



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

Guilherme Ventura de Quadros

**CONSTRUÇÃO DE UM SENSOR BASEADO EM GRAFENO FUNCIONALIZADO
COM ENXOFRE E NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA DETERMINAÇÃO DE
DOPAMINA**

Florianópolis - SC

2023

Guilherme Ventura de Quadros

**CONSTRUÇÃO DE UM SENSOR BASEADO EM GRAFENO FUNCIONALIZADO
COM ENXOFRE E NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA DETERMINAÇÃO DE
DOPAMINA**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Química do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientadora: Prof^a Dra. Iolanda da Cruz Vieira
Coorientador: Dr. João Paulo Winiarski

Florianópolis

2023

Ventura, Guilherme Q

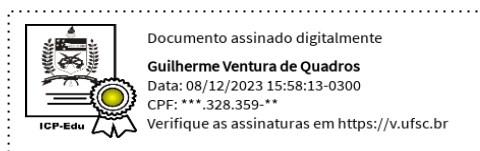
Construção de um sensor baseado em grafeno funcionalizado com enxofre e nanopartículas de ouro para determinação de dopamina / Guilherme Q Ventura ; orientadora, Iolanda Vieira, coorientador, João Paulo Winiarski, 2023.

44 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Graduação em Química - Bacharelado, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Química - Bacharelado. 2. Eletroanalítica. 3. Grafeno funcionalizado. 4. Nanopartículas de ouro. 5. Dopamina. I. Vieira, Iolanda . II. Winiarski, João Paulo. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Química - Bacharelado. IV. Título.

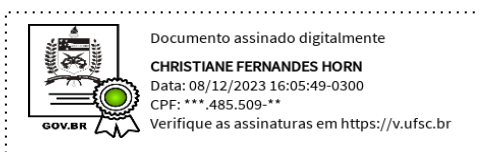


Guilherme Ventura de Quadros

Construção de um sensor baseado em grafeno funcionalizado com enxofre e nanopartículas de ouro para determinação de dopamina

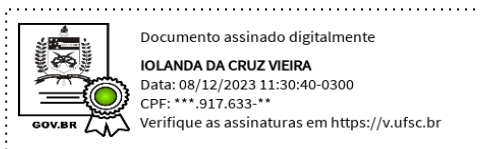
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Químico Bacharel e aprovado em sua forma final pelo Curso Química.

Local: Florianópolis, 27 de novembro de 2023.



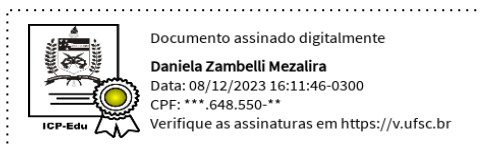
Coordenação do Curso

Banca examinadora



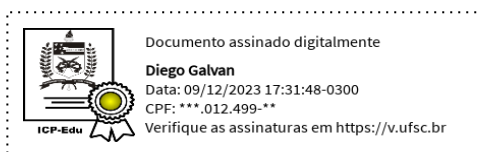
Prof^a. Dra. Iolanda da Cruz Vieira

Orientadora



Prof^a. Dra. Daniela Zambelli Mezalira

Universidade Federal de Santa Catarina



Prof. Dr. Diego Galvan

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023.

Dedico aos meus pais, a minha irmã e aos meus amigos.

AGRADECIMENTOS

Sou eternamente grato aos meus pais, Tuca e Adi, por me amarem e apoiarem nessa longa jornada que é a vida, eu amo vocês. Agradeço imensamente a Carolina, que além de ser minha irmã é minha professora e uma verdadeira amiga para momentos bons e ruins.

Agradeço a Prof^a Dra. Iolanda C. Vieira por me dar a oportunidade de realização desse trabalho em seu laboratório e por todos os ensinamentos e orientações que me fazem crescer profissionalmente e como pessoa.

A Dra. Pâmyla, Dr. Edson, Dr. João, Marie, Luan, Eduardo, Guinther, Nathalia, Thomaz, Larissa, Diogo e Bruno, amigos que dividiram as bancadas comigo dentro do LaBios.

Aos meus primos Manuela, Maria Eduarda, Emily, José Fernando e ao meu afilhado Isaac, por participarem dessa jornada. Agradecimento especial aos meus primos Letícia e Felipe por todo suporte e companheirismo.

Aos meus amigos do peito, Ana Beatriz, Carolina e Lucas, eles são minha base e meu fomento em todos os momentos.

Agradeço aos meus amigos Fernanda, Lara, Cássia, Matheus, Renata, Thiago, Hari, Helena, Manuela, Thales, Amanda, Ingrid, Nicole, Gabriela, Wany, Francisco, Daniel e Carlo por estarem presentes na minha vida.

Agradeço ao prof^o Luís Otávio de Brito Benetoli e ao André pela síntese feita em seu laboratório.

Ao Curso de Graduação em Química e ao Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de concluir este trabalho e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) pelo suporte financeiro.

“Vejo a vida passar num instante
Será tempo o bastante que tenho pra viver?
Não sei, não posso saber
Quem segura o dia de amanhã na mão?
Não há quem possa acrescentar um milímetro a cada estação
Então, será tudo em vão? Banal? Sem razão?
Seria, sim seria, se não fosse o Amor”
Leandro Roque de Oliveira, 2019.

RESUMO

A dopamina (DOP) é uma molécula orgânica derivada da tirosina, desempenhando um papel como neurotransmissor e hormônio no organismo humano, uma variedade de doenças pode surgir quando sua concentração está desregulada. Portanto, a detecção e quantificação altamente sensível de DOP é muito importante para o desenvolvimento da biomedicina e monitoramento da saúde humana. Neste trabalho, preparou-se um nanocompósito a partir de grafeno funcionalizado com enxofre (S-Graph), onde os grupos com enxofre conseguem estabilizar as nanopartículas de ouro (AuNPs). O S-Graph confere características eletrônicas distintas dos materiais carbonáceos convencionais, enquanto as AuNPs oferecem uma área superficial para a catalise da reação. Além disso, o S-Graph desempenha um papel crucial ao promover a aderência das AuNPs na superfície do material resultante. Dessa forma, é combinado sinergicamente as características desses materiais para o desenvolvimento de um novo nanocompósito e então esse material é aplicado em um sensor eletroquímico afim de aumentar a sensibilidade para detecção de DOP. O material foi caracterizado por meio de técnicas como microscopia eletrônica de transmissão (TEM), apresentando tamanho médio de 53 ± 12 nm, e a formação de uma banda plasmônica das AuNPs, verificada por espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis). Realizou-se os estudos eletroquímicos utilizando o eletrodo de carbono vítreo (GCE) como base para o filme formado, as AuNP-S-Graph e verificou-se o processo reversível para a DOP em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,0. Na criação de um novo método para a detecção e quantificação de DOP, construiu-se curvas de calibração e as mesmas apresentaram duas regiões lineares. A primeira na faixa de concentração de $4,0 \times 10^{-8}$ a $0,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e a segunda de $0,5 \times 10^{-6}$ a $20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção (LOD) de $15,0 \text{ nmol L}^{-1}$ e limite de quantificação (LOQ) de 40 nmol L^{-1} para a primeira faixa linear. Dessa forma, o sensor apresentou-se com sensibilidade adequada para ser aplicado na determinação e quantificação de dopamina e, por essa razão, surge como uma alternativa de significância notável para a análise desse composto em amostras farmacêuticas e biológicas.

Palavras-chave: Catecolaminas; nanomateriais de ouro; funcionalização; modificações de eletrodos; detecção de dopamina.

ABSTRACT

Dopamine (DOP) is an organic molecule derived from tyrosine, playing a role as a neurotransmitter and hormone in the human body; a variety of diseases can arise when its concentration is dysregulated. Therefore, the highly sensitive detection and quantification of DOP are crucial for the development of biomedicine and monitoring human health. In this work, a nanocomposite was prepared from sulfur-functionalized graphene (S-Graph), where sulfur groups can stabilize gold nanoparticles (AuNPs). S-Graph imparts distinct electronic characteristics from conventional carbonaceous materials, while AuNPs provide a catalytic surface area for the reaction. Additionally, S-Graph plays a crucial role in promoting the adhesion of AuNPs to the resulting material's surface. Thus, the characteristics of these materials are synergistically combined to develop a new nanocomposite, which is then applied in an electrochemical sensor to enhance sensitivity for DOP detection. The material was characterized using techniques such as transmission electron microscopy (TEM), showing an average size of 53 ± 12 nm, and the formation of a plasmonic band of AuNPs, verified by ultraviolet-visible (UV-Vis) spectroscopy. Electrochemical studies were conducted using a glassy carbon electrode (GCE) as a base for the formed film, AuNP-S-Graph, revealing a reversible process for DOP in a 0.1 mol L^{-1} B-R buffer solution at pH 6.0. In creating a new method for the detection and quantification of DOP, calibration curves were constructed, showing two linear regions. The first in the concentration range of 4.0×10^{-8} to $0.4\times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$ and the second from 0.5×10^{-6} to $20\times 10^{-6}\text{ mol L}^{-1}$, with a limit of detection (LOD) of 15.0 nmol L^{-1} and a limit of quantification (LOQ) of 40 nmol L^{-1} for the first linear range. Thus, the sensor demonstrated adequate sensitivity for the determination and quantification of dopamine and, for this reason, emerges as a significantly noteworthy alternative for the analysis of this compound in pharmaceutical and biological samples.

Keywords: Catecholamines; gold nanomaterials; functionalization; electrode modifications; dopamine detection.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema de síntese das catecolaminas a partir do aminoácido tirosina, no ciclo da tirosina.....	17
Figura 2 – Estrutura proposta do S-Graph obtido pela síntese do grafeno e precursor de enxofre em plasma não térmico.....	22
Figura 3 – Espectros UV-Vis de (a) uma solução aquosa de HAuCl_4 e (b) das nanopartículas de ouro estabilizadas no S-Graph.....	26
Figura 4 – Síntese do nanocompósito formado entre o S-Graph e AuNPs.....	28
Figura 5 – Imagens de TEM obtidas onde em (A) grafeno não funcionalizado, (B) S-Graph e a formação das (C) e (D) AuNPs no S-Graph e (E) histograma de distribuição das AuNPs.....	27
Figura 6 – Gráficos de Nyquist obtidos por EIS usando uma mistura equimolar de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) S-Graph /GCE e (c) Au-S-Graph.....	29
Figura 7 – Comportamento eletroquímico da DOP utilizando os eletrodos (a) GCE; (b) S-Graph/GCE; (c) AuNP-S-Graph/GCE. Condições experimentais: Solução Tampão B-R, pH 6,0, $[\text{DOP}] = 1,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$	30
Figura 8 – Voltamogramas cíclicos para e Au-S-Graph/GCE, empregando dopamina $1,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ em soluções tampão B-R em uma faixa de pH de 2,0 – 7,0.....	30
Figura 9 – Gráfico de variação do potencial de pico vs. valor de pH.....	31
Figura 10 – A- Voltamogramas cíclicos obtidos para DOP usando soluções tampão: acetato, fosfato e B-R; B- Voltamogramas nas concentrações de 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 mol L^{-1} com o tampão B-R.....	32
Figura 11 – A- Voltamogramas cíclicos do eletrodo composto de Au-S-Graph/GCE em solução tampão B-R $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 6,0) em diferentes velocidades de varredura: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175 e 200 mV s^{-1} , para uma concentração de dopamina $1,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; B- Gráfico do logaritmo da corrente dos picos em relação ao logaritmo da velocidade de varredura.....	33
Figura 12 – Reação reversível da DOP frente ao sensor AuNP-S-Graph/GCE.....	33
Figura 13. Investigação da frequência (A), amplitude (B), e variação de potencial (C) em uma voltametria de onda quadrada sobre a resposta analítica do sensor proposto.....	34

