



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**Centro de Ciências Exatas e Tecnologia**  
**Programa de Pós-Graduação em Química**

**ANTONIO GOMES DOS SANTOS NETO**

**DETERMINAÇÃO DE RUTINA SOBRE NANOTUBOS DE CARBONO  
MODIFICADOS COM CICLODEXTRINA**

São Luís ( MA)  
2021

ANTONIO GOMES DOS SANTOS NETO

**DETERMINAÇÃO DE RUTINA SOBRE NANOTUBOS DE CARBONO  
MODIFICADOS COM CICLODEXTRINA**

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

Orientador: Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka

São Luís (MA)

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a)  
autor(a).

Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

GOMES DOS SANTOS NETO, ANTONIO.

DETERMINAÇÃO DE RUTINA SOBRE NANOTUBOS DE  
CARBONO MODIFICADOS COM CICLODEXTRINA / ANTONIO  
GOMES DOS SANTOSNETO. - 2021.

82 f.

Coorientador(a): ANTONIO NETO.

Orientador(a): AURO ATSUSHI  
TANAKA.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em  
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

1. Ciclodextrina. 2. Flavonóides. 3. Nanotubos de carbono. 4.  
Rutina. I. ATSUSHI TANAKA, AURO. II. NETO, ANTONIO. III.  
Título.

ANTONIO GOMES DOS SANTOS NETO

**DETERMINAÇÃO DE RUTINA SOBRE NANOTUBOS DE CARBONO  
MODIFICADOS COM CICLODEXTRINA**

Aprovada em 30/ 07 / 2021

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Auro Atsushi Tanaka (Orientador)  
DEQUI – CCET - UFMA

Prof. Dr. Raimundo Ribeiro Passos  
DQ – ICE - UFAM

Prof. Dr. Roberto Batista de Lima  
DEQUI– CCET - UFMA

São Luís ( MA)  
2021

***Porque o sucesso não se alcança sozinho! mãe, família e amigos.***

## AGRADECIMENTOS

A Deus por me assegurar de todos meus passos, conduzir e cuidar de mim.

Ao Prof Dr. Auro Atsushi Tanaka pela disposição, extremamente importante desde o início do mestrado, me proporcionando muito aprendizado e sabedoria.

A minha companheira de laboratório há 6 anos e também amiga Dr<sup>a</sup> Ana Caroline (Carol) por sua extensa ajuda em todos os seguimentos do mestrado.

Aos queridos companheiros do LELQ-UFMA, que nunca hesitaram em trocar conhecimento e parceria, em especial ao José Antonio que por diversos momentos me auxiliou na vida profissional e pessoal.

Aos meus amigos de graduação e da vida: Camila, Thatyara, Alessandro, Delis, Pamela, Alan, Ylana, Matheus Closters, sem vocês desde o início eu não seria o mesmo hoje.

Não posso esquecer de agradecer à Universidade Federal do Maranhão, aos professores da pós em Química, em especial à professora Rita de Cássia, sua autenticidade e bondade lhe tornam uma pessoa incrível. Agradeço aos professores Dr. Roberto Batista de Lima por sua contribuição na análise de FTIR e Dra. Claudia Quintino da Rocha pelas análises realizadas por HPLC. Ao Prof. Dr. Marco por me auxiliar em momentos no direcionamento da pesquisa, um excelente profissional que não hesita em querer ajudar.

Agradeço ainda aos meus familiares, minha madrinha/tia Izabel por todo o ensinamento de vida, sei que sempre poderei contar com a senhora. Ao meu pai Ronald Ramada e em especial a minha mãe/luz Maria das Dores por estar sempre ao meu lado, por me ensinar a ser humano, a senhora é a minha maior referência de um ser iluminado, humilde e bondoso, não há imensidão do quanto sou grato a Deus pela sua vida, te amo grandiosamente! Ao meu pequeno príncipe e irmão Kauan Máximus. Costumo dizer que és toda a minha razão, te amo maninho. A todos os envolvidos que de alguma forma acrescentaram para minha formação de vida e profissional.

A CAPES pela bolsa de estudo concedida, ao CNPQ e FAPEMA pelos auxílios concedidos ao LELQ-UFMA e à Central Analítica do PPGQUIM-UFMA.

## RESUMO

Flavonóides tem despertado o interesse de muitos laboratórios de pesquisa em virtude desses compostos proporcionarem benefícios à saúde, como propriedades antioxidantes, anticancerígenas e antienvhecimento e contribuir na formulação de medicamentos. Devido à importância ambiental, bioquímica, química e farmacológica a determinação acurada dos flavonóides tem ganhado atenção significativa na comunidade científica. Neste contexto, o presente trabalho apresenta o desenvolvimento de uma plataforma eletroquímica empregando eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) e hidroxipropil- $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD) para determinação do flavonóide rutina em níveis de concentração nanomolar em amostras farmacológicas e em extratos de plantas da flora maranhense. Para isso, análises da modificação superficial dos NTCPM com  $\gamma$ -CD foram realizadas com as técnicas espectroscópicas de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e de impedância eletroquímica (EIE). Medidas eletroquímicas utilizando o sistema NTCPM-( $\gamma$ -CD) e diferentes técnicas voltamétricas permitiram definir a voltametria de onda quadrada (VOQ) como a mais adequada e estabelecer, sob condições experimentais otimizadas, o intervalo entre 39,22 e 975,00 nmol L<sup>-1</sup> para a detecção de rutina em soluções aquosas, com limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) de 7,32 nmol L<sup>-1</sup> e 24,39 nmol L<sup>-1</sup>, respectivamente, sensibilidade de 0,032  $\mu$ A L nmol<sup>-1</sup>, seletividade para possíveis interferentes incluindo dois flavonóides, e índices de recuperação de rutina em amostras farmacêuticas e de extrato de planta próximos a 100 %, além da validação por HPLC.

**Palavras-chave:** flavonóides, rutina,  $\gamma$ -ciclodextrina, nanotubos de carbono.

## ABSTRACT

Flavonoids have gotten the interest of many research laboratories in virtue of the many health benefits these compounds provide, such as: antioxidant, anti-cancer, anti-aging properties and contribution to the formulation of drugs. Due to the environmental, biochemical, chemical and pharmacological importance, the accurate determination of flavonoids has gained significant attention in the scientific community. This work presents the development of an electrochemical platform based on multi-walled carbon nanotubes (NTCPM) modified with hydroxypropyl- $\gamma$ -cyclodextrin ( $\gamma$ -CD) for the determination of rutin in nanomolar concentration levels in pharmacological and in regional plants extracts. To do so, the surface modification of NTCPM with  $\gamma$ -CD was evaluated with Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). Electrochemical measurements were performed using the NTCPM- ( $\gamma$ -CD) system and different voltammetric techniques, which allowed to define the square wave voltammetry (VOQ) as the most appropriate and to establish, under optimized experimental conditions, the linear range between 39,22 and 975,00 nmol L<sup>-1</sup> for the detection of rutin in aqueous solutions. Limits of detection (LOD), quantification (LOQ) and sensitivity of 24.39 nmol L<sup>-1</sup>, 0.032  $\mu$ A L nmol<sup>-1</sup> and 7.32 nmol L<sup>-1</sup> were found, respectively. The selectivity for possible interferents, including two flavonoids, was tested with recovery rates of pharmacological and in extracts plants samples close to 100%, besides HPLC validation.

**Keywords:** flavonoids, rutin,  $\gamma$ -cyclodextrin, carbon nanotubes.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1: Estrutura da rutina .....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 2: Sistema eletroquímico com célula de três eletrodos, adaptado [69].</b>	<b>20</b>
<b>Figura 3: Estrutura e propriedades das ciclodextrinas [85]. .....</b>	<b>22</b>
<b>Figura 4: Espectros de infravermelho para (NTCPM), (<math>\gamma</math>-CD) e (NTCPM/<math>\gamma</math>-CD)...</b>	<b>32</b>
<b>Figura 5: Gráfico de Nyquist obtidos em solução 0,1 mol L<sup>-1</sup> de KCl na presença de 5 mmol L<sup>-1</sup> de Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-</sup> para o ECV, ECV/NTCMP e ECV/(NTCMP/<math>\gamma</math>-CD). .....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 6: Perfis voltamétricos referentes ao décimo ciclo do ECV (voltamograma azul(a)), ECV/<math>\gamma</math>-CD(voltamograma verde(b), ECV/NTCPM (voltamograma preto (c)) e ECV/(NTCPM/<math>\gamma</math>-CD) (voltamograma vermelho (d)). Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2 em 0,05 V s<sup>-1</sup>. .....</b>	<b>35</b>
<b>Figura 7: Perfis voltamétricos referentes ao décimo ciclo do ECV (voltamograma azul(a)), ECV/<math>\gamma</math>-CD(voltamograma verde(b), ECV/NTCPM (voltamograma preto (c)) e ECV/(NTCPM/<math>\gamma</math>-CD) (voltamograma vermelho (d)). Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2 em 0,05 V s<sup>-1</sup> na presença de Rutina 25 <math>\mu</math>mol L<sup>-1</sup> .....</b>	<b>37</b>
<b>Figura 8: Voltamogramas cíclicos referentes ao ECV/(NTCPM/<math>\beta</math>-CD) na ausência (voltamograma preto) e presença (voltamograma vermelho) de Rutina, ECV/(NTCPM/<math>\gamma</math>-CD) na ausência (voltamograma azul) e presença (voltamograma ciano) de Rutina. Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2, 25 <math>\mu</math>mol.L<sup>-1</sup> de Rutina em 0,05 V s<sup>-1</sup> .....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 9: Voltamogramas cíclicos referente à Influência dos pHs 2,2 (Tampão fosfato), 4,5 (tampão acetato), 7,0 (PBS) e 10 (Tampão Borato) sobre a corrente anódica para oxidação de Rutina sobre o ECV/(NTCPM/<math>\gamma</math>-CD) 0,1 mol L<sup>-1</sup> .....</b>	<b>40</b>
<b>Figura 10: (A)Voltamogramas cíclicos referente à Influência da força iônica sobre a corrente anódica para oxidação de Rutina sobre o ECV/(NTCPM/<math>\gamma</math>-CD) e (B) gráficos referentes ao pH frente ao potencial e corrente de pico, solução fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> .....</b>	<b>41</b>

- Figura 11: Correntes de pico para a oxidação de em solução Britton-Robison, Fosfato, McIlvaine (0,1 mol L<sup>-1</sup>.  $v=0,05$  V s<sup>-1</sup>).....43**
- Figura 12: Voltamogramas cíclicos referentes a proposta de estabilidade do ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD). Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2, 25 $\mu$ mol L<sup>-1</sup> de Rutina em 0,05 V s<sup>-1</sup>.....44**
- Figura 13: (A) Voltamogramas referentes ao estudo de diferentes técnicas e (B) correntes de pico extraídas dos voltamogramas realizados em solução fosfato salino 0,1M, pH 2,2  $v= 0,05$  V s<sup>-1</sup>.....44**
- Figura 14: Voltamogramas cíclicos para (A) 25  $\mu$ mol L<sup>-1</sup> de Rutina sobre eletrodo ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em solução de 0,01 mol L<sup>-1</sup> tampão fosfato (pH 2,2) em diferentes velocidades de varredura, (B) Dependência linear das correntes de picos ( $I_{pa}$ ) e ( $I_{pc}$ ) vs a variação de velocidade e (C) Dependência do logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura. ....47**
- Figura 15: Voltamogramas cíclicos para (A) 25  $\mu$ mol L<sup>-1</sup> de Rutina sobre eletrodo ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em solução de 0,01 mol L<sup>-1</sup> tampão fosfato (pH 2,2) em diferentes velocidades de varredura, (B) Dependência linear das correntes de picos ( $I_{pa}$ ) e ( $I_{pc}$ ) vs raiz quadrada da variação de velocidade e (C) Dependência do logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para Rutina ..... 48**
- Figura 16: (A) Voltamograma cíclico referente às diferentes adições de Rutina em solução eletrolítica contendo o ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) e (B) gráfico de  $I_p$  versus [Rutina]. Experimentos realizados em solução tampão fosfato pH 2,2.  $v= 0,05$  V s<sup>-1</sup> .....50**
- Figura 17: Gráfico da corrente de pico da Rutina sobre o ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em função da: (A) amplitude de pulso e (B) Frequência.  $v=0,05$  V s<sup>-1</sup>. .....52**
- Figura 18: (A) Voltamogramas de onda quadrada referente às diferentes adições de Rutina em solução eletrolítica contendo o ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) e (B) gráfico de  $I_p$  versus [Rutina]. Experimentos realizados em solução tampão fosfato pH 2,2.  $v= 0,05$  V s<sup>-1</sup>.....53**
- Figura 19: Cromatograma do extrato EtOH 70% das folhas de *A. brachypoda*. Coluna Phenomenex® Luna C18 (250 x 4,6mm i.d. ; 4 $\mu$ m ), fluxo 1,0 ml.min<sup>-1</sup> , Solventes: A=H<sub>2</sub>O, B=MeOH ambos com FA 0,01%. Sistema de eluição gradiente linear 0-100% de B em 60 min e espectro no UV do marcador rutina. ....57**

**Figura 20: Curva analítica obtida pelo método de calibração externa a partir de injeções em triplicata de solução padrão de Rutina .....58**

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1: Relação dos reagentes utilizados .....</b>	<b>25</b>
<b>Tabela 2: Efeito de interferentes frente a resposta da Rutina no sensor ECV/NTCMP/<math>\gamma</math>-CD. ....</b>	<b>55</b>
<b>Tabela 3: Teste de adição e recuperação utilizando o método proposto para duas amostras farmacêuticas e uma amostra de extrato de planta.....</b>	<b>56</b>
<b>Tabela 4: Comparação de parâmetros analíticos da oxidação de Rutina no eletrodo modificado com (NTCMP/<math>\gamma</math>-CD).....</b>	<b>59</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

**VC** - Voltametria cíclica

**VPD** - Voltametria de pulso diferencial

**VOQ** - Voltametria de onda quadrada

**RUT** - Rutina

**DMF** - Dimetil formamida

**NTCPM** - Nanotubos de carbono de paredes múltiplas

**FTIR** - Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

**EIE** - Espectroscopia de impedância eletroquímica

**EQM** - Eletrodo quimicamente modificado

**ECV** - Eletrodo de carbono vítreo

**POL** - Polifenol

**NTC** - Nanotubos de carbono

**NTCPs** - Nanotubos de carbono de parede simples

**CD** - Ciclodextrina

$\gamma$ -**CD** - Hidroxipropil- $\gamma$ -ciclodextrina

$\beta$ -**CD** -  $\beta$ -ciclodextrina

**Ipa** - Corrente de pico anódico

**Ipc** - Corrente de pico catódico

**LOD** - Limite de detecção

**LOQ** - Limite de quantificação

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	IV
RESUMO .....	V
ABSTRACT .....	VI
LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS .....	XI
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
2.1 GERAL.....	14
2.2 ESPECÍFICOS .....	14
<b>3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....</b>	<b>16</b>
3.1 DETECÇÃO ELETROQUÍMICA .....	19
<b>3.1.1 Sistema eletroquímico .....</b>	<b>19</b>
<b>3.1.2 Sensores eletroquímicos.....</b>	<b>20</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
4.1 REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS .....	25
4.2 INSTRUMENTAÇÃO .....	26
<b>4.2.1 Medidas Voltamétricas .....</b>	<b>26</b>
<b>4.2.2 Célula Eletroquímica e Eletrodos .....</b>	<b>26</b>
<b>4.2.3 Pré tratamento da superfície do eletrodo CV.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2.4 Medidas de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE).....</b>	<b>27</b>
<b>4.2.5 Medidas de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2.6 Instrumentos para preparo das pastilhas .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2.7 Modificação da superfície do eletrodo CV com NTCPM e <math>\gamma</math>-CD.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2.8 Obtenção e preparo de amostras farmacêuticas .....</b>	<b>28</b>
<b>4.2.9 Obtenção e preparo do extrato das folhas da planta <i>Arrabidaea brachypoda</i>.....</b>	<b>29</b>

<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
5.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	31
5.2 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA.....	32
5.3 CARACTERIZAÇÃO VOLTAMÉTRICA DO ECV MODIFICADO COM (NTCPM/ $\gamma$ -CD) .....	34
5.4 CARACTERIZAÇÃO VOLTAMÉTRICA DO ECV MODIFICADO COM (NTCPM/ $\gamma$ -CD) NA PRESENÇA DE RUTINA .....	36
5.5 AVALIAÇÃO DO SENSOR FRENTE À LITERATURA .....	38
5.6 INFLUÊNCIA DO PH .....	39
5.7 FORÇA IÔNICA.....	41
5.8 INFLUÊNCIA DO ELETRÓLITO DE SUPORTE.....	42
5.9 ESTUDO DE ESTABILIDADE DO ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) NA PRESENÇA DE RUTINA.....	43
5.10 ESCOLHA DA TÉCNICA PARA DETERMINAÇÃO DE RUTINA .....	44
5.11 ESTUDO DE DIFERENTES VELOCIDADES DE VARREDURA .....	46
5.12 VOLTAMETRIA CÍCLICA COM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE RUTINA SOBRE O SENSOR E CURVA ANALÍTICA .....	49
5.13 PARÂMETROS OPERACIONAIS DA VOQ.....	51
5.14 CURVA ANALÍTICA EM VOQ .....	52
5.15 SELETIVIDADE .....	54
5.16 EXATIDÃO .....	55
5.17 VALIDAÇÃO DO MÉTODO .....	56
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>61</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>63</b>

---

# INTRODUÇÃO

---



## 1. INTRODUÇÃO

Com o avanço da química e da farmacologia, vários compostos, como glicosídeos cardiotônicos, flavonóides e alcalóides, puderam ser isolados e identificados, possibilitando estudar melhor suas características e propriedades biológicas [1, 2]. Desde então, as indústrias começaram a se interessar pela produção e comercialização de produtos naturais [3]. Alguns compostos de origem natural tornaram-se medicamentos, enquanto outros foram melhorados do ponto de vista farmacêutico ou utilizados como precursores na produção de fármacos [4]. Entretanto, a busca por novos compostos bioativos, assim como os estudos que visam transformar compostos já conhecidos, com a finalidade de melhorar propriedades farmacológicas e até mesmo farmacotécnicas [5, 6].

Os flavonoides são substâncias bastante estudadas uma vez que são compostos polifenólicos amplamente encontrados em plantas, possuindo várias funções no desenvolvimento e defesa destes organismos [7]. Além disso, relatam-se propriedades benéficas como atividades antioxidante, anticâncer, antialérgica, anti-inflamatória, antiulcerosa, antineoplásica, hepatoprotetora, antihipertensiva, hipolipidêmica, antiplaquetária, dentre outras [8, 9]. Estes efeitos podem estar relacionados às propriedades inibitórias que os flavonóides desempenham em vários sistemas enzimáticos, incluindo, hidrolases, polimerases, fosfatases, proteínas fosfoquinases e aminoácido oxidases. Especificamente, a atividade antioxidante dos flavonóides é o que tem despertado mais interesse por retardarem o início da reação de oxidação, reagindo com radicais livres e formando compostos estáveis e, assim, impedindo a propagação de reações em cadeia de formação dos compostos oxidados [10]. Os radicais livres são moléculas altamente instáveis, formados durante o metabolismo ou devido à exposição a fatores ambientais [11, 12] e podem causar doenças degenerativas e morte das células. Em nossos sistemas de defesa antioxidante, enzimas captam e aniquilam o excesso de radicais livres nas células [13, 14].

Dentre a classe de flavonóides, a rutina tem amplo destaque devido a sua elevada capacidade bioativa, sendo comprovado uma ampla gama de funções

fisiológicas, como anti-inflamatória, antibacteriana, antienvhecimento e antioxidante, e usada clinicamente como medicamento terapêutico [15].

Nos últimos anos, alguns estudos demonstraram que os flavonóides podem sensibilizar a resposta microglial estimulada por lipopolissacarídeos [16-18]. A rutina também exibe a capacidade de inibir a agregação de beta-amiloide e citotoxicidade, inibe a produção de óxido nítrico (NO) e citocinas pró-inflamatórias e atenua o estresse oxidativo *in vitro* [19]. Destes compostos antioxidantes, nem todos podem ser produzidos pelo nosso organismo e, por isso, têm que ser obtidos pelos alimentos ou suplementos alimentares. Acredita-se que os antioxidantes ajudam na prevenção do desenvolvimento de doenças crônicas como o câncer, doenças cardíacas, derrame, mal de Alzheimer, artrite reumatoide e catarata [13].

