



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Estudo da determinação de ácido ascórbico em solução
utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com
Nafion®**

Kelly Rejane de Oliveira Araújo

Dissertação de Mestrado em Química

**Goiânia
2017**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA

**Estudo da determinação de ácido ascórbico em solução
utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com
Nafion®**

Kelly Rejane de Oliveira Araújo

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade Federal de Goiás
como exigência parcial, para obtenção do
título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Colmati Jr.

Goiânia
2017

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Nome completo do autor: Kelly Rejane de Oliveira Araújo

Título do trabalho: Estudo da determinação de ácido ascórbico em solução utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

Kelly Rejane de O. Araújo
Assinatura do (a) autor (a) ²

Data: 07/04/17

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

² A assinatura deve ser escaneada.

de Oliveira Araujo, Kelly Rejane

Estudo da determinação de ácido ascórbico em solução utilizando
eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion® [manuscrito] / Kelly
Rejane de Oliveira Araujo. - 2017.
LXXII, 72 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Colmati Junior.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto
de Química (IQ), Programa de Pós-Graduação em Química, Goiânia, 2017.
Bibliografia.

Inclui abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de
tabelas.

1. Eletroquímica. 2. Oxidação ácido ascórbico. 3. Eletrodo
quimicamente modificado. 4. Nafion. I. Colmati Junior, Flávio, orient.
II. Título.

CDU 54



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE QUÍMICA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ-IQ)

Ata da defesa de Dissertação de Mestrado de Kelly Rejane de Oliveira Araújo, aluna regularmente matriculada no Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, para a obtenção do título de Mestra em Química.

Aos dias 28 (vinte e oito) de março do ano de 2017 (dois mil e dezessete), com início às 13:00 hs (treze horas) no Instituto de Química da UFG, reuniu-se a Banca Examinadora designada pela Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação em Química da UFG, composta pelos seguintes doutores: Prof. Dr. Flávio Colmati Junior (UFG), Prof. Dr. Camilo Andrea Angelucci (UFABC) e Prof. Dra. Andréa Fernandes Arruda (UFG), sob a presidência do primeiro, para julgar a dissertação de KELLY REJANE DE OLIVEIRA ARAÚJO intitulada: "Estudo de determinação de ácido ascórbico em solução utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com nafion". O presidente da Banca Examinadora abriu a sessão prestando esclarecimentos sobre os trâmites da avaliação e, em seguida, passou a palavra à candidata para que a mesma fizesse uma exposição do seu trabalho. Terminada a exposição, a candidata foi arguida pelos membros da Banca Examinadora e, após as arguições, foi determinado um intervalo de tempo para que a banca, em sessão fechada, procedesse ao julgamento do trabalho. O resultado do julgamento foi o seguinte:

Prof. Dr. Flávio Colmati Junior: Aprovado
Prof. Dr. Camilo Andrea Angelucci: aprovado
Prof. Dra. Andréa Fernandes Arruda: aprovada

A seguir, na presença do público e da candidata, o presidente da Banca Examinadora declarou que Kelly Rejane de Oliveira Araújo, candidata ao título de Mestra em Química foi: Aprovada (x); Reprovada (). Este resultado deverá ser homologado pela Coordenadoria de Pós-Graduação do Programa de Pós-Graduação em Química do IQ/UFG. Nada mais havendo a tratar, o Senhor Presidente cumprimentou a candidata e encerrou os trabalhos. E para constar, eu, Lídia dos Santos Ferreira de Freitas, lavrei a presente ata que segue assinada pelos membros da banca examinadora. Goiânia, 28 de março de 2017.

Prof. Dr. Flávio Colmati Junior (IQ/UFG)

Prof. Dr. Camilo Andrea Angelucci (UFABC)

Prof. Dra. Andréa Fernandes Arruda (UFG)

*Dedico este trabalho ao meu incansável pesquisador, educador, amigo,
companheiro e esposo, Alécio Rodrigues Nunes. Por todas as tentativas de me
manter firme no meio acadêmico.*

Agradecimentos

Ao professor Flávio Colmati, pela oportunidade de orientação.

Ao meu esposo Alécio, pelo incentivo e apoio constante.

Á minha mãe, pelas palavras de conforto.

Á minha irmã Kênia, por ser uma inspiração.

Aos colegas do Laboratório de Eletroquímica (LABEL), pelos momentos de descontração e pelas trocas de experiências.

Aos professores do IQ-UFG pela contribuição ao meu aprendizado, em especial à professora Andrea Arruda pela inestimável orientação.

Ao CNPQ pela bolsa de estudos.

“Olhar para trás após uma longa caminhada pode fazer perder a noção da distância que percorremos, mas se nos detivermos em nossa imagem, quando a iniciamos e ao término, certamente nos lembraremos o quanto nos custou chegar até o ponto final, e hoje temos a impressão de que tudo começou ontem. Não somos os mesmos, mas sabemos mais uns dos outros. E é por esse motivo que dizer adeus se torna complicado! Digamos então que nada se perderá. Pelo menos dentro da gente...”

Guimarães Rosa

Sumário

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS	14
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivos Gerais.....	22
2.2 Objetivos Específicos.	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Histórico do ácido ascórbico.....	23
3.2 Estrutura química do ácido ascórbico.....	24
3.3 Vitamina C e sua atividade biológica	27
3.4 Técnicas Eletroquímicas	29
3.4.1 Voltametria Cíclica.....	29
3.4.2 Voltametria de Onda Quadrada	30
3.4.3 Voltametria de Pulso Diferencial	31
3.5 Eletrodos Quimicamente Modificados	32
3.6 Características e estrutura do Nafion®	36
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	38
4.1 Preparação da suspensão de carbono modificada com Nafion®	38
4.2 Célula eletroquímica utilizada nos experimentos	38
4.3 Eletrodo de trabalho: Eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®.	38
4.4 Medições eletroquímicas: Voltametria cíclica (VC), Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) e Voltametria de Onda Quadrada (SWV).....	39
4.4.1 Preparação e análise de ácido ascórbico padrão.	39
4.4.2 Preparação e análise de ácido ascórbico em comprimidos de vitamina C	40
4.5 Preparação de ácido ascórbico e ácido cítrico padrão.....	41

4.6 Preparação do ácido ascórbico padrão para o estudo da velocidade de varredura	41
4.7 Preparação do ácido ascórbico padrão para acompanhamento da sua oxidação no decorrer dos dias.....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Perfil do eletrodo de trabalho usado nos experimentos	42
5.2 Comparação entre o perfil do eletrodo de trabalho e o perfil da oxidação de ácido ascórbico.....	43
5.3 Perfil da oxidação do ácido ascórbico: eletrodo de carbono vítreo x eletrodo quimicamente modificado.....	43
5.4 Perfil dos voltamogramas cíclicos da oxidação do ácido ascórbico padrão.....	45
5.5 Perfil dos voltamogramas cíclicos da oxidação do ácido ascórbico com a variação do pH	46
5.6 Determinação de ácido ascórbico em solução	48
5.7 Perfil da oxidação do ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C.....	50
5.8 Investigando a interferência de ácido cítrico na oxidação de ácido ascorbico nos comprimidos de Vitamina C.....	58
5.9 Efeito da velocidade de varredura sobre o eletrodo de trabalho.....	59
5.10 Perfil da oxidação de ácido ascórbico por voltametria de onda quadrada.....	62
5.11 Perfil da oxidação de ácido ascórbico por voltametria de pulso diferencial.....	64
5.12 Acompanhamento da oxidação de ácido ascórbico padrão ao longo do tempo de armazenamento.....	65
6 CONCLUSÕES	67
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura química dos ácidos L-ascórbico (A) e ácido L-deidroascórbico (B).

Figura 2: Oxidação do ácido L-ascórbico em ácido L-deidroascórbico.

Figura 3: Acidez das hidroxilas na molécula de ácido ascórbico.

Figura 4: Mecanismos de reação para a oxidação do ácido ascórbico.

Figura 5: Voltametria Cíclica (a) Varredura de potencial cíclico. (b) Resultado de um voltamograma cíclico.

Figura 6: Voltametria de onda quadrada. (a) Esquema da aplicação dos potenciais: soma de uma escada e uma onda quadrada. (b) Resposta típica: $E \sim 2 \text{ mV}$, $t_{\min} = 2 \text{ ms}$.

Figura 7: Voltametria de pulso diferencial. (a) Esquema de aplicação do potencial. (b) Perfil esquemático $I \times E$.

Figura 8: Estrutura polimérica do Nafion.

Figura 9: Voltamograma cíclico do eletrodo de trabalho modificado com Nafion® em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5.

Figura 10: Voltamograma cíclico usando o eletrodo de trabalho modificado com Nafion® na ausência de ácido ascórbico (A) e na presença de $2,91 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido ascórbico (B); Velocidade de varredura $0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 11: Voltamograma cíclico de 9 mmol L⁻¹ de ácido ascórbico padrão em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, em eletrodo de carbono vítreo (ECV) e em eletrodo quimicamente modificado (EQM). Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 12: Voltamogramas cíclicos de ácido ascórbico padrão em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, variando as concentrações de 0,0009 mol L⁻¹ a 9 mmol L⁻¹, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 13: Voltamogramas cíclicos obtidos com o EQM a 9 mmol L⁻¹ de ácido ascórbico padrão, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, variando os pHs em 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13 (A); comportamento da corrente de pico com a variação dos pHs (B).

Figura 14: Curva analítica do ácido ascórbico padrão em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5.

Figura 15: Voltamogramas cíclicos do Medicamento A em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 2,7; 5,16 e 7,4 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 16: Voltamogramas cíclicos do Medicamento B em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 2,7; 5,16 e 7,4 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 17: Voltamogramas cíclicos do Medicamento C em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 2,7; 5,16 e 7,4 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 16: Voltamogramas cíclicos do Medicamento A em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, após adições de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 µL de solução, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®.

Figura 17: Voltamogramas cíclicos do Medicamento B em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, após adições de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 µL de solução, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®.

Figura 18: Voltamogramas cíclicos do Medicamento A em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 1,12; 5,4; 10,3; 14,7 e 18,9 mmol de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 19: Voltamogramas cíclicos do Medicamento B em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 1,12; 5,4; 10,3; 14,7 e 18,9 mmol de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 20: Voltamogramas cíclicos do Medicamento C em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 1,12; 5,4; 10,3; 14,7 e 18,9 mmol de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 19: Voltamogramas cíclicos a partir de adições de AA e AC padrão em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®.

Figura 20: Voltamogramas cíclicos para AA 1,96 mmol L⁻¹, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidades de varredura (10 mV s⁻¹ a 300 mV s⁻¹).

Figura 21: Voltamogramas cíclicos em 0,113 mol L⁻¹ de solução dos Medicamentos A, B e C utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Figura 22: Voltamogramas cíclicos mostrando o perfil da oxidação de AA no Medicamento C com o aumento da concentração em relação ao AA padrão, usando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura $0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 23: Voltamogramas cíclicos a partir de adições de AA e AC padrão em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura $0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Figura 24: Voltamogramas cíclicos para AA $1,96 \text{ mmol L}^{-1}$, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidades de varredura (10 mV s^{-1} a 300 mV s^{-1}).

Figura 25: Comportamento da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial para o AA. Velocidades de varredura (10 mV s^{-1} a 300 mV s^{-1}).

Figura 26: Comportamento do logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial para o AA. Equação da reta: $\log I = -3,17851 + 0,37424 \log v$.

Figura 27: Voltamograma de onda quadrada obtido para oxidação do ácido ascórbico padrão em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5. Condições da SWV: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 0,55 \text{ V}$.

Figura 28: Voltamograma de onda quadrada obtido para oxidação do ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato pH 5. Condições da SWV: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 0,55 \text{ V}$.

Figura 29: Voltamograma de pulso diferencial para oxidação do ácido ascórbico padrão em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5. Condições da DPV: $a = 0,55 \text{ V}$.

Figura 30: Voltamograma de pulso diferencial obtido para oxidação do ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5. Condições da DPV: $\Delta E = 0,55$ V.