Figura 14 – A- Voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de dopamina e a B- curva de calibração obtida utilizando o eletrodo AuNPs-S-Graph/GCE em tampão B-R 0,1 mol L ⁻¹ , pH = 6,0.	35
Figura 15 – Voltamogramas de onda quadrada com o gráfico de adição de padrão para a amostra de medicamento de via intravenosa contendo dopamina.	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diferentes técnicas para a determinação de catecolaminas, mostrando seus diferentes analitos e amostras.....	19
Tabela 2 – Parâmetros analíticos da curva de calibração para dopamina utilizando AuNPs-S-Graph/GCE.....	36
Tabela 3 – Valores de LOD para diferentes eletrodos reportados na literatura para a detecção e quantificação de dopamina.....	37
Tabela 4. Determinação de DOP in formulação farmacêutica utilizando o sensor AuNP-S-Graph/GCE pelo método de adição de padrão.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DOP – Dopamina

S-Graph – Grafeno funcionalizado com grupamentos enxofre

AuNPs – Nanopartículas de ouro

AuNPs/S-Graph – Nanoestrutura formada pelo Grafeno funcionalizado com enxofre e nanopartículas de ouro

AuNP-S-Graph/GCE – Nanoestrutura de Grafeno funcionalizado com enxofre e nanopartículas de ouro sobre o Eletrodo de Carbono Vítreo

TH – Enzima tirosina hidroxilase

L-AADC – Enzima dopa descarboxilase

DBH/PNMT – Enzima beta-hidroxilase e Feniletanolamina N-metiltransferase

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *transmission electron microscopy*)

GCE – Eletrodo de carbono vítreo (do inglês, *glassy carbon electrode*)

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

EIS – Espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*)

BR – Solução Tampão Britton-Robinson

R_{ct} – Resistência à transferência de carga

E_p – Potencial de pico

E_{p/2} – Potencial de meia onda

SWV – Voltametria de Onda Quadrada (do inglês, *Square Wave Voltammetry*)

DP – Desvio padrão

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

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

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1.	MATERIAL CARBONÁCEO FUNCIONALIZADO COM ENXOFRE E NANOPARTÍCULAS	17
2.2.	DOPAMINA.....	19
2.3.	MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA.....	20
2.4.	VOLTAMETRIA	21
3.	OBJETIVOS	23
3.1.	OBJETIVO GERAL.....	23
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1.	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	24
4.2.	SÍNTESE DO NANOCOMPÓSITO AUNPS/S-GRAPH	24
4.3.	PREPARO DAS DIFERENTES ARQUITETURAS ELETRÓDICAS	24
4.4.	CARACTERIZAÇÃO E MEDIDAS ELETROQUÍMICAS	25
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
5.1.	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS AUNP USANDO S-GRAPH.....	27
5.2.	CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS.....	29
5.3.	COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA DOPAMINA.....	30
5.4.	ESTUDO DO PH.....	31
5.5.	EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA.....	33
5.6.	ESTUDO UNIVARIADO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA	35
5.7.	CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA A DOPAMINA UTILIZANDO O SENSOR AUNP-S-GRAPH/GCE.....	36
5.8.	DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS	38
6.	CONCLUSÃO.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

A dopamina é derivada da tirosina que desempenha um papel fundamental como neurotransmissor e hormônio no organismo humano. Junto com outras catecolaminas, como a noradrenalina (ou norepinefrina) e a adrenalina (ou epinefrina), a dopamina regula várias funções fisiológicas vitais.

O desequilíbrio na concentração de dopamina está associado a doenças e distúrbios, incluindo transtornos neuropsiquiátricos, doenças cardiovasculares, estão também associados distúrbios do sono e distúrbios metabólicos. A detecção e quantificação dessa molécula é essencial para o diagnóstico, o monitoramento, e a pesquisa médica, permitindo identificar desequilíbrios químicos, direcionar tratamentos adequados e aprofundar o conhecimento sobre várias condições médicas.

Um novo sensor a base de grafeno funcionalizado com grupamentos de enxofre juntamente com nanopartículas de ouro (AuNPs/S-Graph) pode ser desenvolvido. Essa abordagem que combina as propriedades do grafeno funcionalizado com enxofre (S-Graph) e das nanopartículas de ouro (AuNPs) é promissor para construção de um sensor sensível e seletivo para a dopamina.

O S-Graph é um material com propriedades eletrônicas únicas, como alta condutividade elétrica e elevada área superficial, que pode ser explorado para a detecção eletroquímica de substâncias químicas. A funcionalização com grupamentos tióis pode melhorar a aderência e a estabilidade das nanopartículas de ouro ao S-Graph. Essas propriedades eletrônicas do material carbonáceo, juntamente com as propriedades das AuNPs podem ajudar na resposta elétrica gerada pela interação entre a dopamina e o nanocompósito (AuNPs/S-Graph), sendo ao mesmo tempo seletivo para responder para a dopamina e sensível sendo capazes de detectar baixas concentrações desse composto. Essas características são essenciais para garantir a precisão e a confiabilidade das medições, tanto em aplicações diagnósticas quanto em pesquisas médicas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Material carbonáceo funcionalizado com enxofre e nanopartículas

O grafeno, um notável nanomaterial composto por átomos de carbono hibridizados sp^2 , apresenta propriedades excepcionais, como alta condutividade elétrica e térmica, impermeabilidade e resistência extrema. No entanto, o grafeno tem baixa solubilidade em água e solventes orgânicos, o que dificulta sua utilização. Uma forma de contornar esse problema é a modificação funcional do grafeno, podendo preservar suas propriedades excepcionais e a introdução de novos grupos funcionais pode conferir propriedades adicionais como em aumentar sua solubilidade em diferentes solventes [1,2].

O processo de funcionalização da estrutura C- sp^2 permanece praticamente inalterada quando a ligação ocorre nos átomos de carbono terminais (bordas) e/ou defeitos [3]. Diversos grupos funcionais, como amina [4], amina-amida [5], carboxila [6], tiouréia [7] e tiol [8], têm sido utilizados para esse propósito. Por exemplo, derivados de grafeno com grupos tiol tem sido empregados como ancoras para nanopartículas de metais nobres, como AuNPs, para aumentar a atividade catalítica em reações como a hidrogenação de 4-nitrofenol para 4-aminofenol. As nanopartículas têm dimensões nanométricas e uma área superficial muito maior do que os catalisadores convencionais, o que proporciona mais sítios ativos para a reação ocorrer, o que pode acelerar a cinética da reação [9].

Em outro contexto, derivados de grafeno funcionalizados com tiol foram utilizados para a remoção de mercúrio de amostras de água provenientes de rios, lagoas e mares. O grupo $-SH$ forma complexos estáveis com metais moles, como Hg e Au, que exibem alta polarizabilidade [10]. Materiais de enxofre-grafeno também despertam interesse devido à ligação C-S, que resulta em transferência de carga devido à pequena diferença de eletronegatividade de Pauling entre S (2.58) e carbono (2.55). Além disso, o enxofre pode ser facilmente polarizado, ampliando a reatividade química do grafeno [11].

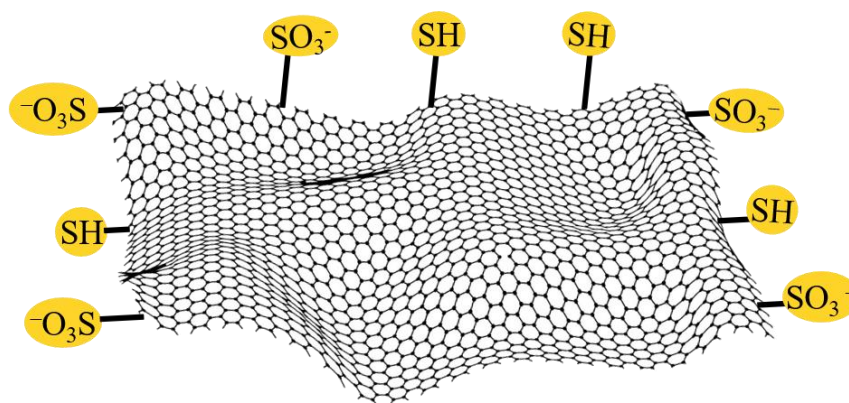
Uma forma de funcionalizar o grafeno é gerar radicais de enxofre muito reativos que podem atacar quimicamente as folhas de grafeno pouco reativas. Isso pode ser feito usando um tratamento de plasma não térmico a partir de um precursor contendo enxofre [12]. O procedimento envolvendo o plasma não térmico é considerado uma das técnicas de tratamento de superfície mais versáteis, sendo ambientalmente amigável e caracterizado por tempos de reação curtos [13]. O plasma não térmico constitui um estado de gás parcialmente ionizado, composto por elétrons, íons, espécies excitadas e neutras, radicais, em um sistema fora do

equilíbrio, onde a energia dos elétrons supera a das demais espécies [14]. Nesse sentido, o óxido de grafeno foi tratado com plasma não térmico sob atmosfera de SO_2 em temperatura ambiente por Humeres et. al. [12]. Um reator de plasma de descarga de barreira dielétrica não-térmica, contendo dióxido de enxofre diluído em nitrogênio como gás de alimentação do plasma.

A incorporação de enxofre nas bordas do grafite introduziu importantes propriedades condutoras [15]. Portanto, a incorporação de enxofre no grafeno por meio da funcionalização via procedimento de plasma não térmico é de grande interesse. Nesse sentido, materiais condutores baseados em grafeno podem ser produzidos para uma ampla gama de aplicações, como no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Atrelado ao desenvolvimento de sensores eletroquímicos, as nanopartículas de ouro (AuNPs) possuem propriedades interessantes para a eletroanálise. Dessa maneira, sustentando a importância dos materiais nanoparticulados estão as propriedades muito específicas que podem ser exibidas em nanoescala, dentre elas, estão a elevada área superficial, seletividade aprimorada, atividade catalítica, maior relação sinal-ruído e propriedades ópticas exclusivas [16].

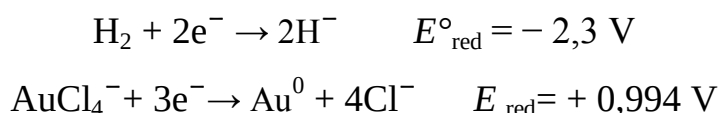
O uso do grafeno juntamente com as AuNPs para construir novos dispositivos de sensoriamento, usando um método verde de obtenção de nanopartículas (*self-reduction*), aproveitando as características intrínsecas do grafeno funcionalizado com o enxofre é uma excelente alternativa. A Figura 1 ilustra a estrutura proposta do S-Graph funcionalizado com os grupos terminais $-\text{SO}_3^-$ e $-\text{SH}$.

Figura 1: Estrutura proposta do S-Graph obtido pela síntese do grafeno e precursor de enxofre em plasma não térmico.



Fonte: da Silva et al [34].

