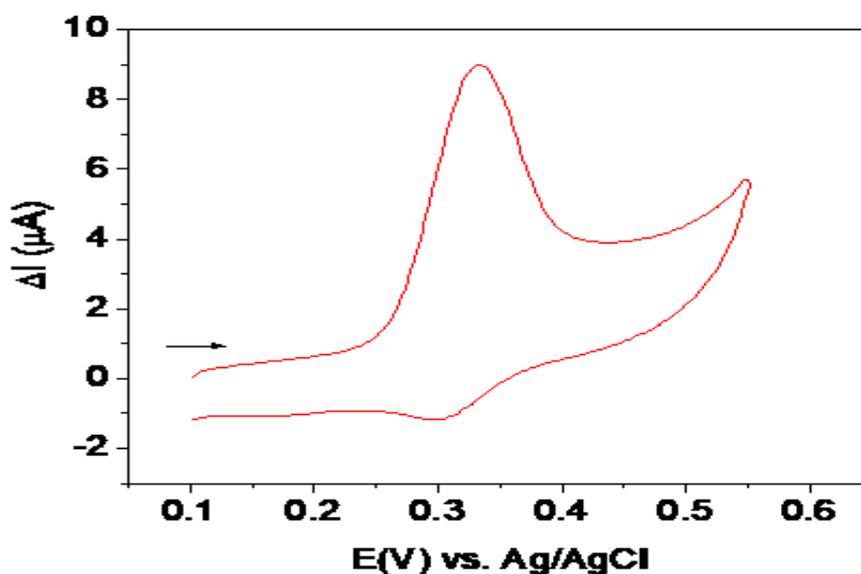
**Figura 15.** Respostas de corrente para estudo de otimização dos parâmetros da SWV: frequência, incremento e amplitude.



### 5.3 Estudo da reação

A reversibilidade da reação de oxirredução do ácido cafeico foi estudada através de voltametria cíclica nas melhores condições de trabalho. A análise foi realizada empregando ácido cafeico  $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em solução tampão acetato de pH 5,0 e  $100 \text{ mV s}^{-1}$  como velocidade de varredura. O voltamograma cíclico obtido se encontra na Figura 16.

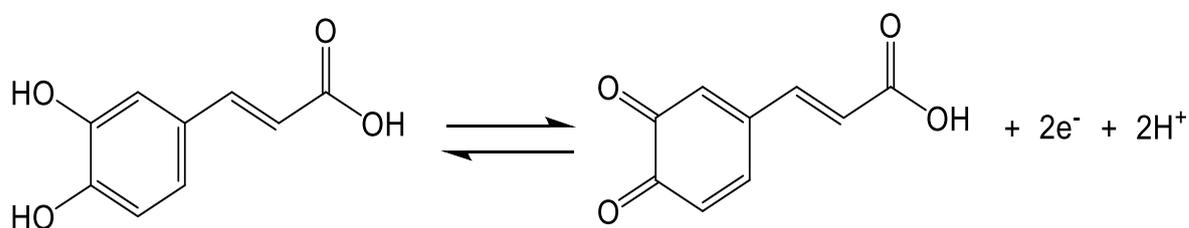
**Figura 16.** Voltamograma cíclico da reação de oxirredução do ácido cafeico na concentração de  $9,09 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .



Ao analisar o voltamograma presente na Figura 16, percebe-se que o sistema pode ser considerado como não reversível, uma vez que o pico de redução é muito menor que o de oxidação. Tal irreversibilidade ocorre devido à baixa velocidade de transferência de carga, sendo essa mais lenta que a velocidade de varredura.

A Figura 17 mostra um esquema da reação de oxirredução do ácido cafeico. Durante a oxidação as hidroxilas ligadas ao anel aromático são transformadas em carbonilas, fazendo o composto perder dois elétrons e levando a formação da quinona. No processo inverso, a redução, a quinona recebe dois elétrons, restaurando as hidroxilas do fenol.

**Figura 17.** Esquema da reação de oxirredução do ácido cafeico.

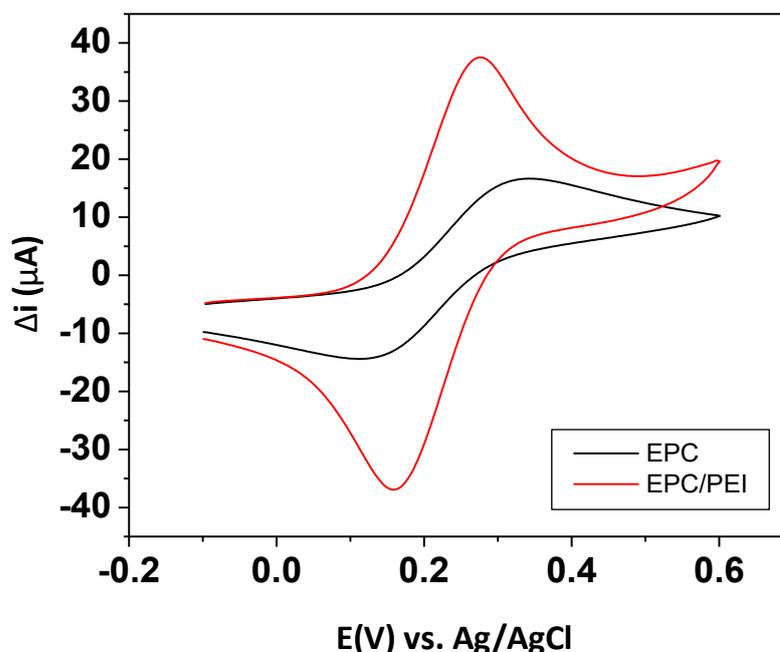


## 5.4 Estudos eletroquímicos em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$

### 5.4.1 Voltametria cíclica

Um estudo de voltametria cíclica foi realizado para verificar o comportamento do eletrodo proposto comparado a um eletrodo sem modificação (EPC). Nesse estudo, como espécie redox, foi empregada uma solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> e a velocidade de varredura utilizada foi de 100 mV s<sup>-1</sup>. A Figura 18, traz, de forma comparativa, os voltamogramas obtidos utilizando o EPC/PEI (A) e EPC (B).

