

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
E TECNOLOGIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO EM QUÍMICA

ROLFF FERREIRA SPÍNDOLA

DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR AMPEROMÉTRICO
BASEADO EM FTALOCIANINA DE FERRO, NANOTUBO DE
CARBONO OXIDADO E ÓXIDO DE GRAFENO PARA
DETERMINAÇÃO DE ISONIAZIDA

Orientador: Prof Dr. Flávio Santos Damos

São Luís-MA
2016

ROLFF FERREIRA SPÍNDOLA

DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR AMPEROMÉTRICO
BASEADO EM FTALOCIANINA DE FERRO, NANOTUBO DE
CARBONO OXIDADO E ÓXIDO DE GRAFENO PARA
DETERMINAÇÃO DE ISONIAZIDA

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal do Maranhão
como requisito parcial para a obtenção
do título de Mestre em Química.

Área de Concentração: Química Analítica

Orientador: Prof Dr. Flávio Santos Damos

São Luís-MA
2016

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Spindola, Rolff Ferreira.

Desenvolvimento de um sensor amperométrico baseado em ftalocianina de ferro, nanotubo de carbono oxidado e óxido de grafeno para determinação de isoniazida / Rolff Ferreira Spindola. - 2016.

88 p.

Orientador(a): Flávio Santos Damos.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2016.

1. Ftalocianina de ferro. 2. Isoniazida. 3. Nanotubo de Carbono de paredes múltiplas. 4. Óxido de grafeno. I. Damos, Flávio Santos. II. Título.

Título: “Desenvolvimento de um sensor amperométrico baseado em ftalocianina de ferro, nanotubo de carbono oxidado e óxido de grafeno para determinação de isoniazida”.

Rolff Ferreira Spíndola

Aprovado em 25 de julho de 2016

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Flávio Santos Damos (Orientador)

Prof. Dr. Willian da Silva Cardoso (UEMA)

Prof^a Dr.^a Luiza Maria Ferreira Dantas (UFMA)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família pois sem a mesma nada sou. Em especial dedico à minha filha Ana Beatriz. Você é tudo pra mim meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir mais uma conquista.

Ao Prof. Dr. Flávio Santos Damos, pela dedicação, valiosa orientação, extrema paciência, generosidade e extrema competência.

À minha família por me apoiar incondicionalmente, Aos meus pais pelo Amor e dedicação de sempre e pela a educação proporcionada. Especialmente agradeço a minha esposa Nádia Santos Oliveira Spíndola por está fielmente ao meu lado em todos os momentos. Te amarei sempre querida!!

Ao Prof Hudson Zanin pela indispensável colaboração, síntese e caracterização dos nanotubos utilizados neste trabalho.

À Prof. Dr^a. Rita de Cássia Silva Luz pelas considerações feitas.

Aos amigos Sakae e Cleidvan pela ajuda.

Aos amigos do Laboratório de Sensores. Convivência melhor não há.

Ao CNPq e FAPEMA pelo apoio e financiamento desta pesquisa.

RESUMO

No presente trabalho é apresentado o desenvolvimento de uma nova plataforma para eletroanálise de isoniazida baseada em (MWCNTO-GO/FePc). O eletrodo modificado com FePc/MWCNTO-GO diminuiu sensivelmente o potencial de oxidação da isoniazida para +200 mV vs. Ag/AgCl. As propriedades eletroquímicas e eletroanalíticas do eletrodo modificado com FePc/MWCNTO-GO foram investigadas por voltametria cíclica, espectroscopia de impedância eletroquímica, microscopia eletroquímica de varredura, e amperometria. O sensor apresentou melhor desempenho em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ com pH 7,4. Sob condições otimizadas uma faixa de resposta linear de 5 µmol L⁻¹ a 476 µmol L⁻¹ foi obtida com uma sensibilidade de 0,0225 µA L µmol⁻¹. O limite de detecção e quantificação para a isoniazida foram determinados como sendo 0,56 µmol L⁻¹ e 1,88 µmol L⁻¹, respectivamente. O desvio padrão relativo para 10 determinações de 100 µmol L⁻¹ de isoniazida foi de 2,5%. O sensor foi aplicado com sucesso para determinação de isoniazida em fluidos corporais artificiais.

Palavras chave: Nanotubo de carbono de paredes múltiplas; óxido de grafeno; ftalocianina de ferro; isoniazida.

ABSTRACT

A novel platform for electroanalysis of isoniazid based on multi-walled carbon nanotube oxide and graphene oxide composite as support to iron phthalocyanine (MWCNTO-GO/FePc) has been developed. The FePc/MWCNTO-GO modified electrode is sensible for isoniazid, decreasing substantially its oxidation potential to +200 mV vs. Ag/AgCl. Electrochemical and electroanalytical properties of the FePc/MWCNTO-GO modified electrode were investigated by cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, scanning electrochemical microscopy, and amperometry. The sensor presents better performance in 0,1 mol L⁻¹ phosphate buffer at pH 7,4. Under optimized conditions, a linear response range from 5 μmol L⁻¹ to 476 μmol L⁻¹ was obtained with a sensitivity of 0,0225 μA L μmol⁻¹. The limits of detection and quantification for isoniazid determination were 0,56 μmol L⁻¹ and 1,88 μmol L⁻¹, respectively. The relative standard deviation for 10 determinations of 100 μmol L⁻¹ isoniazid was 2,5%. The sensor was successfully applied for isoniazid determination in artificial body fluids.

Keywords: Multiwalled carbon nanotube; graphene oxide; iron phthalocyanine; isoniazid.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

Acetil CoA	Acetil coenzima A
AFM	Microscopia de força atômica
°C	Grau Celsius
C_o	Concentração de isoniazida
CE'	eletroquímico-químico catalítico
CoPc	Ftalocianina de cobalto
C_h	Vetor quiral
CVD	Deposição química em fase de vapor
D	Coefficiente de difusão
D_o	Coefficiente de difusão da especie no estado oxidado
DHFR	Diidrofolato redutase
DMSO	Dimetil sulfóxido
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
$E^{o'}$	Potencial formal
E_{app}	Potencial aplicado
EIE	Espectroscopia de Impedância eletroquímica
$E_{p,a}$	Potencial de pico anódico
$E_{p,c}$	Potencial de pico catódico
E_{tip}	Potencial da tip
F	Constante de Faraday
$Fe(CN)_6^{3-/4-}$	Par redox ferricianeto/ferrocianeto
FePc	Ftalocianina de ferro
FePc/MWCNTO-GO	Material compósito a base de ftalocianina de ferro e nanotubo de carbono oxidado com pontas de grafeno
FIA	Análise por injeção em fluxo
GB	Grafeno com duas camadas ou Bicamada
GC	Eletrodo de carbono vítreo
GO	Óxido de grafeno
GS	Grafeno de camada simples
HiPCO	Decomposição do monóxido de carbono sob alta pressão
I_T^C	Corrente da tip para substrato condutor
I_{cat}	Corrente catalítica
I_L	Corrente do branco
InhA	Proteína carreadora enoil-acil-redutase
I_T^{Ins}	Corrente da tip para substrato isolante
Inz	Isoniazida
I_p	Corrente de pico
k^o	Constante de transferência heterogênea
KasA	Proteína carreadora β -cetoacil-acil-sintase
KatG	Enzima catalase -peroxidase multifuncional

k_{eff}	Constante de transferência eletrônica heterogênea efetiva
k_s	Constante heterogênea de transferência eletrônica
$L=d/a$	Separação tip-substrato normalizada o diâmetro do eletrodo
L-Pc	Ftalocianina livre de centro metálico
$\ln k_{\text{eff}}$	Logarítimo natural da constante efetiva
M-Pc	Metaloftalocianinas
MnPc	Ftalocianinas de manganês
MWCNTO	Nanotubo de carbono oxidado de paredes múltiplas
MWCNT	Nanotubo de carbono de paredes múltiplas
MWCNTO-GO	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas oxidado com pontas de grafeno
n	Número de elétrons
(-N=)	Ligação do tipo azo
NAD	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
NADP	Fosfato de Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina
NAT_2	Arilamina - <i>N</i> -acetiltransferase do tipo 2 hepática
NTC	Nanotubos de carbono
(-OH)	Grupo hidroxila
Pc	Ftalocianinas
Ph	Potencial hidrogênioônico
Q	Elemento de fase constante
R_s	Resistência de solução
R_{ct}	Resistência de transferência de carga
SD_b	Desvio padrão do branco
SECM	Microscopia Eletroquímica de Varredura
STM	Microscopia de tunelamento com varredura
SWCNT	Nanotubos de Carbono de parede Simples
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
VOQ	Voltametria de Onda Quadrada
VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
R	Constante dos gases
RG	Relação entre parte isolante e parte condutora
T	Temperatura
W	Impedância de Warburg

- (1) $C_h = na_1 + ma_2$ 34
- (2) $d_t = |C_h|/\pi = a(n^2 + m^2 + mn)/\pi$ 34
- (3) $\theta = \text{Arctan}\left(\frac{\sqrt{3m}}{2n + m}\right)$ 34
- (4) $I_p = n^2 F^2 v A \Gamma / 4RT$ 51
- (5) $\log(k_s) = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log(\alpha) - \log(RT/nFv) - \alpha \log(1 - \alpha) nF\Delta E_p / 2,3RT$ 52
- (6) $I_T^k = \left(\frac{0,78377}{L\left(1 + \frac{1}{A}\right)} + \frac{[0,68 + 0,3315 \exp\left(-\frac{1,0672}{L}\right)]}{[1 + F(L, A)]} \right) \left(1 - \frac{I_T^{\text{ins}}}{I_T^c} \right) + I_T^{\text{ins}}$ 56
- (7) $I_T^c = \frac{0,78377}{L} + 0,3315 \exp\left(-\frac{1,0672}{L}\right) + 0,68$ 56
- (8) $I_T^{\text{ins}} = \frac{1}{0,15 + \frac{1,5358}{L} + 0,58 \exp\left(-\frac{1,14}{L}\right) + 0,0908 \exp\left[\frac{L-6,3}{1,017L}\right]}$ 56
- (9) $k_{\text{eff}} = k^0 \exp[-\alpha f(E_s - E^0)]$ 56
- (10) $I_{\text{cat}}/I_L = \gamma^{1/2} [\pi^{1/2} \text{erf}(\gamma^{1/2}) + \exp(-\gamma)/\gamma^{1/2}]$ 62
- (11) $I_{\text{cat}}/I_L = \pi^{1/2} (kC_{ot})^{1/2}$ 62
- (12) $\Delta I / \mu A = 0,145 (\pm 0,044) + 0,0225 (\pm 0,0002) [\text{Inz}] / \mu \text{mol L}^{-1}$ 64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural da isoniazida.....	20
Figura 2 - Representação de plano basal e de borda	30
Figura 3 - Folha de grafeno funcionalizado contendo grupos oxigenados.....	31
Figura 4 - Representação esquemática dos Nanotubos de carbono de parede simples e de paredes múltiplas respectivamente. A: MWCNT. B: SWCNT	33
Figura 5 - Vetores de base e quiral na rede de grafeno.	35
Figura 6 - Congigurações Zig-zag, armchair e quiral em nanotubos de carbono.....	36
Figura 7 a) Representação de Ftalocianina livre b) Representação genérica de ftalocianina metálica c) representação de Ftalocianina de cobre	39
Figura 8 - (a) Micrografia de Transmissão Eletrônica e (b) Espectro Raman da amostra de MWCNT- <i>GO</i>	48
Figura 9 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado FePc/MWCNT- <i>GO</i> /GC em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0) a velocidades de varredura de 0,005 a 2,0 Vs ⁻¹ ;.....	49
Figura 10 - Gráfico <i>I_p</i> vs. <i>v</i> obtido a partir da Figura 10 e (c) Gráfico <i>E_p</i> vs. log <i>v</i>	50
Figura 11 - Gráfico <i>E_p</i> vs. log <i>v</i> obtido a partir da Figura 10	51
Figura 12 - Diagrama de Nyquist para o eletrodo modificado FePc/MWCNT- <i>GO</i> /GC (linha preta) eletrodo de carbono vítreo (linha azul) em solução de KCl 0,1 mol L ⁻¹ contendo 5 mmol L ⁻¹ de [Fe(CN) ₆] ³⁻ . Figura inserida: Circuito equivalente de Randles.	53
Figura 13 - Curva de aproximação SECM obtida para (a) eletrodo modificado com o compósito FePc/MWCNT- <i>GO</i> e (b) eletrodo limpo em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0), contendo [Fe(CN) ₆] ³⁻ 1 mmol L ⁻¹ . A Tip foi polarizada em -0,2 V o substrato foi polarizado em (1) 0,2, (2) 0,3, e (3) 0,4V vs. Ag/AgCl. A Figura inserida mostra o gráfico da constante de velocidade aparente vs. sobrepotencial do substrato. Linha mostra os dados ajustados à teoria de Butler-Volmer na Figura 14.	54
Figura 14 - Modo Feedback positivo na Microscopia Eletroquímica de Varredura. Eletrodo de trabalho modificado com MWCNT- <i>GO</i> /FePc.	55
Figura 15 - Imagens de SECM (varrimento <i>x</i> - <i>y</i>) da superfície do (a) substrato limpo (b) filme de FePc/MWCNT- <i>GO</i> usando um microeletrodo de Pt com 10 μm de diâmetro em solução de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ contendo [Fe(CN) ₆] ³⁻ 5 mmol L ⁻¹ como mediador redox. A SECM de <i>X</i> (linha vermelha) e <i>Y</i> (linha azul) para a corrente de tip como uma função da posição relativa da tip sobre o substrato limpo e o substrato com o compósito FePc/MWCNT- <i>GO</i>	58
Figura 16 - Voltamogramas cíclicos para o FePc/MWCNT- <i>GO</i> /GC (linha preta), MWCNT- <i>GO</i> /GC (linha azul), FePc/GC (linha verde) e Eletrodo de carbono vítreo limpo GC (linha vermelha)em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0) contendo isoniazida 1,0 mmol L ⁻¹ . 59	59
Figura 17 - Voltamogramas cíclicos para o eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT- <i>GO</i> em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0) contendo isoniazida 1 mmol L ⁻¹ em diversas velocidades de varredura. Figura inserida : Gráfico de corrente de pico (<i>i_p</i> / <i>v</i> ^{1/2}) vs. <i>v</i>	60
Figura 18 - Gráfico <i>i</i> vs. <i>v</i> ^{1/2} obtido a partir da Figura 14.....	60
Figura 19 - Cronoamperogramas obtidos com eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT- <i>GO</i> em solução tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,4) sob potencial aplicado de 0,4 V referentes à oxidação de de isoniazida de 0,0 – 500 μmol L ⁻¹ . A Figura inserida refere-se ao gráfico de <i>I_{cat}</i> / <i>I_L</i> vs. <i>t</i> ^{1/2}	63

Figura 20 - Resposta amperométrica para isoniazida obtida sob condições otimizadas para concentração entre 5 e 476 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Figura inserida: Curva analítica. $E_{\text{app}} = 0,4 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. Medições efetuadas em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,4) 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Faixas terapêuticas em saliva e soro humanos após 2 horas da administração	23
Tabela 2 - Comparação do sensor baseado no eletrodo modificado FePc e o MWCNT/GO. Com outros materiais.	65
Tabela 3 - Adição e recuperação de isoniazida nas amostras (n=3).....	67

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.2 <i>Sensores eletroquímicos</i>	23
2.3 <i>Nanomaterias de Carbono</i>	28
2.3.1 <i>Grafeno</i>	28
2.3.2 <i>Nanotubos de Carbono</i>	33
2.3 <i>Ftalocianinas</i>	38
3. OBJETIVOS	42
3.1. <i>Objetivo Geral</i>	42
3.2. <i>Objetivos específicos</i>	42
4. MATERIAL E MÉTODOS	44
4.1. <i>Materiais e Reagentes</i>	44
4.2. <i>Medidas Eletroquímicas</i>	44
4.3. <i>Microscopia eletroquímica de varredura (SECM, do inglês scanning electrochemical microscopy)</i>	44
4.4. <i>Síntese de nanotubos de carbon oxidado de paderes múltiplas</i>	45
4.4.1 <i>Tratamento de funcinalização de MWCNTO</i>	45
4.5. <i>Preparação do sensor</i>	46
4.6. <i>Preparação das amostras de saliva e plasma artificiais</i>	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1 <i>Caracterização do MWCNTO-GO</i>	48
5.2. <i>Construção e caracterização eletroquímica do Sensor FePc/ MWCNTO-GO /GC</i> 49	
5.3. <i>Oxidação eletroquímica da Inz sobre o sensor FePc/MWCNT-GO/GC</i>	58
5.4. <i>Estudo Cronoamperométrico da oxidação da isoniazida no Eletrodo de carbon vítreo modificado com FePc/MWCNT-GO</i>	62
5.5. <i>Caracterização analítica do sensor eletroquímico FePc/MWCNTO-GO/GC</i>	63
5.6. <i>Aplicação do sensor eletroquímico FePc/MWCNT-GO/GC em amostras farmacêuticas, saliva e plasma sanguíneo.</i>	67
6. CONCLUSÃO	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Mundialmente a tuberculose tem sido um grande problema de saúde pública pois a forma de contágio é facilitada devido à sua transmissão aérea. A tuberculose é causada por uma bactéria em forma de bacilo que cresce mais rapidamente em áreas com uma maior concentração de oxigênio. Consequentemente, a doença causa maior frequência de lesões nos tecidos pulmonares embora seja observado o crescimento do microrganismo em qualquer parte do corpo. (NEVES et al., 2012).

No Brasil, entre os anos de 2005 e 2014 houve um decréscimo do número de casos notificados de tuberculose observando-se uma redução do coeficiente de incidência que passou de 41,5 / 100 mil hab para 33,5 / 100mil hab. No entanto, ainda há muitos desafios no combate à tuberculose pois o número de casos novos registrados por ano é de aproximadamente 73.000. (BRASIL, 2015).

A isoniazida (Inz) é um dos mais frequentes e eficientes fármacos usados para o tratamento da tuberculose (LI & ZHENG, 2007). A isoniazida figura como um medicamento de primeira linha pois tem uma boa eficácia e um grau de toxicidade razoavelmente aceitável. No entanto, têm sido documentados vários efeitos adversos associados ao uso corrente deste fármaco. Dentre eles Fuchs & Wannmacher (2010) citam efeitos gastrintestinais; disfunção hepática (0,6%); neuropatia periférica (deficiência de piridoxina) (0,2%); *rasch* cutâneo (2%); acne; febre (1,2%); discrasias sanguíneas; artralguas; reações psicóticas; depressão respiratória, convulsão e coma (em superdosagem).

Alem disto, algumas populações apresentam mutações que se caracterizam por polimorfismos genéticos que podem afetar a concentração de isoniazida tal como a deficiência na síntese de *N*-acetiltransferase.(GOLAN et al., 2012).

Os indivíduos que apresentam esta alteração genética têm maiores concentrações sanguíneas de isoniazida devido à diminuição da sua velocidade de excreção e, portanto, esses indivíduos apresentam uma maior propensão a apresentar efeitos danosos tais como hepatotoxicidade (SHARMA, 2003; JENA & RAJ, 2010).

A isoniazida pode inibir ou induzir a ação das enzimas do complexo P450 (ARBEX, 2010). Essas enzimas fazem parte do chamado sistema microsomal, sendo responsáveis pela metabolização de fármacos no organismo promovendo sua biotransformação. (FRANCO & FRANCO, 2003). Assim, a interação da isoniazida com esse complexo enzimático pode favorecer o aumento ou a diminuição da

concentração sanguínea de alguns fármacos, de forma a provocar o aparecimento de efeitos adversos e/ou tóxicos, a efeitos sub-terapêuticos. Brunton et al. (2012), relatam o aparecimento de toxicidade neurológica e depressão respiratória quando a isoniazida está associada à carbamazepina e ao diazepam respectivamente. Em contrapartida, quando associada a isoflurano ou enflurano, os mesmos autores citam uma eficácia reduzida desses fármacos.

Portanto, o controle de qualidade de fármacos em formulações farmacêuticas é um dos requisitos mais importantes no intuito de proporcionar um produto farmacêutico seguro ao consumidor uma vez que os fármacos podem sofrer alterações ao interagir com os excipientes. Segundo Pessanha et al. (2012), apesar de os excipientes serem pouco reativos, o contato físico destes com os princípios ativos podem provocar desestabilização de formulações farmacêuticas com degradação de fármacos, causando redução da qualidade e consequente perda da eficácia medicamentosa.

Por outro lado, após a administração de fármacos à base de isoniazida, vários fatores podem afetar a concentração sanguínea da isoniazida em fluidos biológicos de forma a comprometer sua eficácia terapêutica. Portanto, sua determinação sensível no tratamento da tuberculose em fluidos biológicos é também de grande importância nos estudos farmacêuticos e biomédicos (ESCURRA et al., 2012; KIM et al., 2015).

Assim, os ensaios dos níveis de isoniazida nos fluidos do corpo humano também é vital para um controle eficaz das dosagens terapêuticas, o que torna necessário o desenvolvimento de métodos rápidos e efetivos para a análise quantitativa de isoniazida nos fluidos do corpo humano (PELOQUIN, 1997).

Portanto, uma série de métodos analíticos tem sido desenvolvidos para a detecção de isoniazida explorando vários princípios de detecção tais como análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CHELLINI et al., 2015), o ensaio de titulação (SWAMY et al., 2015), análise por quimioluminescência (ABOLHASANI & HASSANZADEH, 2014), espectrofotometria (STETS et al., 2013), ressonância de plásmons de superfície localizada (ZARGAR & HATAMIE, 2013), ressonância magnética nuclear (ASSIS et al., 2012), métodos eletroquimioluminescentes (SAFAVI et al., 2003; MERVARTOVÁ et al., 2007; YI et al., 2008; WU et al., 2012), eletroforese capilar (ATURKI et al., 2014; FARIA et al., 2010; LIU et al., 2011), optodos (SAFAVI & BAGHERI, 2008), análise fluorimétrica (IOANNOU, 1988; LAPA et al., 2000; MOHAMED, 2013; SONG et al., 2001) e espectrometria de absorção atômica (ZAMORA et al., 1992).

No entanto, estes métodos possuem desvantagens tais como instalações caras, pré-tratamento de amostras complexas, etapas trabalhosas, treinamento de profissionais e apresentam longo tempo de análise. Cabe ressaltar que, embora os métodos cromatográficos permitam determinar eficazmente isoniazida na presença de diversos compostos interferentes, são ecologicamente desfavoráveis devido ao uso de quantidades elevadas de solventes (ABSALAN et al., 2016; SOUZA et al., 2003).

Os métodos eletroanalíticos podem ser vantajosos porque eles fornecem determinação simples, rápida, sensível e confiável de numerosos fármacos eletroativos presentes em amostras de fluidos biológicos e farmacêuticos (COUTO et al., 2016) como hemocisteína (AGÜÍ et al., 2007), imipramina (ORTUÑO et al., 2007), guaiacol (2-metoxifenol) (SUN et al., 2015), ácido ascórbico e ácido úrico (ERGÜN et al., 2016), adrenalina (SOCHR et al., 2014), uréia (NGUYEN et al., 2016), dopamina (JIANG et al., 2016), amitriptilina (MARCO et al., 2013), dentre muitos outros.

As técnicas eletroanalíticas apresentam-se como uma interessante ferramenta para quantificação de fármacos eletroativos pois oferecem sensibilidade, exatidão, precisão a baixo custo operacional e instrumental. Assim, os métodos eletroanalíticos tem possibilitado a determinação de concentrações extremamente baixas de inúmeros fármacos de maneira segura com baixo custo em diversas matrizes. (OZKAN et al., 2015).

A utilização destas técnicas no desenvolvimento de sensores é de grande valia pois estes dispositivos favorecem a coleta de dados e obtenção de informações já que são passíveis de automação, miniaturização e conseqüente portabilidade (LOWINSOHN & BERTOTTI, 2006).