A funcionalização com os grupos terminais SO_3^- e SH aumenta a solubilidade em solventes com alta constante dielétrica, como a água. A presença do hidreto “ H^- ” e a estrutura baseada em C_{sp}^2 do grafeno também desempenha papel de agente redutor, colaborando sinergicamente para enriquecer a densidade eletrônica no processo de redução do complexo de ouro. Além disso, essas características proporcionam a funcionalidade “ S ” que estabelece uma ligação estável com o Au, facilitando sua redução, como evidenciado pelos potenciais padrões de redução:

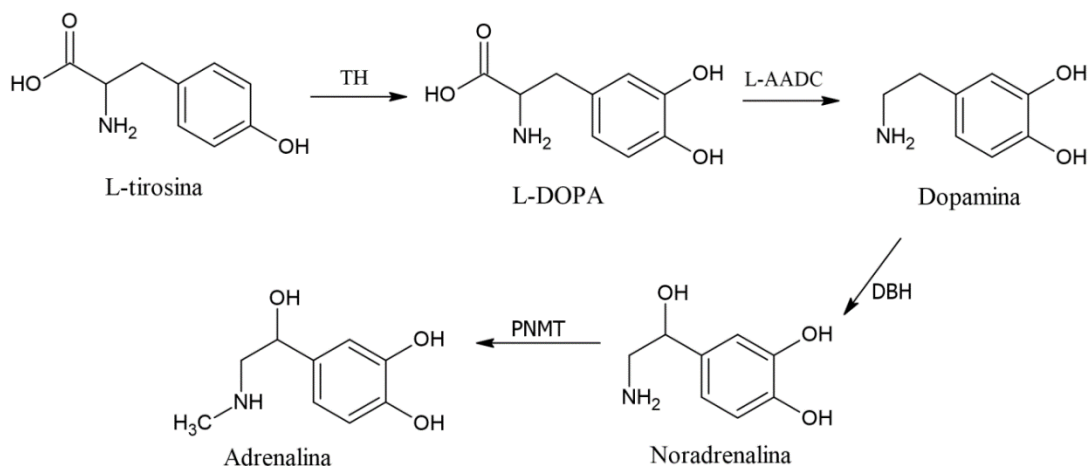


O material proposto, proveniente da síntese do nanocompósitos de S-Graph e AuNPs buscando a sinergia entre as propriedades do grafeno com as AuNPs, pode ser utilizado na modificação de eletrodos para a determinação de dopamina utilizando técnicas voltamétricas.

2.2. DOPAMINA

O cérebro utiliza vários neurotransmissores para regulação de diferentes funções, como o humor, a atenção e os movimentos [17]. Um desses neurotransmissores é a dopamina, que faz parte das catecolaminas, um grupo de substâncias químicas que também inclui a adrenalina e a noradrenalina. As catecolaminas são produzidas a partir do aminoácido tirosina, conforme mostrado na Figura 2. Essa figura ilustrando o ciclo da tirosina, o processo na qual ela atua como precursora dos neurotransmissores catecóis.

Figura 2: Esquema de síntese das catecolaminas a partir do aminoácido tirosina, no ciclo da tirosina.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O ciclo da tirosina envolve várias reações enzimáticas. Primeiro, a enzima tirosina hidroxilase (TH) converte a tirosina em L-Dopa. Em seguida, a L-Dopa é transportada para os neurônios e as células da medula adrenal, onde a enzima dopa descarboxilase remove o dióxido de carbono da L-Dopa (L-AADC), gerando a dopamina. A dopamina pode ser convertida em adrenalina por meio de outras reações, com a noradrenalina sendo um intermediário (DBH/PNMT) [20].

Cada uma das catecolaminas desempenha funções específicas no organismo, e mantém o equilíbrio adequado desses neurotransmissores e hormônios que é crucial para a saúde física e mental. Essas moléculas são importantes para o sistema nervoso e o corpo humano, pois participam da resposta ao estresse e do controle da frequência cardíaca e da pressão arterial [18,19]. No contexto da coordenação motora, a dopamina assume um papel crucial na transmissão de sinais entre as células nervosas responsáveis pelo movimento [18]. Uma redução na atividade dopaminérgica pode resultar em distúrbios do movimento, como a doença de Parkinson, caracterizada por tremores, rigidez e dificuldade de coordenação [21,22]. Nesta condição, ocorre uma degeneração das células produtoras de dopamina, manifestando sintomas motores distintivos. Outro exemplo é a esquizofrenia, em que a disfunção na regulação da dopamina contribui para os sintomas psicóticos e cognitivos associados à doença [23].

A determinação da dopamina é de grande importância, tanto em fármacos como em fluídos biológicos. O tratamento dessas doenças muitas vezes passa pelo uso de medicamentos que contém em sua composição a dopamina. A dopamina encontra-se disponível em medicamentos por via intravenosa e atua no sistema nervoso simpático produzindo efeitos como o aumento dos batimentos cardíacos e da pressão sanguínea [22,24]. A concentração média de dopamina no plasma sanguíneo de uma pessoa adulta saudável varia entre 5 e 10 ng mL⁻¹, e as concentrações variam entre as diferentes partes do corpo, podendo ser até menores que a quantidade presente no plasma [25].

2.3. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA

Devido à importância da dopamina em diversas funções fisiológicas, incluindo a regulação do humor, resposta ao estresse e modulação do sistema nervoso central, a detecção e quantificação precisa desse neurotransmissor tornam-se necessária em estudos medicamentosos, pesquisas em seres humanos e análises clínicas. É possível determinar a dopamina em diferentes amostras biológicas, como em amostras envolvendo urina e sangue,

vários métodos analíticos têm sido empregados, cada um com suas vantagens e aplicações específicas.

Existem várias técnicas analíticas utilizadas para determinar a dopamina, dentre elas destacam-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), a Eletroforese Capilar, a Espectrometria de Massa e a Voltametria. A voltametria surge como uma técnica eletroanalítica promissora e relevante na análise da dopamina. A Tabela 1 ilustra diferentes técnicas utilizadas para a determinação da dopamina em suas respectivas amostras e os limites de detecção.

Tabela 1: Diferentes técnicas para a determinação de catecolaminas, em diferentes analitos e amostras.

<i>Técnicas</i>	<i>Analitos</i>	<i>Amostra</i>	<i>LOD /$\mu\text{mol L}^{-1}$</i>	<i>Referência</i>
HPLC-UV-Vis	Dopamina e Tirosina	Urina humana	0,00012	[26]
HPLC- MS	Dopamina, GABA, serotonina, glutamina e glutamato	Sangue de camundongo	2,6	[27]
Eletroforese capilar	Dopamina e Adrenalina	Urina humana	0,023	[28]
Eletroforese capilar	Dopamina	Urina de camundongo	0,1	[29]
Espectrometria de massa	Dopamina	Medicamento	--	[30]
Voltametria Cíclica	Dopamina	Soro Simulado	25,4	[31]
Voltametria de Onda Quadrada	Dopamina	Urina humana	0,098	[32]

Fonte: O autor.

2.4. VOLTAMETRIA

A voltametria é uma técnica analítica eletroquímica que possibilita a análise de espécies químicas em solução e dispersão, através da variação controlada do potencial elétrico aplicado aos eletrodos. Ao medir a corrente elétrica resultante das reações eletroquímicas em função do potencial, é gerado um voltamograma [33].

Dentre as diversas técnicas já citadas, a voltametria é uma técnica que consegue alcançar níveis analíticos, escalas de $\mu\text{mol L}^{-1}$ a nmol L^{-1} , oferecendo também várias outras vantagens distintas, tais quais, por se basear em sensores eletroquímicos, que são acessíveis, versáteis e de fabricação simples. Muitas vezes, não exige etapas complexas de preparação da

amostra, permitindo a análise direta e economizando tempo, enquanto reduz os erros associados ao tratamento prévio das amostras. Adicionalmente, a adaptabilidade da voltametria para sistemas portáteis possibilita a análise no próprio local de coleta, eliminando a necessidade de transporte das amostras até um laboratório, o que torna o processo mais rápido e eficiente [34].

Um elemento crucial na voltametria é a habilidade de modificar os eletrodos de trabalho com diversas nanoestruturas, como o grafeno e materiais funcionalizados. Essas modificações proporcionam sensibilidade e seletividade ainda mais aprimoradas em comparação aos eletrodos tradicionais, ampliando as capacidades de detecção de diversas substâncias [35]. A criação de nanocompósitos envolvendo S-Graph e AuNPs, com a intenção de explorar a sinergia entre as propriedades do grafeno e das AuNPs para avançar no campo dos sensores eletroquímicos, visando que a produção de um nanomaterial ativo que pode ser utilizado para fazer a modificação de eletrodos destinados à detecção e quantificação de dopamina.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Sintetizar nanocompósitos de ouro sobre o grafeno funcionalizado com enxofre, obtido por plasma não-térmico, e aplicar na construção de um novo sensor eletroquímico para a determinação voltamétrica de dopamina.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar nanocompósitos de ouro utilizando S-Graph como material estabilizante e redutor;
- Caracterizar os nanocompósitos com S-Graph através de microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês, *transmission electron microscopy*) e espectroscopia UV-Vis;
- Formar novas plataformas eletroquímicas utilizando S-Graph e o compósito com AuNPs/S-Graph em eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês, *glassy carbon electrode*);
- Realizar a caracterização eletroquímica do sensor através de medidas de voltametria cíclica (CV, do inglês, *cyclic voltammetry*), voltametria de onda quadrada (SWV) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS, do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*);
- Criar um método eletroanalítico estudando a escolha de pH, eletrólito de suporte, técnica voltamétrica para a determinação de dopamina;
- Obter os parâmetros analíticos tais como limite de detecção, limite de quantificação, sensibilidade e comparar com outros sensores reportados na literatura.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. REAGENTES E SOLUÇÕES

As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura proveniente de um sistema de purificação Mili-Q (Millipore, Estados Unidos), que apresenta resistividade de 18,2 M Ω cm. As soluções estoque de dopamina foram preparadas na concentração de 5,0 mmol L⁻¹ em água ultrapura. Três soluções tampão (0,1 mol L⁻¹) foram testadas: fosfato de sódio (NaH₂PO₄/Na₂HPO₄); acetato de sódio (CH₃COOH/CH₃COONa) e Britton-Robinson (H₃BO₃/CH₃COOH/H₃PO₄). O pH dessas soluções tampão foi ajustado com HCl ou NaOH (6,0 mol L⁻¹). As soluções de K₃[Fe(CN)₆] e K₄[Fe(CN)₆] foram preparadas em uma concentração de 5,0 mmol L⁻¹ e a solução de KCl com concentração de 0,1 mol L⁻¹.

4.2. SÍNTESE DO NANOCOMPÓSITO AuNPs/S-Graph

A síntese do grafeno funcionalizado com entidades contendo enxofre foi realizada pelo grupo de pesquisa do Prof^o Luis Otávio Benetolli, do Departamento de Química da UFSC e publicada no recente artigo [34]. Primeiramente, 10,0 mg de S-Graph foram dispersos em 10,0 mL de água ultrapura, obtendo-se uma dispersão de 1,0 mg mL⁻¹. Essa dispersão foi submetida ao ultrassom em temperatura ambiente por 5 minutos. Em seguida, 5,0 mL dessa dispersão foi misturada com 100 μ L do precursor de ouro, o ácido cloroáurico (HAuCl₄), com concentração de 0,33 mmol L⁻¹, durante duas horas sob agitação. A dispersão resultante foi centrifugada a 10.000 rpm por 15 minutos, e o sólido resultante foi coletado e o sobrenadante foi descartado.

4.3. PREPARO DAS DIFERENTES ARQUITETURAS ELETRÓDICAS

Foram preparados eletrodos modificados utilizando o método *drop coating* com S-Graph e AuNPs-S-Graph. A dispersão de AuNPs/S-Graph foi diluída cem vezes em água ultrapura. Dessa forma, 2,0 μ L da dispersão de S-Graph ou AuNPs/S-Graph foram gotejados sobre a superfície de um GCE (diâmetro de 3mm) previamente polido com alumina (0,05 μ m) e lavado com água ultrapura. Em seguida, os eletrodos modificados foram deixados em uma estufa a 45 °C para permitir a secagem completa dos filmes formados.