**Figura 18.** Voltamogramas cíclicos de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  na velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup> para EPC/PEI (vermelho) e EPC (preto).



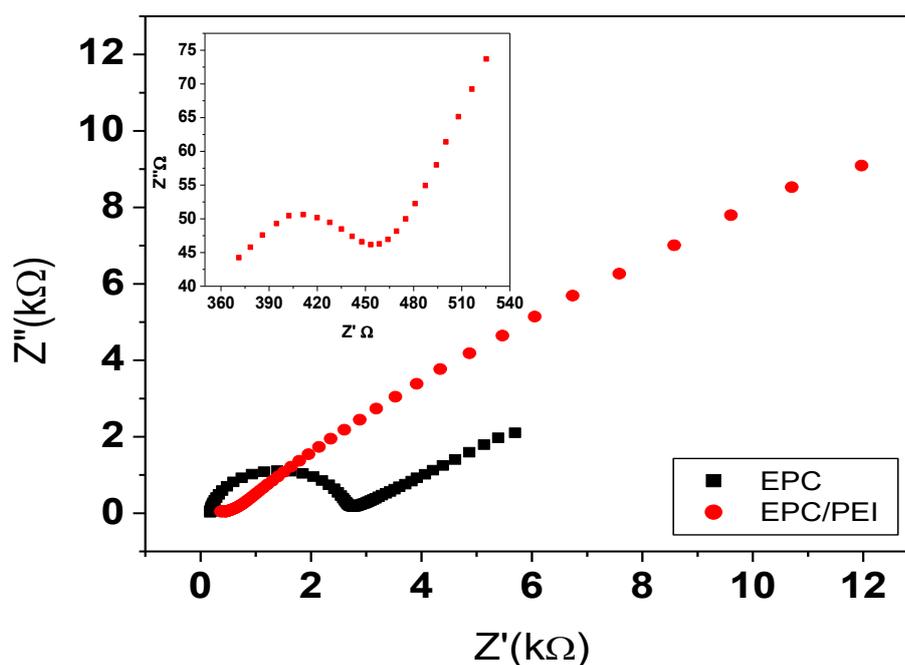
Os voltamogramas dos eletrodos apresentam picos de oxidação e de redução bem definidos, característicos de processos redox reversíveis como é o caso do  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ . Contudo, a resposta voltamétrica do EPC/PEI foi cerca de 3 vezes superior a apresentada pelo eletrodo sem modificação. Isso indica que a inserção da PEI facilita a transferência de elétrons entre a solução e a superfície do eletrodo.

### 5.4.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica

A facilidade de transferência de elétrons na superfície do eletrodo – solução, também pode ser observada pela espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Pela EIS é possível determinar a resistência à transferência de elétrons de

determinado material, sendo essa resistência dada pelo diâmetro do semicírculo apresentado pelo diagrama de Nyquist. A Figura 19 apresenta tal diagrama obtido através da solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  ( $5\text{mmol L}^{-1}$ ) em  $\text{KCl}$  ( $0,1\text{ mol L}^{-1}$ ) em circuito aberto com  $10\text{ mV}$  de amplitude e frequência entre  $0,1 - 100.000\text{ Hz}$ . A partir da figura, foi possível observar que o semicírculo obtido pelo EPC/PEI (vermelho) é muito menor que o obtido pelo EPC (preto), ademais as resistências encontradas de  $2,609\text{ k}\Omega$  para o EPC e  $218,43\ \Omega$  para o EPC/PEI reforçam a afirmação de que a inserção do polieletrólito torna a transferência de elétrons mais facilitada, uma vez que a resistência do eletrodo modificado é quase 12 vezes menor que a encontrada para o EPC.

**Figura 19.** Diagramas de Nyquist obtidos com solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  ( $5\text{mmol L}^{-1}$ ) em  $\text{KCl}$  ( $0,1\text{ mol L}^{-1}$ ), modo de circuito aberto,  $10\text{ mV}$  de amplitude e faixa de frequência de  $0,1 - 100.000\text{ Hz}$  para EPC/PEI (vermelho) e EPC (preto), ampliada, encontra-se o diagrama para o EPC/PEI.