Embora, existam alguns sensores relatados para a detecção eletroquímica da isoniazida, geralmente há problemas associados com passivação do eletrodo, elevado sobrepotencial, eletrólito de suporte extremamente ácido ou alcalino, o que influencia grandemente a sua repetibilidade, sensibilidade tornando-os inadequados para a detecção de isoniazida em amostras farmacêuticas e biológicas (AZAD et al., 2015).

Do exposto, neste trabalho foi desenvolvido um sensor eletroquímico baseado em ftalocianina de ferro, nanotubo de carbono oxidado e óxido de grafeno (FePc/MWCNTO-GO) para a detecção de isoniazida com ampla faixa linear, sensível e boa estabilidade, em pH próximo ao fisiológico. O sensor mostra potenciais aplicações para a determinação de isoniazida em amostras de saliva e plasma sanguíneo. Até onde se

sabe, este é o primeiro sensor para a determinação de isoniazida baseado na interação de FePc com o compósito MWCNTO-GO.

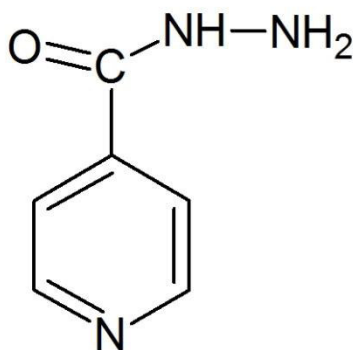
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Isoniazida-características, farmacologia e metabolismo.

Descoberta em 1945 por Chorine (FOX & LA ROCHE, 1952), a isoniazida tem fórmula molecular $C_6H_7N_3O$ e massa molar 137,14 g/mol. Apresenta-se como um pó cristalino branco, solúvel em água, ligeiramente solúvel em etanol e praticamente insolúvel em éter etílico e benzeno. Sua nomenclatura oficial é 4-hidrazida ácida piridincarboxílica (BRASIL, 2010; BRENNAN et al., 2008) cujos valores de pK_a são 2,0 e 3,5 (LIMA et al., 2015). Sua fórmula estrutural está representada na Figura 1.

Figura 1 - Fórmula estrutural da isoniazida



Fonte: Autor

A isoniazida tem mostrado grande importância no tratamento da tuberculose pois age tanto interrompendo o crescimento de bactérias em repouso como destrói bactérias em plena proliferação. Adicionalmente, a isoniazida tem grande valor terapêutico pois é capaz de penetrar nas células dos mamíferos de forma a atuar contra as bactérias intracelulares, especialmente em tecidos com lesão tuberculósica. (RANG et al., 2012).

A Inz intacta não é tóxica ao bacilo, no entanto, uma vez dentro da bactéria sofre ativação por uma enzima bacteriana, uma catalase-peroxidase multifuncional (KatG), produzindo diversas substâncias que contribuem com o efeito bactericida, dentre elas o radical nicotinoil, superóxidos, H_2O_2 , Alcil hidroperóxidos, e NO. O radical nicotinoil pode reagir com NAD e NADP da bactéria e produzir vários adutos. Dentre estes destaca-se o nicotinoil-NAD e o e nicotinoil-NADP. O nicotinoil-NAD inibe a atividade

das proteínas como InhA (proteína carreadora enoil-acil-redutase) e KasA (proteína carreadora β -cetoacil-acil-sintase) (TIMMINS & DERETIC, 2006; WHALEN et al., 2015).

O efeito inibidor da isoniazida sobre as enzimas InhA (TIASSÉ & CRONAN, 2009) e KasA (SCHAEFFER et al., 2001) tem como resultado a inibição do principal componente da parede celular bacteriana, o ácido micólico (MARRAKCHI et al., 2014). O nicotinoil-NADP age inibindo a ação da DHFR (Dihidrofolato redutase) micobacteriana (ARGYROU et al., 2006). Esta enzima tem grande importância na proliferação das células bacterianas pois estão envolvidas na síntese de seus ácidos nucleicos (SCHNELL et al., 2004).

No organismo a isoniazida pode sofrer reações através de várias vias. Ao ser conjugada com a Acetil CoA através da enzima NAT₂ a Inz é convertida em acetilisoniazida, a qual pode ser desdobrada em diacetilhidrazina (atóxica) para ser excretada na urina, ou poderá sofrer hidrólise gerando ácido isonicotínico e Acetilhidrazina. Esta última, por sua vez, poderá sofrer mais uma hidrólise e gerar hidrazina que por sua vez é tóxica (PREZIOSI, 2007).

Dependendo de como a Inz é metabolizada no organismo, os indivíduos podem ser classificados em dois grupos: acetiladores rápidos e lentos. Esses indivíduos diferem em relação à concentração do fármaco no sangue após a administração de uma mesma dose de isoniazida e também nas rotas de transformação e processos de eliminação do fármaco. (KOPEC & ZOFIA, 2002).

Basicamente essas diferenças estão relacionadas à maior ou menor atividade da NAT₂. Nos acetiladores lentos esta enzima tem sua atividade diminuída devido a diferenças interindividuais, caracterizadas por variações genéticas hereditárias ou polimorfismos genéticos (JAKOBY, 1980).

Devido à baixa atividade de NAT₂ nos acetiladores lentos, uma via metabólica alternativa para metabolização da isoniazida é sua decomposição em ácido nicotínico e hidrazina através de hidrólise (TOSTMANN et al., 2008). Como a Isoniazida ativa as enzimas do complexo P450, a hidrazina pode sofrer oxidações, gerando intermediários tóxicos que podem ligar-se covalentemente a macromoléculas hepáticas e assim desencadear um processo inflamatório (SINHA & MASON, 2014).

Essas diferenças na via de metabolização de Inz dos acetiladores geram diferentes concentrações nos fluidos corporais e conseqüentemente variadas respostas terapêuticas e de toxicidade.

A presença de baixos níveis plasmáticos de Inz em acetiladores rápidos é considerada como um dos fatores associados à falência terapêutica relatados em alguns trabalhos pois concentrações subterapêuticas de Inz causam resistência do bacilo ao fármaco (KITA et al.; 2001; RAMACHANDRAN & SWAMINATHAN, 2012). Já os acetiladores lentos são mais propensos a desenvolver toxicidade hepática (HUANG, 2007).

Segundo Katzung et al. (2012), após uma dose de 300 mg (5 mg Kg^{-1} em crianças) administrada oralmente, a Inz é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e atinge concentrações plasmáticas máximas ($21,88 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $36,46 \mu\text{mol L}^{-1}$) dentro de 1 a 2 horas. Já para Dasgupta (2012), a concentração tanto para soro como para plasma sanguíneos variam entre $21,87 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $43,75 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Posteriormente a absorção, a Inz difunde-se por todos os tecidos e líquidos corporais. Em média, a concentração plasmática de Inz dos acetiladores rápidos é 1/3 dos acetiladores lentos (KATZUNG et al, 2012).

A monitorização terapêutica pode ser conceituada como a determinação das concentrações de fármacos em fluidos biológicos através da correlação dessas concentrações com a resposta clínica. Desta forma, observa-se após a administração do fármaco, se as suas concentrações estão entre os limites compreendidos pela concentração mínima eficaz e a concentração tóxica mínima, a chamada faixa terapêutica (BURTIS et al.,2014).

A monitorização de isoniazida e a correlação de suas concentrações em saliva e sangue têm sido relatadas em alguns trabalhos. Basicamente observa-se que as diferenças das concentrações de Inz nessas matrizes são mínimas. Portanto, em ambos os meios suas concentrações podem ser utilizadas para determinação de parâmetros farmacocinéticos (HUTCHINGS et al., 1988), assim como para a diferenciação entre acetiladores rápidos e lentos (HUTCHINGS & ROUTLEDGE., 1996).

Segundo Boxenbaum et al. (1975), após a administração de 700mg de isoniazida tomadas oralmente, a relação saliva/plasma de concentração de Inz variou de 0,9 a 1,17 com as medidas sendo realizadas em tempos variados após a administração do fármaco.

Já para Gurumurthy et al. (1990) o perfil de acetilação pode ser determinado após administração de 300mg de Inz realizando-se as medições 1,2,3,6 e 8 horas após a administração do fármaco. Ainda segundo os mesmos autores a faixa de pico de concentração em saliva e soro sanguíneo foi determinada após 2 horas da administração de isoniazida. Os valores das faixas nessas matrizes estão descritos na tabela 1 abaixo.

Tabela 1 Faixas terapêuticas em saliva e soro humanos após 2 horas da administração

Acetiladores	Faixa de pico de concentração em saliva (μmolL^{-1})	Faixa de pico de concentração em soro (μmolL^{-1})
Lentos	26,25 – 74,37	27,70 – 84,5
Rápidos	21,88 – 49,58	21,88 – 41,56

Assim, a monitorização terapêutica de antituberculosícos pode desempenhar uma importante função na seleção de pacientes, destacando-se como seu uso mais relevante a promoção de uma assistência clínica, a otimização e melhoramento do sucesso terapêutico, e a minimização do grau de toxicidade (UNSANAN et al., 2005; HEYSELL et al., 2010).

Sabendo-se das diferenças de resposta terapêutica e de toxicidade da Inz no organismo, o desenvolvimento de métodos úteis para sua monitorização apresenta-se como uma valiosa ferramenta auxiliar para avaliação do sucesso no tratamento da tuberculose (DASGUPTA, 2012).

2.2 Sensores eletroquímicos

Sensores químicos são dispositivos que transformam informação química associada à interação de um componente específico de uma amostra com um determinado elemento de reconhecimento em um sinal analiticamente útil. (HULANICKI et al., 1991). Os sensores químicos ganharam revelância na sociedade devido ao seu elevado desenvolvimento tecnológico, podendo ter diversas aplicações, como em processos químicos, farmacêuticos, na Indústria de alimento, em biomedicina, monitoramento ambiental e clínico. São basicamente constituídos de um elemento de reconhecimento que é sensível a estímulos produzidos por compostos químicos (analitos) e um elemento de transdução, que gera um sinal com grau de magnitude proporcional à concentração da substância de interesse. (SEKHAR et al., 2010).

Como descrito por Gründler (2007), os sensores químicos podem ser classificados de acordo com o princípio de funcionamento do transdutor:

- Ópticos: transformam a interação entre o analito e o elemento de reconhecimento em fenômenos ópticos como absorvância, refletância, luminescência, fluorescência, índices de refração em soluções, ressonância de plásmom de superfície, eventos óptico-térmicos, dispersão de luz, entre outros.

- Eletroquímicos: transformam a energia resultante da interação do analito com a superfície de um eletrodo em um sinal eletroquímico mensurável. Dentre eles diferem-se os sensores voltamétricos, amperométricos, potenciométricos, impedimétricos, etc.
- Sensores piezoelétricos: dispositivos sensíveis à variação de massa devido à acumulação do analito à superfície do material de suporte.
- Sensores magnéticos: dispositivos baseados no paramagnetismo de espécies.
- Dispositivos termométricos: sensíveis aos efeitos de calor originados de uma reação química ou da adsorção de um determinado analito.

Os sensores eletroquímicos formam o mais antigo e extenso grupo de sensores químicos e atualmente consiste no tópico de maior atuação no campo de sensores.

Esta última classe de sensores é constituída de um sistema eletroquímico composto por uma célula eletroquímica de três eletrodos, dentre eles: o eletrodo de trabalho, o eletrodo auxiliar e o eletrodo de referência.

Nos sensores potenciométricos, as medidas são realizadas sob condições de corrente desprezível de forma que o sistema opere sob condições de equilíbrio termodinâmico. Por outro lado, nos sensores voltamétricos a corrente da reação de oxidação ou redução do analito é resultado da polarização do sensor e depende da concentração de espécies eletroativas. Assim, as velocidades de reação redox são limitadas pela transferência de massa do analito para a superfície do eletrodo. (JANATA, 2009; SKOOG, 2006).

Os sensores amperométricos medem a corrente resultante da reação do analito na superfície de um eletrodo a um potencial fixo de forma que a corrente é medida em uma faixa de potencial elétrica. Cabe ressaltar que, o desempenho dos sensores eletroquímicos melhorou sensivelmente com o advento dos eletrodos quimicamente modificados.

Segundo Pereira et al. (2002), os eletrodos quimicamente modificados (EQM) são eletrodos cujas superfícies são alteradas através da imobilização de espécies quimicamente ativas. Objetiva-se dessa forma o melhor controle da natureza físico-química da interface eletrodo solução, alterando a reatividade e seletividade de um sensor base, para várias aplicações como catálise por exemplo.

Os avanços na tecnologia tornaram possível o uso de uma grande quantidade de materiais no desenvolvimento de dispositivos eletroanalíticos para detecção de

isoniazida, incluindo polímeros condutores (RASTOGI et al., 2016), nanopartículas metálicas (WU et al., 2015), óxido de grafeno reduzido (ZHU et al., 2015), carbono vítreo (QUINTINO & ANGNES, 2006), carbono mesoporoso (YAN et al., 2011), filme de hidróxido de níquel (MARTINS et al., 2014), filme de ródio (CHEEMALAPATI, 2014), poli(ácido amidossulfônico) (YANG et al., 2008), e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (SATYANARAYANA, 2014).

Diversos sensores utilizando técnicas voltamétricas e amperométricas tem sido propostos para a quantificação de Inz em variadas matrizes utilizando as propriedades electrocatalíticas de eletrodos modificados. Como afirma THAPLIYAL et al. (2015), dentre os sistemas empregados para a quantificação de Inz electroquimicamente, as técnicas electroanalíticas que mais se destacam são a voltametria e a amperometria.

Shahrokhian & Asadian (2010) determinaram simultaneamente a isoniazida, acetaminofen e ácido ascórbico por voltametria utilizando um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanotubos de carbono de múltiplas camadas. Segundo os autores, os resultados obtidos demonstraram a potencialidade dos sensores electroquímicos para a determinação de Inz, tanto em amostras farmacêuticas como para fluidos biológicos, exibindo boa sensibilidade, alta seletividade e baixos limites de detecção. No presente trabalho foram empregadas voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial para realização das análises, as quais foram conduzidas em tampão acetato pH 4,0.

Majidi et al. (2006), verificaram o comportamento voltamétrico e quantificaram amperometricamente a Inz em formulações farmacêuticas frente ao eletrodo de carbono vítreo modificado polipirrol oxidado. O sensor proposto apresentou um limite de detecção para determinação de Inz da ordem de $3,15 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando tampão $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{OH}$ pH 9,0 como eletrólito. O sensor apresentou duas faixas lineares de resposta sendo a primeira de $3,99 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $39,64 \mu\text{mol L}^{-1}$ (com sensibilidade de $0,085 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$) e a segunda entre $39,64 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $1990 \mu\text{mol L}^{-1}$ (com sensibilidade de $0,085 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$).

Yang et al. (2008), também determinaram Inz em formulações farmacêuticas empregando eletrodo de carbono vítreo modificado com um polímero de ácido amidossulfônico e usaram a voltametria de pulso diferencial (VPD) como técnica de análise e aplicação potencial para pré-concentração do analito. O eletrodo modificado apresentou faixa linear de resposta para concentrações de Inz entre $0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ empregando tampão fosfato pH 6,5 como eletrólito de suporte.

Já Bergamini et al. (2010), determinaram a Inz em urina através de um sensor baseado em eletrodo de carbono impresso modificado com poli-L-histidina. Três diferentes técnicas eletroquímicas foram empregadas para obtenção de parâmetros analíticos referentes à oxidação de Inz em tampão fosfato pH 7,0, dentre elas a voltametria linear, voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada cujos limites de detecção foram $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $0,17 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,25 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O sensor apresentou faixa linear de resposta entre $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ para VPD e sensibilidade de $2,99 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$.

Recentemente Zhu et al. (2015), mostraram o desempenho de um sensor voltamétrico baseado em óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente destinado à quantificação de Inz em formulações farmacêuticas. Os autores observaram uma faixa linear de trabalho entre 0,09 e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ com limite de detecção e sensibilidade de $0,015 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,563 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$, respectivamente.

Yan et al. (2015), desenvolveram um sensor baseado em óxido de grafeno reduzido modificado com um polímero de ácido sulfosalicílico cuja faixa linear de resposta foi 0,05 a $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ e o limite de detecção de ordem de $0,012 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{OH}$ pH 9,0

Cheemalapati et al. (2014), determinaram a Inz em urina e plasma sanguíneo humano utilizando voltametria direta. Um eletrodo de carbono vítreo foi modificado depositando eletroquimicamente partículas de ródio empregando voltametria cíclica. Esse eletrodo mostrou-se bem estável e durável pois manteve até 96% da corrente inicial mesmo após 24h posteriores à modificação. Além disso, mesmo depois da realização de 150 ciclos consecutivos, a resposta obtida foi de 94% da resposta de corrente inicial.

Guo et al. (2015), demonstraram o sinergismo das propriedades eletrocatalíticas do óxido de grafeno reduzido e nanopartículas de Au na detecção da Inz em amostras farmacêuticas. O nanocompósito adsorvido na superfície de um eletrodo de carbono vítreo resultou em duas faixas lineares para oxidação de Inz. A primeira faixa linear foi compreendida entre $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ com sensibilidade de $0,135 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$. A segunda faixa linear foi linear de $100 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ a $1000 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ e resultou em uma sensibilidade de $0,045 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$.

Os sensores baseados em amperometria têm sido confeccionados em diversas plataformas acopladas a técnicas como análise por injeção em batelada (BIA, do inglês *bath injection analysis*) (QUINTINO & ANGNES, 2006), e análise por injeção em

fluxo (FIA, do inglês *flow injection analysis*), (OLIVEIRA et al., 2012). Desta forma, os sensores amperométricos podem ser empregados no desenvolvimento de sistemas que explorem diversos níveis de automação.

Jena & Raj (2010), mensuraram a Inz através de um sensor amperométrico constituído de uma plataforma a base de silicatos modificados com nanopartículas de ouro. O sensor foi aplicado para detecção de isoniazida em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ e pH 9,2 com um limite de detecção de 0,0001 µmol L⁻¹.

Yan et al. (2011), desenvolveram um sensor amperométrico baseado na modificação de um eletrodo de carbono vítreo com um material constituído de carbono mesoporoso. As medições foram realizadas em tampão fosfato em (pH = 7,0). A faixa linear dependente da concentração de Inz foi de 0,1 µmol L⁻¹ a 370 µmol L⁻¹. O limite de detecção foi 0,084 µmol L⁻¹.

Azad et al. (2015), recobriram a superfície de um eletrodo de carbono vítreo com argila bentonita e dosaram a Inz em formulações farmacêuticas. A faixa linear de trabalho foi de 10,0 µmol L⁻¹ a 10000,0 µmol L⁻¹ sob um potencial aplicado de 800 mV vs. ECS. Já Rastogi et al. (2016), determinaram Inz em comprimidos empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com um copolímero contendo nanopartículas de prata. A faixa linear de resposta foi de 0,05 µmol L⁻¹ a 150 µmol L⁻¹ com limite de detecção de 0,01 µmol L⁻¹.

Conforme pode ser observado da revisão apresentada anteriormente, a determinação de Inz tem sido um tópico de intenso e regular interesse de inúmeros grupos de pesquisa ao redor do mundo. De forma geral, o interesse na determinação de Inz tem residido principalmente na determinação desta espécie em formulações farmacêuticas, porém poucos esforços tem sido conduzidos na aplicação de sensores eletroquímicos a amostras biológicas.

Adicionalmente, um grande número de sensores para Inz tem sido desenvolvidos focando-se exclusivamente na sensibilidade do dispositivo e negligenciando-se o fato de que o fármaco Inz pode sofrer acentuada decomposição em soluções de pH superiores a 8,0 de forma a gerar uma mistura de compostos, entre eles ácido isonicotínico, isonicotinamida, 1,2-di-isonicotinoil-hidrazina, entre outros (FLOREY et al., 1977).

Por outro lado, um aspecto comum a quase todos os sensores desenvolvidos para determinação de Inz é o uso de nanomateriais, sejam eles metálicos, à base de polímeros condutores, polímeros não condutores bem como materiais de carbono. Neste sentido, é

apresentada a seguir uma breve revisão em termos de aspectos gerais dos principais materiais de carbono empregados atualmente no desenvolvimento de sensores químicos.

2.3 *Nanomaterias de Carbono*

Os nano-materiais tem sido objeto de estudo em muitas áreas devido às suas propriedades físico-químicas únicas tendo aplicações em diversos ramos da ciência com destaque no âmbito da biomedicina (CHAU, 2015) da biologia (BATTIGELLI et al., 2013) e aplicações em Química analítica (SCIDA et al., 2011).

Como possuem pequenas dimensões, em média na faixa de 1 a 100nm, os nanomateriais exibem alta razão área de superfície-volume, elevada capacidade de adsorção molecular, e alta resistência mecânica. Tais propriedades conferem aos materiais nanoestruturados, dentre outras aplicações, grande potencial para o desenvolvimento de diversos tipos de sensores, incluindo os termomecânicos, térmicos, ópticos, magnéticos, e químicos. (TUANTRANONT, 2013).

Atualmente há uma grande convergência no que diz respeito à pesquisa científica associada ao desenvolvimento e aplicação de novos materiais para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Dentre os materiais usados tem recebido destaque os materiais de carbono, tais como: grafeno e seus oxidos, nanotubo de carbono, fulerenos, nanocarbono, nanohorns de carbono, entre outros.

Os nanomateriais de carbono apresentam excelentes características no que diz respeito ao desenvolvimento de sensores químicos incluindo uma rápida cinética de transferência eletrônica, elevada capacidade de sorção e distribuição homogênea de espécies eletroativas e catalizadores sobre suas superfícies e propriedades eletroquímicas moduláveis de acordo com seus estados de oxidação. (YANG et al., 2015).

2.3.1 *Grafeno*

O grafeno é um material composto por carbonos de hibridização sp^2 ligados na forma de um anel hexagonal, os quais estão interconectados através de uma rede bidimensional. A origem natural do grafeno é o grafite, o qual é constituído de um empilhamento de folhas de grafeno, empacotadas e unidas por forças de Van der Waals. Segundo Pati et al. (2011), podem existir três grupos de materiais de grafeno de acordo com o número de camadas, o grafeno de camada simples (GS), grafeno com duas camadas ou bicamada (GB) e o grafeno em poucas camadas. Quando sintetizado, a

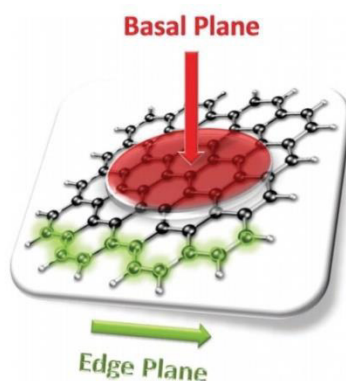
caracterização e determinação estrutural do grafeno pode ser realizada por diversas técnicas e dentre elas a Microscopia de força atômica (AFM, do inglês *Atomic force microscopy*), Microscopia de tunelamento com varredura (STM, do inglês *Scanning Tunneling Microscopy*) e Espectroscopia Raman.

Conhecido pelas suas interessantes propriedades tais como grande área superficial, alta elasticidade, alta condutividade térmica, alta resistência mecânica, boa condutividade elétrica dentre outras, o grafeno tem sido utilizado em pesquisas de diversas áreas. As propriedades do grafeno só são possíveis graças às suas ligações do carbono sp^2 e a sua configuração eletrônica. (LEE et al., 2008; MOROZOV et al., 2008; NOVOSELOV et al., 2004).