4.4. CARACTERIZAÇÃO E MEDIDAS ELETROQUÍMICAS

A caracterização da dispersão de AuNPs/S-Graph por espectroscopia UV-Vis foi realizada registrando espectros na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm. Isso foi feito utilizando um espectrofotômetro ultravioleta-visível UV-1800 (Shimadzu, Japão) conectado a um software UVProbe (versão 2.50). Foi adicionada uma alíquota de 100,0 μL da dispersão diluída de AuNPs/S-Graph a 3,0 mL de água ultrapura em uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. Para a caracterização morfológica dos S-Graph e AuNPs/S-Graph, foi empregada a técnica de microscopia eletrônica de transmissão utilizando um microscópio eletrônico de transmissão modelo JEM-1011 (JEOL, Japão) operando a 100 kV.

Para a preparação das amostras, foram gotejados 5,0 μL do AuNPs/S-Graph em uma rede milimétrica de cobre recoberta com carbono (300 mesh). Em seguida, as amostras foram mantidas à temperatura ambiente por 24 horas para completa secagem. Por fim, foi estimado o diâmetro médio das nanopartículas utilizando o software ImageJ (National Institutes of Health, Estados Unidos), por meio da contagem de pelo menos 100 partículas aleatoriamente escolhidas nas imagens obtidas.

As medidas voltamétricas foram realizadas usando um potenciostato AUTOLAB (PGSTAT101) acoplado a um microcomputador com o software NOVA (versão 1.11) para aquisição e processamento de dados. Para as análises, foi utilizada uma célula eletroquímica contendo três eletrodos: AuNPs-S-Graph/GCE, S-Graph ou apenas o GCE como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado), servindo como ponto de referência elétrica estável, permitindo assim que o potencial elétrico no eletrodo de trabalho fosse medido em relação ao potencial constante do eletrodo de referência. Também foi utilizado o eletrodo auxiliar de placa de platina, fornecendo uma superfície para permitir a passagem da corrente elétrica de volta ao sistema após a reação e mantendo o balanço de carga elétrica na célula eletroquímica.

As análises voltamétricas foram realizadas individualmente para a dopamina, utilizando CV, onde foi verificado o comportamento eletroquímico dessa molécula frente aos diferentes eletrodos de trabalho (GCE, S-Graph/GCE e AuNPs-S-Graph/GCE). Foram estudados: solução tampão, valor de pH, parâmetros da SWV tais como frequência, incremento de potencial e amplitude. Além disso, a caracterização eletroquímica dos eletrodos GCE, S-Graph/GCE e AuNPs-S-Graph/GCE por meio de EIS. Os espectros EIS foram registrados em potencial de circuito aberto utilizando uma mistura equimolar de

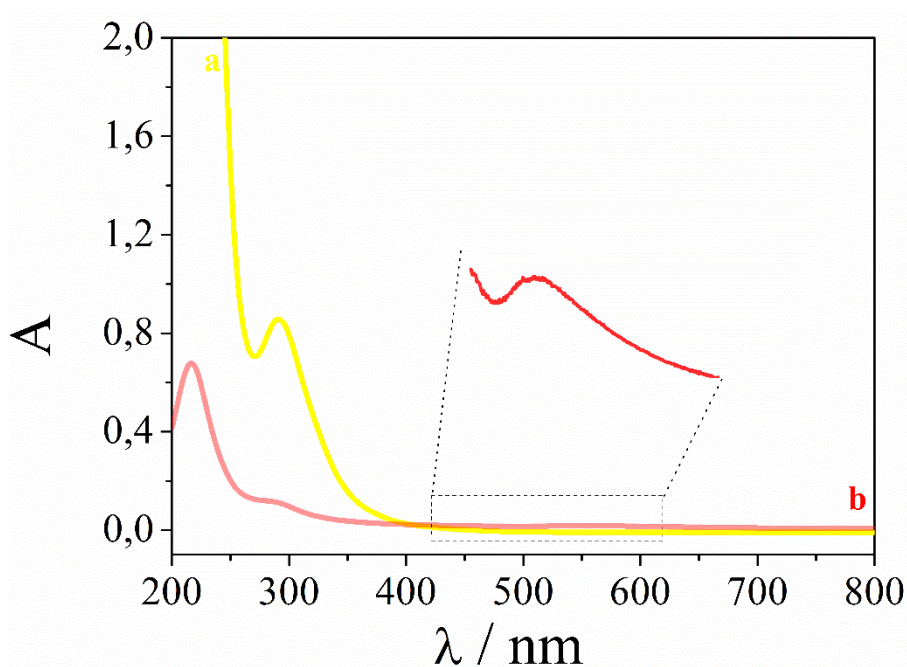
$\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a uma concentração de $5,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Foi aplicado um valor de amplitude de $5,0 \text{ mV}$ e uma faixa de frequência de $0,1$ a 50.000 Hz .

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DAS AuNP USANDO S-GRAPH

A síntese das AuNPs utilizando o S-Graph como um nanoreator e estabilizante das nanopartículas foi realizada e caracterizada por espectroscopia UV-Vis. Na Figura 3 (espectro a) tem-se o espectro da solução aquosa do precursor metálico (HAuCl_4) verificando-se uma banda em 300 nm atribuída à transição metal-ligante do ouro para o cloro, transição do orbital ligante de mais alta energia preenchido para o orbital antiligante não preenchido de mais baixa energia, $\text{Cl}_{3p\sigma} \rightarrow \text{Au}_{5dx^2-y^2}$ [35]. Após a adição da solução de ouro na dispersão de S-Graph há o aparecimento de uma banda em 535 nm referente à banda plasmônica das AuNPs (Figura 3 (aproximação do espectro b)), evidenciando a formação das nanopartículas. Além disso, há uma banda em 216 nm referente às transições π - π do grafeno.

Figura 3: Espectros UV-Vis de (a) uma solução aquosa de HAuCl_4 e (b) das nanopartículas de ouro estabilizadas no S-Graph.

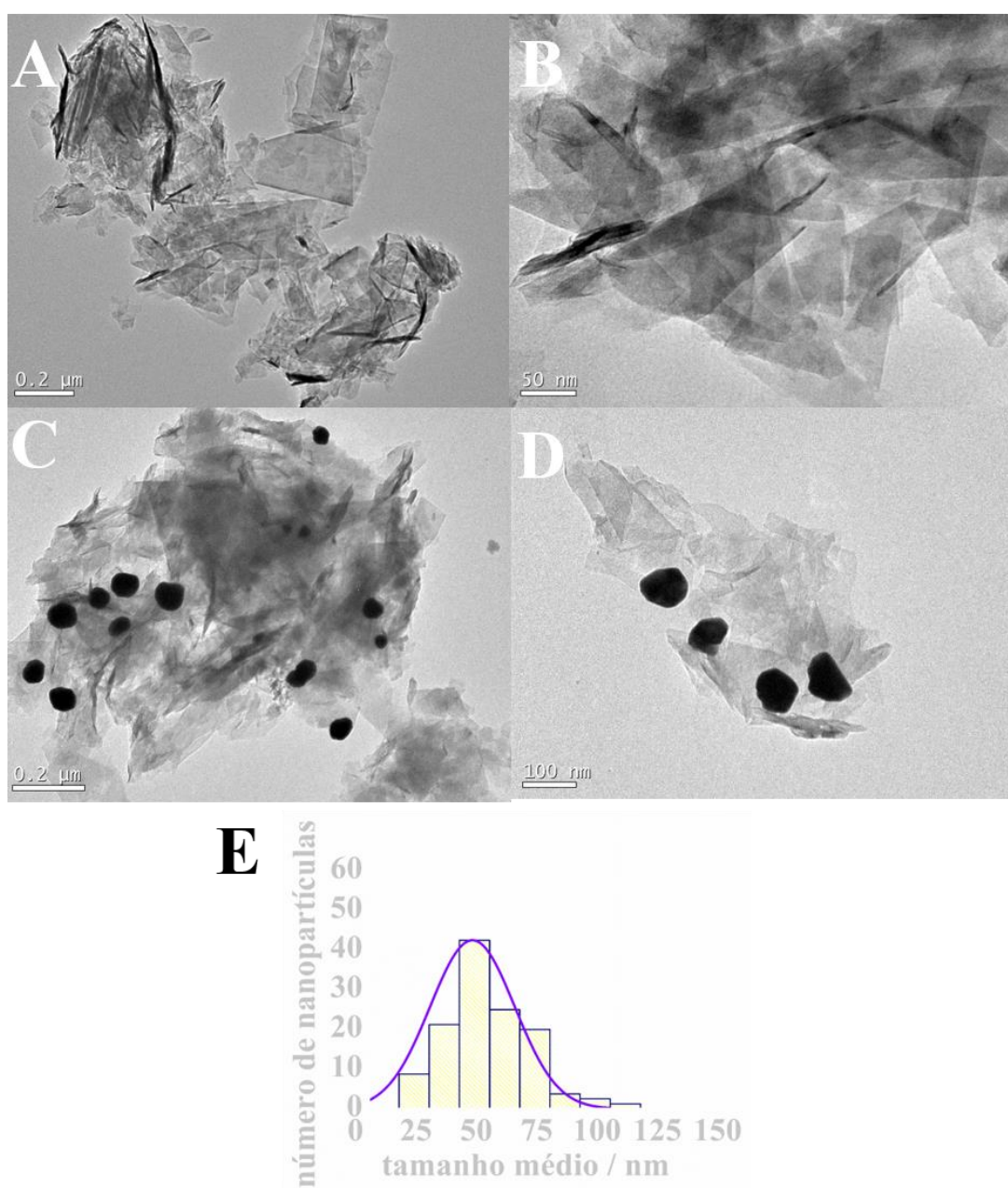


Fonte: O autor.

As AuNPs estabilizadas no S-Graph foram caracterizadas por TEM, ilustrada na Figura 4. Na Figura 4-A e Figura 4-B mostram a dispersão de S-Graph em duas magnitudes diferentes. Verificou-se que as folhas de S-Graph estão empilhadas umas às outras devido à baixa taxa de dispersão do grafeno em solventes de alta constante dielétrica. As imagens de

TEM das AuNPs que estão estabilizadas e foram reduzidas pelo S-Graph (Figura 4-C e Figura 4-D), possuem formato esférico e tamanho médio de 53 ± 12 nm (Figura 4-E) e estão incorporadas nas bordas do S-Graph, mostrando a interação com os átomos de enxofre presente no nas folhas de grafeno. Além disso, verificou-se que o S-Graph apresenta maior dispersão que o grafeno puro, uma vez que os grupamentos $-\text{SO}_3^-$ possuem caráter mais polar e conseguem interagir mais com o solvente também polar (água).

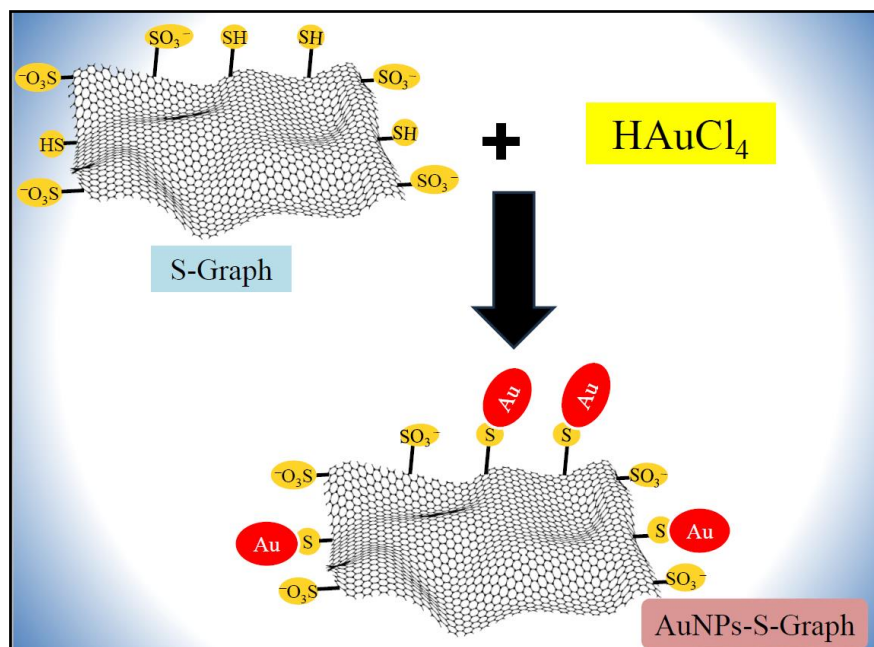
Figura 4: Imagens de TEM obtidas onde em (A) grafeno não funcionalizado, (B) S-Graph e a formação das (C) e (D) AuNPs no S-Graph e (E) histograma de distribuição das AuNPs.