#### 5.4.3 Determinação da área eletroativa do eletrodo e efeito da velocidade de varredura

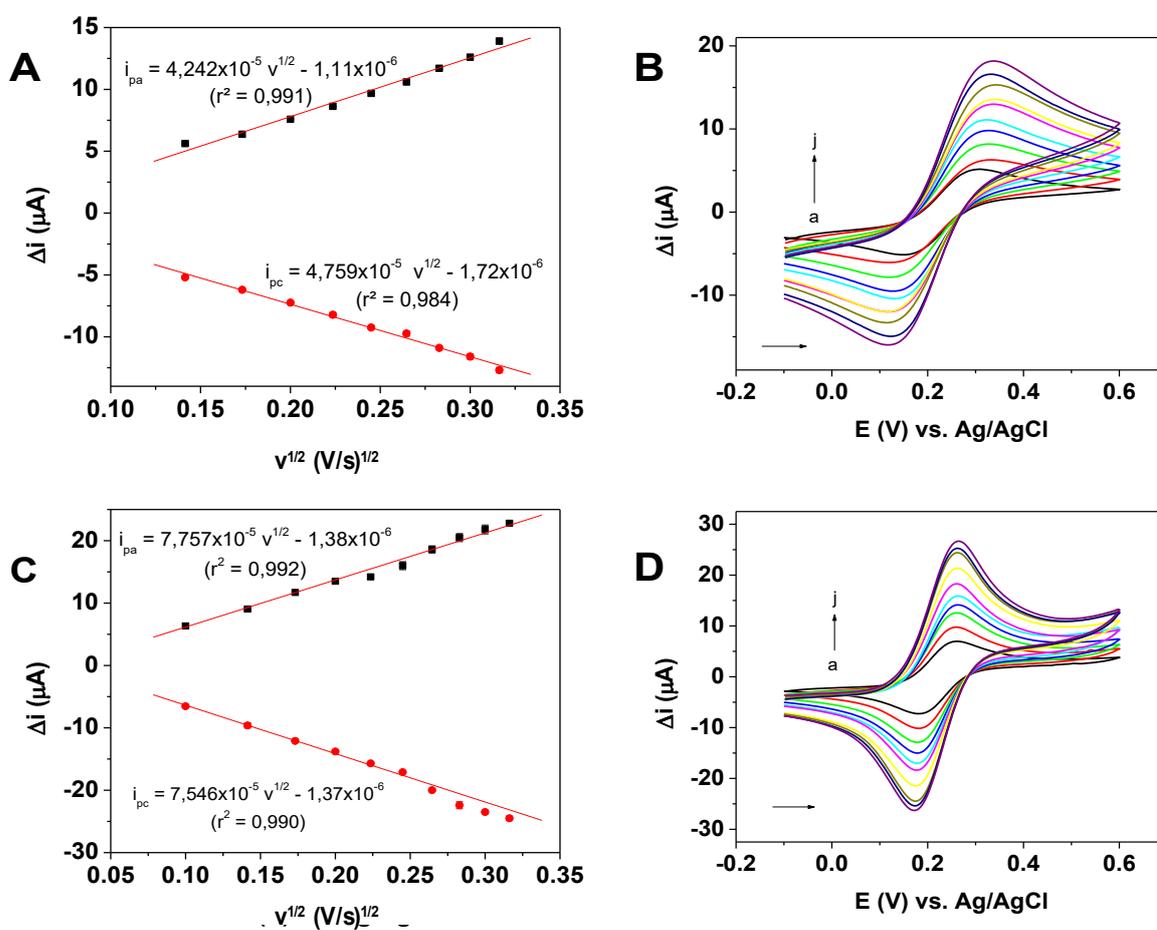
Tendo como objetivo conhecer a área eletroativa do eletrodo e o tipo de transporte de massa dominante no sistema avaliou-se o efeito da velocidade de varredura nas respostas eletroquímicas aplicando a voltametria cíclica. Tal estudo foi realizado para ambos os eletrodos (EPC e EPC/PEI) utilizando uma solução de

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, empregando a faixa de velocidade de 10 – 100 mV s<sup>-1</sup>.

A linearidade das respostas obtidas foi avaliada através de um gráfico de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$ , Figura 20, conforme a equação de Randles-Sevcik, Equação 1, onde  $i_p$  é a corrente de pico,  $n$  representa o número de elétrons envolvidos na reação de oxirredução ( $n=1$ ),  $A$  é a área eletroativa do eletrodo (cm<sup>2</sup>),  $D$  é o coeficiente de difusão da espécie analisada ( $7,26 \times 10^{-6}$  cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>)<sup>52</sup> e  $C$  refere-se a concentração de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  ( $5,0 \times 10^{-6}$  mol cm<sup>-3</sup>).<sup>32, 53</sup>

