



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

ANA LUISA SILVA

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CATEQUINA
POR ELETRODO DE CARBONO IMPRESSO MODIFICADO COM
NANOTUBO DE CARBONO FUNCIONALIZADO**

São Luís
2014

ANA LUÍSA SILVA

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CATEQUINA
POR ELETRODO DE CARBONO IMPRESSO MODIFICADO COM
NANOTUBO DE CARBONO FUNCIONALIZADO**

Orientadora: Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka
Co-orientadora: Profa. Dra. Quésia Guedes da Silva

Dissertação apresentada ao Programa de
Mestrado em Biodiversidade e Conservação da
Universidade Federal do Maranhão, para
obtenção do título de Mestre em
Biodiversidade e Conservação.

São Luís
2014

Silva, Ana Luísa

Determinação voltamétrica de catequina por eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubo de carbono funcionalizado/Ana Luísa Silva. Janeiro, 2014.

54f.

Orientador: Auro Atsushi Tanaka

Co-orientadora: Quésia Guedes da Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, 2014.

1. Catequina 2. Eletrodo de Carbono Impresso 3. Nanotubo de Carbono 4. Sensor Eletroquímico

CDU 663.951

Determinação voltamétrica de catequina por eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubo de carbono funcionalizado.

A Comissão julgadora dos trabalhos de defesa da Dissertação de mestrado, em sessão pública realizada em / / considera a candidata Ana Luísa Silva

.....

Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka
Orientador

Prof. Dra. Quésia Guedes da Silva
Co-Orientadora

Prof^a. Dr^a. Patricia M.C. de Albuquerque
UFMA

Prof. Dr. Gilmar Silvério Batista da Silva
IFMA

Dedico esta principalmente a minha família que é meu alicerce, minha inspiração e força, razão de todo o meu esforço. Ao meu maior exemplo de determinação e dedicação para a construção de uma carreira profissional sólida e de sucesso, Minha Mãe.

AGRADECIMENTOS

A Deus,

Pela criação perfeita, pelos elementos necessários para que haja vida (ar, água, terra e fogo), pela luz que me ilumina, pelo alimento de cada dia, pela vida sadia da minha família, amigos e a minha.

A minha mãe Regina, que apesar da distância sempre se fez presença com amor, carinho e é claro muito apoio financeiro.

A todos os meus familiares, em especial minha a irmã Maria Clara, minha mãe Regilene, Minha Princesa Linda (Avó Maria), minha Tia Lulu e meus tios Humberto, Adalberto, Alberto e Gilberto que me apoiaram de alguma forma durante esse período tão importante.

Ao meu orientador Auro Tanaka, que mesmo sem me conhecer, me acolheu como uma filha, me auxiliando nos experimentos e me guiando para o sentido do que é ser uma pesquisadora.

A minha orientadora e amiga Quésia, pela paciência e dedicação comigo, pois soube me orientar com competência e muito discernimento.

À Michelle, Milena e Monique, que sempre foram companheiras, pacientes, amigas nos momentos tristes e alegres, nas diversões e na doença, e em especial a Chellinha, minha inspiração no sentido profissional e educacional e de pessoa no sentido pessoal.

À minha amiga e irmã na fé, Caroliiiiina Teresina Cristalina – Ana Carolina Soares Dias, a MININA mais apaixonada pela terrinha que eu conheço. Àquela que não me fez esquecer nem por um minuto o orgulho que eu tenho de ser Teresinense, ela foi meu primeiro contato para o mestrado da UFMA, é meu exemplo de responsabilidade e companheirismo, com ela comecei a ver que não é preciso estresse com nada, que tudo que é pra ser, será.

À Tatiana, Nayra, Erika e Natália, por me acolherem na ilha, e por me fazerem lembrar quão maravilhoso é o nosso Piauí todos os dias me acolhendo com todo calor, por me

mostrarem o lado bom da Ilha e me ensinar também, que a beleza da amizade não tá na presença diária, mas na felicidade que é cada encontro.

À minha alma gêmea na versão masculina, meu amado amigo Junior Carvalhedo, especialista em “línguas”, pela amizade e proficiência em língua inglesa, me ajudando com as traduções necessárias.

Aos novos, porém leais amigos, Raphael e Anderson que ajudaram para que as noites Teresinenses fossem ainda mais divertidas.

Ao Grupo de Eletroquímica da UFMA, em especial a Carol, Gláucia, Wanderson, Hebert, Pâmela, Adriana, Jarlene, Isaías, Ubiranilson e Cindy, pela ajuda nos experimentos e por fazerem os dias de trabalho menos tenso.

À mãe de todos os mestrandos do programa de biodiversidade e conservação Dona Ana, que com sua candura e fé, me acolheu em todos os momentos, mesmo que no ápice de seus aperreios.

A todos esses, e alguns milhares de outros, meu muito obrigada, todos vocês me ajudaram a chegar até aqui, me tornando uma pessoa um pouquinho melhor.

Ao Programa de Pós graduação em Biodiversidade e Conservação pela contribuição na minha formação acadêmica.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	IX
Lista de Abreviaturas e Siglas.....	X
Apresentação.....	14
Resumo.....	15
Abstract.....	16
1 – Introdução.....	17
1.1 – Antioxidantes.....	17
1.2 – catequinas.....	18
1.3 – Métodos de Análise de Catequina.....	19
1.4 – Eletrodos Quimicamente Modificados.....	20
2 – Objetivos.....	24
2.1 – Objetivo Geral.....	24
2.2 – Objetivos Específicos.....	24
3 – Parte Experimental.....	25
3.1 – Reagentes e Soluções.....	25
3.2 – Funcionalização dos NTCs.....	26
3.2.1 – Preparação das suspensões de NTC.....	26
3.2.2 – Modificação do ECI com Nanotubo Funcionalizado.....	26
3.3 – Célula Eletroquímica.....	27
3.4 – Instrumentação.....	27
3.5 – Procedimentos Experimentais.....	27
3.5.1 – Voltametria Cíclica.....	27
3.5.2 – Determinação de Catequinas em Chás.....	28
3.5.3 – Estudo de Adição e Recuperação.....	28
4 – Resultados e Discussão.....	29
4.1 – Estudo Comparativo dos Eletrodos.....	29
4.2 - Avaliação da Resposta Eletroquímica da Catequina sobre o Eletrodo de Carbono Impresso Pré-tratado.....	30
4.3 - Estudo da natureza do meio.....	32
4.4 – Estudo de força iônica.....	33

4.5 – Estudo do pH do Meio	34
4.6 – Estudo do Efeito da Velocidade de Varredura.....	36
4.7 – Estudo de Repetibilidade.....	38
4.8 – Curva Analítica.....	38
4.9 – Quadro comparativo das condições analíticas do método proposto com valores extraídos da literatura para determinação de CTQ.....	40
4.10 - Teste de Adição e Recuperação.....	40
4.11 – Determinação de Catequina em Amostras de Chás Preto.....	41
5 – Conclusão.....	43
6 – Atividades Futuras.....	44
7 – Referências.....	45
8 – Apêndice.....	56
9 – Anexos.....	81

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1 - Estrutura Química dos Flavonóides.....	18
Figura 2 – Estrutura Molecular da Catequina.....	19
Figura 3 – Quadro esquemático do estudo sobre o desenvolvimento dos EQMs (Pereira, et. al., 2002).....	22
Figura 4 – Representação esquemática do (A) dispositivo contendo os eletrodos impressos e (B) béquer utilizado como célula eletroquímica.....	27
Figura 5 – Voltamogramas cíclicos em meio de solução Tampão Fosfato pH 7 na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ em diferentes eletrodos: (a) ECI; (b) ECI/NTC(SPT) e (c) ECI/NTC, $v = 0,05$ V s ⁻¹	30
Figura 6 – Voltamograma cíclico do ECI/NTC em solução de Tampão Fosfato pH 7 na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ , $v = 0,05$ V s ⁻¹	31
Figura 7 – Mecanismo de Oxidação da Catequina.....	31
Figura 8 – Voltamograma cíclico do ECI/NTC na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ em solução de Tampão Fosfato pH 7, $v = 0,05$ V s ⁻¹	32
Figura 9 - Voltamogramas Cíclicos de diferentes eletrólitos do ECI-NT na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ , $v = 0,05$ V s ⁻¹	33
Figura 10 - Voltamogramas Cíclicos com ECI/NTC na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 em diferentes concentrações: 0,01; 0,05; 0,1 e 0,5 mol L ⁻¹ , $v = 0,05$ V s ⁻¹	34
Figura 11 - Voltamogramas Cíclicos do ECI-NTC em solução de Tampão BR em diferentes valores de pH's (2 – 12) na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ , $v = 0,05$ V s ⁻¹	35
Figura 12 – (A) Corrente de pico em função do pH do meio. Dados extraído da fig. 11. (B) - Potencial de pico em função do pH do meio. Dados extraído da fig. 11.....	36
Figura 13 - Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ em diferentes valores de velocidade de varredura de potencial, 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09 e 0,1 V s ⁻¹	37
Figura 14 - Corrente de pico em função da Raiz quadrada da Velocidade. Dados	

extraído da fig. 13.....	37
Figura 15 - Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L ⁻¹ em 20 medidas consecutivas, $v = 0,05$ V s ⁻¹	38
Figura 16 - (A) Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução Tampão Fosfato pH 7 na presença de diferentes concentrações de CTQ: (1) Tampão Fosfato; (2) 2×10^{-7} ; (3) $3,98 \times 10^{-7}$; (4) $5,96 \times 10^{-7}$; (5) $7,94 \times 10^{-7}$; (6) $9,9 \times 10^{-7}$; (7) $1,38 \times 10^{-6}$; (8) $1,77 \times 10^{-6}$; (9) $2,15 \times 10^{-6}$; (10) $2,53 \times 10^{-6}$; (11) $2,91 \times 10^{-6}$; (12) $3,91 \times 10^{-6}$; (13) $4,76 \times 10^{-6}$; (14) $5,84 \times 10^{-6}$; (15) $6,89 \times 10^{-6}$; (16) $7,92 \times 10^{-6}$; (17) $9,26 \times 10^{-6}$; (18) $1,06 \times 10^{-5}$; (19) $1,18 \times 10^{-5}$; (20) $1,3 \times 10^{-5}$; (21) $1,42 \times 10^{-5}$; (22) $1,54 \times 10^{-5}$; (23) $1,68 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ , $v = 0,05$ V s ⁻¹ . (B) - A curva analítica. A equação da reta obtida foi: $(i_p / \mu A) = -1,07 + 4,84^6[CTQ]$ mol L ⁻¹ e coeficiente de relação foi igual a 0,999.....	39
Figura 17 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos com o ECI/NTC para determinação de catequina em chá preto (Dr. Oetker); (a) amostra, (b) amostra + $4,53 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ , (c) amostra + $1,07 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ , (d) amostra + $1,37 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹ de solução padrão de CTQ, $v = 0,05$ V s ⁻¹ . (B) - A curva analítica. A equação da reta obtida foi: $(i_p / \mu A) = -11,71 + 2,06 \times 10^6[CTQ]$ mol L ⁻¹ e coeficiente de relação foi igual a 0,999.....	42
TABELA 1 - Comparação entre os resultados obtidos pelo método proposto e alguns autores para determinação de CTQ.....	40
TABELA 2 - Estudo de adição e recuperação de catequina em chás preto usando o método proposto.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CTQ – Catequina

UV - Ultravioleta

HPLC - High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Performance)

DAD – Diode Array (Detector de Diodo)

HPLC/DAD – Cromatografia Líquida de Alta Performance com Detector de Diodo

EQM – Eletrodo Quimicamente Modificado

ECI – Eletrodo de Carbono Impresso

NTC – Nanotubo de Carbono

TME – Transmissão Microscópica de Elétrons

NTCPM – Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas

ECI/NTC – Eletrodo de Carbono Impresso Associado a Nanotubo de Carbono com Pré-Tratamento.

ECI/NTC/SPT – Eletrodo de Carbono Impresso Associado a Nanotubo de Carbono sem Pré-Tratamento.

VC – Voltametria Cíclica

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

EPC - Eletrodo de Pasta de Carbono

ECCM – Eletrodo de Compósito de Carbono Modificado

BR – Tampão Britton-Robbinson

Vs. – Versus

r – Coeficiente de Correlação

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

sd – Desvio Padrão

APRESENTAÇÃO

A dissertação intitulada “Determinação de catequinas em amostras de chá preto por eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubos de carbono funcionalizado” é apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal do Maranhão na forma de um artigo e uma dissertação, relacionados com a determinação de catequina por métodos analíticos e o uso de eletrodos quimicamente modificados a fim de validar o método para concretizá-lo eficiente.

RESUMO

A Catequina é um composto fenólico que têm grande ação oxidante, encontrados em diversos tipos de alimentos, sua aplicação inibi a radiação ultravioleta, reduz o nível do colesterol, dentre outros. Atualmente, técnicas analíticas são empregadas para a determinação de catequina, como a cromatografia gasosa e cromatografia liquida de alta eficiência, contudo a detecção eletroquímica é um método promissor, por exigir menos trabalho no preparo de amostra e um menor consumo de reagentes, uma vez que é possível identificar a espécie de interesse de maneira seletiva através de sua oxidação ou redução. Um número crescente de estudos vem mostrando a necessidade de um procedimento rápido para a avaliação do teor de catequina e técnicas eletroquímicas foram empregadas com sucesso. As atividades de pesquisa desenvolvidas neste trabalho foram de caracterização e otimização dos parâmetros utilizados para a determinação da catequina em eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubo de carbono funcionalizado por meio da técnica de voltametria cíclica e aplicação na quantificação deste analito em amostra de chá preto. Os melhores resultados foram obtidos a uma concentração de 1×10^{-3} mol L⁻¹ de catequina em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 a uma velocidade de varredura de potencial de 0,05 V s⁻¹. A partir destas condições foi obtida uma curva analítica com comportamento linear no intervalo de concentração de catequina entre $2,0 \times 10^{-7}$ a $1,68 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com limites de detecção e de quantificação de $9,2 \times 10^{-8}$ e $3,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente. A oxidação da catequina apresentou um pico localizado em torno de 0,15V vs Ag/AgCl, estando próximo dos potenciais de pico mostrado na literatura.

Palavras Chave: Catequina, Eletrodo de Carbono Impresso, Nanotubo de carbono e Sensor Eletroquímico.

ABSTRACT

The catechin compound is a phenolic that has a great oxidant action, it is found in a different kinds of food such as wine, juice and tea, its application to inhibit ultraviolet radiation, reduces the level of cholesterol, among others. Currently, techniques are used for determining catechin as a gas chromatography, high performance liquid chromatography, although the electrochemical detection method is a promising yet, because it is less cumbersome and can distinguish between the oxidized and the reduced form of catechin. A growing number of studies has shown the necessity for a hurry procedure to available the content of catechin and electrochemical techniques have been successfully employed. The research activities carried out in this study were the characterization and optimization of the parameters used for the determination of catechin in a printed carbon electrode modified with functionalized carbon nanotube by means of cyclic voltammetry technique and application in the quantification of this analyte in a sample of black tea. The best results were obtained at a concentration of $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ through catechin phosphate buffer 0.1 mol L^{-1} pH 7.0 using a potential sweep rate of 0.05 V s^{-1} . From these conditions an analytical curve was obtained by linear response over the concentration range of catechin between 2.0×10^{-7} to $1.68 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, as limits of detection and quantification of 9.2×10^{-8} and $3.0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectively. The oxidation of catechin showed a peak located around 0.15 V vs. Ag / AgCl potential being near the peak shown in the literature.

Keywords: Catechin. Printed Carbon Electrode. Carbon Nanotubes and Electrochemical Sensor.

1 - INTRODUÇÃO

A busca por uma vida melhor é o que rege a população desde os primórdios. E é por isso que é cada vez maior o interesse da população e da comunidade científica em alimentos contendo compostos bioativos, tais como os antioxidantes fenólicos, que atuam como pigmentos naturais e possuem um importante papel quando se correlaciona seu consumo a uma menor incidência de doenças crônico-degenerativas (Lai, et al., 2001; Pinheiro, et., al, 2005).

1.1 - Antioxidantes

Os antioxidantes são moléculas instáveis e altamente reativas pelo fato de seus átomos possuírem um número ímpar de elétrons, agem como eliminadores dos radicais livres, são agentes quelantes metálicos e inibidores da oxidação lipoprotéica e também exibem propriedades relacionadas a prevenção à oxidação, inflamação, alergias e câncer (King, et. al., 2006; Seruga, et. al., 2011).

Os polifenóis constituem um grupo heterogêneo, composto de várias classes de substâncias com propriedade antioxidante. Essas substâncias estão presentes em vários alimentos e bebidas, mas em especial na uva e em seus derivados (WU, 2006).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, são formados em condições de estresse, tais como, infecções, ferimentos e radiações UV, dentre outros (Naczki e Shahidi, 2004).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. Dentre os fenólicos, destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os mais comuns antioxidantes fenólicos de fonte natural (King e Young, 1999; Tieppo et. al., 2007).

A estrutura química dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C (Figura 1). O anel aromático A é derivado do ciclo acetato/malonato, enquanto o anel B é derivado da fenilalanina (Merken e Beecher,

2000). Variações em substituição do anel C padrão resultam em importantes classes de flavonóides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), isoflavonas e antocianidinas (Hollman e Katan, 1999).

Substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonóides. Estas substituições podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfatação (Hollman e Katan, 1999).

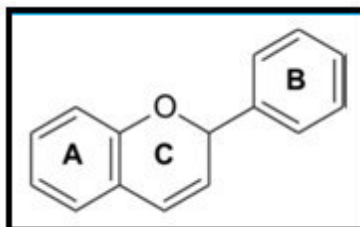


Figura 1 - Estrutura Química dos Flavonóides

Dentre os polifenóis mais estudados em vegetais, com a finalidade de se determinar as suas capacidades antioxidantes, estão os ácidos clorogênico, caféico, gálico e tânico, as catequinas, entre outros (Halliwell, et al., 1995).

1.2 - Catequinas

Entre tais compostos, a catequina é um composto fenólico que têm despertado grande interesse dos pesquisadores devido à ação antioxidante encontradas em frutas, chás, vinhos, e, conseqüentemente, seu efeito fisiológico benéfico à saúde (Masukawa et. al., 2006; Ozyurt et. al., 2007; El-Hady e El-Maali, 2008).

As catequinas são os membros mais importantes da classe dos flavonoides, elas foram reconhecidas como um antioxidante potente e uma destruidora de radicais livres (Le Neste, et. al., 2004; Yilmaz, 2006).

As catequinas têm sido associadas com muitos benefícios à saúde, incluindo, diminuição da fragilidade capilar (Tieppo, 2007), a prevenção de dano ao DNA, devido à oxidação e à melhoria do fluxo sanguíneo, logo, da função hepática (Wang, et. al., 2008). As catequinas são, portanto tanto anti-mutagênicas e anticarcinogênicas (Mochizuki et. al., 2005). Foi também demonstrado para proteger os neurônios e células hepáticas contra os danos dos radicais livres gerados durante isquemia (Katiyar, et. al.,

2001; El-Hady E El-Maal, 2008), aumentar a resistência de glóbulos vermelhos do sangue ao estresse oxidativo (Youdim, et. al., 2000; Korish, 2008).

Outras aplicações do uso de catequina é na progressão de retardo das lentes de cataratas (Thiagarajam, et. al., 2007) inibir a radiação ultra-violeta que causa câncer na pele (Wang, et. al., 2008) e reduzir o nível de colesterol por proteger lipoproteínas de baixa densidade a partir de oxidação (Wang, et. al., 2003). A estrutura da Catequina está representada na Figura 2.