A rutina tem sido amplamente encontrada em plantas, como botões de *Flos Sophorae* e nas folhas de dezenas de espécies de plantas, o que tem despertado amplo interesse de laboratórios na aplicação de diferentes metodologias para a detecção e a quantificação da rutina em diferentes matrizes (biológicas, farmacológicas e clínicas) [20].

Entre os possíveis métodos analíticos aplicados a compostos fenólicos, destacam-se os métodos eletroquímicos, que tem demonstrado grande versatilidade na análise de compostos orgânicos e inorgânicos utilizando plataformas à base de eletrodos quimicamente modificados (EQMs), facilitando a transferência eletrônica entre a superfície de um eletrodo não-modificado com o analito e, muitas vezes, pré-concentrando as espécies de interesse analítico [21-27]. Neste sentido, nanotubos de carbono ou grafeno tem sido muito utilizado na modificação de eletrodos devido as suas interessantes propriedades eletrônicas. As pequenas dimensões, presença de grupos funcionais superficiais, boa condutividade, excelente biocompatibilidade, paredes laterais modificáveis e alta reatividade, os tornam altamente adequados na construção de sensores eletroquímicos com alto desempenho [28-34].

Nos últimos anos, além da modificação da superfície de um eletrodo com nanotubos de carbono ou grafeno, uma alternativa no sentido de melhorar ainda mais as propriedades eletroanalíticas do sensor eletroquímico consiste na

incorporação de mediadores eletrônicos mais eficientes, como enzimas, complexos inorgânicos ou orgânicos, óxidos de metais de transição, o que auxiliam na eficiência, sensibilidade e seletividade das metodologias [35-46].

---

# OBJETIVOS

---

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Desenvolver um sensor eletroquímico à base de nanotubos de carbono modificados com ciclodextrina para a determinação seletiva e sensível de rutina em soluções aquosas.

### 2.2 Específicos

- Caracterizar por técnicas espectroscópicas os nanotubos de carbono de paredes múltiplas e hidroxpropil- $\gamma$ -ciclodextrina;
- Avaliar as propriedades eletroanalíticas do eletrodo ECV modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas e hidroxpropil- $\gamma$ -ciclodextrina como um sensor eletroquímico para a detecção de rutina;
- Estabelecer a técnica eletroquímica adequada e otimizar as condições experimentais para a detecção eletroanalítica de rutina;
- Realizar estudos de possíveis interferentes na detecção de rutina;
- Aplicar a metodologia otimizada na determinação de rutina em amostras reais e comparar os resultados com os obtidos com cromatografia líquida de alta eficiência;

---

# FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

---

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Polifenóis (POLs) são substâncias presentes em plantas e caracterizadas por possuírem hidroxilas ligadas a um anel aromático [47] e serem essenciais nas áreas de lesões físicas, infecção, condições de estresse e radiação ultravioleta, e tornam-se um grupo muito diversificado de fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além de atuarem como agente antipatogênico [48,49]. Além disso, englobam-se a esses processos, os fenóis simples, ácido hidroxibenzóico e derivados de ácido cinâmico, flavonóides, cumarinas e taninos, entre outros [50, 51].

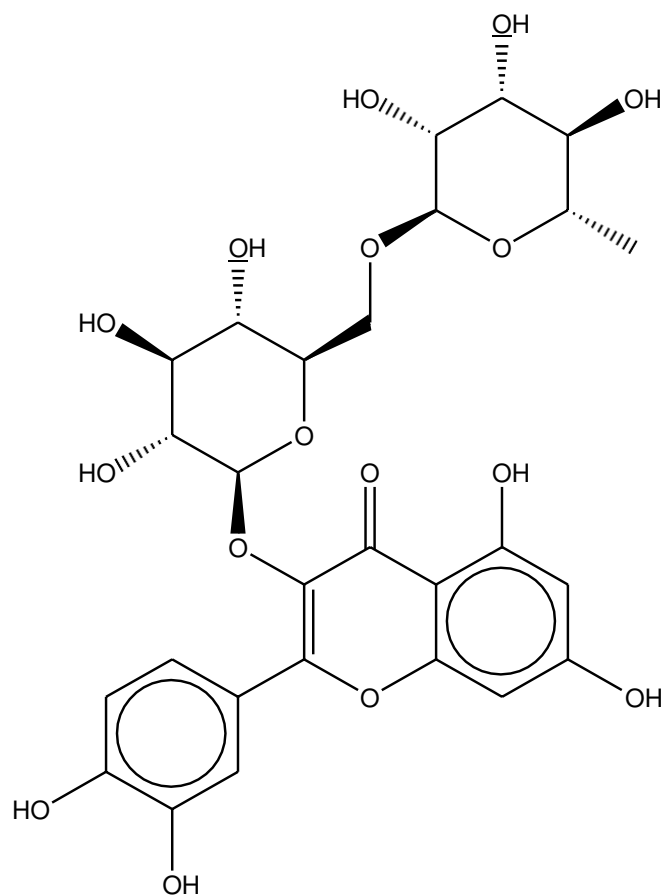
Os POLs possuem capacidade de gerar efeitos biológicos, como por exemplo, o sequestro de radicais de oxigênio e modulação da eficiência de algumas enzimas, além de atuarem como agentes anti-inflamatório, antialérgico e antibiótico. No caso de compostos específicos, observa-se altas concentrações em determinados alimentos, como por exemplo, a miricetina (brócolis), as antocianinas encontradas nas frutas vermelhas, além das flavanonas encontradas nas frutas cítricas. Os POLs são atuantes nas células cerebrais, impedindo a ação dos radicais livres, promovendo-as proteção, de modo que os danos degenerativos que geralmente são causados por estresse oxidativo sejam amenizados [52, 53].

Pesquisadores têm investigado a separação, identificação, quantificação e aplicação dos flavonóides, encarando diversos impasses metodológicos por apresentarem alta reatividade e passivação à ação de enzimas. Além de englobarem uma gama enorme de substâncias, outro obstáculo para estes métodos é a dificuldade em encontrar um padrão específico e conveniente, devido à complexidade das substâncias fenólicas presentes nos alimentos e as diferenças de reatividade entre estas substâncias e os reagentes [53, 54].

Alguns flavonóides, como a rutina (3-*O*-rutinosídeo-quercetina) são amplamente encontrados em plantas. Investigações relacionadas mostram que a rutina possui grande atividade fisiológica, como ação anti-inflamatória, antitumoral e antibacteriana, sendo usada clinicamente como medicamento terapêutico [15, 20, 55, 56].

A rutina, cuja estrutura é mostrada na Figura 1, é rica em vitamina P, também apresenta funções clinicamente relevantes na prevenção de doenças e proteção da estabilidade do genoma [57].

**Figura 1: Estrutura da rutina**



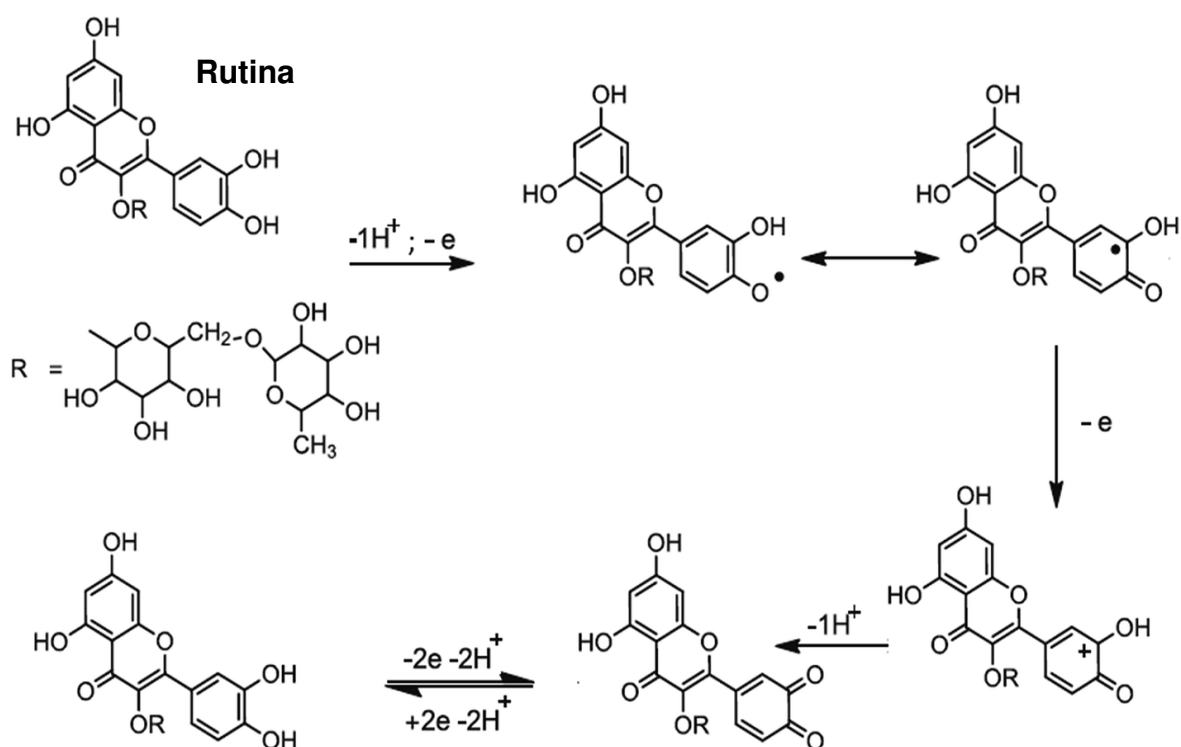
Fonte: próprio autor (2021).

O mecanismo de oxidação eletroquímica da rutina ocorre em etapas rápidas e sucessivas (ver Esquema 1). O mecanismo é iniciado por uma primeira transferência de elétrons, que resulta em 4 (quatro) formas mesoméricas de radicais fenoxi. O radical apresentado é o mais estável devido aos efeitos eletrônicos dos grupos hidroxila. Posteriormente, o radical 2 sofre rapidamente uma segunda transferência de elétrons resultando no carbocátion apresentado, após este carbocátion é rapidamente desidratado para formar o produto 3', 4'-



diquinona. A 3',4'-diquinona formada é então reduzida à rutina durante a reação reversa [55].

**Esquema1:** Mecanismo de oxidação eletroquímica da rutina [55].



Métodos analíticos, incluindo quimioluminescência [58], HPLC acoplado com detectores de matriz de fotodiodo e fluorescência [59, 60], espectrofotometria ultravioleta-visível [61] e eletroquímicos [62-64] têm sido aplicados na determinação de rutina. Frente às técnicas mencionadas, os métodos eletroquímicos se destacam por envolver metodologia mais práticas, serem rápidos e sensíveis, e possíveis de serem aplicados em tempo real por meio de sistemas portáteis. Além disso, os sensores eletroquímicos utilizados podem ser fabricados em formas descartáveis e com dimensões extremamente pequenas e, portanto, ideais para colocação direta em soluções contendo quantidades mínimas do analito no eletrólito, em direta consonância com conceitos estabelecidos na Química Verde.

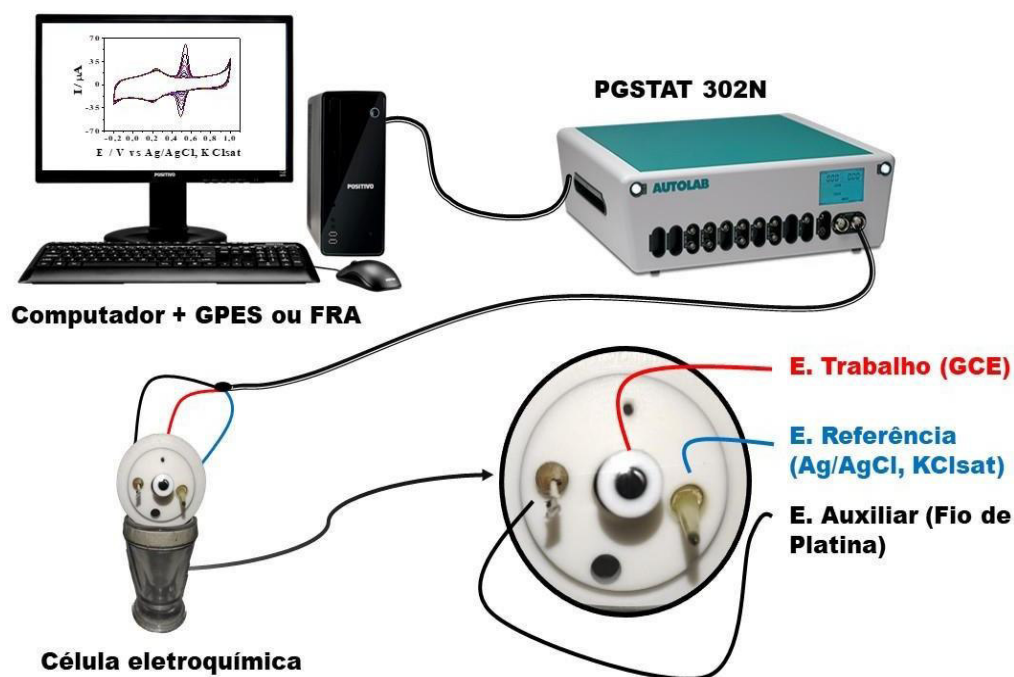
### 3.1 Detecção Eletroquímica

#### 3.1.1 Sistema eletroquímico

Os métodos eletroquímicos vêm se inovando a cada dia com a elaboração de sensores, 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. Estes dispositivos possuem características peculiares que os distinguem de métodos instrumentais de grande porte, os quais, por sua vez, são cada vez mais precisos, sensíveis e seletivos, mas não permitem a obtenção de informações *in situ* e em tempo real. Dados nestas condições experimentais são facilmente obtidos com sensores eletroquímicos e, mesmo que as medidas não tenham precisão e exatidão comparáveis às dos métodos instrumentais, em muitas ocasiões têm-se elementos suficientes para tomadas de decisão. Características vantajosas também inerentes ao uso de sensores referem-se à portabilidade, facilidade de automação, possibilidade de miniaturização e baixo custo [65,66]

A definição mais precisa para eletroquímica seria "a ciência que analisa e descreve reações de transferência de carga da matéria num nível atômico, realizada por meio da aplicação de uma corrente elétrica ou de tensão com a ajuda de dispositivos eletrônicos" [67], e de produção de sinais de potencial ou de corrente, gerados a partir das interações entre as substâncias a serem analisadas e os eletrodos associados [68]. O sistema eletroquímico mais utilizado é o sistema de 3 (três eletrodos), que consiste em um eletrodo de trabalho (um eletrodo no qual a reação de interesse ocorre), um eletrodo de referência e um eletrodo auxiliar. A Figura 2 ilustra de forma resumida a simplicidade de um sistema eletroquímico com célula de 3 eletrodos.

Figura 2: Sistema eletroquímico com célula de três eletrodos, adaptado [69].



### 3.1.2 Sensores eletroquímicos

Atualmente, diversas metodologias eletroquímicas utilizam eletrodos quimicamente modificados (EQMs) como novas plataformas da eletroanálise, visto que grande maioria das aplicações analíticas de EQMs utiliza técnicas voltamétricas e amperométricas. Na visão analítica, a sensibilidade e a seletividade na detecção de algum analito aumenta consideravelmente com a utilização de EQMs, pois as espécies modificadoras podem reagir de diversas formas com o analito, pré-concentrando a espécie de interesse, bem como apresentar propriedades eletrocatalíticas, sucedendo-se com uma maior e mais eficiente transferência eletrônica [70-74].

O desenvolvimento da ciência vem integrando várias áreas do conhecimento, levando ao mesmo tempo a uma crescente miniaturização dos sistemas e dispositivos funcionais. O foco atual da tecnologia está em nível de nanoescala, onde notáveis progressos vêm sendo alcançados como resultado do avanço em planejamento molecular de materiais e da capacidade de manipular estruturas a nível atômico-molecular, dessa forma, o campo da

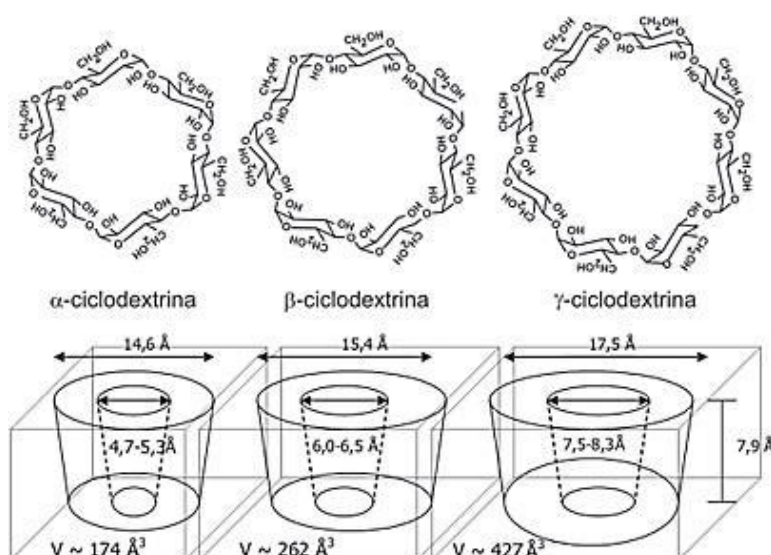
nanociência compreende sistemas cujas dimensões estão na ordem de 1 a 100 nm, o que permite entender, controlar e explorar a matéria em seu estágio inicial de formação, contribuindo desta forma para intervir no processo original e decidir em que etapa de crescimento uma dada estrutura ou sistema apresenta as propriedades físicas e químicas desejadas [75]. Explorar estas propriedades pode assegurar a criação de dispositivos a nível atômico, molecular e supramolecular otimizados, o que constitui requisito essencial em qualquer área de interesse. Portanto, a nanociência toma como fundamentos as propriedades atômicas e moleculares, governadas pelas leis insólitas da mecânica quântica para e, a partir disso, construir sistemas com propriedades ou desempenho desejáveis [76].

Neste sentido, nanotubos de carbono (NTC) constituem-se num dos diversos nanomateriais que vem sendo utilizados na elaboração de sensores eletroquímicos, considerado promissor devido suas características únicas, como alta condutividade elétrica, estabilidade química e alta resistência mecânica [77-79]. Os Nanotubos de carbono consistem de esferas cilíndricas de folhas grafiticas com diâmetro nanométrico e encontrados em dois tipos distintos de estruturas: os nanotubos de carbono de parede simples (NTCPS) e os nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM). As propriedades eletrônicas sutis dos NTCs sugerem que possuem a capacidade de promover a reação de transferência eletrônica quando usados elemento modificante da superfície de um eletrodo base, como o carbono vítreo, e permitindo projetar novos sensores eletroquímicos [80, 81].

Embora os NTCs possuam propriedades extremamente interessantes para a construção de sensores, apresentam utilidade limitada como eletrocatalisadores, dessa forma, é necessário a busca de novos materiais que por meio de efeito sinérgico possam produzir plataformas eletrocatalíticas, de modo a promover maior sensibilidade e seletividade. Neste sentido, uma revisão da literatura associada com o tema do presente trabalho indicou a possibilidade da utilização de ciclodextrinas como elemento co-catalisador na composição de um eletrodo modificado com nanotubos de carbono para a detecção de rutina em soluções aquosas.

As ciclodextrinas (CDs) podem ser encontradas em 3 (três) diferentes diâmetros (Figura 3) e constituem uma nova classe de excipientes farmacêuticos compostos por unidades de D-glucopiranosose, que unidas originam estruturas cíclicas troncocônicas. Na área farmacêutica, este excipiente tem sido explorado principalmente no incremento da solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de medicamentos [82], bem como sua utilização para mascarar odores e sabores desagradáveis de certos fármacos, para reduzir ou eliminar irritações oculares ou gastrointestinais e na prevenção de interações e incompatibilidades [83, 84].