Fonte: O autor.

A Figura 5 ilustra a possível ligação química entre as nanopartículas de ouro com o S-Graph na formação do nanocompósito AuNPs/S-Graph, onde o grupo $-\text{SO}_3^-$ altera a polaridade e a solubilidade do grafeno e o grupo $-\text{S}$ servindo para realizar uma ligação estável com as AuNPs.

Figura 5: Síntese do nanocompósito formado entre o S-Graph e AuNPs.

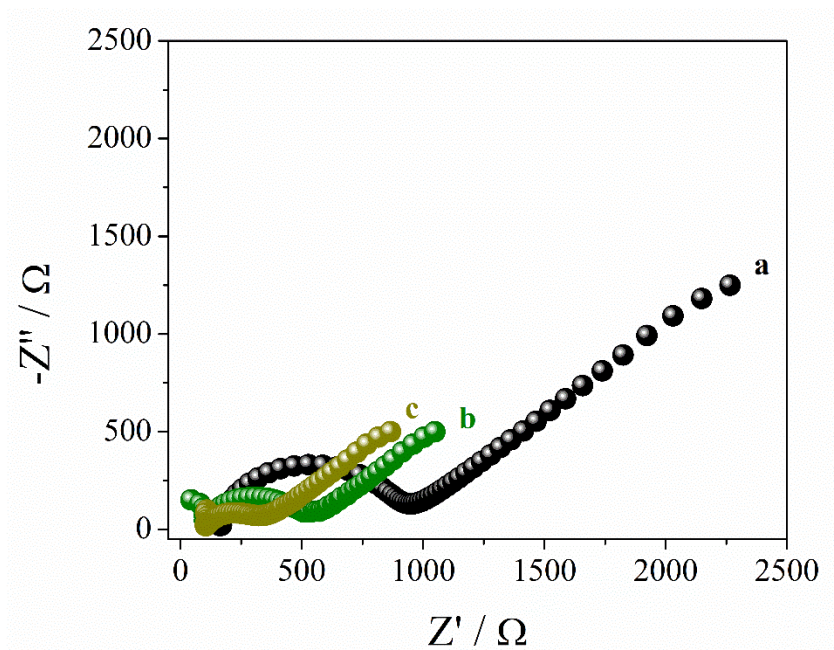


Fonte: Adaptado de da Silva et al. 2023[34].

5.2. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS ELETRODOS

As medidas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) foram conduzidas para analisar a interface entre eletrodo e solução, bem como a resistência à transferência de carga (R_{ct}). Foram usados três eletrodos distintos: GCE, S-Graph/GCE e AuNP-S-Graph/GCE, em $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Os diagramas de Nyquist, ilustrado na Figura 6, revelaram características distintas para cada eletrodo. No caso do GCE, a resistência à transferência de carga obtida a partir da análise do circuito equivalente obtido foi de R_{ct} $794 \text{ } \Omega$. Ao modificar o GCE com S-Graph, verificou-se a diminuição da R_{ct} para $404 \text{ } \Omega$, e a incorporação adicional das nanopartículas de ouro levou a uma queda na R_{ct} em $233 \text{ } \Omega$. Isso pode ser atribuído ao caráter mais condutor dos nanocompósitos e da funcionalização do grafeno.

Figura 6: Gráficos de Nyquist obtidos por EIS usando uma mistura equimolar de $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ 5,0 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ em diferentes eletrodos: (a) GCE, (b) S-Graph /GCE e (c) Au-S-Graph.

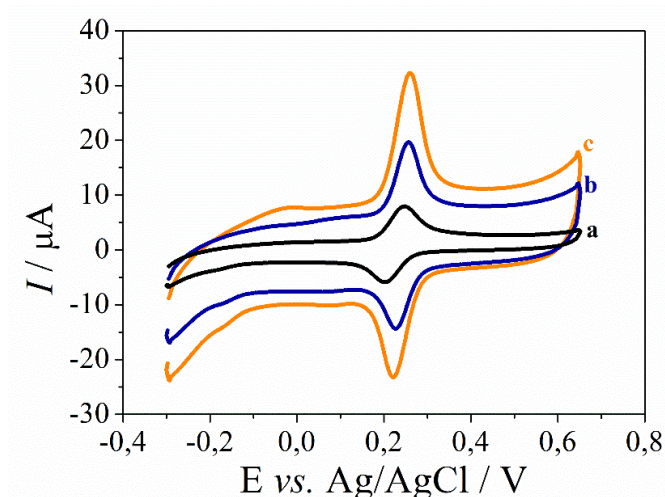


Fonte: O autor.

5.3. COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA DOPAMINA

A dopamina pode ser oxidada e reduzida, resultando em uma série de processos redox que podem ser monitorados por técnicas eletroquímicas. O processo de oxidação e redução da dopamina é dito como reversível. A Figura 7 mostra os voltamogramas cíclicos da DOP utilizando (a) GCE, (b) S-Graph/GCE e (c) AuNP-S-Graph/GCE. Verifica-se que todos os eletrodos apresentaram um comportamento reversível para a DOP com $\Delta E_p = 21$ mV; 16 mV e 19 mV, para os eletrodos GCE, S-Graph/GCE e AuNP-S-Graph/GCE, respectivamente. Esses dados revelam o comportamento reversível de 2 elétrons para a DOP. Além disso, o eletrodo AuNP-S-Graph/GCE apresentou maior resposta de corrente frente aos outros dois eletrodos estudados. Isso deve-se ao alto grau de dispersão das folhas de grafeno juntamente com as AuNPs à superfície do eletrodo, que confere maior área do superficial para que as reações reversíveis da DOP sejam efetivadas. Dessa forma, o eletrodo AuNP-S-Graph/GCE foi escolhido para as próximas seções.

Figura 7: Comportamento eletroquímico da DOP utilizando os eletrodos (a) GCE; (b) S-Graph/GCE; (c) AuNP-S-Graph/GCE. Condições experimentais: Solução Tampão BR, pH 6,0; [DOP] = $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$.

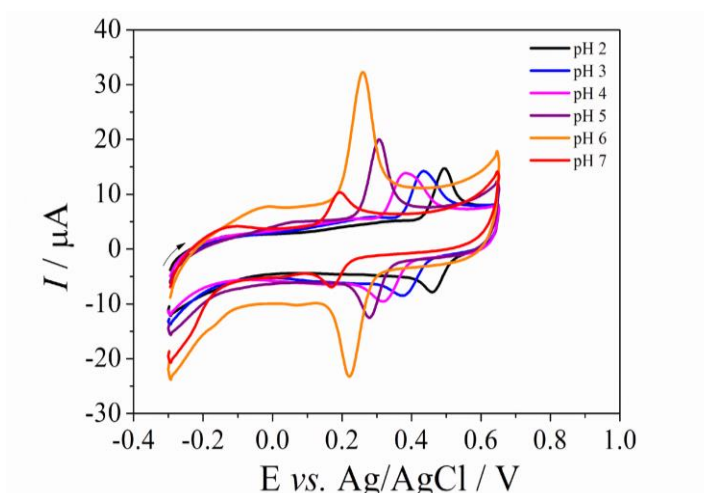


Fonte: O autor.

5.4. ESTUDO DO pH

O pH da solução desempenha um papel no comportamento da dopamina, isso acontece devido às suas influências na forma como essas espécies se encontram em solução, podendo estar protonadas ou desprotonadas dependendo do valor do pH da solução em relação ao pKa da dopamina, que é cerca de 8,8. Na Figura 8, a interação significativa desse fator foi examinada através da variação do pH da solução tampão ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando tampão BR) dentro de uma faixa de pH de 2,0 a 7,0. Destaca-se que a intensidade da corrente gerada pelo analito atingiu seu valor máximo em pH 6,0, esse pH foi escolhido para conduzir futuros estudos. Outro destaque é o descolamento dos picos de corrente, conforme o pH aumenta, as concentrações de H^+ diminuem e os picos se deslocam, comportamento de moléculas que em sua reação existem prótons envolvidos.

Figura 8: Voltamogramas cíclicos em um sistema de três eletrodos utilizando o eletrodo de trabalho modificado, Au-S-Graph/GCE, para a detecção de dopamina a uma concentração de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Experimentos foram conduzidos em soluções tampão B-R, abrangendo uma faixa de pH, de 2,0 a 7,0.



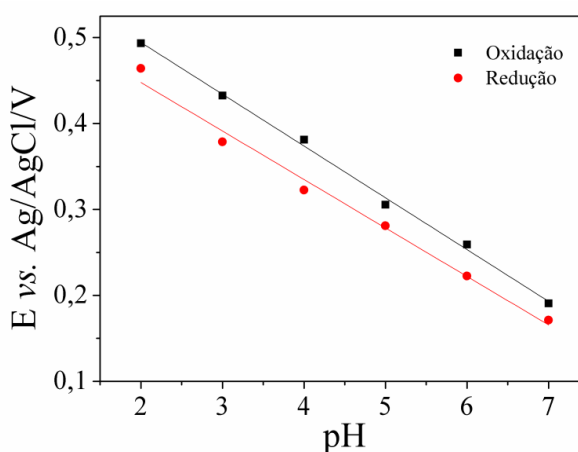
Fonte: O autor.

A relação entre o potencial de pico (E_p) e o pH é ilustrada na Figura 9, onde pode-se observar os potenciais de pico de oxidação e redução e o processo reversível da molécula de dopamina. A regressão linear para os picos de oxidação apresenta um coeficiente angular $-0,060 \text{ V}$ ($R^2 = 0,998$), e para os picos de redução foi de $-0,056 \text{ V}$ ($R^2 = 0,993$). Ao empregar a equação de Nernst é possível calcular o potencial de células eletroquímicas em diferentes condições.

$$E = E^\circ - (0.059/n) \log(Q)$$

É notável que os valores derivados dessas análises se aproximem consideravelmente do valor previsto pela equação de Nernst; $-0,059 \text{ V}$. Assim, sugerindo o mesmo número de prótons e elétrons envolvidos no mecanismo.