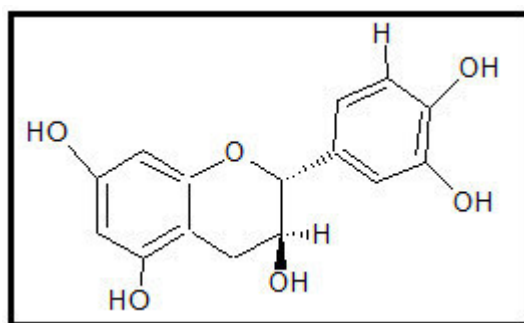


Figura 2 – Estrutura Molecular da Catequina

1.3 - Métodos de Análise de Catequina

Para a determinação de antioxidantes, dentre eles os polifenóis são geralmente utilizados os métodos espectrofométricos e cromatográficos, tais métodos são bastante sensíveis, no entanto, requerem instrumentos caros, consomem muito tempo, usam reagentes tóxicos, ou fornecem altos limites de detecção (Amin e Sulaiman, 1984; Onur E Acar, 1992; Lupetti, et al., 2005). Os métodos tradicionais para a detecção de catequinas incluem cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Zhone et. al., 2002; Nishitani e Sagezaka, 2004; Masukawa et. al., 2006;), combinada com quimiluminescência (Nakawa e Miyazawa, 1997; Kim, et. al., 2000), espectrofotometria (Ozyurt et. al., 2007) eletroquímica (Lee, et. al., 2000; Janeiro e Brett, 2004; Jarosz-Wilkotazka et. al. 2004; Roy et. al. 2005; Wu, et. al, 2005; El-Hady, 2007; El-Hady e El-Maali, 2008; Fernandes et. al., 2008), UV e detecção fluorimétrica (Rodriguez-Delgado et. al., 2001).

A eletroforese capilar com detecção electroquímica foi também desenvolvido para determinar catequinas (Tsukagoshi et. al. 2007; Chen et. al., 2008). Romani (2000) fez uma análise comparatória do HPLC com detector Diody Array (DAD) com

eletrodos de carbono impresso e biossensores para determinação de polifenóis. No qual os melhores resultados foram por meio do método HPLC/DAD, o eletrodo de carbono impresso foi considerado como um método de rastreio rápido, e a utilização de biossensores carece de aperfeiçoamento do desempenho.

Técnicas que fornecem baixos limites de detecção e uma gama de informações que caracterizam eletroquimicamente alguns sistemas, como as técnicas analíticas têm algumas vantagens sobre outros métodos, tais como, instrumentação relativamente barata, uso de quantidade menor de reagentes, além de serem instrumentos de manuseio fácil (Skoog, et al. 2006).

Contudo, o desenvolvimento de novos métodos que possibilitem o mínimo de reagentes e um menor tempo de análise é muito importante. Um campo tem se destacado, o de desenvolvimento de novos eletrodos (Blasco, et al., 2004). O desenvolvimento desses eletrodos se dá principalmente devido aos novos desafios impostos por amostras de interesse clínico, hospitalar, ambiental, alimentício, farmacêutico, entre outros (Luz et. a., 2006; Janegitz, et. al., 2007).

Os sensores químicos são dispositivos que permitem a coleta de dados e obtenção de informações com manipulação mínima do sistema estudado. Desta forma, os resultados obtidos podem ser analisados e correlacionados com outros parâmetros no ambiente em que estão inseridos.

Características vantajosas também inerentes ao uso de sensores químicos referem-se à portabilidade, facilidade de automação, possibilidade de miniaturização e baixo custo. Trabalhos de desenvolvimento de sensores eletroquímicos referem-se a investigações com sensores de diversos tipos e incluem transdução potenciométrica, amperométrica, piezoelétrica, óptica, térmica, condutométrica, entre outras. Percebe-se, portanto, a vastidão de uma área vigorosamente crescente.

Neste contexto, este projeto de trabalho de pesquisa apresenta uma proposta da realização de um estudo sistemático das propriedades eletroquímicas e eletroanalíticas de EQM frente à catequinas.

1. 4 - Eletrodos Quimicamente Modificados

Atualmente, está acontecendo uma busca crescente por sensores quimicamente modificados com melhores características, tais como alta sensibilidade, seletividade e estabilidade (Vo-Dinh, et al., 2000; Jarosz-Wilkolazka, et al., 2004). Além disso, outras características importantes dos sensores químicos referem-se à portabilidade, facilidade de automação, possibilidade de miniaturização e baixo custo.

Para obter uma maior eficácia das técnicas atuais, uma área que está aumentando a aplicabilidade e eficiência dos sensores eletroquímicos, é a que compreende os chamados eletrodos quimicamente modificados (EQM) (Wang, 1991; Cox et al., 1996, Tanaka, et. al., 2003; Janegitz, et. al., 2007).

A denominação eletrododo quimicamente modificado foi utilizada inicialmente por Murray e colaboradores, na década de 70, para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas convenientemente imobilizadas na superfície desses dispositivos (Moses, 1975; Suarez, 2005; Junior, 2007).

A modificação do eletrodo concretiza a eficácia de características físico-químicas, tais como: seletividade, reatividade, estabilidade química, resistência mecânica e excelente condutividade elétrica, mas a principal vantagem frente a eletrodos não modificados é a capacidade de catalisar a oxidação de espécies que revelam altos potenciais, viabilizando dessa forma a proposta de desenvolver dispositivos com respostas mais adequadas, como o propósito de se determinar substâncias (Nakashima, et. al., 2000; Do Carmo, et. al., 2003; Turdean, et. al., 2006).

A escolha do eletrodo base é uma das partes cruciais para o preparo de um EQM. Esse substrato deve apresentar características eletroquímicas apropriadas que dependem tanto do tipo de modificador quanto do método de imobilização selecionado. Os materiais mais usados são o ouro, carbono vítreo, platina, mercúrio, na forma de filme, fibras de carbono, de pasta de carbono (Pereira, et, al., 2002).

Em 2002 Pereira, et. al., fizeram um estudo da evolução dos eletrodos modificados e demonstraram esse estudo em um esquema considerando a construção do eletrodo modificado e o que se obteve com esse melhoramento ao longo do tempo (Figura 3).

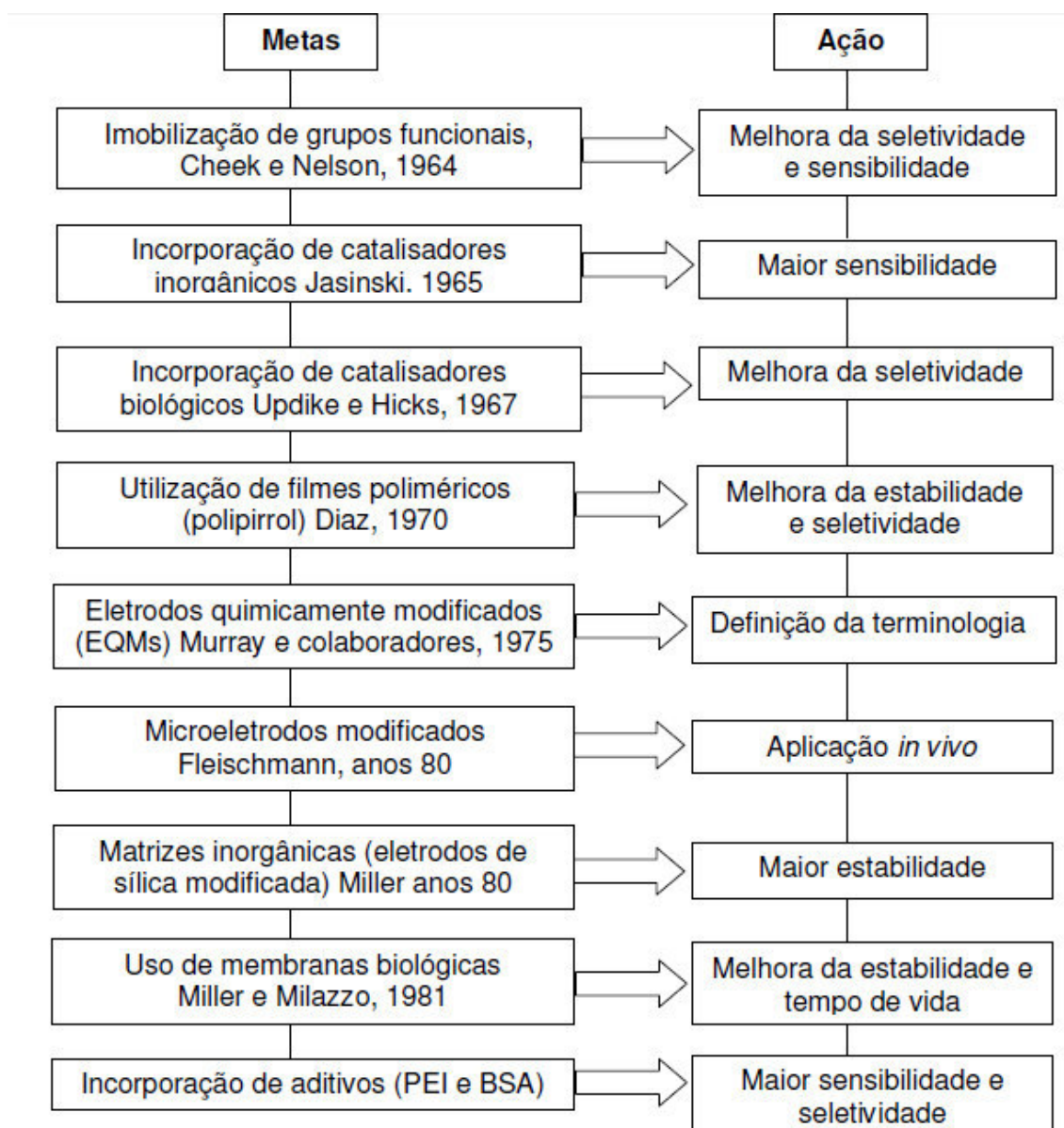


Figura 3 – Quadro esquemático do estudo sobre o desenvolvimento dos EQMs (Pereira, et. al., 2002).

A modificação do eletrodo deve ser com substratos adsorvidos irreversivelmente com funcionalidades desejadas (Skoog, et. al., 2002). Segundo Yang (2009), os nanotubos de carbono (NTC) é um dos materiais mais promissores para o desenvolvimento de sensores na área da eletroanalítica devido suas duas principais propriedades: a grande área superficial permitindo a ampliação do sinal analítico e a eletrocatalise, devido ao fato dos NTC possuírem um mecanismo de transporte de elétrons.

Os NTCs foram descobertos através de transmissão microscópica de elétrons (TME) por Lijima em 1991. Eles exibem uma combinação elétrica, mecânica, térmica, óptica e estrutural que os tornam componentes potencialmente importantes, optoeletrônicos, de alta resistência e materiais biomédicos (Casagrande, et. al., 2008).

Nanotubos de carbono podem comportam-se como condutor ou semicondutor, de acordo com a estrutura atômica, que apresenta uma ampla gama de aplicações potenciais, tais como reservatórios de gás, eletrodos de baterias e displays de emissão de campo (Luo, et. al., 2001; Jang, et. al., 2002).

As propriedades eletrônicas sugerem que os nanotubos de carbono têm a capacidade de promover reações de transferência eletrônica, quando utilizado como modificação em eletrodos em reações electroquímicas (Wang, et. al., 2007/A). Com os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) é um sistema bem definido em termos de propriedades eletrônicas (Wang, et. al., 2007/B).

Os NTCPM podem ser considerados como fios quânticos e nanotubos de carbono são os melhores sistemas para investigar propriedades intrínsecas (NTC) devido à sua simplicidade estrutural (Gan, et. al., 2004). Comparado com outros eletrodos nanotubos de carbono, a preparação de modificação com os NTCPM é econômica, simples e conveniente (Luo, et. al, 2001). Assim, os eletrodos de nanotubos de carbono modificados têm sido utilizados para detectar um grande número de compostos (Zeng, et. al., 2006; Xiao, et. al., 2008).

Neste Trabalho foi utilizada a técnica de Voltametria cíclica (VC) como método voltamétrico para a determinação de catequinas em amostra de chá preto, utilizando um eletrodo de carbono impresso (ECI), no qual já estão presentes um eletrodo de trabalho de carbono modificado com nanotubos de carbonos (NTC), um contra eletrodo de carbono e um de referência de prata. Os resultados obtidos usando o ECI/NTC foi comparado a outros trabalhos considerando-se sua sensibilidade e limite de detecção.

2 - OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

Este trabalho tem por objetivo geral avaliar o comportamento do eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubo de carbono.

2.2 – Objetivos Específicos

- Preparar e caracterizar eletrodos de carbono impresso associado à nanotubo de carbono (ECI/NTC) utilizando a técnica de voltametria cíclica;
- Verificar a resposta eletroanalítica do eletrodo de carbono impresso com e sem a modificação com nanotubo de carbono funcionalizado e não funcionalizado para determinação de catequina;
- Avaliar a influencia da velocidade de varredura, bem como fatores como a concentração, pH e a natureza do eletrólito suporte na determinação de catequina em ECI/NTC.
- Determinar catequina em amostra de chá preto com ECI/NTC empregando a técnica de voltametria cíclica.

3 - PARTE EXPERIMENTAL

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico e preparados com água deionizada em sistema Milli-Q da Millipore.

Durante os experimentos, toda vidraria utilizada passou por um procedimento de limpeza para assegurar a ausência de quaisquer resíduos orgânicos ou metálicos que pudessem interferir nas análises. Para isto, antes de cada experimento a vidraria foi submetida a uma limpeza com permanganato de potássio por cerca de trinta minutos, e, depois com solução piranha (H_2SO_4 : H_2O_2 , v:v) por cerca de dez minutos e posteriormente lavado com água destilada, antes de cada experimento.

Antes de cada análise, as soluções eletrolíticas foram desaeradas por borbulhamento com N_2 do tipo 5.0 – Gases especiais da White Martins S. A. (São Luís-MA) por aproximadamente 10 segundos, para a eliminação da interferência causada pelo oxigênio nas curvas corrente/potencial. As soluções de Catequina foram preparadas diariamente antes de cada experimento.

3.1 - Reagentes e Soluções

Solução de Catequina: a Catequina, $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$ de massa molar 290,28 g/mol foi adquirida do laboratório Sigma-Adrich Company. Para o preparo da solução de estoque de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ Catequina foi pesado 0,0144 g de catequina e dissolvida em água deionizada.

Solução Tampão Fosfato: a solução foi preparada pela mistura 250 mL de uma solução KH_2PO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, preparada pela dissolução de 3,4022 g de KH_2PO_4 em água, com 250 mL de uma solução K_2HPO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, preparada pela dissolução de 4,3545 g de K_2HPO_4 (Merck) em água.

Solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: para preparar 100 mL de solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH pesou-se 0,2 gramas e diluiu em água.

Solução de NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$: Pesou-se 2 gramas de NaOH para preparar 250 mL de solução de NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$.

Solução de Tampão Britton-Robbinson (BR): (pH 2,0 a 10) foi preparado pela mistura de soluções $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ formado pelos ácidos acético, bórico e fosfórico, sendo o pH ajustado pela adição de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl.

Solução tampão de McIlvaine: a solução foi preparada pela mistura de Na_2HPO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e ácido cítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Solução tampão de Sörensen: a solução foi preparada pela mistura de uma solução de 30 mL de uma solução Na_2HPO_4 $0,066 \text{ mol L}^{-1}$ com uma solução de 20 mL KH_2PO_4 $0,066 \text{ mol L}^{-1}$.

Solução Alcalina de Permanganato de Potássio: foram dissolvidos 3,0 g de KOH (Merck) em 1 (um) litro de água e adicionou-se 1,5 g de KMnO_4 (Merck).

Solução “Piranha” (H_2SO_4 : H_2O_2 (v:v): num balão volumétrico de 1.000 mL de capacidade, 200,0 mL de H_2SO_4 (Merck) concentrado foram adicionados cuidadosamente a 150,0 mL de H_2O_2 (Merck) num banho de gelo e em seguida, o volume foi completado para 1000 mL com água.

3.2 - Funcionalização do NTCs

Funcionalização consiste em misturar 0,1g de nanotubo de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) (Aldrich) e o adicionou a uma solução de 30 mL de H_2SO_4 e 20 mL de HNO_3 . Agitou-se essa solução por 12 horas, em seguida filtrou-se à vácuo com água deionizada a $70 \text{ }^\circ\text{C}$ até o pH ficar equivalente ao da água (Stoytcheva et.al., 1995).

3.2.1 - Preparação das suspensões de NTC

A modificação dos NTCPM funcionalizados foi feita a partir da mistura 0,005 g de pó de NTCPM; 1,4 mL de água deionizada; 1,0 mL de metanol e 0,1 mL de náfion. Essa mistura foi submetida a 30 minutos de banho de ultrasson até a formação de uma suspensão homogênea (Stoytcheva et.al., 1995).

3.2.2 - Modificação do ECI com nanotubo funcionalizado

O eletrodo de carbono impresso foi modificado por meio da deposição de $7,0 \mu\text{L}$ da suspensão homogênea de NTC, em seguida o eletrodo foi colocado em um dissecador acoplado a bomba de vácuo para a evaporação (Stoytcheva et.al., 1995).

3.3 - Célula Eletroquímica

Utilizou-se um conjunto de eletrodos de carbono impresso adquiridos da DropSens, onde neste sistema estão reunidos três eletrodos, um eletrodo carbono como o de trabalho (4 mm de diâmetro), um eletrodo de referência de prata e um auxiliar de carbono, todos impressos em tinta de material condutor a base de carbono, sobre um suporte cerâmico conforme apresentado na figura 4 (A) e a figura 4 (B) mostra uma célula eletroquímica com capacidade de 5 mL respectivamente na qual foi imerso o eletrodo para as medidas voltamétricas.

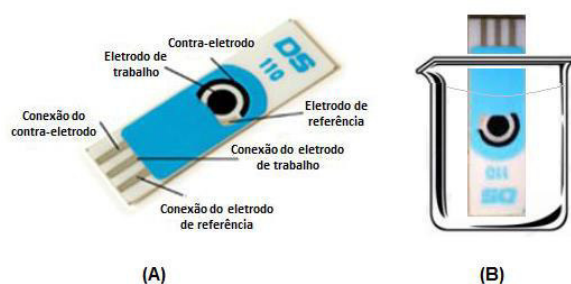


Figura 4 – Representação esquemática do (A) dispositivo contendo os eletrodos impressos e (B) béquer utilizado como célula eletroquímica.

Para a conexão dos eletrodos foi utilizado um “plug”, o qual é encaixado na extremidade dos contatos elétricos e ligados à saída dos eletrodos do potenciostato.

3.4 - Instrumentação

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato da Autolab[®] modelo PGSTAT302N interfaceado a um computador para controle de potencial, aquisição e tratamento de dados.

As pesagens foram feitas em uma balança analítica SHIMADZU de modelo AW220, com precisão de $\pm 0,0001$ g.

3.5 - Procedimentos Experimentais

3.5.1 - Voltametria cíclica

A técnica de voltametria cíclica é um método amplamente utilizado para obter informações qualitativas sobre reações eletroquímicas, da cinética de reações de

transferência de elétrons, da detecção de intermediários de reações químicas acopladas ou processos adsorptivos, como também de determinar por qual processo as espécies chegam à superfície do eletrodo (Kissinger, et. al., 1996; Wang, 2000; Scholz, 2002).

Este método foi empregado para o estudo preliminar dos perfis voltamétricos da catequina, para a escolha de um melhor eletrólito suporte, estudo do pH do meio, estudo da força iônica e estudo do efeito da velocidade de varredura. Além disso, essa técnica foi utilizada para propor um procedimento eletroanalítico para determinação de CTQ em chás utilizando eletrodos de carbono impresso.

3.5.2 - Determinação de catequina em chás

Pesou-se 1,8 gramas de chá preto e transferiu-se para um béquer de 50 mL contendo 10 mL de água purificada à 60 °C e deixados por 5 minutos tampados com uma placa de petri. A efusão foi filtrada em filtro seringa 0,22 µm. Alíquotas de 500 µL desta solução foram transferidas com o auxílio de micropipeta para a célula eletroquímica contendo 5 mL do eletrólito suporte para a realização das medidas voltamétricas.