**Figura 3: Estrutura e propriedades das ciclodextrinas [85].**



Muitos dos estudos na literatura têm demonstrado a capacidade da β-ciclodextrina no encapsulamento de analitos e, portanto, aplicações em sensores eletroquímicos [64, 86-90]. Todavia, a utilização de γ-ciclodextrina não tem sido reportada como elemento modificador, motivando o desenvolvimento de uma nova plataforma à base de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) e γ-CD para a detecção de rutina em formulações farmacêuticas e em extratos de plantas.

Assim, com base no anteriormente exposto, este trabalho propõe o desenvolvimento de uma plataforma eletroquímica baseado no eletrodo de CV modificado com nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM) e

hidroxpropil- $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD) para determinação de rutina em níveis de concentração nanomolar em amostras farmacológicas e em extratos de plantas regionais.

---

# **MATERIAIS E MÉTODOS**

---

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Reagentes, soluções e amostras

Os reagentes utilizados foram de grau analítico (Tabela 1). Todas as soluções foram preparadas com água purificada (condutividade  $\leq 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) num sistema Millipore Direct-8 e os valores de pH medidos num pHmetro Metrohm 827. As soluções estoques de rutina foram preparadas utilizando-se metanol como solvente.

Todos os experimentos foram realizados a temperatura ambiente.

**Tabela 1: Relação dos reagentes utilizados.**

<b>REAGENTES</b>	<b>PROCEDÊNCIA</b>
Ácido acético	Quimex
Ácido ascórbico	Sigma-Aldrich
Ácido bórico	Merk
Ácido cítrico	Merk
Ácido fosfórico	Isofar
Ácido tânico	Sigma-Aldrich
Ácido vanílico	Sigma-Aldrich
Brometo de potássio	Sigma-Aldrich
Cafeína	Sigma-Aldrich
Cloreto de potássio	Merk
Dimetilformamida	Sigma-Aldrich
Ferricianeto de potássio	Merk
Fosfato de sódio monobásico	Isofar
Hidroxpropil- $\gamma$ -Ciclodextrina	Sigma-Aldrich
Metanol	Sigma-Aldrich
Nanotubos de carbono de múltiplas paredes	Time Nano (China)
Rutina tri-hidratada	Sigma-Aldrich

Fonte: próprio autor (2021).



## 4.2 Instrumentação

### 4.2.1 Medidas Voltamétricas

As medidas eletroquímicas foram realizadas com o auxílio de um potenciostato/galvanostato Autolab® PGSTAT 302N com módulo de impedância eletroquímica acoplado a um microcomputador com o *software* GPES 4.9 para controle de potencial, aquisição e tratamento de dados. As respostas eletroquímicas de corrente de pico e potencial foram obtidas através das técnicas de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ).

As pesagens das quantidades de reagentes utilizadas na preparação das soluções foram realizadas numa balança analítica KERN 410 - AY220.

### 4.2.2 Célula Eletroquímica e Eletrodos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados numa célula eletroquímica de compartimento único, com capacidade de 10 mL de eletrólito, e utilizando-se 3 (três) eletrodos: um eletrodo de trabalho de carbono vítreo (CV), com uma área geométrica de ( $\sim 0,07 \text{ cm}^2$ ), um eletrodo auxiliar de platina (Pt) e um eletrodo de referência Ag/AgCl, KCl 3 mol L<sup>-1</sup>. Todos os potenciais mencionados neste trabalho são com relação a este eletrodo de referência.

### 4.2.3 Pré tratamento da superfície do eletrodo CV

Inicialmente, o eletrodo CV foi submetido a um polimento manual, com suspensão aquosa de alumina com granulações 1,00; 0,30 e 0,05  $\mu\text{m}$  (Micropolishing Material, Buehler Ltda). Após o polimento, o eletrodo CV foi lavado com água purificada e, posteriormente, imerso em água purificada e sonicada em um sistema de banho ultrassom, por cerca de 2 minutos, para a remoção de possíveis partículas de alumina impregnadas na sua superfície.

#### 4.2.4 Medidas de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)

Para as medidas de EIE foram utilizadas soluções aquosas contendo 5 mmol L<sup>-1</sup> de hexacianoferrato de potássio (III) e 100 mmol L<sup>-1</sup> de KCl. Os dados obtidos foram analisados por meio de gráficos de Nyquist e um circuito R (C [RW]) para o ajuste dos dados.

#### 4.2.5 Medidas de Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho estuda a interação da luz infravermelha com a matéria. Quando um feixe de luz na região do infravermelho é direcionado a uma amostra, os comprimentos de onda absorvidos dependem das vibrações moleculares da substância. Dessa forma, com base na absorbância infravermelha de uma amostra, pode-se extrair informações químicas e estruturais de uma amostra.

As múltiplas maneiras pelas quais a luz infravermelha pode ser direcionada às amostras e a gama de detectores disponíveis permitem a análise de uma ampla variedade de amostras em uma variedade de condições.

No presente trabalho, foram avaliadas as características espectroscópicas dos diferentes materiais: nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM), hidroxipropil- $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas + hidroxipropil- $\gamma$ -ciclodextrina + (NTCPM/ $\gamma$ -CD), em pastilhas de KBr.

#### 4.2.6 Instrumentos para preparo das pastilhas

Para a elaboração da pastilha utilizada nas medidas de FTIR, utilizou-se um sal cristalizado, o brometo de potássio (KBr), este cristal foi primeiramente macerado até que se torne um pó bem fino, o sal foi então submetido a instrumentos e a pressão constante por 1 minuto e transformado em uma pastilha, essa pastilha por sua vez foi submetida a leitura no equipamento que serviu como branco. As amostras foram então diluídas com o sal macerado de

KBr e feito o mesmo procedimento para obtenção das pastilhas agora com as amostras, que são posteriormente levadas a leitura do equipamento.

#### *4.2.7 Modificação da superfície do eletrodo CV com NTCPM e $\gamma$ -CD*

As modificações da superfície do eletrodo CV foram realizadas de acordo com o descrito na literatura [91, 92], a partir de uma suspensão contendo 0,002 g de NTCPM e 0,02 g de  $\gamma$ -CD em 1 mL de dimetilformamida (DMF), e sonicada por cerca de 3 (três) horas para uma melhor dispersão.

Para modificação do eletrodo CV, uma alíquota de 10  $\mu$ L da suspensão contendo NTCPM/ $\gamma$ -CD foi retirada, com o auxílio de uma micropipeta, e depositada sobre a superfície do eletrodo CV. Em seguida, o eletrodo foi colocado numa estufa a uma temperatura de 50°C, por 15 minutos, para a evaporação do solvente.

#### *4.2.8 Obtenção e preparo de amostras farmacêuticas*

O método empregado na determinação de rutina em amostras farmacêuticas foi o da adição de padrão, onde o sinal analítico é gerado pelas amostras em relação à curva analítica construída com os respectivos padrões. Testes de adição e recuperação também foram realizados na presença das matrizes, a fim de verificar a exatidão do método proposto.

As amostras farmacêuticas contendo rutina foram adquiridas no comércio, sendo: 1) Rutina (150 mg) em caixa contendo 50 comprimidos produzidos pela Físico Farma, e 2) Rutina (150 mg) em caixa contendo 50 comprimidos produzidos pela Unic Pharma. As soluções de cada uma das amostras dos medicamentos foram preparadas da seguinte forma: 3 (três) comprimidos foram pesados em balança analítica para a obtenção de um valor médio por comprimido. Em seguida, um único comprimido foi solubilizado em 10 mL de solução metanol-água (80:20 v:v) e a solução filtrada e utilizada na preparação de soluções diluídas com concentrações desejadas no eletrólito de suporte. Para cada amostra comercial, os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 4.2.9 Obtenção e preparo do extrato das folhas da planta *Arrabidaea brachypoda*.

A fim de otimizar as condições cromatográficas para a quantificação de Rutina, foram realizados experimentos com o extrato EtOH 70% em equipamento HPLC Shimadzu equipado com bomba quaternaria e Photodiode Array Detector (DAD) e injetor manual.

A amostra foi obtida a partir do extrato das folhas da planta *Arrabidaea brachypoda*, coletadas na fazenda de Sant'anna da Serra em João Pinheiro, Minas Gerais, Brasil. A preparação da amostra consistiu de uma etapa de *clean up* por extração em fase sólida, utilizando-se um cartucho Phenomenex Strata C18 (500 mg/6 mL), previamente ativado com 5 ml de metanol e equilibrado com 5 ml de metanol:água (95:5, v/v). Uma solução de 2 mL de extrato EtOH 70% em metanol:água (95:5, v/v), em concentração de 30 mg.mL<sup>-1</sup>, foi eluída com a mesma fase móvel utilizada para equilíbrio do cartucho e coletada em balão volumétrico de 5 mL, tendo seu volume completado ao final da eluição. Ao final, a solução foi filtrada em um filtro Millex com tamanho de poro de 0,22 µm. Alíquotas de 20 µL desta solução foram injetadas no HPLC. Várias condições foram avaliadas para que se obtivesse a melhor separação dos picos majoritários (Figura 19). A melhor delas consistiu em separação com coluna Phenomenex Luna C18 (25 cm x 4.6 mm x 5 µm) , e gradiente de fase móvel composta água:metanol contendo 0,01% de FA (ácido fórmico) e monitoramento em 254 nm. Nas condições empregadas, obteve-se separação de linha base para os principais componentes da amostra, numa corrida de cerca de 60 minutos.

---

# **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

---

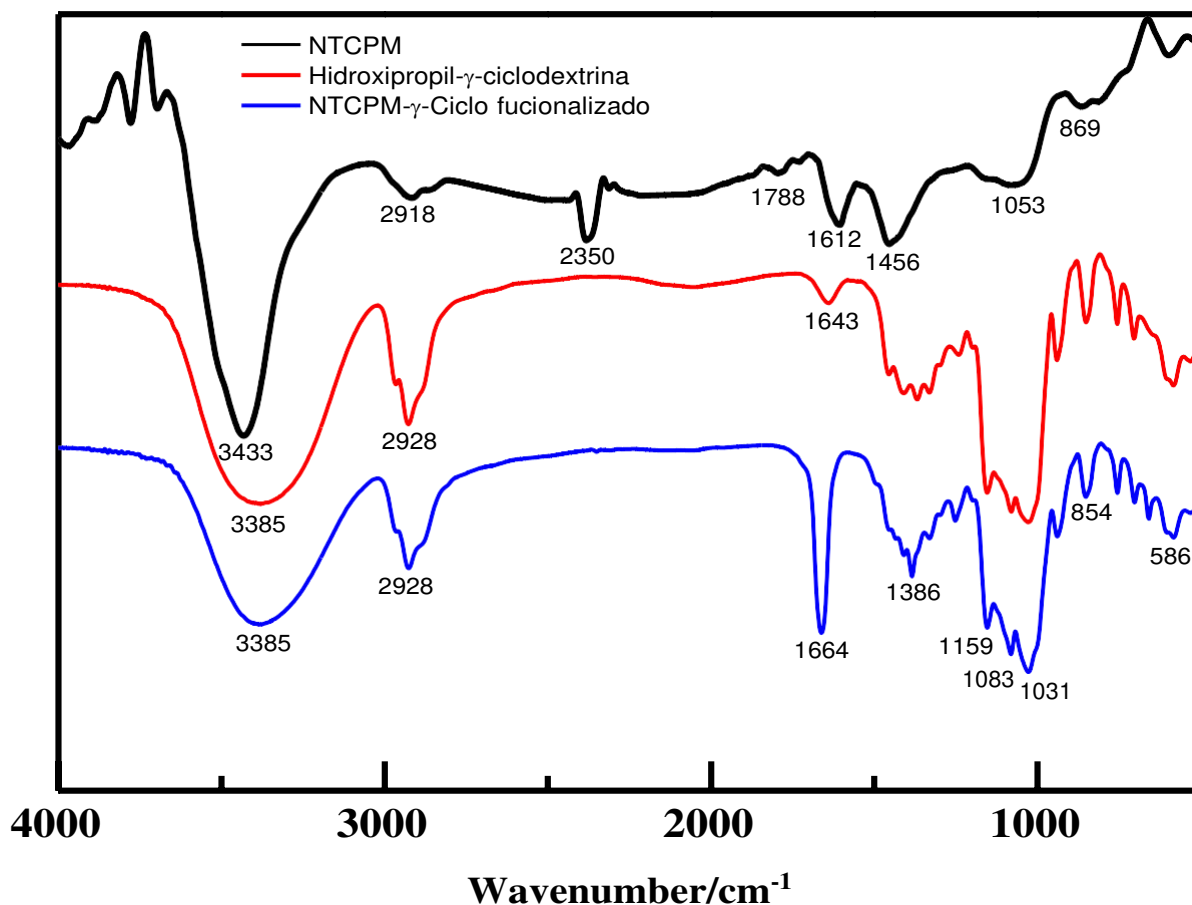
## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Análise dos espectros FTIR dos materiais: nanotubos de carbono de paredes múltiplas (NTCPM), hidroxipropil- $\gamma$ -ciclodextrina ( $\gamma$ -CD) e NTCPM modificados com  $\gamma$ -CD (NTCPM/ $\gamma$ -CD), com base em estudos publicados na literatura [93-95], mostraram que:

- a) (NTCPM) (linha preta na Figura 4) apresentou bandas em  $3415\text{ cm}^{-1}$  atribuídas ao estiramento  $\text{OH}^-$  de grupos carboxílicos ( $\text{O}=\text{C}-\text{OH}$  e  $\text{C}-\text{OH}$ ). Embora o material não tenha sido submetido a nenhum tratamento químico para funcionalização da sua superfície, a presença desses grupos na superfície dos nanotubos pode indicar uma oxidação parcial do material proveniente de seu preparo. A presença desse grupo pode ser confirmada pela presença da banda em  $1640\text{ cm}^{-1}$  referente ao estiramento  $\text{C}=\text{C}$ , enquanto a banda em  $3554\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída a grupos  $\text{OH}^-$  livres;
- b) ( $\gamma$ -CD) (linha vermelha na Fig. 4) apresentou bandas características em  $3385\text{ cm}^{-1}$  (estiramento  $\text{OH}$ );  $2928\text{ cm}^{-1}$  (estiramentos  $\text{CH}$  de grupos  $\text{CH}$  e  $\text{CH}_2$ );  $1643\text{ cm}^{-1}$  (vibração de flexão  $\text{OH}$ ); e em  $1155\text{ cm}^{-1}$ ,  $1083\text{ cm}^{-1}$  e  $1033\text{ cm}^{-1}$  (estiramentos  $\text{CO}$ ) [96];
- c) (NTCPM/ $\gamma$ -CD) (linha azul na Fig. 4) não apresentou grandes diferenças vibracionais para a maioria das bandas observadas quando comparado ao obtido para ( $\gamma$ -CD); todavia um forte deslocamento de  $21\text{ cm}^{-1}$  para o estiramento atribuído à deformação da ligação  $\text{OH}$  da hidroxipropil- $\gamma$ -ciclodextrina [97], indicando uma interação do grupo funcional com as paredes dos nanotubos de carbono.

Figura 4: Espectros de infravermelho para (NTCPM), ( $\gamma$ -CD) e (NTCPM/ $\gamma$ -CD)



Fonte: próprio autor (2021).

## 5.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica

A técnica de EIE é utilizada para caracterização elétrica de um sistema, pois fornece uma visão completa e detalhada das características elétricas da interface eletrodo/solução de um determinado sistema, sendo estas informações de grande interesse na eletroquímica [98]. A EIE consiste na aplicação de uma perturbação senoidal de tensão de pequena amplitude e uma frequência que seja possível investigar o sistema em estado estacionário já que tais condições de perturbação do sistema são mínimas. De forma geral, a impedância de um sistema é representada por um vetor composto por uma parte real  $[Z_{re(\omega)}]$  e por uma parte imaginária  $[Z_{im(\omega)}]$ , onde  $i=(-1)^{1/2}$ [99]. Desta forma a impedância complexa é representada por:

$$Z_{(w)} = Z_{re(w)} + iZ_{im(w)}$$

$$Z_{(w)} = Z'_{(w)} + iZ''_{(w)}$$

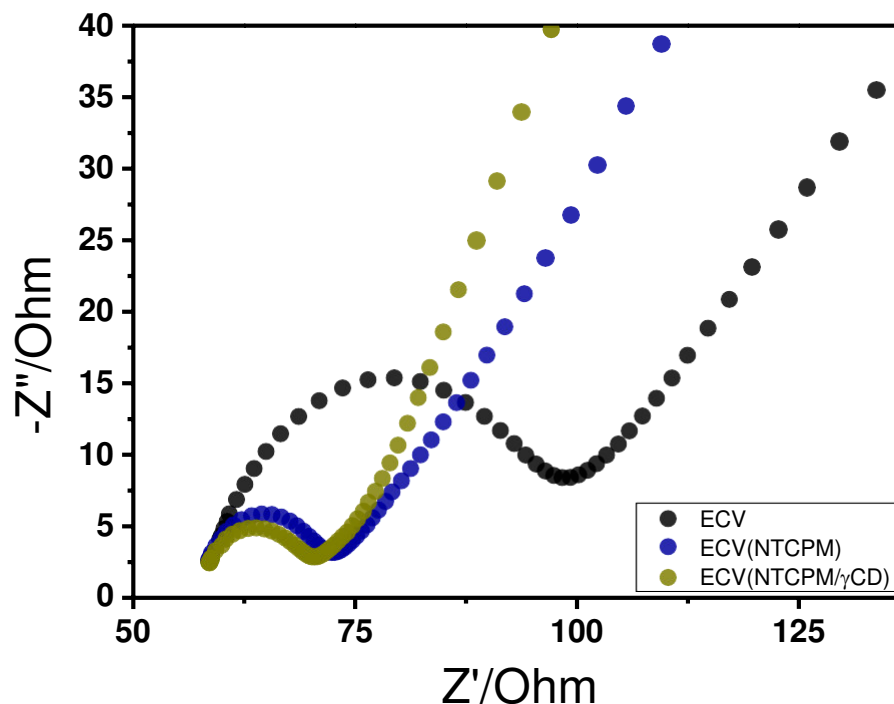
A representação de dados de EIS pode ser feita de várias formas, sendo o Diagrama de Nyquist (gráficos de  $Z'$  vs.  $Z''$ ) muito utilizado como uma poderosa ferramenta para mensurar a resistência à transferência eletrônica ( $Re_t$ ) em reações eletroquímicas [99].

As medidas de EIE foram realizadas para estudar efeitos dos diferentes materiais no comportamento de transporte de carga na plataforma eletroquímica proposta. A Figura 5 apresenta o diagrama de Nyquist obtidos por EIE da plataforma ECV, ECV/NTCMP, ECV/(NTCMP/ $\gamma$ -CD) medidos em solução aquosa de Ferricianeto de potássio  $5 \text{ mmol L}^{-1}$ , variando a frequência de 100 kHz a 0.1 Hz e em potencial de circuito aberto.

Como visto no gráfico de nyquist da Figura 5 que representa os processos interfaciais, a altas frequências é estudado o processo de transferência de cargas na interface eletrodo-eletrólito, o diâmetro do semicírculo representa a resistência a este processo. Como pode ser observado, a resistência de transferência de carga apresentada pelo sensor ECV/(NTCMP/ $\gamma$ -CD) de  $14,2 \Omega$  mostra que há uma redução no diâmetro do semicírculo cujo é aproximadamente cerca de 1,13 vezes menor comparando-se ao ECV/NTCMP ( $16,0 \Omega$ ), e ainda 3,02 vezes menor comparando-se ao ECV ( $42,9 \Omega$ ) apresentando diâmetro de semicírculo menor que trabalhos já registrados na literatura [100-102], tal estudo mostra que o material (NTCMP/ $\gamma$ -CD) proporciona um elevado processo de transferência de cargas para o ECV, favorecendo e facilitando assim o processo redox do material-eletrólito.



Figura 5: Gráfico de Nyquist obtidos em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de KCl na presença de  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  para o ECV, ECV/NTCPM e ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD).



Fonte: próprio autor (2021).