Figura 31: Comportamento da corrente de pico anódica a partir de 0,01 mol L⁻¹ AA, obtida por voltametria cíclica ao longo do tempo de armazenamento, com eletrodo de carbono vítreo.

Lista de Tabelas

Tabela 1: Concentrações de ácido ascórbico padrão.

Tabela 2: Dados resultantes da oxidação de ácido ascórbico nos medicamentos analisados.

Tabela 3: Erro relativo das massas de ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C.

Tabela 4: Valores de correntes correspondes à $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ de AA em solução contendo o comprimido de vitamina C obtido por SWV e DPV.

Lista de abreviaturas

Ag/AgCl – Eletrodo de referência de prata cloreto de prata

AA – Ácido Ascórbico

AC – Ácido Cítrico

AU – Ácido Úrico

CdO – Óxido de cádmio

CPE – Eletrodo pasta de carbono

CoHCF₆ – Hexacianoferrato de cobalto

DPV – Voltametria de pulso diferencial

DA – Dopamina

E – Potencial

ECV – Eletrodo de carbono vítreo

EQM – Eletrodo quimicamente modificado

GCE – Eletrodo de carbono vítreo

GR – Grafeno

I – Corrente

KCl – Cloreto de potássio

LD – Limite de detecção

NP – Nanopartículas

OG – Óxido de grafeno

OGR – Óxido de grafeno reduzido

PLL – Poli(L-lisina)

pNF – p-nitrofenol

SWV – Voltametria de onda quadrada

VC – Voltametria Cíclica

V – Volts

v – Velocidade de varredura

Resumo

Esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de determinar o perfil da oxidação do ácido ascórbico em solução empregando a voltametria cíclica, a voltametria de onda quadrada e a voltametria de pulso diferencial, observando o comportamento da oxidação decorrente do aumento da concentração de ácido ascórbico em solução, usando nas medidas eletroquímicas um eletrodo de carbono vítreo modificado com uma mistura de carbono e Nafion®, um polímero largamente empregado em análises eletroquímicas. Os experimentos tiveram ênfase na análise de ácido ascórbico padrão, mas também foram realizados com comprimidos de vitamina C de marcas comerciais diferentes, obtendo, em ambos, um aumento significativo das correntes de pico anódica provenientes da oxidação do ácido ascórbico, resultante de uma boa estabilidade do eletrodo de trabalho modificado. Para avaliação do eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion® também foram realizadas análises de ácido ascórbico padrão com o uso do eletrodo convencional. Com os resultados das análises foi possível determinar a massa de ácido ascórbico encontrada nos comprimidos de vitamina C, a partir da construção de uma curva analítica, na qual apresentou os parâmetros necessários para tal. Variando as velocidades de varredura das análises, por voltametria cíclica, foi possível descobrir ao plotar os gráficos de corrente versus raiz quadrada da velocidade por qual processo ocorreria a oxidação do ácido ascórbico na superfície do eletrodo. Os experimentos eletroquímicos com ácido ascórbico padrão mostraram o comportamento da oxidação ao variar o pH da solução tampão fosfato, evidenciando a melhor faixa de pH para se trabalhar usando o eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®. O uso das técnicas de voltametria de onda quadrada e de pulso diferencial possibilitou conhecer o perfil da oxidação do ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C, demonstrando melhor sensibilidade no sinal da corrente de pico pelo uso da voltametria de onda quadrada.

Palavras-chave: Eletroquímica, oxidação de ácido ascórbico, eletrodo quimicamente modificado, Nafion.

Abstract

This work was developed with the objective of determining the oxidation profile of ascorbic acid in solution using cyclic voltammetry, square wave voltammetry and differential pulse voltammetry, observing the oxidation behavior due to the increase in the concentration of ascorbic acid in solution using In the electrochemical measurements, a carbon-modified glass-carbon electrode and Nafion®, a polymer widely used in electrochemical analysis. The experiments had an emphasis on standard ascorbic acid analysis, but were also performed with vitamin C tablets of different trade marks, obtaining in both a significant increase of the anodic peak currents coming from the oxidation of the ascorbic acid, resulting from a good stability Of the modified working electrode. For comparison purposes with the Nafion®-modified glass carbon electrode, standard ascorbic acid analyzes were also performed with the use of the vitreous carbon electrode. With the results of the analysis it was possible to determine the mass of ascorbic acid found in vitamin C tablets, from the construction of an analytical curve, in which it presented the necessary parameters for this. By varying the scanning velocities of the analyzes by cyclic voltammetry, it was possible to find out when plotting the current x square root velocity graphs by which process the oxidation of ascorbic acid on the electrode surface would occur. The electrochemical experiments with standard ascorbic acid showed the oxidation behavior by varying the pH of the phosphate buffer solution, evidencing the best pH range to work using the Nafion® modified glass carbon electrode. The use of square wave and differential pulse voltammetry techniques allowed to now the profile of the oxidation of ascorbic acid in vitamin C tablets, demonstrating a better sensibility in the peak current signal by the use of differential pulse voltammetry.

Keywords: Electrochemistry, oxidation of ascorbic acid, chemically modified electrode, Nafion.

1. INTRODUÇÃO

Muitos estudos, dentre eles os epidemiológicos, têm mostrado que uma alimentação rica em frutas e verduras acarretam em menor incidência de doenças crônicas e degenerativas. Isso se deve ao efeito protetor desses alimentos estarem associados, em parte, à presença de substâncias antioxidantes, como o β -caroteno, a vitamina C e a vitamina E (Silva et al. 1995).

Antioxidantes são substâncias que combatem a formação de espécies reativas de oxigênio no organismo, tais como radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), ânion radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e hidroperoxila ($\text{ROO}^{\cdot}$), já que essas espécies causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídios e proteínas. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (Paim et al. 1998).

As vitaminas são compostos orgânicos considerados absolutamente necessários na dieta humana. As principais fontes naturais de vitamina C são encontradas nos vegetais e frutas (Miret; Munné-Bosch, 2016).

A origem da palavra vitamina vem da contração de duas palavras, vital (necessário) e amina (um composto orgânico nitrogenado – pois inicialmente, a ideia é que todas as vitaminas continham pelo menos um átomo de nitrogênio) (Marzal, 2000).

A deficiência de vitamina C pode ser definida como uma concentração no plasma inferior a 23 mmol L^{-1} , e afeta cerca de 5% a 10% dos adultos no mundo ocidental, com maior incidência em certos subgrupos, como fumantes, pessoas com baixo status sócio-econômico, mulheres grávidas e seus recém-nascidos (Fiorucci et al. 2003).

A dose diária recomendada para a vitamina C, é definida pelo Food and Nutrition Board dos Estados Unidos, para homens adultos é de 90 mg/dia e para mulheres adultas é de 75 mg/dia. No entanto, o nível superior de ingestão tolerável de vitamina C para adultos é de 2 g/dia (Fiorucci et al. 2003).

A insuficiência de Vitamina C pode causar uma das doenças mais antigas no homem, o escorbuto, além de comprometer o bom funcionamento de vários órgãos (Vendrame, 2004).

O escorbuto foi uma doença comum por muitos séculos, principalmente entre os navegadores, que em suas viagens longínquas não dispunham de frutas cítricas ou verduras frescas. Em uma jornada marítima era frequente perder grande parte de uma tripulação. Vasco da Gama, por exemplo, quando contornou o Cabo da Boa Esperança entre 1497 e 1499, perdeu mais da metade de seus marinheiros devido ao escorbuto (Silva et al. 2006).

Além de apresentar um comportamento químico redutor, o ácido ascórbico atua de diversas formas no nosso organismo, atua como antioxidante; na acumulação de ferro na medula óssea, baço e fígado; na produção de colágeno, na manutenção da resistência a doenças bacterianas e virais; na formação de ossos e dentes; na manutenção dos capilares sanguíneos, entre outras. As principais fontes de ácido ascórbico são os vegetais folhosos como brócolis, couve, nabo, os legumes, como os pimentões e as frutas, como o caju, goiaba, manga, laranja e acerola (Le Couteur; Burreson, 2006).

A vitamina C, como conhecemos, é muito importante para a nutrição humana, como um antioxidante, tem a capacidade de eliminar diversos radicais livres prevenindo o envelhecimento precoce (Sousa et al. 2007).

Sabe-se que grande parte dos mamíferos é capaz de sintetizar o ácido ascórbico, porém, assim como o homem, porquinhos-da-índia e morcegos não têm essa capacidade e, portanto, dependem de fontes alimentares (Moran et al. 2013). Essa limitação na produção de vitamina C ocorre devido à ausência da enzima gulonolactona oxidase, que é precursora na biossíntese do ácido L-ascórbico a partir de D-glicose (Scherer et al. 2008).

Estudos indicam que o consumo de compostos antioxidantes provenientes de produtos naturais reduz significativamente a incidência de doenças crônicas, como câncer, doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral e outras patologias relacionadas ao envelhecimento. Isso demonstra que os benefícios estão associados à presença de ativos de reconhecida capacidade antioxidante. Sendo assim, o estudo da capacidade antioxidante e a determinação destes ativos são úteis para avaliação da eficácia e controle de qualidade destes compostos ou produtos, requerendo diferentes métodos analíticos, como exemplo, os métodos eletroquímicos (Reis et al. 2009).

Entre os métodos eletroanalíticos que dependem da medida da corrente em função do potencial aplicado, estão os métodos voltamétricos. A voltametria baseia-se na medida da corrente em uma célula eletroquímica sob condições de completa polarização de concentração, na qual a velocidade de oxidação ou redução do analito é limitada pela velocidade de transferência de massa do analito para a superfície do eletrodo. A polarização é considerada completa quando a corrente na célula se torna independente do potencial (Skoog et al. 2006).

A célula eletroquímica é constituída de três eletrodos imersos em uma solução contendo o analito e também um excesso de um eletrólito não reativo. Um dos três eletrodos é o eletrodo de trabalho, no qual o analito é oxidado ou reduzido e cujo potencial em relação a um eletrodo de referência varia linearmente com o tempo. O eletrodo de referência tem um potencial que permanece constante durante o experimento. O terceiro eletrodo é um contra eletrodo, que normalmente é um fio de platina (Skoog et al. 2006).

Muitos esforços têm sido feitos para o desenvolvimento de novos eletrodos quimicamente modificados, que podem ser utilizados como teste analítico simples e rápido para a determinação das concentrações de importantes substâncias. Diferentes materiais, como polímeros, óxidos, zeólitas, filmes inorgânicos ou orgânicos, têm sido utilizados para imobilizar diferentes espécies eletroativas em superfícies dos eletrodos usados como sensores amperométricos (Oliveira et al. 2009).

Uma das técnicas mais empregadas para a modificação do eletrodo é a aplicação de camadas de agentes modificadores sobre a superfície do eletrodo, que pode ser empregada por meio de métodos como a adsorção física irreversível, materiais compósitos, imobilização por oclusão, materiais inorgânicos, ligação covalente a sítios específicos e o recobrimento com filmes poliméricos (Carvalho, 2011).

Dentre os métodos citados pode se destacar o emprego de materiais compósitos. Assim, um compósito consiste em misturar um agente modificador com o substrato do eletrodo, técnica essa muito empregada para modificar eletrodos a base de carbono em pó, de modo que uma variante do método pode ser utilizada: misturar carbono em pó a uma solução adequada do agente

modificador, com a evaporação do solvente as partículas de carbono ficam recobertas pelo modificador obtendo com isso uma distribuição mais homogênea. Apesar disso pode haver perda do material modificador durante as medidas eletroquímicas, provocando uma baixa reprodutibilidade do método (Moran et al. 2013).

Considerando um estudo analítico é de se esperar que a sensibilidade e/ou seletividade de uma determinação aumente com o uso de um eletrodo quimicamente modificado para poder justificar seu emprego (Nunes, 2013).

Diversos materiais servem como substratos, dentre os materiais mais conhecidos temos o ouro, platina, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono, pasta de carbono, etc. Pode-se dizer que o material que mais se destaca neste tipo de aplicação é o carbono vítreo, por apresentar boa condutividade elétrica, estabilidade térmica e robustez, características que permitem o uso dos eletrodos de carbono vítreo como base para modificação (Perla et al. 2016).