Uma amostra de chá preto (Dr. Oetker) contendo folhas e brotos de *Camélia sinensis* foi analisada usando a técnica de voltametria cíclica.

3.5.3 - Estudo de Adição e Recuperação

O estudo de interferentes em potencial para a amostra de chá preto foi realizado em triplicata por meio da adição de alíquotas de solução padrão de CTQ em três diferentes concentrações (2×10^{-7} mol L⁻¹, 9×10^{-6} mol L⁻¹ e 2×10^{-5} mol L⁻¹) em uma solução de 5 mL do eletrólito suporte, para a realização das medidas de voltametria cíclica. É importante frisar que esta amostra não teve tratamento prévio com o analito padrão, recuperando apenas a CTQ contida nos brotos e nas folhas de *Camélia sinensis* contidas nos sachês.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, serão apresentados os resultados obtidos com os testes voltamétricos utilizados para determinação de Catequina (CTQ) utilizando eletrodo de carbono impresso associado à nanotubo de carbono (ECI/NTC). Os resultados obtidos tiveram parâmetros eletroquímicos previamente otimizados para a determinação da CTQ.

Foram realizados experimentos eletroquímicos através da técnica de Voltametria Cíclica utilizando o ECI/NTC, para a determinação de Catequina. Após as condições experimentais otimizadas foram realizadas medidas voltamétricas para determinação de catequina em chá preto.

4.1 - Estudo Comparativo dos Eletrodos

Inicialmente realizou-se um estudo comparativo entre os eletrodos de carbono impresso (ECI), eletrodo de carbono impresso associado à nanotubo de carbono sem pré-tratamento (ECI/NTC/SPT) e eletrodo de carbono impresso associado à nanotubo de carbono pré-tratado (ECI/NTC), para determinar qual eletrodo seria mais eficiente na determinação de catequina. Na figura 4 estão os voltamogramas cíclicos em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0 na presença de Catequina 1x10⁻⁴ mol L⁻¹ sobre os eletrodos ECI, ECI/NTC/SPT e ECI/NTC.

Observou-se que o ECI/NTC demonstrou melhor resultado uma vez que apresentou melhor pico, maior área, melhor aparência de quase reversibilidade frente o analito de acordo com a figura 5, justificando a escolha de usar o ECI/NTC para os estudos subsequentes de determinação da CTQ.

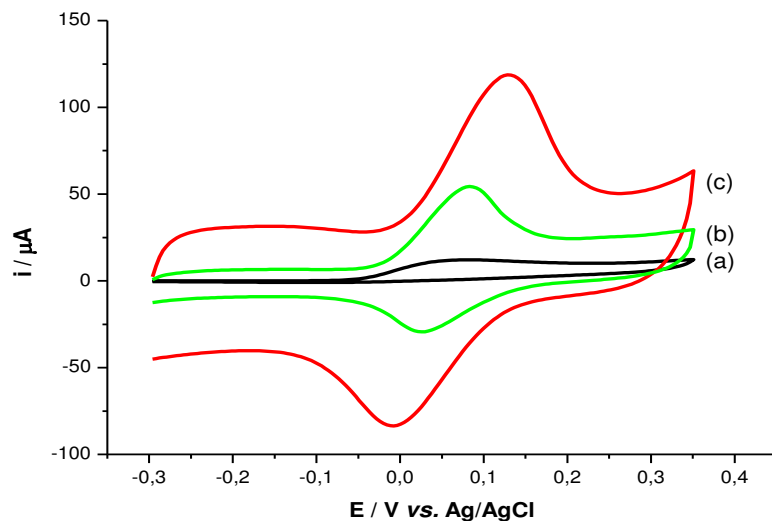


Figura 5 – Voltamogramas cíclicos em meio de solução Tampão Fosfato pH 7 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrodos: (a) ECI; (b) ECI/NTC(SPT) e (c) ECI/NTC, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

4.2 - Avaliação da resposta eletroquímica da catequina sobre o eletrodo de carbono impresso pré-tratado

De acordo com os dados anteriores o eletrodo que melhor se comportou frente à oxidação de CTQ foi o ECI/NTC com base nisso, os estudos posteriores foram realizados utilizando este eletrodo. Utilizou-se a técnica de voltametria cíclica para analisar o comportamento eletroquímico do ECI/NTC em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ilustrado na figura 6.

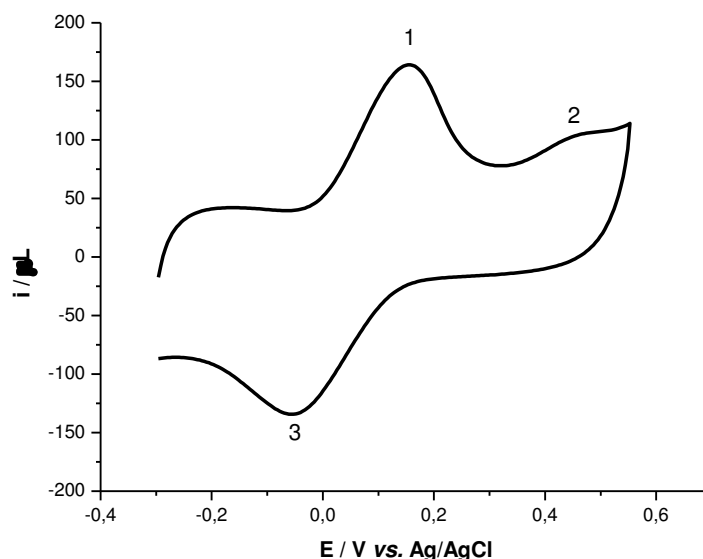


Figura 6 – Voltamograma cíclico do ECI/NTC em solução de Tampão Fosfato pH 7 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

A Figura 6 mostra o voltamograma cíclico da CTQ até o potencial 0,55 V mostrando a presença de três picos, o pico 1 em 0,12 V sendo reversível está de acordo com o estabelecido na literatura (Mochizuki, et. al., 20002; Janeiro e Brett, 2004), estes indicam que o pico 1 está associado com a oxidação do grupo catecol e envolvendo 2 elétrons e 2 próton, com a formação de orto-quinona como produto conforme a figura 7, o pico 2 em 0,45 V sendo irreversível, este pico está associado com o grupo OH na posição 3 do anel C, de acordo com estudos com a 3-hidroxi flavona que exibiu um pico de oxidação em 0,5 V no pH 7 (Hendrickson, et. al., 1994).

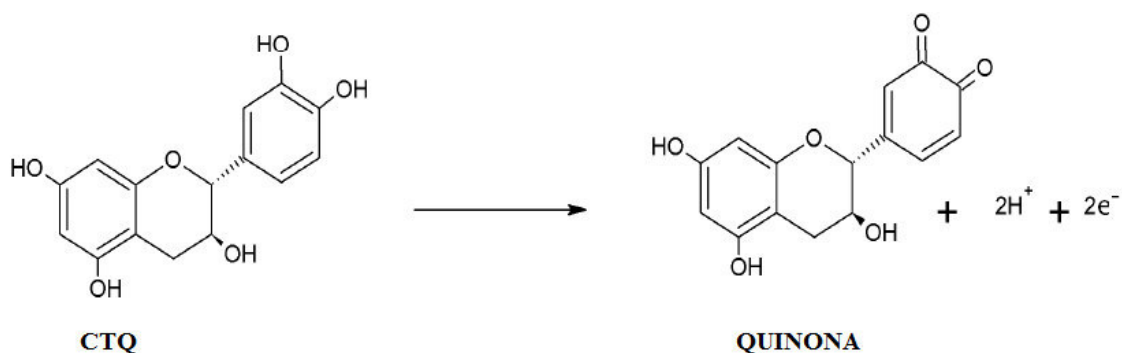


Figura 7 – Mecanismo de Oxidação da Catequina.

No entanto ao repetir sucessivas varreduras, o voltamograma da CTQ sofre um deslocamento no potencial de pico e uma queda brusca na corrente de pico devido a uma possível reação acoplada à superfície do eletrodo, com isso optou-se por delimitar o potencial até 0,35V conforme a figura 8, uma vez que ao fazer isso houve um aumento na estabilidade do pico do sinal do eletrodo frente o analito.

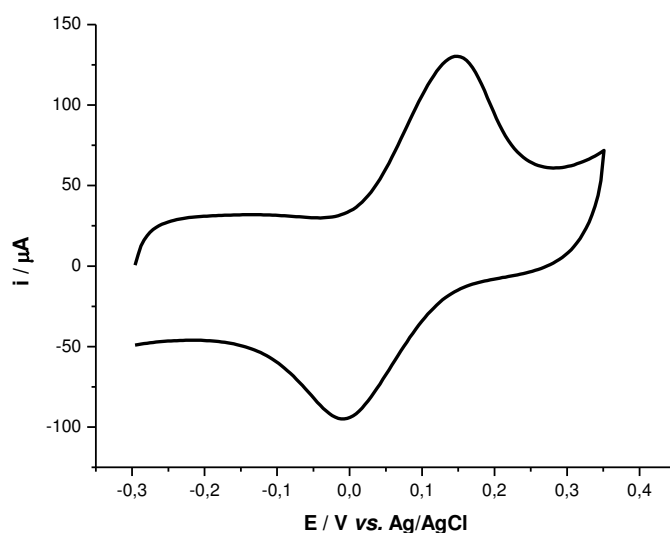


Figura 8 – Voltamograma cíclico do ECI/NTC na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹ em solução de Tampão Fosfato pH 7, $v = 0,05$ V s⁻¹.

4.3 - Estudo da natureza do meio

Para determinar qual o melhor eletrólito suporte para se determinar CTQ foram usados vários tampões, tais como o tampão fosfato, o tampão Sörensen, o tampão McIlvaine e o tampão Britton-Roinson (BR) todos em pH 7,0 de concentração 0,1 mol L⁻¹. Na figura 9 são apresentados os voltamogramas cíclicos em diferentes eletrólitos suporte na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹.

O eletrólito suporte que proporcionou uma melhor resposta para o processo de oxidação da catequina foi o tampão fosfato, com um perfil voltamétrico melhor definido, intensidade de corrente de pico ligeiramente maior e ainda, apresentou um potencial de pico menor.

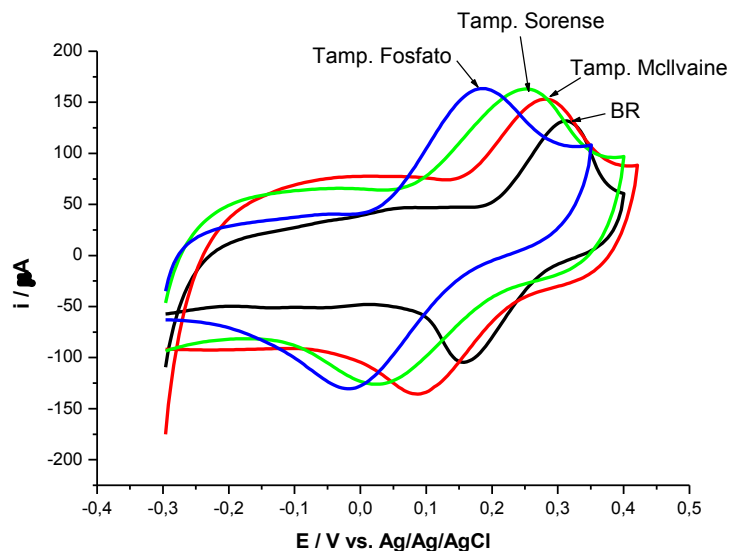


Figura 9 - Voltamogramas Cíclicos de diferentes eletrólitos do ECI-NT na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

4.4 - Estudo de força iônica

Para o estudo da força iônica em voltametria cíclica com ECI/NTC usou-se CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de solução tampão fosfato pH 7,0 em diferentes concentrações, 0,01; 0,05; 0,1 e 0,5 mol L^{-1} . Na figura 10 são mostrados os voltamogramas cíclicos referente às concentrações usadas e apresentando como melhor sinal de intensidade de corrente a concentração 0,5 mol L^{-1} , no entanto selecionou-se a concentração de 0,1 mol L^{-1} uma vez que apresenta potenciais de pico bem próximos de 0,5 mol L^{-1} , além de ser a concentração que melhor apresenta um sistema reversível.

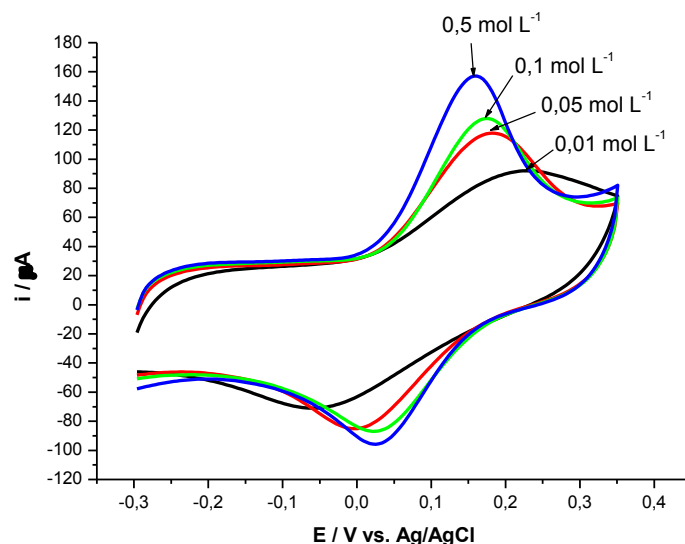


Figura 10 - Voltamogramas Cíclicos com ECI/NTC na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹ em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 em diferentes concentrações: 0,01; 0,05; 0,1 e 0,5 mol L⁻¹, $v = 0,05$ V s⁻¹.

4.5 - Estudo do pH do meio

Este estudo foi realizado utilizando o eletrólito suporte Tampão Britton-Robinson – (BR), por apresentar uma faixa tamponante ampla. Este teste é um dos parâmetros mais importantes, pois é o que determina em que pH o eletrólito suporte deve ser preparado para melhor determinar o analito em estudo.

Investigou-se a influência do pH sobre a resposta voltamétrica para a oxidação de CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹ em solução de Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ sobre o ECI/NTC variando-se o pH do eletrólito suporte entre 2,0 e 12,0.

As voltametrias cíclicas para CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹ em ECI/NTC em diferentes valores de pH podem ser visualizadas na figura 11. Observa-se um deslocamento no potencial de pico em função do pH do meio. Analisando o gráfico da figura 12 (A), potencial de pico em função do pH do meio observa-se que o maior potencial de pico se deu no pH 7,0. Na figura 12 (B) os resultados obtidos apresentam uma relação linear com inclinação de 60,6 mV / pH próxima do valor 59,2 mV / pH demonstrada pela equação de Nernst sugerindo a participação de dois prótons e dois elétrons no processo de oxidação da CTQ (Mochizuki, et. al., 2002; Janeiro e Brett, 2004).

Em valores de pH acima de 10 não são observados picos característicos de oxidação da CTQ, devido a CTQ ser oxidada à quinona que em soluções alcalinas age como ácido fraco dissolvendo-se em soluções alcalinas formando soluções laranja-avermelhadas. Contudo o melhor sinal de corrente de pico aliado a um potencial de pico menor foi observado em pH 7,0, por isso, para a otimização e seleção dos parâmetros eletroquímicos optou-se em trabalhar com uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0.

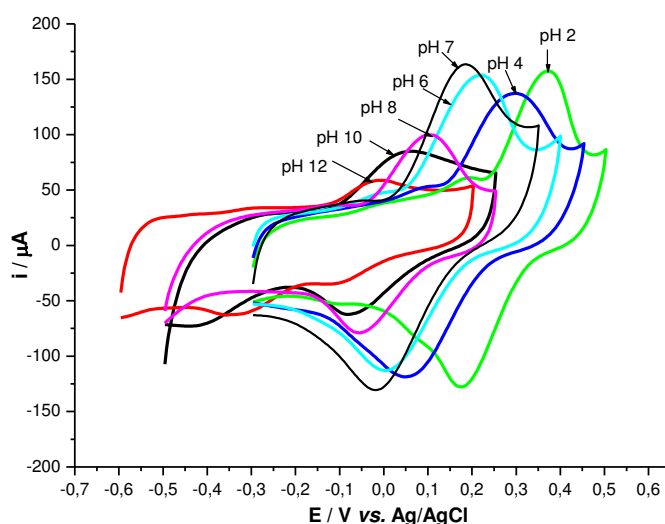


Figura 11 - Voltamogramas Cíclicos do ECI-NTC em solução de Tampão BR em diferentes valores de pH's (2 – 12) na presença de CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹, $v = 0,05$ V s⁻¹.

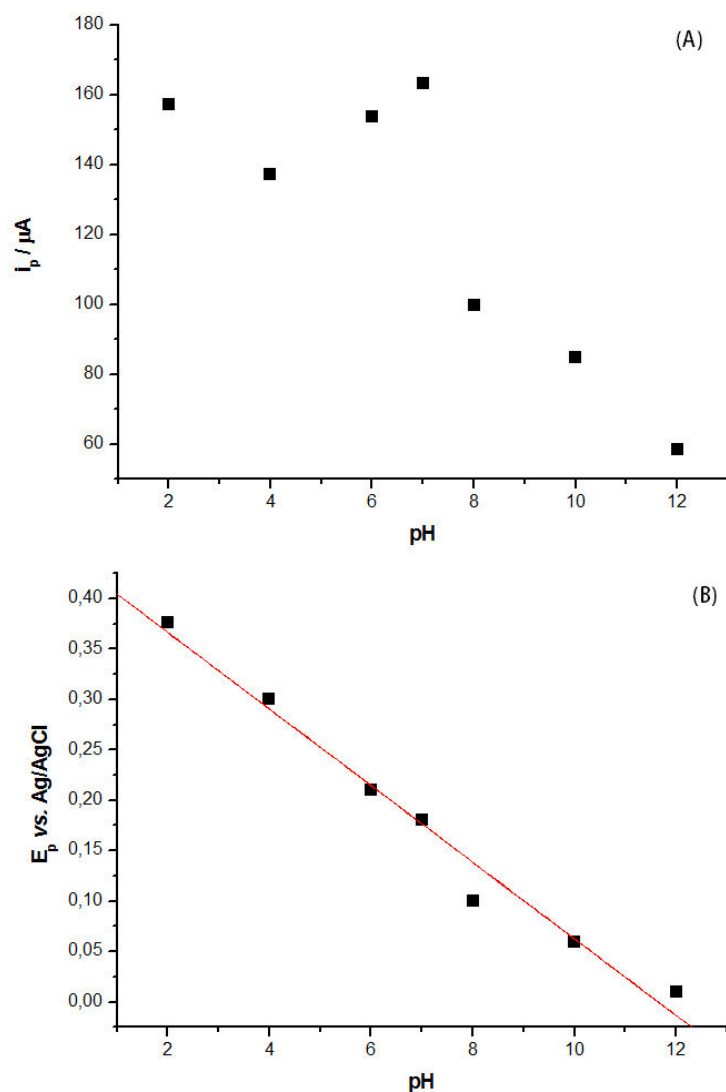


Figura 12 – (A) Corrente de pico em função do pH do meio. Dados extraído da fig. 11. (B) - Potencial de pico em função do pH do meio. Dados extraído da fig. 11.

4.6 - Estudo do efeito da velocidade de varredura

Para o estudo do efeito de velocidade de varredura de potencial foram realizados experimentos em diferentes velocidades em solução de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Na figura 13 são observados os Voltamogramas cíclicos para o ECI/NTC num intervalo de velocidade de varredura de potencial de $0,01$ e $0,1 \text{ V s}^{-1}$, no qual nota-se um deslocamento no potencial de pico, indicando um sistema quase reversível, controlado por difusão, ou seja, tendo como fator limitante o transporte de massa (Yang et. al., 2009).