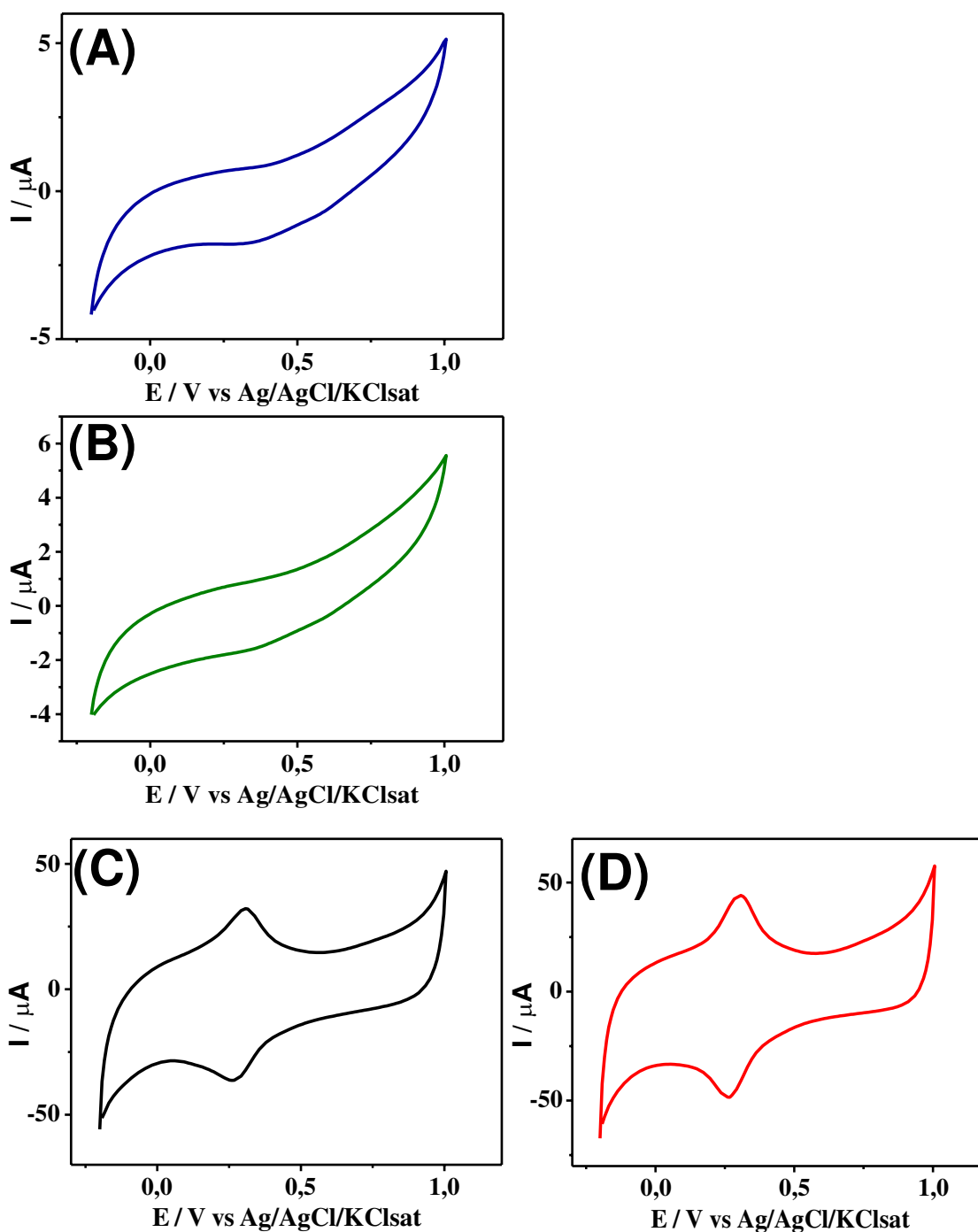
### 5.3 Caracterização voltamétrica do ECV modificado com (NTCPM/ $\gamma$ -CD)

A voltametria cíclica (VC) é uma técnica eletroquímica que fornece informações qualitativas e quantitativas, obtidas a partir do registro da curva de corrente *versus* potencial em uma solução eletrolítica. A VC consiste na aplicação de um potencial sobre o eletrodo de trabalho que origina uma corrente mensurável. Geralmente nesta técnica são utilizados três eletrodos: o eletrodo de trabalho, no qual a reação de interesse ocorre num potencial aplicado, relativamente a um eletrodo de referência (Ag/AgCl) no qual não há fluxo de corrente, sendo o circuito completado por um eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo, normalmente platina [103].

Neste sentido, voltamogramas foram obtidos para diferentes materiais em solução tampão fosfato, pH 2,2 a  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , apresentados na Figura 6.

De acordo com os voltamogramas, podemos observar que o ECV (Figura 6a) e ECV/ $\gamma$ -CD (Figura 6b) não apresentam qualquer pico voltamétrico (processo faradaico), ou seja, não se observa transferência de elétrons na interface eletrodo- eletrólito e a corrente observada é de natureza capacitiva, indicando que não ocorreu o ancoramento da  $\gamma$ -CD no ECV. No entanto, quando modificados com ECV/NTCPM (Figura 6c) e ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD (Figura 6d) é perceptível que há um aumento de corrente, bem como a presença de um pico redox que é proveniente do tratamento com ácido do NTCPM que permite a geração de sítios, alguns deles eletroativos, energeticamente favoráveis, para a inclusão de mediadores redox fenólicos e outros [104]. Além disso, a Figura 6 (d) mostra que houve um ganho de corrente e uma melhor definição no pico redox do NTCPM, isso pode estar ligado ao fato da imobilização e acoplamento da  $\gamma$ -CD sobre o NTCPM. Neste sentido, somando-se a maior sensibilidade, bem como a boa estabilidade do ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD), percebe-se que este eletrodo seria a melhor opção para aplicação como sensor, no entanto precisa-se levar em consideração a sua resposta frente do analito (Rutina) para aplicação como sensor.

**Figura 6: Perfis voltamétricos referentes ao décimo ciclo do ECV (voltamograma azul(a)), ECV/ $\gamma$ -CD(voltamograma verde(b), ECV/NTCPM (voltamograma preto (c)) e ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) (voltamograma vermelho (d)). Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2 em 0,05 V s<sup>-1</sup>.**



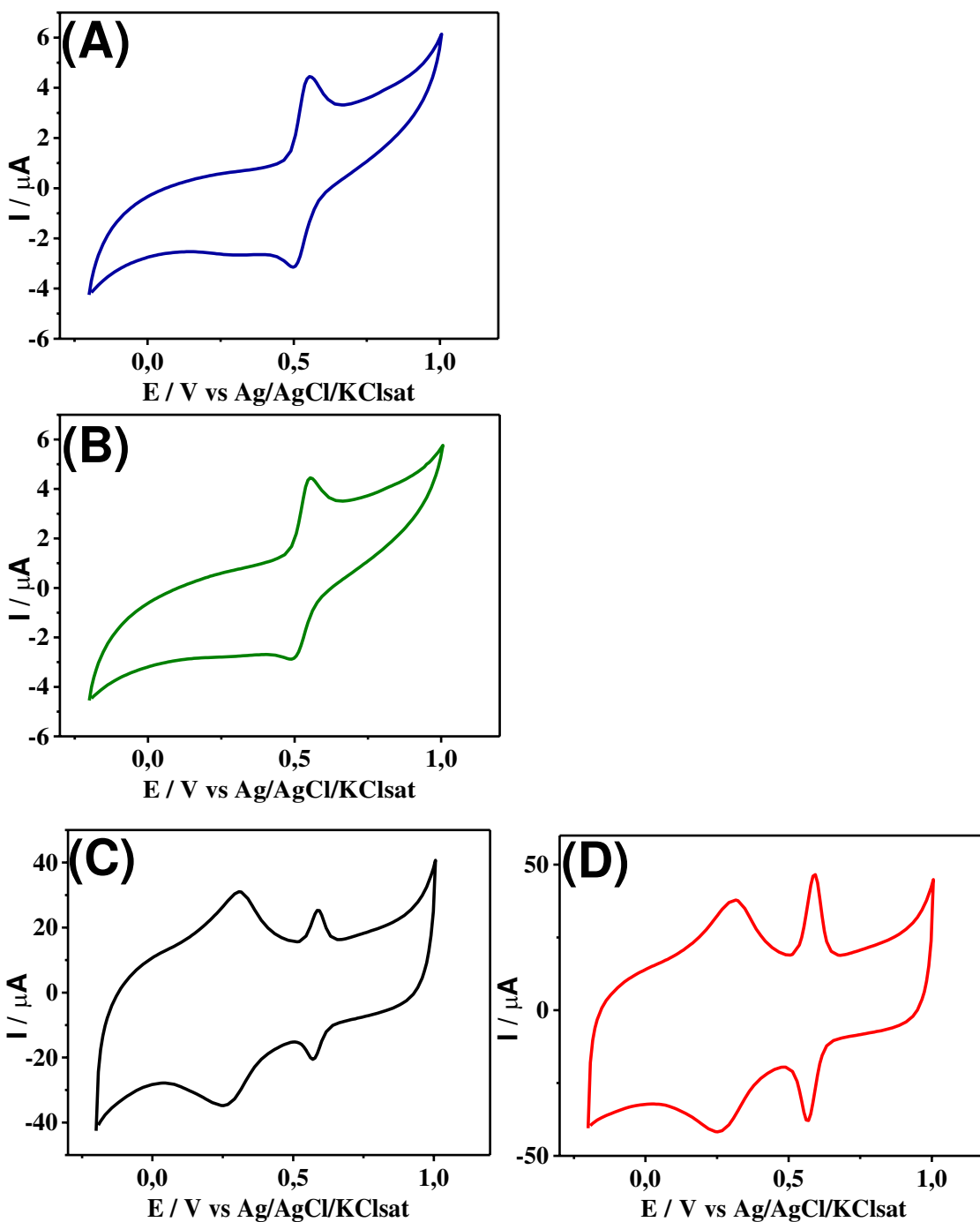
Fonte: próprio autor (2021).

#### 5.4 Caracterização voltamétrica do ECV modificado com (NTCPM/ $\gamma$ -CD) na presença de Rutina

Conforme pode-se observar, as Figuras 7 (a) e (b) apresentam picos redox parcialmente reversíveis referentes à oxidação e redução da Rutina próximos a 0,51 V. No entanto, a oxidação se destaca frente a redução por sua

melhor definição, porém observa-se que as correntes de pico geradas referente à Rutina são pequenas em relação às Figuras 7 (c) e (d) o que prova uma menor sensibilidade. É visto que nas Figuras 7 (c) e (d) apresentam dois picos redox, o primeiro referente à modificação e o segundo (próximo de 0,56 V) referente a oxidação/redução da Rutina devido ao ganho e perda de dois elétrons da molécula [55]. Nota-se também que o processo de oxidação possui uma corrente de pico levemente maior que o processo de redução (1,21 vezes maior), isto mostra que a oxidação pode estar sendo favorecida pelo par redox do complexo de inclusão sobre os nanotubos de carbono. Este resultado nos sugere que o aumento nas correntes é promovido pelo aumento da velocidade de transferência eletrônica promovido pelo ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD), devido à baixa resistência à transferência de carga entre o filme e o analito, como foi visto na EIE, conseqüentemente uma melhora na resposta analítica em função da maior sensibilidade do sistema.

**Figura 7: Perfis voltamétricos referentes ao décimo ciclo do ECV (voltamograma azul(a)), ECV/ $\gamma$ -CD(voltamograma verde(b)), ECV/NTCPM (voltamograma preto (c)) e ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) (voltamograma vermelho (d)). Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2 em  $0,05 \text{ V s}^{-1}$  na presença de Rutina  $25 \mu\text{mol}^{-1}$ .**



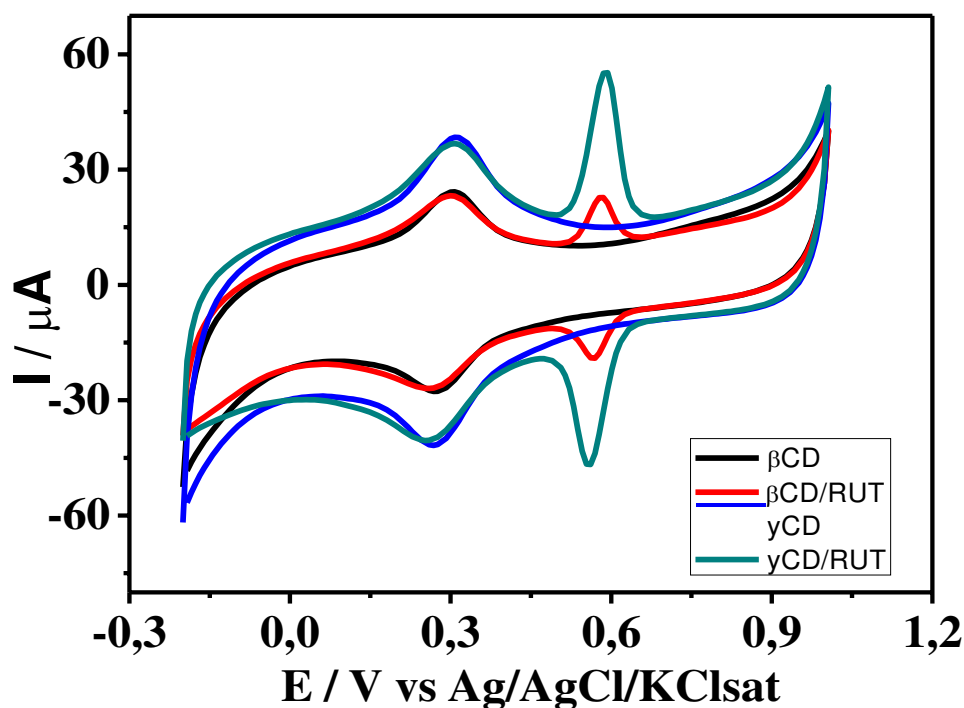
Fonte: próprio autor (2021).

### 5.5 Avaliação do sensor frente à literatura

É visto que na literatura há trabalho para determinação de Rutina com a  $\beta$ -CD, desta forma, para avaliar a sensibilidade do ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) frente ao que já se relata na literatura [20], foi feito o estudo de comparação para ambos modificantes (Figura 8).

A Figura 8 apresenta uma maior sensibilidade do sensor ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em relação ao ECV/(NTCPM/ $\beta$ -CD). A Figura 3 mostra as dimensões das diferentes ciclodextrinas, e é observável que a  $\gamma$ -CD possui maior diâmetro em relação as demais, dessa forma possibilita a disponibilidade maior de sítios ativos presentes tanto internamente onde encapsula-se os analitos quanto externamente, quando comparado as demais, dessa forma, se há maior disponibilidade, haverá uma maior ancoragem da Rutina.

Figura 8: Voltamogramas cíclicos referentes ao ECV/(NTCPM/ $\beta$ -CD) na ausência (voltamograma preto) e presença (voltamograma vermelho) de Rutina, ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) na ausência (voltamograma azul) e presença (voltamograma ciano) de Rutina. Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2 e 25  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  de Rutina em 0,05  $\text{V s}^{-1}$ .



Fonte: próprio autor (2021).

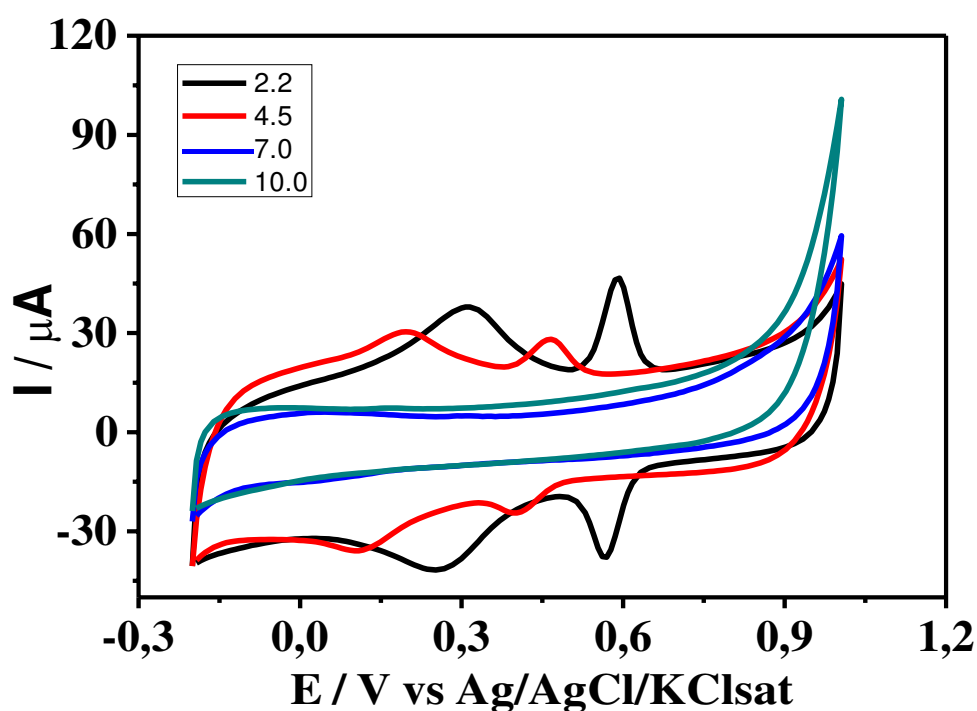
## 5.6 Influência do pH

A Figura 9 apresenta os voltamogramas cíclicos para a resposta de 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em diferentes valores de pH. Podemos observar que para valores de pH 2,2 e 4,5 há diminuição das correntes anódicas e catódicas, e,

consequentemente, uma diminuição na sensibilidade para a Rutina, estes picos redox estão nos potenciais próximos a 0,57 e 0,48V respectivamente. É perceptível que o pH 2,2 apresenta uma maior corrente de pico para a resposta eletroquímica da RUTINA, visto que há uma maior contribuição dos prótons e elétrons deste analito em meio ácido [105-107].

Percebe-se que em valores de pH em meio neutro ou básico não há resposta significativa para a Rutina, já em meios extremamente ácidos as correntes de pico anódica e catódica são mais elevadas devido provavelmente ao sensor à base de NTCMP/ $\gamma$ -CD apresentar maior estabilidade e maior correntes de pico nestes valores de pH, ou seja, provavelmente o par redox do filme NTCMP/ $\gamma$ -CD tem o seu processo redox facilitado neste intervalo de pH fazendo com que haja um aumento em suas correntes de pico anódica e catódica nas respostas eletroquímicas do filme favorecendo assim uma melhor resposta para a Rutina em solução. Neste sentido, escolheu-se o pH 2,2 por ser o pH que apresentou a melhor resposta eletroquímica para a realização dos estudos futuros.

**Figura 9: Voltamogramas cíclicos referente à Influência dos pHs 2,2 (Tampão fosfato), 4,5 (tampão acetato), 7,0 (PBS) e 10 (Tampão Borato) sobre a corrente anódica para oxidação de Rutina sobre o ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) 0,1 mol L<sup>-1</sup>.**



Fonte: próprio autor (2021).