O carbono tem configuração eletrônica $1s^2, 2s^2, 2p^2$ no estado fundamental. A partir da hibridização dos orbitais s e p surgem três orbitais sp^2 que fazem ligações covalentes fortes do tipo σ no plano da folha de grafeno. A essas ligações são atribuídas a estabilidade energética e elástica do grafeno. Os elétrons restantes estão dispostos no orbital p_z , formando uma ligação mais fraca do tipo π , perpendicular ao plano constituindo um sistema eletrônico deslocalizado. É atribuída aos elétrons desse sistema deslocalizado uma significativa contribuição para as propriedades elétricas do grafeno (TUAN, 2015).

A nível molecular, as folhas de grafeno apresentam regiões estruturais distintas, sendo eles o plano de base (plano basal ou *basal plane*) e o plano de borda (*edge plane*) (BROWNSON & BANKS, 2012), conforme representado na Figura 2. Em estudos eletroanalíticos recentes, tem-se demonstrado que embora haja contribuição do plano basal, é atribuída ao plano edge a maior atividade eletroquímica do grafeno, pois o aumento da densidade de estados eletrônicos está relacionado a uma maior quantidade de planos edge e assim a taxa de transferência eletrônica heterogênea pode ser aumentada gerando uma rápida cinética. (PUMERA et al., 2010; YUAN et al., 2013).

Figura 2 - Representação de plano basal e de borda



Fonte: Brownson & Banks (2012)

O grafeno pode ser obtido por uma série de técnicas. A mais simples delas é a esfoliação mecânica, um método manual onde o material oriundo da descamação ou raspagem (*peeling*) do grafite por meio de uma fita adesiva pode ser transferido para um substrato de interesse. Esta técnica, tem a vantagem de preservar todas as características do grafeno (NOVOSELOV et al., 2004). A realização deste procedimento é possível graças à pequena força de atração das interações de Van der Waals entre as folhas de grafeno. É uma técnica indicada para estudos fundamentais de caracterização e determinação das propriedades, contudo como o seu rendimento é pouco, não é indicada para produção em larga escala deste interessante nanomaterial de carbono (MEHL et al., 2014).

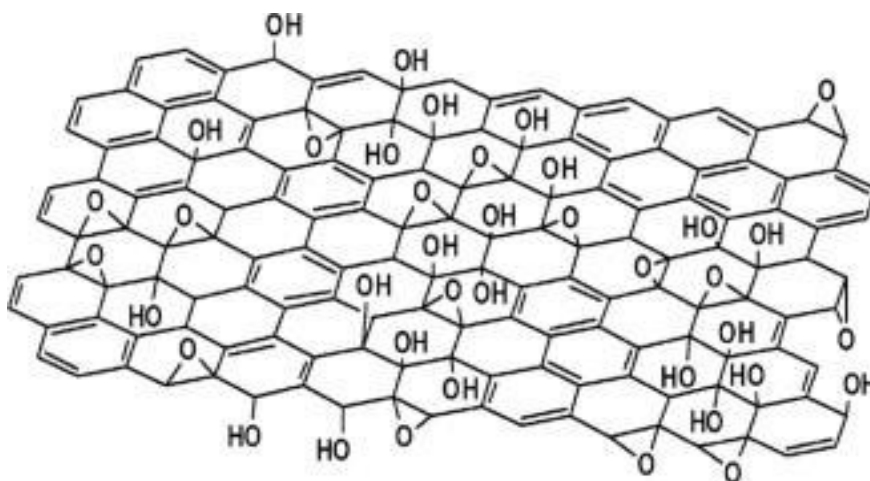
O crescimento epitaxial é uma técnica de síntese onde as folhas de grafeno crescem sobre um substrato cristalino ou metálico (SiC, Ru etc.) no processo chamado de grafitação. O crescimento é realizado a vácuo em altas temperaturas, geralmente em torno de 1300°C. É indicada para a produção de grafeno para aplicações em nanoeletrônica. No entanto algumas desvantagens são observadas, como a dificuldade de controle da espessura em produção rotineira e a ocorrência de diferentes padrões de crescimento (ZHENG & KIM, 2015).

A deposição química em fase de vapor (CVD, do inglês *chemical vapor deposition*) para a produção de grafeno dá-se através do crescimento de grafeno diretamente em um substrato de metal de transição (Ni ou Cu, por exemplo), com exposição a um gás de um hidrocarboneto em altas temperaturas (WHITENER JR & SHEEAN, 2014).

No resfriamento do substrato o carbono precipita em folhas de grafeno em multicamadas (SUN et al., 2011). De acordo com Reina et al. (2009), algumas vantagens são a produção de um filme com boa qualidade, com menos defeitos e possibilidade de transporte para um outro substrato. Como desvantagens citam-se a possível contaminação com catalisadores, custo elevado e dificuldades na produção de camada simples de grafeno.

O grafeno também pode ser sintetizado por esfoliação química do grafite por exposição em um meio altamente oxidante. O tratamento é feito através do uso de substâncias como KClO_3 , HNO_3 , H_2SO_4 , KMnO_4 , NaNO_3 e H_3PO_4 , dentre outras. Neste caso, o produto resultante será uma mistura de grafeno e óxido de grafeno (GO, do inglês *graphene oxide*). Este último é assim chamado devido à presença de vários grupos hidroxilas, epóxi, carbóxicas, cetonas, ésteres, etc, na malha estrutural carbonácea (GAO, 2015), como mostrado na Figura 3.

Figura 3 - Folha de grafeno funcionalizado contendo grupos oxigenados.



FONTE: Pei & Cheng (2012)

Alguns estudos utilizando ressonância magnética nuclear sugerem que os grupos hidroxila e epóxi estão localizados no plano basal do grafeno e os grupos lactol, éster e carboxilas e cetonas, em pequenas quantidades, estão localizadas no plano de borda (*edge*) da folha de grafeno. Esses grupos funcionais conferem ao óxido de grafeno sítios para várias reações de modificação da sua superfície, de forma a possibilitar um vasto campo para produção de materiais baseados em grafeno (SINGH et al., 2011). O tratamento químico oxidativo do grafeno tem fornecido monocamadas de grafeno em quantidades apreciáveis para aplicações em vários campos (PARVEZ et al., 2015).

No entanto, os fortes agentes oxidantes favorecem um enfraquecimento das forças de Van der Waals entre as camadas de grafite, pois as moléculas dos reagentes se acomodam entre as camadas, gerando um espaçamento entre elas. O resultado é um rompimento parcial das ligações do tipo sp^2-sp^2 , resultando em folhas com carbonos possuindo ligações do tipo sp^2-sp^3 , tornando esse material menos estável e com propriedades diferentes do grafeno oriundo de outros métodos (JESUS et al., 2012).

Desta forma, o material produzido será de baixa condutividade elétrica, dispersível em meio aquoso, porém não homogêneo e amorfo (DREYER et al., 2010). Portanto, tratamentos subsequentes de óxido de grafeno são necessários para a redução do mesmo de forma a proporcionar-se uma melhora nas características importantes destes materiais, no que tange suas aplicações no desenvolvimento de sensores eletroquímicos, tais como sua condutividade elétrica.

Em geral, a redução de GO pode apresentar rendimentos variáveis. Por exemplo, grupos epóxi e hidroxilas em uma parte do grafeno sem defeitos de rede são fáceis de remover, mas os localizados nos locais de defeitos e nas bordas são mais difíceis. Além disso, uma elevada concentração de defeitos de rede dificulta muito a retirada de oxigênio e os próprios defeitos de rede são difíceis de se reestabelecer após tratamento químico (PEI & CHENG, 2012).

Segundo Parvez et al. (2015), apesar de diversos métodos para redução de GO terem sido propostos, em nenhum deles se conseguiu uma reversão total do processo oxidativo, sendo os principais métodos para redução do GO a redução química, térmica, assistida por plasma, fotocatalítica e solvatotérmica.

Baseado na extraordinária capacidade de transferência eletrônica e na alta área de superfície específica, grafeno funcionalizado se habilita como excelente promotor de troca eletrônica entre superfície de eletrodos e analitos diversos, tornando-se excelente para o desenvolvimento de sensores (VASHIST & LUONG, 2015).

Dentre estes materiais à base de grafeno, o óxido de grafeno reduzido (*reduced graphene oxide*) obtido por via química tem sido grandemente utilizado em eletroanalítica na detecção de diversas substâncias. A atividade eletroquímica desses materiais parcialmente funcionalizados tem sido atribuída à estrutura porosa, aos defeitos em suas folhas, aos grupos funcionais (principalmente os oxigenados) resultantes, e às impurezas oriundas destes processos de fabricação. (BROWNSON & BANKS, 2014).

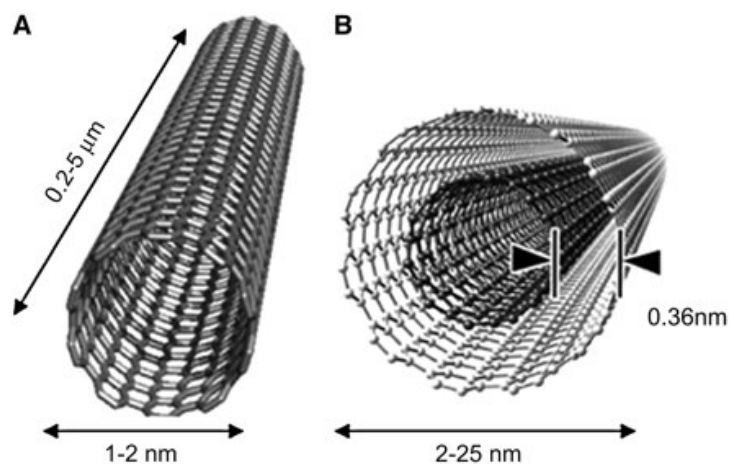
2.3.2 Nanotubos de Carbono

A descoberta dos nanotubos de carbono é atribuída ao japonês Sumio Iijima em 1991 (PUJADÓ, 2012). Os primeiros relatos da existência de nanotubos de carbono datam de 1952 e foram feitos pelos russos Radushkevich e Lukyanovich com base em medidas de microscopia eletrônica de transmissão. Contudo, tais estruturas de carbono não tinham sentido até a divulgação dos trabalhos de Iijima.

Os nanotubos de carbono (NTC) são construídos a partir de ligações entre carbonos com hibridização sp^2 formando anéis hexagonais, e estes anéis ligados covalentemente formando uma rede com formato de um tubo cilíndrico, com diâmetros medidos na ordem de nanômetros e os comprimentos em micrômetros (Figura 4). Os grupos mais distintos são (RIVAS et al., 2007):

- Nanotubos de Carbono de parede Simples (SWCNT): Constituídos de uma única folha de grafeno enrolada, formando um cilindro de 1-2 nm de diâmetro.
- Nanotubos de Carbono de múltiplas paredes (MWCNT): Constituídos como folhas de grafeno enroladas de formas cilíndricas concêntricas, com várias camadas separadas por uma distância de aproximadamente 0,34 nm, sendo que a extensão da abertura dessas camadas varia de 2 a 25 nm. A estabilização desses nanotubos se dá por forças de forças de van der Waals.

Figura 4 - Representação esquemática dos Nanotubos de carbono de parede simples e de paredes múltiplas respectivamente. A: MWCNT. B: SWCNT



. Fonte: Metters & Banks (2012)

Por possuírem propriedades únicas os NTC têm sido objeto de inúmeras pesquisas. Apresentam alta condutividade térmica, característica que contribui para melhoria significativa de propriedades termomecânicas de materiais compósitos. Em geral comportam-se como semimetálicos e metálicos e quando condutores podem apresentar resistividade em torno de $10^{-4}\Omega$ a 27°C de forma a caracterizar-se como um dos materiais de carbono de maior condutividade elétrica. (KAUSHIK & MAJUMDER, 2015)

A maneira pela qual as folhas de grafeno são enroladas é determinante da estrutura dos nanotubos de carbono e suas propriedades físicas, tendo relevância dois parâmetros resultantes dos índices de Hamada (n,m)(HAMADA et al., 1992): a helicidade (ângulo quiral (θ), quiralidade) e o diâmetro do nanotubo. Pode-se calcular o vetor quiral C_h ou vetor de Hamada através da equação (1), onde m e n são números inteiros e \mathbf{a}_1 e \mathbf{a}_2 são valores unitários dos vetores de base da rede hexagonal de grafeno (Figura 5).

$$C_h = n\mathbf{a}_1 + m\mathbf{a}_2 \quad (1)$$

O vetor quiral define e conecta a posição relativa de dois sítios cristalograficamente iguais (ROMERO et al., 2002).

Uma vez que os módulos de \mathbf{a}_1 e \mathbf{a}_2 são iguais, um valor aproximado da distância entre as ligações de carbono-carbono (a_{c-c}) poderá ser calculado a saber $|\mathbf{a}_1| = |\mathbf{a}_2| = 3^{1/2} 1,42 = 2,46 \text{ \AA}$. Assim, se os efeitos de curvatura no comprimento de ligações C-C forem desprezados, o módulo do vetor quiral e o diâmetro do nanotubo poderão ser calculados a partir da equação (2) representada abaixo, para NTC com diâmetros maiores que 1,0 nm (SOUZA FILHO et al., 2007). De acordo com Malagù et al (2015) um modelo teórico foi proposto e o ângulo quiral (θ) pode ser calculado a partir da equação (3)

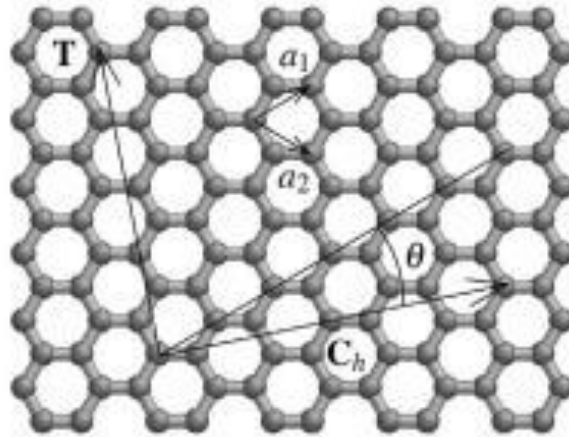
$$d_t = |C_h|/\pi = a(n^2 + m^2 + mn)/\pi \quad (2)$$

$$\theta = \text{Arctan}\left(\frac{\sqrt{3m}}{2n + m}\right) \quad (3)$$

Quando $\theta = 0^\circ$ e $\theta = 30^\circ$ os nanotubos são considerados do tipo Zig-zag e armchair respectivamente. Enquanto que se possuir valores de θ no intervalo de 0° e

30°, o NTC é chamado de quiral (MARANA et al., 2016). As configurações Zig-zag armchair e quiral estão representadas na Figura 6.

Figura 5 - Vetores de base e quiral na rede de grafeno.



FONTE: Malagù et al. (2015).

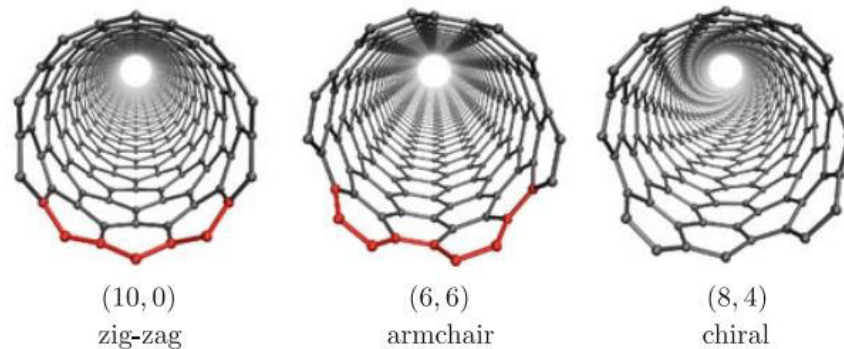
Os números de paredes dos nanotubos, o ângulo de enrolamento (quiralidade) da folha de grafeno e o diâmetro do nanotubo determinam o tipo de condução elétrica nesses materiais. Os MWCNT são essencialmente de caráter metálico. Já nos SWCNT, o tipo de arranjo influenciará nas propriedades elétricas. Em geral os NTC do tipo *armchair* são condutores, enquanto que os do tipo quiral e zigue-zag podem ser condutores e semicondutores dependendo do diâmetro do nanotubo.

A síntese seletiva de NTC baseados em sua quiralidade não é prática, pois em geral os nanotubos são obtidos como misturas contendo isômeros com quiralidades, comprimentos e raios distintos, no entanto, recentemente a fabricação seletiva de nanotubos de carbono do tipo *armchair* foi conseguida (BAUGHMAN et al., 2002; GOODING, 2005; NAKANISHI et al., 2014; TOUR, 2014).

Diferentes rotas de síntese têm sido tomadas para produzir vários tipos de Nanotubos de carbono. Dentre elas citam-se: Pirólise de grafite, Síntese catalítica, Descarga por arco elétrico, ablação por laser, Deposição química por vapor (CVD), Decomposição do monóxido de carbono sob alta pressão (HiPCO). Tais processos têm a desvantagem de produzir impurezas, como carbono amorfo e partículas metálicas oriundas de catalizadores. Muitos trabalhos sobre síntese de NTC já foram realizados para minimizar o custo e a geração de impurezas. As técnicas de CVD e a síntese catalítica têm melhorado o controle dessas variáveis, no entanto, as pesquisas ainda

estão em desenvolvimento para que se consiga atender aos critérios ótimos de produção como custo, eficácia, rapidez e produção em massa. (HERBST et al., 2004; LAWAL, 2016).

Figura 6 - Congigurações Zig-zag, armchair e quiral em nanotubos de carbono.



Fonte: Bell (2015).

A Produção de NTCPM por descarga de arco elétrico requer o controle dos parâmetros experimentais para que se consiga um bom rendimento, devendo ser realizado com extremo cuidado pois produz uma mistura de compostos que precisam de purificação posterior. Em geral a produção de CNT por esta técnica baseia-se na aplicação de um arco elétrico entre dois eletrodos cilíndricos de grafite com 1 a 4 mm de distância entre eles, com 6 a 12 mm de diâmetro, dispostos verticalmente ou horizontalmente, dentro de uma câmara a baixas pressões na presença de um gás inerte como He ou N₂. É gerado um plasma entre os eletrodos, a altas temperaturas (próximas a 4000°C) com aplicação de uma tensão que varia de 20 a 25 V e uma corrente contínua na faixa de 50 a 120 A. As temperaturas atingidas excedem o ponto de sublimação do carbono, dessa forma material carbonáceo do eletrodo positivo (anodo) é transferido para o eletrodo negativo (catodo)(KUCHIBHATLA et al., 2007).

O método de ablação por laser é semelhante ao método de descarga em arco, no entanto, neste método o material carbônico é vaporizado a partir de um bastão sólido em fluxo de gases nobres (He ou Ar). O processo inicia-se em um tubo de quartzo a uma pressão menor que 10 Torr, elevando-se a temperatura em torno de 1200°C. Então se preenche o tubo de quartzo com o gás inerte e um pulso de laser de alta potência é aplicado sobre o eletrodo de grafite. O material carbônico vaporizado é então arrastado

pelo fluxo do gás inerte até um coletor resfriado por água, onde então condensa-se e deposita-se na forma de uma fuligem rica em nanotubos. Este método fornece um material com baixas quantidades de carbono amorfo, com uma pureza maior (70 a 90%) quando comparado aos produzidos por arco elétrico (MUBARAK et al., 2014; THESS et al., 1996) .

A Deposição por vapor químico (CVD do inglês *chemical vapor deposition*) é uma técnica que permite a deposição de filmes finos de diversas matrizes no estado sólido (KOPONEN, 2016), surgiu com potencial para produção de NTC em larga escala a partir de 1996. Na síntese de nanotubos de carbono por CVD os catalisadores são depositados em um substrato, para então sofrerem um processo de nucleação, este pode ser realizado através de tratamento químico ou térmico. Este material de suporte pré-tratado é então colocado em um reator, aquecendo-se a uma temperatura que varia de 600 a 1200°C. Uma mistura gasosa contendo hidrocarbonetos (Acetileno, metano etc.) e um gás de processo (Hidrogênio, argônio etc.) é então liberada para reagir com os catalisadores metálicos em um intervalo de 15 a 60 min. O material precursor quando decomposto, produz carbono sólido, que é então coletado em um recipiente com gás hidrogênio sendo eliminado por exaustão (SHAH & TALI, 2016). Comparado aos métodos de Ablação por laser e Descarga por arco elétrico, o método CVD é o mais promissor para produção em massa pois apresenta vantagens como condições de uso mais brandas, síntese controlável e baixo custo (MIAO, 2013).

Os nanotubos de carbono podem ter suas propriedades alteradas, através de reações ou adsorção de certas espécies químicas às suas estruturas, com a finalidade de melhorar suas condições de uso. Por exemplo, a solubilidade e a difícil manipulação em solventes limita o uso de NTC. Como alternativa, a funcionalização de NTC é um importante artifício para ampliar o campo de aplicação desses materiais.

TASIS et al. (2006), relatam uma série de modificações que os NTC podem sofrer, como a adição de átomos de Flúor nas paredes laterais do NTC tornando-os solúveis em álcoois. Esses NTC fluorados ainda podem reagir com Diaminas ou Dióis gerando nanotubos solúveis em ácidos diluídos e água. A funcionalização de NTC pode alterar as propriedades mecânicas e elétricas dos NTC de origem e desta forma, poderão ser explorados para o desenvolvimento de vários dispositivos e para o uso em sensores (SOUZA FILHO, & FAGAN, 2007) .

Em aplicações eletroquímicas há basicamente duas principais abordagens ao se utilizar nanotubos de carbono. A primeira é imobilização de nanomateriais em uma

superfície de eletrodo. A segunda, é fazer o crescimento de NTC em um substrato, e ele mesmo ser usado com eletrodo. A primeira abordagem é a mais utilizada. Nesta maneira os NTC são dispersos em um meio apropriado e uma alíquota é colocada sobre o eletrodo de trabalho. Havendo a evaporação do solvente, os nanomateriais ficam imobilizados na superfície do eletrodo desejado (METTERS & BANKS, 2012).

Os eletrodos modificados com NTC possuem algumas vantagens sobre outras formas de eletrodo baseados em materiais de carbono (carbono vítreo, grafite e diamante), devido ao seu tamanho pequeno, alta estabilidade química, alta condutividade elétrica e térmica, alta resistência mecânica, alta área superficial específica. Como possuem longo comprimento e pequeno diâmetro, podem ligar-se mais facilmente a proteínas exibindo melhor eletroatividade. Também possuem rápida transferência eletrônica, assim exibem excelente atividade eletrocatalítica e comportamento redox para diferentes compostos. Eletrodos modificados com NTC resultam em baixos limites de detecção, alta sensibilidade, redução de sobrepotenciais. Dessa forma os NTC são uma excelente alternativa para o desenvolvimento de sensores e biosensores (AHAMMAD et al., 2009; LI et al., 2008; SAHA et al., 2014).

Os Nanotubos de carbono têm sido utilizados para desenvolver sensores de natureza eletroquímica em diversas áreas (FENG et al., 2013; RONG et al., 2008; TIAN et al., 2014; ZHAO et al., 2009; CHAMJANGALI et al., 2015; SINGH et al., 2014). A natureza eletrocatalítica dos NTC tem sido atribuída aos seus sítios ativos, residentes nas extremidades abertas, ao plano de borda (*edge*) do grafite pirolítico e a defeitos nas paredes laterais dos nanotubos. Estes defeitos são os sítios mais ativos, devido à elevada densidade de elétrons π desemparelhados (AXET et al., 2016). As propriedades dos SWCNT e MWCNT são semelhantes. No entanto, as paredes dos SWCNT possuem menos defeito, uma característica que tem motivado a utilização de MWCNT em um maior número de pesquisas (WEI et al., 2014).

