



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

**BRENO FERREIRA TAVARES**

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE DOPAMINA, SEROTONINA E  
TRIPTOFANO UTILIZANDO ELETRODO MODIFICADO COM RESÍDUOS  
DERIVADOS DA INDÚSTRIA DO AÇO**

Florianópolis  
Dezembro/2020

**BRENO FERREIRA TAVARES**

**DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE DOPAMINA, SEROTONINA E  
TRIPTOFANO UTILIZANDO ELETRODO MODIFICADO COM RESÍDUOS  
DERIVADOS DA INDÚSTRIA DO AÇO**

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

**Orientador: Prof.a Dra. Cristiane Luisa Jost**

**Coorientador: Me. João Paulo Winiarski**

Florianópolis  
Dezembro/2020

Dedico este trabalho aos  
meus pais

## **Agradecimentos**

Para começar, gostaria de salientar que este trabalho só pôde ser escrito graças aos meus pais, que sempre me apoiaram a seguir meus estudos, e escolheram me proporcionar o necessário para que eu chegasse até aqui.

Meus irmãos, Boni e Ayres, agradeço por terem se aventurado comigo para este lugar paradisíaco e me ajudarem a me sentir em casa em um cantinho desta ilha.

Aos meus amigos que vou carregar para a vida, Vinicius, Romain, Davi, David, Alessandro. Vocês me mostraram o verdadeiro sentido da amizade, e saibam que tem um pouco de cada um de vocês neste trabalho.

Cristiane, obrigado por ter me apresentado a eletroanalítica, mas além disso, por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa e ter se provado, cada vez mais, uma profissional de alta qualidade e uma pessoa inspiradora, eu te admiro.

E João, meu querido coorientador, me faltam palavras para descrever sua importância na construção desse trabalho, agradeço por toda atenção envolvida nesse processo e por todo conhecimento transmitido, pois você me mostrou os caminhos para se tornar um pesquisador profissional.

Por fim, agradeço a UFSC pela oportunidade de graduação e aos professores que me mostraram a química por trás do mundo que nos rodeia, que me fascina até hoje.

Confesso que é difícil condensar anos de experiências em formato de palavras para mostrar o quão grato você é por ter convivido e adquirido conhecimento com diversos amigos e professores, para se tornar a pessoa que você é hoje, mas alguns nomes acabam se sobressaindo por conta de memórias marcantes, por isso, é impossível citar todas as pessoas que contribuíram para esse trabalho, mas se seu nome não foi citado e você sabe da sua importância nessa caminhada, deixo aqui registrado, minha sincera gratidão.

Quem detém conhecimento, tem o  
poder de mudar o destino do  
universo.

Autor desconhecido

## RESUMO

Neurotransmissores e seus precursores são fundamentais para o estudo do funcionamento do cérebro, pois estes compostos estão ligados a distúrbios físicos, como síndrome do intestino irritável e até anomalias psicológicas, como a esquizofrenia. Portanto, obter formas de quantificação destas espécies é imprescindível para o tratamento de doenças, além de ser um meio de aliar dados laboratoriais com estudos comportamentais. Neste trabalho foi elaborado uma plataforma de detecção inédita para quantificação simultânea de três analitos, dois neurotransmissores, a dopamina (DP) e a serotonina (5-HT), e o precursor da serotonina, o triptofano (TP). A arquitetura eletródica desenvolvida consiste na modificação química de eletrodos a base de pasta de carbono por meio do resíduo provindo da laminação do aço. Este resíduo utilizado como modificação é formado por uma mistura de três óxidos de ferro, FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, e Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, presentes em diferentes proporções. Medidas por voltametria cíclica (CV) foram conduzidas em eletrólito suporte, solução tampão Britton-Robinson (B-R). Utilizando a voltametria de onda quadrada (SWV), com os devidos parâmetros otimizados, foram construídas curvas de calibração para dopamina, serotonina e triptofano, nas faixas entre 0,49-21  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , 0,49-13,6  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 2,9-25  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Os limites de detecção (LoD) e quantificação (LoQ) foram de 0,21  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,49  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (DP), 0,13  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,48  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (5-HT), e 2,18  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 2,87  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (TP) (para  $n=3$ ). O sensor desenvolvido apresenta seletividade e compromisso entre o perfil voltamétrico e as intensidades de corrente para cada analito, permitindo a detecção simultânea de três neurotransmissores. Estudos mais detalhados podem ser conduzidos para uma melhor *performance* analítica, a partir do emprego de etapas de pré-concentração dos analitos na superfície do eletrodo.

**Palavras-chave:** Neurotransmissores, voltametria, eletrodo modificado, óxidos de ferro, análise química, reciclagem.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Neurotransmissão química. -----	12
Figura 02: Rota sintética da dopamina a partir da L-tirosina. -----	13
Figura 03: Rota sintética da serotonina a partir do L-triptofano.-----	13
Figura 04: Confecção do eletrodo de pasta de carbono-----	23
Figura 05: Voltamogramas cíclicos para comparação entre eletrodos contendo 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina, 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de serotonina e 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de triptofano. Condições experimentais: Tampão B-R 0,1 mol $\text{L}^{-1}$ (pH 6).-----	25
Figura 06: Efeito do pH no comportamento eletroquímico da dopamina. Voltamogramas cíclicos do analito em presença de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , utilizando tampão B-R 0,1 mol $\text{L}^{-1}$ . -----	26
Figura 07: Efeito do pH no comportamento eletroquímico da serotonina. Voltamogramas cíclicos do 5-HT 65 $\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando tampão B-R 0,1 mol $\text{L}^{-1}$ .-----	27
Figura 08: Efeito do pH no comportamento eletroquímico do triptofano. Voltamogramas cíclicos do triptofano 125 $\mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando tampão B-R 0,1 mol $\text{L}^{-1}$ .-----	28
Figura 09: Correlação entre $E_p$ vs. pH.-----	28
Figura 10: Reações redox para DP, 5-HT e TP que ocorrem na superfície eletródica.--	29
Figura 11: (A) Estudo da velocidade de varredura contendo 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de dopamina, 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de serotonina e 250 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de triptofano. Condições experimentais: Tampão B-R 0,1 mol $\text{L}^{-1}$ (pH 6). (B) Gráfico log I vs. log v. -----	31
Figura 12: Voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de DP, 5-HT e TP. Inset: Curvas de calibração obtidas em tampão B-R 0,1 (pH 6,0). -----	33

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 01: Parâmetros analíticos das curvas de calibração para DP, 5-HT e TP utilizando o eletrodo CPE/Fe <sub>x</sub> O <sub>y</sub> .-----	34
Tabela 02: Comparação de diferentes plataformas eletródicas para determinação de DP, 5-HT e TP. -----	35
Quadro 01: Reagentes utilizados.-----	22



## LISTA DE ABREVIATURAS

CPE – Eletrodo de pasta de carbono (do inglês, *carbon paste electrode*);

CME – Eletrodo quimicamente modificado (do inglês, *chemically modified electrode*);

DP – Dopamina;

CV – Voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry*);

$E_p$  – Potencial de pico;

5-HT – 5-hidroxitriptamina(Serotonina);

TP – Triptofano;

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, *high performance liquid chromatography*);

LoD – Limite de detecção (do inglês, *limit of detection*);

LoQ – Limite de quantificação (do inglês, *limit of quantification*);

B-R – Solução tampão Britton-Robinson;

CPE/ $Fe_xO_y$  – Eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com óxidos de ferro provindos do resíduo do aço;

SWV – Voltametria de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry*);

5-HTP – 5-hidroxitriptofano;

NAD – Nicotinamida adenina dinucleotídeo;

TOH – Tirosina hidroxilase;

AADC – Descarboxilase de aminoácidos aromáticos (do inglês, *aromatic L- aminoacid decarboxylase*);

DPV – Voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry*).

## SUMÁRIO

1.	JUSTIFICATIVA	10
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1	Neurotransmissores e precursores	11
2.2	Métodos e técnicas eletroanalíticas para a determinação simultânea de neurotransmissores e precursores	14
2.3	Aplicação do monitoramento de neurotransmissores e precursores	16
2.4	Utilizando resíduos do aço como modificador para fabricação de eletrodo de pasta de carbono para determinação simultânea de dopamina, serotonina e triptofano	18
3	OBJETIVOS	20
3.1	Objetivos Gerais	20
3.2	Objetivos Específicos	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1	Instrumentação	21
4.1.1	Célula Eletroquímica	21
4.1.2	Equipamentos	21
4.2	Reagentes e Soluções	21
4.2.1	Soluções	22
4.2.2	Solução tampão e eletrólito suporte	22
4.3	Metodologia	22
4.3.1	Eletrodos de carbono grafite quimicamente modificados	22
4.3.2	Desenvolvimento do método	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1	Comportamento eletroquímico dos analitos sobre os eletrodos de trabalho	24
5.2	Estudo do pH	25
5.3	Estudo da velocidade de varredura	30
5.4	Curva de calibração	32
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
	REFERÊNCIAS	38

## 1. JUSTIFICATIVA

Uma prática comum na ciência e que envolve áreas multidisciplinares na Química é o desenvolvimento de materiais inovadores para a sofisticação dos métodos de análise e quantificação já existentes. Em geral, os eletrodos quimicamente modificados, CMEs (do inglês, *chemically modified eletrodes*) surgiram com a necessidade de promover maior sensibilidade e seletividade em relação aos eletrodos sem modificação. Dessa maneira, existem diversos tipos de materiais que são utilizados para modificar um eletrodo, tais como materiais nanoparticulados de metais ou clusters metálicos, óxidos metálicos, materiais híbridos e compósitos. Estas modificações promovem alterações físico-químicas na superfície eletródica que conferem características únicas para cada tipo de eletrodo, o que acarreta em alta sensibilidade e seletividade para diferentes analitos.

Este trabalho tem como foco o emprego de CMEs, que nas últimas décadas tem ganhado notoriedade na eletroanalítica, para promover uma análise rápida, eficiente e de baixo custo, em comparação a outros métodos analíticos, além de permitir a determinação simultânea de neurotransmissores e precursores, consideradas moléculas biologicamente ativas de grande interesse em diferentes áreas da ciência. A combinação de técnicas voltamétricas com os CMEs proporcionou a detecção de três analitos em uma mesma varredura, sendo eles dopamina, serotonina e triptofano, compostos que possuem características redox passíveis de estudo em solução.

O modificador utilizado no desenvolvimento deste trabalho provém da indústria do aço, sendo uma mistura sólida constituída majoritariamente por óxidos de ferro. Estes óxidos desse metal de transição agregam características físico-químicas diferenciadas aos eletrodos, promovendo uma melhor resposta eletroanalítica quando comparados a eletrodos sem modificação, com redução de efeitos de matriz e interferentes.