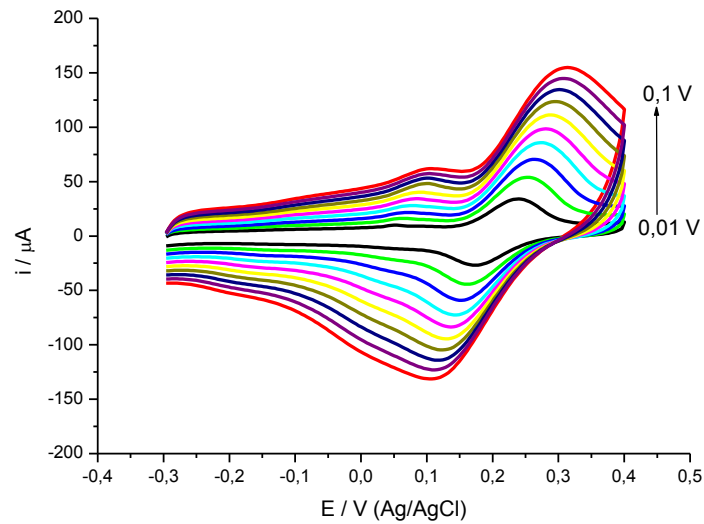


Figura 13 - Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de velocidade de varredura de potencial, 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09 e 0,1 V s^{-1} .

A dependência de corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial foi investigada conforme a figura 13, apresentando um comportamento linear com inclinação de 0,43, valor próximo a 0,5 indicado para sistemas que o processo redox é controlado pelo transporte de massa, conforme a figura 14. (Felix et. al. 2007).

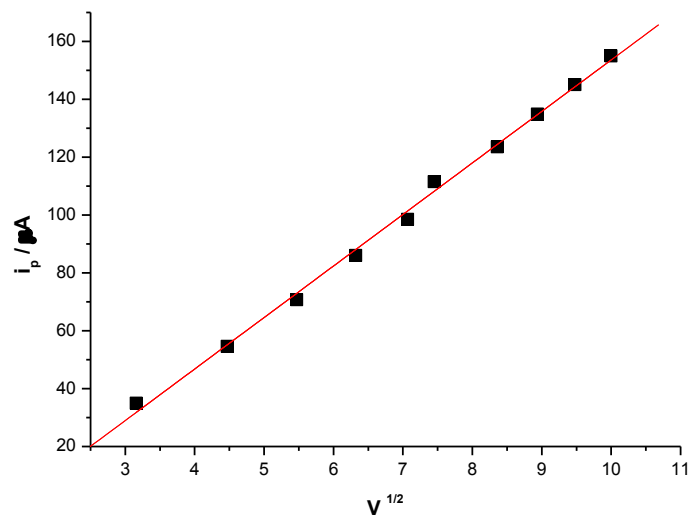


Figura 14 - Corrente de pico em função da Raiz quadrada da Velocidade. Dados extraído da fig. 13.

4.7 - Estudo de Repetibilidade

O estudo de repetibilidade foi realizado no mesmo dia, com o ECI/NTC modificado uma única vez. A repetibilidade do ECI/NTC foi estudada empregando-se uma solução de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de tampão fosfato pH 7,0. Para esse estudo foram realizadas 20 medidas ($n = 20$) no mesmo equipamento, no menor espaço de tempo possível. Na figura 15 estão sobrepostos as 20 medidas consecutivas de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em ECI/NTC. Este estudo foi realizado para avaliar a estabilidade do eletrodo frente à oxidação de CTQ. O desvio padrão relativo obtido para o estudo de repetibilidade foi de 4,05%. O ECI/NTC apresentou uma boa repetibilidade com um baixo desvio padrão relativo.

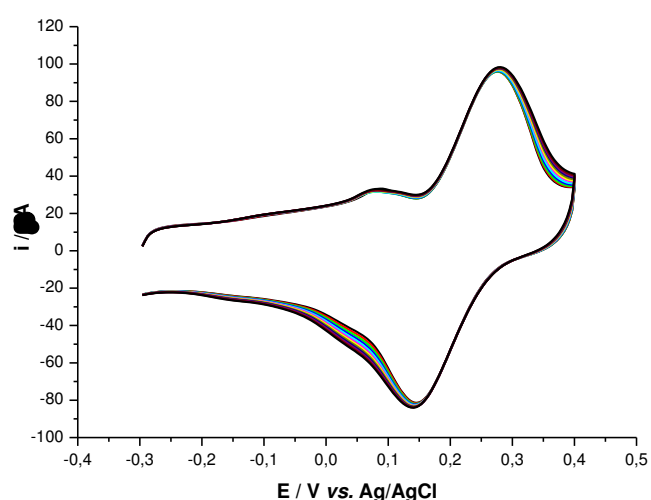


Figura 15 - Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em 20 medidas consecutivas, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

4.8 - Curva analítica

Após a otimização dos parâmetros experimentais para o ECI/NTC utilizando a técnica de Voltametria Cíclica foram realizadas sucessivas adições de catequina em diferentes concentrações no intervalo de $2,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,68 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ obtendo os VC para cada concentração conforme a figura 16 (A) e sua respectiva curva analítica como observado na figura 16 (B). Observa-se um aumento das intensidades de corrente de pico com o aumento da concentração de CTQ, o qual apresentou um coeficiente de correlação (r) de 0,999, e a equação da reta obtida está escrita na equação 4.1.

$$i(\mu\text{A}) = -1,07 + 4,84 \times 10^6 [\text{CTQ}] \quad (4.1)$$

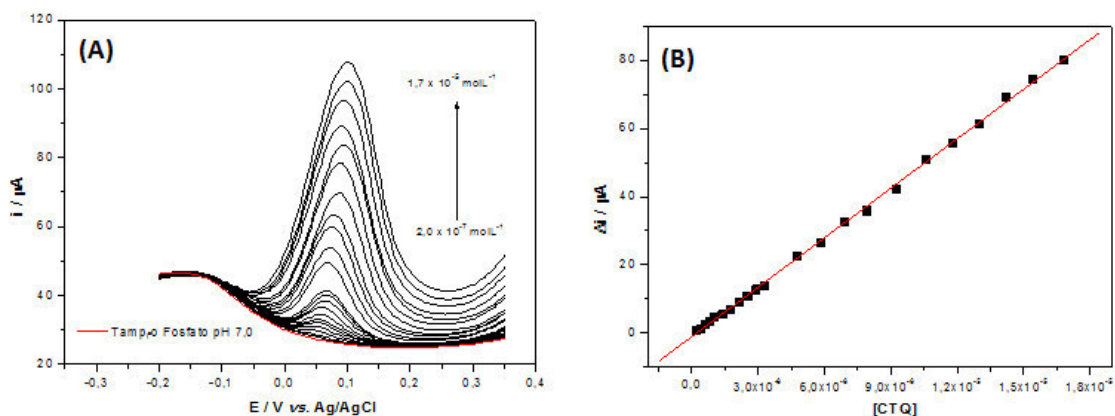


Figura 16 - (A) Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução Tampão Fosfato pH 7 na presença de diferentes concentrações de CTQ: (1) Tampão Fosfato; (2) 2×10^{-7} ; (3) $3,98 \times 10^{-7}$; (4) $5,96 \times 10^{-7}$; (5) $7,94 \times 10^{-7}$; (6) $9,9 \times 10^{-7}$; (7) $1,38 \times 10^{-6}$; (8) $1,77 \times 10^{-6}$; (9) $2,15 \times 10^{-6}$; (10) $2,53 \times 10^{-6}$; (11) $2,91 \times 10^{-6}$; (12) $3,91 \times 10^{-6}$; (13) $4,76 \times 10^{-6}$; (14) $5,84 \times 10^{-6}$; (15) $6,89 \times 10^{-6}$; (16) $7,92 \times 10^{-6}$; (17) $9,26 \times 10^{-6}$; (18) $1,06 \times 10^{-5}$; (19) $1,18 \times 10^{-5}$; (20) $1,3 \times 10^{-5}$; (21) $1,42 \times 10^{-5}$; (22) $1,54 \times 10^{-5}$; (23) $1,68 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$. **(B)** - A curva analítica. A equação da reta obtida foi: $(i_p / \mu\text{A}) = -1,07 + 4,84^6 [\text{CTQ}] \text{ mol L}^{-1}$ e coeficiente de relação foi igual a 0,999.

O limite de detecção é a menor concentração do analito presente em uma amostra e foi calculado de acordo com a equação 4.2, na qual sd é o desvio padrão dos valores obtido para 15 determinações com o eletrólito sem catequina (branco) em mesmo potencial de oxidação da catequina e b é o valor do coeficiente angular da curva analítica.

$$\text{LD} = 3 \text{ sd} / b \quad (4.2)$$

O limite de quantificação é a concentração mais baixa do analito na curva que pode ser determinada e este foi calculado de acordo com a equação 4.3:

$$\text{LQ} = x + 10 \text{ sd} \quad (4.3)$$

onde x é a média dos brancos e sd é o desvio padrão dos brancos.

Na determinação de catequina pela técnica de voltametria cíclica foram encontrados $9,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ para o limite de detecção e $3,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para o limite de quantificação.

4.9 – Quadro comparativo das condições analíticas do método proposto com valores extraídos da literatura para determinação de CTQ.

Comparando-se o presente trabalho com outros reportados na literatura pode-se notar que o valor do LD na faixa linear para o ECI/NTC merece destaque, pois mostra valores bem menores quando comparado à mesma técnica e valores muito próximos de uma técnica mais sensível que é VDP. A tabela 1 mostra os dados obtidos neste trabalho em comparação a outros dados da literatura com estudos de determinação de CTQ.

TABELA 1 – Comparação entre os resultados obtidos pelo método proposto e alguns autores para determinação de CTQ.

Eletródos	Técnica	Eletrólito	Ep (V)	LD (mol^{-1})	Referências
ECI/NTC	VC	Tampão Fosfato pH 7	0,12	$9,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	*
EPC	VC	Tampão Fosfato pH 7,4	0,20	$4,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	(El Hadi, 2008)
ECCM- Ni(OH) ₂	VPD	Tampão Fosfato pH 6,8	----	$5,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	(Freitas, 2010)
ECCM- Cu ₃ (PO ₄) ₂	VPD	Tampão Fosfato pH 6,8	0,16	$5,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	(Freitas, 2010)

*Este Trabalho

4.10 - Teste de Adição e Recuperação

O estudo de adição e recuperação de catequina em chá foi realizado para fornecer informações sobre a influência de possíveis interferentes existentes na matriz das amostras.

Para este estudo, uma amostra de chá preto foi analisada em triplicata por meio da adição de pequenas quantidades de solução padrão de CTQ em três concentrações diferentes.

As recuperações variaram entre 91% e 100,9%, estes valores indicam que não houve interferência significativa da matriz das amostras na determinação de catequina pelo procedimento analítico desenvolvido.

Os experimentos de adição e recuperação mostraram que o eletrodo ECI/NTC respondeu de forma satisfatória frente aos possíveis interferentes. Os resultados foram comparados com os obtidos na curva analítica e estão apresentados na tabela 2.

TABELA 2 - Estudo de adição e recuperação de catequina em chás preto usando o método proposto.

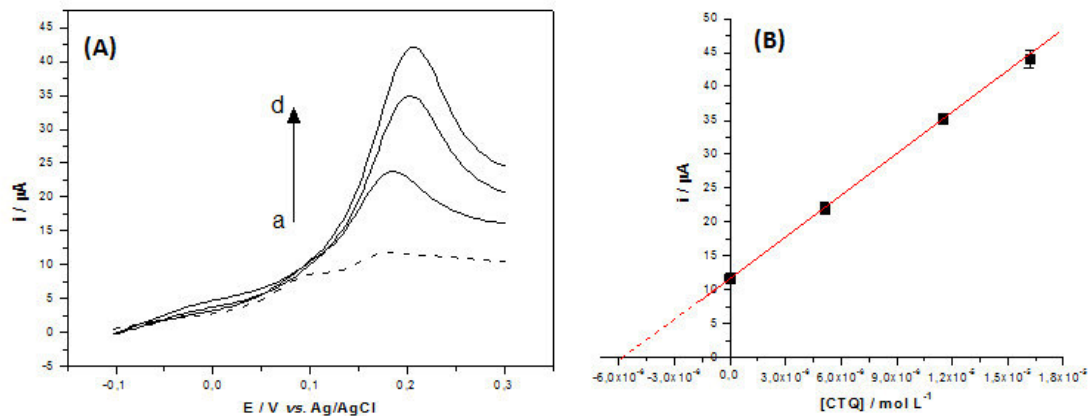
Catequina / 10⁻⁶ mol L⁻¹			
Amostra	Adicionado	Recuperado	Recuperação (%)
Dr. Oetker	4,5	4,68 (± 0,1)	96 %
	10,7	10,6 (± 0,6)	100,9 %
	13,7	14,9 (± 0,35)	91,95 %

n = 3

4.11 - Determinação de Catequina em amostras de Chá Preto

Com a finalidade de comprovar a aplicabilidade analítica do ECI/NTC, foi determinado o teor de catequina em amostras de chá preto. A determinação de CTQ foi realizada pelo método de padrão externo, utilizando a curva de calibração. Para isso foram obtidos voltamogramas cíclicos das amostras em triplicata, utilizando as condições otimizadas anteriormente.

A figura 17 (A) e 17 (B) mostram os voltamogramas obtidos pelo método de adição de padrão para a amostra de chá preto analisada e sua respectiva curva analítica respectivamente.



17 – (A) Voltamogramas cíclicos obtidos com o ECI/NTC para determinação de catequina em chá preto (Dr. Oetker); (a) amostra, (b) amostra + $4,53 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, (c) amostra + $1,07 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, (d) amostra + $1,37 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de solução padrão de CTQ, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$. **(B)** - A curva analítica. A equação da reta obtida foi: $(i_p / \mu\text{A}) = -11,71 + 2,06 \times 10^6 [\text{CTQ}] \text{ mol L}^{-1}$ e coeficiente de relação foi igual a 0,999.

5 – Conclusão

Com a realização desses estudos podemos concluir que:

- O ECI/NTC utilizado na determinação de catequina apresentou comportamento de um processo quase reversível, apresentando pico anódico em torno de 0,12 V;
- As análises do eletrólito suporte sobre o ECI/NTC mostraram que os aspectos analíticos foram melhores para o tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0;
- Verificou-se através dos estudos de velocidade de varredura uma relação linear entre os valores das correntes de pico anódico e a raiz quadrada das velocidades, indicando que o sistema é controlado por difusão.
- No estudo da repetibilidade das medidas, o desvio padrão relativo obtido para o ECI/NTC foi de 4,05 %, mostrando que o ECI/NTC apresentou uma boa repetibilidade com um baixo desvio padrão relativo nas medidas voltamétricas para a determinação da catequina.
- A curva analítica obtida por voltametria cíclica apresentou limites de detecção e quantificação de $9,2 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e $3,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente, sendo esta técnica empregada a determinação de CTQ.

Diante dos resultados expostos, comprova-se a viabilidade do uso do eletrodo de carbono impresso associados à nanotubos de carbono funcionalizados como um sensor eletroquímico para determinação de catequina em amostras de chá preto, principalmente levando em consideração que o procedimento proposto apresenta algumas vantagens sobre métodos padrões por tratar-se de um sistema portátil podendo perfeitamente trocar o potenciostato da Autolab[®] modelo PGSTAT302N por um mini potenciostato conectado via USB a um notebook e utilizando um eletrodo descartável e baixo custo, sistema ideal para uma análise em campo.

6 - Atividades Futuras

Comparar o método proposto com outros métodos tais como espectrofométricos, cromatográficos e análise por injeção de fluxo a fim de validar o método proposto.

Desenvolver um eletrodo quimicamente modificado para a determinação de catequina usando a mesma metodologia proposta nesse trabalho a fim de validá-lo usando métodos espectrofométricos e cromatográficos como fonte comparativa.

7 - Referências

AMIN, D.; SULAIMAN, S. T. Titrimetric, spectrophotometric, and polarographic determination of resorcinol, catechol, and phloroglucinol. *Analyst*, 109, 739–741, 1984.

BLASCO, A. J.; GONZÁLEZ, M. C.; ESCARPA, A. Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using diferencial pulse voltammetry: Towards an electrochemical index of natural antioxidants. *Analytica Chimica Acta*. 511, 71-81, 2004.

CASAGRANDE, T.; LAWSON, G.; LI, H.; WEI, J.; ADRONOV, A.; ZHITOMIRSKY, I. Electrodeposition of composite materials containing functionalized carbon nanotubos. *Materials Chemistry and Physics*, 111, 42–49, 2008.

CHEN, Z.; ZHANG, L.; CHEN, G. Microwave-assisted extraction followed by capillary electrophoresis-amperometric detection for the determination of antioxidant constituents in *Folium Eriobotryae*. *Journal Chromatography A*, 1193, 178-181, 2008.

CODY, V.; MIDDLETON JR, E.; HARBORNE, J.B.; BERETZ, A.; ALAN, R. *Plant Flavonoids in Biology and Medicine. II. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties*. Progress in Clinical and Biological Research, vol. 280, Liss, New York, 1988.

COX, J. A.; TESS, M. E.; CUMMINGS, T. E.; *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 15, 173, 1996.

DO CARMO, D. R.; DA SILVA, R. M.; STRADIOTTO, N. R. Electrocatalytic and voltammetric determination of sulfhydryl compounds through iron nitroprusside modified graphite paste electrode. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14, 616–620, 2003.

EL-HADY, D. A. Selective and sensitive hydroxypropyl-beta-cyclodextrin based sensor for simple monitoring of (+)-catechin in some commercial drinks and biological fluids. *Analytical Chimica Acta*. 593 (2), 178-187, 2007.

EI-HADY, D. A.; EL-MAAL, N. Selective square wave voltametric determination of (+) – catechin in commercial tea samples using beta-cyclodextrin modified carbon past electrode. *Microchimica Acta*. 161 (1-2), 225, 2008.

FERNANDES, S. C.; OSÓRIO, R. E. H. M. B.; DOS ANJOS, A.; NEVES, A.; MICKE, G. A.; VIEIRA, I. C. Determination of Catechin in Green Tea using a Catechol Oxidase Biomimetic Sensor. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19, 1215-1223, 2008.

FREITAS, K. H. G.; FATIBELLO-FILHO, O. Carbon Composite Electrode Modified with Copper(II) Phosphate Immobilized in a Polyester Resin for Voltammetric Determination of Catechin in Teas. *Analytical Letters*, 43, 2091-2104, 2010.

GAN, Z.; ZHAO, Q.; GU, Z.; ZHUANG, Q. Electrochemical studies of single-wall carbon nanotubes as nanometer-sized activators in enzyme-catalyzed reaction. *Analytical Chimica Acta*, 511, 239–247, 2004.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LÖLIGER, J.; ARUOMA, O. I. The characterization of antioxidants. *Food and Chemmical Toxicology*. 33, 601-617, 1995.

HENDRICKSON, H. P.; KAUFMAN, A. D.; LUNTE, C. E. Eletrochemistry of catechol-containing flavonoids. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 12, 325-334, 1994.

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology*. 37, 937-42, 1999.

JANEIRO, P.; BRETT. A. M. O. Catechin eletrochemical oxidation mechanisms. *Analytical Chimica Acta*. 518, 109, 2004.

JANEGITZ, B. C.; JUNIOR, L. H. M.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação voltamétrica por redissolução anódica de Cu(II) em águas residuárias empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com quitosana. *Química Nova*. v. 30, n. 7, p. 1673 – 1676, 2007.

JANG, J. W.; LEE, D. K.; LEE, C. E.; LEE, T. J.; LEE, C. J.; NOH, S. J. Metallic conductivity in bamboo-shaped multiwalled carbon nanotubos. *Solid State Communications*, 122, 619–622, 2002.

JAROSZ-WILKOLAZKA, A.; RUZGAS, T.; GORTON, L. Use of laccase modified electrode for amperimetric detection of plant flavonoids. *Enzyme and Microbial Technology*. 35, 238-241, 2004.

JUNIOR, L .H. M. Eletrodos voltamétricos e amperométricos para a determinação de espécies de interesse farmacêutico. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, São Paulo – Brasil, 2007.

KATIYAR, S. K.; AFAQ, F.; PEREZ, A.; MUKHTAR, H. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate treatment of human skin inhibits ultraviolet radiation-induced oxidative stress. *Carcinogenesis* 22 (2001) 287.