2.3 Ftalocianinas

Ftalocianinas (Pc) são compostos macrocíclicos planares com estrutura química relacionada às porfirinas, contendo 4 unidades de anéis isoindol unidos por ligações do tipo Azo ($-N=$). Sua característica aromática se dá pela presença de 18 pares de elétrons π deslocalizados, constituindo uma nuvem eletrônica que se arranja alternadamente entre átomos de carbono e nitrogênio, formando um sistema conjugado. Esse arranjo eletrônico confere às ftalocianinas suas principais propriedades como

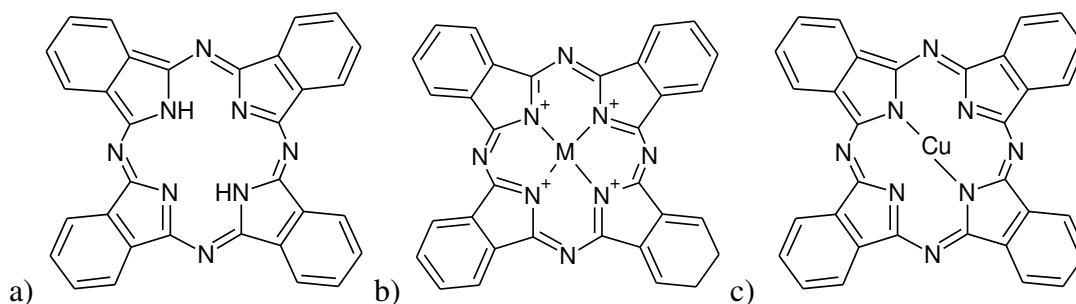
estabilidade química, térmica, tornando-os úteis para aplicação em diversos campos da ciência (NALWA, 2001), indústria e medicina (ISAGO, 2015) bem como no desenvolvimento de sensores químicos (VALLI, 2005; KUMAWAT et al., 2015).

Como exemplos cita-se o uso dessas substâncias como agentes fotocondutores em fotocopiadoras, reagentes para terapia fotodinâmica para terapia do câncer, elementos de células fotovoltaicas para geração de eletricidade, eletrofotografia, utilização para leitura óptica e gravação em discos de computadores, pigmentação de materiais diversos com plásticos, couro e tintas, em eletrocatalise além de outros usos (KOBAYASHI, 1999).

Basicamente, as ftalocianinas formam um extenso grupo de compostos orgânicos sintetizados artificialmente. Na ausência do átomo metálico no centro do macrociclo, são chamadas de ftalocianinas livres (L-Pc). Quando possuem um centro metálico (geralmente metais de transição) as ftalocianinas são chamadas de metaloftalocianinas (M-Pc). Segundo De La Torre et al. (2007), os átomos de hidrogênio da cavidade central podem ser substituídos por mais de 70 metais diferentes, e tanto nas M-Pc como nas L-Pc vários substituintes podem ser incorporados na periferia do macrociclo e em suas posições axiais.

Desta forma, as propriedades físicas das Pc podem ser modificadas, por exemplo, no melhoramento da solubilidade em água (WANG et al., 2013), ou mesmo na alteração das atividades fotofísicas e catalíticas (LO et al., 2007), quando se troca o centro metálico ou os ligantes equatoriais e axiais. A Figura 7 abaixo exhibe algumas variações da estrutura química de Pcs.

Figura 7 a) Representação de Ftalocianina livre b) Representação genérica de ftalocianina metálica c) representação de Ftalocianina de cobre



Fonte: Autor.

As metalofalocianinas (M-Pc) são conhecidas como catalizadores de reações químicas homogêneas e heterogêneas. Em muitas dessas reações esses compostos agem promovendo a oxidação de muitas substâncias, sendo conhecidos também, como redutores de oxigênio molecular (BAKER et al, 2008). Quando em contato com uma superfície condutora como a de um eletrodo, as ftalocianinas exercem alta atividade electrocatalítica e portanto, têm sido objeto de estudo em várias reações eletroquímicas (ZAGAL, 1992; SILVA et al., 2013), fazendo dessas moléculas, interessante material para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos.

A influência do centro metálico (LOPES et al., 2002) e do amplo sistema de conjugação de elétrons π das M-Pc, dentre outras vantagens, conferem às suas estruturas químicas mínima reorganização energética, tornando-as capazes de participar de processos redox rápidos e desta forma agirem como mediadores de transferência eletrônica nas reações de diversas moléculas (ZAGAL et al., 2010) como Dopamina (ONI & NYOKONG, 2001), hemoglobina (LIU et al., 2010), Serotonina (PATRASCU et al., 2011), Catecol (APETREI, 2013), dentre outras, pois propiciam uma diminuição do potencial requerido para que a reação ocorra com produção de bons sinais de corrente.

Em ordem crescente, as Metalofalocianinas utilizadas em eletroanálise e que são estudadas com maior frequência são as MnPc, FePc e CoPc respectivamente, tendo maior destaque as duas últimas (ZAGAL, 2010). Ressalta-se a excelente atividade redox de FePc e CoPc para detecção de hidrazina e isoniazida (FOSTER et al., 2014; LI et al., 2011; OZOEMENA & NYOKONG, 2005).

SHAHROKHIAN et al. (2009), relatam que as fatalocianinas de Ferro e seus complexos têm despertado interesse, pois esses compostos, quando utilizados como modificadores de eletrodos, tem apresentado boa resposta em relação aos processos eletródicos.

Ftalocianinas associadas a nanotubos de carbono ou a Grafeno, criam um efeito sinérgico, melhoram significativamente o sinal de corrente, aumentam a magnitude da resposta e melhoram a sensibilidade e a seletividade em análises de moléculas específicas (LIN et al., 2010; LUZ et al., 2008; SILVA et al., 2007; WAN et al., 2015). Dessa forma, nesse trabalho foi proposto um sensor eletroquímico baseado em ftalocianina de ferro, nanotubo de carbono oxidado de paredes múltiplas e óxido de grafeno para determinação de isoniazida.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1. *Objetivo Geral*

A presente dissertação tem como objetivo geral o desenvolvimento de um sensor explorando um material compósito à base de nanotubos de carbono de paredes múltiplas oxidado-óxido de grafeno modificado com ftalocianina de ferro para determinação de isoniazida.

3.2. *Objetivos específicos*

- a) Modificar o Eletrodo de Carbono Vítreo com Nanotubo de Carbono Oxidado (MWCNTO-GO) e com Ftalocianina de Ferro (FePc) de forma a aumentar as propriedades eletrocatalíticas destes compostos, visando a oxidação eletroquímica da isoniazida.
- b) Caracterizar os MWCNTO-GO, o filme compósito MWCNTO-GO/FePc empregando a Microscopia Eletroquímica de Varredura (SECM), Microscopia Eletrônica de transmissão e Espectroscopia Raman.
- c) Estudar as propriedades eletrocatalíticas da oxidação eletroquímica da isoniazida e determinar parâmetros cinéticos utilizando as técnicas eletroquímicas (Voltametria Cíclica e Espectroscopia de Impedância eletroquímica).
- d) Construir curvas analíticas para a determinação de isoniazida utilizando a amperometria de acordo com os parâmetros otimizados para quantificar isoniazida em amostras de plasma sanguíneo e saliva artificiais.

MATERIAIS E MÉTODOS

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Materiais e Reagentes

Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico. O nanocompósito baseado em Nanotubo de carbono/óxido de grafeno foi preparado de acordo com o método proposto por Zanin e seus colaboradores (ZANIN et al., 2014; ZANIN et al., 2015). Ftalocianina de Ferro e Isoniazida foram comprados da Sigma-Aldrich. Etanol, bicarbonato de sódio, fosfato monobásico de sódio, fosfato dibásico de sódio, tiocianato de potássio, Ácido láctico, cloreto de magnésio, cloreto de cálcio, sulfato de sódio, hidróxido de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, ácido hidrocloreto, dimetilsulfóxido, hidróxido de sódio e ácido cítrico foram obtidos da Vetec Química Fina LTDA (Brasil). Todas as soluções foram preparadas com água purificada em um sistema OS100LXE da companhia GEHAKA (Gehaka Ltd., São Paulo-SP, Brasil)

4.2. Medidas Eletroquímicas

As medidas de Voltametria cíclica, Amperometria e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica foram realizadas utilizando-se um potenciostato / galvanostato da Autolab PGSTAT (Eco Chemie) controlado com o software GPES 4.9 ou FRA 2. Uma célula eletroquímica contendo três eletrodos foi utilizada para todas as medidas. O eletrodo de trabalho foi de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNTO-GO, o contraeletrodo e o eletrodo de referência foram um eletrodo de platina e Ag/AgCl_{sat} respectivamente. As resistências de transferência de carga dos sensores foram obtidas através dos espectros de impedância registrados em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 1 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]³⁻ em uma faixa que varia de 10 mHz – 0.1 MHz sob uma amplitude de 10mV.

4.3. Microscopia eletroquímica de varredura (SECM, do inglês scanning electrochemical microscopy)

Experimentos de Microscopia Eletroquímica de Varredura foram realizados utilizando um microscópio da marca Sensolytics (Bochum, Germany) acoplado a um bi-potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 128 N da Eco chemie (Utrecht, Netherlands). As imagens e as curvas de aproximação foram feitas utilizando o modo de

feedback do SECM em uma configuração com quatro eletrodos à temperatura ambiente que utiliza uma fase de tradução em três eixos conduzidos por 3 motores de passo (eixo x, y e z) para posicionar a tip. As sondas utilizadas foram microeletrodos de platina adquiridas comercialmente, com raio a de 5 μm e $\text{RG} \sim 10$ (RG é a relação entre o raio da parte isolante (vidro), rg , e a parte condutora condutora (platina), então $\text{RG} = rg/a$) sendo aplicado neste um potencial de $-0,2\text{V vs. Ag/AgCl}$, um potencial escolhido realizando voltametria cíclica com a sonda de Pt a $d > 500 \mu\text{m}$.

4.4. Síntese de nanotubos de carbono oxidado de paredes múltiplas

O compósito MWCNTO-GO foi preparado de acordo como método proposto por Zanini e seus colaboradores (ZANIN et al., 2014; ZANIN et al., 2015). Em resumo, MWCNTO em pó foi preparado usando uma mistura de cânfora e ferroceno em um forno por deposição térmica de vapor químico (*chemical vapour deposition*, CVD). A mistura foi vaporizada a 220°C em uma antecâmara e seus vapores foram carregados por um fluxo de gás argônio para a câmara do forno de CVD numa temperatura de 850°C a pressão atmosférica. Os vapores foram rapidamente inseridos na câmara, que tem um aparato propício para confiná-los na região reativa. A grande quantidade de precursores e as melhores condições foram adequadas para converter vapores em pó de MWCNTO. O tempo decorrido durante o processo usado para produzir o MWCNTO foi de apenas alguns minutos.

4.4.1 Tratamento de funcionalização de MWCNTO

Os nanotubos de carbono previamente obtidos foram tratados por plasma de oxigênio por 10 min. As amostras funcionalizadas com oxigênio foram denominadas MWCNTO-GO. Um tratamento ácido foi utilizado para remover as partículas catalíticas do MWCNTO em pó. As amostras foram submetidas a um processo de sonicação por 5 h em $\text{HCl } 10 \text{ mol L}^{-1}$ e em seguida foram lavadas em água e secas. Para incorporar os grupos contendo oxigênio foi empregado um reator de plasma de corrente contínua pulsada a uma pressão de 300 mTorr, -900 V e com frequência de pulso de 20 kHz. O pó de MWCNTO foi oxidado usando uma agitação *in situ* permitindo que o plasma de oxigênio alcançasse tridimensionalmente as amostras. O pó de MWCNTO foi desaglomerado durante o processo. Este sistema de agitação funciona como um cátodo oco formando um denso plasma de oxigênio em todo o seu volume interno. Os

tratamentos com plasma de oxigênio foram realizados por 10min. As amostras funcionalizadas com oxigênio foram denominadas MWCNTO-GO.

4.5. Preparação do sensor

A superfície do eletrodo de carbono vítreo foi polida com uma suspensão de alumina antes da modificação do mesmo com posterior lavagem com água destilada para remover as espécies adsorvidas. Após a limpeza da superfície do eletrodo, uma suspensão foi preparada pela mistura de 2,0 mg de MWCNTO-GO, 1,0 mg de FePc e 500 μL de dimetil sulfóxido (DMSO). Então 20 μL dessa suspensão foram colocados diretamente na superfície do eletrodo e deixou-se o conjunto secar a 50°C por 30 min para a formar o compósito FePc/MWCNTO-GO na superfície do eletrodo. Depois disso, 10 μL de solução metanólica de Nafion[®] 5 % (m/v) foi adicionada sobre o filme compósito e deixou-se o conjunto secar à temperatura ambiente. Finalmente, o eletrodo modificado foi completamente lavado com água destilada e colocado dentro da célula eletroquímica.

4.6. Preparação das amostras de saliva e plasma artificiais

A saliva artificial foi preparada de acordo com a formula descrita em Botta et al. (2010). A saliva artificial foi feita com diferentes concentrações das substâncias em mg mL^{-1} : KCl (0,96), NaCl (0,67), MgCl_2 (0,04), KH_2PO_4 (0,27), CaCl_2 (0,12), Nipagin (0,01), Nipasol (0,1), Carboximetil Celulose (8,0), Sorbitol (24,0). Todos os componentes foram dissolvidos em água destilada. O plasma artificial foi feito com diferentes concentrações dos sais em mg mL^{-1} : KCl (0,225), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,293), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,311), Na_2HPO_4 (0,238), NaHCO_3 (0,352), NaCl (8,036), e Na_2SO_4 (0,072) (LIU et al., 2006).

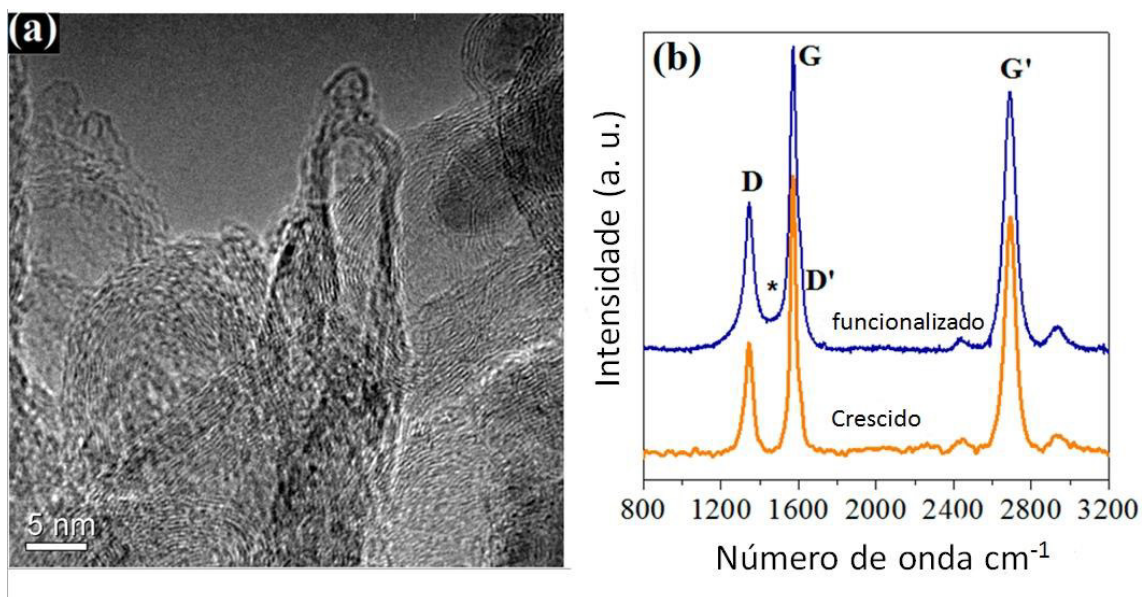
RESULTADOS E DISCUSSÃO

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do MWCNTO-GO

A microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês *Transmission electron microscopy*) do material MWCNTO-GO (Figura 8 (a)) revela defeitos causados pela esfoliação e oxidação das extremidades e paredes do MWCNT-GO. A microscopia revela uma estrutura com boa cristalinidade e em forma de bambú cujo diâmetro médio é de ~ 25 nm, nanotubos possuindo defeitos em suas paredes com espaço interplanar de $\sim 0,33 \pm 0,02$ nm (ZANIN et al., 2014).

Figura 8 - (a) Microscopia de Transmissão Eletrônica e (b) Espectro Raman da amostra de MWCNTO-GO



Fonte: Zanin et al. (2014).

A Figura 8 (b) mostra o espectro de espalhamento Raman de primeira e segunda ordem do MWCNT e MWCNTO-GO. A deconvolução foi realizada utilizando formas Lorentzianas para a banda D, G e G' e as formas Gaussianas para as bandas em torno de 1250, 1480 e 1611 cm⁻¹ (ombro D') (ZANIN et al., 2014). A banda D é usualmente atribuída à desordem e aos defeitos nos cristalitos de carbono. A banda G é atribuída a um dos dois modos E_{2g} correspondente aos estiramentos vibracionais no plano basal (domínio sp²) do cristal simples de grafeno. A alta intensidade da banda G' revela que esses materiais apresentam alta cristalinidade. No espalhamento Raman de primeira

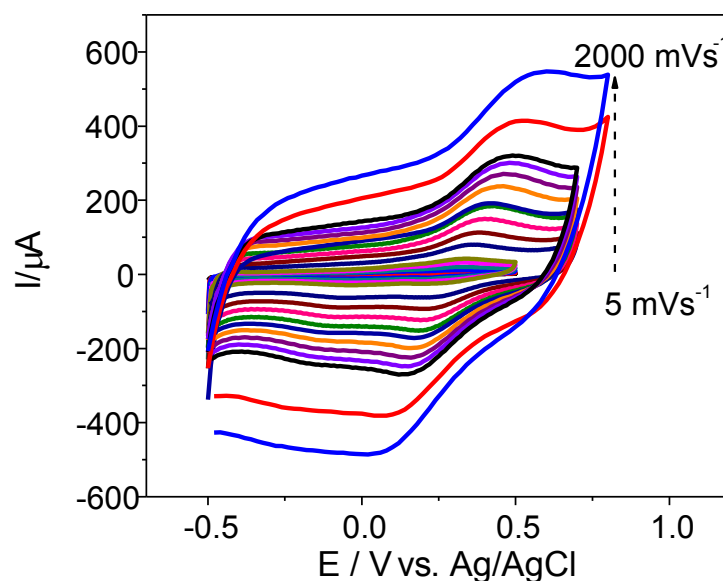
ordem do MWCNTO-GO para anular a deconvolução foi necessário adicionar dois picos de Gaussian centrados em 1250 e 1480 cm^{-1} . Provavelmente o ombro tem sua origem em dupla ressonância, porque seu deslocamento Raman ($\sim 1200 \text{ cm}^{-1}$) é um ponto nas curvas de dispersão de fônons para o grafeno. A origem da banda 1480 cm^{-1} é provavelmente correlacionada com o grupo polar originado na superfície do MWCNTO-GO (ZANIN et al., 2014).

5.2. Construção e caracterização eletroquímica do Sensor *FePc/MWCNTO-GO/GC*

Após a construção do sensor (*FePc/MWCNTO-GO*), realizou-se 20 ciclos no intervalo de potencial de -500 mV a 500 mV em tampão fosfato (pH=7,0) 0,1 mol L^{-1} a uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} . O eletrodo modificado com *FePc/MWCNTO-GO* forneceu uma resposta eletroquímica estável. Devido à estabilidade e reversibilidade eletroquímica dos pares redox associados ao *FePc/MWCNTO-GO*, tornando-se atrativo para o seu uso como um mediador do transporte de elétrons entre o eletrodo e a isoniazida.

A Figura 9 mostra os voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo modificado com *FePc/MWCNTO-GO* em solução tampão de fosfato (pH 7,0) a várias velocidades de varredura (10 - 2000 mV s^{-1}).

Figura 9 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado *FePc/MWCNTO-GO/GC* em solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,0) a velocidades de varredura de 0,005 a 2,0 Vs^{-1} ;

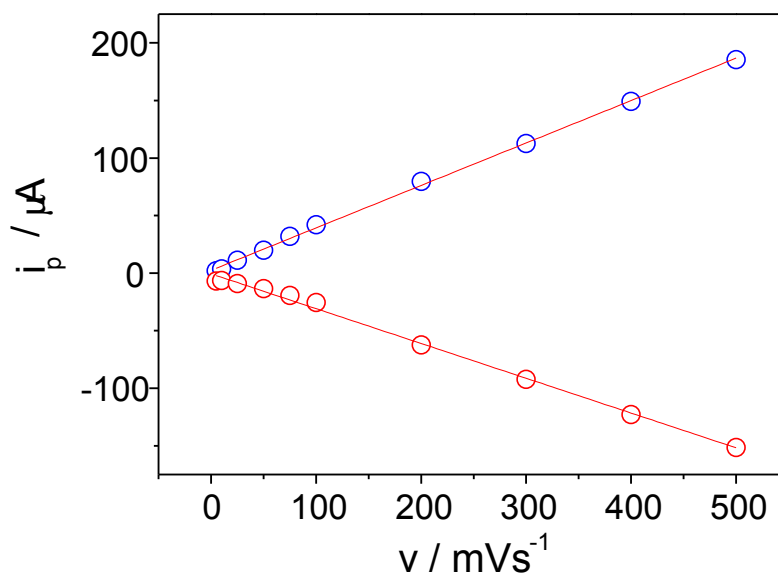


Fonte: Autor

Como pode ser visto, na varredura de potencial no sentido positivo, os voltamogramas cíclicos exibem um pico anódico que está relacionado com a oxidação de Fe (II) (OWLIA & , JAMES, 1987). Enquanto que a varredura de potencial no sentido catódico apresenta um pico relacionado com a redução de Fe (III) (OWLIA & , JAMES, 1987). Adicionalmente, o pico anódico apresenta um deslocamento para valores de potenciais mais positivos ($\Delta E = 322 \text{ mV}$), enquanto o pico catódico desloca para valores de potenciais mais negativos ($\Delta E = 0,268 \text{ mV}$), o que indica uma limitação na cinética de transferência de carga, a qual pode estar associada às interações químicas entre os íons do eletrólito e o modificador (SI et al., 2015).

Conforme pode ser observado na Figura 10, as correntes de pico anódica e catódica do par Fe (II) / Fe (III) foram diretamente proporcionais à velocidade de varredura do potencial elétrico. A observação de um par redox estável e bem definido indica que o FePc/MWCNTO-GO exibe respostas eletroquímicas características de espécies redox confinadas na superfície do eletrodo. Além disso, o potencial formal [$E^0 = (E_{p,a} + E_{p,c}) / 2$, onde $E_{p,a}$ e $E_{p,c}$ são os potenciais de pico anódico e catódico, respectivamente] apresentou-se independente da velocidade de varredura para velocidades abaixo de 500 mV s^{-1} , sugerindo uma elevada cinética de transferência de carga (BROWNSON & BANKS, 2014).

Figura 10 - Gráfico I_p vs. v obtido a partir dos voltamogramas da Figura 9 .



Fonte: Autor

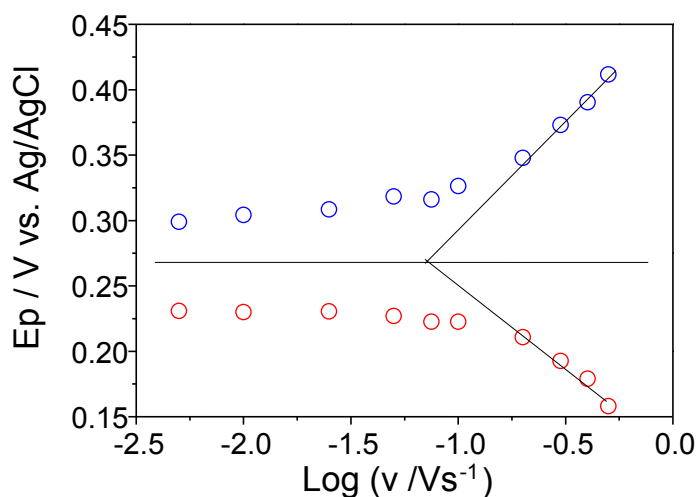
A cobertura de superfície associada à espécie eletroativa confinada na superfície do modificador FePc/MWCNT-GO foi calculada a partir da seguinte equação (GOSWAMI et al., 2014).

$$I_p = n^2 F^2 \nu A \Gamma / 4RT \quad (4)$$

onde ν é a velocidade de varredura, A é a área de superfície, I_p é a corrente de pico, Γ é a concentração na superfície das espécies eletroativas, e os outros símbolos têm os seus significados usuais. Tomando-se a média de ambos os resultados anódicos e catódicos, o valor de Γ foi estimado em $5,03 \times 10^{-9} \text{ mol cm}^{-2}$. A área de superfície calculada foi de $0,138 \text{ cm}^2$, obtida a partir de experimentos com ferricianeto de potássio e empregando-se a equação de Randles-Sevcik (BARD & FAULKENER, 2000).