O ácido ascórbico (AA) é uma substância orgânica simples que tem despertado grande interesse devido aos efeitos benéficos como vitamina, além de seu grande uso como reagente e como aditivo em alimentos. Em vista disso, pesquisas têm sido realizadas na tentativa de se propor novos métodos de determinação (Hansen et al. 2016).

Este trabalho tem como objetivo o estudo do ácido ascórbico em solução a partir de um eletrodo de carbono vítreo modificado com uma mistura de pó de carbono e Nafion®, potencializando o aumento da sensibilidade do método de análise efetuadas por voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada e voltametria de pulso diferencial. O método permitiu verificar o aumento da corrente em decorrência do aumento das concentrações de ácido ascórbico. O trabalho também apresenta o perfil do ácido ascórbico, em comprimidos de vitamina C, em comparação com o perfil do ácido ascórbico padrão, além de comparar os resultados dos experimentos utilizando o eletrodo de carbono vítreo em relação ao eletrodo modificado.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Estudar a modificação do eletrodo de carbono para uma maior sensibilidade eletroquímica de ácido ascórbico em solução aquosa.

2.2. Objetivos Específicos

- Verificar o perfil da oxidação do ácido ascórbico padrão em solução com o eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®;
- Comparar o perfil da oxidação do ácido ascórbico padrão usando o eletrodo quimicamente modificado com Nafion x eletrodo não modificado;
- Estudar o comportamento da oxidação de ácido ascórbico com variação dos pHs da solução tampão fosfato;
- Avaliar o perfil da oxidação de amostras comerciais ricas em ácido ascórbico;
- Elucidar por qual processo as reações de oxidação do ácido ascórbico ocorrem na superfície do eletrodo;
- Avaliar o comportamento da oxidação de ácido ascórbico ao longo do tempo de armazenamento.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Histórico do ácido ascórbico

O escorbuto é considerado uma doença antiga, evidências de alterações na estrutura óssea de restos mortais do Neolítico se apresentaram compatíveis com a doença, além de hieróglifos do antigo Egito que foram interpretados como se referindo a ela. Há indícios de que a palavra escorbuto é derivada do norreno, a língua dos guerreiros e navegadores vikings que, do século IX em diante, partiam da Escandinávia para atacar o litoral atlântico da Europa. Durante os séculos XIV e XV, em decorrência do desenvolvimento de jogos de vela mais eficientes e navios bem equipados foi possível as viagens mais longas, predominando o aumento de casos de escorbuto no mar (Aranha et al. 2000).

Em 1747, James Lind, médico escocês da Marinha Britânica, documentou a ingestão de sucos cítricos no tratamento do escorbuto, realizando o primeiro estudo controlado de que se tem notícia na Medicina, ele foi o primeiro a correlacionar a alta morbidade e mortalidade dos marinheiros ingleses com a deficiência da vitamina C (Fiorucci et al. 2003).

Uma inevitável controvérsia foi provocada pelo cientista Linus Pauling (1901-1994), ganhador do Prêmio Nobel de Química em 1954, ao sugerir que megadoses de vitamina C poderiam prevenir resfriados e, até mesmo, câncer de cólon. Apesar de haver alguma evidência para esse efeito, no entanto, os estudos mostram que essas altas doses não diminuem o número de resfriados, como afirmava Pauling, mas apenas reduzem sua gravidade (Manela-Azulay et al. 2003).

Desde os anos 1970, até próximo de sua morte em agosto de 1994, com 93 anos de idade, Pauling defendeu o uso de megadoses diárias de vitamina C, se tornando um aficionado pela ideia, acabou por se afastar dos grandes centros de investigação científica e criou um pequeno Instituto privado, o "Linus Pauling Institute for Sciences and Medicine", em Palo Alto, Califórnia (Ferreira, 2004).

Muitas tentativas fracassaram de se tentar isolar e identificar a vitamina C na sua forma pura. Em 1928, o médico e bioquímico húngaro Albert Szent-

Gyorgyi, conseguiu isolar esta vitamina, na qual recebeu o nome de ácido hexurônico. Ele descobriu ainda que sua fórmula era $C_6H_8O_6$. Em 1932, o isolamento da vitamina C em forma cristalina pura foi conseguido por Szent-Gyorgyi e seu colaborador Norman Haworth, professor de Química na Universidade de Birmingham. A estrutura química foi identificada e o produto sintetizado sob a forma fisiologicamente ativa pouco depois; em 1938 o ácido ascórbico foi oficialmente aceito como nome químico da vitamina C (Le Couteur e Burrenson, 2006).

Com relação à nomenclatura *L-treo*-2-hexenona-1,4-lactona ou vitamina C, houve uma modificação, em 1965, para o nome ácido *L*-ascórbico pela comissão de nomenclatura bioquímica da IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), assim, o nome ácido ascórbico indicava a atividade antiescorbútica da vitamina C com origem na antiga forma inglesa da palavra escorbuto (*scorby*) (Rosa et al. 2007).

3.2 Estrutura química do ácido ascórbico

A Vitamina C é o ácido *L*-ascórbico cuja fórmula química é ($C_6H_8O_6$), seu nome químico é 2-oxi-*L*-treohexônio-1,4-lactona-2,3-enediol. É uma molécula orgânica tipo ceto-lactona de 6 carbonos, relacionada aos monossacarídeos hexoses. A Figura 1 mostra as duas estruturas principais da vitamina C, que são o ácido *L*-ascórbico e o ácido *L*-deidroascórbico (Rosa et al. 2007).

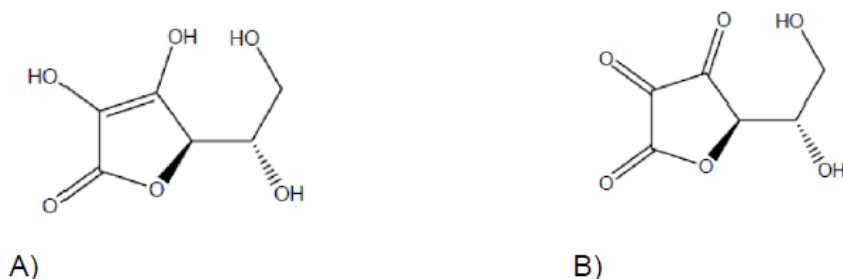


Figura 1 - Estrutura química dos ácidos *L*-ascórbico (A) e ácido *L*-deidroascórbico (B).

Fonte: Nogueira, 2011.

Como se observa na Figura 2 a estrutura química do ácido *L*-ascórbico (H_2A) possui a estrutura de um diol que é oxidado formando o ácido *L*-deidroascórbico (A_{ox}) (Fornaro e Coichev, 1998).

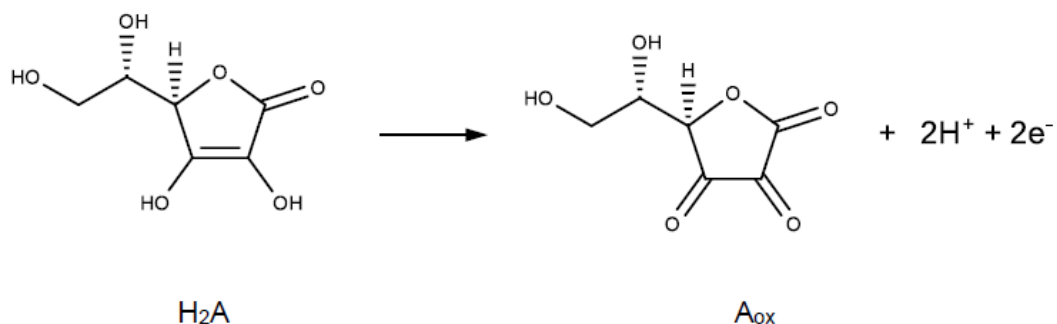


Figura 2 - Oxidação do ácido *L*-ascórbico em ácido *L*-deidroascórbico.

Na Figura 3, o anel 1,4 lactona estável deriva de açúcares (hexoses), onde se observa que o hidrogênio ligado à hidroxila no carbono 3 é mais ácido, com $pK_1 = 4,17$. A explicação para a acidez da vitamina C é justificada primeiramente devido à extensão da conjugação da carbonila presente no carbono 1, aumentando a característica ácida da hidroxila no carbono 3. A hidroxila no carbono 2 faz parte de um enol e sua acidez equivale a um $pK_a = 11,57$ (Nogueira, 2011).

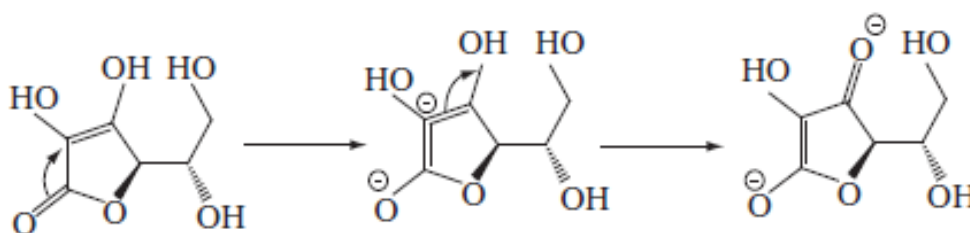


Figura 3 - Acidez das hidroxilas na molécula de ácido ascórbico.

Fonte: Rosa et al. 2007.

A Figura 4 mostra um mecanismo simplificado da oxidação do ácido ascórbico, em que a estrutura do ácido *L*-ascórbico se apresenta na forma estável de um enediol, no qual pode se converter em duas outras formas ceto instáveis, por meio de uma reação reversível.

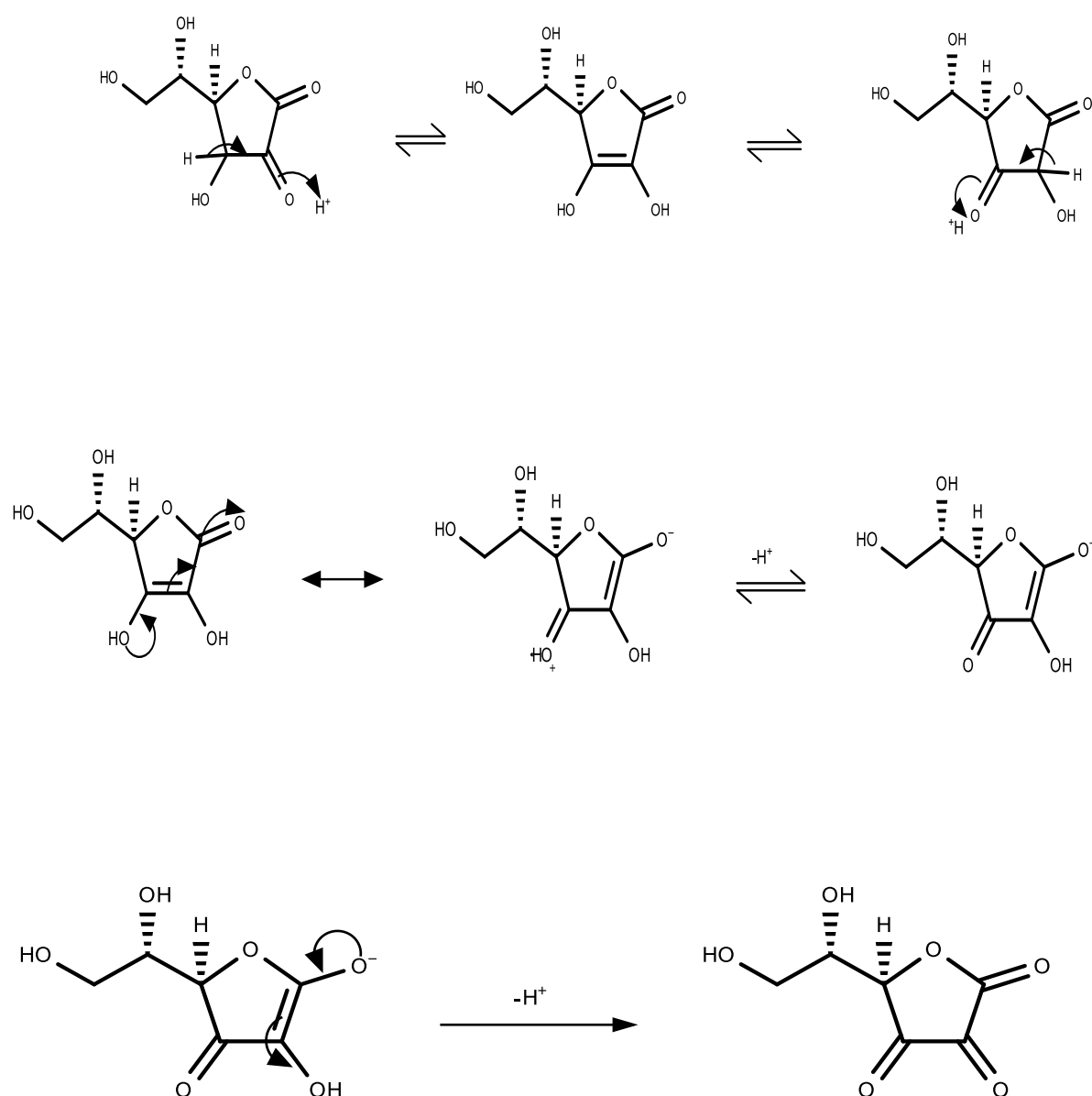


Figura 4 - Mecanismos de reação para a oxidação do ácido ascórbico.