KIM, S.; LEE, M. J.; HONG, J. I.; LI, C.; SMITH, T. J.; YANG, G. Y.; SERIL, D. N.; YANG, C. S. Plasma and tissue levels of tea catechins in rats and mice during chronic consumption of green tea polyphenols. *Nutrition and Cancer*, 37, 41, 2000.

KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal American Dietetic Association*. 50, 213-218, 1999.

KING, R. E.; BOMSER, J. A.; MIN, D. B. Bioactivity of resveratrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5, 65–70, 2006.

KISSINGER, P. T.; HEINEMAN, W. R. Laboratory techniques in electroanalytical chemistry. 2 ed., New York: Marcel Dekker, 1996.

KORISH, A. A.; ARAFAH, M. M. Catechin combined with vitamin C and E ameliorates insulin resistant (IR) and atherosclerotic changes in aged rats with chronic renal failure (CRF). *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 46 (1), 25, 2008.

LAI, L. S.; CHOU, S. T.; CHAO, W. W. Studies on the antioxidative activities of hsiantso (Mesona procumbens Hemsl) leaf gum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.49. 963–968, 2001.

LEE, B. L. E.; ONG, C. N. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal Chromatography A*, 881, 439-447, 2000.

IJIMA, S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354, 56–58, 1991.

LUO, H.; SHI, Z.; LI, N.; GU, Z.; ZHUANG, Q. Investigation of the electrochemical and electrocatalytic behavior of single-wall carbon nanotube film on a glassy carbon electrode. *Analytical Chemistry*, 73, 915–920, 2001.

LUPETTI, K. O.; RAMOS, L. A.; VIEIRA, I. C.; FATIBELLO-FILHO, O. A zucchini-peroxidase biosensor applied to dopamine determination. *Il Farmaco*, 60, 179–183, 2005.

LUZ, R.C.S.; MOREIRA, A. B.; DAMOS, F. S.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, L. T. J. Cobalt tetrasulphonated phthalocyanine immobilized on poly-l-lysine film onto glassy carbon electrode as amperometric sensor for cysteine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 42, 184-191, 2006.

MASUKAWA, Y.; MATSUI, Y.; SHIMIZU, N.; KONDOU, N.; ENDOU, H.; KUZUKAWA, M.; HASE, T. Determination of green tea catechins in human plasma using liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Journal Chromatography B*, 834, 26-34, 2006.

MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 48, 577-99, 2000.

MOSES, P. R.; WLER, L.; MURRAY, R. W. Chemically Modified Tin Oxide Electrode. *Analytical Chemistry*. 47, 1975.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 1054, 95-111, 2004.

NAKAGAWA, K.; MIYAZAWA, T. Absorption and distribution of tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-gallate, in the rat. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 43, 679, 1997.

NAKASHIMA, N.; TOKUNAGA, T.; OWAKI, H.; MURAKAMI, H.; TAKAMASA, S.; Catalytic reduction of organohalides at hemin and hemin-imidazole polymer films on pyrolytic graphite electrodes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 169, 163-170, 2000.

NISHITANI, E. E.; SAGESAKA, Y. M. Simultaneous determination of catechins, caffeine and other phenolic compounds in tea using new HPLC method. *Journal Food Compositon and Analysis*. 17, 675-685, 2004.

ONUR, F.; ACAR, N. Simultaneous determination of methylene blue, hexamethylene tetramine and resorcinol in pharmaceutical formulations by first-derivative UV spectrophotometry *International Journal of Pharmaceutics*. 78, 89-91, 1992.

OZYURT, D.; DEMIRATA, B.; APAK, R. Determination of total antioxidant capacity by a new spectrophotometric method based on Ce(IV) reducing capacity measurement. *Talanta*, 71, 1155-1165, 2007.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em Modificações de Eletrodos Amperométricos para Aplicações Analíticas. *Química Nova*. 25 (6), 1012, 2002.

PINHEIRO, M. V. S.; OLIVEIRA, M. N.; PENNA, A. L. B.; TAMINE, A. Y. The effect of different sweeteners in low-calorie yogurts – a review. *International Journal of Dairy Technology*. 58 (4), 193 - 199, 2005.

READ, M. A. Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents. *The American Journal of Pathology*. 147, 235, 1995.

RICE EVANS, C.; MILLER, N.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. 2, 152-159, 1997.

RODRIGUEZ-DELGADO, M. A.; MALOVANÁ, S.; PÉREZ, J. P.; BORGES, T.; GARCÍA MONTELONGO, F. L. Separation of phenolic compounds by high-performance liquid chromatography with absorbance and fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A*. 912, 249-257, 2001

ROMANI, A.; MINUNNI, M.; MULINACCI, N.; PINELLI, P.; VINCIERI, F. F. Comparison among Differential Pulse Voltammetry, Amperometric Biosensor, and HPLC/DAD Analysis for Polyphenol Determination. *J. Agric. Food Chemistry*, 79, 1197–1203, 2000.

ROY, J. J.; ABRAHAM, T. E.; ABHIJITH, K. S.; KUMAR, P. V. S.; THAKUR, M. S. Biosensor for the determination of phenols based on Cross-Linked Enzyme Crystals (CLEC) of laccase. *Biosensors and Bioelectronics*. 21, 206-211, 2005.

SCHOLZ, F. *Eletroanalytical methods – guide to experiments and applications*. 2 ed. Institute of chemistry and biochemistry of Universitat Greifswald. New York: Springer, 2002.

SERUGA, M.; NOVAK, I.; JAKOBEK, L.; Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 124, 1208-1216, 2011.

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

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*. 8 ed. São Paulo, Thomson, 2006.

STOYTICHEVA, M.; NANKOV, N; SHARKOVA, V.; Analytical characterisation and application of a p-benzoquinone mediated amperometric graphite sensor with covalently linked glucoseoxidase. *Analytica Chimica Acta*, 315, 101, 1995.

SUAREZ, W. T. Desenvolvimento de procedimentos analíticos para a determinação de N-acetilcisteína em produtos farmacêuticos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, Brasil, 2005.

TANAKA, A. A.; CHAVES, J. A. P.; ARAÚJO, M. F. A.; VARELA, J. J. G. Eletrocatalise da reação de redução de oxigênio sobre eletrodos de grafite modificados com ftalocianina tetracarboxilada de ferro. *Eclética Química*. 28(2), 9 – 19, 2003.

TIEPPO, J.; VERCELINO, R.; DIAS, A. S.; VAZ, M. F. S.; SILVEIRA, T. R.; MARRONI, C. A.; MARRONI, N. P.; HENRIQUES, J. A. P.; PICADA, J. N. Evaluation of protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*. 45 (7), 1140, 2007.

TSUKAGOSHI, K.; TANIGUCHI, T.; NAKAJIMA, R. Analysis of antioxidants using a capillary electrophoresis with chemiluminescence detection system. *Analytica Chimica Acta*, 589, 66-70, 2007.

THIAGARAJAN, S. E.; CHEN, S. M. Preparation and characterization of PtAu hybrid film modified electrodes and their use in simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid. *Talanta*, 74, 212–222, 2007.

TURDEAN, G. L.; POPESCU, J. C.; CURULLI, A.; PALLESCHI, G. Iron(III) protoporphyrin IX – single-wall carbon nanotubes modified electrodes for hydrogen peroxide and nitrite detection. *Electrochimica Acta*. v. 51, p. 6345 – 6641, 2006.

VEITCH, N. C.; GRAYER, R. J. Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins. *Natural Product Reports*. 25, 555–61, 2008.

VO-DINH, T.; CULLUM, B.; Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. 366, 540, 2000.

XIAO, F.; RUAN, C.; LIU, L.; YAN, R.; ZHAO, F.; ZENG, B. Single-walled carbon nanotube-ionic liquid paste electrode for the sensitive voltammetric determination of folic acid. *Sensors and Actuators B: Chemical* 134, 895–901, 2008.

WANG, J.; Modified electrodes for electrochemical sensors. *Electroanalysis*. 3, 255, 1991.

WANG, J. *Analytical Electrochemistry*. 2 ed., New York: A. John Wiley & Sons Publication, 2000.

WANG, H.; PROVAN, G. J.; HELLIWELL, K. HPLC determinations of catechin in tea leaves and tea extracts using relative response factors. *Food Chemistry*. 81, 307-312, 2003.

WANG, X.; YANG, N.; WAN, Q.; WANG, X. Catalytic capability of poly(malachite green) films based electrochemical sensor for oxidation of dopamine. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 128 83–90, 2007.

WANG, S. G.; LI, Y. Q.; ZHAO, X. J.; WANG, J. H.; HAN, J. J.; WANG, T. Electrochemical detection of catechol at integrated carbon nanotubes electrodes. *Diamond and Related Materials*, 16, 248–252, 2007.

WANG, R.; ZHOU, W.; X. JIANG, Mathematical modeling of the stability of green tea catechin epigallocatechin gallate (EGCG) during bread baking. *Journal of Food Engineering*. 87, 505–513, 2008.

WANG, C.; ZHAO, J.; ZHANG, D.; YANG, Z. Detection of DNA damage induced by hydro- 758 quinone and catechol using an electrochemical DNA biosensor. *Australian Journal of Chemistry*, 759 (62), 1181–1184, 2009.

WU, L. -Q.; GHODSSI, R.; ELABD, Y. A.; PAYNE, G. F. Biomimetic pattern transfer. *Advanced Functional Materials*, 15, 189–195, 2005.

WU, L. -Q.; MCDERMOTT, M. K.; ZHU, C.; GHODSSI, R.; PAYNE, G. F. Mimicking biological phenol reaction cascades to confer mechanical function. *Advanced Functional Materials* 16, 1967–1974, 2006.

YANG, L. J.; TANG, C.; XIONG, H. Y.; ZHANG, X. H.; WANG, S. F. Electrochemical properties of catechin at a single-walled carbon nanotubes-cetylramethylammonium bromide modified electrode. *Bioelectrochemistry* 75, 158-162, 2009.

YILMAZ, Y. Novel uses of catechins in foods. *Trends in Food Science & Technology*. 17, 64, 2006.

ZENG, B.; WEI, S.; XIAO, F.; ZHAO, F. Voltammetric behavior and determination of rutin at a single-walled carbon nanotubes modified gold electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 115, 240–246, 2006.

ZHONE, Z.; FROH, M.; CONNOR, H. D.; LI, X. L.; CONZELMANN, L. O.; R. P.; MASON, J. J.; LEMASTERS, THURMAN, R. G. Prevention of hepatic ischemia-reperfusion injury by green tea extract. *American Journal Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 283, 2002.

APÊNDICE

**DETERMINAÇÃO DE CATEQUINAS POR ELETRODO DE CARBONO
IMPRESSO MODIFICADO COM NANOTUBO DE CARBONO
FUNCIONALIZADO**

**Ana Luísa Silva^{*,a}, Quésia Guedes da Silva^a, Lauro Tatso Kubota^{b,c}, Auro Atsushi
Tanaka^{a,c}**

^a Departamento de Química, Universidade Federal do Maranhão,

65080-040, São Luís, MA, Brasil

^b Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Caixa postal 6154, 13084-

971, Campinas, SP, Brasil

^c Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Bioanalítica, Universidade Estadual de

Campinas, Caixa postal 6154, 13084-971, Campinas, SP, Brasil

*e-mail: analuisa_als21@hotmail.com

DETERMINATION OF CATECHIN IN A PRINTED CARBON ELECTRODE MODIFIED WITH FUNCTIONALIZED CARBON NANOTUBE

A growing number of studies has shown the necessity for a hurry procedure to available the content of catechin and electrochemical techniques have been successfully employed. This study aimed to determine catechin in a printed carbon electrode modified with functionalized carbon nanotube. The oxidation of catechin shows a peak located around 0.15 V vs. Ag / AgCl potential being near the peak shown in the literature. Cyclic voltammograms recorded in the presence of 1×10^{-4} mol L⁻¹ catechin phosphate buffer 0.1 mol L⁻¹ (pH 7.0) for a potential sweep rate of 50 mV s⁻¹ showed the ECI/NTC, best voltammetric profiles presented in relation to ECI and ECI/NTC/(SPT). Then there were constructed calibration curves for the technique cited. Obtaining the technique of cyclic voltammetry limits of detection and quantification of 9.2×10^{-8} L mol⁻¹ and 3.0×10^{-7} mol L⁻¹, respectively.

Keywords: Catechin. Printed Carbon Electrode. Carbon Nanotubes and Eletrochemical Sensor.

INTRODUÇÃO

A catequina é um composto fenólico que têm despertado grande interesse dos pesquisadores devido à ação antioxidante encontradas em frutas, chás, vinhos, e, conseqüentemente, seu efeito fisiológico benéfico à saúde¹⁻³. As catequinas são os membros mais importantes da classe dos flavonoides, elas foram reconhecidas como um antioxidante potente e uma destruidora de radicais livres⁴.

As catequinas têm sido associadas com muitos benefícios à saúde, incluindo, diminuição da fragilidade capilar⁶, a prevenção de dano ao DNA, devido à oxidação e à melhoria do fluxo sanguíneo, logo, da função hepática⁶. As catequinas são, portanto tanto anti-mutagênicas e anticarcinogênicas⁷. Foi também demonstrado para proteger os neurônios e células hepáticas contra os danos dos radicais livres gerados durante isquemia^{3,8}, aumentar a resistência de glóbulos vermelhos do sangue ao estresse oxidativo^{9,10}.

Outras aplicações do uso de catequina é na progressão de retardo das lentes de cataratas¹¹ inibir a radiação ultra-violeta que causa câncer na pele e reduzir o nível de colesterol por proteger lipoproteínas de baixa densidade a partir de oxidação^{6,12}. A estrutura da Catequina está representada na figura 1. Para a determinação de antioxidantes, dentre eles os polifenóis são geralmente utilizados os métodos espectrofométricos e cromatográficos, tais métodos são bastante sensíveis, no entanto, requerem instrumentos complicados e caros, consomem muito tempo, usam reagentes tóxicos, ou fornecem altos limites de detecção¹³⁻¹⁵. Os métodos tradicionais para a detecção de catequinas incluem cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)^{1,16,17}, combinada com quimiluminescência^{18,19}, espectrofotometria², eletroquímica^{3,20-26}, UV e detecção fluorimétrica²⁷.

A eletroforese capilar com detecção electroquímica foi também desenvolvido para determinar catequinas^{28,29}. Romani (2000)³⁰ fez uma análise comparatória do HPLC com detector Diody Array (DAD) com eletrodos de carbono impresso e biossensores para determinação de polifenóis. No qual os melhores resultados foram por meio do método HPLC/DAD, o eletrodo de carbono impresso foi considerado como um método de rastreio rápido, e a utilização de biossensores carece de aperfeiçoamento do desempenho.

Técnicas que fornecem baixos limites de detecção e uma gama de informações que caracterizam eletroquimicamente alguns sistemas, como as técnicas analíticas têm algumas vantagens sobre outros métodos, tais como, instrumentação relativamente barata, uso de quantidade menor de reagentes, além de serem instrumentos de manuseio fácil³¹.

Contudo, o desenvolvimento de novos métodos que possibilitem o mínimo de reagentes e um menor tempo de análise é muito importante. Um campo tem se destacado, o de desenvolvimento de novos eletrodos³². O desenvolvimento desses eletrodos se dá principalmente devido aos novos desafios impostos por amostras de interesse clínico, hospitalar, ambiental, alimentício, farmacêutico, entre outros^{33,34}.

Para obter uma maior eficácia das técnicas atuais, uma área que está aumentando a aplicabilidade e eficiência dos sensores eletroquímicos, é a que compreende os chamados eletrodos quimicamente modificados (EQM)³⁴⁻³⁷.

Nesse contexto, este artigo tem como objetivo determinar em diferentes condições e avaliar eletroquimicamente a catequina, por meio de eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubo de carbono funcionalizado.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes e Soluções

Os reagentes catequina (CTQ) e o nanotubo de carbono de paredes múltiplas (NTCPM), foram adquiridos da Sigma-Aldrich Company Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico e preparados com água deionizada em sistema Milli-Q da Millipore e o pH das soluções tampão, medido em um pH-metro modelo 300 da Analyser (São Luís-Brasil).

Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando um potenciostato /galvanostato EcoChemie modelo μ AUTOLAB-2, acoplado a um computador com o software GPES 4.9 um conjunto de eletrodos de carbono impresso adquiridos da DropSens, em sistema convencional. Foi utilizada uma célula eletroquímica com capacidade de 5 mL. O arranjo consiste em eletrodos de (4mm de diâmetro) referência e auxiliar impressos em tinta de material condutor a base de carbono, sobre um suporte cerâmico.

O eletrodo de carbono impresso foi modificado por meio da deposição de 7 μ L da suspensão homogênea de NTC, em seguida o eletrodo é colocado em um dissecador acoplado a bomba de vácuo para a evaporação³⁸. Antes de cada análise, as soluções eletrolíticas foram desaeradas por borbulhamento com N² do tipo 5.0 – Gases especiais da White Martins S. A.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo Comparativo dos Eletrodos

Inicialmente realizou-se um estudo comparativo entre os eletrodos de carbono impresso (ECI), eletrodo de carbono impresso associado a nanotubo de carbono sem pré-tratamento (ECI/NTC/SPT) e eletrodo de carbono impresso associado a nanotubo de carbono pré-tratado (ECI/NTC). Na figura 2 estão os voltamogramas cíclicos em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7) na presença de Catequina 1x10⁻⁴ mol L⁻¹ sobre os eletrodos ECI, ECI/NTC/SPT e ECI/NTC.

Observou-se que o ECI/NTC demonstrou melhor resultado uma vez que apresentou melhor pico, maior área, melhor aparência de quase reversibilidade frente o analito de acordo com a figura 2, justificando a escolha de usar o ECI/NTC para determinação da CTQ.

Avaliação da resposta eletroquímica da catequina sobre o eletrodo de carbono impresso pré-tratado

De acordo com os dados anteriores o eletrodo que melhor se comportou frente a oxidação de CTQ foi o ECI/NTC com base nisso, os estudos posteriores foram realizados utilizando este eletrodo. Utilizou-se da técnica de voltametria cíclica para analisar o comportamento voltamétrico do ECI/NTC em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ ilustrado na figura 3.

O aspecto do voltamograma da Figura 3 está de acordo com o estabelecido na literatura^{2,21}, estes indicam que o pico 1 está associado com a oxidação do grupo catecol e envolvendo 2 elétrons e 2 próton, com a formação de orto-quinona como produto conforme a figura 4.

A figura 3 mostra o voltamograma cíclico da CTQ até o potencial 0,6 V, no entanto ao repetir sucessivas varreduras, o voltamograma da CTQ sofre um

deslocamento no potencial de pico e uma queda brusca na corrente de pico devido a uma possível reação acoplada a superfície do eletrodo, com isso optou-se por fechar o potencial em 0,35 V conforme a figura 5, uma vez que ao fazer isso aumentou a estabilidade e aumentou o pico do sinal do eletrodo frente o analito.

Estudo da Natureza do meio

Para estudar o melhor meio para se determinar CTQ foram realizados em vários eletrólitos suportes tais como: tampão fosfato, tampão Sörensen, tampão McIlvaine e tampão Britton-Roinson (BR) todos em pH 7,0, 0,1 mol L⁻¹. Na figura 6 são apresentados os voltamogramas cíclicos em diferentes eletrólitos suporte na presença de CTQ 1x10⁻⁴ mol L⁻¹.

O eletrólito suporte que proporcionou uma melhor resposta para o processo de oxidação da catequina foi o tampão fosfato, com um perfil voltamétrico melhor definido, intensidade de corrente de pico ligeiramente maior e ainda, apresentou um potencial de pico menor.