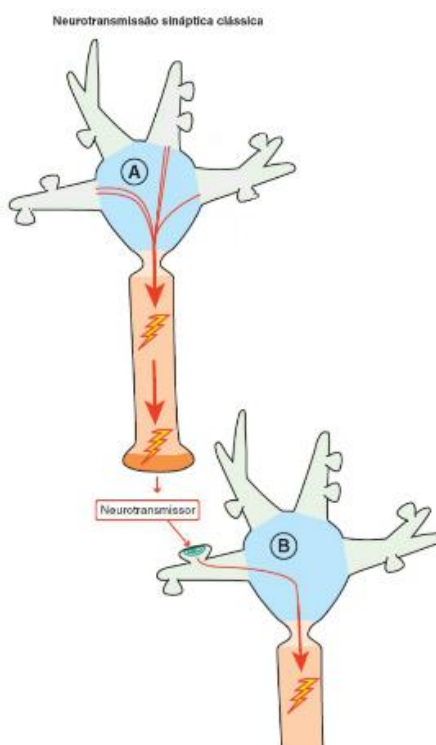
Esta reciclagem é, especificamente, de um dos resíduos mais gerados no processo de laminação das ligas de aço. Representa uma solução inteligente aplicada à nanotecnologia e uma abordagem para agregar, a este material desperdiçado, valor monetário e científico, com a criação de plataformas de detecção de neurotransmissores.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Neurotransmissores e precursores**

Os neurônios são os responsáveis por todo o funcionamento do corpo humano, sendo que estes são organizados de maneira a conseguir receber e enviar informação sináptica. Os neurônios conseguem controlar as funções bioquímicas por conta da comunicação que estes tem entre si e com as diversas células do corpo, sendo que a organização neuronal se faz por meio milhões de interligações de neurônios<sup>1</sup>. As informações transmitidas dentro de cada neurônio são elétricas; porém, a comunicação entre eles é, em muitos casos, química. Para que esta comunicação ocorra, um impulso elétrico é convertido em uma espécie química no neurônio inicial, como óxido nítrico e outros neurotransmissores, que serão lançados na fenda sináptica para serem absorvidos por outro neurônio e, então, convertidos novamente em impulsos elétricos. Este processo, descrito de maneira breve, é denominado neurotransmissão química<sup>2</sup>.

Neurotransmissores são espécies químicas endógenas que transmitem sinais dos neurônios até as células alvo através da sinapse. A sinapse é uma região onde impulsos são transmitidos através de um pequeno vão de um axônio terminal, para uma estrutura adjacente, como dendritos ou uma célula alvo. Os neurotransmissores são armazenados em pequenas vesículas dentro de determinados neurônios, sendo que cada neurotransmissor possui receptores (proteínas) específicos. A Figura 1 esclarece a explicação sucinta sobre a sinapse química.

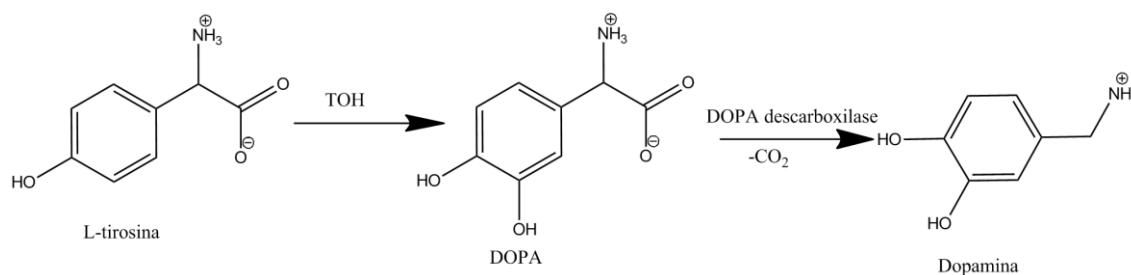
**Figura 1:** Neurotransmissão química

Fonte: Stahl, 4<sup>th</sup> edition, 2013.

Os neurotransmissores e seus precursores atuam ajudando a promover sinapses químicas e estes regulam quase todas as atividades exercidas pelo cérebro que serão repassadas ao restante do corpo, desde o apetite até a estabilidade emocional<sup>3</sup>.

Como cada neurotransmissor possui receptores específicos, no caso da dopamina (DP), os neurônios que a utilizam para realização das sinapses são denominados dopaminérgicos. Estas células biosintetizam a dopamina a partir da L-tirosina. Este aminoácido é capturado da corrente sanguínea e é convertido em dopamina através de duas enzimas, inicialmente pela enzima tirosina hidroxilase (TOH), que acrescenta um grupo -OH em posição meta no anel e, em seguida, a enzima DOPA descarboxilase retira o grupo carboxilato da molécula, na forma de CO<sub>2</sub>.<sup>4</sup> O esquema sintético ilustrado pela Figura 2 detalha por meio de reações, o que ocorre:

**Figura 2:** Rota sintética da dopamina a partir da L-tirosina.



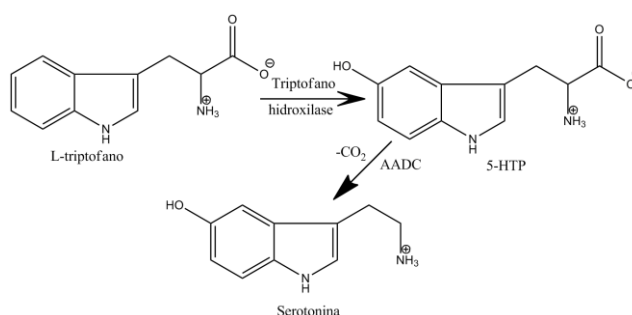
Fonte: O autor

Existem estudos que correlacionam o mal funcionamento do sistema dopaminérgico<sup>5</sup> ou a alteração da concentração de dopamina no cérebro com transtornos neurocerebrais, como esquizofrenia<sup>6</sup>, depressão<sup>7</sup> e até doença de Parkinson<sup>8</sup>.

A investigação sobre a quantidade de dopamina em tecidos e líquidos presentes no corpo humano tem sido conduzida há décadas, sempre na busca para melhor correlacionar as concentrações desse neurotransmissor com as características físicas ou psicológicas que esta molécula afeta. A concentração média de dopamina no plasma sanguíneo de uma pessoa adulta saudável varia entre 5 e 10 ng mL<sup>-1</sup>, e as concentrações variam entre as diferentes partes do corpo, podendo ser até menores que a quantidade presente no plasma<sup>9</sup>. Por conta disso, é um desafio quantificar esta substância com um método que não exija equipamentos de altíssimo valor agregado.

No caso da serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT), a biossíntese é a partir do L-triptofano, também utilizando duas enzimas. Neste caso, inicialmente o aminoácido é convertido em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) pela enzima triptofano hidroxilase e, por fim, a descarboxilase de aminoácidos aromáticos (AADC) converte a molécula em serotonina. A Figura 3 apresenta um esquema sintético muito semelhante a biossíntese da dopamina:

**Figura 3:** Rota sintética da serotonina a partir do L-triptofano.



Fonte: O autor

A serotonina possui níveis entre 4 e 6 ng mL<sup>-1</sup> no plasma humano<sup>10</sup> e sua influência na bioquímica humana não está só relacionada com alterações comportamentais, tais como comportamento agressivo e/ou suicida<sup>11</sup>, visto que a serotonina presente no cérebro só representa cerca de 5% do total deste neurotransmissor no corpo<sup>12</sup>. O intestino concentra boa parte da serotonina encontrada no corpo e algumas importantes funções foram descobertas<sup>13</sup>. *Shajib et al.*<sup>14</sup> promoveram um dos estudos que reforçam a visão de que esta molécula também tem papel imprescindível no sistema imunológico e no processo de inflamação, o que corrobora com estudos que correlacionam o 5-HT com a síndrome do intestino irritável<sup>15</sup>.

Já o triptofano<sup>16</sup> (TP) tem papel fundamental na composição de proteínas e de outras biomoléculas, como a melatonina<sup>17</sup> e, como dito anteriormente, a serotonina. Este aminoácido essencial é indispensável para o bom funcionamento do corpo e é o único dos analitos, apresentados neste trabalho, que pode ser diretamente administrado para pessoas com deficiências alimentares, por exemplo. Organismos com quantidades insuficientes de vitamina B<sub>3</sub> tendem a utilizar o triptofano para produção da principal molécula que promove oxirredução em diversas reações no corpo humano, o NAD<sup>+</sup> (nicotinamida adenina dinucleotídeo)<sup>18</sup>. O triptofano ainda pode servir de base de estudos complexos, como a investigação das consequências na variação da serotonina presente no cérebro a partir de alterações dos níveis de triptofano<sup>19</sup>.

Estes analitos apresentados possuem diversas correlações entre si; foi citada neste trabalho apenas uma pequena parte dos estudos comportamentais envolvendo os sistemas dopaminérgicos e serotoninérgicos, e uma parte relacionada com distúrbios alimentares. Portanto, é de suma importância que se desenvolvam métodos de análise<sup>20,21</sup> que possibilitem estudos minuciosos sobre as concentrações dessas moléculas, com seletividade e sensibilidade, pelo emprego de equipamentos de baixo custo de aquisição e manutenção, com redução de efeitos de matriz e interferentes.

## **2.2 Métodos e técnicas eletroanalíticas para a determinação simultânea de neurotransmissores e precursores**

As técnicas eletroanalíticas utilizam de algumas das propriedades mensuráveis de uma solução eletrolítica (carga, corrente e potencial) para correlacionar a quantidade de

analito em uma determinada amostra. A exemplo da voltametria, o(s) analito(s) é(são) submetido(s) a uma diferença de potencial em uma célula de três eletrodos, que geram sinal de corrente proporcional à concentração<sup>22</sup>. O conjunto da solução em análise junto ao conjunto de eletrodos é denominado célula eletroquímica. Os eletrodos são representados por um eletrodo de trabalho, onde ocorrerá a reação de oxirredução, um contra eletrodo, por onde a corrente irá fluir e um eletrodo de referência, que manterá o potencial constante durante a análise<sup>23</sup>.

O objetivo da montagem deste sistema é tornar o eletrodo de trabalho totalmente polarizado para que a taxa de conversão do composto, eletroquimicamente ativo, seja somente governada pela taxa de transferência de massa deste analito dentro da solução. Para isso, utiliza-se um eletrólito suporte<sup>24,25</sup>, que se consiste em íons que devem ser altamente solúveis nas condições de trabalho, inertes eletroquimicamente no intervalo de potencial desejado e devem desempenhar diversas funções, como aumentar consideravelmente a condutividade da solução, podendo atuar como tampão, manter constante a atividade dos íons da amostra, manter a viscosidade da solução e eliminar os efeitos de eletromigração<sup>23</sup>.

O foco em modificações envolvendo o eletrodo de trabalho e os mais diversos substratos proporciona uma melhor relação custo/benefício ao método de análise, podendo chegar a níveis de detecção e quantificação que se equiparam a ferramentas analíticas que demandam mais recursos. Porém, para que isso seja possível, a modificação guiada da superfície de substratos é mandatória. Eletrodos sem modificação, também chamados, eletrodos *bare*, são mais suscetíveis a processos de adsorção, apresentam menor área eletroativa e um menor número de sítios ativos, o que acarreta em menor faixa útil de trabalho em um método analítico.