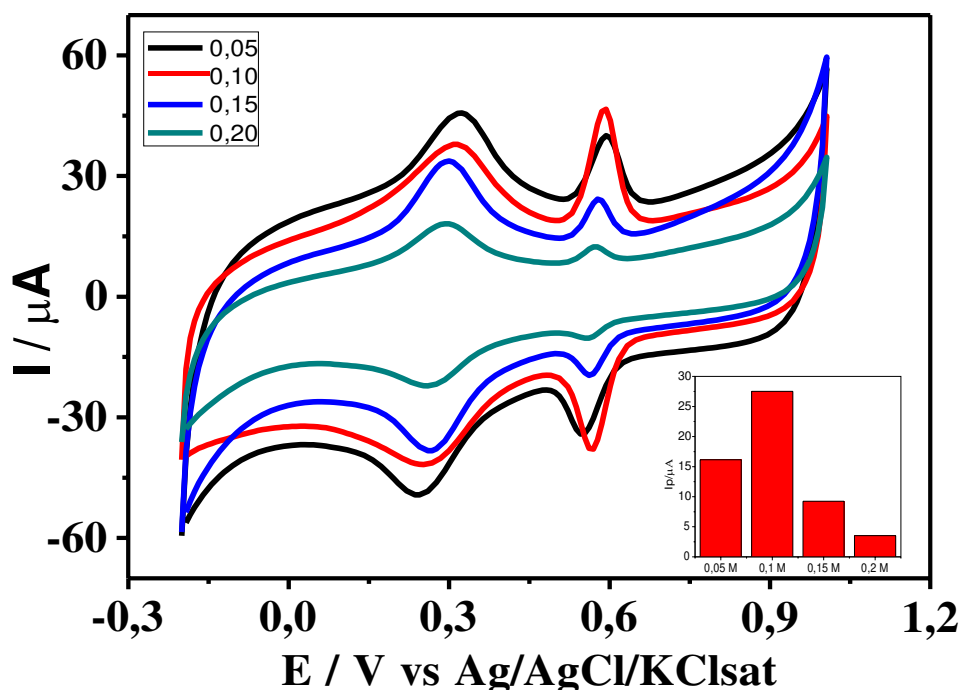
## 5.7 Força iônica

O efeito da força iônica está relacionado a concentração total de eletrólitos, onde influencia a atividade dos íons em solução. Esse estudo foi realizada a voltametria cíclica para as concentrações: 0,015 mol L<sup>-1</sup> (voltamograma preto); 0,1 mol L<sup>-1</sup> (voltamograma vermelho); 0,15 mol L<sup>-1</sup> (voltamograma azul) e 0,2 mol L<sup>-1</sup> (voltamograma ciano) em pH 2,2 (Figura 10) a Rutina 25 μmol L<sup>-1</sup>. Visando qual dessas concentrações utilizadas possui maior sensibilidade, a fim de se investigar, qual proporcionaria melhor resposta para o sensor proposto frente a determinação de Rutina.

De acordo com a Figura 10, podemos observar que para as concentrações de 0,05 e 0,1 mol L<sup>-1</sup> há um aumento na corrente de pico referente a Rutina, porém o mesmo não é visto para maiores concentrações, tal fato mostra que 0,1 mol L<sup>-1</sup> possui maior sensibilidade para o par redox da Rutina [20].

**Figura 10: (A) Voltamogramas cíclicos referente à Influência da força iônica sobre a corrente anódica para oxidação de Rutina sobre o ECV/(NTCPM/γ-CD) e (B) gráficos referentes ao pH frente ao potencial e corrente de pico, solução fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup>.**





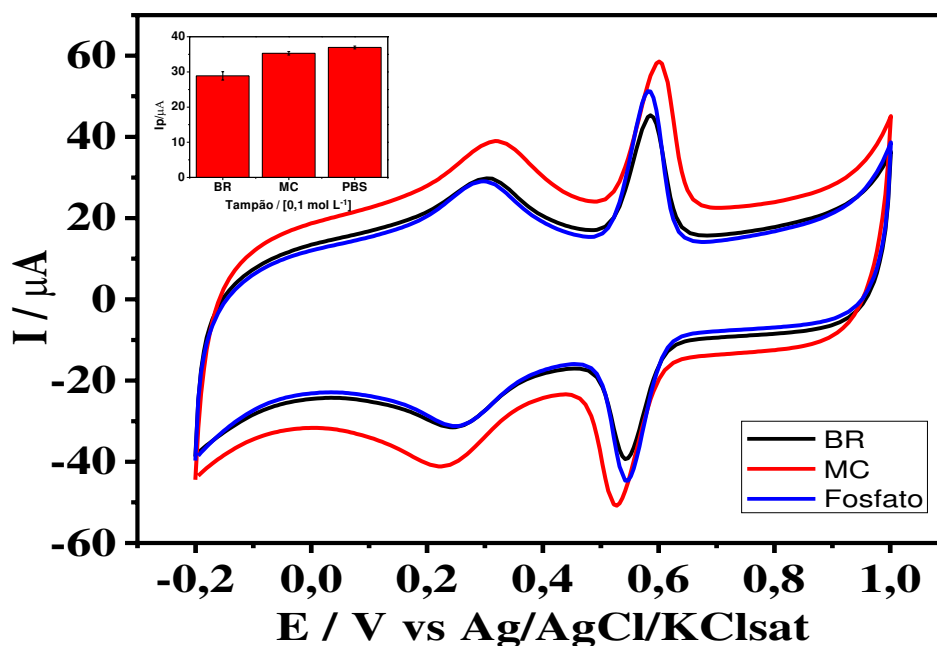
Fonte: próprio autor (2021).

### 5.8 Influência do eletrólito de suporte

Investigou-se também a influência do tipo de solução tampão na resposta do sensor, que foi analisada com três tipos diferentes de soluções tampão ( Fosfato, McIlvaine e Britton - Robinson) em concentrações de 0,1 mol L<sup>-1</sup> em pH 2,2 (Figura 11) a Rutina 25 μmol L<sup>-1</sup>. Estes tampões foram utilizados a fim de se investigar qual desses eletrólitos proporcionaria melhor resposta para o sensor proposto, os estudos foram conduzidos utilizando-se a voltametria cíclica.

Com base nos resultados apresentados na Figura 11 verificou-se que a solução tampão PBS fornece uma melhor resposta, já que permitiu a obtenção do maior valor de corrente de pico e, conseqüentemente, garante maior sensibilidade quando comparado aos demais tampões. Esse resultado pode estar relacionado à maior mobilidade iônica dos íons fosfato devido ao menor tamanho desses íons [65, 66], o que torna possível maior difusão da Rutina em solução, garantindo uma maior transferência eletrônica entre o eletrodo modificado e a solução eletrolítica, resultando em maiores valores de corrente de pico. Neste sentido, a solução de fosfato salino foi escolhida para os futuros experimentos.

Figura 11: Correntes de pico para a oxidação de em solução Britton-Robison, Fosfato, Mcllvaine ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .  $v=0,05 \text{ V s}^{-1}$ ).

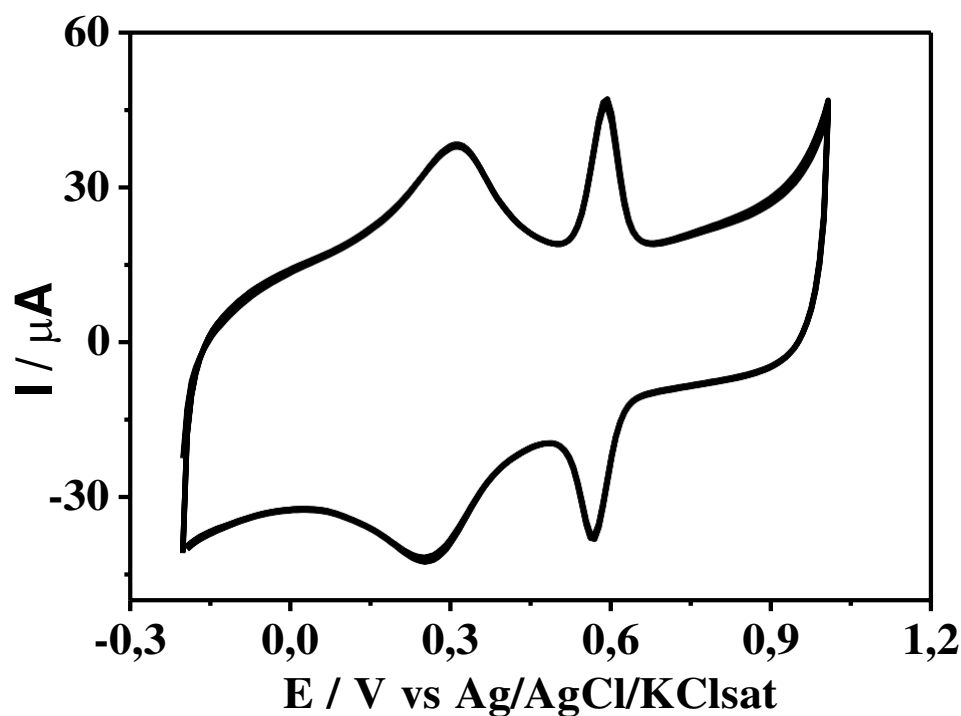


Fonte: próprio autor (2021).

### 5.9 Estudo de estabilidade do ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) na presença de Rutina

Com intuito de verificar a estabilidade do material frente à Rutina, voltamogramas cíclicos foram gerados sobre o eletrodo ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) com a presença de Rutina. A Figura 12 apresenta os voltamogramas obtidos, pode-se observar que a utilização dos NTCMP juntamente com o  $\gamma$ -CD promovem maiores correntes de pico, provavelmente, devido a um aumento da área superficial do ECV obtida através da porosidade dos nanotubos de múltiplas paredes como já confirmado no estudo da caracterização voltamétrica ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD). Nota-se que o complexo de inclusão juntamente ao NTCMP na superfície do ECV resultou em um sistema eletroquímico estável, demonstrando que o efeito sinérgico resultante de matérias-primas combinadas é de grande importância para a estabilidade do filme.

Figura 12: Voltamogramas cíclicos referentes a proposta de estabilidade do ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD). Experimentos conduzidos em tampão fosfato pH 2,2,  $25\mu\text{mol L}^{-1}$  de Rutina em  $0,05\text{ V s}^{-1}$ .



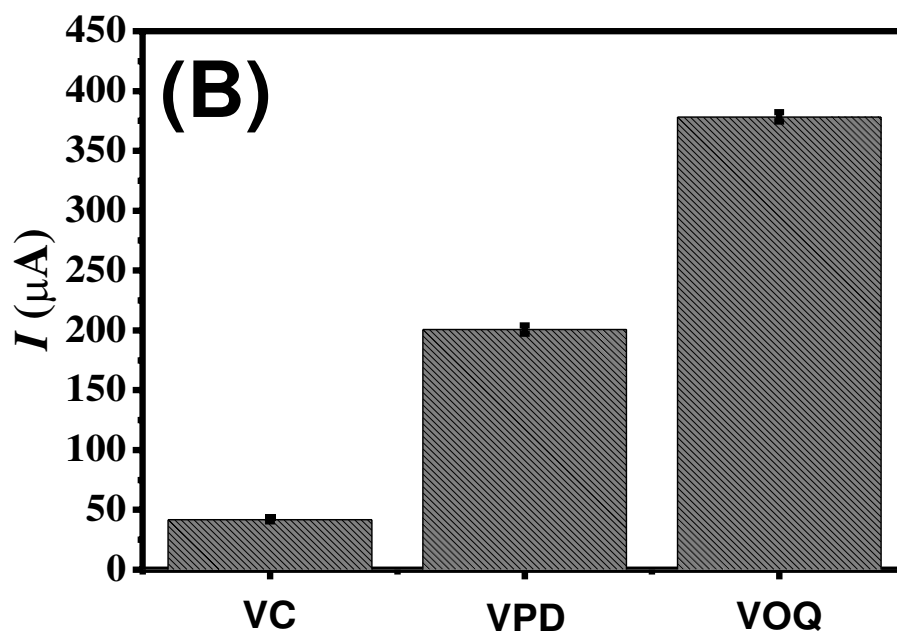
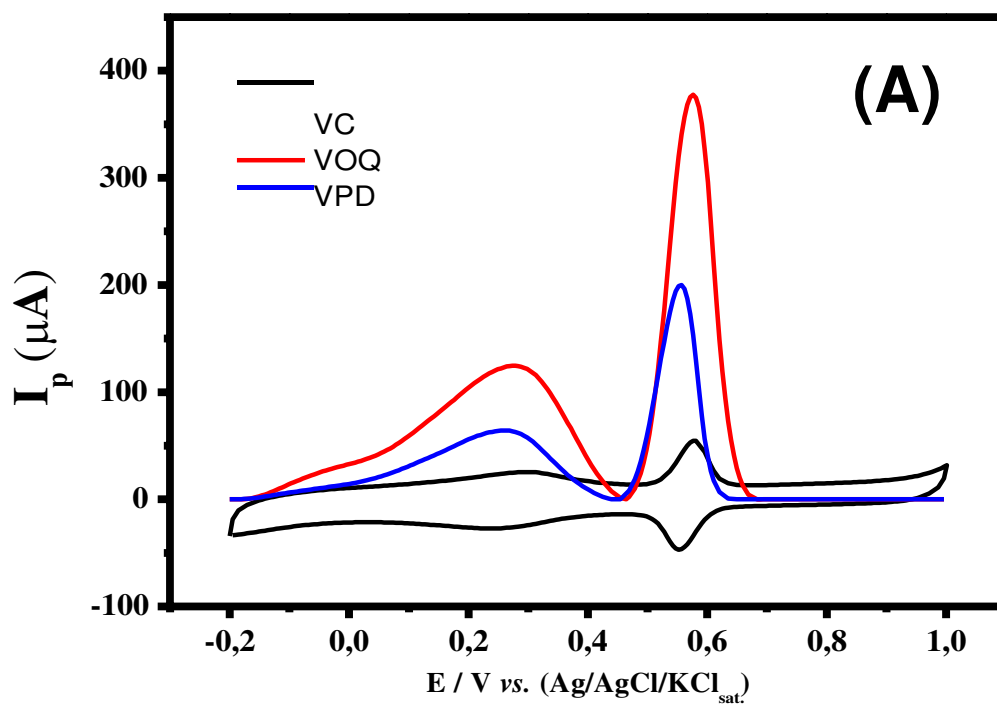
Fonte: próprio autor (2021).

É observado que há pouco decaimento da corrente de pico ao aumento de ciclos mesmo após 30 ciclos, o que demonstra uma boa estabilidade do filme.

### 5.10 Escolha da técnica para determinação de Rutina

A fim de se verificar a influência das técnicas voltamétricas na resposta da Rutina a  $50\mu\text{mol L}^{-1}$ , foi realizado um estudo em três diferentes técnicas: voltametria cíclica (VC), pulso diferencial (VPD) e onda quadrada (VOQ).

Figura 13: (A) Voltamogramas referentes ao estudo de diferentes técnicas e (B) correntes de pico extraídas dos voltamogramas realizados em solução fosfato salino  $0,1\text{M}$ , pH 2,2  $v = 0,05\text{ V s}^{-1}$ .



Fonte: próprio autor (2021).

É observado que na voltametria cíclica (Figura 13a) possui dois picos redox, o primeiro é referente à modificação CV/(NTCMP/ $\gamma$ -CD) e o segundo e reversível é referente a Rutina, a corrente de pico anódica obtida foi de 41,76  $\mu\text{A}$  esta é a menor corrente de pico das três técnicas, o que já era esperado por não

ser uma técnica com elevada sensibilidade. Para tanto utilizou-se duas outras técnicas para este estudo, a voltametria de pulso diferencial (VPD) respondeu com um alto pico de corrente, este sendo aproximadamente 200  $\mu\text{A}$  e para voltametria de onda quadrada (VOQ) a resposta eletroquímica para RUT foi altamente favorável, sendo ela com corrente de pico próximo a 380  $\mu\text{A}$ . A VOQ apresentou uma corrente de pico 9 vezes maior que a VC e 1,9 vezes maior que a VPD (figura 13b), tal fato se deve pela alta reversibilidade da Rutina frente à modificação o que aumenta a sensibilidade para o método proposto.

### 5.11 Estudo de diferentes velocidades de varredura

A Figura 14a mostra os voltamogramas cíclicos do ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em tampão fosfato (pH 2,2) em várias taxas de velocidade de varredura. Pode-se notar que, com o aumento da velocidade de varredura ( $v$ ) a área sob o pico também aumenta, há um leve deslocamento de potencial na região anódica para potenciais mais positivos e catódica para potenciais mais negativos.

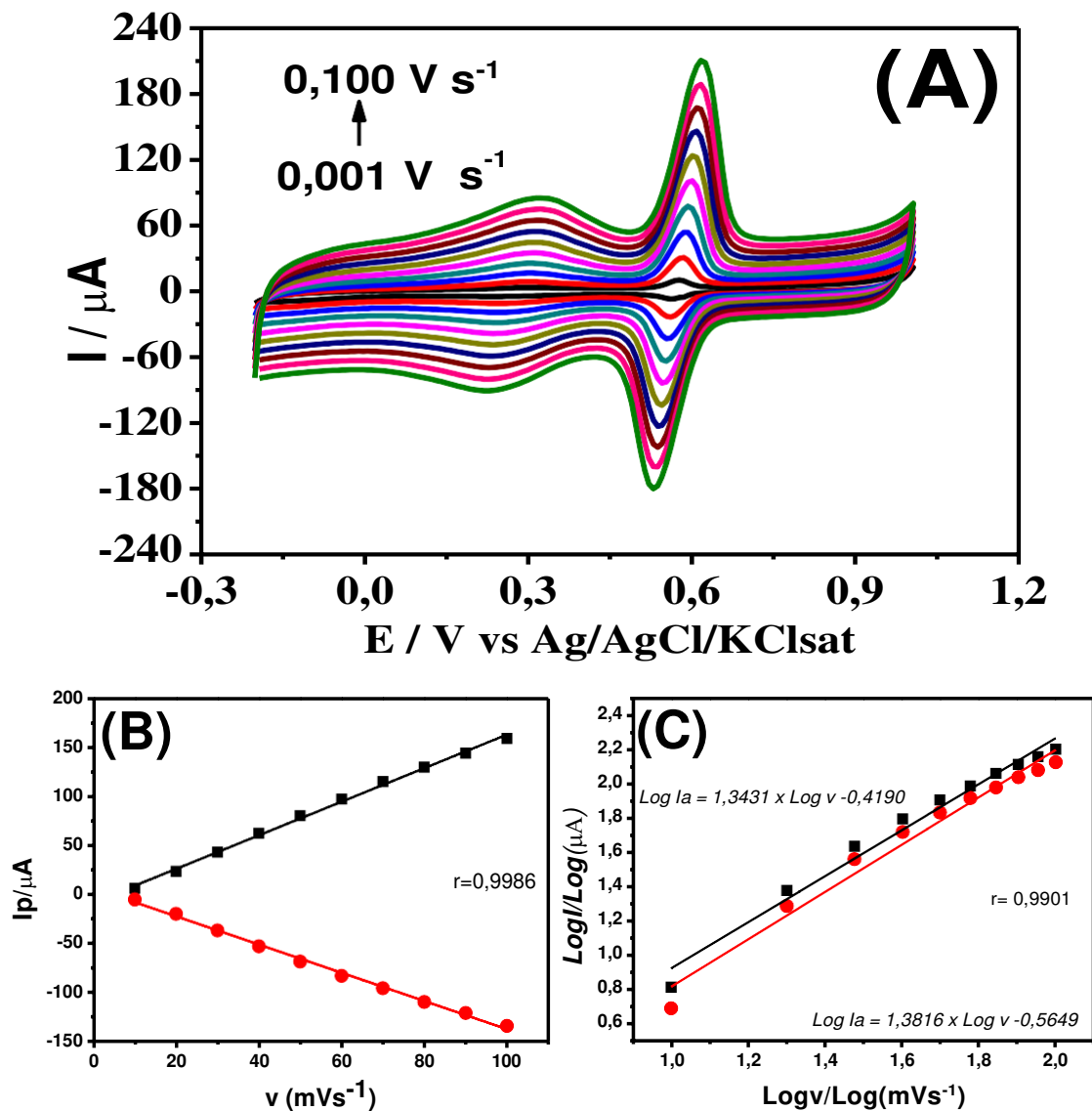
Na Figura 14b, os resultados indicam que a corrente de pico ( $I_p$ ) varia linearmente com  $v$ , há uma relação linear ( $R = 0,99865$ ) o que implica afirmar que o processo é controlado por adsorção e a relação do logaritmo da corrente de pico de oxidação e redução ( $\log I_p$ ) versus o logaritmo da velocidade de varredura de potencial ( $\log v$ ) confirma este fato, como apresentado na Figura 14c [70, 108, 109]. Analisando-se o resultado obtido, verificou-se que há uma relação linear ( $R = 0,99015$ ) entre  $\log I_{pa}$  e  $I_{pc}$  e  $\log v$ , cujos coeficientes angulares das retas são 1,3430 e 1,38162, respectivamente. Este valor é um indicativo para que o processo redox da Rutina na superfície ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) deve ser controlado por adsorção das espécies para potenciais abaixo de  $0,1 \text{ V s}^{-1}$ , uma vez que o valor obtido para o ângulo de inclinação para reta  $\log I_{pa}$  e  $I_{pc}$  vs.  $\log v$  está mais próximo a 1,0 que a 0,5 implicando assim afirmar que o processo é controlado por adsorção.