$$i_p = 2,69 \times 10^5 A D^{1/2} n^{3/2} C v^{1/2} \quad (\text{Equação 1})$$

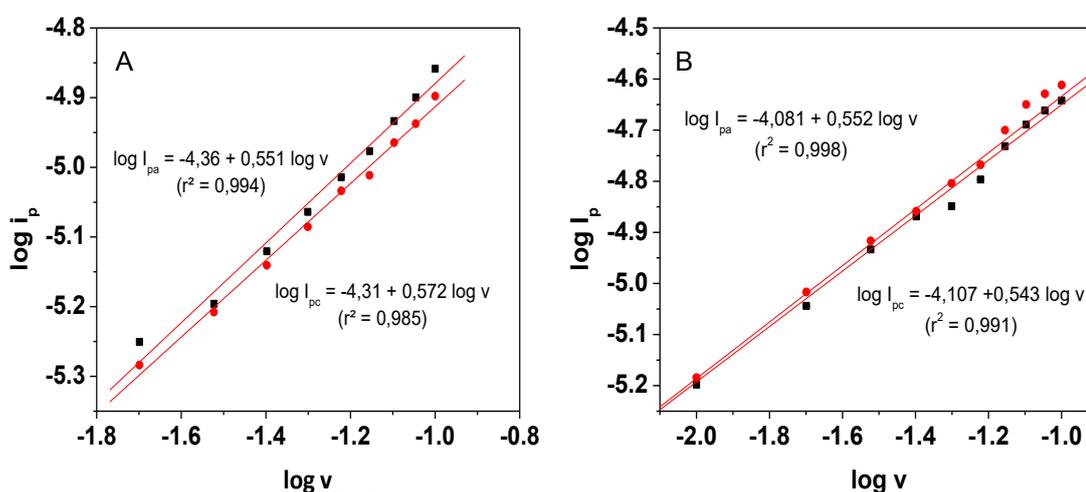
**Figura 20.** Gráficos de  $i_p$  vs  $v^{1/2}$  para (A) EPC e (C) EPC/PEI e voltamogramas cíclicos referentes a cada eletrodo (B) EPC e (D) EPC/PEI, obtidos em solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, com velocidade de varredura de 10 a 100 mV s<sup>-1</sup> variada em intervalos de 10 mV s<sup>-1</sup>.



A partir da análise dos voltamogramas presentes na Figura 20, observa-se que as correntes de pico aumentam com o aumento da velocidade de varredura, ou seja, os resultados estão de acordo com a equação de Randles-Sevcik. Logo, substituindo os valores na Equação 1, encontra-se que a área eletroativa do EPC e do EPC/PEI foi de 0,0117 e 0,0214 cm<sup>2</sup>, respectivamente. O aumento da área eletroativa do eletrodo modificado já era esperado, uma vez que suas respostas de corrente foram superiores as obtidas com o EPC, sendo esse aumento um fator que contribui para a melhor resposta analítica do EPC/PEI.

A partir das análises voltamétricas foram construídos os gráficos de  $\log i_p$  por  $\log v$  e a Figura 21 apresenta as respostas para (A) EPC e (B) EPC/PEI. Através da análise dos coeficientes angulares das retas foi possível determinar o mecanismo de transporte de massa que rege a reação eletroquímica, uma vez que coeficientes angulares próximos a 1,0 indicam adsorção e 0,5, difusão, logo os valores de inclinação das retas da Figura 22 (0,551; 0,572; 0,552 e 0,543) evidenciam que o transporte de massa da reação para ambos os eletrodos é controlado pela difusão.<sup>53,54</sup>

**Figura 21.** Gráficos de  $\log i_p$  vs  $\log v$  para (A) EPC e (B) EPC/PEI obtidos em solução de  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  5 mmol L<sup>-1</sup> em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

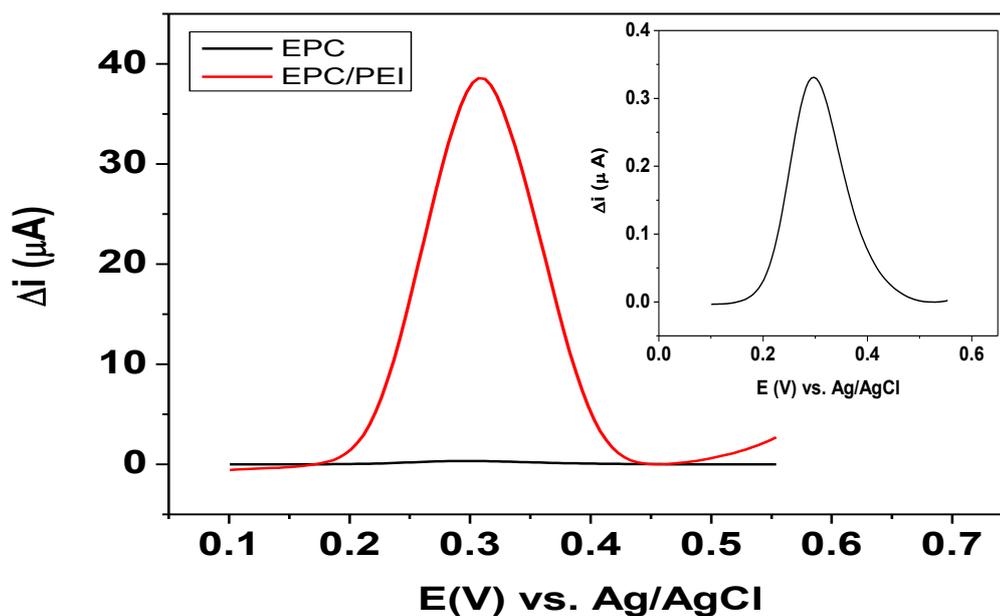


### 5.5 Comparação de resposta entre EPC e o EPC/PEI

Após o estudo de otimização, foi realizada uma comparação das respostas apresentadas pelo eletrodo modificado e o eletrodo sem modificação através da SWV. Essas análises foram realizadas nas melhores condições de trabalho empregando uma solução de ácido cafeico na concentração de  $3,85 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> em tampão

acetato de pH 5,0. Os voltamogramas apresentados na Figura 22 demonstram que a modificação do eletrodo melhorou a resposta de corrente para o eletrodo modificado em cerca de 113 vezes.

**Figura 22.** Voltamogramas comparando as respostas entre o EPC/PEI, em vermelho, e o EPC, em preto, para solução de ácido cafeico  $3,85 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Na ampliação encontra-se o voltamograma relativo ao EPC.