Na literatura, há uma grande diversidade de estudos que fazem comparação de CMEs com eletrodos *bare*, como aqueles oriundos de materiais carbonáceos como pasta de carbono, carbono vítreo, dentre outros<sup>26,27</sup>. Há décadas, o desenvolvimento de eletrodos modificados tem sido o foco de diversos grupos de pesquisa para o melhoramento da resposta analítica em plataformas de detecção.<sup>28</sup>

O trabalho desenvolvido por *Gong et al.* descreve uma modificação em eletrodo de carbono vítreo para detecção de dopamina contendo altas concentrações de ácido ascórbico nas amostras. O composto utilizado como modificação foi obtido através da



polimerização eletroquímica de L-triptofano na superfície de um eletrodo de carbono vítreo já modificado com óxido de grafeno obtido pelo método de Hummers. Com isso, este trabalho relatou um limite de detecção de  $0,06 \mu\text{mol L}^{-1}$ , tendo faixa linear para quantificação entre  $0,2-100 \mu\text{mol L}^{-1}$ .<sup>29</sup>

Um outro exemplo de modificação, agora aplicada em eletrodo de pasta de carbono, é utilizando filmes poliméricos. No trabalho desenvolvido por *J. Wei et al* foi utilizado um polímero não iônico para modificação; porém, o polímero foi gerado em solução e eletrodepositado na superfície do eletrodo. Desta maneira, estes pesquisadores elaboraram uma plataforma de detecção para ácido ascórbico, dopamina e serotonina, utilizando da técnica de cronoamperometria, com limites de detecção de 1,5, 0,7 e 0,4  $\text{nmol L}^{-1}$ , respectivamente.<sup>30</sup>

### 2.3 Aplicação do monitoramento de neurotransmissores e precursores

O desenvolvimento de métodos e técnicas eficazes de monitoramento simultâneo de espécies biologicamente ativas, como neurotransmissores<sup>31</sup> e seus precursores, tem sido um desafio para a comunidade científica há anos, não somente pela concentração dessas espécies, mas também pelo fato das matrizes a serem analisadas possuírem uma grande complexidade, tornando ainda mais desafiador estas quantificações. Portanto, é de extrema importância que se aperfeiçoem métodos para minimizar alguns interferentes sem comprometer a precisão e a exatidão do método de análise.<sup>32</sup>

Dentre as diversas técnicas propostas para o monitoramento destas espécies, merece destaque a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, HPLC (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*), aplicada a misturas complexas; porém, com alto custo atrelado à análise e aos equipamentos. Em um estudo desenvolvido por *V. Carrera et al.*, com o auxílio de um espectrômetro de massas, os autores mostram um método para determinação simultânea de diversos neurotransmissores em excreções bovinas, com limites de detecção na ordem de  $0,78 \text{ ng mL}^{-1}$  para serotonina e  $6,5 \text{ ng mL}^{-1}$  para a dopamina.<sup>33</sup>

Outra técnica que merece destaque é a eletroforese capilar, que também possui a capacidade de separar analitos a partir de matrizes biológicas complexas e, ainda, com minimização de resíduos. Dentre diversas variações, esta técnica ainda pode ser utilizada aliada à quimiluminescência. *Y. Zhao et al.*, utilizaram pontos quânticos de CdTe injetados

na solução tampão para possibilitar a catálise da reação provinda entre o luminol e o peróxido de hidrogênio<sup>34</sup>, que forma um produto quimioluminescente<sup>35</sup>. Esta reação, que normalmente é inibida na presença de dopamina e epinefrina, foi realçada através deste processo de adição dos pontos quânticos, e como a reação entre o luminol e o peróxido de hidrogênio não foi inibida, foi possível detectar os analitos de maneira mais efetiva. Este método desenvolvido para detectar simultaneamente dopamina e epinefrina em urina humana atingiu limites de detecção na ordem de  $2,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  e  $9,3 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ , respectivamente.

Estes estudos apresentados são somente uma pequena parte da investigação sobre quantificações de neurotransmissores. Ambas as técnicas apresentadas possuem alto valor agregado aos seus equipamentos utilizados, o que encarece o processo de análise.

Uma alternativa para contornar o alto custo das análises, visando sempre facilitar o acesso da população a essas tecnologias, é a utilização da Eletroanalítica. Um diferencial importante é o baixo custo das análises, da manutenção e da instrumentação em relação às técnicas apresentadas anteriormente, ainda com a possibilidade de determinações simultâneas. Técnicas eletroanalíticas, como a voltametria de onda quadrada, SWV (do inglês, *square wave voltammetry*), permitem o acesso a analitos passíveis de processos redox com alta sensibilidade e rapidez na coleta de dados. Uma redução nos custos de análise é atrativa para estudos nas áreas de psicologia e psiquiatria, o que facilita o diagnóstico e o tratamento de pacientes com esquizofrenia, depressão e outros distúrbios relacionados com os sistemas dopaminérgico e serotoninérgico, com a coleta de dados laboratoriais.

Existem diversos estudos na literatura que relatam a determinação de neurotransmissores utilizando eletrodos modificados das mais variadas formas. Alguns exemplos envolvem modificações em eletrodos de carbono vítreo utilizando compósito contendo éter coroa, nanotubos de carbono e cristais líquidos iônicos, para determinação de serotonina em humanos<sup>36</sup> e modificações em eletrodos de pasta de carbono, CPE (do inglês *carbon paste electrode*), que podem variar desde processos simples, como o pré-tratamento da pasta utilizando uma solução de NaOH,<sup>37</sup> até modificações mais elaboradas, como a polimerização eletroquímica da vanilina<sup>38</sup>. Ambos estudos citados são focados na determinação da adrenalina. Eletrodos de pasta de carbono modificados, aliados às técnicas eletroanalíticas, serão o foco deste estudo.

## **2.4 Utilizando resíduos do aço como modificador para fabricação de eletrodo de pasta de carbono para determinação simultânea de dopamina, serotonina e triptofano**

O processo de produção do aço sofreu mudanças ao longo da história. Nos tempos modernos, para o minério de ferro ser convertido em aço, o minério deve passar por algumas etapas de purificação, dentre elas estão tratamentos térmicos para remoção de substâncias voláteis, e excesso de carbono, na forma de CO<sub>2</sub>. Após estas primeiras etapas, há a adição de compostos ao ferro denominados fundentes, para separação física de subprodutos não-voláteis, em grande maioria, aluminossilicatos inseridos no meio do ferro fundido, também nomeado de ferro gusa. Para o ferro gusa ser convertido em aço, este ainda necessita passar por um processo de dessulfurização, para então ser convertido em aço por um equipamento chamado de conversor. O subproduto da última fase da produção do aço, é denominado carepa.<sup>39</sup> Este resíduo é gerado em torno de 35-40 kg por tonelada de produto laminado, o que resulta em milhares de toneladas geradas por ano, já que a indústria do aço é uma das indústrias mais ativas do mundo<sup>40</sup>.

Este subproduto é composto por uma mistura de ferro metálico e de óxidos de ferro, mais especificamente a magnetita (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), a hematita (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e a Wustite (FeO). Embora a composição deste material já tenha sido caracterizada,<sup>41</sup> são inúmeras as tentativas de se reaproveitar este resíduo.

Uma particularidade deste resíduo é a presença da magnetita. É sabido pela comunidade científica que compostos magnéticos possuem a capacidade de imobilizar espécies na superfície de eletrodos facilitando processos de transferência de carga e até a redução de efeitos de matriz e interferentes indesejados.<sup>42,43</sup> Além disso, os óxidos de ferro, especificamente, possuem propriedades catalíticas e eletrocatalíticas, além de promoverem uma rápida transferência de elétrons entre o eletrodo e os sítios redox presentes nas moléculas.<sup>43</sup>

A magnetita já é amplamente aplicada como modificador em eletrodos para determinação de espécies químicas biologicamente ativas. Um estudo recente, realizado por *H. Bagheri et al.*<sup>44</sup>, utilizando a técnica de SWV, elaborou um compósito desse óxido, de maneira nanoparticulada, com grafeno reduzido pelo método de Hummers, para

elaborar um CPE capaz de detectar simultaneamente melatonina e dopamina, com limites de detecção  $8,4 \text{ nmol L}^{-1}$  e  $6,5 \text{ nmol L}^{-1}$ , respectivamente. Além disso, foram testados interferentes como ácido úrico, ácido ascórbico e serotonina; porém, nenhum destes teve influência significativa nos sinais voltamétricos.

A hematita também pode ser utilizada como modificador. Um grupo de pesquisa indiano<sup>45</sup> utilizou este óxido, nanoparticulado, para confeccionar um eletrodo de pasta de carbono capaz de detectar simultaneamente dopamina e paracetamol, com limites de detecção calculados em torno de  $1,16 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  para o paracetamol e  $0,79 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  para a dopamina. Ademais, o eletrodo foi utilizado para detecção de amostras farmacêuticas, obtendo bom desempenho e reprodutibilidade, tendo sido comprovada a estabilidade desta plataforma de detecção por pelo menos, 120 dias.

Por estes e outros diversos estudos, conclui-se que esta mistura de óxidos proporcionada pela carepa de aço possui grande potencial para detecção de neurotransmissores e outras moléculas de grande interesse biológico. Esta reciclagem proporciona uma solução inteligente aplicada à nanotecnologia, para um resíduo que seguirá sendo gerado continuamente pela sociedade. E por fim, é importante ressaltar que, quando se recicla um resíduo de uma linha de produção, o valor do produto final é barateado, pelo fato de não existir mais o gasto para o descarte adequado do subproduto.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivos Gerais**

Estudar o efeito da modificação química de eletrodos de carbono grafite com diferentes tipos de óxidos de ferro provindos do resíduo denominado carepa, para a detecção e quantificação simultânea de dopamina, serotonina e triptofano.

### **3.2 Objetivos Específicos**

- Construir eletrodos de carbono grafite quimicamente modificados utilizando o resíduo carepa;
- Investigar o comportamento eletroquímico da dopamina, serotonina e triptofano, simultaneamente, em diferentes concentrações frente aos eletrodos modificados;
- Escolher o eletrodo com melhor resposta analítica para detecção dos analitos;
- Estudar e otimizar parâmetros como pH, eletrólito suporte e técnicas voltamétricas para melhor detecção e quantificação dos analitos citados.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Instrumentação

#### 4.1.1 Célula Eletroquímica

As medidas eletroquímicas foram realizadas em uma célula eletroquímica que possui volume total de 10 mL, que conta com a possibilidade de inserção de três eletrodos, simultaneamente. Foi utilizado o eletrodo de referência do tipo Ag/AgCl, KCl (3 mol L<sup>-1</sup>) e, como contra-eletrodo, foi utilizado um fio de platina (Pt). Os eletrodos de trabalho utilizados foram CPE e o eletrodo de pasta de carbono modificado com carepa, denominado CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub>.

#### 4.1.2 Equipamentos

Os experimentos foram realizados utilizando um potenciostato/galvanostato EmStat da empresa PalmSens (Palm Struments BV- Holanda) em conjunto com o *software* fornecido pela empresa, denominado PSTrace (versão 5.8). O computador foi conectado por fios aos três eletrodos da célula eletroquímica para fornecer os voltamogramas dos analitos estudados.

As verificações de pH foram realizadas com o uso de um conjunto medidor e eletrodo de vidro combinado da marca Ohaus (Modelo ST3100-F), após calibração.