Para verificar o comportamento do sensor em altas velocidade, voltamogramas foram realizados em altas taxas de velocidade de varredura. Pode-se notar que, com o aumento da velocidade de varredura ( $v$ ) a área sob o pico também aumenta, há um deslocamento de potencial na região anódica para

potenciais mais positivos e catódica para potenciais mais negativos. Como também pôde ser observado na Figura 15, que ( $I_p$ ) varia linearmente com a raiz quadrada de  $v$ , há uma relação linear ( $R= 0,9991$ ) o que implica afirmar que o processo em altas velocidades é controlado por difusão [110, 111], e a relação do logaritmo da corrente de pico de oxidação e redução ( $\log I_p$ ) versus o logaritmo da velocidade de varredura de potencial ( $\log v$ ) confirma em um sistema controlado por difusão, como apresentado na Figura 15c. Analisando-se o resultado obtido, verificou-se que há uma relação linear ( $R = 0,99664$ ) entre  $\log I_{pa}$  e  $I_{pc}$  e  $\log v$ , cujos coeficientes angulares das retas são 0,6206 e 0,6052, respectivamente. Este valor é um indicativo para que o processo redox da Rutina na superfície ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) deve ser controlado por difusão das espécies para potenciais acima de  $0,1 \text{ V s}^{-1}$ , uma vez que o valor obtido para o ângulo de inclinação para reta  $\log I_{pa}$  e  $I_{pc}$  vs.  $\log V$  está mais próximo a 0,5 que a 1 implicando assim afirmar que o processo a altas velocidades é controlado por difusão.

**Figura 14: Voltamogramas cíclicos para (A)  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Rutina sobre eletrodo ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em solução de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  tampão fosfato (pH 2,2) em diferentes velocidades de varredura, (B) Dependência linear das correntes de picos ( $I_{pa}$ ) e ( $I_{pc}$ ) vs a**

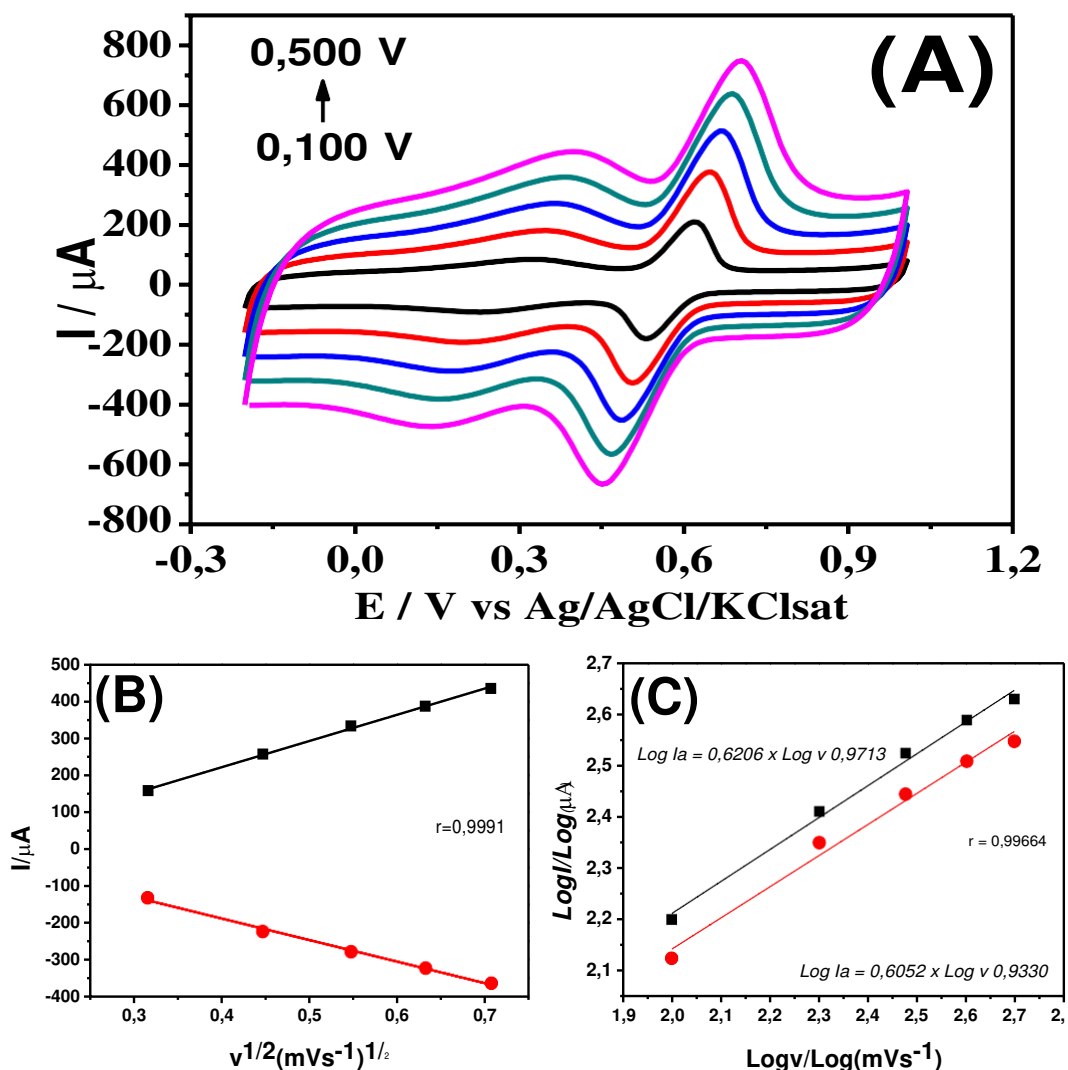
variação de velocidade e (C) Dependência do logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura.



Fonte: próprio autor (2021).

Figura 15: Voltamogramas cíclicos para (A)  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Rutina sobre eletrodo ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em solução de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  tampão fosfato (pH 2,2) em diferentes velocidades de varredura, (B) Dependência linear das correntes de picos ( $I_p$ ) e ( $I_c$ ) vs

raiz quadrada da variação de velocidade e (C) Dependência do logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura para Rutina.



Fonte: próprio autor (2021).

## 5.12 Voltametria Cíclica com diferentes concentrações de Rutina sobre o sensor e curva analítica

Os resultados apresentados até agora sugerem que o ECV/(NTCMP/ $\gamma$ -CD) é uma alternativa viável para a determinação analítica de Rutina devido à sua interação com o material imobilizado na superfície do CV promovendo boa reversibilidade eletroquímica observada para o par redox do material no filme.

Neste sentido realizou-se adições sucessivas do analito na célula eletroquímica contendo o ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) para verificar se ocorre um aumento nas correntes de oxidação e redução do analito. Para tanto realizou-se



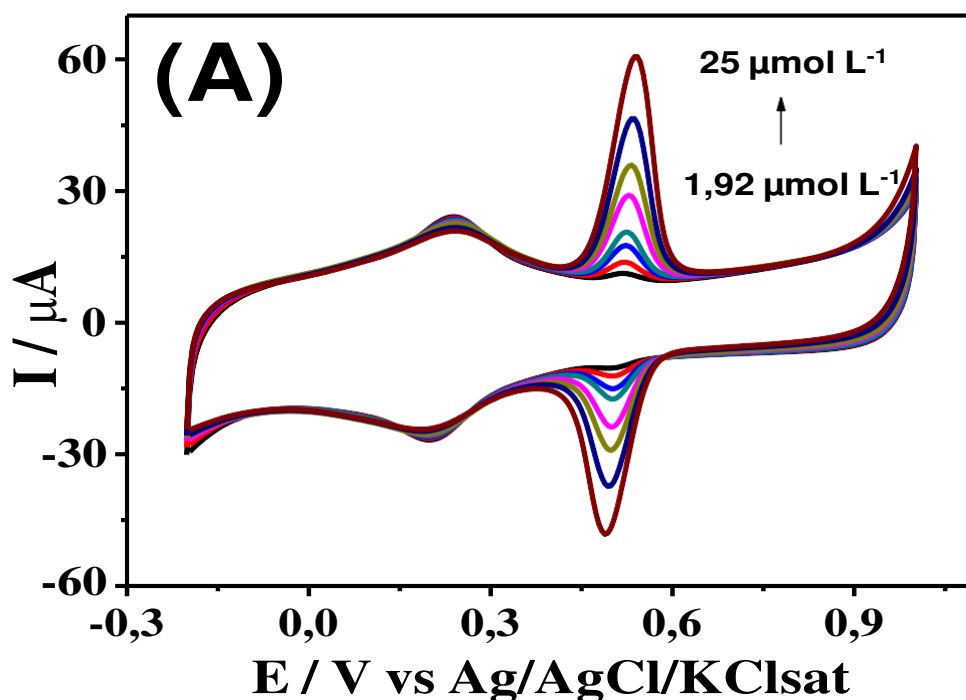
voltamogramas cíclicos do sensor (Figura 16a) na presença das seguintes concentrações de Rutina: 1,92 a 3,70; 5,36; 6,90; 9,68; 13,23; 19,14; 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$  em solução tampão fosfato pH 2,2.

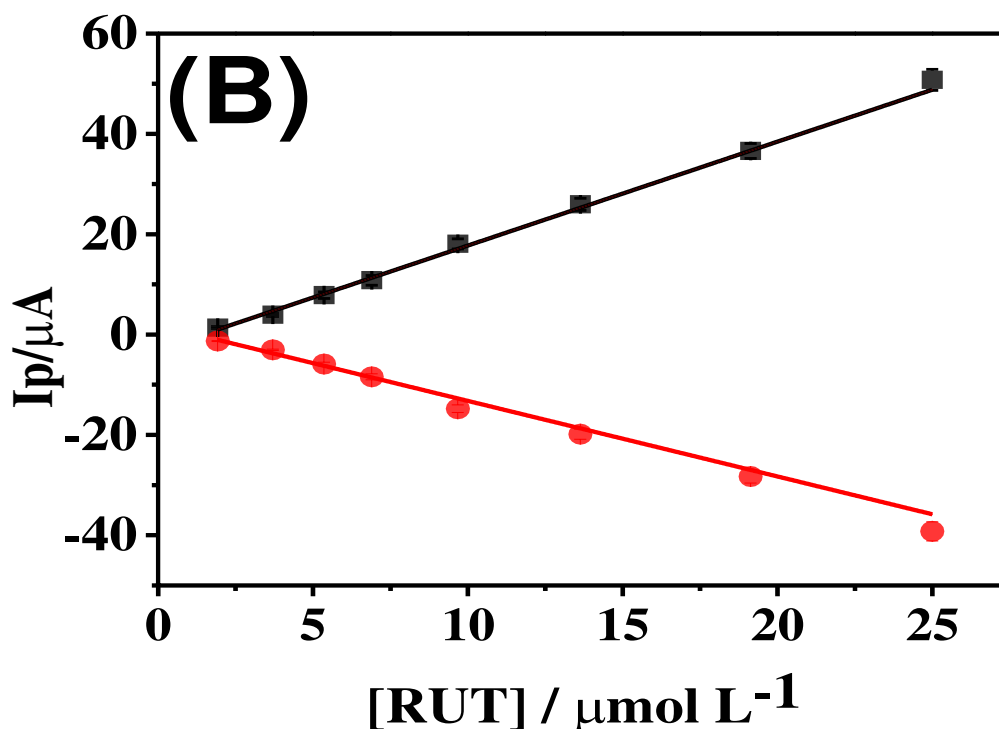
A partir dos voltamogramas cíclicos para diferentes concentrações de Rutina, um gráfico  $I_p$  vs [Rutina] (Figura 16b) foi obtido no qual se observa uma relação linear entre as grandezas para a oxidação de Rutina sobre o CV/(NTCMP/ $\gamma$ -CD) no intervalo de concentração de 1,92 a 25  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , com R igual a 0,996 ( $n = 8$ ). As expressões matemáticas que definem a curva analítica podem ser escritas como:

$$I_p(\mu\text{A}) = 2,07145 (\pm 0,07476) + 2,94453(\pm 0,33378)[\text{Rutina}](\mu\text{mol L}^{-1})$$

De acordo as recomendações da IUPAC, LOD e LOQ foram determinados utilizando-se 3  $s/b$  e 10  $s/b$ , respectivamente, onde  $s$  corresponde ao desvio padrão para dez voltamogramas do branco e  $b$ , é a inclinação da curva analítica, os valores de LOD e LOQ foram 0,35 e 0,17  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente.

**Figura 16:** (A) Voltamograma cíclico referente às diferentes adições de Rutina em solução eletrolítica contendo o ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) e (B) gráfico de  $I_p$  versus [Rutina]. Experimentos realizados em solução tampão fosfato pH 2,2.  $v = 0,05 \text{ V s}^{-1}$ .





Fonte: próprio autor (2021).

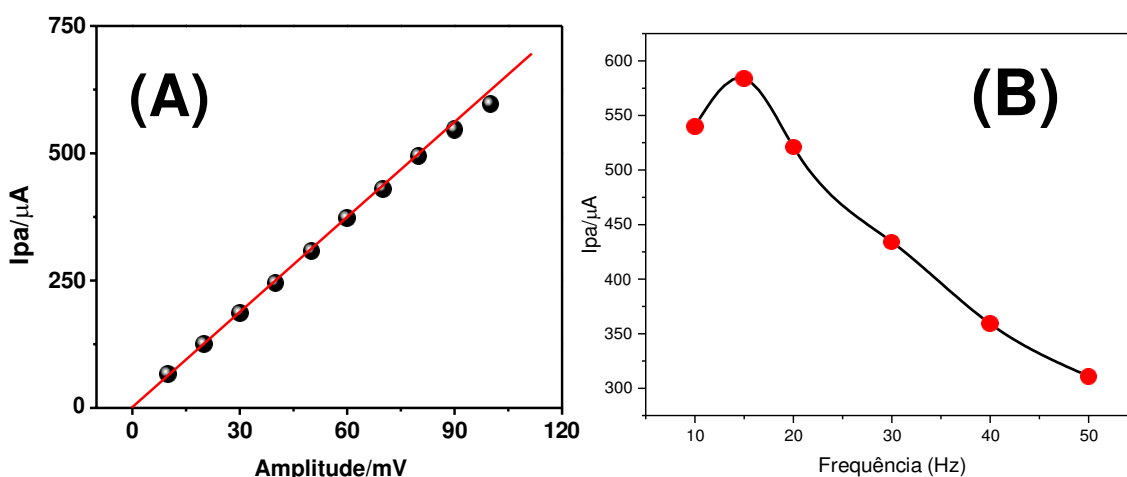
### 5.13 Parâmetros operacionais da VOQ

Na Voltametria de onda quadrada (VOQ), a frequência (Hz), e a amplitude de pulso,  $A_p$  (V), são parâmetros muito importantes, já que esses estão diretamente relacionados à sensibilidade e à seletividade do sistema. Os voltamogramas foram obtidos em solução  $25 \mu\text{mol L}^{-1}$  de Rutina mantida em solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 2,2), para o ECV/(NTCMP/ $\gamma$ -CD) sob condições experimentais otimizadas.

Inicialmente, a amplitude de pulso foi variada na faixa de 0,01 a 0,1 V, mantendo-se a frequência constante e igual a 0,01 Hz. O sensor proposto forneceu um aumento nas correntes de pico com o aumento da amplitude, porém alcançou melhores resultados, ou seja, uma melhor relação entre sensibilidade e alargamento na largura-meia altura do pico, quando submetida a amplitude de 0,08 V ( $I_{pa} \sim 500 \mu\text{A}$ ) observados na figura 17a.

Em seguida, variou-se a frequência num intervalo de 10 a 50 Hz. O sensor para Rutina alcançou maiores correntes de pico quando se aplicou a frequência de 15 Hz ( $I_{pa} \sim 580 \mu A$ ) observados na figura 17b. Entretanto, os voltamogramas obtidos acima de 15 Hz foram acompanhados por um alargamento do pico, portanto, 15 Hz foi considerado como valor ótimo de frequência a ser utilizado na construção da curva analítica referente à técnica de VOQ.

**Figura 17: Gráfico da corrente de pico da Rutina sobre o ECV/(NTCPM/ $\gamma$ -CD) em função da: (A) amplitude de pulso e (B) Frequência.  $v=0,05 \text{ V s}^{-1}$ .**



Fonte: próprio autor (2021).

#### 5.14 Curva analítica em VOQ

A curva analítica para a determinação de Rutina, foi obtida por voltametria de onda quadrada em condições de frequência e amplitude já otimizadas, em uma ampla faixa linear de trabalho, utilizando como eletrólito uma solução de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de tampão fosfato (pH 2,2). A Figura 18a, apresenta os voltamogramas obtidos, observa-se que temos um aumento de  $I_p$  com o aumento da concentração de Rutina.

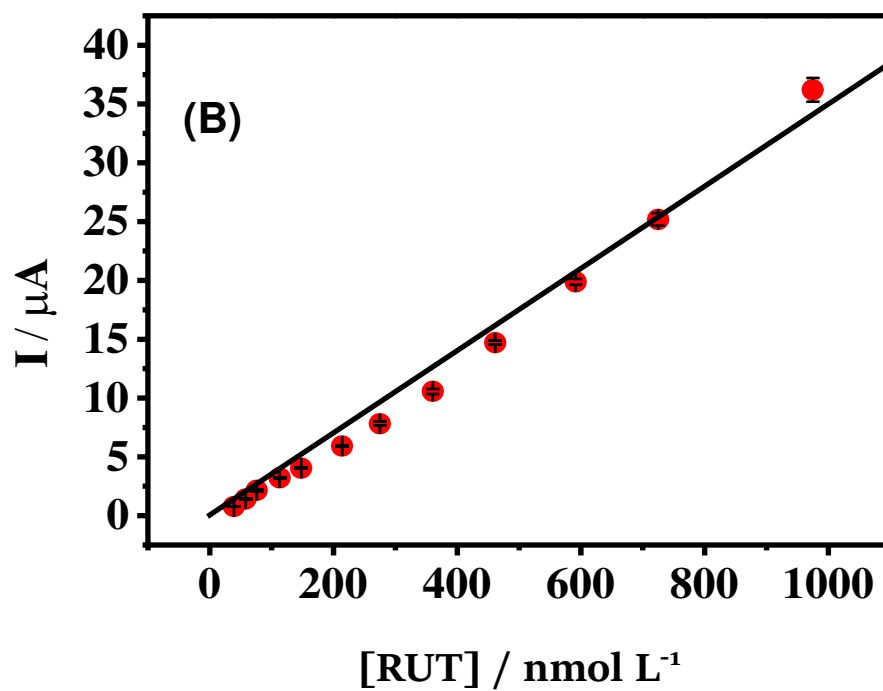
A partir dos voltamogramas de onda quadrada para diferentes concentrações de Rutina, um gráfico  $I_p$  vs [Rutina] (Figura 18b) foi obtido no qual se observa uma relação linear entre as grandezas para a oxidação de Rutina sobre o CV/(NTCMP/ $\gamma$ -CD) no intervalo de concentração de  $39 \text{ nmol L}^{-1}$  a  $975$

nmol L<sup>-1</sup>, com R igual a 0,996 (n = 11). As expressões matemáticas que definem a curva analítica podem ser escritas como:

$$I_p(\mu\text{A}) = 0,469 (\pm 0,087) + 0,032(\pm 0,001)[\text{Rutina}](\text{nmol L}^{-1})$$

De acordo as recomendações da IUPAC, os valores de LOD e LOQ foram 7,32 nmol L<sup>-1</sup> e 24,39 nmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. A curva analítica para a determinação de Rutina por VOQ apresentou sensibilidade igual a 0,032 μA L nmol<sup>-1</sup>. Este valor é maior ou similar a vários trabalhos relatados na literatura [112-21].

**Figura 18: (A) Voltamogramas de onda quadrada referente às diferentes adições de Rutina em solução eletrolítica contendo o ECV/(NTCPM/γ-CD) e (B) gráfico de I<sub>p</sub> versus [Rutina]. Experimentos realizados em solução tampão fosfato pH 2,2. v= 0,05 V s<sup>-1</sup>.**

**(A)**

Fonte: próprio autor (2021).