Estudo de Força Iônica

Para o estudo da força iônica em voltametria cíclica com ECI/NTC usou-se CTQ 1x10⁻⁴ mol L⁻¹ em meio de solução tampão fosfato pH 7,0 em diferentes concentrações, 0,01; 0,05; 0,1 e 0,5 mol L⁻¹. A figura 7 apresenta como melhor sinal de intensidade de corrente a concentração 0,5 mol L⁻¹, no entanto selecionou-se 0,1 mol L⁻¹ uma vez que apresenta potenciais de pico bem próximos de 0,5 mol L⁻¹, além de ser a concentração que melhor apresenta um sistema reversível.

Estudo do pH do meio

Este estudo foi realizado utilizando o eletrólito suporte Tampão Britton-Robinson – (BR), por apresentar uma faixa tamponante ampla.

Investigou-se a influência do pH sobre a resposta voltamétrica para a oxidação de CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹ em solução de Tampão BR 0,1 mol L⁻¹ sobre o ECI/NTC variando-se o pH do eletrólito suporte entre 2,0 e 12,0.

As voltametrias cíclicas para CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹ em ECI/NTC em diferentes valores de pH podem ser visualizadas na figura 8. Observa-se um deslocamento no potencial de pico em função do pH do meio. Analisando o gráfico das figuras 9a e 9b, potencial de pico em função do pH do meio observa-se que o maior potencial de pico se deu no pH 7,0. Na figura 9b os resultados obtidos apresentam uma relação linear com inclinação de 60,6 mV / pH próxima do valor 59,2 mV / pH demonstrada pela equação de Nernst sugerindo a participação de dois prótons e dois elétrons no processo de oxidação da CTQ^{2,21}.

Em valores de pH acima de 10 não são observados picos característicos de oxidação da CTQ, devido a CTQ ser oxidada à quinona que em soluções alcalinas age como ácido fraco dissolvendo-se em soluções alcalinas formando soluções laranja-avermelhadas. Contudo o melhor sinal de corrente de pico aliado a um potencial de pico menor foi observado em pH 7,0, por isso, para a otimização e seleção dos parâmetros eletroquímicos optou-se em trabalhar com uma solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em pH 7,0.

Estudo do efeito da velocidade de varredura

Para o estudo do efeito de velocidade de varredura de potencial foram realizados experimentos em diferentes velocidades em solução de CTQ 1×10^{-4} mol L⁻¹. Na figura 10

são observados os Voltamogramas cíclicos para o ECI/NTC num intervalo de velocidade de varredura de potencial de 0,01 e 0,1 V s⁻¹, no qual nota-se um pequeno deslocamento no potencial de pico, indicando um sistema quase reversível, controlado por difusão, ou seja, tendo como fator limitante o transporte de massa³⁹.

A dependência de corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial foi investigada conforme a figura 10, apresentando um comportamento linear com inclinação de 0,43, valor próximo a 0,5 indicado para sistemas que o processo redox é controlado pelo transporte de massa, conforme a figura 11^{39,40}.

Estudo de repetibilidade

O estudo de repetibilidade foi realizado no mesmo dia, com o ECI/NTC modificado uma única vez. A repetibilidade do ECI/NTC foi estudada empregando-se uma solução de CTQ 1x10⁻⁴ mol L⁻¹ em meio de tampão fosfato pH 7,0. Para esse estudo foram realizadas 20 medidas (n = 20) no mesmo equipamento, no menor espaço de tempo possível. Na figura 12 estão sobrepostas as 20 medidas consecutivas de CTQ 1x10⁻⁴ mol L⁻¹ em eletrodo de ECI/NTC. Este estudo foi realizado para avaliar a estabilidade do eletrodo frente à oxidação de CTQ.

O desvio padrão relativo obtido para o estudo de repetibilidade foi de 4,05%. O ECI/NTC apresentou uma boa repetibilidade com um baixo desvio padrão relativo.

Curva analítica

Após a otimização dos parâmetros experimentais para o ECI/NTC utilizando a técnica de Voltametria Cíclica foram realizadas sucessivas adições de catequina em diferentes concentrações no intervalo de 2x10⁻⁷ mol L⁻¹ a 1,68x10⁻⁵ mol L⁻¹ obtendo os VC para cada concentração figura 13a e sua respectiva curva analítica figura 13b.

Observa-se um aumento das intensidades de corrente de pico com o aumento da concentração de CTQ, o qual apresentou um coeficiente de correlação (r) de 0,999, e a equação da reta obtida está escrita na equação 1.

$$i(\mu\text{A}) = -1,07 + 4,84 \times 10^6 [\text{CTQ}] \quad (1)$$

O limite de detecção é a menor concentração do analito presente em uma amostra e foi calculado de acordo com a equação 2, na qual sd é o desvio padrão dos valores obtido para 15 determinações com o eletrólito sem catequina (branco) em mesmo potencial de oxidação da catequina e b é o valor do coeficiente angular da curva analítica.

$$\text{LD} = 3 \text{ sd} / b \quad (2)$$

O limite de quantificação é a concentração mais baixa do analito na curva que pode ser determinada e este foi calculado de acordo com a equação 3:

$$\text{LQ} = x + 10\text{sd} \quad (3)$$

onde x é a média dos brancos e sd é o desvio padrão dos brancos.

O método proposto foi aplicado na determinação de catequina em chás utilizando-se para isso o método de adição de padrão. A tabela 1 mostra os dados obtidos neste trabalho em comparação à outros dados da literatura com estudos de determinação de CTQ.

CONCLUSÃO

Este trabalho demonstra a viabilidade do emprego dos eletrodos de carbono impresso associados à nanotubo de carbono funcionalizado (ECI/NTC), para a determinação de catequina em relação a eletrodos de carbono impresso (ECI) e eletrodo

de carbono impresso associados à nanotubos de carbono sem pré-tratamento (ECI/NTC/SPT), uma vez que aumentou significativamente as correntes de pico, sua elevada área e capacidade eletrocatalítica favoreceram o ECI/NTC na determinação de catequina.

Foi verificada em termos de sinal analítico, sensibilidade para a CTQ, gerando baixo limite de detecção e quantificação. Os teste de detecção de CTQ sobre o ECI/NTC mostraram que a resposta de corrente foi mais intensa em meio de solução de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,0. O estudo do pH sobre o sinal analítico do sensor também mostrou que a melhor obtenção de sensibilidade na determinação de catequina foi no pH 7,0. Os Limites de detecção e quantificação encontrados para voltametria cíclica foi de 9,2x10⁻⁸ mol L⁻¹ e 3,0x10⁻⁷ mol L⁻¹ respectivamente, valores bastante significativos para a determinação de CTQ.

AGRADECIMENTOS

A Capes pela bolsa de pesquisa, ao Laboratório de Eletroquímica, ao Mestrado de Biodiversidade e Conservação pelo conhecimento adquirido e a UFMA pelos recursos disponibilizados.

REFERÊNCIAS

1. Masukawa, Y.; Matsui, Y.; Shimizu, N.; Kondou, N.; Endou, H.; Kuzukawa, M.; Hase, T. J. Chromatogr., B, **2006**, 834, 26-34.
2. Ozyurt, D.; Demirata, B.; Apak, R. Talanta, **2007**,71, 1155.
3. El-Hady, D. A.; El-Maal, N. Microchim. Acta. **2008**, 161, 225.
4. Yilmaz, Y. Trends Food Sci. Tech. **2006**, 17, 64.
5. Tieppo, J.; Vercelino, R.; Dias, A. S.; Vaz, M. F. S.; Silveira, T. R.; Marroni, C. A.; Marroni, N. P.; Henriques, J. A. P.; Picada, J. N. Food Chem Toxicol. **2007** 45, 1140.
6. Wang, R.; Zhou, W.; Jiang X., Journal of Food Engineering. 87, 505–513, **2008**.
7. Mochizuki, M; Yamazaki, S.; Kano, K.; Ikeda, T. Biochim. Biophys. Acta, **2002**, 1569, 1.
8. Katiyar, S. K.; Afaq, F.; Perez, A.; Mukhtar, H. Carcinogenesis, **2001**, 22 287.
9. Shoham, S.; Youdim, M. B. H. Cell Mol. Biol., **2000**, 46, 743.
10. Korish, A. A.; Arafah, M. M. Archives of Gerontology and Geriatrics. **2008**, 46, 25.
11. Thiagarajan, S. E.; CHEN, S. M. Talanta, **2007**, 74, 212.
12. Wang, H.; Provan, G. J.; Helliwell, K. Food Chemistry. **2003**, 81, 307.
13. Amin, D.; Sulaiman, S. T. Analyst., **1984**, 109, 739.
14. Onur, F.; Acar, N. Int.J.Pharm. **1992**, 78, 89.

15. Lupetti, K. O.; Ramos, L. A.; Vieira, I. C.; Fatibello-Filho, O. *Il Farmaco*, **2005**, 60, 179.
16. Zhong, Z.; Froh, M.; Connor, H. D.; LI, X. L.; Conzelmann, L. O.; R. P.; Mason, J. J.; Lemasters, Thurman, R. G. *Am. J. Physiol. – Gastrointestinal and Liver Physiology*, **2002**, 283.
17. Nishitani, E. E.; Sagesaka, Y. M. *Journal Food Composition and Analysis*, **2004**, 17, 675.
18. Nakagawa, K.; Miyazawa, T. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **1997**, 43, 679.
19. Kim, S.; Lee, M. J.; Hong, J. I.; Li, C.; Smith, T. J.; Yang, G. Y.; Seril, D. N.; Yang, C. S. *Nutrition and Cancer*, **2000**, 37, 41.
20. Lee, B. L. E.; Ong, C. N. J. *Chromatogr. A*, **2000**, 881, 439.
21. Janeiro, P.; Brett, A. M. O. *Anal. Chim. Acta*. 2004, 518, 109.
22. Jarosz-Wilkolazka, A.; Ruzgas, T.; Gorton, L. *Enzyme Microb. Technol.* **2004**, 35, 238.
23. Roy, J. J.; Abraham, T. E.; Abhijith, K. S.; Kumar, P. V. S.; Thakur, M. S. *Biosens. Bioelectron.* **2005**, 21, 206.
24. Wu, L. -Q.; Ghodssi, R.; Elabd, Y. A.; Payne, G. F. *Advanced Functional Materials*, **2005**, 15, 189.
25. El-Hady, D. A. *Anal. Chim. Acta*. **2007**, 593, 178.
26. Fernandes, S. C.; Osório, R. E. H. M. B.; Dos Anjos, A.; Neves, A.; Micke, G. A.; Vieira, I. C. J. *Braz. Chem. Soc.*, **2008**, 19, 1215.

27. Rodriguez-Delgado, M. A.; Malovaná, S.; Pérez, J. P.; Borges, T.; García Montelongo, F. L. J. *Chromatogr. A* **2001**, 912, 249.
28. Tsukagoshi, K.; Taniguchi, T.; Nakajima, R. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 589, 66.
29. Chen, Z.; Zhang, L.; Chen, G. J. *Chromatogr. A*, **2008**, 1193, 178.
30. Romani, A.; Minunni, M.; Mulinacci, N.; Pinelli, P.; Vincieri, F. F. *J. Agric. Food Chemistry*, **2000**, 79, 1197.
31. Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*. 8 ed. São Paulo, Thonson, **2006**.
32. Blasco, A. J.; González, M. C.; Escarpa, A. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 511, 71.
33. Luz, R. C. S.; Moreira, A. B.; Damos, F. S.; Tanaka, A. A.; Kubota, L. T. *J. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 42, 184-191, **2006**.
34. Janegitz, B. C.; Junior, L. H. M.; Fatibello-Filho, O. *Quim. Nova*, **2007**, 30, 1673.
35. Wang, J.; *Electroanalysis*. **1991**, 3, 255.
36. Cox, J. A.; Tess, M. E.; Cummings, T. E.; *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1996**, 15, 173.
37. Tanaka, A. A.; Chaves, J. A. P.; Araújo, M. F. A.; Varela, J. J. G. *Eclética Química*. **2003**, 28, 9.
38. Stoytcheva, M.; Nankov, N; Sharkova, V.; *Anal. Chim. Acta*. **1995**, 315, 101
39. Yang, L. J.; Tang, C.; Xiong, H. Y.; Zhang, X. H.; Wang, S. F. *Bioelectrochem.* **2009**, 75, 158.
40. Felix, F. S.; Brett, C. M. A.; Angnes, L.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, 43, 1622.

41. Freitas, K. H. G.; Fatibello-Filho, O. *Anal. Letters*, **2010**, 43, 2091-2104.

LEGENDAS

Figura 1. Estrutura molecular da catequina

Figura 2. Voltamogramas cíclicos em meio de solução Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrodos: (a) ECI; (b) ECI/NTC(SPT) e (c) ECI/NTC, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 3. Voltamograma cíclico do ECI/NTC em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 4. Mecanismo da oxidação da Catequina

Figura 5. Voltamograma cíclico do ECI/NTC na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de Tampão Fosfato pH 7, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 6. Voltamogramas Cíclicos de diferentes eletrólitos do ECI-NT na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 7. Voltamogramas Cíclicos com ECI/NTC na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 em diferentes concentrações: 0,01; 0,05; 0,1 e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 8. Voltamogramas Cíclicos do ECI-NTC em solução de Tampão BR em diferentes valores de pH's (2 – 12) na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 9a. Corrente de pico em função do pH do meio. Dados extraído da fig. 8.

Figura 9b. Potencial de pico em função do pH do meio. Dados extraído da fig. 9a.

Figura 10. - Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de velocidade de varredura de potencial, 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09 e $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 11. Corrente de pico em função da Raiz quadrada da Velocidade. Dados extraído da fig. 10.

Figura 12. Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução de Tampão Fosfato pH 7,0 na presença de CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em 20 medidas consecutivas, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 13a. Voltamogramas Cíclicos do ECI-NT em solução Tampão Fosfato pH 7 na presença de diferentes concentrações de CTQ: (1) Tampão Fosfato; (2) 2×10^{-7} ; (3) $3,98 \times 10^{-7}$; (4) $5,96 \times 10^{-7}$; (5) $7,94 \times 10^{-7}$; (6) $9,9 \times 10^{-7}$; (7) $1,38 \times 10^{-6}$; (8) $1,77 \times 10^{-6}$; (9) $2,15 \times 10^{-6}$; (10) $2,53 \times 10^{-6}$; (11) $2,91 \times 10^{-6}$; (12) $3,91 \times 10^{-6}$; (13) $4,76 \times 10^{-6}$; (14) $5,84 \times 10^{-6}$; (15) $6,89 \times 10^{-6}$; (16) $7,92 \times 10^{-6}$; (17) $9,26 \times 10^{-6}$; (18) $1,06 \times 10^{-5}$; (19) $1,18 \times 10^{-5}$; (20) $1,3 \times 10^{-5}$; (21) $1,42 \times 10^{-5}$; (22) $1,54 \times 10^{-5}$; (23) $1,68 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 13b. A curva analítica. A equação da reta obtida foi: $(i_p / \mu\text{A}) = -1,07 + 4,84^6 [\text{CTQ}] \text{ mol L}^{-1}$ e coeficiente de relação foi igual a 0,999.

Tabela 1. Comparação entre os resultados obtidos pelo método proposto e alguns autores para determinação de CTQ.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.

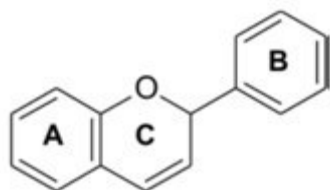


Figura 2.

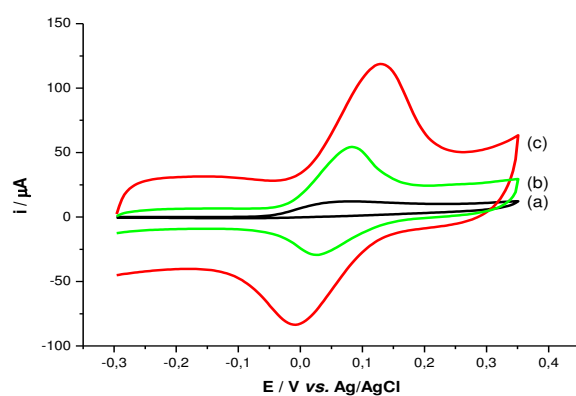


Figura 3.

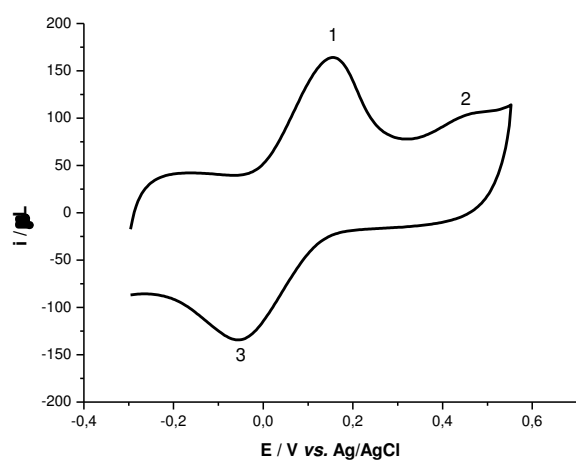


Figura 4.

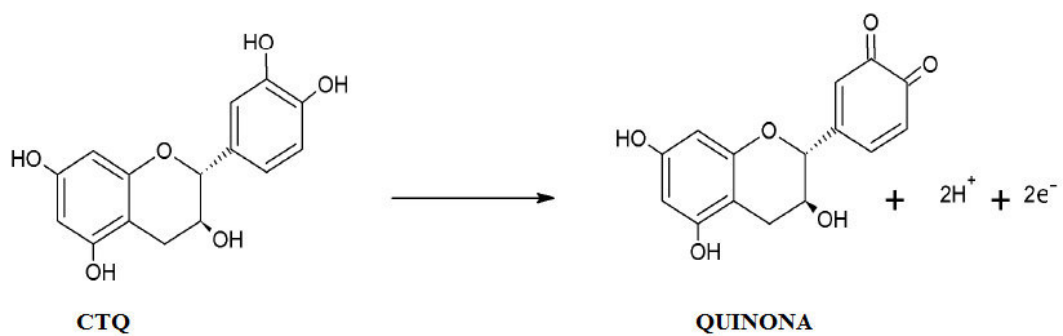


Figura 5.

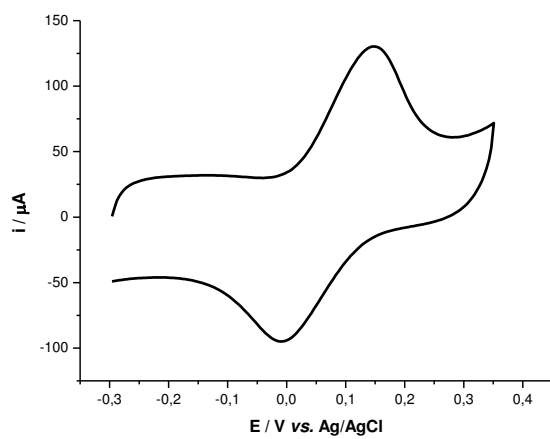


Figura 6.

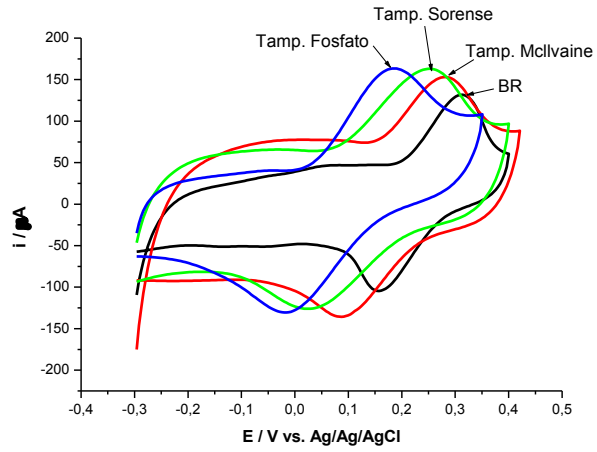


Figura 7.