### 5.6 Repetibilidade e reprodutibilidade

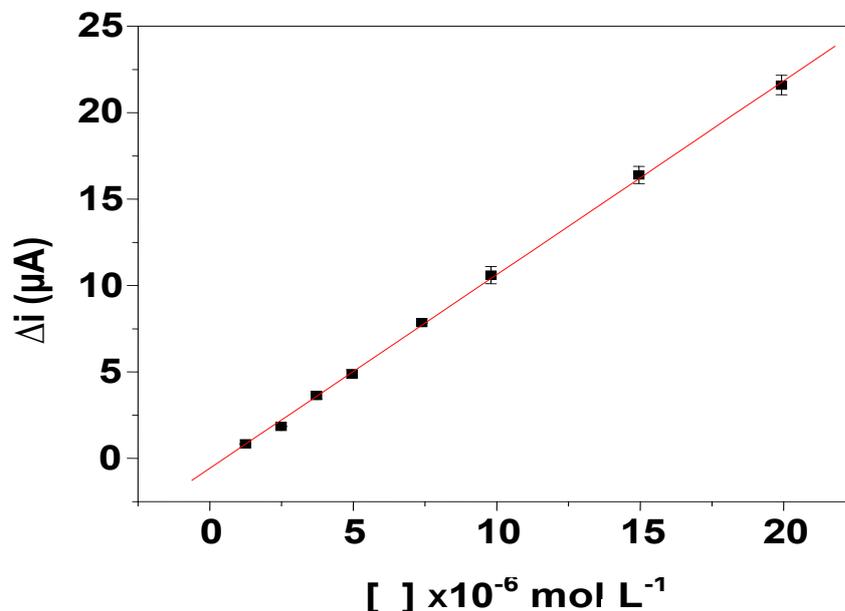
O estudo de repetibilidade e reprodutibilidade foram realizados usando a voltametria de onda quadrada nas melhores condições de trabalho através do desvio padrão relativo % (RSD %). A repetibilidade foi estudada através de sete análises intra-dia realizadas com o mesmo eletrodo, obtendo um RSD de 4,81%. A reprodutibilidade foi determinada empregando três diferentes eletrodos, sendo as análises também realizadas intra-dia. O RSD % para esse estudo foi de 5,38%. Tais resultados indicam que o eletrodo proposto apresenta repetibilidade e reprodutibilidade adequadas, uma vez que valores de RSD % abaixo de 10% para esses parâmetros indicam uma boa precisão.

### 5.7 Curva de calibração

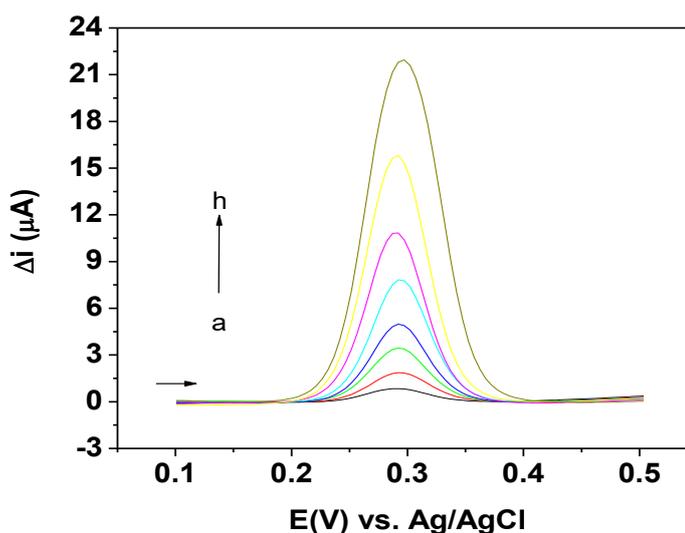
A curva de calibração foi construída através da adição de alíquotas de solução padrão de ácido cafeico. Estudou-se a sensibilidade do eletrodo proposto em

concentrações que variaram de  $1,25 \times 10^{-6}$  a  $1,99 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. A curva de calibração e os voltamogramas referentes às análises se encontram na Figura 23 e 24, respectivamente.

**Figura 23.** Curva de calibração para ácido cafeico empregando EPC/PEI.



**Figura 24.** Voltamogramas de onda quadrada empregando EPC/PEI para AC nas concentrações (mol L<sup>-1</sup>)  $1,25 \times 10^{-6}$  (a),  $2,49 \times 10^{-6}$  (b),  $3,72 \times 10^{-6}$  (c),  $4,95 \times 10^{-6}$  (d),  $7,39 \times 10^{-6}$  (e),  $9,80 \times 10^{-6}$  (f),  $1,5 \times 10^{-5}$  (g) e  $1,99 \times 10^{-5}$  (h).



A curva de calibração apresentou boa linearidade, com um coeficiente de correlação ( $r^2$ ) igual a 0,994, indicando uma boa relação entre os dados. Ademais, com os valores fornecidos pela curva foi possível determinar os limites de detecção

(LOD) e quantificação (LOQ), os quais são determinados pelas fórmulas presentes na Equação 2 e 3, respectivamente. Portanto, o valor do LOD foi igual a  $3,48 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  e  $1,15 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  para o LOQ. Tais valores são considerados baixos e indicam que o método proposto apresenta uma boa sensibilidade.

$$LOD = 3 \times \frac{\text{desvio do intercepto}}{\text{slope}} \quad (\text{Equação 2})$$

$$LOQ = 3 \times LOD \quad (\text{Equação 3})$$

### 5.8 Determinação de ácido cafeico em amostras comerciais

A determinação da concentração de ácido cafeico foi realizada empregando 100  $\mu\text{L}$  dos extratos das amostras, sendo que tais extratos foram produzidos no dia da análise, solução padrão de AC  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e solução tampão acetato no pH 5,0.