Fonte: Clayden et al. 2000.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010) o ácido ascórbico apresenta fórmula $C_6H_8O_6$ e massa molecular de $176,13 \text{ g mol}^{-1}$. É descrito na forma de pó fino, cristalino branco, ou ligeiramente amarelado. No estado sólido é estável ao ar, mas em solução oxida-se rapidamente. Sua solução aquosa é

límpida. É facilmente solúvel em água, pouco solúvel em etanol e acetona, insolúvel em éter etílico, clorofórmio, éter de petróleo e benzeno. Em solução a 5% (p/v) apresenta pH de 2,2 a 2,5. Sua faixa de fusão é de 189° C a 192° C, com decomposição. Poder rotatório específico entre +20,5° e +21,5° determinado em solução a 10% (p/v) em água isenta de dióxido de carbono. Sua conservação deve ser feita em recipientes bem fechados, não metálicos. Ácido ascórbico comprimidos contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_8O_6$.

Aranha et al. (2000) expõe algumas propriedades físico-químicas do ácido ascórbico, como: solubilidade aquosa = 0,3 g/mL, ponto de fusão = 190-192°C, potencial redox $E^0 = 0,166V$ em pH 4,0, $pK_{a1} = 4,17$, $pK_{a2} = 11,57$, absorção máxima = 245 nm, em pH ácido, e 265 nm em pH neutro.

O ácido *L*-ascórbico apresenta boa relevância para sistemas bioquímicos, farmacológicos, eletroquímicos, processamento de alimentos e outros, sendo suas propriedades redox uma das características químicas de maior interesse (Fornaro e Coichev, 1998).

3.3 Vitamina C e sua atividade biológica

O ácido *L*-ascórbico (AA) é um dos antioxidantes *in vivo* mais importantes. A deficiência de vitamina C pode se manifestar dentro de semanas, e em 5 a 6 meses pode causar a morte. A importância do AA nos fluidos do corpo humano é reavaliada recentemente e pode desempenhar papéis mais importantes do que as pessoas pensavam. Estudos em curso têm reavaliado o papel de AA no tratamento de câncer, na prevenção e/ou tratamento de asma, rinite alérgica, dermatites atópica, doenças cardiovasculares, obesidade, doenças neurodegenerativas, hipertensão e doenças autoimunes (Bi et al. 2016).

De acordo com Attia (2016) o ácido ascórbico tem uma atividade antioxidante altamente eficaz diminuindo o estresse oxidativo. Além disso, a vitamina C não é utilizada apenas para prevenção e tratamento de escorbuto,

mas também para o tratamento de certas doenças respiratórias, tais como a rinite alérgica.

O AA é essencialmente ingerido na nossa alimentação diária para cumprir a exigência do corpo no desenvolvimento e manutenção dos tecidos, vasos sanguíneos e cartilagem. Além disso, o AA está envolvido diretamente na produção de uma série de outras pequenas biomoléculas tais como adenosina trifosfato (ATP), a dopamina, etc. Pacientes com escorbuto são incapazes de produzir colágeno, que é vital para a nova substituição de tecido. Uma quantidade excessiva de AA pode não ser nociva para nós, mas doses altas de AA a partir de suplementos pode resultar em quadros de diarreia, náusea, azia, etc (Fong et al. 2016).

O ácido ascórbico pode ser utilizado como aditivo alimentar, sendo usado principalmente na alimentação humana e animal para aumentar a estabilidade e a qualidade do produto. Assim, o ácido ascórbico é adicionado aos gêneros alimentícios para manter o seu aroma característico, nutrientes e outras propriedades durante o processamento. O ácido ascórbico se torna essencial para o crescimento, dentes saudáveis, gengivas, ossos, pele e vasos sanguíneos, auxiliando a absorção de ferro (Sarkar e Sinha, 2016).

Considerado um tipo de composto poli-hidroxi, o ácido L-ascórbico é um composto indispensável nos sistemas vivos, necessário para o metabolismo do ácido fólico e compostos minerais. Além de ser essencial para sintetizar colágeno que fornece a estrutura para os músculos, ossos e tendão. O papel mais proeminente do ácido L-ascórbico é o seu efeito estimulante imunológico para a defesa contra infecções, como resfriados comuns. Também atua como um inibidor de histamina liberada durante as reações alérgicas. Como um poderoso antioxidante, o ácido L-ascórbico pode neutralizar toxinas e poluentes. Tem capacidade para prevenir a formação de nitrosaminas potencialmente cancerígenas no estômago. O ácido L-ascórbico juntamente com zinco são importantes para cicatrização de feridas (Banipal et al. 2016).

3.4 Técnicas Eletroquímicas

3.4.1 Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica é considerada uma técnica eletroanalítica bastante empregada, e apesar de não ser utilizada com frequência na análise quantitativa, ela encontra ampla aplicabilidade no estudo de reações redox, na detecção de intermediários de reação e na observação e no acompanhamento de reações envolvendo produtos formados nos eletrodos. Na VC, em primeiro lugar a varredura de potencial é feita em uma direção e, em seguida, na outra, enquanto a corrente é medida. Um experimento envolvendo VC pode empregar um ciclo inteiro, um ciclo parcial ou ainda vários ciclos. Os parâmetros importantes em um voltamograma cíclico são o potencial de pico catódico, E_{pc} , (referente ao processo de redução), o potencial de pico anódico, E_{pa} , (referente ao processo de oxidação) a corrente de pico catódica, i_{pc} , e a corrente de pico anódica, i_{pa} (Skoog et al. 2006).

De acordo com Ticianelli e Gonzalez (2013) a voltametria cíclica é amplamente utilizada como critério e diagnóstico qualitativo dos processos que ocorrem na interface, assim, velocidade de varredura e os potenciais iniciais e finais são utilizados para identificar processos de oxidação, redução, e de adsorção/dessorção, e ainda determinar se esses processos ocorrem de forma reversível ou irreversível.

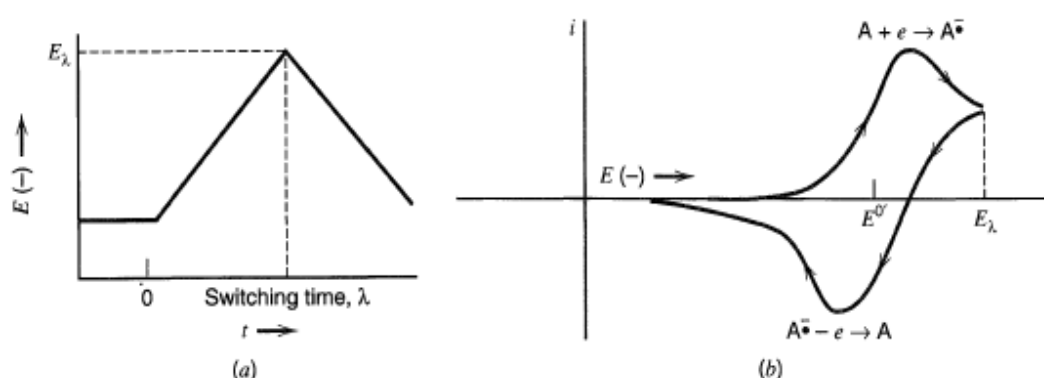


Figura 5 - Voltametria cíclica (a) Varredura de potencial cíclico. (b) Resultado de um voltamograma cíclico.

Fonte: Bard e Faulkner, 2001.

Em eletroquímica são conhecidos dois processos eletródicos, um deles é o reversível, isto é, quando a reação de transferência de carga é tão rápida que o eletrodo se encontra sempre em equilíbrio eletroquímico, sendo assim, o transporte de matéria conhecido como difusão é, geralmente, a etapa determinante da cinética do processo global. Por outro lado, um processo eletródico é considerado irreversível quando uma ou mais reações de transferência de carga determinam a velocidade do processo. Ainda existem os processos quase reversíveis, em que o transporte de matéria e a reação de transferência de carga apresentam velocidades comparáveis (Gonzalez e Stradiotto, 1982).

Em um processo irreversível a velocidade de transferência dos elétrons não mantém o equilíbrio das espécies eletroativas na superfície do eletrodo, produzindo um voltamograma cíclico sem a presença de pico na varredura reversa de potencial. Para sistemas irreversíveis, a corrente de pico catódica do voltamograma é dada pela equação 1 (Toledo, 2006):

$$I_{pc} = - 2,99 \times 10^5 n(\alpha_c n)^{1/2} A[O]_{\infty} D^{1/2} v^{1/2} \quad (1)$$

Em que n é o número de elétrons transferidos, α_c é o coeficiente de carga catódico, A é a área do eletrodo (cm^2), D é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), $[O]_{\infty}$ é a concentração da espécie eletroativa na forma oxidada no interior da solução (mol cm^{-3}) e v é a velocidade de varredura (V s^{-1}) (Toledo, 2006).

3.4.2 Voltametria de Onda Quadrada

Dentre as técnicas eletroquímicas conhecidas a voltametria de onda quadrada é uma técnica voltamétrica de pulso onde a forma do pico de corrente resultante é proveniente da sobreposição de pulsos de potencial de altura a (amplitude de pulsos), a uma escada de potenciais de largura DE_s (incremento de varredura de potenciais) e duração $2t$ (período). As medidas de corrente são feitas no final dos pulsos diretos e reversos e o sinal obtido, após derivação, é dado como uma intensidade da corrente resultante, Figura 6, de modo que a

técnica apresenta excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas (Souza et al. 2004).

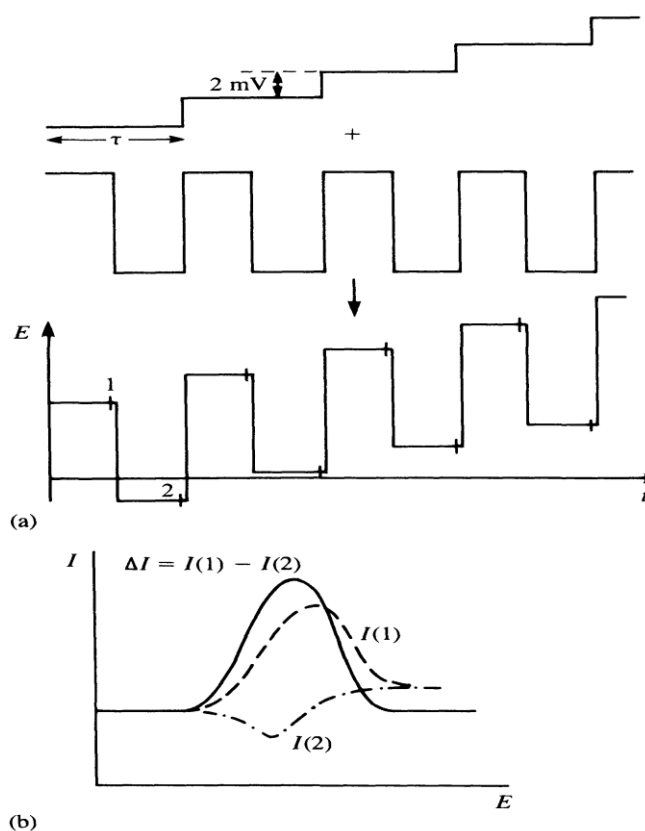


Figura 6 - Voltametria de onda quadrada. (a) Esquema da aplicação dos potenciais: soma de uma escada e uma onda quadrada. (b) Resposta típica: $E \sim 2 \text{ mV}$, $t_{\min} = 2 \text{ ms}$.