O coeficiente de transferência de carga (α), e a constante aparente de velocidade heterogênea de transferência de carga (k_s), entre o eletrodo e o par redox confinado na sua superfície foi avaliada por voltametria cíclica a partir da variação dos potenciais de picos anódicos e catódicos com o logaritmo das velocidades de varredura mediante o emprego do método descrito por Laviron (1979) (Figura 11).

Figura 11 - Gráfico E_p vs. $\log \nu$ obtido a partir dos voltamogramas da Figura 9



Fonte: Autor

A Figura 11 mostra as magnitudes dos potenciais de pico ($E_{p,a}$ and $E_{p,c}$) como uma função do logaritmo da velocidade de varredura ($\log \nu$). Como pode ser visto, os

valores de E_p foram linearmente proporcionais ao logaritmo da velocidade de varredura para altas velocidades. Os coeficientes angulares das curvas de E versus $\log(v / V s^{-1})$ para os picos catódicos e anódicos foram -127mV e 156mV, respectivamente. A partir da teoria de Laviron (1979), o coeficiente angular do segmento linear para o pico catódico e para o pico anódico são iguais a $-2.303RT/\alpha nF$ e $2.303RT/(1-\alpha)nF$, respectivamente.

Os valores calculados para α e $(1-\alpha)$ foram 0,46 e 0,38, respectivamente. Assim sendo, um valor médio de 0,42 para α foi usado nos estudos subsequentes. A constante de transferência eletrônica aparente também pode ser determinada de acordo com a seguinte equação (LAVIRON, 1979):

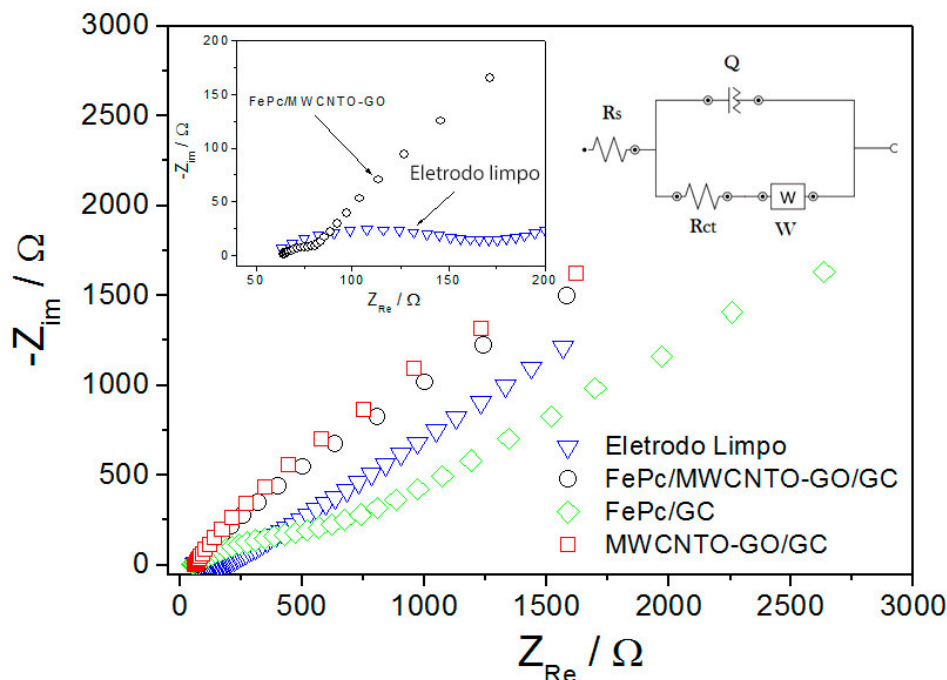
$$\log(k_s) = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log(\alpha) - \log(RT/nFv) - \alpha \log(1 - \alpha) nF\Delta E_p / 2,3RT \quad (5)$$

A partir da equação (5), o valor médio encontrado para k_s foi de $0,76 s^{-1}$, o qual foi semelhante aos descritos na literatura para outros modificadores com grande eficiência eletroquímica (NASIRIZADEH, 2013). O desempenho do sensor FePc/MWCNTO-GO/GC foi avaliado em relação a cada um dos componentes isolados (MWCNTO-GO/GC e FePc/GC) bem como em relação ao eletrodo de carbono vítreo limpo por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) sob condições de circuito fechado em solução de KCl $0,1 mol L^{-1}$ contendo $[Fe(CN)_6]^{3-}$ $1,0 mmol L^{-1}$ (Figura 12).

O circuito equivalente de Randles inserido na Figura 12 foi usado para modelar os dados de impedância eletroquímica, onde R_s é a resistência de solução, Q é o elemento de fase constante, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, e W é a impedância de Warburg. O gráfico de Nyquist mostra uma resposta linear na faixa de baixas frequências indicando a presença de efeitos de transferência de massa na interface eletrodo-solução. Por outro lado, o gráfico de Nyquist mostra um semicírculo no domínio de alta frequência atribuído à resistência de transferência de carga na interface eletrodo-solução.

A resistência de transferência de carga (R_{ct}) do eletrodo de carbono vítreo foi de 174Ω , enquanto que, após a modificação do eletrodo de carbono vítreo com FePc / MWCNTO-GO, R_{ct} foi reduzida para $26,53 \Omega$. Os valores R_{ct} para eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNTO-GO e FePc foram $3,33\Omega$ e 921Ω , respectivamente.

Figura 12 - Diagrama de Nyquist para o eletrodo modificado FePc/MWCNTO-GO/GC (linha preta) eletrodo de carbono vítreo (linha azul) em solução de KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo 5 mmol L⁻¹ de [Fe(CN)₆]³⁻. Figura inserida: Circuito equivalente de Randles.



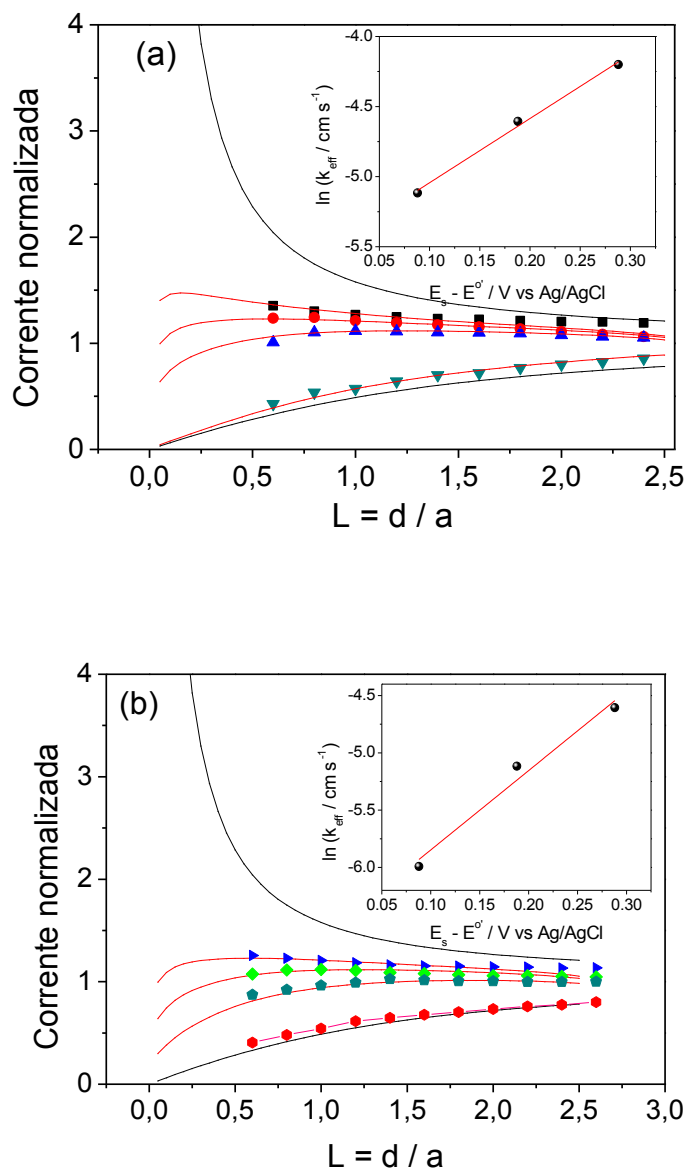
Fonte: Autor

A transferência de carga, obviamente, diminui quando MWCNTO-GO foi colocado sobre a superfície do eletrodo indicando que o MWCNTO-GO promove transferência de carga de forma eficiente, o que pode ser atribuído à sua elevada condutividade. Estes resultados confirmam que a modificação do eletrodo de carbono vítreo com FePc/MWCNTO-GO contribuem para uma melhor transferência de elétrons como consequência da alta condutividade de MWCNTO-GO e a atividade catalítica sinérgica entre FePc / MWCNTO-GO, porque o FePc pode atuar como mediador de transferência de carga.

A Microscopia eletroquímica de varredura (SECM, *Scanning electrochemical microscopy*) apresenta várias características interessantes para medir a cinética de transferência de elétrons, incluindo uma pequena corrente consumida pelo microeletrodo, baixa queda de iR em solução de pequena força iônica, e capacidade de produzir imagens a partir de reações eletroquímicas de superfícies. Portanto, SECM foi usado para extrair valores da constante de transferência heterogênea (k^0) para os processos eletroquímicos da sonda redox [Fe(CN)₆]³⁻ no eletrodo modificado e

limpocom o compósito FePc/MWCNT-GO (FePc/MWCNTGO-GO/GC) (Figura 13 (a) e 13(b) respectivamente).

Figura 13 - Curva de aproximação SECM obtida para (a) eletrodo modificado com o compósito FePc/MWCNTGO-GO e (b) eletrodo limpo em solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0), contendo [Fe(CN)₆]³⁻ 1 mmol L⁻¹. A Tip foi polarizada em -0,2 V o substrato foi polarizado em (1) 0,2, (2) 0,3, e (3) 0,4V vs. Ag/AgCl. A Figura inserida mostra o gráfico da constante de velocidade aparente vs. sobrepotencial do substrato. Linha mostra os dados ajustados à teoria de Butler-Volmer na Figura 14.



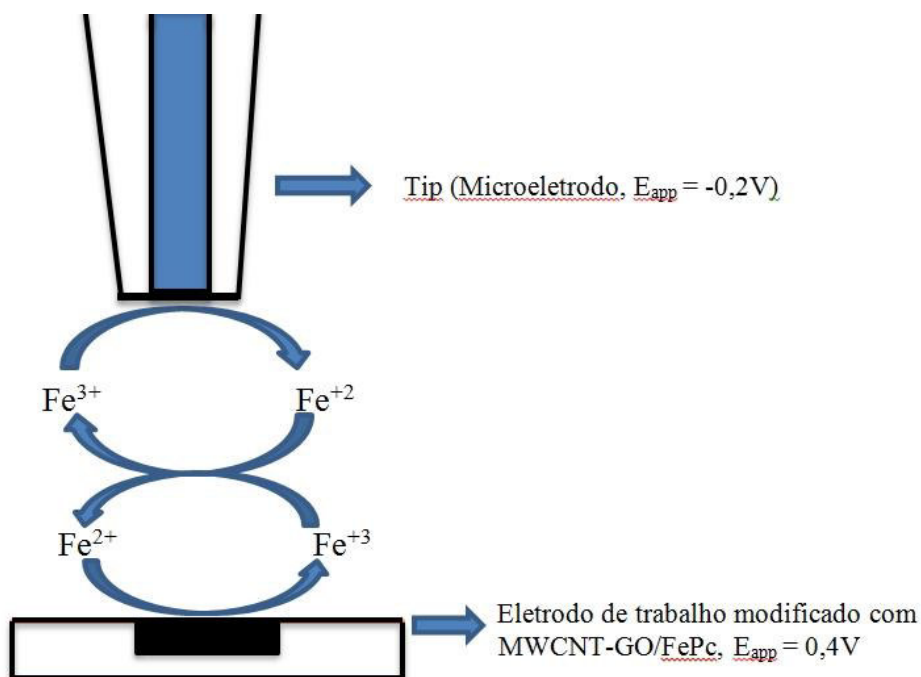
Fonte: Autor

O potencial aplicado ao microeletrodo foi definido como um valor no qual a redução eletroquímica da sonda ocorre sob controle difusional ($E_{\text{tip}} = -200$ mV vs.

Ag/AgCl), e o potencial aplicado ao substrato modificado com FePc/MWCNTO-GO/GC foi fixado progressivamente a maiores valores mais positivos. Este procedimento foi realizado para uma gama de curvas de aproximação e diferentes valores de constante de transferência eletrônica heterogênea efetiva (k_{eff}) foram obtidas em função do potencial aplicado ao substrato.

Como o microeletrodo é movido em direção ao eletrodo de carbono vítreo modificado com MWCNTO-GO FePc polarizado em +0,4 V, o $[Fe(CN)_6]^{4-}$, o produto de redução no microeletrodo, é regenerado por uma transferência eletrônica bimolecular com o mediador de superfície levando ao modo de feedback positivo no microeletrodo. Uma representação esquemática deste processo é mostrada na Figura 14 abaixo.

Figura 14 - Modo Feedback positivo na Microscopia Eletroquímica de Varredura. Eletrodo de trabalho modificado com MWCNT-GO/FePc.



Fonte: Autor

A taxa de regeneração do ferricianeto de potássio no sensor FePc/MWCNTO-GO/GC pode ser atribuída às propriedades de transferência eletrônica do mediador imobilizado, resultando em uma maior corrente na tip em comparação com o eletrodo limpo também polarizado em 0,4 V. A constante de transferência eletrônica heterogênea

efetiva (k_{eff}) para o substrato polarizado em vários potenciais foi obtida usando as seguintes equações (JUSTINO et al., 2013)

$$I_T^k = \left(\frac{0,78377}{L \left(1 + \frac{1}{A} \right)} + \frac{[0,68 + 0,3315 \exp \left(-\frac{1,0672}{L} \right)]}{[1 + F(L, A)]} \right) \left(1 - \frac{I_T^{\text{ins}}}{I_T^{\text{C}}} \right) + I_T^{\text{ins}} \quad (6)$$

onde I_T^{ins} e I_T^{C} representam a corrente da tip para substrato isolante e condutor respectivamente. As expressões destas correntes como uma função da distância entre a tip e o substrato são normalizadas (JUSTINO et al., 2013)

$$I_T^{\text{C}} = \frac{0,78377}{L} + 0,3315 \exp \left(-\frac{1,0672}{L} \right) + 0,68 \quad (7)$$

$$I_T^{\text{ins}} = \frac{1}{0,15 + \frac{1,5358}{L} + 0,58 \exp \left(-\frac{1,14}{L} \right) + 0,0908 \exp \left[\frac{L - 6,3}{1,017L} \right]} \quad (8)$$

onde $A = k_{\text{eff}} d/D$, onde k_{eff} é a constante heterogênea limite aparente, D é o coeficiente de difusão e $F(L, A) = [(11+7,3A)/A]/[(110-40L)]$.

As constantes de velocidade efetiva foram ajustadas à equação de Butler-Volmer para obter a constante de velocidade heterogênea (JUSTINO et al., 2013)

$$k_{\text{eff}} = k^0 \exp[-\alpha f(E_s - E^0)] \quad (9)$$

onde $f = F/RT$, F é a constante de Faraday, R é a constant dos gases e T é a temperatura. Como pode ser visto na Figura 13, o eletrodo modificado com FePc/MWCNTO-GO mostra um desvio do feedback negativo em potenciais mais baixos em comparação com eletrodo limpo.

Além disso, as curvas de aproximação para o eletrodo modificado com FePc/MWCNTO-GO, polarizado em 0,4 V, foi semelhante à de um substrato condutor. Os valores de k_{eff} para o eletrodo modificado com FePc/MWCNTO-GO foram maiores

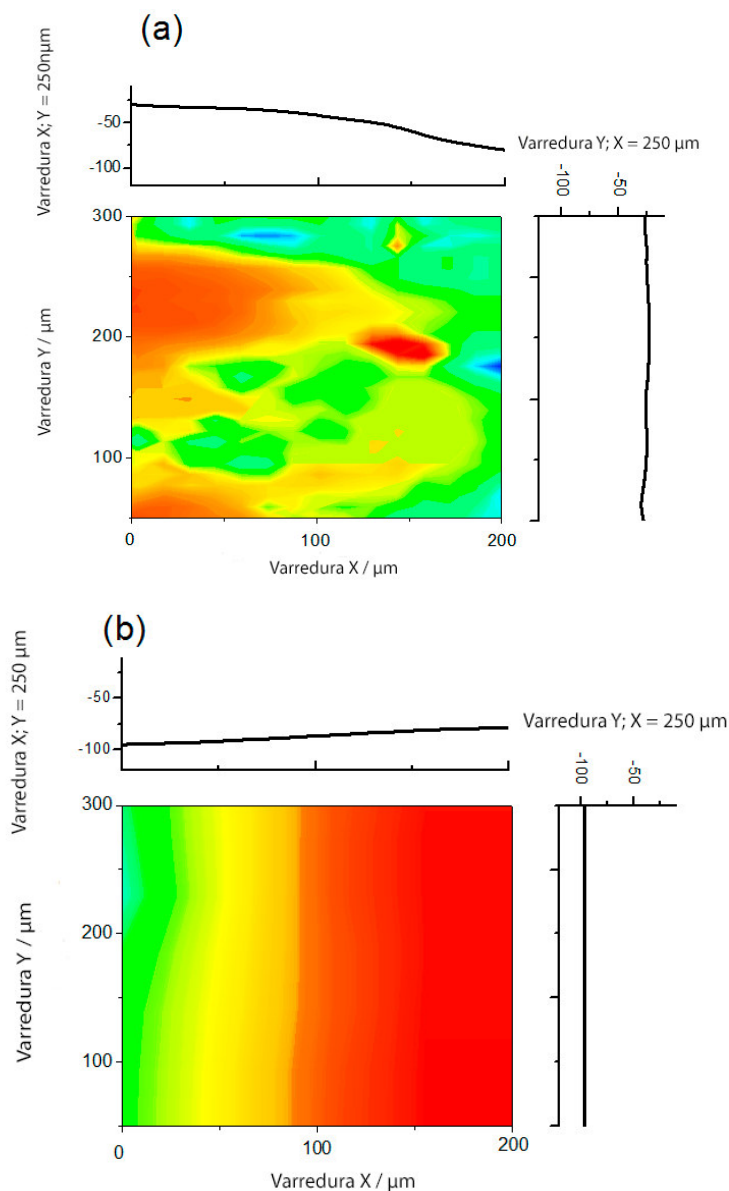
que os obtidos para eletrodo limpo, o que é consistente com os experimentos de voltametria cíclica e impedância eletroquímica. A constante de velocidade aparente obtida foi ajustada à equação 9 e valores de k^o de $4,05 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ e $1,44 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ foram obtidos para os eletrodos modificados com MWCNTO-GO/FePc e limpo, respectivamente.

As imagens de SECM para o substrato limpo apresentadas na Figura 15(a) e do filme compósito MWCNTO-GO/FePc na Figura 15(b), mostram os resultados de uma varredura no intervalo de $200 \mu\text{m}$ vs. $300 \mu\text{m}$ de uma região das superfícies. A tip foi polarizada em $-0,2 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl e o potencial de substrato aplicado em $+0,5 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl.

Como pode ser visto, a resposta planar na Figura 15 (b) indica que a superfície da FePc/MWCNTO-GO apresenta uma atividade eletroquímica uniforme. Por outro lado, o eletrodo limpo (Figura 15 (a)) mostra regiões brilhantes com baixas correntes da tip, como resultado de um desempenho heterogêneo do substrato limpo para regenerar a sonda redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$.

Além disso, a corrente da tip foi registrada como uma função da posição da tip ao longo do eixo x e eixo y para o eletrodo modificado de FePc / MWCNTO-GO e o eletrodo limpo. Como pode ser visto, o eletrodo modificado mostra correntes de tip elevadas e uniformes em comparação com o eletrodo limpo. Devido a maior constante de velocidade heterogênea do eletrodo modificado com FePc/MWCNTO-GO, a taxa de regeneração do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ nos sítios eletroativos é mais rápida que no eletrodo limpo em razão das propriedades facilitadas de eletrocomunicação do mediador imobilizado, resultando em maiores correntes de tip.

Figura 15 - Imagens de SECM (varrimento x-y) da superfície do (a) substrato limpo (b) filme de FePc/MWCNT-GO usando um microeletrodo de Pt com 10 μm de diâmetro em solução de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 5 mmol L^{-1} como mediador redox. A SECM de X (linha vermelha) e Y (linha azul) para a corrente de tip como uma função da posição relativa da tip sobre o substrato limpo e o substrato com o composto FePc/MWCNT-GO.



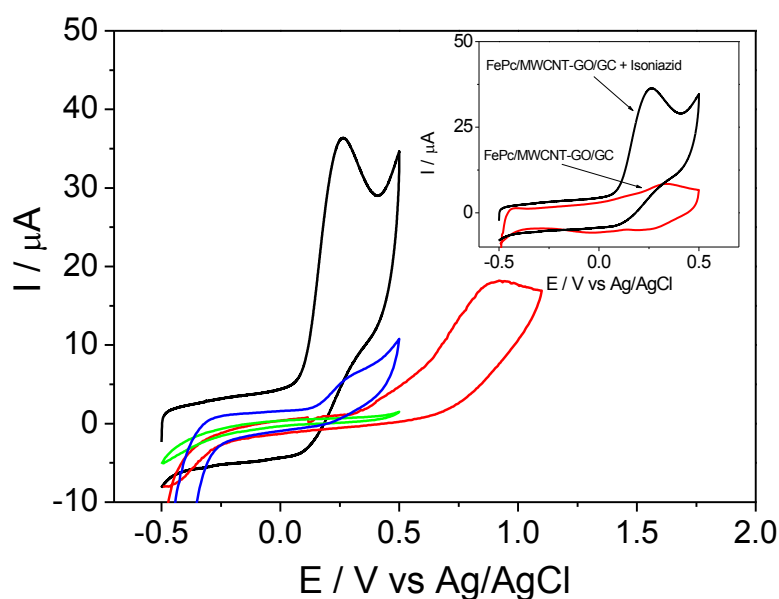
Fonte: Autor

5.3. Oxidação eletroquímica da Inz sobre o sensor FePc/MWCNT-GO/GC

A fim de testar a atividade eletroquímica do eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT-GO frente à oxidação de isoniazida, foram realizados voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado na presença de 1,0 mmol L^{-1} de isoniazida (Figura 16, linha preta) em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} pH (7,0) a uma

velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} . Experimentos controle para oxidação da Inz também foram realizados com o carbono vítreo modificado com MWCNT-GO (Figura 16, linha azul) carbono vítreo modificado com ftalocianina de ferro (Figura 16, linha verde) e Eletrodo de carbono vítreo limpo GC (linha vermelha) em solução de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com pH 7,0 a uma velocidade de 25 mV s^{-1} .