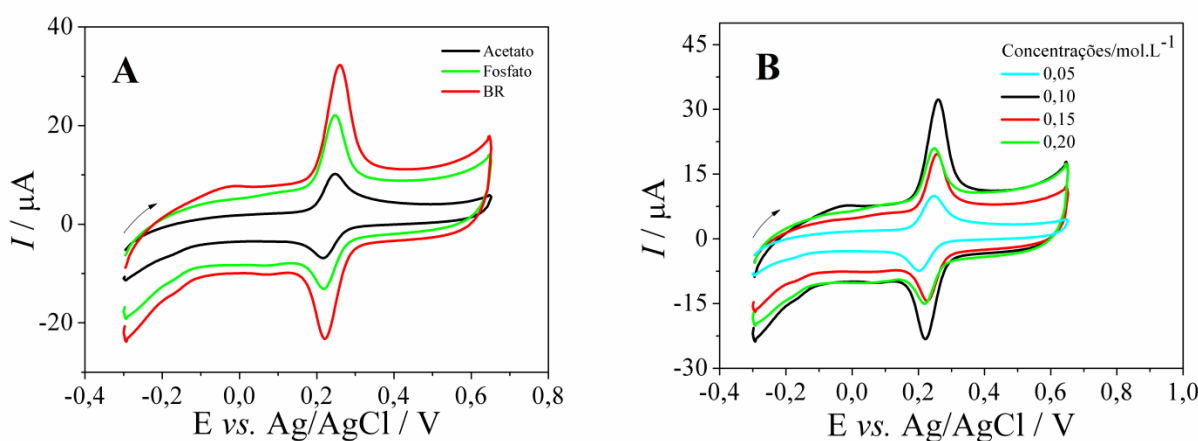
Figura 9: Gráfico de variação do potencial de pico vs. valor de pH.



Fonte: O autor.

Visando aprimorar a compreensão das respostas eletroquímicas da DOP, fez-se o estudo univariado de diferentes soluções tampão com diferentes composições, onde primeiro foi avaliado três distintas soluções tampão. A Figura 10-A mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para dopamina nas soluções tampão: acetato, fosfato e Britton-Robinson (BR), evidenciando que o tampão Britton-Robinson exibiu uma resposta mais favorável em relação ao processo eletroquímico da DOP. O tampão BR foi selecionado e em seguida foi investigado as diferentes concentrações (0,05; 0,10; 0,15; 0,20 mol L⁻¹), como mostra a Figura 10-B. Diante dos resultados obtidos, a concentração de 0,10 mol L⁻¹ foi a que apresentou maior resposta de corrente para DOP, portanto a escolhida para os estudos posteriores.

Figura 10: A- Voltamogramas cíclicos obtidos para DOP usando as soluções tampão: acetato, fosfato e B-R; B- Voltamogramas nas concentrações de 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 mol L⁻¹ em tampão B-R.



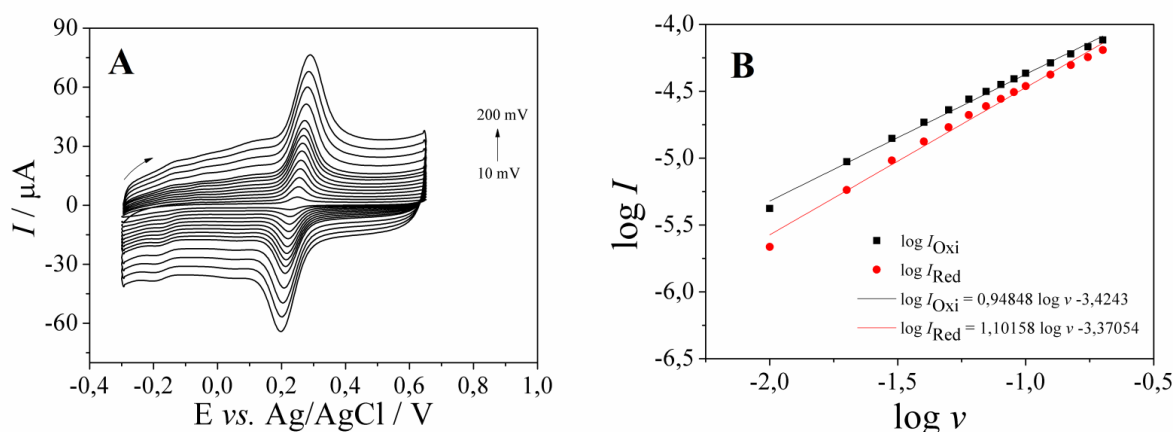
Fonte: O autor.

5.5. EFEITO DA VELOCIDADE DE VARREDURA

O efeito da velocidade de varredura foi investigado usando o AuNP-S-Graph/GCE utilizando voltametria cíclica. Observa-se que houve um aumento nas correntes de pico com o aumento da velocidade de varredura e os potenciais de pico de oxidação e redução mantiveram-se os mesmos. Esse comportamento é típico de processos reversíveis, evidenciando que a DOP frente ao AuNP-S-Graph/GCE sofre uma reação reversível. Na Figura 11-A um padrão notável foi que a intensidade da corrente nos picos de oxidação aumentou à medida que a velocidade de varredura aumentou. Ao analisar os picos de oxidação e redução obtidos em diferentes velocidades de varredura, um gráfico do logaritmo

da corrente dos picos em relação ao logaritmo da velocidade de varredura, verificou-se a inclinação da reta de 0,95 ($R^2=0,990$), presente na Figura 11-B. Pode-se concluir que o processo de oxirredução da dopamina foi predominantemente governado por adsorção.

Figura 11: **A-** Voltamogramas cíclicos usando o eletrodo Au-S-Graph/GCE em solução tampão B-R 0,1 mol L⁻¹ (pH = 6,0) em diferentes velocidades de varredura: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175 e 200 mV s⁻¹, para uma concentração de dopamina 1,5 µmol L⁻¹; **B-** Gráfico do logaritmo da corrente dos picos em relação ao logaritmo da velocidade de varredura.



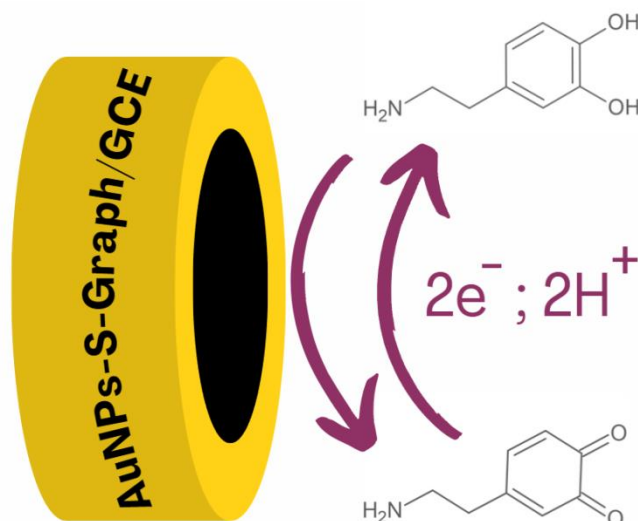
Fonte: O autor.

Os dados de potenciais de pico (E_p) e do potencial de meia onda ($E_{p/2}$) informam sobre processos eletroquímicos reversíveis. Nesses processos reversíveis é possível determinar a quantidade de elétrons envolvidos. O número de elétrons foi calculado através da seguinte equação:

$$|E_p - E_{p/2}| = 2,20RT/zF = 56,5 \text{ z Mv}$$

A constante universal dos gases, representada como "R", é igual a 8,314 J mol⁻¹ K⁻¹. A temperatura, denotada por "T", é considerada como 298 K. O valor de "z" corresponde ao número de elétrons envolvidos na transferência durante o processo eletroquímico em questão. Por fim, a constante de Faraday, "F", é 96,485 C mol⁻¹. O número de elétrons envolvidos no processo eletroquímico foi aproximadamente determinado como 2 [36,37]. Usando as informações do estudo de pH da seção 5.4, com as obtidas nessa seção, sugerimos a reação da dopamina na superfície do eletrodo AuNP-S-Graph/GCE, ilustrada na Figura 12.

Figura 12: Ilustração da reação reversível da DOP frente ao sensor AuNP-S-Graph/GCE.

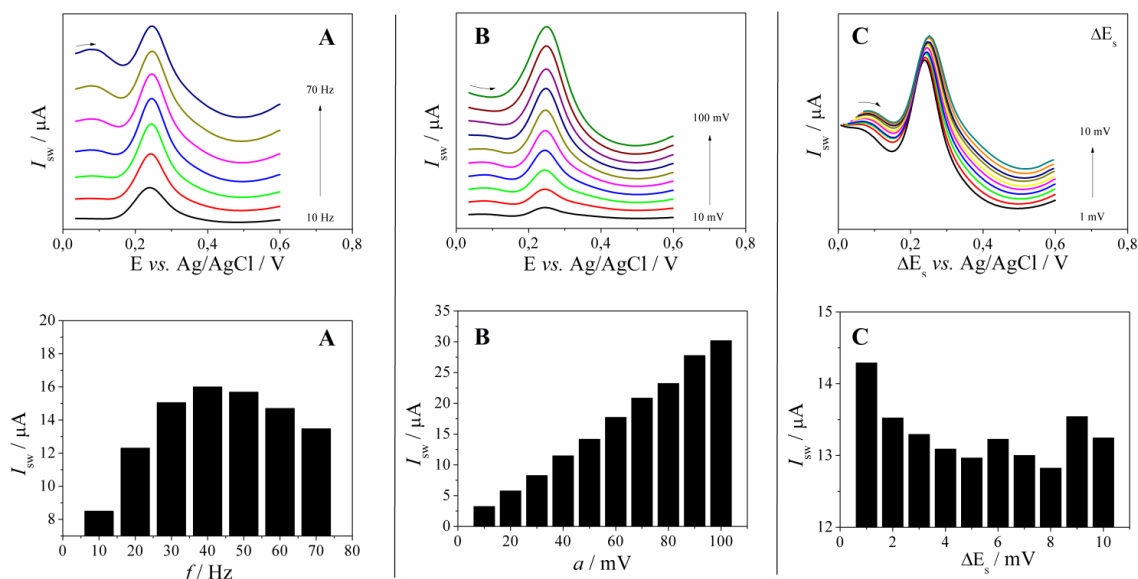


Fonte: O autor.

5.6. ESTUDO UNIVARIADO DOS PARÂMETROS DA VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA

A otimização dos parâmetros em uma técnica voltamétrica desempenha um papel fundamental na obtenção de resultados, é possível amplificar as intensidades de corrente e aprimorar os perfis voltamétricos, resultando em uma metodologia mais seletiva e sensível para análise. No contexto da técnica de Voltametria de Onda Quadrada (SWV), a variação dos parâmetros como frequência, amplitude e incremento de potencial oferece a oportunidade de aperfeiçoar a resolução dos picos e aumentar a sensibilidade do método. A Figura 13 ilustra o estudo de diferentes combinações experimentais, variando as frequências de aplicação dos pulsos entre 10 e 70 Hz, as amplitudes dos pulsos de 10 a 100 mV e os incrementos de potencial de 1 a 10 mV. Essa análise visa identificar as condições que otimizam os resultados. As curvas nos voltamogramas correspondem às condições selecionadas em cada fase do estudo (frequência de 40 Hz, amplitude de 100 mV, e variação de potencial de 6 mV).

Figura 13. Investigação da frequência (A), amplitude (B), e variação de potencial (C) em uma voltametria de onda quadrada sobre a resposta analítica do sensor proposto.



Fonte: O autor.

5.7. CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA A DOPAMINA UTILIZANDO O SENSOR AuNP-S-Graph/GCE

Empregando as condições experimentais da SWV descritas na seção anterior, obteve-se a curva de calibração mediante a adição de alíquotas de solução padrão de DOP. A Figura 14 mostra os voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de DOP e a curva de calibração que apresentou duas linearidades. Observam-se picos bem definidos em potencial +0,25 V, cuja intensidade de corrente aumenta proporcionalmente com a concentração de DOP no intervalo de 0,04 a 20,0 mol L⁻¹.