Fonte: Brett e Brett, 1993.

3.4.3 Voltametria de Pulso Diferencial

Na voltametria de pulso diferencial, pulsos de igual amplitude são aplicados sobre uma rampa linear de potencial, a corrente é medida antes do pulso ser aplicado e no final do pulso. Estas correntes são subtraídas, uma vez que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica e, então, graficadas contra o potencial da rampa linear, gerando um voltamograma de pulso diferencial, com a forma de uma curva gaussiana, conforme mostra a Figura 7 (Souza et al. 2003).

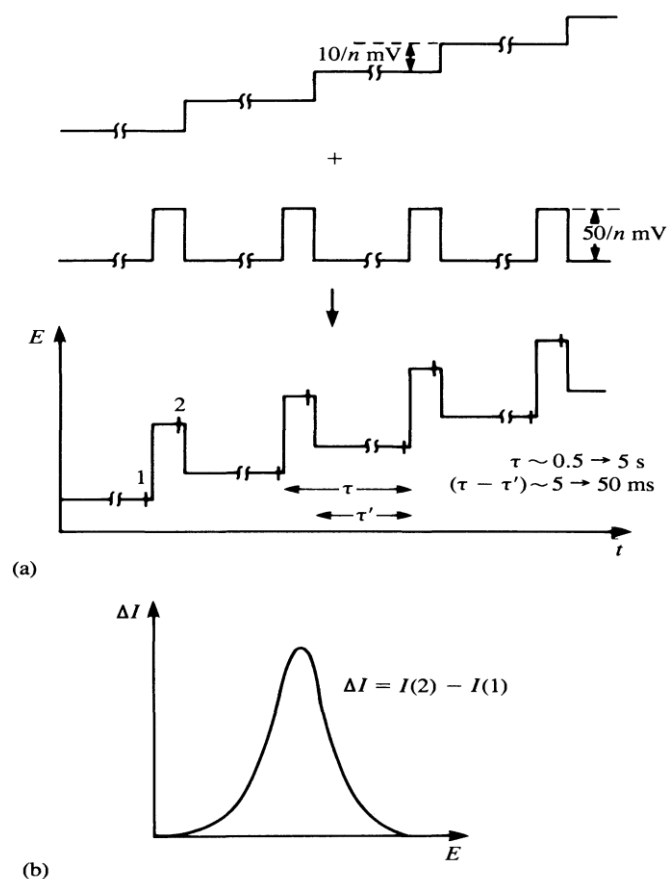


Figura 7 - Voltametria de pulso diferencial. (a) Esquema de aplicação do potencial. (b) Perfil esquemático $I \times E$.

Fonte: Brett e Brett, 1993.

3.5 Eletrodos Quimicamente Modificados

Atualmente é muito comum o uso do termo eletrodo quimicamente modificado (EQM), que foi primeiramente utilizado na década de 70 por Murray e colaboradores, para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas imobilizadas em suas superfícies, com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. O primeiro exemplo de uma modificação feita na superfície de um eletrodo foi o trabalho dos pesquisadores Lane e Hubbard (1973), nos quais adsorveram na superfície de eletrodos de platina várias olefinas funcionalizadas, explorando a propensão de grupos alceno quimisorverem-se sobre este metal (Souza, 1997).

Marzal (2000) apresenta um estudo comparativo entre o eletrodo de carbono vítreo e o eletrodo de carbono vítreo recoberto com membrana de

Nafion® para determinação seletiva de p-nitrofenol (pNF), mostrando que houve um aumento no limite de detecção de 14,86 para 17,08 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com a modificação do eletrodo.

Nas duas últimas décadas, os eletrodos quimicamente modificados têm despertado grande interesse no desenvolvimento de sensores devido a baixa corrente de fundo, amplo alcance da janela de potencial, superfície de fácil renovação, menor limite de detecção, baixa sensibilidade ao oxigênio dissolvido e baixo custo (Pereira et al. 2002).

Lowinsohn e Bertotti (2006) definem sensores amperométricos como dispositivos mantidos em potencial fixo e que propiciam sinais de corrente faradaica proporcionais à concentração do analito, em função de processos eletródicos que ocorrem na interface eletrodo/solução.

Silva et al. (2006) construiu um sensor amperométrico usando-se ácidos húmicos para imobilização de íons Fe^{3+} em eletrodo de pasta de carbono (CPE-HA-Fe), para determinação de ácido ascórbico, resultando em uma alta estabilidade do eletrodo. O voltamograma cíclico do eletrodo apresentou resposta eletroquímica devido ao par $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ a $E_{1/2} = +0.78 \text{ V vs ECS}$, em eletrólito suporte KCl 0,5 mol L^{-1} e tampão acetato 0,2 mol L^{-1} /fosfato 0,020 mol L^{-1} , a pH = 5,4.

É possível alterar a reatividade e seletividade do sensor base promovendo o desenvolvimento de eletrodos para várias finalidades e aplicações, que podem ir desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas até a transferência de elétrons em moléculas em estudo. A composição de um EQM envolve duas partes, que são o eletrodo base e uma camada do modificador químico (Nunes, 2007).

Castro et al. (2008) descreve que eletrodos de carbono vítreo modificados com hexacianoferrato de cobalto (CoHCFe) têm sido aplicados como sensores biológicos para a determinação de peróxido de hidrogênio, ácido ascórbico e glucose. Além disso, CoHCFe também apresentou atividade eletrocatalítica para a oxidação de dopamina, cujo comportamento eletroquímico tem sido bem relatado. Um sensor amperométrico para quantificar dopamina, na presença de ácido ascórbico, foi desenvolvido à base de filmes de hexacianoferrato de cobalto(II)-Nafion® (CoHCFe).

Métodos eletroanalíticos baseados em eletrodos modificados têm constituído um campo de pesquisa muito ativa durante décadas devido ao grande interesse na construção de sensores eletroquímicos e biossensores. Uma das principais estratégias para melhorar a troca de elétrons em sensores eletroquímicos e biossensores é projetar nova camada de detecção através da combinação de materiais altamente eletrocatalíticos com substâncias altamente condutoras (Xi et al. 2010).

Estudos foram realizados por Carvalho (2011) para determinação de ácido ascórbico, por voltametria cíclica, utilizando EQMs com FeHCF, CoHCF, NiHCF, imobilizados em pasta de carbono. As concentrações de AA variaram entre 1 mmol L⁻¹ e 10 mmol L⁻¹, o eletrólito usado foi KCl 0,1 mol L⁻¹.

Recentemente, muitos materiais, incluindo polímeros, complexos metálicos, óxido de metal e grafeno baseado em nanomateriais foram relatados para detectar eficazmente DA e AA. Entre estes materiais, óxido de grafeno tem atraído interesse significativo desde que foi produzido experimentalmente em 2004. Eletrodos modificados com polímeros têm crescente atenção na análise eletroquímica devido aos seus sítios mais ativos, excelente permeabilidade seletiva, boa estabilidade e forte aderência à superfície do eletrodo. Filme de Poli (L-lisina) (PLL) pode ser facilmente formado na superfície do eletrodo por eletropolimerização de L-lisina (Zhou et al. 2013).

Membranas semipermeáveis, como o filme de Nafion® e outras membranas poliméricas, têm sido usadas para modificar a superfície do substrato, pois uma das vantagens da utilização dessas membranas é a possibilidade de explorar o equilíbrio de troca iônica que se estabelece na interface polímero-solução durante a análise química utilizando técnicas voltamétricas (Liu et al. 2014).

Yang et al. (2014) aborda o preparo de nanopartículas bimetálicas cobalto-paládio dispersas em pó de carbono (CoPd/C) utilizadas para modificar um ECV construído para determinação de ácido ascórbico. Os resultados são efeitos sinérgicos, de modo que a atividade eletrocatalítica de ECV modificado mostra uma significativa melhora para a oxidação de AA em comparação com o paládio-carbono (Pd/C) e ECV não modificado.

Guo et al. (2015) também relata o uso da combinação de óxido de grafeno, nanopartículas de Ag e polímero PLL (GO-Ag/PLL/GCE) para modificar a superfície do eletrodo de carbono vítreo para determinação de DA na presença de AA.

Eletrodos de carbono vítreo modificados com nanotubos de carbono, eletrodos de grafite intercalados com nanotubos de carbono, eletrodos de grafite reforçado por carbono, e nanofibras de carbono foram utilizados para a determinação simultânea de dopamina, serotonina e ácido ascórbico (Guo et al. 2015).

Choukairi et al. (2015) destaca que o eletrodo de carbono sonogel modificado é uma nova classe de eletrodos modificados com excelentes propriedades mecânicas e elétricas e mostra estudos com eletrodo de carbono sonogel modificado com L-cisteína usado para a detecção e quantificação de AA por voltametria cíclica (VC) e para determinação da mistura de AA e AU por voltametria de onda quadrada (SWV), em comparação com o eletrodo de carbono sonogel sem modificação ele apresenta boa seletividade e sensibilidade para as medidas efetuadas.

Silva et al. (2015) explica que durante o desenvolvimento dos sensores eletroquímicos o tipo de modificação empregada na superfície eletródica tem como objetivo aumentar a taxa de transferência eletrônica, amplificar os sinais de corrente obtidos e/ou aumentar a seletividade do sensor, antecipando os processos faradaicos para potenciais mais próximos de zero e/ou impedindo a chegada de moléculas interferentes utilizando membranas apropriadas.

Granero et al. (2016) explica que vários tipos de eletrodos modificados têm sido desenvolvidos nos últimos anos para a determinação simultânea de AA, AU e DA, por exemplo, nanomateriais a base de carbono, metais nobres, óxidos metálicos, complexos metálicos e polímeros foram usados como modificadores de eletrodos eficazes para a determinação simultânea destes analitos. Recentemente, muitos materiais baseados em grafeno e seus derivados têm sido propostos para determinar AA, AU e DA. Óxido de grafeno (OGR) reduzido, um derivado de grafeno, é normalmente obtido por oxidação química de grafite e redução subsequente de óxido de grafeno (GO).

Arabali et al. (2016) modificou um eletrodo de pasta de carbono com nanopartículas/líquido iônico de CdO usado como sensor (CdO/NP/IL/CPE) para determinação de AA.

Um sensor eletroquímico a base de eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de óxido de níquel e nanopartículas de grafeno (NiO/GR) foi construído para detecção de ácido ascórbico, na presença de ácido fólico, usando voltametria de pulso diferencial (Kalambate et al. 2016).

Nanopartículas de cobre foram dispersas em filme de polianilina sobre um eletrodo de carbono vítreo (Cu-NPs/PANI/GCE) para determinação de AA por voltametria cíclica. O filme compósito Cu-NPs/PANI sobre a superfície de eletrodo de carbono vítreo mostrou boa reprodutibilidade e estabilidade (Tadayon et al. 2016).

3.6 Características e estrutura do Nafion®

O Nafion® é um polímero de troca iônica perfluorosulfonado, higroscópico, sendo encontrado comercialmente na forma de filmes ou em solução hidro alcóolica (5% m/m em álcoois de baixa massa molar com 10% de água). Apresenta propriedades excelentes, tais como estabilidade química, mecânica e térmica; seletividade a diferentes cátions e alta condutividade, sendo bastante adequado para a produção de filmes (Pinheiro e Raimundo Jr., 2005).