### 5.15 Seletividade

A seletividade do eletrodo ECV/NTCMP/ $\gamma$ -CD foi estudada em soluções de Rutina  $200 \text{ nmol.L}^{-1}$  na presença de possíveis interferentes polifenólicos. A

Tabela 2 mostra os resultados do estudo de efeito dos interferentes com base no erro relativo encontrado. É observado que o desvio para (n=3) é abaixo de 5 e o erro relativo é aceitável, pois são próximos a 100% para todas as substâncias analisadas, indicando que esses compostos não tem efeito significativo na detecção de Rutina pelo sensor ECV/NTCMP/ $\gamma$ -CD. A partir desses resultados é compreensível que o método possui boa seletividade.

**Tabela 2: Efeito de interferentes frente a resposta da Rutina no sensor ECV/NTCMP/ $\gamma$ -CD.**

<b>Substância</b> n=3	<b>Proporção</b>	<b>Erro relativo (%)</b>
<b>Quercetina</b>	1:1	108,33 ( $\pm 2,75$ )
<b>Catequina</b>	1:1	108,83 ( $\pm 1,94$ )
<b>Ácido Ascórbico</b>	1:1	106,56 ( $\pm 2,08$ )
<b>Ácido Cítrico</b>	1:2	109,56 ( $\pm 1,30$ )
<b>Ácido Tânico</b>	1:1	106,48 ( $\pm 3,13$ )
<b>Ácido Vanílico</b>	1:2	104,46 ( $\pm 2,50$ )
<b>Cafeína</b>	1:2	105,73 ( $\pm 2,41$ )

Fonte: próprio autor (2021).

### 5.16 Exatidão

A exatidão do procedimento proposto foi investigada através da comparação dos resultados obtidos com um procedimento dos experimentos de adição e recuperação que foram realizados através da adição de quantidades conhecidas nas amostras (Tabela 3). A porcentagem de recuperação foi dada pela razão entre a concentração do analito total (valor obtido / valor real) encontrada e a concentração real multiplicada por 100 como pode ser observada na seguinte equação:

$$\% \text{ Recuperação} = \left( \frac{[RUT]_{\text{encontrada}}}{[RUT]_{\text{real}}} \right) \times 100$$

Os testes de adição e recuperação foram realizados em triplicata para maior confiabilidade dos resultados.

**Tabela 3: Teste de adição e recuperação utilizando o método proposto para duas amostras farmacêuticas e uma amostra de extrato de planta.**

<b>Amostras (n=3)</b>	<b>[Rutina] adicionada (nmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>[Rutina] encontrada (nmol L<sup>-1</sup>)</b>	<b>*Rec. (%)</b>
	0,00	-	-
<b>Comprimido A</b>	100,00	96,70 (±2,18)	97,0
	0,00	-	-
<b>Comprimido B</b>	100,00	92,87 (±3,56)	93,0
	0,00	-	-
<b>Extrato da planta</b>	100,00	98,40 (±1,74)	98,40

Fonte: próprio autor (2021).

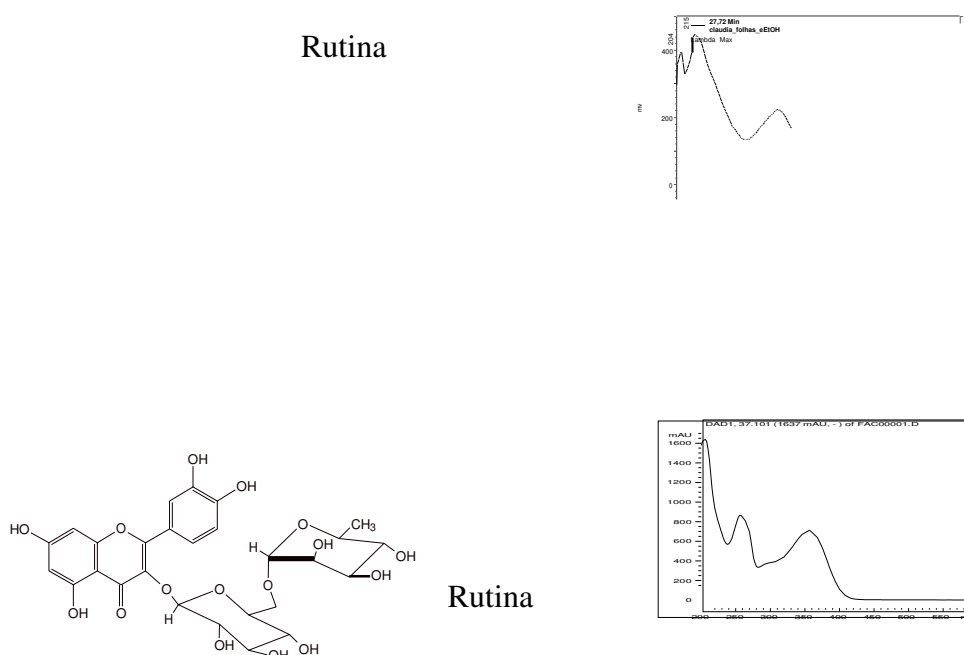
Os resultados dos testes de adição e recuperação, como observados na Tabela (3), deixam evidente que o método proposto apresentou uma boa exatidão, pois foi obtido porcentagem de recuperação de 93,00 e 98,40%, atestando que o sensor NTCMP/ $\gamma$ -CD permitiu uma boa recuperação da Rutina nas amostras avaliadas.

### 5.17 Validação do método

Como forma de validar os resultados obtidos por meio do método desenvolvido, realizou-se análise para quantificação de Rutina na amostra de extrato das folhas da planta *Arrabidaea brachypoda* utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada ao detector de matriz de fotoiodo, realizada numa corrida de cerca de 60 min. O percurso cromatográfico apresentou o cromatograma em tempo de retenção de 30 min correspondente à Rutina, em comprimento de onda de 254 nm. O cromatograma (A) é referente

ao extrato onde observa-se que há presença de outros compostos flavonóides na amostra, e (B) é referente ao padrão da Rutina, ambos apresentam resposta da Rutina em tempo de retenção de 30 minutos. Os valores obtidos pela técnica confirmam a exatidão e aplicabilidade do método proposto.

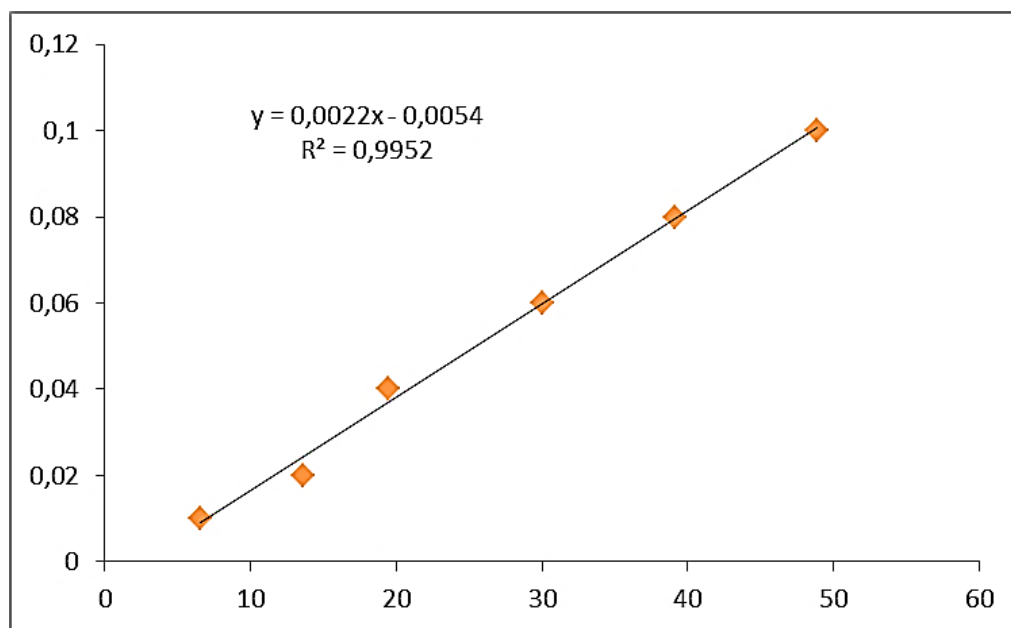
**Figura 19: Cromatograma do extrato EtOH 70% das folhas de *A. brachypoda*. Coluna Phenomenex® Luna C18 (250 x 4,6mm i.d. ; 4µm ), fluxo 1,0 ml.min<sup>-1</sup> , Solventes: A=H<sub>2</sub>O, B=MeOH ambos com FA 0,01%. Sistema de eluição gradiente linear 0-100% de B em 60 min e espectro no UV do marcador rutina.**



A curva analítica apresenta boa linearidade no intervalo de concentração estudado e coeficientes de correlação ( $r^2$ ) com valores superiores a 0,99, o que indica que há uma boa correlação entre as áreas de picos e as concentrações estudadas.



Figura 20: Curva analítica obtida pelo método de calibração externa a partir de injeções em triplicata de solução padrão de Rutina.



A determinação da concentração de Rutina foi realizada diretamente no extrato etanólico 70% das folhas de *Arrabidaea brachypoda*. Desta maneira tentou-se chegar a resultados mais representativos com relação à real composição do metabólito secundário e assim evitar possíveis erros sistemáticos. A diluição e injeções do extrato foram realizadas em triplicata. A concentração de Rutina no extrato das folhas de *Arrabidaea brachypoda* foi de 1,58 ( $\pm 0,035$ ) % no extrato.

Os valores obtidos por cromatografia, referentes à concentração de Rutina no extrato das folhas da planta, não diferem dos resultados propostos pelo método eletroquímico, pois observando os resultados pelo método T student onde  $T_{\text{calculado}} = 1,92$  e  $T_{\text{tabelado}} = 3,182$ , são estatisticamente iguais ( $T_{\text{cal}} < T_{\text{tab}}$ ) com nível de confiança de 95% e 3 graus de liberdade. Há mais que 5% de chance de que os dois conjuntos de resultados estejam dentro do erro experimental de modo que concluímos que os resultados são significativamente iguais.

Com a finalidade de revelar o desempenho do presente método com base em seu limite de detecção e faixa linear de trabalho; foi comparado

com alguns outros métodos relatados na literatura para a determinação da Rutina, e os resultados são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4: Comparação de parâmetros analíticos da oxidação de Rutina no eletrodo modificado com (NTCMP/ $\gamma$ -CD).**

<b>eletrodo</b>	<b>técnica</b>	<b>Faixa linear (mol.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>LOD (mol.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Referência</b>
MIPIL/IL-GR/GCE	VPD	0,03 a $1 \times 10^{-6}$	$0,01 \times 10^{-6}$	112
GO <sup>c</sup> -chitosan/GCE	VPD	0,9 a $90 \times 10^{-6}$	$0,56 \times 10^{-6}$	113
MIP/MWCNTs/GC	VPD	0,4 a $10 \times 10^{-6}$	$0,11 \times 10^{-6}$	114
E				
Mg-Al-Si@PC/CGE	VPD	1 a $10 \times 10^{-6}$	$0,01 \times 10^{-6}$	115
MB@ZIF-8/GO/GCE	VPD	0,1 a $100 \times 10^{-6}$	$0,02 \times 10^{-6}$	116
PtNPs/RGO	VPD	0,057 a $102,59 \times 10^{-6}$	$0,02 \times 10^{-6}$	117
NiCo <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /rGO	VPD	0,1 a 8,0 and 8,0 a $150 \times 10^{-6}$	$0,01 \times 10^{-6}$	118
CB/WO <sub>3</sub> /SPCE	VPD	0,01 a $75,46 \times 10^{-6}$	$2 \times 10^{-9}$	119
PdPc-MWCNTs	AMP	0,10 a $51 \times 10^{-6}$	$75 \times 10^{-9}$	120
Cu(II)-rutincomplex/HMD	CAdSV	0,2 a $1,4 \times 10^{-6}$	$7,0 \times 10^{-9}$	121
E				
Este trabalho	VC e VOQ	1,92 a $25 \times 10^{-6}$ 39 a $975 \times 10^{-9}$	$0,17 \times 10^{-6}$ $7,32 \times 10^{-9}$	Este trabalho

Fonte: próprio autor (2021).

O sistema proposto nesse trabalho apresentou bons desempenhos tanto para faixa micromolar quanto para nanomolar semelhante ou superior a métodos já apresentados na literatura em revistas de alto impacto para quantificação de Rutina, com um dos melhores limite de detecção e a melhor faixa linear de trabalho na região nanomolar, além disso, o sensor do presente trabalho destaca-se frente a esses por ser de fácil preparo, baixo consumo de solvente orgânico, rapidez no preparo da modificação, necessidade de pouco reagente para o preparo do sensor.



---

# CONCLUSÕES

---

## 6. CONCLUSÕES

Pelo exposto, pode-se concluir que foi possível o desenvolvimento de um sensor à base de NTCPM/ $\gamma$ -CD, visando o desenvolvimento de um sistema válido ao qual foi aplicado para a determinação de Rutina em medicamentos e extrato de planta. Após a fase do preparo do eletrodo modificado à base de NTCPM/ $\gamma$ -CD realizou-se os estudos referentes aos parâmetros experimentais e operacionais que afetam a sensibilidade e seletividade do sensor proposto frente à Rutina. Para esse estudo é perceptível através das análises que o pH 2,2, solução de fosfato salino e concentração de 0,1 molar apresentam melhores sensibilidades para a oxidação/redução da Rutina. A voltametria de onda quadrada foi a técnica que apresentou melhores resultados, tal fato está atrelado ao comportamento redox da Rutina frente ao sensor. Os estudos de adição e recuperação para amostras farmacêuticas e de extratos de planta contendo Rutina mostraram que o método proposto apresenta uma boa exatidão com percentagem de recuperação entre 93 e 98,40%. O método eletroanalítico foi comparado frente ao HPLC o que comprovou através do teste T student que há 95% de veracidade entre ambos. E por fim, considerando as figuras de mérito avaliadas, foi possível classificar o sensor desenvolvido como satisfatório, sendo esse utilizado em uma metodologia de baixo custo, fácil execução, exata, precisa, seletiva e também sensível.

---

# REFERÊNCIAS

---

REFERÊNCIAS

1. JIN, Liang et al. Antioxidant properties and color parameters of herbal teas in China. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 198-209, 2016.
2. KAWA-RYGIELSKA, Joanna et al. Fruit and herbal meads—Chemical composition and antioxidant properties. **Food chemistry**, v. 283, p. 19-27, 2019.
3. THOMFORD, Nicholas Ekow et al. Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery. **International journal of molecular sciences**, v. 19, n. 6, p. 1578, 2018.
4. WRIGHT, Gerard D. Unlocking the potential of natural products in drug discovery. **Microbial biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 55-57, 2019.
5. DAVISON, Emma K.; BRIMBLE, Margaret A. Natural product derived privileged scaffolds in drug discovery. **Current opinion in chemical biology**, v. 52, p. 1-8, 2019.
6. BERNARDINI, S. et al. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. **Natural product research**, v. 32, n. 16, p. 1926-1950, 2018.
7. RAFFA, Demetrio et al. Recent discoveries of anticancer flavonoids. **European journal of medicinal chemistry**, v. 142, p. 213-228, 2017.
8. TAO, A. E. et al. Research progress on flavonoids in plants of *Polygonatum Mill.* and their pharmacological activities. **Chin Tradit Herb Drugs**, v. 620, n. 9, p. 184-192, 2018.
9. ADAMCZAK, Artur; OŻAROWSKI, Marcin; KARPIŃSKI, Tomasz M. Antibacterial activity of some flavonoids and organic acids widely distributed in plants. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 1, p. 109, 2020.
10. SILVA, Luanna Ferreira; SILVA, Mairon Moura; RIBEIRO, Daniele Silva. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de soja adicionado de extratos de bagaço de uvas tintas. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 7, n. 2, p. 254-259, 2017.

11. PATTI, Angelo Maria et al. Natural approaches in metabolic syndrome management. **Archives of medical science: AMS**, v. 14, n. 2, p. 422, 2018.
12. AMATO, Antonella; TERZO, Simona; MULÈ, Flavia. Natural compounds as beneficial antioxidant agents in neurodegenerative disorders: a focus on Alzheimer's disease. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 608, 2019.
13. SAGAR, Fiske Mukund; VIVEK, Oke Anand; DAYARAMJI, Khedkar Dinesh. Phytochemical screening and antioxidant potential of some plant materials. **Int. J. of Life Sciences**, v. 6, n. 1, p. 239-247, 2018.
14. DE BASTOS SOUZA, Priscilla et al. Uma abordagem sobre a determinação de atividade antioxidante e fenóis totais por FT-IR e quimiometria em alimentos. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 8, n. 1, p. 17-25, 2018.
15. GAO, Yan-Sha et al. Electroanalytical method for determination of shikonin based on the enhancement effect of cyclodextrin functionalized carbon nanotubes. **Chinese Chemical Letters**, v. 26, n. 5, p. 613-618, 2015.
16. SIMONYI, Agnes et al. Inhibition of microglial activation by elderberry extracts and its phenolic components. **Life sciences**, v. 128, p. 30-38, 2015.
17. YOO, Guijae et al. Flavonoids isolated from *Lespedeza cuneata* G. Don and their inhibitory effects on nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglia cells. **Pharmacognosy magazine**, v. 11, n. 43, p. 651, 2015.
18. CHUANG, Jing-Yuan et al. Regulatory effects of fisetin on microglial activation. **Molecules**, v. 19, n. 7, p. 8820-8839, 2014.
19. XU, Peng-xin et al. Rutin improves spatial memory in Alzheimer's disease transgenic mice by reducing A $\beta$  oligomer level and attenuating oxidative stress and neuroinflammation. **Behavioural brain research**, v. 264, p. 173-180, 2014.



20. HE, Jing-Lin et al.  $\beta$ -Cyclodextrin incorporated carbon nanotube-modified electrode as an electrochemical sensor for rutin. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 114, n. 1, p. 94-100, 2006.
21. SAJID, Muhammad et al. Chemically modified electrodes for electrochemical detection of dopamine in the presence of uric acid and ascorbic acid: a review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 15-29, 2016.
22. ROSENBERGER, Andressa Giombelli et al. Eletrofiação no preparo de sensor eletroquímico a base de nanotubos de carbono. 2017.
23. CHAUHAN, Nidhi et al. An electrochemical sensor for detection of neurotransmitter-acetylcholine using metal nanoparticles, 2D material and conducting polymer modified electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 89, p. 377-383, 2017.
24. WANG, Kun et al. A novel electrochemical biosensor based on polyadenine modified aptamer for label-free and ultrasensitive detection of human breast cancer cells. **Talanta**, v. 166, p. 87-92, 2017.
25. LI, Ying et al. A glassy carbon electrode modified with MoS<sub>2</sub> nanosheets and poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) for simultaneous electrochemical detection of ascorbic acid, dopamine and uric acid. **Microchimica Acta**, v. 183, n. 9, p. 2517-2523, 2016.
26. KUDŁAK, Błażej; WIECZERZAK, Monika. Aptamer based tools for environmental and therapeutic monitoring: A review of developments, applications, future perspectives. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 50, n. 8, p. 816-867, 2020.
27. LIU, Ya Ting et al. Electrochemical sensor based on a poly (para-aminobenzoic acid) film modified glassy carbon electrode for the determination of melamine in milk. **Electrochimica Acta**, v. 56, n. 12, p. 4595-4602, 2011.
28. RAHIMI-NASRABADI, Mehdi; KHOSHROO, Alireza; MAZLOUM-ARDAKANI, Mohammad. Electrochemical determination of diazepam in real samples based on fullerene-functionalized carbon nanotubes/ionic

- liquid nanocomposite. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 240, p. 125-131, 2017.
29. MAZLOUM-ARDAKANI, Mohammad; KHOSHROO, Alireza; HOSSEINZADEH, Laleh. Simultaneous determination of hydrazine and hydroxylamine based on fullerene-functionalized carbon nanotubes/ionic liquid nanocomposite. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 214, p. 132-137, 2015.
  30. BARSAN, Madalina M.; GHICA, M. Emilia; BRETT, Christopher MA. Electrochemical sensors and biosensors based on redox polymer/carbon nanotube modified electrodes: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 881, p. 1-23, 2015.
  31. JI, Jian et al. Electrochemical sensor based on molecularly imprinted film at Au nanoparticles-carbon nanotubes modified electrode for determination of cholesterol. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 66, p. 590-595, 2015.
  32. MALARD, L. M. et al. Raman spectroscopy in graphene. **Physics reports**, v. 473, n. 5-6, p. 51-87, 2009.
  33. NANDA, B. S.; PUTTASWAMY, P. S. Modeling and simulation of graphene field effect transistor (GFET). **International Journal of Electrical and Computer Engineering**, v. 9, n. 6, p. 4826, 2019.
  34. ALVIAL-PALAVICINO, Carla; KONRAD, Kornelia. The rise of graphene expectations: Anticipatory practices in emergent nanotechnologies. **Futures**, v. 109, p. 192-202, 2019.
  35. JAFARI, Saied et al. An azithromycin electrochemical sensor based on an aniline MIP film electropolymerized on a gold nano urchins/graphene oxide modified glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 829, p. 27-34, 2018.
  36. KAHLOUCHE, Karima et al. Controlled modification of electrochemical microsystems with polyethylenimine/reduced graphene oxide using electrophoretic deposition: Sensing of dopamine levels in meat samples. **Talanta**, v. 178, p. 432-440, 2018.