### 4.2 Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados para todos os experimentos estão relatados no Quadro 1, junto com sua respectiva pureza e procedência.

**Quadro 1:** Reagentes utilizados

Reagente	Fórmula	Marca	Pureza
<b>Serotonina</b>	$C_{10}H_{12}N_2O$	Merck	>98 %
<b>Dopamina</b>	$C_8H_{11}NO_2$	Merck	>97%
<b>Triptofano</b>	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	Merck	>98%
<b>Ácido Bórico</b>	$H_3BO_3$	Acros Organics	$\geq 99,5\%$
<b>Ácido Fosfórico</b>	$H_3PO_4$	Grupo Química	$\geq 85\%^b$
<b>Ácido Acético</b>	$CH_3COOH$	Vetec	$\geq 99,99\%$
<b>Nujol<sup>®</sup></b>	-----	Sigma-Aldrich	>98%
<b>Ácido Cítrico</b>	$C_6H_8O_7$	Reagen	>99%
<b>Carbono grafite</b>	C	Sigma-Aldrich	$\geq 99,99\%$

#### 4.2.1 Soluções

As soluções foram preparadas a partir dos reagentes listados utilizando água ultrapura, purificada pelo sistema Milli-Q (Millipore, Redford, MA, USA), com resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm.

#### 4.2.2 Eletrólito suporte

Testes foram conduzidos em dois tipos de eletrólito suporte, representados pela solução tampão Britton-Robinson (B-R), que consiste na mistura de ácido bórico, acético e ácido fosfórico (0,1 mol L<sup>-1</sup>), e pela solução tampão McIlvaine, composta por uma mistura de ácido cítrico e hidrogenofosfato dissódico (0,1 mol L<sup>-1</sup>). O pH de todas as soluções de eletrólito suporte foi ajustado utilizando NaOH 6,0 mol L<sup>-1</sup>.

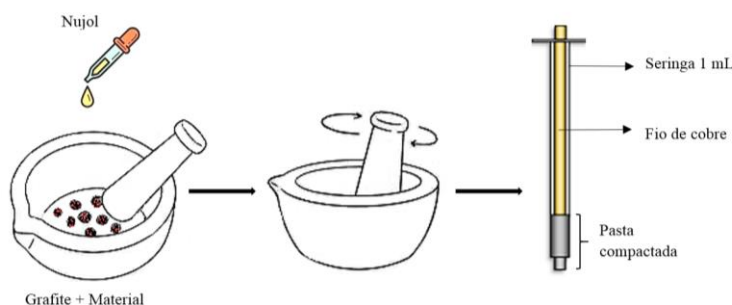
### 4.3 Metodologia

#### 4.3.1 Eletrodos de carbono grafite quimicamente modificados

O eletrodo do tipo *bare* foi montado utilizando 200 mg de carbono grafite, macerado por 10 minutos; em seguida, 20 $\mu$ L de Nujol<sup>®</sup> foram adicionados. Para finalizar,

a pasta de carbono/óleo mineral foi macerada por mais 15 minutos e, então, colocada em uma seringa de plástico, mantendo a área geométrica constante ( $0,03 \text{ cm}^2$ ). Um fio de cobre foi utilizado para o contato elétrico da pasta com o potenciostato. A figura 4 ilustra como é feita essa confecção.

**Figura 4:** Confecção do eletrodo de pasta de carbono.



O resíduo da indústria do aço, denominado carepa, foi gentilmente cedido pelo professor Carlos Eduardo Maduro de Campos, do Departamento de Física da UFSC. Os eletrodos modificados com carepa, CPE/ $\text{Fe}_x\text{O}_y$ , seguiram o mesmo procedimento da construção do eletrodo tipo *bare*, porém, com diferentes proporções de massa de carepa em relação à massa de carbono.

### 4.3.2 Desenvolvimento do método

A resposta eletroquímica foi investigada a partir do comportamento dos analitos DA, 5-HT e TP frente às plataformas de detecção CPE e CPE/ $\text{Fe}_x\text{O}_y$  aplicando-se as técnicas de voltametria cíclica, CV (do inglês *cyclic voltammetry*) e SWV. O perfil voltamétrico dos analitos foi estudado em eletrólito suporte, em diferentes valores de pH, pelo emprego da solução tampão Britton-Robinson (B-R).

Em uma etapa posterior, foram conduzidos estudos de velocidade de varredura (entre  $30 \text{ mVs}^{-1}$  a  $200 \text{ mVs}^{-1}$ ) a fim de verificar qual tipo de processo de transferência ocorre na interface da superfície do eletrodo–solução. A partir dos resultados obtidos, foi escolhida a técnica de SWV para a construção de curvas de calibração.



## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Comportamento eletroquímico dos analitos sobre os eletrodos de trabalho

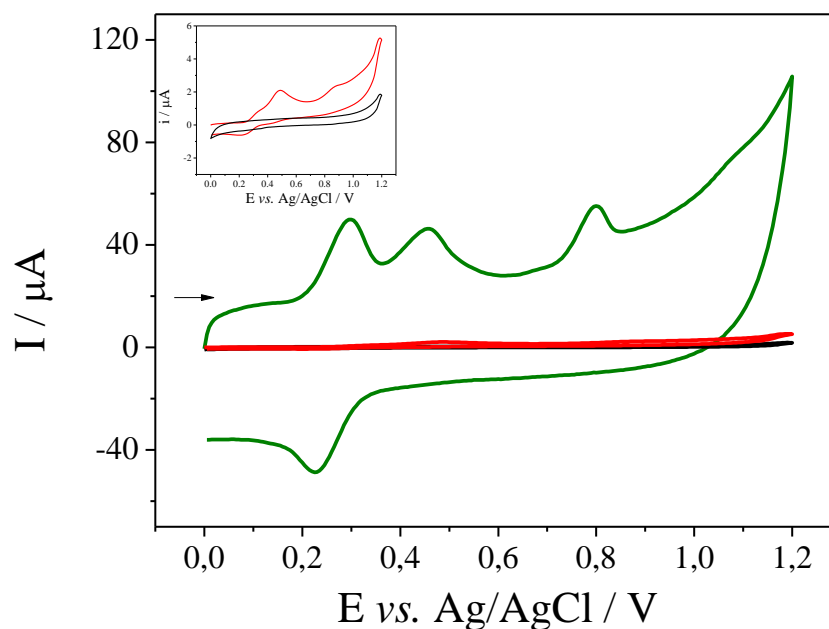
Medidas eletroquímicas utilizando a técnica de CV foram realizadas para estudar o comportamento dos analitos dopamina, serotonina e triptofano em duas diferentes arquiteturas eletródicas. O material utilizado para a modificação do eletrodo já foi caracterizado pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), DRX e espectroscopia Mössbauer por Costa et al.<sup>41</sup>

A Figura 5 mostra a comparação entre voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrólito suporte, solução tampão B-R 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 6,0), e medidas na presença de 100 μmol L<sup>-1</sup> de dopamina, 100 μmol L<sup>-1</sup> de serotonina e 250 μmol L<sup>-1</sup> de triptofano com CPE e CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub>. As condições experimentais envolvem velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup> em um intervalo de potenciais entre +0,0 V e +1,2 V (*vs.* Ag/AgCl).

Verificou-se que, com o emprego do CPE, não houve distinção entre os sinais de oxidação para dopamina e serotonina (em cerca de +0,5 V). No entanto, como o emprego do eletrodo modificado, CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub>, foram observados sinais bem definidos para dopamina (ca. +0,3 V), serotonina (ca. +0,45 V) e triptofano (+0,8 V), com intensidades de corrente aumentadas em relação ao CPE. Portanto, o eletrodo modificado se mostrou adequado e mais atrativo para a quantificação simultânea dos três analitos, visto que a mistura dos óxidos metálicos promoveu a característica de seletividade com aumento de sensibilidade. Assim, a modificação do substrato se justifica.

Poucos e recentes trabalhos relatam essa diferenciação entre sinais para os três neurotransmissores<sup>46-48</sup>, reforçando o interesse em determinações simultâneas com o emprego de diferentes arquiteturas eletródicas.

**Figura 5:** Voltamogramas cíclicos para  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de dopamina,  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de serotonina e  $250 \mu\text{mol L}^{-1}$  de triptofano. Preto: eletrólito suporte; Vermelho: CPE; Verde: CPE/ $\text{Fe}_x\text{O}_y$ . *Inset:* Voltamogramas para eletrólito suporte (preto) e analitos em CPE (vermelho). Condições experimentais: Tampão B-R  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,0).



Fonte: O autor.

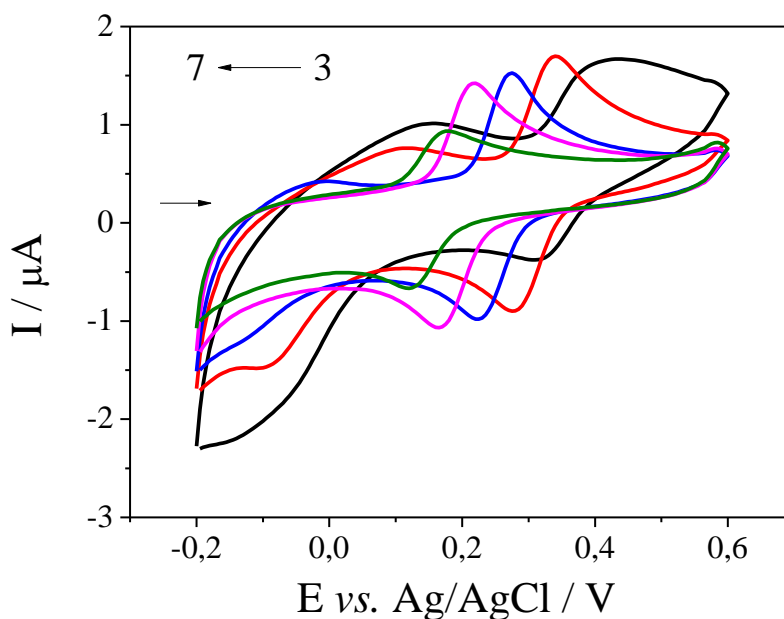
## 5.2 Estudo do pH

O estudo do pH foi realizado com o intuito de elucidar os mecanismos das reações envolvendo os analitos frente ao eletrodo modificado e estudar a condição ótima para os estudos posteriores. Para isso, foi utilizada a voltametria cíclica, em conjunto com o tampão B-R  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , que foi escolhido para verificar o comportamento redox dos analitos DP, 5-HT e TP, em uma faixa de valores de pH entre 3,0 e 7,0.