É caracterizado por ter massa elevada e um número baixo de sítios trocadores de íons interpostos entre longas cadeias orgânicas (Figura 8), sendo que a estrutura da cobertura solvatada apresenta uma parte hidrofóbica e uma parte hidrofílica, onde a zona hidrofóbica é responsável pela adsorção e estabilização das coberturas nos materiais hidrofóbicos dos eletrodos como carbono vítreo e grafite pirolítico (Fungaro e Brett, 2000).

Uma das vantagens do uso do Nafion é com relação ao controle da passagem de espécies carregadas no qual é efetuado devido à imobilização de filme contendo sítios aniônicos (sulfonato) dispostos de maneira estruturada no filme. Desta forma, o polímero depositado restringe eficazmente a passagem de ânions, mas é permeável a cátions e espécies eletricamente neutras (Lowinsohn e Bertotti, 2006).

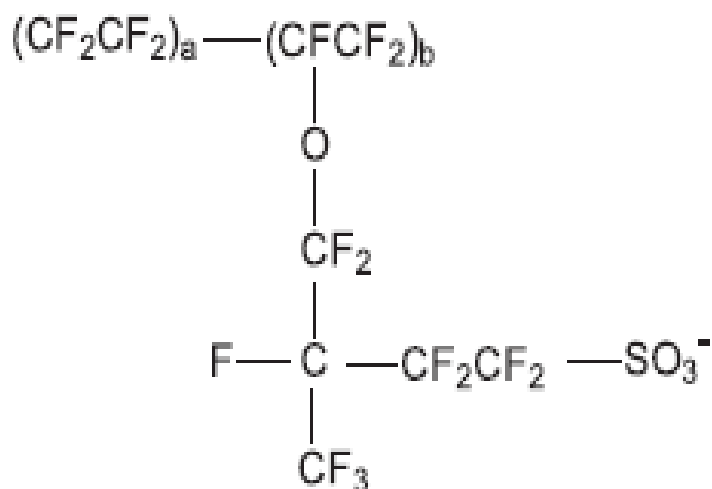


Figura 8 - Estrutura polimérica do Nafion.

Fonte: Pinheiro e Raimundo Jr. 2005.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Preparação da suspensão de carbono modificada com Nafion®

Para o preparo da suspensão de carbono foram pesados, em uma balança analítica Shimadzu, 5 mg de pó de carbono de alta área superficial Vulcan XC-72R® e misturados 100µL de Nafion® 5%, 1,4 mL de água Milli-Q e 1,0 mL de etanol padrão analítico marca Fluka. A mistura foi levada no ultrassom Sppencer scientific por 10 minutos. A concentração da suspensão preparada é de 2,0 mg/mL. A suspensão foi mantida na geladeira.

4.2 Célula eletroquímica utilizada nos experimentos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em célula de vidro contendo três eletrodos: eletrodo de trabalho composto pelo eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, eletrodo de referência Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹, rede de platina como contra eletrodo e como eletrólito foi utilizado uma solução de fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) 0,1 mol L⁻¹ da Vetec, ajustado em pH 5 em um pHmetro de bancada digital da marca ADAMO.

4.3 Eletrodo de trabalho: Eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®

Após o preparo da suspensão de carbono modificada com Nafion® foi depositado, utilizando um pipetador automático, 20 µL na superfície do eletrodo de carbono vítreo e levado para o dessecador a vácuo para a secagem até completa evaporação dos solventes.

4.4 Medições eletroquímicas: Voltametria cíclica (VC), Voltametria de Pulso Diferencial (DPV) e Voltametria de Onda Quadrada (SWV)

Os estudos de oxidação do ácido ascórbico padrão e dos comprimidos de Vitamina C foram feitos por meio das técnicas de VC, DPV e SWV. As leituras de VC foram realizadas em um Potenciostato MQPG-01 integrado ao programa Omnimetra PG39M16 3.1.5 16 bits e as leituras de SWV e DPV foram feitas no Potenciostato µAutolab integrado ao programa GPES, conectados à célula eletroquímica citada acima.

4.4.1 Preparação e análise de ácido ascórbico padrão

Foram realizados estudos com o ácido ascórbico padrão da marca Sigma Aldrich com 99% de pureza, preparado com água Milli-Q na concentração de 0,1 mol L⁻¹. Para isso, foram adicionadas sucessivas alíquotas de 100µL em 10 mL da solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, contida na célula eletroquímica e mantidos sob agitação magnética por aproximadamente 1 minuto.

Cada adição de 100 μL de AA foi seguida da leitura de um voltamograma cíclico. O objetivo da análise foi acompanhar o perfil da oxidação do AA à medida que sua concentração aumentava na célula eletroquímica.

Esse experimento foi realizado utilizando o eletrodo quimicamente modificado e o eletrodo de carbono vítreo de modo a comparar o perfil da oxidação do ácido ascórbico.

Foi feito um estudo do comportamento da oxidação do AA em tampão fosfato em diferentes pHs 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13, utilizando o EQM. A concentração de ácido ascórbico padrão usada nesse experimento foi de $0,009 \text{ mol L}^{-1}$.

As condições experimentais para a voltametria cíclica são: velocidade de varredura de $0,05 \text{ V s}^{-1}$, intervalo de potencial entre $-0,2 \text{ V}$ a $+1,2 \text{ V}$, escala de corrente de 5 mA .

Os experimentos com ácido ascórbico padrão também foram feitos por DPV e SWV. Para as análises de DPV os parâmetros usados foram: intervalo de potencial: $-0,2$ a $+1,2\text{V}$, amplitude de $0,55\text{V}$ e para as análises de SWV a frequência foi de 10 Hz e amplitude de $0,55\text{V}$ e intervalo de potencial: $-0,2$ a $+1,2\text{V}$.

As análises por SWV e DPV foram realizadas com adições de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 μL de ácido ascórbico padrão em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 5, com o eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®.

4.4.2 Preparação e análise de ácido ascórbico em comprimidos de vitamina C

Três marcas comerciais de comprimidos efervescentes de vitamina C foram usadas nas análises. Primeiramente, cada comprimido foi pesado e adicionado a um volume de tampão fosfato, em pH 5, para iniciar a solubilização, em seguida a solução foi transferida para um balão e completado o volume. O balão foi levado para o ultrassom até completa solubilização do comprimido.

As análises dos comprimidos foram feitas em três etapas: a primeira foi realizada a partir de uma solução estoque preparada com 100 mL de cada comprimido dos medicamentos A, B e C. Em seguida, foi realizadas adições da

solução estoque nos volumes de 500, 1000 e 1500 μL à 10 mL do tampão fosfato na célula eletroquímica, mantidos sob agitação magnética por aproximadamente 1 minuto e registrados os voltamogramas cíclicos em seguida.

A segunda etapa consistiu em preparar uma solução estoque de 50 mL dos comprimidos dos medicamentos A, B e C, e adicionar alíquotas da solução estoque nos correspondentes volumes de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 μL à 10mL de solução tampão fosfato, mantidos sob agitação magnética por aproximadamente 1 minuto, em seguida foram registrados os voltamogramas cíclicos.

Na última etapa foram feitas leituras diretas na célula eletroquímica na solução estoque de 50 mL contendo os comprimidos dos medicamentos A, B e C. Não houve diluição.

A segunda etapa também foi realizada seguindo o mesmo procedimento por meio das técnicas de DPV e SWV.

4.5 Preparação de ácido ascórbico e ácido cítrico padrão

Foram preparadas duas soluções de ácido cítrico e ácido ascórbico, ambos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O experimento pretendia avaliar a possível interferência do ácido cítrico na oxidação do ácido ascórbico.

Primeiramente, foram feitas 5 adições de 100, 200, 300, 400 e 500 μL de AA à 10mL de tampão fosfato, pH 5, seguidas de 10 adições de AC de 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 e 1000 μL . Os voltamogramas cíclicos foram registrados a uma velocidade de varredura de $0,05 \text{ V s}^{-1}$ e escala de corrente de 5 mA. Após cada adição a solução da célula eletroquímica foi mantida sob agitação magnética e efetuada a leitura por VC.

4.6 Preparação do ácido ascórbico padrão para o estudo da velocidade de varredura

Uma solução de ácido ascórbico padrão $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada e adicionado um volume de $200 \text{ }\mu\text{L}$ à célula eletroquímica contendo 10 mL do tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 5, mantidos sob agitação por 20 segundos. Em seguida foram feitos os registros por voltametria cíclica usando o eletrodo modificado com Nafion®, variando a velocidade de varredura em 10, 30, 50, 70, 100, 130, 150, 170, 200, 250 e 300 mV s^{-1} .

4.7 Preparação do ácido ascórbico padrão armazenamento ao longo do tempo

Esse experimento foi realizado a partir de 50 mL de uma solução de ácido ascórbico padrão preparada a $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e armazenada em balão volumétrico fechado. O balão foi mantido à temperatura ambiente e em contato com a luz em maior parte do tempo, durante 16 dias.

As análises foram feitas em 50 mL da solução, devidamente transferida para a célula eletroquímica, registradas por voltametria cíclica. O eletrodo usado foi o de carbono vítreo. E as condições foram: velocidade de varredura de $0,05 \text{ V s}^{-1}$, intervalo de potencial entre $-0,2 \text{ V}$ a $+1,2 \text{ V}$, escala de corrente de 5 mA .

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Perfil do eletrodo de trabalho usado nos experimentos

Antes de iniciar os estudos da oxidação do ácido ascórbico em solução, foi realizado um experimento com o eletrodo modificado somente no eletrólito suporte, sem a presença do ácido ascórbico. A Figura 9 apresenta o voltamograma cíclico da solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, em pH 5, usando o eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Observa-se na Figura 9 que o

voltamograma não apresenta região característica que possa identificar um processo redox, normalmente composto de picos, os quais indicam a transferência de elétrons, apresentando, portanto, apenas o perfil do eletrodo de trabalho.

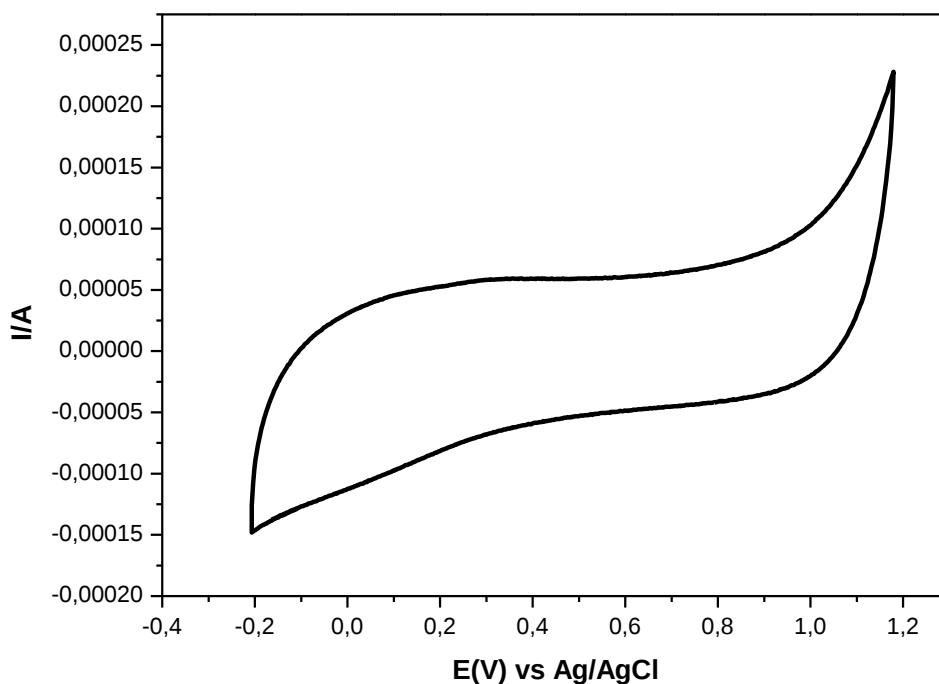


Figura 9 - Voltamograma cíclico do eletrodo de trabalho modificado com Nafion® em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5; Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

5.2 Comparação entre o perfil do eletrodo de trabalho e o perfil da oxidação de ácido ascórbico

Na Figura 10 foi possível comparar o voltamograma obtido ao adicionar 2,91 mmol L⁻¹ de AA com o perfil do eletrodo de trabalho em tampão fosfato, pH 5. A diferença entre os dois voltamogramas é notada pelo aumento da corrente de pico anódica de $1,76 \times 10^{-4}$ A devido a oxidação do ácido ascórbico.