37. CHAIYO, Sudkate et al. Non-enzymatic electrochemical detection of glucose with a disposable paper-based sensor using a cobalt phthalocyanine–ionic liquid–graphene composite. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 102, p. 113-120, 2018.
38. HUANG, Jing et al. Selective and sensitive glycoprotein detection via a biomimetic electrochemical sensor based on surface molecular imprinting and boronate-modified reduced graphene oxide. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 259, p. 1-9, 2018.
39. LI, Guangli et al. A Highly Sensitive and Stable Dopamine Sensor Using Shuttle-Like  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles/Electro-Reduced Graphene Oxide Composites. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 166, n. 15, p. B1552, 2019.
40. HE, Quanguo et al. Manganese dioxide Nanorods/electrochemically reduced graphene oxide nanocomposites modified electrodes for cost-effective and ultrasensitive detection of Amaranth. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 172, p. 565-572, 2018.
41. KHANMOHAMMADI, Akbar et al. An overview to electrochemical biosensors and sensors for the detection of environmental contaminants. **Journal of the Iranian Chemical Society**, p. 1-19, 2020.
42. WANG, Jin et al. Dopamine and uric acid electrochemical sensor based on a glassy carbon electrode modified with cubic Pd and reduced graphene oxide nanocomposite. **Journal of colloid and interface science**, v. 497, p. 172-180, 2017.
43. VALENTINI, Federica et al. Fullerene black modified screen printed electrodes for the quantification of acetaminophen and guanine. **Electroanalysis**, v. 29, n. 12, p. 2863-2872, 2017.
44. DE OLIVEIRA MALTA, Rosana; SILVA, Viviane Viana. APTASENORES A BASE DE GRAFENO PARA APLICAÇÕES EM DIAGNÓSTICO E DETECÇÃO DE DOENÇAS. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 8, n. 1, p. 8-20, 2019.

45. MA, Ya et al. A multi-walled carbon nanotubes based molecularly imprinted polymers electrochemical sensor for the sensitive determination of HIV-p24. **Talanta**, v. 164, p. 121-127, 2017.
46. TERADAL, Nagappa L.; SEETHARAMAPPA, J. Bulk Modification of Carbon Paste Electrode with Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanoparticles and Its Application as an Electrochemical Sensor for Selective Sensing of Anti-HIV Drug Nevirapine. **Electroanalysis**, v. 27, n. 8, p. 2007-2016, 2015.
47. OREOPOULOU, Antigoni; TSIMOGIANNIS, Dimitrios; OREOPOULOU, Vassiliki. Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. **Polyphenols in plants**, p. 243-259, 2019.
48. BERRANI, Assia et al. Anabasis aretioides Coss. & Moq. phenolic compounds exhibit in vitro hypoglycemic, antioxidant and antipathogenic properties. **Journal of basic and clinical physiology and pharmacology**, v. 30, n. 2, p. 251-257, 2018.
49. LE LANN, Klervi et al. Sunscreen, antioxidant, and bactericide capacities of phlorotannins from the brown macroalga *Halidryssiliquosa*. **Journal of applied phycology**, v. 28, n. 6, p. 3547-3559, 2016.
50. WANG, Tian-yang; LI, Qing; BI, Kai-shun. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 12-23, 2018.
51. RASOULI, Hassan; FARZAEI, Mohammad Hosein; KHODARAHMI, Reza. Polyphenols and their benefits: A review. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. sup2, p. 1700-1741, 2017.
52. CARDOSO, Joseane F.; JACKIX, Elisa A.; PIETRO, Luciana. O papel dos polifenóis na Doença de Alzheimer: revisão sistemática. **J. Health Sci. Inst**, p. 240-245, 2016.
53. NASCIMENTO, Fabiana G. et al. Seasonal influence and cytotoxicity of extracts, fractions and major compounds from *Allamanda schottii*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 5, p. 545-552, 2014.

54. HU, Jing et al. Novel plant flavonoid electrochemical sensor based on in-situ and controllable double-layered membranes modified electrode. **Plos one**, v. 15, n. 8, p. e0237583, 2020.
55. ZHANG, Kaixin et al. Poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) nanorods grown on graphene oxide sheets as electrochemical sensing platform for rutin. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 739, p. 66-72, 2015.
56. EL JAOUHARI, Abdelhadi et al. Enhanced molecular imprinted electrochemical sensor based on zeolitic imidazolate framework/reduced graphene oxide for highly recognition of rutin. **Analytica chimica acta**, v. 1106, p. 103-114, 2020.
57. SHARMA, Shrestha et al. Rutin: therapeutic potential and recent advances in drug delivery. **Expert opinion on investigational drugs**, v. 22, n. 8, p. 1063-1079, 2013.
58. YANG, Dan et al. Determination of rutin by flow injection chemiluminescence method using the reaction of luminol and potassium hexacyanoferrate (III) with the aid of response surface methodology. **Luminescence**, v. 25, n. 6, p. 436-444, 2010.
59. MOREIRA, Gisele Chagas; DE SOUZA DIAS, Fabio. Projeto de mistura e matriz Doehlert para otimização da extração assistida por ultrassom de ácido cafeico, rutina, catequina e ácido transcinâmico em *Physalisangulata* L. e determinação por HPLC DAD. **Microchemical Journal**, v. 141, p. 247-252, 2018.
60. GLAVAČ, Nina Kočevar et al. Determination of fagopyrins, rutin, and quercetin in Tartary buckwheat products. **LWT-Food Science and Technology**, v. 79, p. 423-427, 2017.
61. GONG, Aiqin et al. Polímero de ciclodextrina / nanocompósitos de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> como material de extração em fase sólida acoplado a espectrometria UV-vis para análise de rutina. **Spectrochimica Acta Parte A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 122, p. 331-336, 2014.
62. TURSYNBOLAT, Satar et al. Highly sensitive simultaneous electrochemical determination of myricetin and rutin via solid phase

- extraction on a ternary Pt@ r-GO@ MWCNTs nanocomposite. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 9, n. 5, p. 358-366, 2019.
63. KARABIBEROĞLU, ŞükriyeUlubay; DURSUN, Zekerya. Fabrication of nickel coated graphene oxide composite electrode for sensitive determination of Rutin. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 815, p. 76-85, 2018.
64. GUO, Qianjuan et al. In-situ and controllable synthesis of graphene-gold nanoparticles/molecularly imprinted polymers composite modified electrode for sensitive and selective rutin detection. **MicrochemicalJournal**, v. 158, p. 105254, 2020.
65. DOS SANTOS NETO, Antônio Gomes et al. Electrochemical sensor for detection of imipramine antidepressant at low potential based on oxidized carbon nanotubes, ferrocenecarboxylic acid, and cyclodextrin: application in psychotropic drugs and urine samples. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 22, n. 5, p. 1385-1394, 2018.
66. LIMA, KayniCássea Moreira Soares et al. Development of a novel sensor for isoniazid based on 2, 3-dichloro-5, 6-dicyano-p-benzoquinone and graphene: Application in drug samples utilized in the treatment of tuberculosis. *Microchemical Journal*, v. 128, p. 226-234, 2016.
67. LEFROU, Christine; FABRY, Pierre; POIGNET, Jean-Claude. **Electrochemistry: the basics, with examples**. Springer Science & Business Media, 2012.
68. HAUSER, P. C. Electroanalytical methods. In: **Instrumental Multi-Element Chemical Analysis**. Springer, Dordrecht, 1998. p. 201-250.
69. NNAMCHI, Paul S.; OBAYI, Camillus S. Electrochemical characterization of nanomaterials. In: **Characterization of Nanomaterials**. WoodheadPublishing, 2018. p. 103-127.
70. MESSAOUD, Najib Ben et al. Electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticle modified electrode for the sensitive detection of bisphenol A. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 253, p. 513-522, 2017.

71. DUOC, Phan Nguyen Duc et al. A novel electrochemical sensor based on double-walled carbon nanotubes and graphene hybrid thin film for arsenic (V) detection. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, p. 123185, 2020.
72. ARUMUGASAMY, Shiva Kumar; GOVINDARAJU, Saravanan; YUN, Kyusik. Electrochemical sensor for detecting dopamine using graphene quantum dots incorporated with multiwall carbon nanotubes. **Applied Surface Science**, v. 508, p. 145294, 2020.
73. MANASA, G. et al. Bismuth-nanoparticles decorated multi-wall-carbon-nanotubes cast-coated on carbon paste electrode; an electrochemical sensor for sensitive determination of Gallic Acid at neutral pH. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 3, p. 174-182, 2020.
74. ATTA, Nada F.; GALAL, Ahmed; EL-GOHARY, Asmaa R. Crown ether modified poly (hydroquinone)/carbon nanotubes based electrochemical sensor for simultaneous determination of levodopa, uric acid, tyrosine and ascorbic acid in biological fluids. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 863, p. 114032, 2020.
75. ALIM, Samiul et al. Recent uses of carbon nanotubes & gold nanoparticles in electrochemistry with application in biosensing: a review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 121, p. 125-136, 2018.
76. AVAL, L. Fekri; GHORANNEVISS, M.; POUR, G. Behzadi. High-performance supercapacitors based on the carbon nanotubes, graphene and graphite nanoparticles electrodes. **Heliyon**, v. 4, n. 11, p. e00862, 2018.
77. HUANG, Bintong et al. A free-standing electrochemical sensor based on graphene foam-carbon nanotube composite coupled with gold nanoparticles and its sensing application for electrochemical determination of dopamine and uric acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 801, p. 129-134, 2017.
78. ABELLÁN-LLOBREGAT, Alejandra et al. Portable electrochemical sensor based on 4-aminobenzoic acid-functionalized herringbone carbon

- nanotubes for the determination of ascorbic acid and uric acid in human fluids. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 109, p. 123-131, 2018.
79. MAO, Airong et al. Electrochemical sensor based on multi-walled carbon nanotubes and chitosan-nickel complex for sensitive determination of metronidazole. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 799, p. 257-262, 2017.
80. HUANG, Qitong et al. Graphene quantum dots/multiwalled carbon nanotubes composite-based electrochemical sensor for detecting dopamine release from living cells. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 8, n. 3, p. 1644-1650, 2020.
81. CHENG, Jinyan et al. A novel electrochemical sensing platform for detection of dopamine based on gold nanobipyramid/multi-walled carbon nanotube hybrids. **Analytical and bioanalytical chemistry**, p. 1-9, 2020.
82. AO, Meiyong et al. Effects of cyclodextrins on the structure of LDL and its susceptibility to copper-induced oxidation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016.
83. ZHANG, Jianxiang; MA, Peter X. Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: recent progress and future perspective. **Advanced drug delivery reviews**, v. 65, n. 9, p. 1215-1233, 2013.
84. LAKKAKULA, Jaya Raju; KRAUSE, Rui Werner Maçedo. A vision for cyclodextrin nanoparticles in drug delivery systems and pharmaceutical applications. **Nanomedicine**, v. 9, n. 6, p. 877-894, 2014.
85. VENTURINI, Cristina de Garcia et al. Properties and recent applications of cyclodextrins. **Quimica Nova**, v. 31, n. 2, p. 360-368, 2008.
86. ALAM, Arif U.; DEEN, M. Jamal. Bisphenol A electrochemical sensor using graphene oxide and  $\beta$ -cyclodextrin-functionalized multi-walled carbon nanotubes. **Analytical chemistry**, v. 92, n. 7, p. 5532-5539, 2020.



87. GANDOMI, Faezeh et al. Linagliptin electrochemical sensor based on carbon nitride- $\beta$ -cyclodextrin nanocomposite as a modifier. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 876, p. 114697, 2020.
88. ZOU, Jinfeng et al. Electrochemical sensor for the facile detection of trace amounts of bisphenol A based on cyclodextrin-functionalized graphene/platinum nanoparticles. **Analytical Methods**, v. 9, n. 1, p. 134-140, 2017.
89. ZHOU, Zhidu et al. An ultrasensitive electrochemical sensor for quercetin based on 1-pyrenebutyrate functionalized reduced oxide graphene/mercapto- $\beta$ -cyclodextrin/Au nanoparticles composite film. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 288, p. 88-95, 2019.
90. CHOI, Jae Min et al. Sens-based flavonoid detection using ethylenediamine- $\beta$ -cyclodextrin as a capturing ligand. **Nanomaterials**, v. 7, n. 1, p. 8, 2017.
91. WANG, Geyun et al. Electrocatalytic response of norepinephrine at a  $\beta$ -cyclodextrin incorporated carbon nanotube modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 567, n. 2, p. 227-231, 2004.
92. HE, Jing-Lin et al.  $\beta$ -Cyclodextrin incorporated carbon nanotube-modified electrode as an electrochemical sensor for rutin. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 114, n. 1, p. 94-100, 2006.
93. LARKIN, P. (PETER J. . Infrared and raman spectroscopy: principles and spectral interpretation. San Diego: Elsevier, 2011.
94. PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 2. ed. ed. São Paulo: Cengage Learning: [s.n.].
95. SILVERSTEIN, R. M. et al. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6. ed. ed. [s.l.] Livros Técnicos e Científicos, 2000.
96. FAN, Haoran et al. Preparation of photoirradiation molecular imprinting polymer for selective separation of branched cyclodextrins. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 288, 2017.

97. CHAMBERS, Gordon et al. Characterization of the interaction of gamma cyclodextrin with single-walled carbon nanotubes. **Nano Letters**, v. 3, n. 6, p. 843-846, 2003.
98. CARVALHO, Liliane A. de; ANDRADE, Adalgisa R. de; BUENO, Paulo R.. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis. **Química Nova**, São Paulo, volume 29 (n° 4), p. 796-804, 2006.
99. SOUTO, Dênio Emanuel Pires. Desenvolvimento de um imunossensor pela técnica de ressonância de plásmos de superfície para detecção em tempo real de anticorpos anti-*Leishmania Infantum*. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2012.
100. FAYEMI, Omolola E. et al. Electrochemical sensor for the detection of dopamine in real samples using polyaniline/NiO, ZnO, and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposites on glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 818, p. 236-249, 2018.
101. KARIMIAN, N.; GHOLIVAND, M. B.; MALEKZADEH, Gh. Cefixime detection by a novel electrochemical sensor based on glassy carbon electrode modified with surface imprinted polymer/multiwall carbon nanotubes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 771, p. 64-72, 2016.
102. TANG, Jing et al. A sensitive and selective electrochemical sensor based on graphene quantum dots/gold nanoparticles nanocomposite modified electrode for the determination of luteolin in peanut hulls. **Microchemical Journal**, v. 145, p. 899-907, 2019.
103. LIANG, Axin et al. A novel CuFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanospheres molecularly imprinted polymers modified electrochemical sensor for lysozyme determination. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 853, p. 113465, 2019.
104. DA SILVA, Leonardo Vieira et al. A new electrochemical sensor based on oxidized capsaicin/multi-walled carbon nanotubes/glassy carbon

- electrode for the quantification of dopamine, epinephrine, and xanthurenic, ascorbic and uric acids. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 881, p. 114919, 2021.
105. RAN, Xin et al. Highly sensitive electrochemical sensor based on  $\beta$ -cyclodextrin–gold@ 3, 4, 9, 10-perylene tetracarboxylic acid functionalized single-walled carbon nanohorns for simultaneous determination of myricetin and rutin. **Analytica chimica acta**, v. 892, p. 85-94, 2015.
106. LIU, Zhiguang; XUE, Qiong; GUO, Yujing. Sensitive electrochemical detection of rutin and isoquercitrin based on SH- $\beta$ -cyclodextrin functionalized graphene-palladium nanoparticles. **BiosensorsandBioelectronics**, v. 89, p. 444-452, 2017.
107. XIA, Jianfei et al. An electrochemical sensor for the sensitive detection of rutin based on a novel composite of activated silica gel and graphene. **RSC Advances**, v. 5, n. 49, p. 39131-39137, 2015.
108. JÚNIOR, José Geraldo Mendes Castro et al. A novel platform based on graphene/poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)/iron (III) hexacyanoferrate (II) composite film for electrocatalytic reduction of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 732, p. 93-100, 2014.
109. BAGHERI, H. et al. Fabrication of an electrochemical sensor based on magnetic multi-walled carbon nanotubes for the determination of ciprofloxacin. **Analytical Methods**, v. 8, n. 16, p. 3383-3390, 2016.
110. AHAMMAD, AJ Saleh et al. Cost-effective electrochemical sensor based on carbon nanotube modified-pencil electrode for the simultaneous determination of hydroquinone and catechol. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 165, n. 9, p. B390, 2018.
111. YANG, Siyi et al. An ultrasensitive electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube@ reduced graphene oxide nanoribbon composite for simultaneous determination of hydroquinone, catechol and resorcinol. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 166, n. 6, p. B547, 2019.

112. LU, Yixia et al. Electrochemical determination of rutin based on molecularly imprinted poly (ionic liquid) with ionic liquid-graphene as a sensitive element. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 311, p. 127911, 2020.
113. ARVAND, Majid; SHABANI, Atefeh; ARDAKI, Masoomeh Sayyar. A new electrochemical sensing platform based on binary composite of graphene oxide-chitosan for sensitive rutin determination. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 7, p. 2332-2345, 2017.
114. WANG, Chunlei et al. Boronic acid based imprinted electrochemical sensor for rutin recognition and detection. **Analyst**, v. 141, n. 20, p. 5792-5798, 2016.
115. YALIKUN, Nuerbiya et al. Taraxacum-like Mg-Al-Si@ porous carbon nanoclusters for electrochemical rutin detection. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 6, p. 1-8, 2019.
116. WANG, Zonghua et al. One-step synthesis of a methylene blue@ ZIF-8-reduced graphene oxide nanocomposite and its application to electrochemical sensing of rutin. **Microchimica Acta**, v. 185, n. 5, p. 1-8, 2018.
117. LI, Shumin et al. Nonenzymatic electrochemical detection of rutin on Pt nanoparticles/graphene nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Analytical Methods**, v. 8, n. 27, p. 5435-5440, 2016.
118. CUI, Shiqiang et al. Mesoporous NiCo<sub>2</sub>O<sub>4</sub>-decorated reduced graphene oxide as a novel platform for electrochemical determination of rutin. **Talanta**, v. 164, p. 291-299, 2017.
119. KUBENDHIRAN, Subbiramaniyan et al. "Design of novel WO<sub>3</sub>/CB nanohybrids" An affordable and efficient electrochemical sensor for the detection of multifunctional flavonoid rutin. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 5, n. 5, p. 1085-1093, 2018.
120. XING, Ruimin et al. A sensitive and reliable rutin electrochemical sensor based on palladium phthalocyanine-MWCNTs-Nafion

- nanocomposite. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 21, n. 5, p. 1219-1228, 2017.
121. DA SILVA, Jonatas Gomes et al. Cathodic adsorptive stripping voltammetric determination of rutin in soybean cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 25, n. 1, p. 1-8, 2012.