Para cada amostra foram realizadas curvas de calibração, pelo método de adição de padrão, em duplicata. A concentração determinada do analito é apresentada na Tabela 2 para cada amostra.

**Tabela 2.** Valores de concentração de ácido cafeico para café verde, tomilho e sálvia determinados experimentalmente.

Amostra	Concentração (mg/g)	Concentração (%) (m/m)
Café verde	$3,09 \pm 0,39$	$0,52 \pm 0,06$
Tomilho	$5,46 \pm 1,14$	$0,52 \pm 0,1$
Sálvia	$1,96 \pm 0,18$	$0,19 \pm 0,02$

Na literatura, são poucos os artigos que trazem estudos de determinação de ácido cafeico utilizando técnicas voltamétricas, contudo vários estudos são reportados empregando técnicas cromatográficas, em especial HPLC.

As concentrações de AC encontradas pelo método proposto (Tabela 2) são consideravelmente maiores do que as determinadas por Fecka e Turek (2008) ( $0,47 \text{ mg/g}$ ) para tomilho<sup>55</sup>, Fecka e Turek (2007) ( $0,3 \text{ mg/g}$ ) para sálvia<sup>56</sup> e Wang (2004) para ambas as ervas ( $0,3 \text{ mg/g}$  para tomilho e  $0,4 \text{ mg/g}$  para sálvia).<sup>57</sup> Entretanto, tais estudos utilizaram outras metodologia (HPLC) e diferentes procedimentos para a

preparação dos extratos, tais diferenças podem ter sido fatores que influenciaram na diferença dos resultados obtidos.

Já para o café verde, não foram encontrados na literatura estudos utilizando multivitamínicos contendo café verde para determinação de AC. Entretanto, Naidu *et al.* (2008), utilizaram grãos de café verde e a técnica de HPLC, e obtiveram uma porcentagem de  $6 \pm 0,69$ .<sup>58</sup> Mais uma vez, devido às diferenças de procedimento, torna-se difícil uma comparação com os valores determinados pelo método proposto.

Além disso, também foi realizado um estudo de recuperação, o qual teve por objetivo analisar a relação, em porcentagem, da concentração determinada pelo método proposto em relação à concentração de analito adicionado na célula. A Tabela 3 traz essa relação para as duas curvas produzidas para cada amostra, além das equações de reta e coeficientes de correlação.

**Tabela 3.** Equação da reta, coeficientes de correlação e concentração recuperada através das curvas de calibração das amostras estudadas.

Amostra	Equação da reta	Coefficiente de correlação ( $r^2$ )	Concentração recuperada (%)
Café verde	$y = 3,64941 \times 10^{-5} + 3,29016x$	0,995	94,8 – 109,4
	$y = 3,23921 \times 10^{-5} + 3,49353x$	0,993	88,9 – 103,8
Tomilho	$y = 5,24041 \times 10^{-5} + 1,96141x$	0,997	95,1 – 102,4
	$y = 5,24208 \times 10^{-5} + 1,45487x$	0,994	95,5 – 110,4
Sálvia	$y = 2,75296 \times 10^{-5} + 2,5929x$	0,994	93,5 – 103,5
	$y = 2,93529 \times 10^{-5} + 2,42839x$	0,995	93,6 – 113,5

## 6. CONCLUSÃO

Esse trabalho teve como objetivo o estudo e otimização da construção de um eletrodo de pasta de carbono modificado com o polieletrólito polietilenoimina aplicado à determinação eletroquímica de ácido cafeico como uma metodologia simples, rápida e de baixo custo.

Com base nos resultados obtidos é possível afirmar que o objetivo foi alcançado, uma vez que a adsorção da PEI na pasta de carbono, aliada aos estudos de otimização acarretou em um considerável aumento de resposta de corrente na quantificação do ácido cafeico, sendo alcançado valores cerca 113 vezes maiores frente ao eletrodo não modificado. Essa melhora de resposta pode ser justificada pelo estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica, o qual comprovou a maior facilidade de transferência de elétrons do EPC/PEI, uma vez que sua resistência elétrica foi cerca de 12 vezes menor quando comparada ao EPC.

Além da melhor resposta, o EPC/PEI oferece vantagens como facilidade de construção, baixo custo e rápido tempo de análise as quais juntamente com a alta sensibilidade tornam o método proposto uma excelente alternativa para determinação de ácido cafeico.