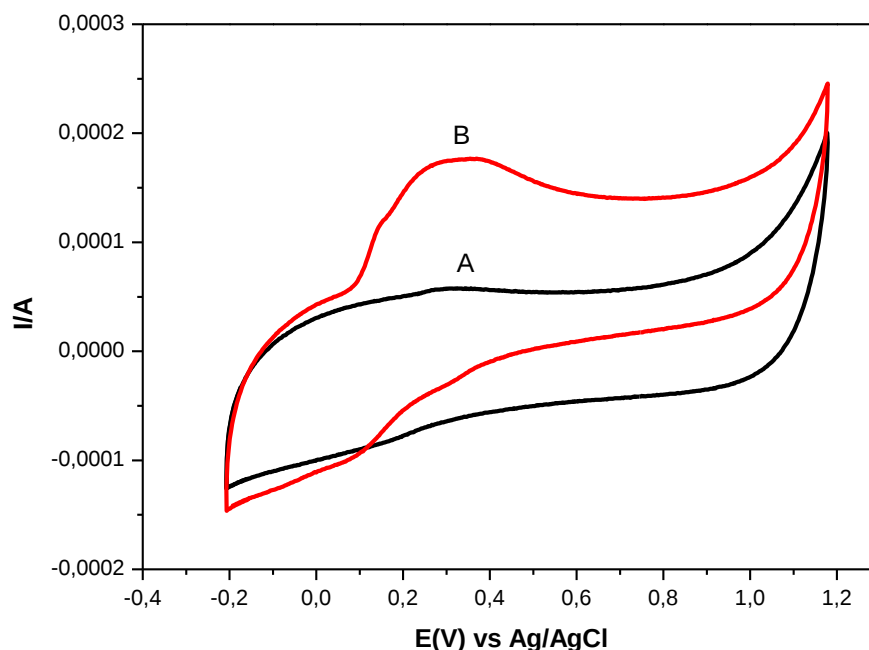


Figura 10 - Voltamograma cíclico usando o eletrodo de trabalho modificado com Nafion® na ausência de ácido ascórbico (A) e na presença de $2,91 \text{ mmol L}^{-1}$ de ácido ascórbico (B); Velocidade de varredura $0,05 \text{ V s}^{-1}$.

5.3 Perfil da oxidação do ácido ascórbico: eletrodo de carbono vítreo x eletrodo quimicamente modificado

Foi realizado também um experimento para verificar o efeito da modificação do eletrodo. Neste caso foram realizados experimentos de voltametria cíclica com o eletrodo de carbono vítreo sem modificações, e com o eletrodo modificado.

O perfil da oxidação de ácido ascórbico pode ser observado na Figura 11 pelos voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de carbono vítreo e para o eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®. No voltamograma usando o ECV observa-se que a corrente de pico anódica obtida em 9 mmol L^{-1} de AA é de $3,81 \times 10^{-4} \text{ A}$ e o potencial de oxidação de $0,53 \text{ V}$ e no EQM a corrente de pico é de $5,2 \times 10^{-4} \text{ A}$ e o potencial de oxidação de $0,41 \text{ V}$.

Esse aumento de corrente se deve ao aumento na taxa de transferência eletrônica devido a modificação da superfície do eletrodo evidenciada pela amplificação do sinal de corrente obtido.

Os resultados justificam o uso do eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, pois este promove um aumento na sensibilidade da técnica, constatada pelo aumento da corrente de pico anódica e a oxidação em um faixa de potencial menor, o que elimina a possibilidade de interferentes na análise.

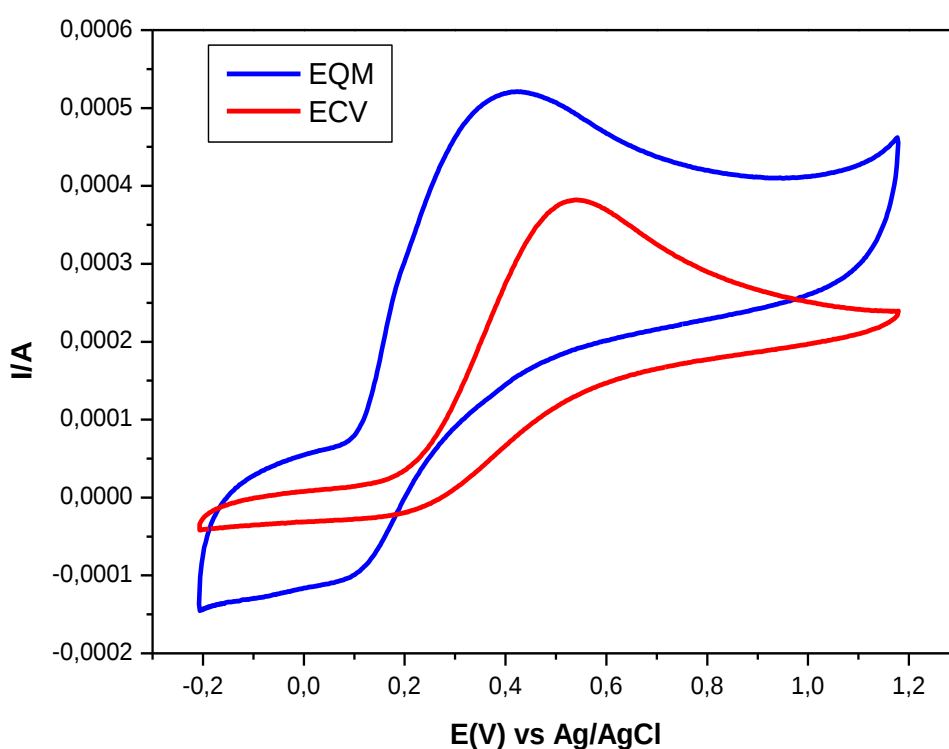


Figura 11 - Voltamograma cíclico de 9 mmol L⁻¹ de ácido ascórbico padrão em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, em eletrodo de carbono vítreo (ECV) e em eletrodo quimicamente modificado (EQM). Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

5.4 Perfil dos voltamogramas cíclicos da oxidação do ácido ascórbico padrão

Nas análises de ácido ascórbico padrão foram adicionadas 10 alíquotas de 100 µL de ácido ascórbico à 10 mL de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, na célula eletroquímica usando o eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. As concentrações de ácido ascórbico padrão determinadas após sua adição na célula eletroquímica são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentrações de ácido ascórbico padrão

Volume de AA adicionado - µL	Concentração de AA - mmol L⁻¹
100	0,9
200	1,96
300	2,91
400	3,84
500	4,76
600	5,66
700	6,54
800	7,40
900	8,25
1000	9,0

O que se observa na Figura 12 é que à medida que a concentração de ácido ascórbico aumenta na célula eletroquímica a corrente faradaica aumenta, conhecido como corrente anódica, observa-se também que há uma variação do potencial de pico de oxidação entre 0,3 e 0,5V.

Analisando o sentido reverso do voltamograma verifica-se que não ocorre nenhuma mudança, o que indica a irreversibilidade do sistema, já que ocorrem apenas reações de oxidação do ácido ascórbico.

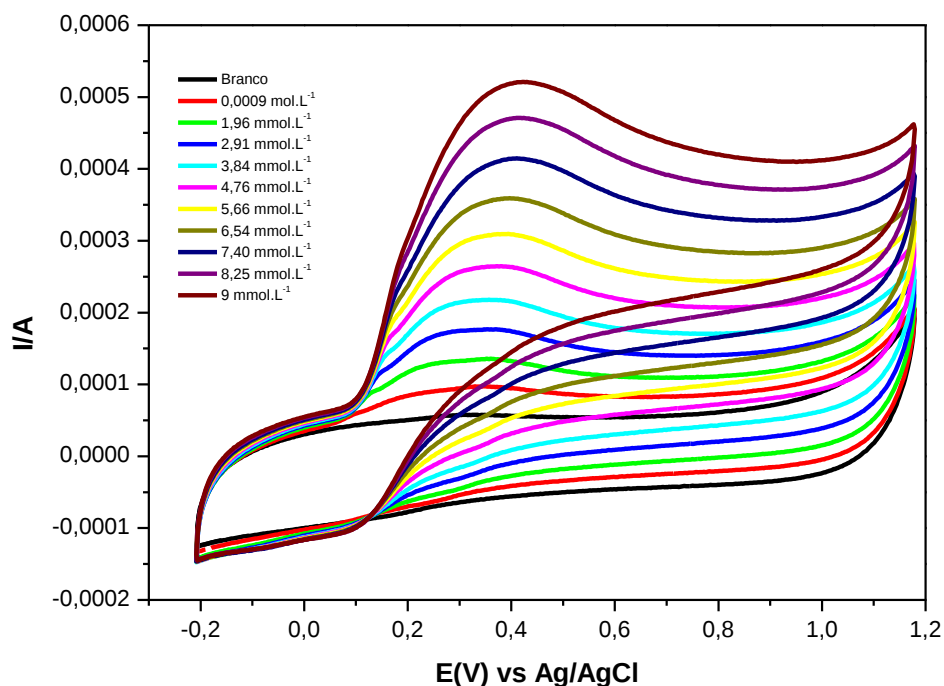


Figura 12 - Voltamogramas cíclicos de ácido ascórbico padrão em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, variando as concentrações de 0,0009 mol L⁻¹ a 9,0 mmol L⁻¹, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

5.5 Perfil dos voltamogramas cíclicos da oxidação do ácido ascórbico com a variação do pH

A Figura 13 mostra os resultados dos experimentos realizados variando o pH da solução tampão fosfato. Os voltamogramas cíclicos obtidos mostram a variação da corrente de pico anódica com a adição de 9 mmol L⁻¹ de ácido ascórbico padrão ao tampão fosfato, nos respectivos pHs: 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13.

O que se observa é que nos pHs 1, 3 e 5 foi registrado maior corrente de pico anódica e um potencial de pico de 0,63 V. Esse melhor resultado se deve à presença dos hidrogênios ionizáveis na estrutura da molécula de ácido ascórbico.

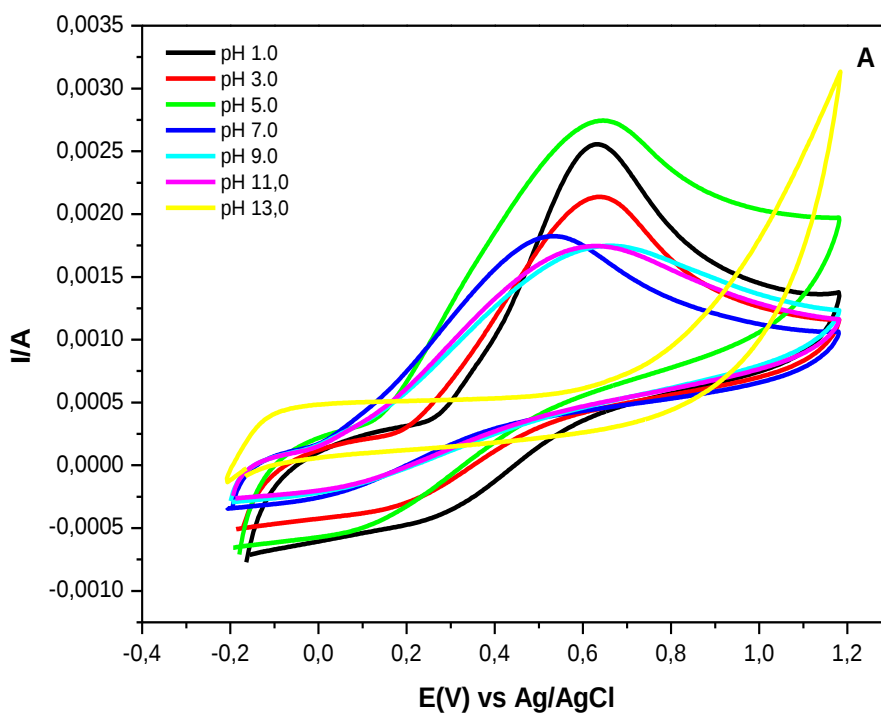
A partir de pH 7 observa-se um decréscimo da corrente de pico, e em pH 13 não se observa característica de oxidação de ácido ascórbico, indicando que

esse pH é inviável para sua oxidação, já que provavelmente não há mais hidrogênios ionizáveis presentes na molécula.