Como mostrado pela Figura 6, o analito DP apresentou eletroatividade tanto na oxidação, quanto da redução, demonstrando um comportamento reversível. Outra observação é o deslocamento dos sinais para valores mais negativos de potencial conforme se aumentou o valor de pH, o que sugere que estas reações são dependentes de transferência de prótons<sup>49</sup>. A melhor relação entre qualidade do sinal analítico e intensidade de corrente, para ambos os processos, catódico e anódico, foi obtida em pH 6,0. Para valores de pH maiores que 7,0, há um desfavorecimento da oxirredução, pois

com altas concentrações de  $\text{OH}^-$ , há a desprotonação das hidroxilas do anel benzênico, o que afeta não só a oxidação, visto que ambas reações envolvendo a dopamina são dependentes da transferência de prótons. *Gong et al.* e *Turunc et al.* relataram comportamento similar ao observado neste trabalho.<sup>49,50</sup>

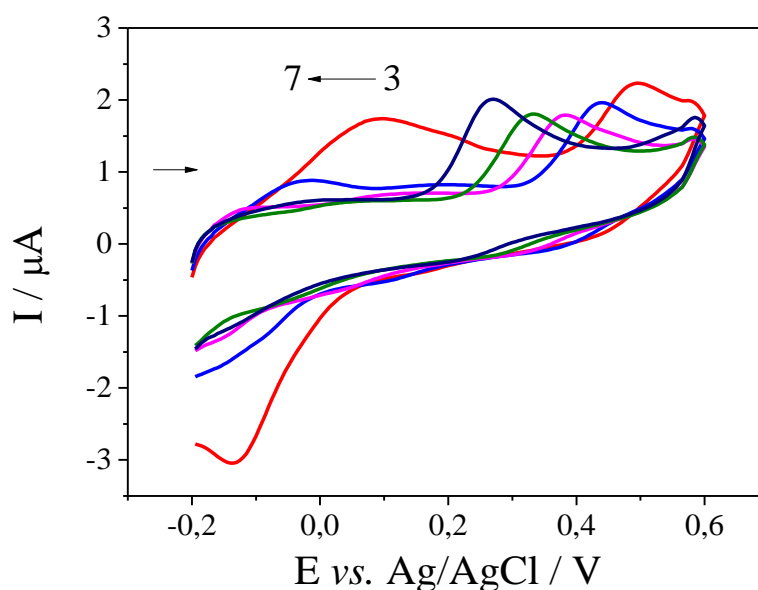
**Figura 6:** Efeito do pH no comportamento eletroquímico da dopamina. Voltamogramas cíclicos do analito em presença de  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  utilizando tampão B-R  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .



Fonte: O autor.

Conforme observado na Figura 7, o analito 5-HT possui somente um pico de oxidação na região entre  $+0,5 \text{ V}$  e  $+0,25 \text{ V}$ , sendo considerado, neste caso, um processo irreversível. Entretanto, há um deslocamento dos picos de oxidação para potenciais mais negativos conforme o aumento dos valores de pH. Para valores de pH maiores que 7,0 houve decréscimo da resposta analítica, provavelmente pela diminuição da espécie protonada da 5-HT ( $\text{p}K_a \sim 10$ ) nestas condições. Este comportamento eletroquímico já foi observado em outros trabalhos recentes, como aqueles desenvolvidos por *Ramos et al.* e *Fayemi et al.*<sup>51,52</sup>

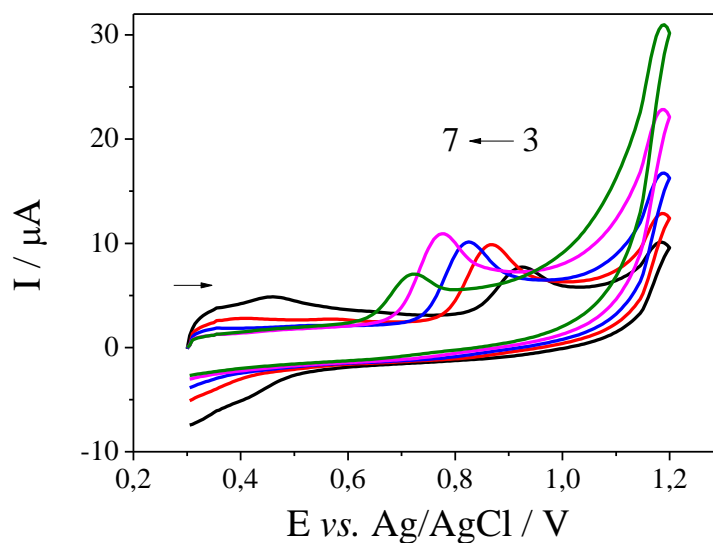
**Figura 7:** Efeito do pH no comportamento eletroquímico da serotonina. Voltamogramas cíclicos para 5-HT  $65 \mu\text{mol L}^{-1}$  utilizando tampão B-R  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .



Fonte: O autor.

Os voltamogramas cíclicos para triptofano frente ao CPE/ $\text{Fe}_x\text{O}_y$  estão representados na Figura 8. Verifica-se que o comportamento deste analito é semelhante àquele apresentado pelo 5-HT. Identifica-se um sinal de oxidação, característico de processo irreversível, e houve deslocamento do pico conforme a variação dos valores de pH. Acima de pH 7,0 o triptofano não possui resposta de corrente e potencial significativo, o que impossibilita a sua determinação. O voltamograma possuiu perfil similar ao relatado por *Nie et al.*<sup>53</sup> De acordo com o comportamento individual dos analitos, o valor de pH 6,0 foi escolhido para o estudo simultâneo dos três analitos, uma vez que apresentam intensidades de corrente satisfatórias e potenciais de oxidação bem definidos nesse valor de pH.

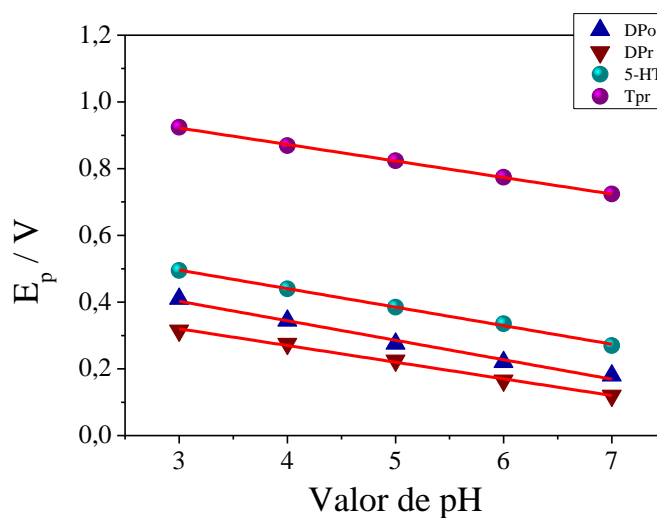
**Figura 8:** Efeito do pH no comportamento eletroquímico do triptofano. Voltamogramas cíclicos do triptofano  $125 \mu\text{mol L}^{-1}$  utilizando tampão B-R  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .



Fonte: O autor.

A Figura 9 apresenta a correlação entre potencial de pico ( $E_p$ ) e pH. As equações obtidas para cada analito podem ser descritas como  $E / \text{V} = -0,058 \text{ pH} + 0,57$  ( $R^2 = 0,986$ ) para dopamina oxidada;  $E / \text{V} = -0,050 \text{ pH} + 0,47$  ( $R^2 = 0,994$ ) para a forma reduzida da DP;  $E / \text{V} = -0,055 \text{ pH} + 0,66$  ( $R^2 = 0,997$ ) para 5-HT; e  $E / \text{V} = -0,050 \text{ pH} + 1,07$  ( $R^2 = 0,999$ ) para triptofano.

**Figura 9:** Correlação entre  $E_p$  vs. pH

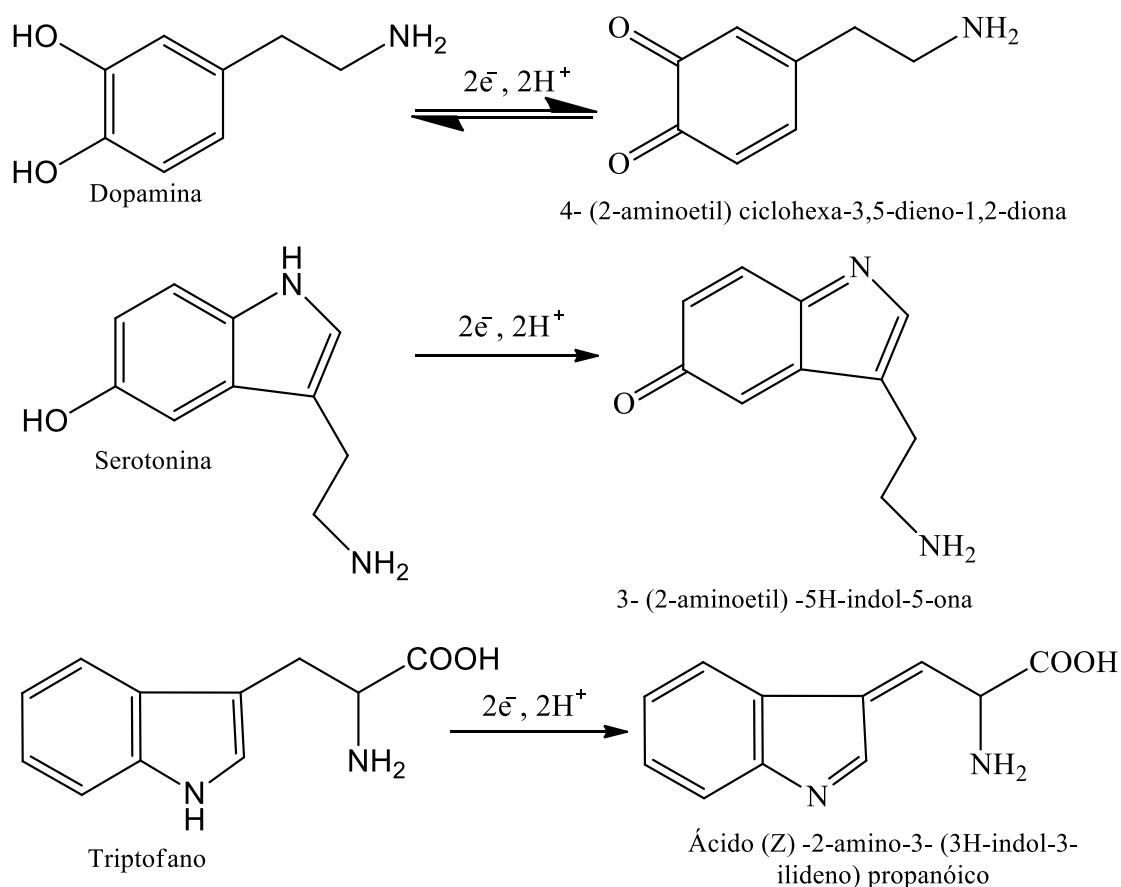


Fonte: O autor.

A inclinação, próxima a  $0,059 \text{ V pH}^{-1}$  e expressa pela equação de Nernst, representa que o mesmo número de mol de íons hidrônio e elétrons estão envolvidos nos mecanismos de oxidação dos três analitos. Desta maneira, foi possível concluir que todas as reações que envolvem os analitos, apresentadas na Figura 10, para a DP, 5-HT e TP, possuem essa particularidade. Na literatura, inúmeros são os processos em que os mecanismos de oxidação para DP, 5-HT, e TP são de 2 mols de íons hidrônio e 2 mols de elétrons.<sup>36,54,55</sup>

Vale ressaltar que os três analitos sofrem processos de oxidação em diferentes grupos funcionais, em suas respectivas moléculas, o que confere diferentes potenciais de oxidação, separados em pelo menos 0,1 V, fato que possibilita a determinação simultânea dos três neurotransmissores.