Figura 16 - Voltamogramas cíclicos para o FePc/MWCNT-GO/GC (linha preta), MWCNT-GO/GC (linha azul), FePc/GC (linha verde) e Eletrodo de carbono vítreo limpo GC (linha vermelha) em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo isoniazida $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$.



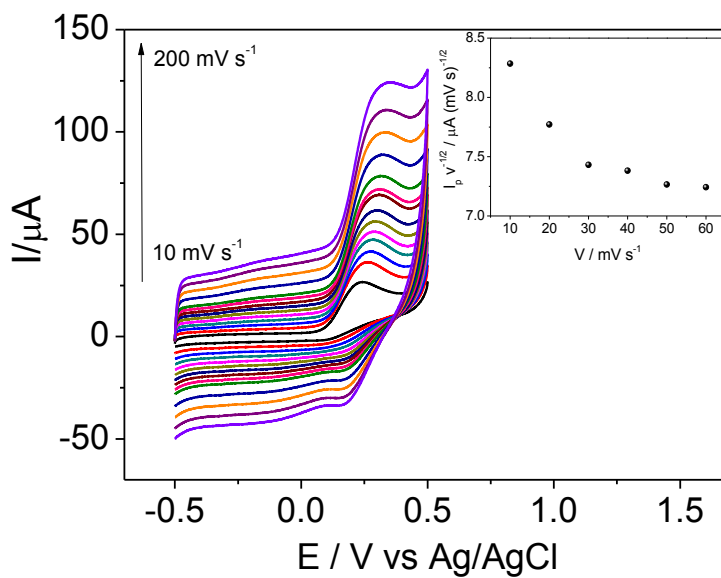
Fonte: Autor

Com o intuito de verificar a potencial atividade eletrocatalítica do FePc/MWCNT-GO/GC, o comportamento voltamétrico do eletrodo modificado foi comparado na ausência e na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de isoniazida. Na ausência de isoniazida (Figura inserida da Figura 16, linha vermelha) pode se observar um par redox associado aos processos eletroquímicos do modificador. Após a adição de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de isoniazida, há um aumento significativo na corrente de pico anódica e nenhum pico é observado na varredura catódica, o que é consistente com comportamento de sistemas eletroquímico-químico catalítico (EC') (BARD & FAULKNER, 2000).

Para investigação do mecanismo eletrocatalítico do eletrodo modificado frente à oxidação da isoniazida foram realizados voltamogramas cíclicos para o eletrodo

modificado na presença de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de isoniazida em várias velocidades de varredura (Figura 17).

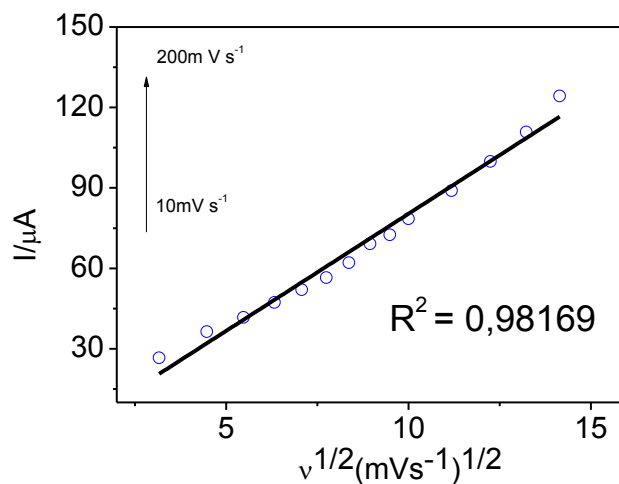
Figura 17 - Voltamogramas cíclicos para o eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT-GO em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,0) contendo isoniazida 1 mmol L^{-1} em diversas velocidades de varredura. Figura inserida : Gráfico de corrente de pico ($i_p / v^{1/2}$) vs. v



Fonte: Autor

A corrente de pico referente à oxidação da isoniazida foi proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura (Figura 18) sugerindo que o processo é controlado por difusão do analito.

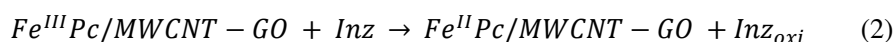
Figura 18 - Gráfico i vs. $v^{1/2}$ obtido a partir dos dados da Figura 17



Fonte: Autor

Além disso, o gráfico da função de corrente ($I_p/v^{1/2}$) vs. velocidade de varredura resultou em um comportamento típico ao esperado para um sistema EC' catalítico. (Figura inserida da Figura 17).

Baseado nesses aspectos, a sequencia de reações envolvendo o processo catalítico EC' da isoniazida pelo eletrodo modificado é proposta de acordo com o esquema a seguir:



onde Inz representa a molécula de isoniazida e Inz_{oxi} representa a molécula de isoniazida oxidada.

O modelo teórico proposto por Andrieux e Saveant (1979) pode ser usado para o cálculo da constante de velocidade catalítica para um mecanismo EC_{cat} . O modelo é fundamentado em uma curva de trabalho que mostra a relação entre os valores numéricos provenientes da razão $[I_{cat}/nFAD_o^{1/2}v^{1/2}C_o(nF/RT)^{1/2}]$ e os valores numéricos advindos da razão $\log[k_{obs} \Gamma / D_o^{1/2}v^{1/2}C_o(nF/RT)^{1/2}]$. Onde, D_o e C_o são, respectivamente, o coeficiente de difusão ($cm^2 s^{-1}$) e a concentração de isoniazida ($mol cm^{-3}$) no seio da solução, e os outros parâmetros têm os seus significados habituais.

O valor de $[I_{cat}/nFAD_o^{1/2}v^{1/2}C_o(nF/RT)^{1/2}]$ foi calculado a partir de voltamogramas cíclicos obtidos com o eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNTO-GO na presença de isoniazida. Então, o valor de $\log[k_{obs} \Gamma / D_o^{1/2}v^{1/2}C_o(nF/RT)^{1/2}]$ foi determinado graficamente a partir da Figura 1(b) do artigo de Andrieux and Saveant (1979), onde k_{obs} e Γ são respectivamente a constante de velocidade e a quantidade do catalizador ativo na superfície do eletrodo.

Usando uma concentração de isoniazida de $1 mmol L^{-1}$ em pH 7,0, um valor de $5,42 \times 10^{-5} cm^2 s^{-1}$ para o coeficiente de difusão (BRETT, 1994), uma constante de velocidade de $1,3 \times 10^6 mol^{-1} L s^{-1}$ foi calculada para o eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNTO-GO a partir da cobertura de superfície de $5,03 \times 10^{-9} mol cm^{-2}$ e uma área efetiva de $0,138 cm^2$.

5.4. Estudo Cronoamperométrico da oxidação da isoniazida no Eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT-GO.

Experimentos cronoamperométricos com o eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT-GO foram realizados em várias concentrações de isoniazida mediante a aplicação de potencial de +0,4V vs. Ag/AgCl ao sensor para determinação da constante de velocidade catalítica k_{cat} , (SABZI, 2005):

$$I_{cat}/I_L = \gamma^{1/2}[\pi^{1/2}erf(\gamma^{1/2}) + exp(-\gamma)/\gamma^{1/2}] \quad (10)$$

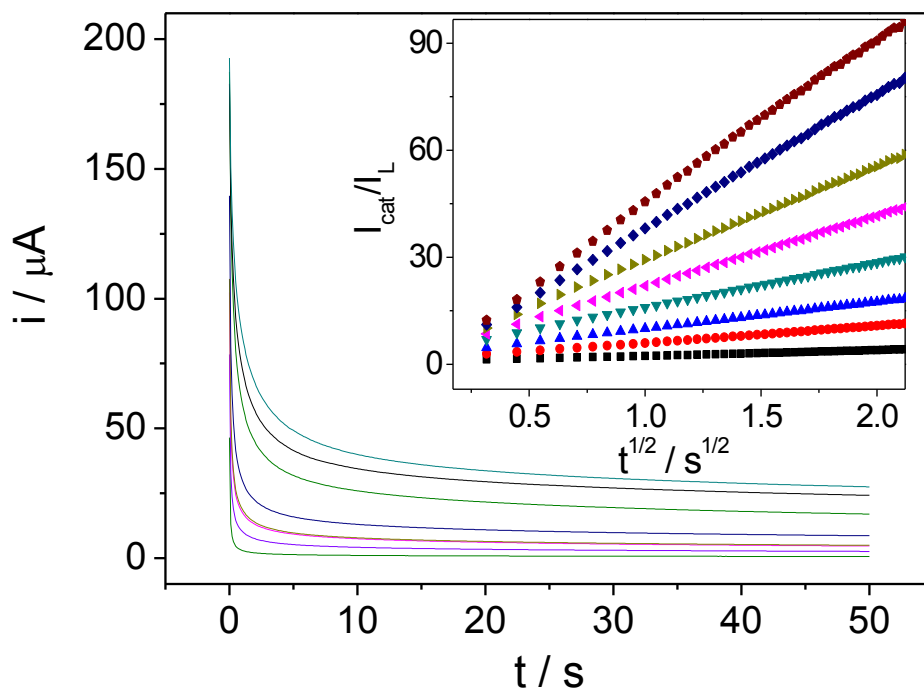
onde I_{cat} é a corrente catalítica da isoniazida no eletrodo modificado com FePc/MWCNT-GO na ausência de isoniazida e $\gamma = kC_0t$ é o argumento da função indicada pela Eq (10), e C_0 é a concentração de isoniazida no seio da solução. Nos casos onde γ excede o valor de 2, a função erro ($erf(\gamma^{1/2})$) converge para a unidade e assim a equação acima pode ser reduzida para:

$$I_{cat}/I_L = \pi^{1/2}(kC_0t)^{1/2} \quad (11)$$

A equação acima pode ser utilizada para calcular a constante de velocidade catalítica a partir do coeficiente angular de gráficos de I_{cat}/I_L vs. $t^{1/2}$ para uma dada concentração de isoniazida (Figura 19).

A partir dos valores do coeficiente angular, o valor médio de k encontrado foi $1,36 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$. O valor médio estimado de k a partir do gráfico I_{cat}/I_L vs. $t^{1/2}$ representa uma alta constante de velocidade catalítica comparada a outros tipos de eletrodos para detecção de isoniazida (KARIMI, 2010). Este valor confirma que o eletrodo modificado com FePc/MWCNT-GO apresenta excelentes propriedades electrocatalíticas para a oxidação da isoniazida. O pH de 7,4 foi escolhido para a condução dos testes cronoamperométricos e amperométricos pois é o pH fisiológico humano.

Figura 19 - Cronoamperogramas obtidos com eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT-GO em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,4) sob potencial aplicado de $0,4 \text{ V}$ referentes à oxidação de de isoniazida de $0,0 - 500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura inserida refere-se ao gráfico de I_{cat}/I_L vs. $t^{1/2}$.

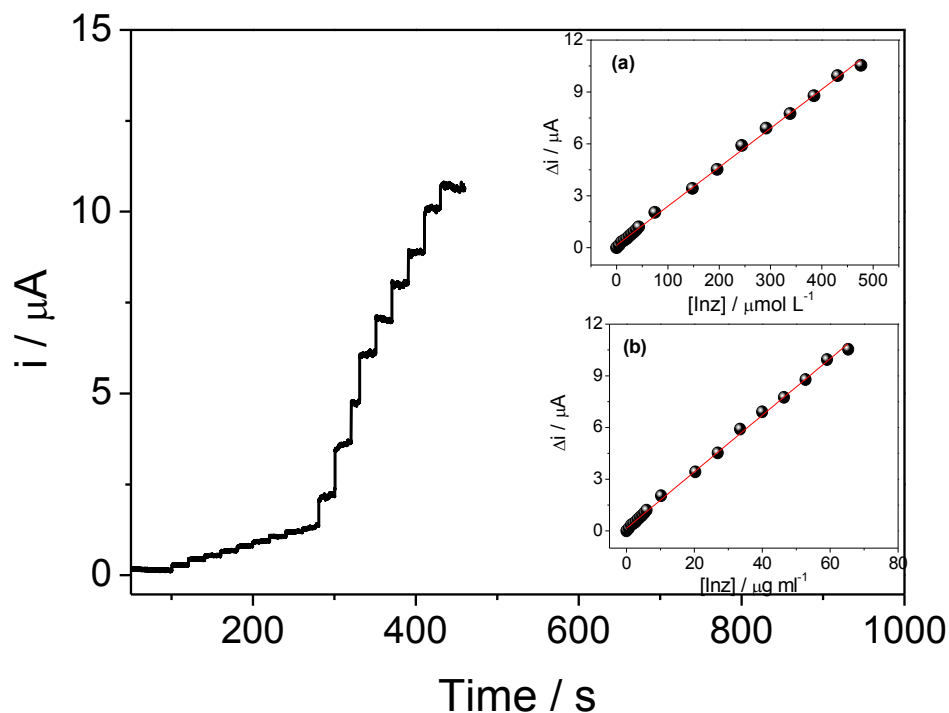


Fonte: Autor

5.5. Caracterização analítica do sensor eletroquímico FePc/MWCNT-GO/GC

O desempenho do eletrodo modificado com FePc/MWCNT-GO foi avaliado empregando-se a amperometria (Figura 20). A Figura 20 mostra a curva analítica para o sensor FePc/MWCNT-GO/GC obtida sob um potencial de trabalho de $0,4 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl para sucessivas adições de isoniazida em solução de tampão fosfato pH 7,4. Um primeiro aspecto de grande importância avaliado no que tange as respostas amperométricas do sensor foi o tempo de resposta do mesmo à isoniazida. Conforme pode ser observado no amperograma apresentado na Figura 20, a adição de isoniazida à solução de trabalho resultou no aumento abrupto e imediato da corrente elétrica resultando em um tempo de resposta inferior a 1s.

Figura 20 - Resposta amperométrica para isoniazida obtida sob condições otimizadas para concentração entre 5 e 476 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Figura inserida: Curva analítica. $E_{\text{app}} = 0,4 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl. Medições efetuadas em solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 7,4)



Fonte: Autor

A rápida resposta pode ser atribuída ao fato de que a isoniazida que se difundiu até a superfície do sensor sofre oxidação sob o efeito catalítico do eletrodo modificado com FePc/MWCNT-GO. Uma ampla faixa de resposta de 5 a 476 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi observada, a qual pode ser expressa de acordo com a equação abaixo:

$$\Delta I / \mu\text{A} = 0,145 (\pm 0,044) + 0,0225 (\pm 0,0002) [\text{Inz}] / \mu\text{mol L}^{-1} \quad (12)$$

com um coeficiente de correlação de 0,998.

O limite de detecção e de quantificação foram estimados de acordo com as recomendações da IUPAC (ANALYTICAL METHODS COMMITTEE, 1987; MOCÁK et al., 1997). O limite de detecção foi de 0,56 $\mu\text{mol L}^{-1}$ usando a relação $3 SD_b/\text{inclinação}$. Enquanto que o limite de quantificação foi de 1,88 $\mu\text{mol L}^{-1}$, calculado

através da relação $10 SD_b$ /inclinação. SD_b é o desvio padrão calculado a partir de 10 valores de corrente do branco.

A sensibilidade é comparável às obtidas em muitos trabalhos relatados na literatura (Tabela 2). O limite de detecção, de quantificação e a sensibilidade podem ser atribuídos à eficiência da transferência eletrônica entre o eletrodo de FePc / MWCNTO-GO / GC e a isoniazida, favorecida pelo efeito sinérgico do FePc e MWCNTO-GO.

Tabela 2 - Comparação do sensor baseado no eletrodo modificado FePc e o MWCNT/GO. Com outros materiais.

Sensor	E (V) vs. Ag/AgCl	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref
PdNPs/ CILE	0,34V vs. Ag/AgCl(0,1 mol L^{-1} Tampão Fosfato pH 7)	5-100; 150-2600	0,0646; 0,0308	0,47	ABSALAN, 2016
GC/Na⁺-bt/Fe(dmbpy)₃²⁺	0,8 V vs. SCE (0,1 mol L^{-1} Na ₂ SO ₄)	10 - 10000	0,009	0,8	AZAD et al., 2015
Carbono vítreo modificado com Rh	0,78 V vs. Ag/AgCl (0,1 mol L^{-1} Tampão Fosfato, pH 7)	70 - 1300	0,011	13,0	CHEEMALAPATI et al., 2014
RGO–Au	0,2 V vs. SCE (0,1 mol L^{-1} Tampão Fosfato, pH 7)	0,1 - 1000	0,045	0,01	GUO et al., 2015
Nanopartículas de Au	0,01 V vs. Ag/AgCl (0,1 mol L^{-1} Tampão Fosfato, pH 9)	100 - 1000	4,03	0,0001	JENA & RAJ, 2010
GC	0,52V; 0,46V vs. Ag/AgCl (0,0001 mol L^{-1} Alizarina e 0,08 mol L^{-1} , Tampão Fosfato pH 6)	10-800; 0,05-0,85	0,0169; 17,07	3,94 ; 0,0163	KARIMI et al., 2010
OPPy	0,3 V vs. Ag/AgCl (NH ₃ /NH ₄ OH 0,1 mol L^{-1} 0,1 mol L^{-1} pH 9)	3,99 - 1990	0,084983	3,15	MAJID et al., 2006
Níquel/hidróxido de cobalto	0,15 V; 0,4 V; 0,35 V; 0,5 V vs. Ag/AgCl (1 mol L^{-1} KOH)	1 - 100	0,026; 0,195; 0,144; 0,091	0,137; 0,0519; 0,0494	MARTINS et al., 2014
SPCE/ NPAg-HCF	0,45V (0,10 mol L^{-1} KNO ₃ pH 3)	5 - 500	-	2,6	OLIVEIRA et al., 2012
GC	0,15 V vs. Ag/AgCl (0,1 mol L^{-1} NaOH)	0,025 - 1000	0,17	0,0041	QUINTINO & ANGNES, 2006

Sensor	E (V) vs. Ag/AgCl	Faixa Linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	Limite de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref
GC/Ag-P(MMA-co-AMPS)	0,5 V vs. SCE (0,1 mol L ⁻¹ Tampão Fosfato, pH 7)	0,05 - 150	0,197	0,05	RASTOGI et al., 2016
MWCNT-chit/GC	0,17 V vs. Ag/AgCl (0,1 mol L ⁻¹ BR, pH 6)	0,1 - 3	1,673	0,055	SATYANARAYANA et al., 2014
CNT-TCPE	0,9V vs. Ag/AgCl tampão Acetato 0,1 mol L ⁻¹ pH 4	1-100	0,0847	0,5	SHAHROKHIAN & ASADIAN, 2010
MIP-AuNP-MCNT/GCE	0,35V vs. SCE (0,1 mol L ⁻¹ Tampão fostato, pH 6,8)	0,001 – 0,0014	0,001788	0,002	WU et al., 2015
OMC	0,2 V vs. Ag/AgCl (0,1 mol L ⁻¹ Tampão Fosfato, pH 7)	0,1 - 370	0,031	0,084	YAN et al, 2011
PSA/ERCG/GCE	-0,096V vs. SCE (0,1 mol L ⁻¹ NH ₃ -NH ₄ Cl pH 9)	0,05 - 15	0,954	0,012	YAN et al., 2015
PASA-GC	-- vs. SCE (0,05 mol L ⁻¹ Tampão Fosfato pH 6,5)	0,05 - 10	1,052	0,01	YANG et al., 2008
ERGO	0,25 V vs. Ag/AgCl (0,1 mol L ⁻¹ Tampão Fosfato, pH 7)	0,09 - 100	0,563	0,015	ZHU et al., 2015
FePc/MWCNT-GO/GC	0,4 V vs. Ag/AgCl (Tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,4)	5 - 476	0,0225	0,56	Este Trabalho

GC/Na⁺-bt/Fe(dmbpy)₃²⁺ - Fe(dmbpy)₃²⁺ Betonita modificada; SCE – Eletrodo de calomelano saturado; GC – Eletrodo de carbono vítreo; OMC – carbono mesoporoso ordenado; PASA-GC – Eletrodo de carbono vítreo modificado com poli (ácido amidossulfônico); OPPy – Polipirrol super-oxidado; ERGO – Óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente. Ag-P(MMA-co-AMPS)-Compósito de Copolímero de Metacrilato de metil e Ácido 2-acrilamido-2-metilpropanossulfônico com Nanopartículas de Prata. MIP-AuNP-MCNT/GCE: Eletrodo de Carbono vítreo modificado com Nanotubo de carbono, nanopartícula de Ouro e polímero eletrodepositado. PdNPs/ CILE: Nanopartículas de paladium depositadas em Eletrodo de líquido iônico de Carbono. CNT-TCPE: Eletrodo de Pasta de Carbono modificado com tionina imobilizada em nanotubos de carbono. RGO-Au: Nanocompósito de Ouro e óxido de Grafeno reduzido. SPCE/ NPAg-HCF: Eletrodo de carbono impresso modificado com o compósito composto por nanopartículas de prata e hexaciano ferrato de prata. PSA/ERCG/GCE: Eletrodo de carbono vítreo modificado com Grafeno carboxilado eletroreduzido e poli (ácido sulfossilicólico).

Fonte: Autor

5.6. *Aplicação do sensor eletroquímico FePc/MWCNT-GO/GC em amostras de saliva e plasma sanguíneo.*

Para investigar a aplicabilidade do sensor proposto para monitorização de isoniazida em amostras de saliva e plasma sanguíneo artificiais, através de determinação amperométrica. O método de adição padrão foi usado para medir as concentrações de isoniazida nas amostras. Os resultados obtidos estão resumidos na tabela 3. Como ilustrado, a recuperação de isoniazida foi obtida entre 97,3% e 104,0% usando o eletrodo de carbono vítreo modificado com FePc/MWCNT-GO. Os resultados demonstraram a capacidade do sensor proposto para a determinação de isoniazida em diferentes amostras com boa exatidão.

Tabela 3 - Adição e recuperação de isoniazida nas amostras (n=3).

Amostras	Quantidade adicionada ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Quantidade encontrada ^a ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1- Saliva	5,0	4,9	98,0
2- Saliva	20,0	20,5	102,5
3- Saliva	50,0	51,0	102,0
4- Saliva	150,0	146,0	97,3
5- Plasma sanguíneo	5,0	5,2	104,0
6- Plasma sanguíneo	20,0	19,7	98,5
7- Plasma sanguíneo	50,0	52,0	104,0
8- Plasma sanguíneo	150,0	154,0	102,7

^a Média de três medidas repetidas. Amostras de saliva artificial: 1-4. Amostras de plasma sanguíneo artificial: 5-8.

Fonte: Autor

CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Neste trabalho descreveu-se o comportamento eletroquímico da isoniazida e foi desenvolvido com sucesso um sensor eletroquímico para sua detecção em saliva e plasma sanguíneo artificiais, baseado na plataforma de ftalocianina de ferro / MWCNTO-GO. A caracterização dos nanotubos de carbono através das técnicas de Microscopia Eletrônica de Transmissão e Espectroscopia Raman demonstrou que os nanotubos funcionalizados apresentam boa cristalinidade e extremidades com características de esfoliação, contudo sem perder sua característica tubular típica.

Os filmes modificadores apresentaram correntes redox estáveis e reproduzíveis após poucos varrimentos iniciais. A eficiência eletroquímica e cinética resultante da eletrocomunicação entre a modificação FePc/ MWCNTO-GO e o eletrodo de carbono vítreo foi evidenciada através das constantes k_s (método de Laviron) e k° (SECM), com valores de $0,76 \text{ s}^{-1}$ e $4,05 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ respectivamente. O menor valor de k° (SECM) de $1,44 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ do eletrodo limpo, assim como a produção de menores correntes de redução em comparação ao eletrodo modificado, indicaram a maior capacidade do filme para regenerar o mediador.