## 7. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup> KALCHER, Kurt. Chemically modified carbon paste electrodes in voltammetric analysis. **Electroanalysis**, 2, (1990), p.419–433.
- <sup>2</sup> ADAMS, Ralph N. Carbon Paste Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 30, n. 9, (1958), p.1576-1576.
- <sup>3</sup> VYTŘAS, Karel; SVANCARA, Ivan; METELKA, Radovan. Carbon paste electrodes in electroanalytical chemistry. **Journal Of The Serbian Chemical Society**, [s.l.], v. 74, n. 10, (2009), p.1021-1033.
- <sup>4</sup> KUBOTA, L. T.; SANTOS, A. S.; PEREIRA, A. C. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Quim. Nova**, v. 25, n. 6, (2002), p.1012–1021.
- <sup>5</sup> ŠVANCARA, Ivan et al. Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis. **Electroanalysis**, 21 (2009), p.7–28.
- <sup>6</sup> OJANI, Reza; RAOOF, Jahan-bakhsh; ZAMANI, Saeed. A novel voltammetric sensor for amoxicillin based on nickel–curcumin complex modified carbon paste electrode. **Bioelectrochemistry**, [s.l.], v. 85, (2012) p.44-49.
- <sup>7</sup> WANG, Xiuli et al. Renewable New Copper Complex Bulk-Modified Carbon Paste Electrode: Preparation, Electrochemistry, and Electrocatalysis. **Electroanalysis**, [s.l.], v. 20, n. 10, (2008), p.1055-1060.
- <sup>8</sup> SASSOLAS, Audrey; BLUM, Loïc J.; LECA-BOUVIER, Béatrice D.. Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. **Biotechnology Advances**, [s.l.], v. 30, n. 3, (2012), p.489-511.
- <sup>9</sup> SARMA, Anil Kumar et al. Recent advances in material science for developing enzyme electrodes. **Biosensors And Bioelectronics**, [s.l.], v. 24, n. 8, (2009), p.2313-2322.
- <sup>10</sup> MOKHTARI, Ali et al. Application of modified multiwall carbon nanotubes paste electrode for simultaneous voltammetric determination of morphine and diclofenac in biological and pharmaceutical samples. **Sensors And Actuators B: Chemical**, [s.l.], v. 169, (2012), p.96-105.
- <sup>11</sup> FEKRY, Amany M.. A new simple electrochemical Moxifloxacin Hydrochloride sensor built on carbon paste modified with silver nanoparticles. **Biosensors And Bioelectronics**, [s.l.], v. 87, (2017), p.1065-1070.
- <sup>12</sup> XIAO, Ni et al. Carbon paste electrode modified with duplex molecularly imprinted polymer hybrid film for metronidazole detection. **Biosensors And Bioelectronics**, [s.l.], v. 81, (2016), p.54-60.

- <sup>13</sup> ASWINI, K.k.; MOHAN, A.m. Vinu; BIJU, V.m.. Molecularly imprinted polymer based electrochemical detection of L-cysteine at carbon paste electrode. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v. 37, (2014) p.321-326.
- <sup>14</sup> CHI, Qijin et al. Effects of pretreatments and modifiers on electrochemical properties of carbon paste electrodes. **Electroanalysis**, 9, (1997), p.357 – 365.
- <sup>15</sup> BONINI, Janaina Sartori et al. Partículas de CoO(OH) Dispersas em Pasta de Carbono Aplicado na Eletrooxidação de Compostos Fenólicos. **Orbital - The Electronic Journal Of Chemistry**, v. 7, n. 4, (2015) 318 - 325. Instituto de Química - Univ. Federal do Mato Grosso do Sul.
- <sup>16</sup> HARFORD, Andrew J. et al. Ecotoxicological assessment of a polyelectrolyte flocculant. **Water Research**, v. 45, n. 19, (2011), p.6393-6402.
- <sup>17</sup> HOOVER, M. Fred. Cationic Quaternary Polyelectrolytes — A Literature Review. **Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry**, 4, (1970), p.1327 – 1418.
- <sup>18</sup> GUERRA, J. P. **Associação entre xantana, polietilenoimina, dodecil sulfato de sódio e derivados anfifílicos dos polímeros em soluções aquosas diluídas**. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- <sup>19</sup> GONG, Xiangjun; NGAI, To. Interactions between Solid Surfaces with Preadsorbed Poly(ethylenimine) (PEI) Layers: Effect of Unadsorbed Free PEI Chains. **Langmuir**, 29, (2013), p.5974 – 5981.
- <sup>20</sup> LUO, Jun Hua et al. Sensitive detection of gallic acid based on polyethyleneimine-functionalized graphene modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 186 (2013), p.84 – 89.
- <sup>21</sup> HAO, Xia et al. An electrochemical sensor for sodium dodecyl sulfate detection based on anion exchange using eosin Y/polyethyleneimine modified electrode. **Analytica Chimica Acta**, 852, (2014), p.63 – 68.
- <sup>22</sup> SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, 26 (2003), p.81 – 89.
- <sup>23</sup> GANESH, P.s.; SWAMY, B.e. Kumara. Voltammetric resolution of catechol and hydroquinone at eosin Y film modified carbon paste electrode. **Journal Of Molecular Liquids**, v. 220, (2016), p.208-215.
- <sup>24</sup> SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A., **Princípios de Análise Instrumental**. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.
- <sup>25</sup> HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 6.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. 876 p.
- <sup>26</sup> PACHECO., W. F. et al. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Virtual Quim.**, 5 (2013), p.516 - 537.