**Figura 10:** Equações que representam os processos redox para DP, 5-HT e TP.



Fonte: O autor

### 5.3 Estudo da velocidade de varredura

O estudo da velocidade de varredura foi utilizado para investigar os processos de transporte de massa envolvidos nas reações de oxirredução na superfície do CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub>. Os voltamogramas correspondentes são mostrados na Figura 11A. Utilizando o tampão B-R 0,1 mol L<sup>-1</sup>, em pH 6,0 e a voltametria cíclica, foi investigado o comportamento dos três analitos simultaneamente, sendo a velocidade de varredura variada entre 30 e 200 mV s<sup>-1</sup>. As correntes dos picos de oxidação aumentaram linearmente com a velocidade de varredura. De acordo com a literatura<sup>56</sup>, a relação do logaritmo da corrente de pico ( $\log i$ ) *versus* o logaritmo da velocidade de varredura ( $\log v$ ), com coeficiente angular de 0,5 ou próximo a esse valor, indica que a reação é controlada por difusão. Além disso, quando o coeficiente angular se aproxima de 1,0 o transporte de massa é controlado por adsorção. As relações para  $\log i$  *versus*  $\log v$  para os três analitos podem ser expressas com as seguintes equações (vide Figura 8B).

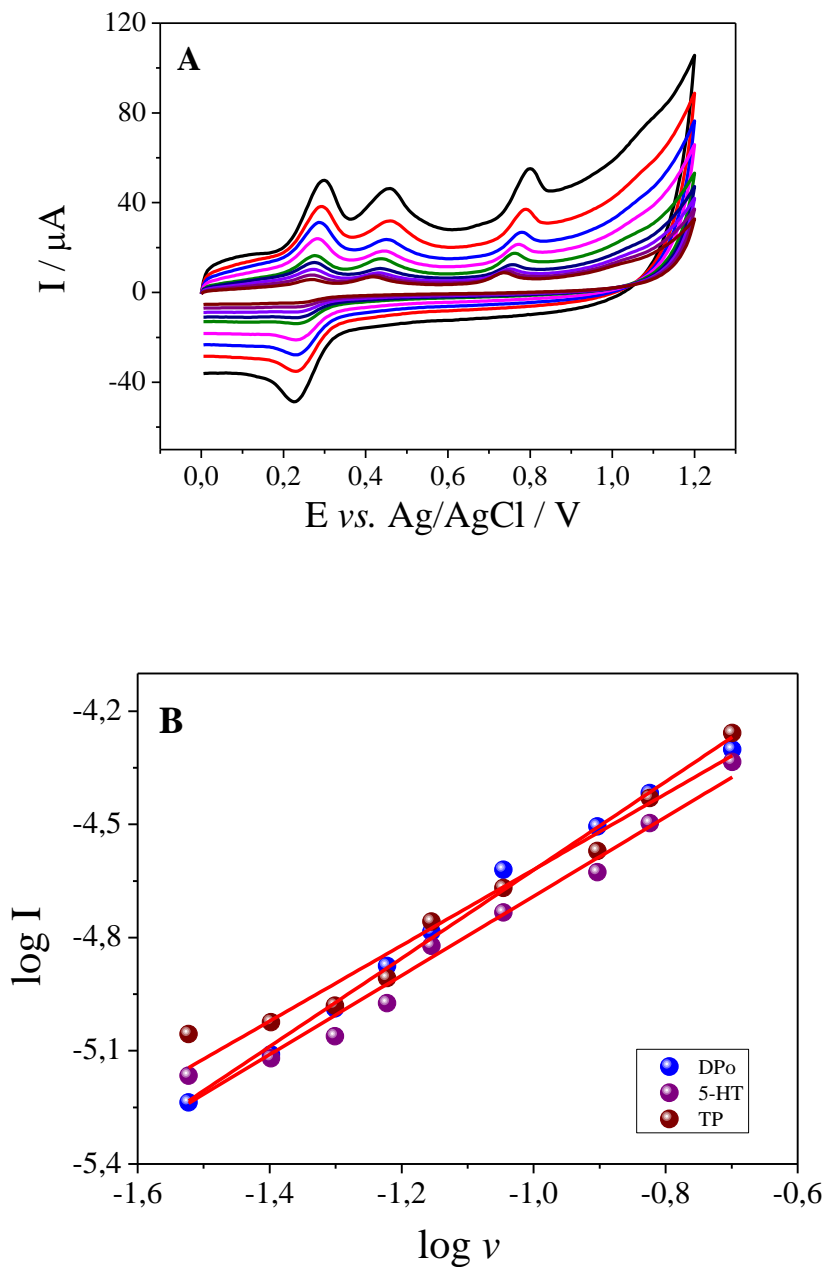
$$\text{DP}_o: \log I = 1,169 \log v - 3,450 \quad (R^2 = 0,989).$$

$$\text{5-HT: } \log I = 1,049 \log v - 3,641 \quad (R^2 = 0,974).$$

$$\text{TP: } \log I = 1,004 \log v - 3,615 \quad (R^2 = 0,960).$$

Dessa maneira, verifica-se que o transporte de massa para os três analitos na interface eletrodo-solução é governado por adsorção. Esta característica pode ser promissora para fases posteriores do trabalho, tendo em vista o interesse em técnicas de pré-concentração na construção de curvas de calibração com incremento na sensibilidade.

**Figura 11:** (A) Estudo da velocidade de varredura contendo  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de dopamina,  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  de serotonina, e  $250 \mu\text{mol L}^{-1}$  de triptofano. Condições experimentais: Tampão B-R  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 6,0). (B) Relação para  $\log I$  vs.  $\log v$ .



Fonte: O autor.

Trabalhos com plataformas de detecção simples e descartáveis não são comuns na literatura, mas estão ganhando cada vez mais atenção da comunidade científica, como o artigo publicado por *Rejithamol et al.* Este grupo indiano obteve dados experimentais



semelhantes aos apresentados aqui, para o estudo de transporte de massa, ainda que utilizando um eletrodo totalmente diferente.<sup>48</sup>

#### 5.4 Curva de calibração

Utilizando a técnica de SWV, obteve-se uma curva de calibração, para cada analito, mediante a adição de alíquotas de solução padrão de DP, 5-HT e TP. A Figura 12 mostra os voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de DP, 5-HT e TP e as curvas de calibração (*inset*) utilizando o eletrodo CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub>. A intensidade de corrente aumenta proporcionalmente com a concentração dos três analitos em três diferentes faixas de concentração (DP: 0,49 – 21 μmol L<sup>-1</sup>; 5-HT: 0,49 – 13,6 μmol L<sup>-1</sup>; TP: 2,9 – 25 μmol L<sup>-1</sup>). As equações obtidas a partir de regressão linear são expressas por (*n*=3):

$$\text{DP: } I / \mu\text{A} = 1,062 [\text{DP}] + 1,32 \times 10^{-6} \quad (R^2 = 0,967) \quad (1^{\text{a}} \text{ faixa}) \text{ e}$$

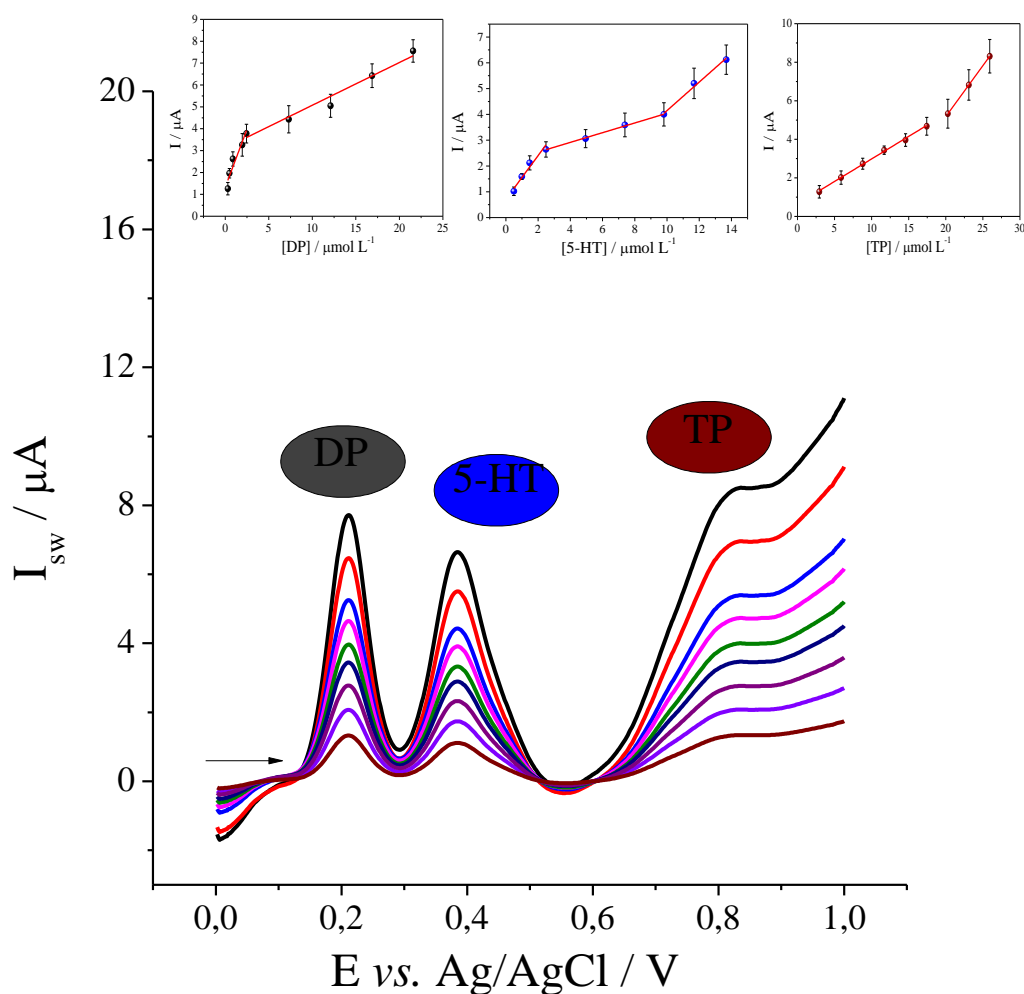
$$I / \mu\text{A} = 0,1952 [\text{DP}] + 3,12 \times 10^{-6} \quad (R^2 = 0,962) \quad (2^{\text{a}} \text{ faixa})$$

$$\text{5-HT: } I / \mu\text{A} = 0,849 [\text{5-HT}] + 7,06 \times 10^{-7} \quad (R^2 = 0,980) \quad (1^{\text{a}} \text{ faixa}) \text{ e}$$

$$I / \mu\text{A} = 0,275 [\text{5-HT}] + 1,786 \times 10^{-6} \quad (R^2 = 0,963) \quad (2^{\text{a}} \text{ faixa})$$

$$\text{TP: } I / \mu\text{A} = 0,258 [\text{TP}] + 4,29 \times 10^{-7} \quad (R^2 = 0,971)$$

**Figura 12:** Voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de DP, 5-HT e TP. *Inset:* curvas de calibração obtidas em tampão B-R 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH = 6,0).