A oxidação da isoniazida sobre a superfície do eletrodo de carbono modificado com FePc/ MWCNTO-GO em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7,0 apresentou um único pico com características de um processo irreversível. As constantes de velocidade para eletrooxidação de isoniazida foram calculadas utilizando-se os métodos de Andrieux e Saveant e a Cronoamperometria. Os valores obtidos de k foram concordantes sendo de $1,3 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$ e $1,36 \times 10^6 \text{ mol}^{-1} \text{ L s}^{-1}$ respectivamente, indicando que o material compósito mostra alta atividade catalítica para a eletrooxidação de isoniazida.

Este sensor baseado no compósito é barato e mostra resposta linear sob condições experimentais otimizadas (Solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 7,4 utilizando a amperometria como técnica eletroanalítica e aplicando-se um potencial de 0,4 V para a oxidação da Inz) numa ampla faixa de calibração a partir de $5 \text{ } \mu\text{mol}$ - $476 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, com boa sensibilidade e com limites de detecção e de quantificação com valores de $0,56 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $1,88 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente. Os estudos de recuperação mostraram valores aceitáveis e uma variabilidade em plasma sanguíneo (98,5 a 104%) e saliva (97,3 a 102,5%), indicando que essas matrizes não interferem na metodologia proposta.

Portanto, é demonstrada a aplicabilidade do sensor FePc/ MWCNTO-GO/GC na determinação de isoniazida em amostras de saliva e plasma sanguíneo artificiais, com potencial aplicação para monitorização terapêutica em amostras reais, uma vez que as faixas terapêuticas tanto de plasma sanguíneo como de saliva de origem humana estão dentro da faixa linear de trabalho do sensor proposto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOLHASANI, J.; HASSANZADEH, J. Potassium permanganate–acridine yellow chemiluminescence system for the determination of fluvoxamine, isoniazid and ceftriaxone. **Luminescence**, v. 29, n. 8, p. 1053-1058, 2014.

ABSALAN, G.; AKHOND, M.; SOLEIMANI, M.; ERSHADIFAR, H. Efficient electrocatalytic oxidation and determination of isoniazid on carbon ionic liquid electrode modified with electrodeposited palladium nanoparticles. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 761, p. 1-7, 2016.

ANDRIEUX, C. P.; SAVEANT, J. M. Heterogeneous (chemically modified electrodes, polymer electrodes) vs. homogeneous catalysis of electrochemical reactions. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 93, n. 2, p. 163-168, 1978.

AGÜÍ, L.; FARFAL C. P.; SEDEÑO, P. Y.; PINGARRÓN.; J.M. Electrochemical determination of homocysteine at a gold nanoparticle-modified electrode. **Talanta**, v. 74, n. 3, p. 412-420, 2007.

AHAMMAD, A. J.; LEE, J. J.; RAHMAN, M. A. Electrochemical sensors based on carbon nanotubes. **Sensors**, v. 9, n. 4, p. 2289-2319, 2009.

ARGYROU, A.; VETTING, M. W.; ALADEGBAMI, B.; BLANCHARD, J. S. Mycobacterium tuberculosis dihydrofolate reductase is a target for isoniazid. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 13, n. 5, p. 408-413, 2006.

AXET, M. R.; CABARET, O. D.; DURAND, J.; GOUYGOU M.; SERP P. Coordination chemistry on carbon surfaces. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 308, p. 236-345, 2016.

APETREI, I.; MENDES, M. L. R.; APETRE, C.; SAJA, J. A. de. Enzyme sensor based on carbon nanotubes/cobalt(II) phthalocyanine and tyrosinase used in pharmaceutical analysis. **Sensors and Actuators B**, v. 177, p. 138-144, 2013

ARBEX, M. A.; VARELLA, M. de C. L.; SIQUEIRA, H. R. de.; MELLO, F. A. F. de. Antituberculosis drugs: Drug interactions, adverse effects, and use in special situations. Part 1: First-line drugs. **J Bras Pneumol**, v. 36, n. 5, p. 626-640, 2010.

ASSIS, J. V. de.; TEIXEIRA, M. G.; SOARES, C. G.P.; LOPES, J. F.; CARVALHO, G. S. L.; LOURENÇO, M. C. S. et al. Experimental and theoretical NMR determination of isoniazid and sodium p-sulfonatocalix[n]arenes inclusion complexes. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p. 539-548, 2012.

ATURKI, Z.; ROCCO, A.; ROCCHI, S.; FANALI, S. Current applications of miniaturized chromatographic and electrophoretic techniques in drug analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 101, p. 194-220, 2014

AZAD, U. P.; PRAJAPATI, N.; GANESAN, V. Selective determination of isoniazid using bentonite clay modified electrodes. **Bioelectrochemistry**, v. 101, p. 120-125, 2015.

BAKER, R.; WILKINSON, D. P.; ZHANG, J. Electrocatalytic activity and stability of substituted iron phthalocyanines towards oxygen reduction evaluated at different temperatures. **Electrochimica Acta**, v. 53, n. 23, p. 6906-6919, 2008.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R., **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, John Wiley & Sons, 2000.

BATTIGELLI, A.; MOYON, C. M.; ROS, T. Da.; PRATO, M.; BIANCO, A. Endowing carbon nanotubes with biological and biomedical properties by chemical modifications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 15, p. 1899-1920, 2013.

BAUGHMAN, R. H.; ZAKHIDOV, A. A.; DE HEER, W. A. Carbon nanotubes-the route toward applications. **science**, v. 297, n. 5582, p. 787-792, 2002.

BELL, R. A. **Conduction in carbon nanotube networks: Large-Scale Theoretical Simulations**. Springer. 2015.

BERGAMINI, M. F.; SANTOS, D. P.; ZANONI, M. V. B. Determination of isoniazid in human urine using screen-printed carbon electrode modified with poly-L-histidine. **Bioelectrochemistry**, v. 77, n. 2, p. 133-138, 2010.

BLAIR, I. A.; TINOCO, R. M.; BRODIE, M. J.; CLARE, R. A.; DOLLERY, C. T.; TIMBRELL, J. A. et al. Plasma Hydrazine Concentrations in Man after Isoniazid and Hydralazine Administration. **Human & Experimental Toxicology**, v. 4, n. 2, p. 195-202, 1985.

BOXENBAUM, H. G.; BEKERSKY, I.; MATTALIANO, V.; KAPLAN, S. A. Plasma and salivary concentrations of isoniazid in man: Preliminary findings in two slow acetylators subjects. **Journal of pharmacokinetics and biopharmaceutics**, v. 3, n. 6, p. 443-456, 1975.

BOTTA, A. C.; MOLLICA, F. B.; RIBEIRO, C. F. Influence of topical acidulated phosphate fluoride on surface roughness of human enamel and different restorative materials. **Revista Odonto Ciência**, v. 25, n. 1, p. 83-87, 2010.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 5 ed. v. 2. 904p.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Detectar, tratar e curar: desafios e estratégias brasileiras frente à tuberculose. Boletim Epidemiológico. v. 46 n. 9 – 2015. Disponível em : <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2015/marco/27/2015-007---BE-Tuberculose--para-substitui---o-no-site.pdf>>. Acesso em 10/09/2015.

BRENNAN, P. J.; YOUNG, D. B.; ROBERTSON, B. D.; ANDERSEN, P.; BARRY III, C.; BRITTON, W. et al. **TUBERCULOSIS: Handbook of Anti-Tuberculosis Agents**, v. 88, n. 2, p.112-116, 2008.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry Principles, Methods, and Applications**. Oxford university press, 1994.

BROWNSON, D. A. C.; BANKS, C. E. The electrochemistry of CVD graphene: progress and prospects. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 14, n. 23, p. 8264-8281, 2012.

BROWNSON, D. A. C.; BANKS, C. E. **The Handbook of Graphene Electrochemistry**. London: Springer, 2014.

BRUNTON, L. L. CHARBNER, B. A. KNOLLMANN, B. C. Goodman & Gilman: **Goodman and Gilman's** :The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12 ed. New York: McGraw-Hill, 2012.

BURTIS, C. A.; BRUNS, D. E. **Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics**. Elsevier Health Sciences, 2014.

CHAMJANGALI, M. A.; KOUHESTANI, H.; MASDAROLOMOOR, F.; DANESHINEJAD, H. A voltammetric sensor based on the glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotube/poly(pyrocatechol violet)/bismuth film for determination of cadmium and lead as environmental pollutants. **Sensors and Actuators B**, v. 216, p. 384-393, 2015.

CHAU, N. D. Q.; MOYON, C. M.; KOSTARELOS, K.; BIANCO, A. Multifunctional carbon nanomaterial hybrids for magnetic manipulation and targeting. **Biochemical and Research Communications**, v. 468, n. 3, p. 454-462, 2015.

CHEEMALAPATI, S.; CHEN, S. M.; ALI, M. A.; HEMAID, F. M. A. A. Enhanced electrocatalytic oxidation of isoniazid at electrochemically modified rhodium electrode for biological and pharmaceutical analysis. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 121, p. 444-450, 2014.

CHELLINI, P. R.; LAGES, E. B.; FRANCO, P. H.; NOGUEIRA, F. H.; CÉSAR, I. C.; PIANETTI, G. A. Development and validation of HPLC Method for simultaneous determination of Rifampicin, Isoniazid, Pyrazinamide, and Ethambutol hydrochloride in pharmaceutical formulations. **Journal of AOAC International**. v. 98, n. 5, p. 1234-1239, 2015.

COUTO, R. A. S.; LIMA, J. L. F. C.; QUINAZ, M. B. Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. **Talanta**, v. 146, p. 801-814, 2016.

DASGUPTA, A. **Therapeutic Drug Monitoring: Newer Drugs and Biomarkers**. Elsevier. 2012.

DE LA TORRE, G.; CLAESSENS, C. G.; TORRES, T. Phthalocyanines: old dyes, new materials. Putting color in nanotechnology. **Chemical Communications**, n. 20, p. 2000-2015, 2007.

- DREYER, D. R. PARK, S., BIELAWSKI, C. W., RUOFF, R. S. The chemistry of graphene oxide. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 1, p. 228-240, 2010.
- ESCURRA, C. M.; BOOGAARD, J. V. D.; JDEMA, D. I.; BOEREE, M.; AARNOUTSE, R. Therapeutic drug monitoring in the treatment of tuberculosis patients. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v. 25, n. 1, p. 83-86, 2012.
- ERGÜN, E.; KART, S.; ZEYBEK, D. K.; ZEYBEC, B. Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid and uric acid using poly(glyoxal-bis(2-hydroxyanil)) modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B**, v. 224, p. 55-64, 2016.
- FARIA, A. F.; SOUZA, M. V. N.; BRUNS, R. E.; OLIVEIRA, M. A. L. Simultaneous determination of first-line anti-tuberculosis drugs by capillary zone electrophoresis using direct UV detection. **Talanta**, v. 82, n. 1, p. 333-339, 2010.
- FENG, Q.; DU, Y.; ZHANG, C.; ZHENG, Z.; HU, F.; WANG, Z. Synthesis of the multi-walled carbon nanotubes-COOH/graphene/gold nanoparticles nanocomposite for simple determination of Bilirubin in human blood sérum. **Sensors and Actuators B**, v.185, p. 337-344, 2013.
- FLOREY, K. ATWATER, N. W. B. JR. G. A. et al. **Analytical n Profiles Of Drug Substances**. v.6. Academic Press, 1977.
- FOSTER, C. W.; PILLAY, J.; METTERS, J. P.; BANKS, C. E. Cobalt Phthalocyanine Modified Electrodes Utilised in Electroanalysis: Nano-Structured Modified Electrodes vs. Bulk Modified Screen-Printed Electrodes **Sensors**, v. 14, n. 11, p. 21905-21922, 2014.
- FOX, H. Herbert.; LA ROCBE, H. The chemical approach to the control of tuberculosis. American Association for the Advancement of Science. **Science**, p. 129-34, 1952.
- FRANCO, Y. O.; FRANCO, L. M. Biotransformação: importância e toxicidade. **Saúde rev.**, v. 5, n. 9, p. 69-76, 2003.
- FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
- GAO, Wei. **Graphene Oxide: Reduction Recipes, Spectroscopy, and Applications**. Switzerland: Springer, 2015.
- GOODING, J. J. Nanostructuring electrodes with carbon nanotubes: A review on electrochemistry and applications for sensing. **Electrochimica Acta**, v. 50, n. 15, p. 3049-3060, 2005.
- GOLAN, D. E.; TASHJIAN JR, A. H.; ARMSTRONG, E. et al. **Principles of pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy** 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins/ Wolters Kluwer, 2012.
- GRÜNDLER, P. **Chemical Sensors: An Introduction for Scientists and Engineers**. New York: Springer, 2007.

GUO, Z.; WANG, Z. Y.; WANG, H. H.; HUANG, G. Q.; LI, M. M. Electrochemical sensor for Isoniazid based on the glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide–Au nanomaterials. **Materials Science and Engineering C**, v. 57, p. 197-204, 2015.

GURUMURTHY, P.; RAHMAN, F.; NARAYANA, A. S. L.; SARMA, G. R. Salivary levels of isoniazid and rifampicin in tuberculous patients. **Tubercle**, v. 71, n. 1, p. 29-33, 1990.

HAMADA, N.; SAWADA, S. I.; OSHIYAMA, A. New one-dimensional conductors: graphitic microtubules. **Physical Review Letters**, v. 68, n. 10, p. 1579-1581, 1992.

HERBST, M. H.; MACÊDO, M. I. F.; ROCCO, A. M. Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectivas de uma área multidisciplinar. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 986-992, 2004.

HEYSELL, S. K.; MOORE, J. L.; KELLER, S. J.; HOUP, E. R. Therapeutic drug monitoring for slow response to tuberculosis treatment in a state control program, Virginia, USA. **Emerg Infect Dis**, v. 16, n. 10, p. 1546-53, 2010.

HUANG, Y. S. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and the susceptibility to antituberculosis drug-induced liver injury. **Expert opinion on drug metabolism & toxicology**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2007.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors: definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247-1250, 1991.

HUTCHINGS, A. D.; MONIE, R. D.; SPRAGG, B. P.; ROUTLEDGE, P. A. Saliva and plasma concentrations of isoniazid and acetylisoniazid in man. **British journal of clinical pharmacology**, v. 25, n. 5, p. 585-589, 1988.

HUTCHINGS, A. D.; ROUTLEDGE, P. A. A single sample saliva test to determine acetylator phenotype. **British journal of clinical pharmacology**, v. 42, n. 5, p. 635-637, 1996.

IOANNOU, P. C. A more simple, rapid and sensitive fluorimetric method for the determination of isoniazid and acetylisoniazid in serum. Application for acetylator phenotyping. **Clinica chimica acta**, v. 175, n. 2, p. 175-181, 1988.

ISAGO, H. **Optical Spectra of Phthalocyanines and Related Compounds: A Guide for Beginners**. Tsukuba: Springer, 2015.

JAKOBY, W. B. **Enzymatic basis of detoxication**. Academic Press: Elsevier, 1980.

JANATA, J. **Principles of Chemical Sensors**. 2 ed. Atlanta: Springer, 2009.

JENA, B. Ku.; RAJ, C. R. Au nanoparticle decorated silicate network for the amperometric sensing of isoniazid. **Talanta**, v. 80, n. 5, p. 1653-1656, 2010.

JESUS, K. A. de.; FREIRE, E.; GUIMARÃES, M. J. O.C. Grafeno: Aplicações e Tendências Tecnológicas. **Revista de Química Industrial**, v. 737, p.14-19, 2012.

JIANG, T.; JIANG, G.; HUANG, Q.; ZHOU, H. High-sensitive detection of dopamine using graphitic carbon nitride by electrochemical method. **Materials Research Bulletin**, v. 74, p. 271-277, 2016.

JUSTINO, D. D.; LAGE, A. L. A.; SOUTO, D. E. P.; SILVA, J. V. da.; SANTOS, W. T. P. dos.; LUZ, R. de C. S. et al. Study of the effects of surface pKa and electron transfer kinetics of electroactive 4-nitrothiophenol/4-mercaptobenzoic acid binary SAM on the simultaneous determination of epinephrine and uric acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 703, p. 158-165, 2013.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B. TREVOR, Anthony J. **Basic & clinical pharmacology**. New York : McGraw-Hill Medical, 2012.

KAUSHIK, B. K.; MAJUMDER, M. K. **Carbon Nanotube Based VLSI Interconnects: Analysis and Design**. 1 ed. Springer, 2015.

KARIMI, M. A.; MEHRJARDI, A. H.; ARDAKANI, M. M.; ARDAKANI, R. B.; MASHHADIZADEH, M. H.; SARGAZI, S. Study of Electrocatalytic Oxidation of Isoniazid Drug Using Alizarin Red S as A Mediator on the Glassy Carbon Electrode. **Int. J. Electrochem. Sci**, v. 5, p. 1634-1648, 2010.

KHUHAWAR, M. Y.; RIND, F. M. A. Liquid chromatographic determination of isoniazid, pyrazinamide and rifampicin from pharmaceutical preparations and blood. **Journal of Chromatography B**, v. 766, n. 2, p. 357-363, 2002.

KIM, H. J.; SEO, K. A.; KIM, H. M.; JEONG, E. S.; GHIM, J. L.; LEE, Y. M. et al. Simple and accurate quantitative analysis of 20 anti-tuberculosis drugs in human plasma using liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 102, p. 9-16, 2015.

KITA, T.; TANIGAWARA, Y.; CHIKAZAWA, S.; HATANAKA, H.; SAKAEDA, T.; KoMADA, F. et al. N-Acetyltransferase2 genotype correlated with isoniazid acetylation in Japanese tuberculous patients. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 24, n. 5, p. 544-549, 2001.

KOBAYASHI, N. Phthalocyanines. **Current opinion in solid state and materials science**, v. 4, n. 4, p. 345-353, 1999.

KOPEC, E. A.; ZOFIA, Z. The type of isoniazid acetylation in tuberculosis patients treated at national tuberculosis and lung diseases research institute. **Acta poloniae pharmaceutica**, v. 59, n. 6, p. 443-447, 2002.

KOPONEN, S. E.; GORDON, P. G.; BARRY, S. T. Principles of Precursor Design for Vapour Deposition Methods, **Polyhedron**, v. 8, p. 59-66, 2016.

KUCHIBHATLA, S. V. N.T.; KARAKOTI, A. S.; BERA, D.; SEAL, S. One dimensional nanostructured materials. **Progress in materials science**, v. 52, n. 5, p. 699-913, 2007.

KUMAWAT, L. K.; MERGU, N.; SINGH, A. K.; GUPTA, V. K. A novel optical sensor for copper ions based on phthalocyanine tetrasulfonic acid. **Sensors and Actuators B**, v. 212, p. 389-394, 2015.

LAPA, R. A.S.; LIMA, J. L. F. C.; SANTOS, J. L. M. Fluorimetric determination of isoniazid by oxidation with cerium (IV) in a multicommutated flow system. **Analytica chimica acta**, v. 419, n. 1, p. 17-23, 2000.

LAVIRON, E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 101, n. 1, p. 19-28, 1979.

LAWAL, A. T. Synthesis and utilization of carbon nanotubes for fabrication of electrochemical biosensors. **Materials Research Bulletin**, v. 73, p. 308-350, 2016.

LEE C.; WEI, X.; KYSAR, J. W.; HONE, J. Measurement of the Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene. **Science**, v. 321, n. 5887, p. 385-388, 2008

LI, G.; ZHENG, X. Highly Sensitive Electrogenerated Chemiluminescence Isoniazid with NiO Nanoparticles-modified Graphite Electrode. **Analytical Letters**, v. 40, n. 10, p. 1853-1863, 2007.

LI, C.; THOSTENSON, E. T.; CHOU, T. W. Sensors and actuators based on carbon nanotubes and their composites: a review. **Composites Science and Technology**, v. 68, n. 6, p. 1227-1249, 2008.

LI, N.; ZHU, M.; QU, M.; GAO, X.; LI, X.; ZHANG, W. et al. Iron-tetrasulfophthalocyanine functionalized graphene nanosheets: Attractive hybrid nanomaterials for electrocatalysis and electroanalysis. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 651, n. 1, p. 12-18, 2011.

LIMA, P. C. de.; ALBERT, A. L. M.; LEANDRO, K. C. Determinação simultânea de Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e Etambutol em comprimidos com doses fixas combinadas. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 74, p.190-199, 2015

LIN, C. Y.; BALAMURUGAN, A.; LAI, Y. H.; HO, K. C. A novel poly (3,4-ethylenedioxythiophene) / iron phthalocyanine / multi-wall carbon nanotubes nanocomposite with high electrocatalytic activity for nitrite oxidation. **Talanta**, v. 82, n. 5, p. 1905-1911, 2010.

LIU, L.; QIU, C.L.; CHEN, Q.; ZHANG, S. M. Corrosion behavior of Zr-based bulk metallic glasses in different artificial body fluids. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 425, p.268-273, 2006.

LIU, L.; GUO, L. P.; BO, X. J.; BAI, J.; CUI, X. J. Electrochemical sensors based on binuclear cobalt phthalocyanine/surfactant/ordered mesoporous carbon composite electrode. **Analytica Chimica Acta**, v. 673, n. 1, p. 88-94, 2010.

LIU, Y.; FU, Z.; WANG, L. Capillary electrophoresis analysis of isoniazid using luminol-periodate potassium chemiluminescence system. **Luminescence**, v. 26, n. 6, p. 397-402, 2011.

LO, P. C.; LENG, X.; NG, D. K. P. Hetero-arrays of porphyrins and phthalocyanines. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 251, n. 17, p. 2334-2353, 2007.

LOPES, M. da C. A.; BRITO, N. M.; TANAKA, S. M. C. N.; TANAKA, A. A. Síntese, Caracterização espectrofotométrica e propriedades eletrocatalíticas da tetrametóxilfenil porfirina de ferro. **Cad. Pesq**, v. 13, n. 1, p. 71-81, 2002.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006.

LUZ, R. C. S.; DAMOS, F. S.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, Lauro T.; GUSHIQUEM, Y. Electrocatalysis of reduced l-glutathione oxidation by iron(III) tetra-(N-methyl-4-pyridyl)-porphyrin (FeT4MPyP) adsorbed on multi-walled carbon nanotubes. **Talanta**, v. 76, n. 5, p. 1097-1104, 2008.

MOHAMED, A. M. I.; MOHAMED, F. A.; ATIA, N. N.; BOTROS, S. M. A novel spectrofluorimetric determination of four anti-TB drugs in their pure and pharmaceutical dosage forms by quenching effect on the fluorescence of NBS-phenothiazine product. **Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 26, p.21-27, 2013.

MALAGÙ, M.; BENVENUTI, E.; SIMONE, A. One-dimensional nonlocal elasticity for tensile single-walled carbon nanotubes: A molecular structural mechanics characterization. **European Journal of Mechanics-A/Solids**, v. 54, p. 160-170, 2015.

MAJIDI, M. R.; JOUYBAN, A.; ZEYNAL, K. A. Voltammetric behavior and determination of isoniazid in pharmaceuticals by using overoxidized polypyrrole glassy carbono modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 589, p.32-37, 2006.

MARANA, N. L.; ALBUQUERQUE, A. R.; LA PORTA, F. A.; LONGO, E.; SAMBRANO, J. R. Periodic density functional theory study of structural and electronic properties of single-walled zinc oxide and carbon nanotubes. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 237, p. 36-47, 2016.

MARCO, J. P.; BORGES, K. B.; TARLEY, C. R. T.; RIBEIRO, E. S.; PEREIRA, A. C. Development and application of an electrochemical biosensor based on carbon paste and silica modified with niobium oxide, alumina and DNA (SiO₂/Al₂O₃/Nb₂O₅/DNA) for amitriptyline determination. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 704, p.159-168, 2013.

MARRAKCHI, H.; LANÉELLE, M. A.; DAFFÉ, M. Mycolic acids: structures, biosynthesis, and beyond. **Chemistry & biology**, v. 21, n. 1, p. 67-85, 2014.