- <sup>27</sup> AGOSTINHO, Silvia M. L. et al. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química Nova**, [s.l.], v. 27, n. 5, (2004), p.813-817.
- <sup>28</sup> SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R., **Fundamentos de Química Analítica**. 8.ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008. 999 p.
- <sup>29</sup> SOUZA, Pedro Henrique Moreno de. **Estudos eletroquímicos de complexos de Cu(II) de antibióticos da classe das fluorquinolonas**. 2011. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- <sup>30</sup> RUSLING, James F.; SUIB, Steven L.. Characterizing Materials with Cyclic Voltammetry. **Advanced Materials**, [s.l.], v. 6, n. 12, (1994), p.922-930.
- <sup>31</sup> BRONDANI, Daniela. **Desenvolvimento de biossensores para determinação de adrenalina**. 2010. 98 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- <sup>32</sup> SILVA, Jonatas Salles da. **Biossensor amperométrico à base de peroxidase em matriz de bastão de grafite: estudos preliminares**. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010. Cap. 35.
- <sup>33</sup> SOUZA, D. et al; Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. **Química Nova**, 27 (2004), p.790 – 797.
- <sup>34</sup> ROBBINS, Rebecca J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, 51 (2003), p.2866 – 2887.
- <sup>35</sup> CHKAR, Marina Teixeira et al. PROPRIEDADE ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS FENÓLICOS: IMPORTÂNCIA NA DIETA E NA CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, [s.l.], v. 11, n. 2, (2013), p.398-406.
- <sup>36</sup> MAGNANI, C. et al. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. **Anal. Methods**, [s.l.], v. 6, n. 10, (2014), p.3203-3210.
- <sup>37</sup> BEECHER, G. R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrences and intake. **American Society for Nutrition and Sciences**, 133, (2003), p.3248 – 3254.
- <sup>38</sup> DAI, Jin; MUMPER, Russell J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, 15, (2010), p.7313 – 7352.
- <sup>39</sup> IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chem**. 126, (2011), p.1821 – 1835.
- <sup>40</sup> SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, 30 (1999), p.3875 – 3883.

- <sup>41</sup> ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 66, (2007), p.232 – 240.
- <sup>42</sup> MOON, Joon-kwan; SHIBAMOTO, Takayuki. Formation of Volatile Chemicals from Thermal Degradation of Less Volatile Coffee Components: Quinic Acid, Caffeic Acid, and Chlorogenic Acid. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 58, n. 9, (2010), p.5465-5470.
- <sup>43</sup> CLIFFORD, Michael N. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. **Journal Of The Science Of Food And Agriculture**, [s.l.], v. 80, n. 7, (2000), p.1033-1043.
- <sup>44</sup> PALACIOS, I. et al. Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 128, n. 3, (2011), p.674-678.
- <sup>45</sup> EMBUSCADO, Milda E.. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. **Journal Of Functional Foods**, [s.l.], v. 18, (2015), p.811-819.
- <sup>46</sup> LUSTOSA, Sarah R. et al. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 18, n. 3, (2008), p.447-454.
- <sup>47</sup> BÖFALO, Michelle Cristiane; SFORCIN, José Maurício. The modulatory effects of caffeic acid on human monocytes and its involvement in propolis action. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, [s.l.], v. 67, n. 5, (2015), p.740-745.
- <sup>48</sup> PRASAD, N. Rajendra et al. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. **Molecular And Cellular Biochemistry**, [s.l.], v. 349, n. 1-2, (2010), p.11-19.
- <sup>49</sup> RAMOS, A. F. N.; MIRANDA, J. L.. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. **Journal Of Venomous Animals And Toxins Including Tropical Diseases**, [s.l.], v. 13, n. 4, (2007), p.697-710.
- <sup>50</sup> YAMADA, Yumiko; YASUI, Hiroyuki; SAKURAI, Hiromu. Suppressive Effect of Caffeic Acid and its Derivatives on the Generation of UVA-induced Reactive Oxygen Species in the Skin of Hairless Mice and Pharmacokinetic Analysis on Organ Distribution of Caffeic Acid in ddY Mice. **Photochemistry And Photobiology**, [s.l.], v. 82, n. 6, (2006), p.1668-1676.
- <sup>51</sup> MURRAY, John C. et al. A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [s.l.], v. 59, n. 3, (2008), p.418-425.
- <sup>52</sup> KONOPKA, S. J.; MCDUFFIE, Bruce.. Diffusion coefficients of ferri- and ferrocyanide ions in aqueous media, using twin-electrode thin-layer electrochemistry. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 42, n. 14, (1970), p.1741-1746.

<sup>53</sup> FREITAS, Aline Alves. **DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO QUIMICAMENTE MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA DETERMINAÇÃO DE METILDOPA EM FÁRMACO**. 2017. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017

<sup>54</sup> SOUZA, Djenaine de; MACHADO, Sergio A. S.; AVACA, Luis A.. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, [s.l.], v. 26, n. 1, (2003), p.81-89.

<sup>55</sup> FECKA, Izabela; TUREK, Sebastian. Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from Lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet marjoram by chromatographic techniques. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 108, n. 3, (2008) p.1039-1053.

<sup>56</sup> FECKA, Izabela; TUREK, Sebastian. Determination of Water-Soluble Polyphenolic Compounds in Commercial Herbal Teas from Lamiaceae: Peppermint, Melissa, and Sage. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 55, n. 26, (2007), p.10908-10917.

<sup>57</sup> WANG, H. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 87, n. 2, (2004), p.307-311.

<sup>58</sup> NAIDU, M. Madhava et al. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 107, n. 1, (2008), p.377-384.

ZAPP, Eduardo. **SENSOR BIOINSPIRADO MODIFICADO COM NANOPARTÍCULAS METÁLICAS ESTABILIZADAS EM SURFACTANTE APLICADO À DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS**. 2012. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.