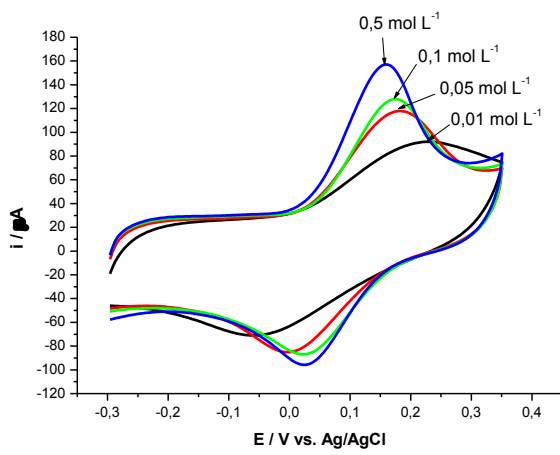


Figura 8.

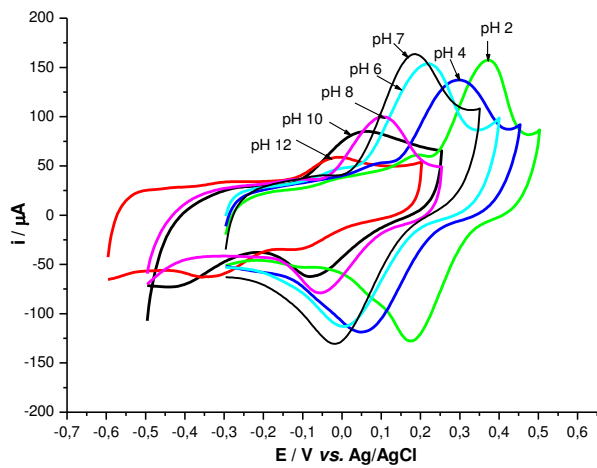


Figura 9a e 9b.

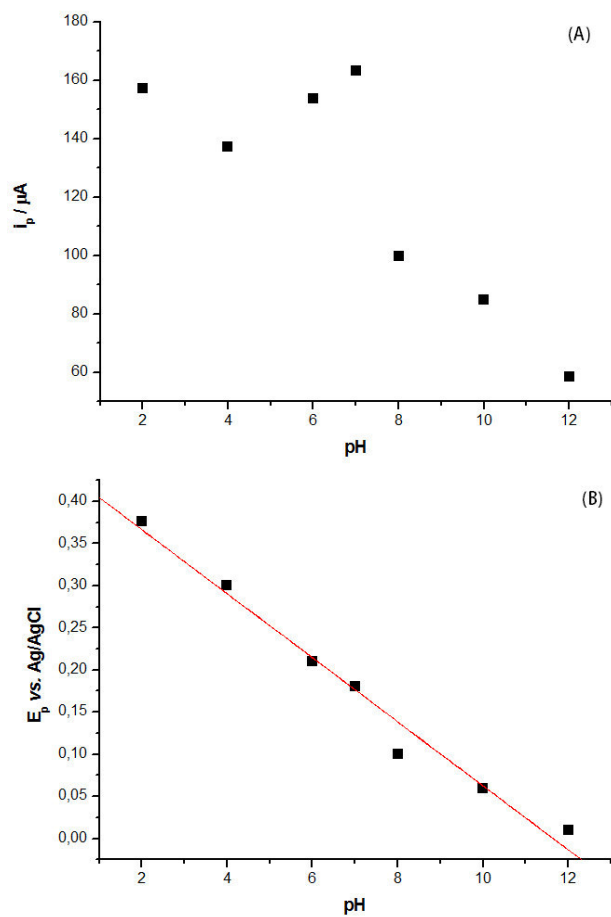


Figura 10.

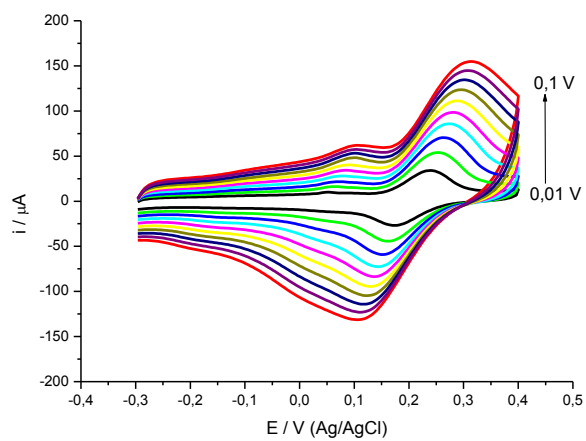


Figura 11.

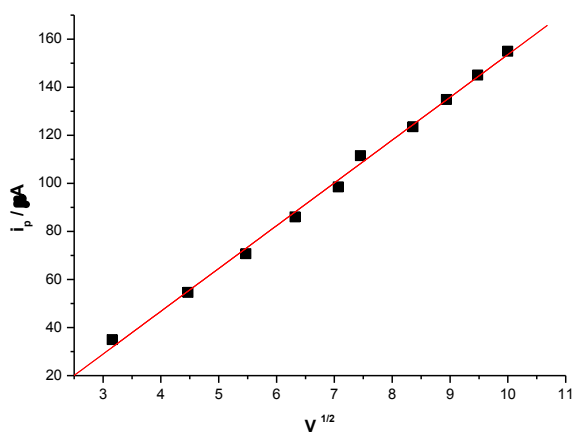


Figura 12.

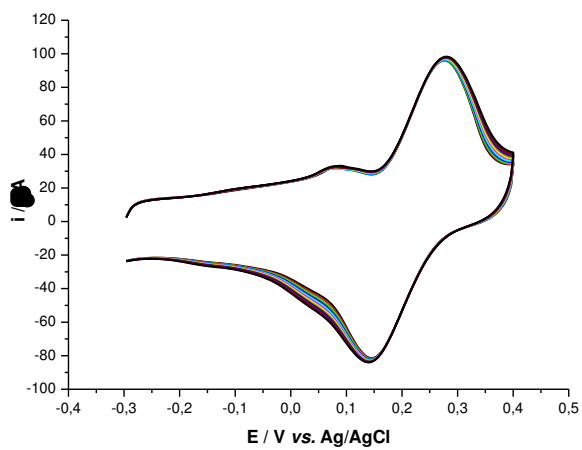


Figura 13a e 13b.

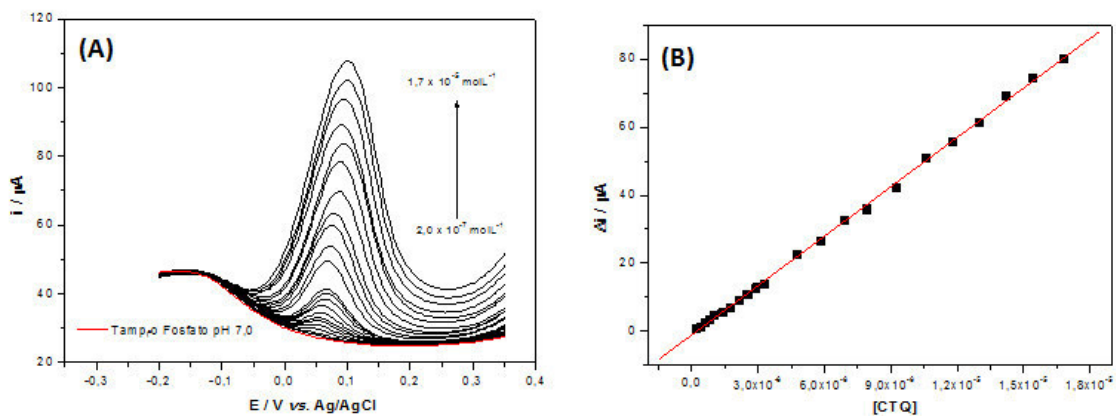


Tabela 1.

Eletrodos	Técnica	Eletrólito	Ep (V)	LD (mol ⁻¹)	Referências
ECI/NTC	VC	Tampão Fosfato pH 7	0,12	$9,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	*
EPC	VC	Tampão Fosfato pH 7,4	0,2	$4,65 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	(3)
ECCM- Ni(OH) ₂	VPD	Tampão Fosfato pH 6,8	----	$5,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	(41)
ECCM- Cu ₃ (PO ₄) ₂	VPD	Tampão Fosfato pH 6,8	0,16	$5,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	(41)

Journal: Journal of the Brazilian Chemical Society

Title: Determinação de catequinas por eletrodo de carbono impresso modificado com nanotubo de carbono funcionalizado.

Autors: Ana Luísa Silva, Quésia Guedes da Silva, Lauro Tatso Kubota, Auro Atsushi Tanaka*

Graphical Abstract

Ana Luísa Silva^{*,a}, Quésia Guedes da Silva^a, Lauro Tatso Kubota^{b,c}, Auro Atsushi Tanaka^{a,c}

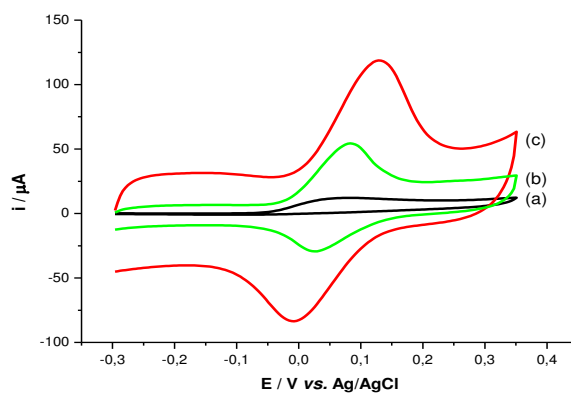


Figura 1. Voltamogramas cíclicos da CTQ $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes eletrodos: (a) ECI; (b) ECI/NTC(SPT) e (c) ECI/NTC, $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$.

ANEXOS

1. INTRODUCTION
 - 1.1. Types of Manuscripts
 - 1.2. Before You Begin the Submission
2. PREPARATION OF MANUSCRIPTS
3. LANGUAGE, STYLE AND FORMAT
4. GUIDELINES FOR ILLUSTRATIONS
 - 4.1. Graphs and Figures
 - 4.2. Structural Formulae
 - 4.3. Photographs
 - 4.4. Colored Illustrations
 - 4.5. Tables, Data and Units
5. GRAPHICAL ABSTRACT (GA) and Text for GA
6. EQUATIONS
7. REFERENCE CITATION RULES
8. SUPPLEMENTARY INFORMATION (SI)
 - 8.1. Manuscripts including Crystallographic Data
 - 8.2. Manuscripts including NMR, IR, mass spectra, etc..
9. PROCEDURE FOR manuscript SUBMISSION
 - 9.1. Step by Step Procedure for Submission to ***JBCS***
 - 9.2. Revised Manuscripts
 - 9.3. Final Version
10. GALLEY PROOFS
11. ADDITIONS AND CORRECTIONS
12. CONTACTS

1. Introduction

The *Journal of the Brazilian Chemical Society* embraces all aspects of chemistry except education, philosophy and history. It is a medium for reporting selected original and significant contributions to new chemical knowledge. The Journal publishes **Articles, Communications, Short Reports, Reviews, Accounts** and **Letters**.

The reproduction of figures, schemes and photos already published in other publications, even if these materials have been published by the same authors, requires the copyright permission given by the editor house allowing the publication of the article in the *JBCS*.

1.1 Types of Manuscripts

Articles should be comprehensive and critical accounts of a work in a given area. Although short articles are acceptable, the editors strongly discourage fragmentation of a substantial body of work into a number of short publications.

Communication should be restricted to reports of **unusual urgency** and **significance** or **interest**. They should be submitted with a **statement** from the authors as to **why the manuscript meets these criteria**. A manuscript will not be accepted if, in the opinion of the Editors, the principal content has previously been released or published in any other medium. The communication should not exceed 1500 words or occupy more than 3 pages of the Journal. To estimate the length of a communication, an average sized figure is counted as 100 words and separate formulae and lines of a table are counted as 8 words per line, including headings and horizontal rulings. Title, authors' names and literature references are not counted.

Short Report is meant to be a concise terminal report of studies of limited scope.

Manuscripts submitted as articles or communications may, in some cases, be accepted as short reports. The standard of quality expected in short reports is the same as in articles.

Review is normally invited by the Editors. However, the Editors welcome suggestions for reviews considered suitable for the Journal. Be aware that the topics in the **reviews must be numbered** with Arabic numerals.

In order to help the Editors judge the suitability of a proposed review, authors should submit:

A synopsis including a brief outline of the Review content;

At least ten sample references;

A summary of the lead author's academic career;

A statement explaining the relevance of the topic to be reviewed and a list of the latest reviews published on the subject, if any;

An estimated date of submission. If the text is already prepared, an authorization for submission will be given after the above items have been considered by the Editors;

A file with a short C. Vitae (max 100 words) with photos (of all authors, if the case).

Acceptance of the synopsis does not guarantee publication of the final manuscript.

If the synopsis is accepted, the corresponding author will be invited to submit online the complete text of the review, together with a short CV and a photograph of each author, inserted in the end of manuscript.

It is quite common, in reviews, the reproduction of figures, schemes and photos already published in other works. Even if these materials have been published by the same authors, copyright permissions need to be given by the editorial office.

Account is published only by invitation from the Editorial Board. Like the Review, it may include figures, schemes, structures, etc. The topics in the **Account must be numbered** with Arabic numerals.

In order to help the Editors judge the suitability of a proposed review, authors should submit:

to submit a focused and readable text, covering current areas of interest for the Chemistry community;

to present topics or summaries of research in an emerging area of Chemistry, covering only the most interesting / significant developments; to discuss possible future approaches of the Account subject in the conclusion section; to include a file with a short C. Vitae (max 100 words) with photos (of all authors, if the case).

In case any reproduction of **figures, schemes and photos already published** in other journals is included, **acopyright permission** given by the editorial office of the publisher **must be sent to JBCS office**.

Letter is a medium for the expression of scientific opinions and views normally concerning material published in the Journal, but not for revision/update of the authors' own work. When a **Letter** polemical in nature is accepted, a reply from the implicated parties will be requested for publication alongside the original **Letter**. Contributions in this format are intended to be published as soon as possible. No Abstract is required for letters. They should not exceed one printed page in length.

1.2 Before You Begin your Submission

Copyright License

The submission of a manuscript implies that it has not been previously published, that it is not under consideration for publication elsewhere or that it will not be simultaneously published elsewhere in the same format without the written permission of the Editors. Additionally, it implies that the submitting author has the consent of all authors. By submitting a manuscript, the authors agree that their paper's copyright is transferred to the Brazilian Chemical Society (*Sociedade Brasileira de Química, SBQ*) if and when the manuscript is accepted for publication. Accepted manuscripts and illustrations become the property of the SBQ.

Organization of Manuscripts

Authors should present their materials with the utmost conciseness and clarity. The **Introduction** should clearly and briefly identify, with relevant references, both the nature of the problem under investigation and its background. Extensive reviews of the literature cannot be accepted.

In **Articles** and **Short Reports**, the **Experimental** section may precede or follow the **Results and Discussion** section, but should be separated from it. The addition of a final section at the end of the manuscript, which briefly summarizes the main **Conclusions** of the work, is recommended.

Descriptions of experiments should be given in sufficient details to enable other researchers to repeat them. The degree of purity of materials should be given, as well as all quantities used. Descriptions of established procedures are unnecessary. Standard techniques and methods used throughout the work should be stated at the beginning of the section in a "**Materials and/or Methods**" subsection. Apparatus should be described only if it is non-standard. Commercially available instruments should be referred to by their suppliers and models.

All **new compounds** should be fully characterized, which includes spectroscopic data and elemental analyses. High-resolution mass spectra may substitute for elemental analyses if accompanied by unequivocal proof of sample purity (melting points, copies of NMR spectra, etc.). For compounds prepared in enantiomerically pure or enantiomerically enriched form, specific optical rotation must be given. In cases where enantiomeric excess is determined by chromatographic and/or spectroscopic techniques, copies of the appropriate chromatograms and/or spectra should be included as Supplementary Information upon submission of the manuscript. Data

associated with specific compounds should be listed after the name of the compound concerned, followed by the description of the preparation, or else presented in tabular form in the **Results and Discussion** section. All spectra must be included in the **Supplementary Information (SI, see Section 8)**.

Many theoretical and computational papers use a routine procedure based on a well-documented method, be it semi-empirical or *ab initio*. It is then sufficient to name the particular variant, referring to key papers, in which the method has been developed, to cite the computer program used and to indicate briefly any modification made by the author.

Complementary data meant to support the analysis of **Communications** should be included as **electronic supplementary information**.

It is the **authors' responsibility** to obtain permission from other publishers for the reproduction of artwork from other journals in the reviews or in any other type of publication. Such specific **Copyright Permissions** should be sent to the **JBCS** Editorial Manager. Suitable acknowledgement of reproduction must be given in the captions.

2. Preparation of Manuscripts

General Overview

Font: Times New Roman

Font Size: 12

Font Color: Black

Spacing: double spaced

Pages: numbered consecutively

Lines: numbered with Arabic numerals to facilitate correction of the text

Tables, Schemes, Figures and captions: placed on the same page of the text, in the **right position**, i.e. inserted along the text, as near as possible their first citation

Figures: numbered with Arabic numerals. For full manuscripts containing material previously published in preliminary form, a copy of the previous communication is required and should be included at the end of the manuscript.

Maps: insert as **Supplementary Information**

Main Sections of the manuscript should NOT be numbered, EXCEPT for Account and Review.

Supplementary Information (SI): Included at the end of manuscript, after the **Conclusions** Section. It should contain RELEVANT and COMPLEMENTARY DATA to those presented in the manuscript. If new compounds are identified or characterized, **all spectra** should be included. [See Section 8](#).

Details

First Page:

- **Title**

- **Authors' names:** Full given name, followed by the middle name initial(s) and then by the full last name. **An asterisk (*)** should follow the name of the corresponding author.

- **Addresses:** Authors are asked to provide full addresses for correspondence. The e-mail address of the corresponding author should be given as a footnote. If the address where the work was carried out is different from the present address of any of the authors, a footnote indicating the current position can be included. Each address should have a correspondent letter. As for instance:

*Jailson B. de Andrade, *^a Marta V. Andrade^b and Heloisa L.C. Pinheiro^c*

- **Graphical Abstract (GA).** [See Section 5](#).

Second Page

- **Title**

- **Abstracts in Portuguese and in English:** maximum of 150 words for Articles, Accounts and Reviews and 50 words for Short Reports and Communications. **The editors of the Journal can help authors who are not fluent in Portuguese.**

- **Keywords:** a minimum of two and maximum of five. Broad-sense words such as "water" should be avoided.

Third Page On

- **The text should start from the third page of the manuscript.**

- **Attention:** All nomenclature should be consistent, clear, unambiguous and in accordance with the nomenclature rules established by the IUPAC, the International Union of Biochemistry, the Abstracts Service (see Index Guide to Chemical Abstracts, 1987 and <http://jbc.s bq.org.br/iupac.html>), the Nomenclature Committee of the American Chemical Society or any other appropriate bodies. Units and symbols should follow IUPAC recommendations. Authors will not be denied any reasonable usage, but if non-SI units are used for critical data or for quantities measured to a high degree of accuracy, final numerical values should also be expressed in SI units.

3. Language, Style and Format

Language

Only manuscripts written in **English** will be considered. Standard English and American English spellings are allowed but consistency should be maintained within the manuscript. From now on, all authors are expected to send along with their manuscript a statement from a specialized company (or person), attesting that the text was submitted to **formal English review**. Otherwise, the Editor can, at any time, ask for such procedure to warrant the English precision, conciseness and understanding of the manuscript.

Style and Format

Main Sections: First initial with capital letter, bold, no final full stop:

Introduction

Experimental

Results and Discussion or **Results** then **Discussion**

(alternatively, Experimental may follow Results and Discussion)

Conclusions

Supplementary Information (if you have any, include it here as, for example):

Supplementary data (chemical compounds structures, data spectra and/or spectra of synthesized compounds) are available free of charge at <http://jbc.s bq.org.br> as PDF file.

This section will be edited only in the ONLINE version of the Journal and is totally free of charge. Thus, colors are welcome. Also, it should contain RELEVANT and COMPLEMENTARY DATA to those presented in the manuscript. If new compounds are identified or characterized, **all spectra should be included** here. See Section 8.