Fonte: O autor.

Os valores de limite de detecção (LoD) e limite de quantificação (LoQ) foram calculados utilizando as seguintes expressões, de acordo com *Gary L. Long e J. D. Winefordner*<sup>57</sup>

$$LoD = \frac{3 S_b}{b}$$

$$LoQ = \frac{10 S_b}{b}$$

onde  $S_b$  é o desvio padrão ( $n=3$ ) do coeficiente linear da equação da reta obtida e  $b$  é o coeficiente angular da reta. As características analíticas para novo método para

determinação simultânea de DP, 5-HTP e TP pelo emprego de CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub> estão compiladas na Tabela 1.

**Tabela 1:** Características analíticas para a determinação de DP, 5-HT e TP utilizando a arquitetura eletródica CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub>.

<b>Parâmetro</b>	<b>DP</b>	<b>5-HT</b>	<b>TP</b>
Potencial de pico / V	+0,21	+0,38	+0,82
Faixas lineares / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,49 – 21	0,49 – 13,6	2,9 – 25
Coeficiente de determinação ( $R^2$ )	0,967 e 0,952	0,980;0,996;0,985	0,971 e 0,994
Coeficiente angular / $\mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$	1,06 e 0,195	0,849 e 0,275; 0,55	0,258
LoD / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,21	0,13	2,18
LoQ / $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,49	0,48	2,87

$n = 3$

Os valores de LoD obtidos para os analitos são promissores pois se equiparam àqueles já relatados na literatura. Na Tabela 2 se encontra a comparação da *performance* do eletrodo proposto CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub> a outros eletrodos modificados.

**Tabela 2:** Comparação de diferentes plataformas eletródicas para determinação de DA, 5-HT e TP.

Plataforma Eletródica	Faixa linear / $\mu\text{mol L}^{-1}$			Limite de detecção / $\mu\text{mol L}^{-1}$			Técnica voltamétrica	Ref
	DA	5-HT	TP	DA	5-HT	TP		
Au-Cu <sub>2</sub> O/rGO/GCE	10 – 90	-	-	3,9	-	-	DPV	58
Au/rGO/GCE	6,8 – 41	-	-	1,4	-	-	DPV	59
[emim][CHF <sub>2</sub> CF <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> ]-CPE	0,13-1,83	-	-	0,04	-	-	SWV	60
MCM-41-COOH/Au@nano-CILPE	-	0,2-20	-	-	0,1	-	SWV	61
NiO/CNT/PEDOT/ GCE	0,03-20	0,3-35	1-41	0,026	0,063	0,21	DPV	47
Au/TiO <sub>2</sub> /CNT/GCE	0,3-15	-	1-162	0,87	-	0,24	DPV	62
EFTAG-CPE	-	-	20-350	-	-	15	SWV	63
NiO-CuO/GR/GCE	0,5-20	-	0,3-40	0,167	-	0,1	SWV	64
p-Aln/Ms-atCNTCPE	1-35	1-22	-	0,08	0,1	-	DPV	65
Fe <sub>x</sub> O <sub>y</sub> /CPE	0,49-21	0,49-13,6	2,9-25	0,21	0,13	2,18	SWV	Este trabalho

**Au-Cu<sub>2</sub>O/rGO/GCE** – Eletrodo de carbono vítreo com nanocompósito de Au-Cu<sub>2</sub>O suportado em folhas de óxidos de grafeno reduzido;

**Au/rGO/GCE** – Eletrodo de carbono vítreo com nanopartículas de ouro eletrodepositadas em folhas de óxido de grafeno reduzido;

**[emim][CHF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>]-CPE** – Eletrodo de pasta de carbono modificado com 1-etil-3-metilimidazol 1,1,2,2-tetrafluoretanosulfonato, líquido iônico derivado do imidazol;

**MCM-41-COOH/Au@nano-CILPE** – Eletrodo de pasta de carbono modificado com líquido iônico 1-octilpiridínio hexafluorofosfato, peneira molecular funcionalizada MCM-41 e compósito de ouro coloidal com nano-grafite;

**NiO/CNT/PEDOT/ GCE** – Eletrodo de carbono vítreo modificado com NiO, nanotubos de carbono e Poli(3,4-etilenodioxitiofeno);

**Au/TiO<sub>2</sub>/CNT/GCE** – Eletrodo de carbono vítreo modificado com compósito de nanopartículas de Au, nanopartículas de TiO<sub>2</sub> e nanotubos de carbono;

**EFTAG-CPE** – Eletrodo de pasta de carbono modificado com grafeno e acetato de etil(4-ferrocenil-[1,2,3]triazol-1-il);

**NiO-CuO/GR/GCE** – Eletrodo de carbono vítreo modificado com grafeno e nanopartículas de NiO-CuO eletrodepositadas na superfície eletródica;

**p-Aln/Ms-atCNTCPE** – Eletrodo de pasta de carbono modificado com compósito de MoS<sub>2</sub> e nanotubos de carbono de múltiplas paredes(MWCNTs), seguido de polimerização da alanina na superfície da plataforma de detecção.

Parte dos trabalhos comparados aborda quantificações em amostras biológicas; porém, para que a plataforma de detecção desenvolvida neste trabalho seja também viável para determinações em matrizes complexas, é necessário conduzir mais testes para a otimização das curvas de calibração. Os analitos foco trabalho costumam estar presentes em concentrações inferiores a  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> em fluidos biológicos, como já mostrado anteriormente.

Tendo em vista que todos os analitos apresentaram característica de transporte de massa governado por adsorção, é possível se obter melhora nos valores de LoD e LoQ utilizando técnicas de pré-concentração, em um tempo definido de alguns segundos, antes da aplicação da varredura de potenciais para coleta dos dados por SWV.

A aplicação desta nova arquitetura eletródica CPE/Fe<sub>x</sub>O<sub>y</sub>, proveniente de uma reciclagem simples e de baixo custo de resíduos da indústria do aço, se mostra promissora para a eletroanálise de amostras de interesse clínico e biológico.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elaboração do eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com óxidos de ferro provindos da carepa de aço ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{FeO}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) mostrou que é possível realizar a determinação simultânea de analitos de interesse clínico e biológico com uma arquitetura eletródica proveniente de uma reciclagem simples e de baixo custo.

Verificou-se que o eletrodo modificado  $\text{CPE/Fe}_x\text{O}_y$  apresentou características de maior seletividade e sensibilidade quando comparado ao eletrodo *bare*, tornando-o mais adequado à aplicação eletroanalítica. O mecanismo de transferência de massa, estudado através da voltametria cíclica, foi observado como sendo governado por adsorção, para todos os analitos.

A aplicação eletroanalítica foi feita por meio da voltametria de onda quadrada (SWV); com os devidos parâmetros otimizados, foram construídas curvas de calibração para DP, 5-HT e TP. Os limites de detecção e quantificação se mostraram promissores, quando comparados com alguns trabalhos presentes na literatura que abordam determinações simultâneas em matrizes complexas reais.

O eletrodo apresentou compromisso entre os perfis voltamétricos e as correntes de pico observadas; porém para que esta arquitetura eletródica seja eficiente na determinação simultânea proposta, em amostras reais, é necessário um estudo mais aprofundado dos parâmetros de otimização das curvas de calibração, pois é possível obter limites de detecção e quantificação menores com o auxílio de técnicas de pré concentração dos analitos.

Desta maneira, o novo sensor proposto  $\text{CPE/Fe}_x\text{O}_y$ , em conjunto com a voltametria de onda quadrada, apresentou resultados promissores para a determinação simultânea de DP, 5-HT e TP.

## REFERÊNCIAS

1. Stahl, S. M. & Muntner, N. *Stahl's Essential Psychopharmacology*. Fourth edition. San Diego. Cambridge university press (2013).
2. Fuster, J. M. *The Prefrontal Cortex*, Fourth Edition. Los Angeles. Academic Press, 2008).
3. Chauhan, N., Soni, S., Agrawal, P., Balhara, Y. P. S. & Jain, U. Recent advancement in nanosensors for neurotransmitters detection: Present and future perspective. *Process Biochemistry* **91**, 241–259 (2020).
4. Pytka, K. *et al.* The role of serotonergic, adrenergic and dopaminergic receptors in antidepressant-like effect. *Pharmacological Reports* **68**, 263–274 (2016).
5. Marín-Valencia, I. *et al.* Biochemical diagnosis of dopaminergic disturbances in paediatric patients: Analysis of cerebrospinal fluid homovanillic acid and other biogenic amines. *Clinical Biochemistry* **41**, 1306–1315 (2008).
6. da Silva Alves, F. *et al.* Dopaminergic modulation of the reward system in schizophrenia: A placebo-controlled dopamine depletion fMRI study. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **23**, 1577–1586 (2013).
7. Graeff, F. G., Guimarães, F. S., De Andrade, T. G. C. S. & Deakin, J. F. W. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **54**, 129–141 (1996).
8. Mathew, G. *et al.* Direct electrochemical reduction of hematite decorated graphene oxide ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@erGO) nanocomposite for selective detection of Parkinson's disease biomarker. *Biosens. Bioelectron.* **115**, 53–60 (2018).
9. Sturgill, M. G., Kelly, M., & Notterman, D. A. *Pharmacology of the Cardiovascular System. Pediatric Critical Care* **25**, 277–305 (2011).
10. Veglio, F. *et al.* Evaluation of serotonin levels in human aqueous humor. *Ophthalmologica* **212**, 160–163 (1998).
11. Ryding, E., Lindström, M. & Träskman-Bendz, L. The role of dopamine and serotonin in suicidal behaviour and aggression. *Progress in Brain Research* **172**, 307–315 (2008).
12. Wu, H., Denna, T. H., Storkersen, J. N. & Gerriets, V. A. Beyond a neurotransmitter: The role of serotonin in inflammation and immunity. *Pharmacological Research* **140**, 100–114 (2019).