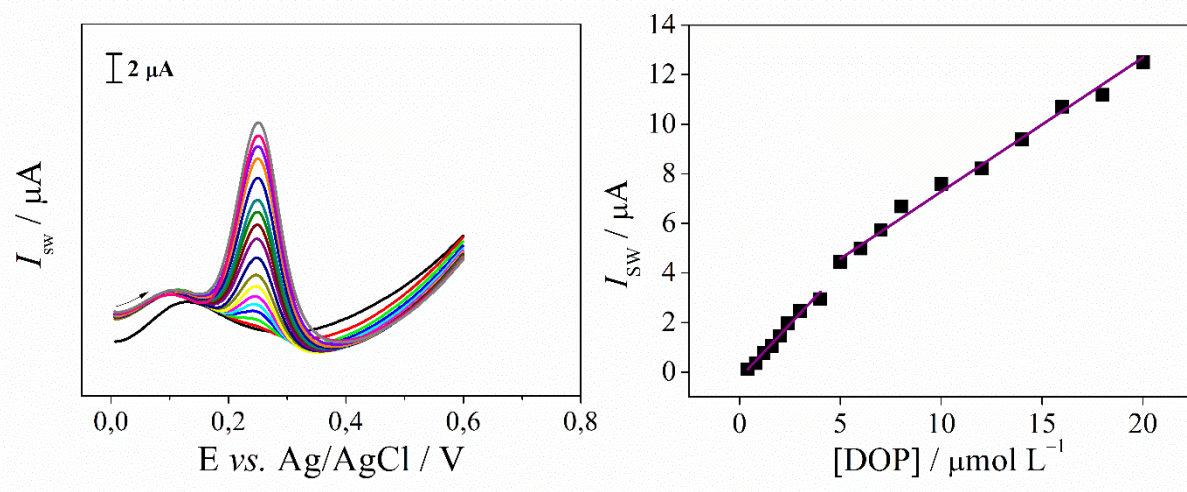
A curva de calibração obtida pode ser expressa pelas duas regiões lineares, vindas da adsorção da dopamina. A primeira como $I_{SW} = 9,37 [DOP] - 3,44 \times 10^{-7}$, com R² de 0,987; e a segunda expressa pela equação, $I_{SW} = 5,41 [DOP] + 1,87 \times 10^{-6}$ com R² = 0,981. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados utilizando as seguintes expressões, de acordo com a IUPAC [38]:

$$LOD = \frac{3 \times DP}{a}$$

$$LOQ = \frac{10 \times DP}{a}$$

Onde DP é o desvio padrão do coeficiente linear da equação da reta obtida e a é o coeficiente angular da reta. Os valores obtidos foram de LOD = 0,015 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOQ = 0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a primeira faixa linear e LOD = 0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOQ = 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a segunda faixa linear.

Figura 14: (A) Voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de dopamina e a (B) curva de calibração obtida utilizando o eletrodo AuNPs-S-Graph/GCE em tampão B-R 0,1 mol L⁻¹, pH = 6,0.



Fonte: O autor.

A Tabela 2 resume todos os parâmetros analíticos utilizados na construção da curva de calibração para a detecção de DOP.

Tabela 2: Parâmetros analíticos da curva de calibração para dopamina utilizando AuNPs-S-Graph/GCE.

Parâmetro analítico	1ª faixa linear	2ª faixa linear
Potencial de pico (V)	+0,25	+0,25
Faixa de trabalho ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,04 – 0,4	0,5 – 20,0
Coeficiente de determinação (R^2)	0,987	0,981
Coeficiente angular ($\mu\text{A L mol}^{-1}$)	9,37	5,41
DP do coeficiente angular (μA)	$0,42 \times 10^{-4}$	$0,30 \times 10^{-5}$
Coeficiente linear (μA)	$3,44 \times 10^{-7}$	$1,87 \times 10^{-6}$
DP do coeficiente linear (μA)	$4,68 \times 10^{-8}$	$2,70 \times 10^{-7}$
Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,015	0,15
Limite de quantificação ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,04	0,5

Fonte: O autor.

O valor de LOD encontrado é bastante promissor para aplicações em amostras reais contendo dopamina, tendo em vista, que foi alcançado os níveis de concentração da dopamina em plasma sanguíneo e por alcançar outras metodologias de determinação. Este valor pode ser comparado com outros eletrodos modificados para a determinação de dopamina, como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3: Valores de LOD para diferentes eletrodos reportados na literatura para a detecção e quantificação de dopamina.

<i>Técnica eletroquímica</i>	<i>Configuração do eletrodo</i>	<i>Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)</i>	<i>LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)</i>	<i>Referência</i>
SWV	rGO/BiVO ₄ /GCE	0,25 – 5,0	0,098	[15]
		10,0 – 100,0	0,713	
DPV	RGO/GQDs/Fe ₃ O ₄ /CPE	5-160	1,43	[39]
SWV	CQDs/CuO/GCE	1-180	25,4	[14]
CV	GQDs-MWCTs/GCE	0,005-100	0,00087	[17]
DPV	TiO ₂ @AgNPs@GQDs/GCE	0,003-300	1	[40]
CV	N-Cu MOF/GCE	0,5-1780	1,5	[41]
SWV	AuNPs-S-Graph/GCE	0,04 – 0,4	0,015	Este trabalho
		0,5 – 20,0	0,15	

Fonte: O autor.

rGO/BiVO₄/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido e vanadato de bismuto;

RGO/GQDs/Fe₃O₄/CPE – Eletrodo de pasta de carbon modificado com nanocompósito de óxido de grafeno reduzido, pontos quânticos de grafeno e óxido de ferro;

CQDs/CuO/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocompósito de pontos quânticos em óxido de cobre;

GQDs-MWCTs/GCE – Eletrodo de carbono vítreo com compósitos de pontos quânticos de grafeno e nanotubos de carbono;

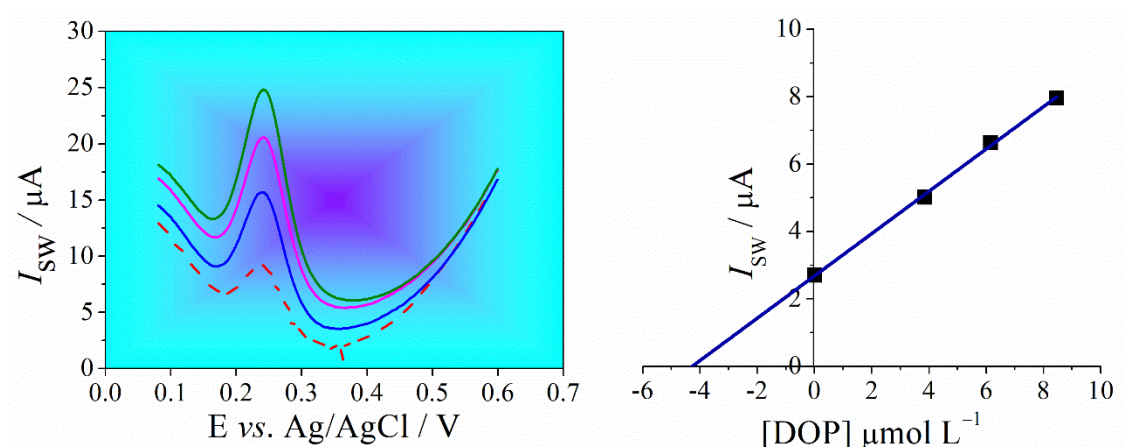
N-TiO₂@AgNPs@GQDs – Eletrodo modificado com oxido de titânio dopado com nitrogênio, nanopartículas de prata e pontos quânticos de grafeno;

N-Cu MOF/GCE – Eletrodo de carbono vítreo a base de cobre dopado com nitrogênio.

5.8. DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

Empregando as condições experimentais otimizadas, a metodologia foi aplicada para a determinação da dopamina em medicamento de via intravenosa contendo dopamina. Na Figura 15 estão os voltamogramas da amostra juntamente com as adições de padrão.

Figura 15 – Voltamogramas de onda quadrada com o gráfico de adição de padrão para a amostra de medicamento de via intravenosa contendo dopamina.



Fonte: O autor.

O valor encontrado na célula eletroquímica foi de $4,27 \mu\text{mol L}^{-1}$. Considerando as diluições que foram realizadas, verifica-se que o valor encontrado foi de $4,905 \pm \text{mg mL}^{-1}$. A concentração descrita no rótulo da ampola é de 5 mg mL^{-1} . Dessa forma, o erro associado à determinação foi de 1,9 %.

Para fins de validação, também foram realizados testes de recuperação baseados em dois níveis de concentração de DOP, e os dados estão listados na Tabela 4. A faixa de recuperação obtida foi de 98,1 %. Dessa forma, os efeitos de matriz estão ausentes nestas determinações. Os resultados confirmam que a plataforma eletródica AuNP-S-Graph/GCE apresenta excelente aplicabilidade e pode ser utilizada para rotinas de controle de qualidade e análises em tempo real. De acordo com os valores de recuperação, verifica-se que estes valores são bastante satisfatórios e indicam a viabilidade de utilização desta metodologia para a determinação de dopamina em formulações farmacêuticas.

Tabela 4. Determinação de DOP na formulação farmacêutica utilizando o sensor AuNP-S-Graph/GCE pelo método de adição de padrão.

Amostra	DOP / $\mu\text{mol L}^{-1}$			Recuperação / %
	Determinado	Adicionado	Encontrado	
Ampola de	$32,1 \pm 0,35$	20,0	$52,4 \pm 0,17$	98,1
Dopamina	$32,4 \pm 0,42$	30,0	$62,8 \pm 0,29$	98,1

* $n = 3$

6. CONCLUSÃO

Este estudo alcançou o desenvolvimento de um novo sensor para a detecção de dopamina, por meio das técnicas de voltametria cíclica e onda quadrada. A introdução de nanopartículas de ouro (AuNPs) no grafeno funcionalizado com enxofre (S-Graph) resultou em um aprimoramento na sensibilidade do método. Esse aprimoramento é atribuído às propriedades condutoras e a área superficial inerente a esses materiais, os quais amplificaram os sinais para a oxirredução da DOP.

A eficácia da modificação do eletrodo foi evidenciada pela significativa amplificação dos sinais de corrente, validando assim a abordagem adotada e demonstrando o potencial inerente desse método. A construção cuidadosa da curva analítica sob condições previamente estudadas a fim de assegurar a confiabilidade dos resultados. Os dados obtidos revelaram uma relação linear em duas diferentes faixas de concentração: 0,04 a 0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,5 a 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Isso corrobora a capacidade do método para quantificar uma faixa ampla de concentrações de dopamina.

Além disso, os limites de detecção e quantificação, estimados em 15 nmol L^{-1} e 150 nmol L^{-1} , respectivamente, destacam a sensibilidade desse método, viabilizando a identificação precisa mesmo em concentrações baixas da substância. As vantagens desse método como sua simplicidade, baixo custo e alta sensibilidade, o consolidam como uma abordagem promissora para a precisa determinação de dopamina em amostras de fluidos biológicos. Portanto, este estudo apresenta uma estratégia viável para a determinação de dopamina.