Acknowledgment(s)

References

Main Sections should not be numbered, except for Reviews and Accounts.

Sub-Sections: italic, first initial with capital letter, no final full stop. Examples:

Reagents and equipments

X-ray data

Formulae (compounds): should be numbered with bold Arabic numerals.

Structural or displayed formulae must be accurately drawn and inserted in the text. All captions should be typed below the structural or displayed formulae, together with it, in the right position.

4. Guidelines for Illustrations

General Size

The authors should think about the illustration size for double column (172 mm) of the journal. But, the font type size of text must be consistent with the illustration, since, it can be reduced during preparation of the Galley Proof.

This is important when choosing symbols for graphics, drawings, charts, photos etc. BE CONSISTENT - make your manuscript look nicer: use the same size and same font type in graphics, schemes, etc.

4.1 Graphs and Figures

Lines and Lettering

Lines should be black and of an adequate and even thickness. Solid, broke, dotted and dot-dash lines should be used in graphics. Particular care should be taken to ensure that the lines in a spectrum are of adequate thickness.

Lettering should not be smaller than 7 pt (Times New Roman) and lines not thinner than 0.5 pt. Lettering and lines should be of uniform density throughout the figures.

Labeled atoms in ORTEP (or any other) diagrams should have atom numbers in parenthesis, *e.g.* Fe(1), C(44).

Symbols representing physical quantities should be given in italics, *e.g.* J (Hz), δ (ppm), etc.

Units should be expressed in the appropriate form, *e.g.* g cm⁻³ or mol L⁻¹, rather than g/cm³ or mol/L. See Section 4.5

Graphs

Scales: graphs should have only the minimum necessary scale divisions marked by numerals.

Axis labels should use SI units, separated from quantities (see details in the green book <http://old.iupac.org/reports/1993/homann/index.html>):

For graphs, use slashes in X and Y axes to separate axes names from units. For example: time/min; Size range/mm; Wavenumber/cm⁻¹. Use parentheses only to group a set of units, *e.g.* Concentration/(mol L⁻¹), 10³(T/K)⁻¹, etc.

Pay close attention to the way decimal values are expressed in English. Employ dots instead of commas.

Figures must have a high quality, in order to reproduce well. Use at least a 300 dpi resolution. If necessary, resize to a smaller size to get higher quality.

Curves: should be labeled (a), (b), (c) etc. and further information be given in the figure legend/caption.

Data Points must be shown sufficiently large to be distinguishable. Whenever possible, they should be marked with the following symbols (use alternated full and open symbols):

●, ○, ■, □, ▲, △, ◆, ◇

Graphs/Figures should be pasted from their original files (Origin, ChemDraw, Corel etc.) and have an excellent quality. If you have to digitalize (scan) the figures (photos, for instance), choose the following scan options: black & white (B&W), no background and minimum of 300 dpi. If you wish them to be published online in color, send both the colored and B&W versions to the Editorial Office, matching the captions of the figures to accommodate the alternatives.

For computer-generated artwork, background or shadings should be avoided.

4.2 Structural Formulae

Figures, schemes and structures should be drawn to fit single or double-column widths. They should look proportional in case they are reduced.

Structures should be numbered with bold Arabic numerals, *e.g.* **1**, **2**.

All chemical structures included in a manuscript should be drawn using the same letter type (Times New Roman or Arial), size of cyclic groups, size and thickness of chemical bonds, AND, THE MOST IMPORTANT, AUTHORS SHOULD USE THE SAME STANDARD THROUGHOUT THE WORK, INCLUDING ALL FIGURES, SCHEMES, ETC.

The following organic group abbreviations may be used: Me, Et, ⁿPr, ⁿBu, ^sBu, ^tBu, Ph, CO₂R, CO₂H, ⁱPrOH.

One variable univalent substituent is indicated by R. When more than one independent variable general substituent is present, R¹, R², R³, etc. should be used.

A variable metal may be indicated by M and variable ligands by L¹, L², L³ or L1, L2, L3, etc.

4.3 Photographs

Photographs should be highly contrasted, positive and not mounted.

When necessary, the scale should be drawn on the photograph itself and not below.

Color prints are rarely reproduced satisfactorily in black and white. Original B&W photographs are preferred to report experimental results, such as electron micrographs or to illustrate special equipment adaptations.

4.4 Colored Illustrations

Online Version

From 2010 onwards, the publication of colored illustrations will be totally free of charge in the ONLINE version of the Journal.

Printed Version

Black & White (B&W) illustrations are free of charge. If color figures are presented in your Manuscript (Ms), they will automatically be converted into black-and-white (except GA). Color prints rarely reproduce satisfactorily in black and white. Thus, pay attention so that no information IS missed because of the conversion. If the authors want to have colored illustrations on the printed version, they will be asked to pay for their cost: the current fee is 250 USD for all figures (remember that in the online version, they are free of charge).

4.5 Tables, Data and Units

Tables

Format your table to give straightforward information to the reader. Do not use shades or bold lettering. Indicate any extra information as a footnote with letters, *e.g.* a, b, c, etc. For examples, see any "PDF" files in: http://jbcs.sbq.org.br/forthcoming_papers.asp.

Data

For negative numbers, ions and equations in text and tables use - (negative symbol) instead of - (hyphen). Examples: Cl⁻, -0.40, a = x - by.

Units

Use International System Units (SI), *e.g.* m, s, kg, Pa, mol L⁻¹, etc, separated from quantities with a blank space. Example: 300 K, not 300K. See <http://old.iupac.org/reports/1993/homann/index.html>.

Note: M is no longer a valid concentration expression for IUPAC; we suggest mol L⁻¹ or mol dm⁻³, but be consistent throughout your manuscript.

For examples, see any "PDF" files in: http://jbcs.sbq.org.br/forthcoming_papers.asp

5. Graphical abstract (GA) and Text for GA

The JBCS Table of Contents is being improved both in the printed and online version. From now on we expect authors to be more careful with their GA proposition.

This way, the figure should summarize the content of the manuscript in a concise, pictorial form, designed to capture the attention of a wide readership. The author should present a new figure, using as an idea a key structure, a reaction, an equation, a concept, a graphic, a theorem, etc. It should use colors as much as possible and have an artistic and imaginative idea. Short movies are also welcome (as supplementary information (SI)). It is not acceptable photos of commercial equipment in GA or in the text of the manuscripts. **Pay Attention:** the image should

have a 300 dpi resolution (*.TIFF / *.JPG or any other image that can be edited and be 8 cm wide and 4 cm high. Along with the GA figure, insert a short explanatory text about it below (three lines at the most).

Take a look at our recent publications whose Table of Contents present Graphical Abstracts (<http://jbcs.sbq.org.br/>). Therefore, be smart to advertise your manuscript: send a beautiful and appealing Graphical Image.

6. Equations

When writing equations, use the Word editing equation option or any other equation editor.

7. Reference CITATION rules

Reference numbers

Reference numbers in the text should be typed consecutively as superscripts after punctuation, without parentheses or brackets. Examples:

sodium salicylate,¹⁻³

Nishide *et al.*,⁴

by reduction of chromic acid.^{4-8,12}

The cited literature should be listed on a separate page (double-spaced) in the same order it appears in the text.

Journal Titles

Journal title abbreviations are those defined in the Chemical Abstracts Service Source Index (see <http://www.cas.org/content/references/corejournals>). If an authoritative abbreviation for a Journal cannot be located or if the abbreviation is not obvious, the full Journal title should be cited.

Style Rules for Year, Volume and Page

#. Author, A. C.; Author B.; Author C. F.; *Abbreviation of the Journal* **Year**, *Volume*, Page.

1. Author, A. C.; Author, B.; Author, C. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 77.

- Author initials should be separated from each other, *e.g.* Author, A. C.;

- Use semi-colons to separate different author's names. No "and" is necessary in any case.

- *Journal Abbreviations* should come in Italics: *J. Braz. Chem. Soc.*

- **Years** - Bold Letter: **2010**

- *Volume* - Italic style: *21*

- Page - Only the initial page, followed by dot: 77.

Examples:

2. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 518.

In case the journal is not easily accessible, it is best to quote its Chemical Abstracts number, as follows:

3. Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, *19*, 708. (CA 85:78051s).

Pay attention to the connection words in the names, as for instance: da Silva, M. A. or Silva, M. da, as follows:

4. Pinto, A. C.; de Andrade, J. B.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 448.

Composite References

They should be used whenever possible, rather than a series of individual references, without letters (a), (b), (c), etc. Use only a semi-colon to separate them. The style for composite references is as follows:

5. Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1996**, *7*, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 473.

Patents

They should be identified in the following form. Whenever possible, Chemical Abstracts numbers should be quoted in parentheses:

6. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 79 73,771 **1979**. (CA 91:P193174v)
7. Kadin, S. B.; *US pat.* 4,730,004 **1988**. (CA 110:P23729y)
8. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI* 9.604.468-3, **1999**

Books

Cotton, F. A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed.; Wiley: New York, 1988. **Chapter in a book: only the main title should be given, with the chapter author's name.**

9. Regitz, M. In *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O.J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, ch. 2.

Software

10. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; University of Göttingen, Germany, 1993.

Dissertation/Thesis - Do not see as bibliographic reference. Include only the articles that were produced from that research work.

Web Pages

11. <http://www.s bq.org.br/jbcs>, accessed in June 2001.

Unpublished material Reference

For material **accepted** for publication:

12. Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, in press.

In this case, the DOI number should be provided by the authors.

For other reference examples, see "PDF" files in:

http://jbcs.s bq.org.br/forthcoming_papers.asp

8. Supplementary Information (SI)

This material will be available online in the JBCS Page as PDF file. It should contain relevant and complementary data to those presented in the manuscript. Their format can be: tables, graphs, spectra, films and so on...

Any synthesized or identified compound must be accompanied by the spectra used for such identification. This is especially important for Natural Products, Organic and Inorganic Chemistry manuscripts in which the characterization/identification techniques are part of the work.

8.1 Manuscripts including crystallographic data

Deposition of Crystallographic Data

Prior to the submission of the typescript including crystallographic data, the author(s) should deposit, in the relevant Data Center, the data corresponding to each structure to be reported.

Data for organometallic, organic and coordination (Werner-type) compounds should be sent to the Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) by e-mail, in CIF format. More information and a checklist of data items to be included in the deposit can be obtained from the CCDC Home Page: <http://www.ccdc.cam.ac.uk/>.

Data for inorganic compounds should be sent to Fachinformationszentrum Karlsruhe (FIZ) by e-mail: crysdata@FIZ-Karlsruhe.de.

Deposition Codes

The Data Centers will provide deposition codes for each data set, which should be quoted in the typescript under a Supplementary Information heading after the Acknowledgements.

Standard text for CCDC:

Crystallographic data (excluding structure factors) for the structures in this paper have been deposited in the Cambridge Crystallographic Data Centre as supplementary publication number CCDC XXXXXX. Copies of the data can be obtained, free of charge, via www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033. E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

Preparation of Crystallographic Material

When the manuscript is submitted, the following guidelines should be observed:

The Abstract should not contain crystal data, but a concise statement of the main features of the structural results.

The following crystallographic data should be given in a paragraph of a Table, in a concise format:

8.1.1 Color, habit and size of the crystal(s) used, behavior of the compound under the data collection conditions.

8.1.2 The chemical formula should correspond to the complete chemical unit encompassing the crystallographic symmetry, the formula weight, $F(000)$, the absorption coefficient and the measured and calculated densities.

8.1.3 The unit cell parameters with esd's and the X-ray wavelength used.

8.1.4 The crystal system, space group and number of chemical units per cell.

8.1.5 Type of diffractometer used and method of data collection, total number of data collected, number of unique reflections, $R(\text{int})$ value, number of observed reflections with cut-off parameter, use or not of absorption correction, transmission factors.

8.1.6 The final results: R , wR , S and the number of parameters refined; treatment of hydrogen atoms; final peak and hole in the last difference map. **Only refinements on F^2 will be accepted.**

Discussion of the Structure

It must include a labeled diagram of the structure, a list of relevant geometric parameters - interatomic bond distances and angles, torsion angles, hydrogen bond parameters, etc. Data of less important parts of the structure, such as ligand sub-groups (phenyl rings, etc.) should be omitted.

8.2 Manuscripts including NMR, IR, mass spectra, etc.

Whenever a compound is synthesized or identified (new or already known), it is imperative to send all spectral data (data and spectra) as Supplementary Information (SI) along with your submission, at the end of your PDF file.

A brief mention to the existence of complementary data should be included in the Supplementary Information topic before the Conclusions section. Example:

Supplementary Information

Supplementary information (Figure S1-S4, Table S1) is available free of charge at <http://jbcs.org.br> as PDF file.

How to send this type of information: Join all spectra in one SI file. Do not forget to add captions to each one of them, identifying each individual spectrum (*e.g.*, Figure S1. ^1H NMR Spectrum of...; Figure S2. IR Spectrum of...; Figure S3. $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ Spectrum of...). If the spectra will be digitalized (scanned), choose options: Black&White, without background and 300 dpi at least. Add this file to the end of your manuscript, which should then comprehend one single PDF file, containing GA, text with tables and figures, and SI.

9. Procedure for Manuscript Submission

The *J. Braz. Chem. Soc.* offers the Authors ONLINE SUBMISSION

Since 2004, printed submissions are no longer accepted.

E-mail submissions are NOT accepted either

9.1 Step by step procedure for submission to JBCS

The online submission requires a **single PDF file** containing GA, text numbered with lines and pages, tables and figures insert in the right position, schemes and eventually Supplementary Information (spectra of the identified compounds or another additional data. For example, see section 8):

1. Using your Login and Password, access the **JBCS** site <http://jbc.sbq.org.br>

If you are not registered yet, go to the New User link:

http://submission.jbc.sbq.org.br/new_user.php and fill in the form.

2. Once logged in, choose the Author folder.

3. Choose the link: New Submission (left side menu)

A general overview of the process and the main requests are presented (if you are not ready yet for the complete submission, you can stop here).

4. If you are ready, roll the web page and click Next Step.

5. Check list the most important points that should be present in your manuscript.

6. Fill in the presented form, choose the Manuscript Type, Manuscript Title, add Keywords, paste or write a brief cover letter in which you must suggest a few possible referees' names, not related to your group and not all from the same country. Using the plus sign, add the necessary boxes to fill all co-authors' names. **Inform all authors' names as used in references** and finally roll the web page and click Go to next step.

7. Here you are invited to browse and upload the PDF file that you will submit.

After that, click Go to next step.

8. A final page will be showed and you will receive an e-mail confirming a temporary submission, with a code associated to it, as for example: **tmp_1022** (the number is not important here).

9. After we check your temporary submission and the PDF integrity (till 48 hours), you will receive the definitive reference number of the submission, *e.g.* **77/10** (not exactly this number).

9.2 Revised Manuscripts and Re-Submission

Manuscripts (Articles, Accounts, Reviews and Short Reports) returned to an author for revision must be returned within **one month**; otherwise, it will be considered **withdrawn after two months**. Communications must be returned within **two weeks**.

Revised manuscripts returned to the Editor should be submitted as PDF file online also. In case of more than very minor revisions, the author's **Response Letter** that accompanies the revised manuscript should indicate **in detail** the changes that have been made (the changes must also be **marked in another color** in the revised text) and the referees' questions should have been answered properly.

Instructions to send Revised Version (V2, V3, etc) and Response Letter

Using the registered **Login** and **Password**, log into the online submission system.

Follow the Instructions below to send your Revised Version and Response Letter (see also the text in your e-mail):

You are kindly asked to make the appropriate amendments in order to meet Editor and all Referees comments.

You will submit 2 (two) files in the Journal web page, at your **Author's Home Page**, in the section Here to Send the New Version (GO into Manuscript's **TITLE LINK**).

Then send:

1. A **Response Letter**, itemizing each comment that has been addressed, as well as any changes made, from all Referees and Editor (if so). Copy the comments and answer just after them.

2. A **Complete PDF file of the Revised Version** of your manuscript (MAIN CHANGES MUST BE MARKED WITH A DIFFERENT COLOR IN THE REVISED VERSION OF THE PDF FILE. IT IS IMPORTANT AND WELCOMED).

Instructions for Re-Submission (in case of Rejection)

The authors should use the link [New Submission](#). In this case, the **Response Letter can be placed as the Cover Letter or inserted** in the initial pages of your Manuscript. The changes made must be pointed out in the letter and the text itself should be **marked with a different color**. Do not forget to indicate the **reference number of the previous version** in the Cover Letter. You are asked to submit one single file of the manuscript, as a PDF file.

9.3 Final Version

YOUR MANUSCRIPT (evaluated as a PDF file) WAS ACCEPTED, BUT WE STILL NEED YOUR REVISED FINAL OPEN FILES TO PRODUCE THE PROOF.

FOLLOW THE INSTRUCTIONS BELOW:

Which Files to Send

Prepare INDIVIDUAL files with:

Text and Tables

Use Word for Windows and save as *.doc.

For other operating systems (Macintosh and Unix), save the file in *.rtf (Rich Text Format).

REMEMBER:

1. In the text, the references are AFTER the punctuation.
2. Use symbols and equations from the Word Editor.
3. Authors should indicate, by text or marginal notations in the manuscript, where the tables are to be inserted.

Graphics, Figures, Schemes

Send them in the original used program.

It is important that the files are editable to allow any minor mistake correction.

1. Structures *.cdx (ChemDraw, ISIS-Draw)
2. Graphics *.opj/*.org (Origin); *.xls (Excel)
3. Others *.cdr (CorelDraw)
4. Authors should indicate, by text or marginal notations in the manuscript, where the Graphics, Figures and Schemes are to be inserted

Photos and Similar Images

Only if necessary. Scan them with a minimum of 300 dpi resolution as Black&White drawing. Save them as *.tiff.

Otherwise, save as *.eps; *.wmf

For Macintosh, only *.tiff is acceptable.

Authors should indicate, by text or marginal notations in the manuscript, where the Photos and Similar Images are to be inserted.

How to Name the Files

Label the ORIGINAL files with the manuscript number and the corresponding description:

1. 559-09_full.doc (or *.rtf) containing text, tables, equations, etc. pasting figures and schemes at the end;
2. figure1.opj (or *.xls; *.cdr; etc);
3. scheme2.cdx (or *.cwg; etc);
4. etc.

Any problems with your file, the **JBCS** staff will contact you by e-mail.

How to Send your Files

1. Access your Author's **JBCS** Home Page with your Login and Password.
2. In the section Here to Send Final Version Files, click into manuscripts Title Link.

3. There you will find the link [Send Final Version Files](#) to upload the files, one by one. Alternatively you can zip all files in one, but be absolutely sure to have all necessary files into the zipped one.
4. After uploading all files, check the links online. The system works as a Virtual Disk and does not close, allowing you to upload extra files if requested or if you noted any missing one.

10. Galley Proofs - GP

The *JBCS* Journal Publishing Staff will contact you in the near future regarding your manuscript page proofs (GP).

The proofs are provided for the correction of printing errors only, *i.e.*, the proof correction should not be used for language or content improvement. If considered excessive, the change costs will be charged to the author(s).

Corrected galley proofs should be returned as soon as possible (within 72 h or in 3 business days).

Your manuscript will be published on the web only after you approve your page proofs.

11. Additions and Corrections

If errors of consequence are detected in the published manuscript, a correction should be sent to *JBCS* by the publication author in the Additions and Corrections section. It is NOT free of charge, so authors are recommended to check their galley proofs with care.

12. Contacts

Address:

J. Braz. Chem. Soc.

Instituto de Química - UNICAMP

Caixa Postal: 6154

13083-970 Campinas-SP, Brazil

E-mails:

Angela Ramalho - Editorial Manager - *JBCS*

office@jbcs.sbq.org.br

- For general subjects

Maria Suzana - Editorial Manager Assistant - *JBCS*

help_office@jbcs.sbq.org.br

- Requirement of a new password

- Update user's info (such as affiliation, e-mail address, etc.)

- Asking about the status of manuscript

- Information of submission of manuscript