13. Gershon, M. D. 5-Hydroxytryptamine (serotonin) in the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* **20**, 14–21 (2013).
14. Shajib, M. S. & Khan, W. I. The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation. *Acta Physiologica* **213**, 561–574 (2015).
15. Talley, N. J. Serotonergic neuroenteric modulators. *Lancet* **358**, 2061–2068 (2001).
16. Mattioli, I. A., Baccarin, M., Cervini, P. & Cavaleiro, É. T. G. Electrochemical investigation of a graphite-polyurethane composite electrode modified with electrodeposited gold nanoparticles in the voltammetric determination of tryptophan. *J. Electroanal. Chem.* **835**, 212–219 (2019).
17. Marioni, F., Bertoli, A. & Pistelli, L. A straightforward procedure to biosynthesise melatonin using freshly chopped *Achillea millefolium* L. as reagent. *Phytochem. Lett.* **1**, 107–110 (2008).
18. Moffett, J. R. & Namboodiri, M. A. Tryptophan and the immune response. *Immunol. Cell Biol.* **81**, 247–265 (2003).
19. Young, S. N. & Leyton, M. The role of serotonin in human mood and social interaction: Insight from altered tryptophan levels. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **71**, 857–865 (2002).
20. Wang, Z. *et al.* Simultaneous and selective measurement of dopamine and uric acid using glassy carbon electrodes modified with a complex of gold nanoparticles and multiwall carbon nanotubes. *Sensors Actuators, B Chem.* **255**, 2069–2077 (2018).
21. Fatma, S., Prasad, B. B., Jaiswal, S., Singh, R. & Singh, K. Electrochemical simultaneous analysis of dopamine and epinephrine using double imprinted One MoNomer acryloylated graphene oxide-carbon black composite polymer. *Biosens. Bioelectron.* **135**, 36–44 (2019).
22. Kissinger, Peter. P ; Heineman, W. R. *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry*. Second edition. New York. *Marcel Dekker, Inc.* (1996).
23. Wang, J. *Analytical electrochemistry*. Second edition. New York. Wiley-VCH (1996).
24. Agostinho, S. M. L., Villamil, R. F. V., Neto, A. A. & Aranha, H. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. *Química Nova* **27**, 813–817 (2004).
25. Singh, T., Pandya, D. K. & Singh, R. Effect of supporting electrolytes on the growth and optical properties of electrochemically deposited ZnO nanorods. *Opt.*



- Mater. (Amst)*. **35**, 1493–1497 (2013).
26. Deepa, S., Kumara Swamy, B. E. & Vasantakumar Pai, K. Electrochemical Sensing Performance of Citicoline Sodium Modified Carbon paste electrode for Determination of Dopamine and Serotonin. *Materials Science for Energy Technologies* (2020).
  27. Kumar, M. A., Lakshminarayanan, V. & Ramamurthy, S. S. Platinum nanoparticles–decorated graphene-modified glassy carbon electrode toward the electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine, and paracetamol. *Comptes Rendus Chim.* **22**, 58–72 (2019).
  28. Baig, N., Sajid, M. & Saleh, T. A. Recent trends in nanomaterial-modified electrodes for electroanalytical applications. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **111**, 47–61 (2019).
  29. Qiao-juan Gong; Hai-xia Han; Yong-dong Wang; Chen-zhong Yao; Hai-ying Yang, J. Q. An electrochemical sensor for dopamine detection based on the electrode of a poly-tryptophan-functionalized graphene composite | Elsevier Enhanced Reader. *New Carbon Mater.* **35**(1), 34–41 (2020).
  30. Wei, J. *et al.* Enhanced sensing of ascorbic acid, dopamine and serotonin at solid carbon paste electrode with a nonionic polymer film. *Talanta* **83**, 190–196 (2010).
  31. Arumugasamy, S. K., Chellasamy, G., Gopi, S., Govindaraju, S. & Yun, K. Current advances in the detection of neurotransmitters by nanomaterials: An update. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **123**, 115766 (2020).
  32. Morawski, F. de M., Winiarski, J. P., de Campos, C. E. M., Parize, A. L. & Jost, C. L. Sensitive simultaneous voltammetric determination of the herbicides diuron and isoproturon at a platinum/chitosan bio-based sensing platform. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **206**, (2020).
  33. Carrera, V., Sabater, E., Vilanova, E. & Sogorb, M. A. A simple and rapid HPLC-MS method for the simultaneous determination of epinephrine, norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine: Application to the secretion of bovine chromaffin cell cultures. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **847**, 88–94 (2007).
  34. Zhao, Y., Zhao, S., Huang, J. & Ye, F. Quantum dot-enhanced chemiluminescence detection for simultaneous determination of dopamine and epinephrine by capillary electrophoresis. *Talanta* **85**, 2650–2654 (2011).
  35. Ferreira, E. C. & Rossi, A. V. A quimiluminescência como ferramenta analítica:

- Do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. *Quim. Nova* **25**, 1003–1011 (2002).
36. Atta, N. F., Ahmed, Y. M. & Galal, A. Electrochemical Determination of Neurotransmitters at Crown Ether Modified Carbon Nanotube Composite: Application for Sub-Nano-Sensing of Serotonin in Human Serum. *Electroanalysis* **30**, 1- 12 (2018).
  37. Madhuchandra, H. D., Kumara Swamy, B. E. & Sunil Kumar Naik, T. S. Pretreated carbon paste electrode sensor for Adrenaline: A voltammetric study. *Chem. Data Collect.* **28**, (2020).
  38. Madhuchandra, H. D. & Swamy, B. E. K. Poly (vanillin) modified carbon paste electrode for the determination of adrenaline: A voltammetric study. *Mater. Sci. Energy Technol.* **2**, 697–702 (2019).
  39. Della, V. P. Síntese e caracterização do pigmento cerâmico de hematita, obtida a partir de carepa de aço, encapsulada em sílica amorfa obtida a partir de casca de arroz. 145 folhas. Tese de doutorado - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis (2005).
  40. Legodi, M. A. & de Waal, D. The preparation of magnetite, goethite, hematite and maghemite of pigment quality from mill scale iron waste. *Dye. Pigment.* **74**, 161–168 (2007).
  41. Costa, T. C. *et al.* Industrial steel waste as an iron source to promote heterogeneous and homogeneous oxidation/reduction reactions. *J. Clean. Prod.* **211**, 804–817 (2019).
  42. Hassan, A. H. A. *et al.* Biomimetic magnetic sensor for electrochemical determination of scombrotoxin in fish. *Talanta* **194**, 997–1004 (2019).
  43. Kudr, J., Klejdus, B., Adam, V. & Zitka, O. Magnetic solids in electrochemical analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **98**, 104–113 (2018).
  44. Bagheri, H., Afkhami, A., Hashemi, P. & Ghanei, M. Simultaneous and sensitive determination of melatonin and dopamine with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticle-decorated reduced graphene oxide modified electrode. *RSC Adv.* **5**, 21659–21669 (2015).
  45. Vinay, M. M. & Arthoba Nayaka, Y. Iron oxide (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles modified carbon paste electrode as an advanced material for electrochemical investigation of paracetamol and dopamine. *J. Sci. Adv. Mater. Devices* **4**, 442–450 (2019).
  46. Khan, M. Z. H. *et al.* A glassy carbon electrode modified with a composite consisting of gold nanoparticle, reduced graphene oxide and poly(L-arginine) for

- simultaneous voltammetric determination of dopamine, serotonin and L-tryptophan. *Microchim. Acta* **185**, (2018).
47. Sun, D. *et al.* Electrodeposition synthesis of a NiO/CNT/PEDOT composite for simultaneous detection of dopamine, serotonin, and tryptophan. *Sensors Actuators, B Chem.* **259**, 433–442 (2018).
  48. Rejithamol, R., Krishnan, R. G. & Beena, S. Disposable pencil graphite electrode decorated with a thin film of electro-polymerized 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10-octahydropyrimido [1, 2-a] azepine for simultaneous voltammetric analysis of dopamine, serotonin and tryptophan. *Mater. Chem. Phys.* **258**, 123857 (2021).
  49. Turunc, E., Gumus, I. & Arslan, H. Redox active Co(II) complex modified carbon paste electrode for the determination of dopamine. *Materials Chemistry and Physics* **243**, 122597 (2020).
  50. Gong, Q. *et al.* An electrochemical sensor for dopamine detection based on the electrode of a poly-tryptophan-functionalized graphene composite. *New Carbon Mater.* **35**, 34–41 (2020).
  51. Ramos, M. M. V., Carvalho, J. H. S., de Oliveira, P. R. & Janegitz, B. C. Determination of serotonin by using a thin film containing graphite, nanodiamonds and gold nanoparticles anchored in casein. *Meas. J. Int. Meas. Confed.* **149**, (2020).
  52. Fayemi, O. E., Adekunle, A. S. & Ebenso, E. E. Electrochemical determination of serotonin in urine samples based on metal oxide nanoparticles/MWCNT on modified glassy carbon electrode. *Sens. Bio-Sensing Res.* **13**, 17–27 (2017).
  53. Nie, X. *et al.* Sensitive and selective determination of tryptophan using a glassy carbon electrode modified with nano-CeO<sub>2</sub>/reduced graphene oxide composite. *Microchem. J.* **159**, 105367 (2020).
  54. Khoshnevisan, K. *et al.* Determination of the biomarker L-tryptophan level in diabetic and normal human serum based on an electrochemical sensing method using reduced graphene oxide/gold nanoparticles/18-crown-6. *Anal. Bioanal. Chem.* **412**, 3615–3627 (2020).
  55. Liang, W. *et al.* Simultaneous electrochemical sensing of serotonin, dopamine and ascorbic acid by using a nanocomposite prepared from reduced graphene oxide, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Microchim. Acta* **186**, (2019).
  56. Bard, A; Faulkner, L. *Electrochemical methods, fundamentals and applications*. Second edition. New York. Wiley - VCH (2001).
  57. Long, G. L. & Winefordner, J. D. Limit of detection: a closer look at the IUPAC

- definition. *Anal. Chem.* **55**, (1983).
58. Aparna, T. K., Sivasubramanian, R. & Dar, M. A. One-pot synthesis of Au-Cu<sub>2</sub>O/rGO nanocomposite based electrochemical sensor for selective and simultaneous detection of dopamine and uric acid. *J. Alloys Compd.* **741**, 1130–1141 (2018).
  59. Wang, C. *et al.* A facile electrochemical sensor based on reduced graphene oxide and Au nanoplates modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sensors Actuators, B Chem.* **204**, 302–309 (2014).
  60. Šekuljica, S. *et al.* Imidazolium-based ionic liquids as modifiers of carbon paste electrodes for trace-level voltammetric determination of dopamine in pharmaceutical preparations. *J. Mol. Liq.* **306**, (2020).
  61. Li, Y. *et al.* Carboxyl-functionalized mesoporous molecular sieve/colloidal gold modified nano-carbon ionic liquid paste electrode for electrochemical determination of serotonin. *Mater. Res. Bull.* **109**, 240–245 (2019).
  62. Sun, L. *et al.* Simultaneous Determination of Small Biomolecules and Nitrite Using an Au/TiO<sub>2</sub>/Carbon Nanotube Composite-Modified Electrode. *J. Electrochem. Soc.* **163**, B567–B572 (2016).
  63. Beitollahi, H., Movlaee, K., Ganjali, M. R. & Norouzi, P. A sensitive graphene and ethyl 2-(4-ferrocenyl-[1,2,3]triazol-1-yl) acetate modified carbon paste electrode for the concurrent determination of isoproterenol, acetaminophen, tryptophan and theophylline in human biological fluids. *J. Electroanal. Chem.* **799**, 576–582 (2017).
  64. Liu, B. *et al.* Electrochemical preparation of nickel and copper oxides-decorated graphene composite for simultaneous determination of dopamine, acetaminophen and tryptophan. *Talanta* **146**, 114–121 (2016).
  65. Kumar, M., Wang, M., Kumara Swamy, B. E., Praveen, M. & Zhao, W. Poly (alanine)/NaOH/ MoS<sub>2</sub>/MWCNTs modified carbon paste electrode for simultaneous detection of dopamine, ascorbic acid, serotonin and guanine. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **196**, (2020).