MARTINS, P. R.; FERREIRA, L. M. C.; ARAKI, K.; ANGNES, L. Influence of cobalto content on nanostructured alpha-phase-nickel hydroxide modified electrodes for electrocatalytic oxidation of isoniazid. **Sensors and Actuators B**, v. 192, p.601–606, 2014.

MEHL, H.;MATOS, C. F.; NEIVA, E. G. C.; DOMINGUES, S. H.; ZARBIN, A. J. G. Efeito da variação de parâmetros reacionais na preparação de grafeno via oxidação e redução do grafite. **Quim. Nova**, v. 37, n. 10, p.1639-1645, 2014.

MERVARTOVÁ, K.; POLÁŠEK, M.; CALATAYUD, J. M. Recent applications of flow-injection and sequential-injection analysis techniques to chemiluminescence determination of pharmaceuticals. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, n. 3, p. 367-381, 2007.

METTERS, J. P.; BANKS, C. E. Electrochemical utilisation of chemical vapour deposition grown carbon nanotubes as sensors. **Vacuum**, v. 86, n. 5, p. 507-519, 2012.

MIAO, M. Yarn spun from carbon nanotube forests: Production, structure, properties and applications. **Particuology**, v. 11, n. 4, p. 378-393, 2013.

MOCÁK, J.; BOND, A. M.; MITCHELL, S.; SCOLLARY, G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques (technical report). *Pure and Applied Chemistry*, v. 69, n. 2, p. 297-328, 1997.

MOROZOV, S. V.; NOVOSELOV, K. S.; KATSNELSON, M. I.; SCHEDIN, F.; ELIAS, D. C.; JASZCZAK, J. A. et al. Giant intrinsic carrier mobilities in graphene and its Bilayer. **Physical review letters**, v. 100, n. 1, p. 016602(1-4), 2008.

MUBARAK, N.M.; ABDULLAH, E.C.; JAYAKUMAR, N.S. et al. An overview on methods for the production of carbon nanotubes. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p.1186-1197, 2014.

NAKANISHI, W.; MINAMI, K.; SHRESTHA, L. K.; JI, Q.; HILL, J. P.; ARIGA, K. Bioactive nanocarbon assemblies: Nanoarchitectonics and applications. **Nano Today**, v. 9, n. 3, p. 378-394, 2014.

NALWA, Hari Singh. **Supramolecular Photosensitive and Electroactive Materials**, Academic Press: Elsevier, 2001

NASIRIZADEH, N.; SHEKARI, Z.; ZARE, H. R.; ARDAKANI, S. A. Y.; AHMAR, H. Developing a Sensor for the Simultaneous Determination of Dopamine, Acetaminophen and Tryptophan in Pharmaceutical Samples Using a Multi-Walled Carbon Nanotube and Oxadiazole Modified Glassy Carbon Electrode. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 24. n. 11, 1846-1856, 2013.

NEVES, A. C. de O.; SOARES, G. M.; MORAIS, S. C. de.; COSTA, S. L. da.; PORTO, D. L.; LIMA, K. M. G. de. Dissolution testing of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol tablets using near-infrared spectroscopy (NIRS) and multivariate calibration. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 57, p. 115-119, 2012.

NGUYEN, N. S.; DAS, G.; YOON, H. H. Nickel/cobalt oxide-decorated 3D graphene nanocomposite electrode for enhanced electrochemical detection of urea. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 77, p. 372-377, 2016.

NOVOSELOV, K. S.; GEIM, A. K.; MOROZOV, S. V.; JIANG, D.; ZHANG, Y.; DUBONOS, S. V. et al. Electric field effect in atomically thin carbon films. **Science**, v. 306, n. 5696, p. 666-669, 2004.

OLIVEIRA, P. R. de.; OLIVEIRA, M. M.; ZARBIN, A. J. G.; MARCOLINO JUNIOR, L. H.; BERGAMINI, M. F. Flow injection amperometric determination of isoniazid using a screen-printed carbon electrode modified with silver hexacyanoferrate nanoparticles. **Sensors and Actuators B**, v. 171-172, p. 95- 80, 2012.

ONI, J.; NYOKONG, T. Simultaneous voltammetric determination of dopamine and serotonin on carbon paste electrodes modified with iron (II) phthalocyanine complexes. **Analytica chimica acta**, v. 434, n. 1, p. 9-21, 2001.

ORTUÑO, J. A.; GIL, A.; SANCHEZ, P. C. Flow-injection pulse amperometric detection based on ion transfer across a water-plasticized polymeric membrane interface for the determination of imipramine. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 122, n. 2, p. 369-374, 2007.

OWLIA, A.; RUSLING, J. F. Adsorption and reduction of iron and cobalt phthalocyanines in DMSO at glassy carbon and pyrolytic graphite electrodes. **Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry**, v. 234, n. 1, p. 297-314, 1987.

OZKAN, Sibel A.; KAUFF, J. M.; ZUMAN, P. **Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences: Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications**. New York: Springer, 2015.

OZOEMENA, K. I.; NYOKONG, T. Electrocatalytic oxidation and detection of hydrazine at gold electrode modified with iron phthalocyanine complex linked to mercaptopropylamine self-assembled monolayer. **Talanta**, v. 67, n. 1, p. 162-168, 2005.

PAPOUCHADO, L.; SANDFORD, R. W.; PETRIE, G.; ADAMS, R. N. Anodic oxidation pathways of phenolic compounds. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 65, n. 1, p. 275-284, 1975.

PARVEZ, K.; YANG, S.; FENG, X.; MÜLLEN, K. Exfoliation of graphene via wet chemical routes. **Synthetic Metals**, v. 210, p. 123-132, 2015.

PATI S. K. **Graphene and Its Fascinating Attributes**. Singapore: World Scientific, 2011.

PATRASCU, D.; DAVID, L.; DAVID, V.; MIHAILCIUC, C.; STAMATIN, I.; CIUREA, J. Selective voltammetric determination of electroactive neuromodulating species in biological samples using iron (II) phthalocyanine modified multi-wall carbono nanotubes paste electrode. **Sensors and Actuators B**, v. 156, n. 2, p. 731-736, 2011.

PEI, S.; CHENG, H. M. The reduction of graphene oxide. **Carbon**, v. 50, n. 9, p. 3210-3228, 2012.

PELOQUIN, C. A. Using therapeutic drug monitoring to dose the antimycobacterial drugs. **Clinics in chest medicine**, v. 18, n. 1, p. 79-87, 1997.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A de S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p.1012-1021, 2002.

PESSANHA, A. F. de V.; ROLIM, L. A.; PEIXOTO, M. S.; SILVA, R. M. F. da.; ROLIM NETO, P. J. Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas **Rev. Bras. Farm.** v. 93, n. 2, p. 136-145, 2012.

PREZIOSI, P. Isoniazid: metabolic aspects and toxicological correlates. **Current drug metabolism**, v. 8, n. 8, p. 839-851, 2007.

PUJADÓ, M. P. **Carbon Nanotubes as Platforms for Biosensors with Electrochemical and Electronic Transduction**. New York: Springer, 2012.

PUMERA, M.; AMBROSI, A.; BONANNI, A.; CHNG, E. L. K.; POH, H. L. Graphene for electrochemical sensing and biosensing. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 29, n. 9, p. 954-965, 2010.

QUINTINO, M. S. M.; ANGNES, L. Fast BIA-amperometric determination of isoniazid in tablets. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 42, n. 3, p. 400-404, 2006.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Rang and Dale's pharmacology**. 7 ed. New York: Elsevier, 2012.

RAMACHANDRAN, G.; SWAMINATHAN, S. Role of pharmacogenomics in the treatment of tuberculosis: a review. **Pharmgenomics Pers Med**, v. 5, p. 89-98, 2012.

RASTOGI, P. K.; GANESAN, V.; AZAD, U. P. Electrochemical determination of nanomolar levels of isoniazid in pharmaceutical formulation using silver nanoparticles decorated copolymer. **Electrochimica Acta**, v. 188, p. 818-824, 2016.

ANALYTICAL METHODS COMMITTEE. Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. **Analyst**, v. 112, n. 2, p. 199-204, 1987.

REINA, A.; JIA, X.; HO, J.; NEZICH, D.; SON, H.; BULOVIC, V. et al. Large area, few-layer graphene films on arbitrary substrates by chemical vapor deposition. **Nano letters**, v. 9, n. 1, p. 30-35, 2009.

RIVAS, G. A.; RUBIANES, M. D.; RODRÍGUEZ, M. C.; FERREYRA, N. F.; LUQUE, G. L.; PEDANO, M. L. Carbon nanotubes for electrochemical biosensing. **Talanta**, v. 74, n. 3, p. 291-307, 2007.

ROMERO, J. G. V.; LUENGO, C. A.; HUBER, J. G.; ROSOLEN, J. M. Síntese de nanotubos de carbono de parede simples por sublimação de grafite em atmosfera de hélio. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 59-61, 2002.

WANG, Y. R.; HU, P.; LIANG, Qi. L.; LUO, G. A.; WANG, Y. M. Application of Carbon Nanotube Modified Electrode in Bioelectroanalysis. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 36, n. 8, p. 1011-1016, 2008.

SABZI, R. E. Electrocatalytic Oxidation of Thiosulfate at Glassy Carbon Electrode Chemically Modified with Cobalt Pentacyanonitrosylferrate. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 16, n. 6A, 1262-1268, 2005.

SAFAVI, A.; KARIMI, M. A.; NEZHAD, M. R. H. Flow injection determination of isoniazid using N-bromosuccinimide-and N-chlorosuccinimide-luminol chemiluminescence systems. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 30, n. 5, p. 1499-1506, 2003.

SAFAVI, A.; BAGHERI, M. Design of an optical sensor for indirect determination of isoniazid. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 70, n. 4, p. 735-739, 2008.

SAHA, A.; JIANG, C.; MARTÍ, A. A. Carbon nanotube networks on different platforms. **Carbon**, v. 79, p. 1-18, 2014.

SATYANARAYANA, M.; REDDY, K. K.; GOBI, K. V. Multiwall carbon nanotube ensembled biopolymer electrode for selective determination of isoniazid in vitro. **Analytical Methods**, v. 6, n. 11, p. 3772-3778, 2014.

SCHAEFFER, M. L.; AGNIHOTRI, G.; VOLKER, C.; KALLENDER, H.; BRENNAN, P. J.; LONSDALE, J. T. Purification and Biochemical Characterization of the *Mycobacterium tuberculosis* -Ketoacyl-acyl Carrier Protein Synthases KasA and KasB. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 50, p. 47029-47037, 2001.

SCHNELL, J. R.; DYSON, H. J.; WRIGHT, P. E. Structure, dynamics, and catalytic function of dihydrofolate reductase. **Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.**, v. 33, p. 119-140, 2004.

SCIDA, K.; STEGE, P. W.; HABY, G.; MESSINA, G. A.; GARCÍA, C. D. Recent applications of carbono-based nanomaterials in analytical chemistry: Critical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 691, n. 1, p. 6-17, 2011.

SAHA, A.; JIANG, C.; MARTÍ, A. A. Carbon nanotube networks on different platforms. **Carbon**, v. 79, p. 1-18, 2014.

SHAH, K. A.; TALI, B. A. Synthesis of carbon nanotubes by catalytic chemical vapour deposition: A review on carbon sources, catalysts and substrates. **Materials Science in Semiconductor Processing**, n. 41, p. 67-82, 2016.

SI, X.; JIANG, L.; WANG, X.; DING, Y.; LUO, L. Determination of isoniazid content via cysteic acid/ graphene modified glassy carbon electrode. **Anal. Methods**, v. 7, n. 2, p. 793-798, 2015.

SEKHAR, P. K.; BROSHA, E. L.; MUKUNDAN, R.; GARZON, F. H. Chemical Sensors for Environmental Monitoring and Homeland Security. **The Electrochemical Society Interface**, v. 19, n. 4, p. 35-40, 2010.

SHAHROKHIAN, S.; GHALKHANI, M.; AMINI, M. K. Application of carbon-paste electrode modified with iron phthalocyanine for voltammetric determination of epinephrine in the presence of ascorbic acid and uric acid. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 137, n. 2, p. 669-675, 2009.

SHAHROKHIAN, S.; ASADIAN, E. Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, acetaminophen and isoniazid using thionine immobilized multi-walled carbon nanotube modified carbon paste electrode. **Electrochimica Acta**, v. 55, n. 3, p. 666-672, 2010.

SHARMA, S. K. Antituberculosis drugs and hepatotoxicity. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 4, n. 2, p. 167-170, 2004.

SINGH, V.; JOUNG, D.; ZHAI, L.; DAS, S.; KHONDAKER, S. I.; SEAL, S. Graphene based materials: Past, present and future. **Progress in Materials Science**, v. 56, n. 8, p. 1178-1271, 2011.

SINGH, R.; MUKHERJEE, M. Das.; SUMANA, G.; GUPTA, R. K.; SOOD, S.; MALHOTRA, B. D. Biosensors for pathogen detection: A smart approach towards clinical diagnosis. Review. **Sensors and Actuators B**, v. 197, p. 385-404, 2014.

SILVA J. F.; GRIVEAU, S.; RICHARD, C.; ZAGAL, J. H.; BEDIQUI, F. Glassy carbon electrodes modified with single walled carbon nanotubes and cobalt phthalocyanine and nickel tetrasulfonated hthalocyanine: Highly stable new hybrids with enhanced electrocatalytic performances. **Electrochemistry Communications**, v. 9, n. 7, p. 1629-1634, 2007.

SILVA, J. F.; PAVEZ, J.; SILVA, C. P. S.; ZAGAL, J. H. Electrocatalytic activity of modified gold electrodes based on self-assembled monolayers of 4-mercaptopyridine and 4-aminothiophenol on Au(111) surfaces chemically functionalized with substituted and unsubstituted iron phthalocyanines. **Electrochimica Acta**, v. 114, p. 7-13, 2013.

SINHA, B. K.; MASON, R. P. Biotransformation of Hydrazine Derivatives in the Mechanism of Toxicity. **Journal of Drug Metabolism & Toxicology**, v. 5, n. 2, 2014.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. Fundamentos de química analítica. São Paulo: Thomson Learning, 2006.

SONG, Z.; LÜ, J.; ZHAO, T. Chemiluminescence sensor for isoniazid with controlled-reagent-release technology. **Talanta**, v. 53, n. 6, p. 1171-1177, 2001.

SOCHR, J.; ŠVORC, L.; RIEVAJ, M.; BUSTIN, D. Electrochemical determination of adrenaline in human urine using a boron-doped diamond film electrode. **Diamond & Related Materials**, v. 43, p. 5-11, 2014

SOUZA, D. de.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.

SOUZA FILHO, A. G. de.; FAGAN, S. B. Funcionalização de nanotubos de carbono. **Química nova**, v. 30, n. 7, p. 1695, 2007.

STETS, S.; TAVARES, T. M. ZAMORA, P. G. P.; PESSOA, C. A.; NAGATA, N. Simultaneous Determination of Rifampicin and Isoniazid in Urine and Pharmaceutical Formulations by Multivariate Visible Spectrophotometry. **J. Braz. Chem. Soc**, v. 24, n. 7, p. 1198-1205, 2013.

SUN, Z.; JAMES, D. K.; TOUR, J. M. Graphene chemistry: synthesis and manipulation. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 2, n. 19, p. 2425-2432, 2011.

SUN, J. Y.; GAN, T.; DENG, Y. P.; SHI, Z. X.; LV, Zhen. Pt nanoparticles-functionalized hierarchically porous γ -Al₂O₃ hollow spheres based electrochemical sensor for ultrasensitive guaiacol detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 211, p. 339-345, 2015.

SWAMY, N.; BASAVAIHAH, K.; VINAY, K. B. Titrimetric assay of isoniazid with perchloric acid in non-aqueous medium. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 70, n. 6, p. 696-699, 2015.

TASIS, D.; TAGMATARCHIS, N.; BIANCO, A.; PRATO, M. Chemistry of carbon nanotubes. **Chemical reviews**, v. 106, n. 3, p. 1105-1136, 2006.

THAPLIYAL, N.; KARPOORMATH, R. V.; GOYAL, R. N. Electroanalysis of antitubercular drugs in pharmaceutical dosage forms and biological fluids: A review. **Analytica chimica acta**, v. 853, p. 59-76, 2015.

THESS, A.; LEE, R.; NIKOLAEV, P.; DAI, P.; PETIT, P.; ROBERT, J.; XU, C. et al. Crystalline ropes of metallic carbon nanotubes, **Science**, v. 273, p. 483-487, 1996

TIAN, K.; PRESTGARD, M.; TIWARI, A. A review of recent advances in nonenzymatic glucose sensors. **Materials Science and Engineering: C**, v. 41, p. 100-118, 2014.

TIASSÉ, R. P. M.; CRONAN, J. E. Diversity in enoyl-acyl carrier protein reductases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 66, n. 9, p. 1507-1517, 2009.

TIMMINS, G. S.; DERETIC, V. Mechanisms of action of isoniazid. **Molecular Microbiology**, v. 62, n. 5, p. 1220-1227, 2006.

TOSTMANN, A.; BOEREE, M. J.; AARNOUTSE, R. E. et al. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: concise up-to-date review. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 23, n. 2, p. 192-202, 2008.

TOUR, J. M. Materials chemistry: Seeds of selective nanotube growth. **Nature**, v. 512, n. 7512, p. 30-31, 2014.

TUAN, D. V. **Charge and Spin Transport in Disordered Graphene-Based Materials**. Barcelona: Springer, 2015.

TUANTRANONT, A. **Applications of Nanomaterials in Sensors and Diagnostics**. Springer. v. 14. 2013.

UNSANAN, S.; SANCAR, M.; BEKCE, B.; CLARK P. M.; KARAGOZ, T.; IZZETTIN F. V. et al. Therapeutic monitoring of isoniazid, pyrazinamide and rifampicin in tuberculosis patients using LC. **Chromatographia**, v. 61, n. 11-12, p. 595-598, 2005.

VALLI, L. Phthalocyanine-based Langmuir–Blodgett films as chemical sensors. **Advances in colloid and interface science**, v. 116, n. 1, p. 13-44, 2005.

VASHIST, S. K.; LUONG, J. H. T. Recent advances in electrochemical biosensing schemes using graphene and graphene-based nanocomposites. **Carbon**, v. 84, p. 519-550, 2015.

WAN, Yi.; LIANG, Q.; LI, Z.; XU, S.; HU, X.; LIU, Q. Significant improvement of styrene oxidation over zinc phthalocyanine supported on multi-walled carbon nanotubes. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v. 402, p. 29-36, 2015.

WANG, A.; MA, Y.; ZHOU, L.; LU, S.; LIN, Y.; ZHOU, J. Comparison of two strategies for conferring water solubility to a zinc phthalocyanine substituted with 1,2-diethylamino. **Dyes and Pigments**, v. 99, n. 2, p. 348-356, 2013.

WHALEN, K. FINKEL, Richard. PANAVELIL, Thomas A. **Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology**. 6 ed. Hong Kong: Wolters Kluwer, 2015.

WEI, Li Yi.; CHEN, Y.; MA, Y. H.; SHI, J. G.; WANG, Y. X.; QI, C. H. Recent Advances in the Dehydrogenase Biosensors Based on Carbon Nanotube Modified Electrodes. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 42, n. 5, p. 759-765, 2014.

WHITENER, K. E.; SHEEHAN, P. E. Graphene synthesis. **Diamond and related materials**, v. 46, p. 25-34, 2014.

WU, B.; WANG, Z.; XUE, Z.; ZHOU, X.; DU, J.; LIU, X. A novel molecularly imprinted electrochemiluminescence sensor for isoniazid detection. **Analyst**, v. 137, n. 16, p. 3644-3652, 2012.

WU, B.; HOU, L.; ZHANG, T.; HAN, Y.; KONG, C. A molecularly imprinted electrochemical sensor based on a gold nanoparticle/carbon nanotube hybrid material for the sensitive detection of isoniazid. **Anal. Methods**, v. 7, n. 21, p. 9121-9129, 2015.

YAN, X.; BO, X.; GUO, L. Electrochemical behaviors and determination of isoniazid at ordered mesoporous carbon modified electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 155, n. 2, p. 837-842, 2011.

YAN, H.; XIAO, H.; XIE, Q.; LIU, J.; SUN, L.; ZHOU, Y. et al. Simultaneous electroanalysis of isoniazid and uric acid at poly(sulfosalicylic acid)/electroreduced carboxylated graphene modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B**, v. 207, p. 167-176, 2015.

YANG, G.; WANG, C.; ZHANG, R.; WANG, C.; QU, Q.; HU, X. Poly (amidosulfonic acid) modified glassy carbon electrode for determination of isoniazid in pharmaceuticals. **Bioelectrochemistry**, v. 73, n. 1, p. 37-42, 2008.

YANG, C.; DENNO, M. E.; PYAKUREL, P.; VENTON, B. J. Recent trends in carbon nanomaterial-based electrochemical sensors for biomolecules: **A review, Analytica Chimica Acta**, v. 887, p. 17-37, 2015.

YI, X.; XU, P. Z.; CAO, Q.; LU, Q.; WEN, Z. Y. Detection of Isoniazid in Plasma on Microchip with Butyl Methacrylate Monolithic Column. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 36, n. 12, p. 1636-1640, 2008.

YUAN, W.; ZHOU, Y.; LI, Y.; LI, C.; PENG, H.; ZHANG, J. et al. The edge- and basal-plane-specific electrochemistry of a single-layer graphene sheet. **Nature: Scientific reports**, v. 3, n. 32248 p.1-7, 2013.

ZAGAL, J. H. Metallophthalocyanines as catalysts in electrochemical reactions. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 119, p. 89-136, 1992.

ZAGAL, J. H.; GRIVEAU, S.; SILVA, J. F.; NYOKONG, T.; BEDILOU, F. Metallophthalocyanine-based molecular materials as catalysts for electrochemical reactions. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 254, n. 23, p. 2755-2791, 2010.

ZAMORA, L. L.; MATEO, J. V. G.; CALATAYUD, J. M. Entrapment of reagents in polymeric materials. Indirect atomic absorption spectrometric determination of isoniazid by oxidation with manganese dioxide incorporated in polyester resin beads in a flow-injection system. **Analytica chimica acta**, v. 265, n. 1, p. 81-86, 1992.

ZANIN, H.; MARGRAF, F. A.; SILVA, N.S da.; MARCIANO, F. R.; CORAT, E. J.; LOBO, A. O. Graphene and carbon nanotube composite enabling a new prospective treatment for trichomoniasis disease. **Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems**, v. 41, p. 65-69, 2014.

ZANIN, H.; ROSA, C. M. R.; ELIAZ, N.; MAY, P. W.; MARCIANO, F. R.; LOBO, A. O. Assisted deposition of nano-hydroxyapatite onto exfoliated carbon nanotube oxide scaffolds, **Nanoscale**, v. 7, n. 22, p. 10218-10232, 2015.

ZARGAR, B.; HATAMIE, A. Localized surface plasmon resonance of gold nanoparticles as colorimetric probes for determination of Isoniazid in pharmacological formulation. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 106, p. 185-189, 2013.

ZHAO, D. M.; ZHANG, X. H.; FENG, L. J.; JIA, Li.; WANG, S. F. Simultaneous determination of hydroquinone and catechol at PASA/MWNTs composite film modified glassy carbon electrode. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 74, n. 1, p. 317-321, 2009.

ZHENG, Q. KIM, J. K. **Graphene for Transparent Conductors: Synthesis, Properties, and Applications**. New York: Springer, 2015.

ZHU, X.; XU, J.; DUAN, X.; LU, L.; ZHANG, K.; YU, Y. et al. Controlled synthesis of partially reduced graphene oxide: Enhance electrochemical determination of isoniazid with high sensitivity and stability. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 757, p. 183-191, 2015.