REFERÊNCIAS

- [1] K.R. Nandanapalli, D. Mudusu, S. Lee, Functionalization of graphene layers and advancements in device applications, *Carbon* N. Y. 152 (2019) 954–985. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2019.06.081>.
- [2] W. Yu, L. Sisi, Y. Haiyan, L. Jie, Progress in the functional modification of graphene/graphene oxide: A review, *RSC Adv.* 10 (2020) 15328–15345. <https://doi.org/10.1039/d0ra01068e>.
- [3] V.K. Abdelkader-Fernández, M. Domingo-García, F.J. López-Garzón, D.M. Fernandes, C. Freire, M.D. López de la Torre, M. Melguizo, M.L. Godino-Salido, M. Pérez-Mendoza, Expanding graphene properties by a simple S-doping methodology based on cold CS₂ plasma, *Carbon* N. Y. 144 (2019) 269–279. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2018.12.045>.
- [4] S. Kamal Ghadiri, H. Alidadi, N.T. Nezhad, A. Javid, A. Roudbari, S.S. Talebi, A.A. Mohammadi, M. Shams, S. Rezanian, Valorization of biomass into aminefunctionalized bio graphene for efficient ciprofloxacin adsorption in water-modeling and optimization study, *PLoS One*. 15 (2020) e0231045. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231045>.
- [5] S. Verma, K.H. Kim, N. Kumar, S.S. Bhattacharya, M. Naushad, R.K. Dutta, Amine-amide functionalized graphene oxide sheets as bifunctional adsorbent for the removal of polar organic pollutants, *J. Hazard. Mater.* 429 (2022) 128308. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128308>.
- [6] Z. Chen, Y.. Cai, Y.. Lu, Q.. Cao, P.. Lv, Y.. Zhang, W. Liu, Preparation and performance study of carboxy-functionalized graphene oxide composite polyaniline modified water-based epoxy zinc-rich coatings, *Coatings*. 12 (2022) 824. <https://doi.org/10.3390/coatings12060824>.
- [7] J. Kaushik, Gunture, K.M. Tripathi, R. Singh, S.K. Sonkar, Thiourea-functionalized graphene aerogel for the aqueous phase sensing of toxic Pb(II) metal ions and H₂O₂, *Chemosphere*. 287 (2022) 132105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132105>.
- [8] J.R. Rani, R. Thangavel, S.I. Oh, Y.S. Lee, J.H. Jang, An ultra-high-energy density supercapacitor; fabrication based on thiol-functionalized graphene oxide scrolls, *Nanomaterials*. 9 (2019) 148. <https://doi.org/10.3390/nano9020148>.
- [9] W. Liu, D. Sun, J. Fu, R. Yuan, Z. Li, Assembly of evenly distributed Au nanoparticles on thiolated reduced graphene oxide as an active and robust catalyst for hydrogenation of 4-nitroarenes, *RSC Adv.* 4 (2014) 11003–11011. <https://doi.org/10.1039/c3ra47829g>.
- [10] A.S.K. Kumar, S.J. Jiang, W.L. Tseng, Facile synthesis and characterization of thiol-functionalized graphene oxide as effective adsorbent for Hg(II), *J. Environ. Chem. Eng.* 4 (2016) 2052–2065. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.03.034>.
- [11] D.J. Tarimo, K.O. Oyedotun, A.A. Mirghni, N. Manyala, Sulphur-reduced graphene oxide composite with improved electrochemical performance for supercapacitor applications, *Int. J. Hydrogen Energy*. 45 (2020) 13189–13201. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.03.059>.
- [12] E. Humeres, N.A. Debacher, A. Smaniotto, K.M. De Castro, L.O.B. Benetoli, E.P. De Souza, R.D.F.P.M. Moreira, C.N. Lopes, W.H. Schreiner, M. Canle, J.A. Santaballa, Selective insertion of sulfur dioxide reduction intermediates on graphene oxide, *Langmuir*. 30 (2014) 4301–4309. <https://doi.org/10.1021/la500140m>.
- [13] A.L.V. Cubas, F.M. Ferreira, D.B. Gonçalves, M. de M. Machado, N.A. Debacher, E.H.S. Moecke, Influence of non-thermal plasma reactor geometry and plasma gas on

- the inactivation of *Escherichia coli* in water, *Chemosphere*. 277 (2021) 130255. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130255>.
- [14] F.W. Campbell, R.G. Compton, The use of nanoparticles in electroanalysis: An updated review, *Anal. Bioanal. Chem.* 396 (2010) 241–259. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3063-7>.
- [15] M.A. Sacheli, J.L. Neva, B. Lakhani, D.K. Murray, N. Vafai, E. Shahinfard, C. English, S. McCormick, K. Dinelle, N. Neilson, J. McKenzie, M. Schulzer, D.C. McKenzie, S. Appel-Cresswell, M.J. McKeown, L.A. Boyd, V. Sossi, A.J. Stoessl, Exercise increases caudate dopamine release and ventral striatal activation in Parkinson's disease, *Mov. Disord.* 34 (2019) 1891–1900. <https://doi.org/10.1002/mds.27865>.
- [16] J.A. Ribeiro, P.M.V. Fernandes, C.M. Pereira, F. Silva, Electrochemical sensors and biosensors for determination of catecholamine neurotransmitters: A review, *Talanta*. 160 (2016) 653–679. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.06.066>.
- [17] A. Amano, M. Tsunoda, T. Aigaki, N. Maruyama, A. Ishigami, Age-related changes of dopamine, noradrenaline and adrenaline in adrenal glands of mice, *Geriatr. Gerontol. Int.* 13 (2013) 490–496. <https://doi.org/10.1111/j.1447-0594.2012.00929.x>.
- [18] E.A. Stone, Y. Lin, H. Rosengarten, H.K. Kramer, D. Quartermain, Emerging evidence for a central epinephrine-innervated α 1- adrenergic system that regulates behavioral activation and is impaired in depression, *Neuropsychopharmacology*. 28 (2003) 1387–1399. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300222>.
- [19] E. Lee, I. Hwang, S. Park, S. Hong, B. Hwang, Y. Cho, J. Son, J.W. Yu, MPTP-driven NLRP3 inflammasome activation in microglia plays a central role in dopaminergic neurodegeneration, *Cell Death Differ.* 26 (2019) 213–228. <https://doi.org/10.1038/s41418-018-0124-5>.
- [20] C.W. Olanow, J.A. Obeso, F. Stocchi, Continuous dopamine-receptor treatment of Parkinson's disease: scientific rationale and clinical implications, *Lancet Neurol.* 5 (2006) 677–687. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70521-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70521-X).
- [21] S.J. Millard, C.E. Bearden, K.H. Karlsgodt, M.J. Sharpe, The prediction-error hypothesis of schizophrenia: new data point to circuit-specific changes in dopamine activity, *Neuropsychopharmacology*. 47 (2022) 628–640. <https://doi.org/10.1038/s41386-021-01188-y>.
- [22] T. Paillard, Y. Rolland, P.S. de Barreto, Protective effects of physical exercise in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: A narrative review, *J. Clin. Neurol.* 11 (2015) 212–219. <https://doi.org/10.3988/jcn.2015.11.3.212>.
- [23] M.G. Sturgill, M. Kelly, D.A. Notterman, Pharmacology of the Cardiovascular System, in: *Pediatr. Crit. Care*, Elsevier Inc., 2011: pp. 277–305. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-07307-3.10025-4>.
- [24] F. Qiao, X. Wang, Y. Han, Y. Kang, H. Yan, Preparation of poly (methacrylic acid)/graphene oxide aerogel as solid-phase extraction adsorbent for extraction and determination of dopamine and tyrosine in urine of patients with depression, *Anal. Chim. Acta*. 1269 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.341404>.
- [25] N.Q. Dung, T.Q. Toan, L. Nang, T.N. Hien, L.P. Anh, A unique approach for electrochemical determination of dopamine by turning off uric acid and ascorbic acid peaks, (2023) 1–14.
- [26] Y. Zhao, S. Zhao, J. Huang, F. Ye, Quantum dot-enhanced chemiluminescence detection for simultaneous determination of dopamine and epinephrine by capillary electrophoresis, *Talanta*. 85 (2011) 2650–2654. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.08.032>.
- [27] X. Wang, Y. Ma, X. Yao, J. Wang, M. Yin, Determination of dopamine in rat less

- differentiated pheochromocytoma cells by capillary electrophoresis with a palladium nanoparticles microdisk electrode, *RSC Adv.* 3 (2013) 24605–24611. <https://doi.org/10.1039/c3ra44481c>.
- [28] S.E. Elugoke, O.E. Fayemi, A.S. Adekunle, B.B. Mamba, T.T.I. Nkambule, E.E. Ebenso, Electrochemical sensor for the detection of dopamine using carbon quantum dots/copper oxide nanocomposite modified electrode, *FlatChem.* 33 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.flatc.2022.100372>.
- [29] D. Muthu, R. Govindaraj, M. Manikandan, P. Ramasamy, Y. Haldorai, R.T. Rajendra Kumar, Reduced graphene oxide supported monoclinic bismuth vanadate nanoparticles as an electrocatalyst for selective determination of dopamine in human urine samples, *Mater. Chem. Phys.* 297 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.127437>.
- [30] N.F. Atta, M.F. El-Kady, A. Galal, Simultaneous determination of catecholamines, uric acid and ascorbic acid at physiological levels using poly(N-methylpyrrole)/Pd-nanoclusters sensor, *Anal. Biochem.* 400 (2010) 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.01.001>.
- [31] P. Thondaiman, R. Manikandan, C.J. Raj, A.D. Savariraj, S.E. Moulton, B.C. Kim, Boron and nitrogen doped graphene quantum dots on a surface modified Cu mesh for the determination of dopamine and epinephrine, *Synth. Met.* 278 (2021) 116831. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2021.116831>.
- [32] N.R. Devi, M. Sasidharan, A.K. Sundramoorthy, Gold Nanoparticles-Thiol-Functionalized Reduced Graphene Oxide Coated Electrochemical Sensor System for Selective Detection of Mercury Ion, *J. Electrochem. Soc.* 165 (2018) B3046–B3053. <https://doi.org/10.1149/2.0081808jes>.
- [33] H.R. Thomas, A.J. Marsden, M. Walker, N.R. Wilson, J.P. Rourke, Sulfur-functionalized graphene oxide by epoxide ring-opening, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 53 (2014) 7613–7618. <https://doi.org/10.1002/anie.201404002>.
- [34] A.F.F. da Silva, N.A. Debacher, C.P. Gretter, L.O.B. Benetoli, A simple and low-cost method of sulfur functionalization and aqueous dispersion of graphene driven by gas-liquid non-thermal plasma discharge, *Carbon Trends.* 12 (2023) 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.cartre.2023.100289>.
- [35] ARUN KUMAR GANGOPADHAYAY;, ANIMESH CHAKRAVORTY, Charge Transfer Spectra of some Gold(III) Complexes, *J. Chem. Phys.* 35 (1961) 2206–2209.
- [36] F. Zamarchi, T.R. Silva, J.P. Winiarski, E.R. Santana, I.C. Vieira, Polyethylenimine-Based Electrochemical Sensor for the Determination of Caffeic Acid in Aromatic Herbs, *Chemosensors.* 10 (2022). <https://doi.org/10.3390/chemosensors10090357>.
- [37] B. Robert, E.B. Brown, *Inorganic electrochemistry: theory, practice and application*, 2004.
- [38] J. Mocák, I. Janiga, E. Rábarová, Evaluation of IUPAC limit of detection and ISO minimum detectable value - electrochemical determination of lead, *Nov. Biotechnol. Chim.* 9 (2021) 91–100. <https://doi.org/10.36547/nbc.1291>.
- [39] C. Ben Ali Hassine, H. Kahri, H. Barhoumi, Enhancing Dopamine Detection Using Glassy Carbon Electrode Modified with Graphene Oxide, Nickel and Gold Nanoparticles, *J. Electrochem. Soc.* 167 (2020) 027516. <https://doi.org/10.1149/1945-7111/ab6971>.
- [40] F. Nosratzahi, H. Halakoei, M. Rostami, A. Sorouri, K. Adib, M. Rahimi-Nasrabadi, H. Ehrlich, A glassy carbon electrode modified with N-TiO₂@AgNPs@GQDs for electrochemical determination of dopamine, *Diam. Relat. Mater.* 127 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2022.109120>.
- [41] X. Wen, Q. Huang, D. Nie, X. Zhao, H. Cao, W. Wu, Z. Han, A multifunctional n-doped cu-mofs (N-cu-mof) nanomaterial-driven electrochemical aptasensor for

sensitive detection of deoxynivalenol, *Molecules*. 26 (2021).
<https://doi.org/10.3390/molecules26082243>.