Rathinaraj et al. (2014) analisou a presença de AA em frutos de acerola usando eletrodo de pasta de carbono em tampão fosfato, pH 5, por SWV e DPV. Xi et al. (2010), por exemplo, estudou o comportamento eletrocatalítico do filme Cu-NPs/PANI para a oxidação do ácido ascórbico em soluções tampão fosfato em pH 9,0.

Sendo assim, o pH dos eletrólitos nas análises de AA pode variar dependendo do material que está sendo usado como modificador do eletrodo.

Uma vez que os experimentos apresentaram melhor sinal de corrente em pH 5, os experimentos foram realizados nesse pH.



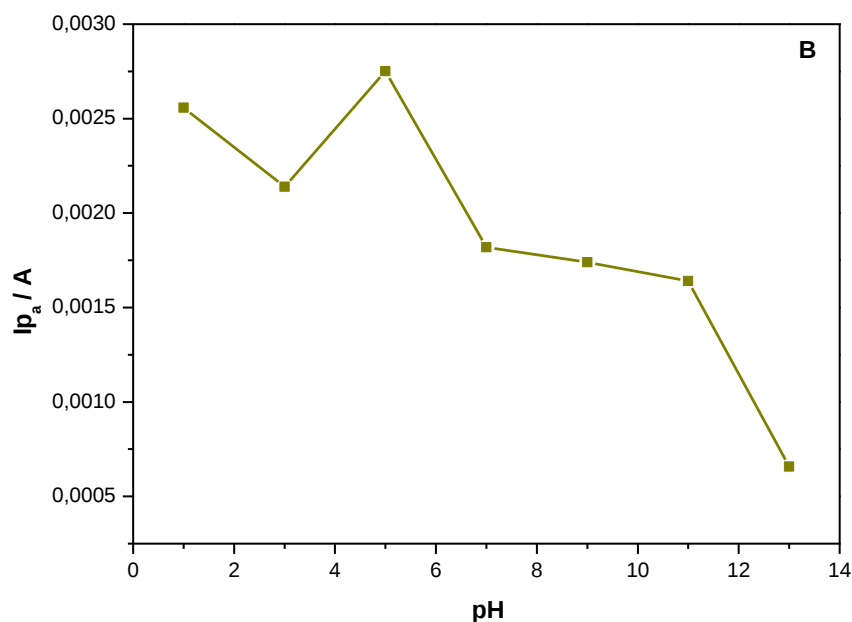


Figura 13 - Voltamogramas cíclicos obtidos com o EQM a 9 mmol L^{-1} de ácido ascórbico padrão, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, variando os pHs em 1, 3, 5, 7, 9, 11 e 13 (A); comportamento da corrente de pico com a variação dos pHs (B).

5.6 Determinação de ácido ascórbico em solução

Realizadas as análises com o ácido ascórbico padrão foi possível construir um gráfico da corrente (I) em função da concentração como mostra a Figura 14. Esse gráfico evidencia a linearidade da corrente (I) em função da concentração de ácido ascórbico (mol L^{-1}).

Com esses dados é possível realizar um ajuste linear gerando uma função, cuja expressão é $y = a + bx$, onde os termos a e b representam o coeficiente linear da reta e o coeficiente angular, respectivamente.

Através do ajuste dos pontos experimentais encontrou-se os valores de $a = 3,13504 \times 10^{-5}$ e $b = 0,05158$. Uma vez construída a curva analítica para o ácido ascórbico padrão é possível com os dados obtidos na equação da reta determinar a concentração de ácido ascórbico em amostras de comprimidos de vitamina C, estudadas por voltametria cíclica.

Essa curva foi expressa por um coeficiente de correlação $R = 0,9956$, ou seja, quanto mais próximo ele for de 1, melhor mostrará a faixa de linearidade do sistema. Outra informação que pode ser determinada a partir da curva analítica é o limite de detecção (LD), ou seja, é a menor concentração que pode ser medida com certo nível de confiança (Skoog et al. 2006). Para o cálculo do limite de detecção é usada a equação 2:

$$LD = \frac{kS_b}{m} \quad (2)$$

Em que:

k é um fator de confiança, é escolhido entre 2 ou 3; $k = 2$ (92,1%) e $k = 3$ (98%);

S_b é o desvio padrão do branco;

m é a sensibilidade da calibração - é a inclinação da curva analítica.

O LD determinado foi de $8,92 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Esse LD está abaixo da concentração de ácido ascórbico na primeira adição feita que é de $9,90 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

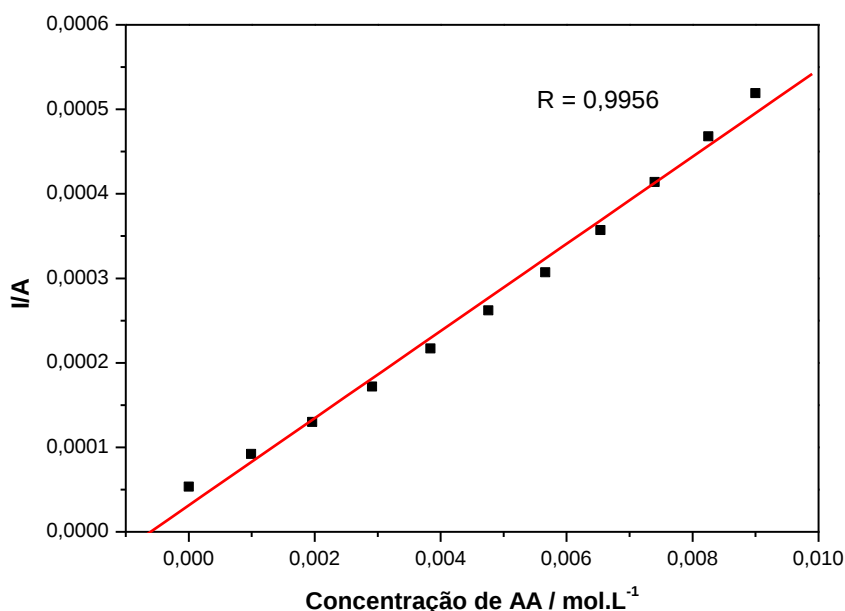


Figura 14 - Curva analítica do ácido ascórbico padrão em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5.

5.7 Perfil da oxidação do ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C

Diante dos resultados obtidos para o ácido ascórbico padrão prosseguiu-se para a análise dos comprimidos de vitamina C. Três marcas comerciais de vitamina C, na forma de comprimidos efervescentes, foram compradas em farmácias locais. Os nomes dos comprimidos não serão divulgados uma vez que esse experimento foi realizado para avaliar a técnica de detecção e não para avaliar o teor ou o controle de qualidade dos comprimidos utilizados.

A bula descreve que cada comprimido efervescente contém 1g de ácido ascórbico, além dos excipientes, tais como ácido adípico, ácido cítrico, amarelo crepúsculo, aroma de laranja, bicarbonato de sódio, silicona, sacarina sódica diidratada, sacarose, etc. Os comprimidos são redondos, alaranjados, com superfície plana nos dois lados. De acordo com Balbani et al. (2006) os excipientes – conhecidos como ingredientes inativos - são substâncias destituídas de poder terapêutico, usadas para assegurar a estabilidade e as propriedades físico-químicas e organolépticas dos produtos farmacêuticos.

Para serem preservados os nomes das marcas comerciais utilizadas nesta análise os medicamentos serão denominados de Medicamento A, Medicamento B e Medicamento C.

A primeira análise foi feita a partir de uma solução de 100 mL preparada com um comprimido de vitamina C de cada medicamento. A concentração de AA nessa solução é $0,056 \text{ mol L}^{-1}$.

Esse experimento foi feito para determinar a massa de ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C, a partir dos dados obtidos na curva analítica do ácido ascórbico padrão mostrada anteriormente, usando a função $y = 3,13504 \times 10^{-5} + 0,05158x$.

O valor da corrente de pico anódica é representada por y e pode ser obtida nos voltamogramas cíclicos mostrados nas Figuras 15, 16 e 17. Em seguida é determinado o valor de x, que representa a concentração de AA no comprimido de vitamina C. Com os valores das concentrações determina-se os valores da massa de AA nos comprimidos, conforme mostram os dados da Tabela 2.

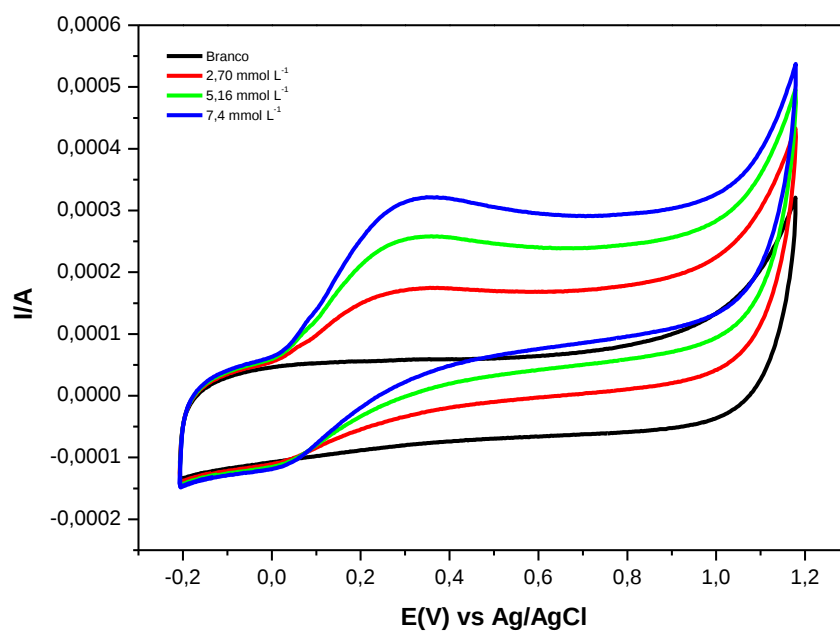


Figura 15 - Voltamogramas cíclicos do Medicamento A em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 2,7; 5,16 e 7,4 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

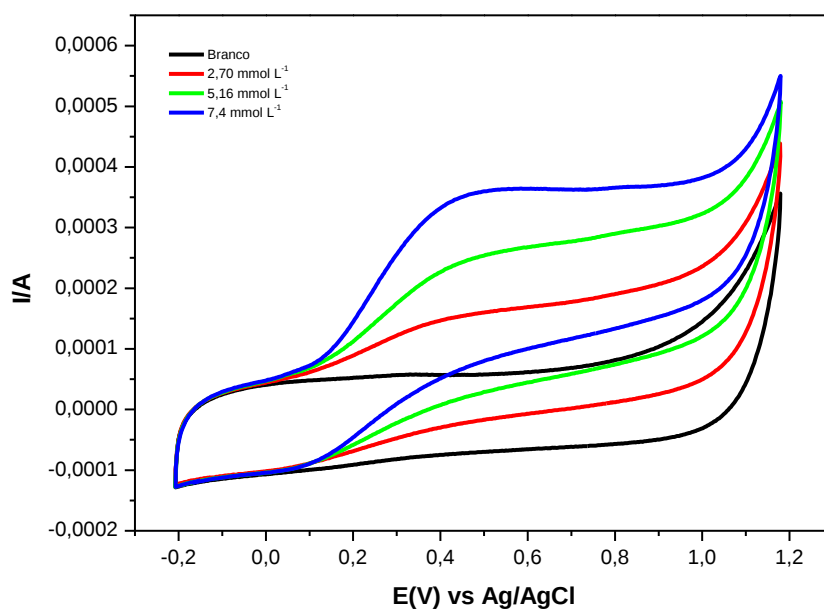


Figura 16 - Voltamogramas cíclicos do Medicamento B em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 2,7; 5,16 e 7,4 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

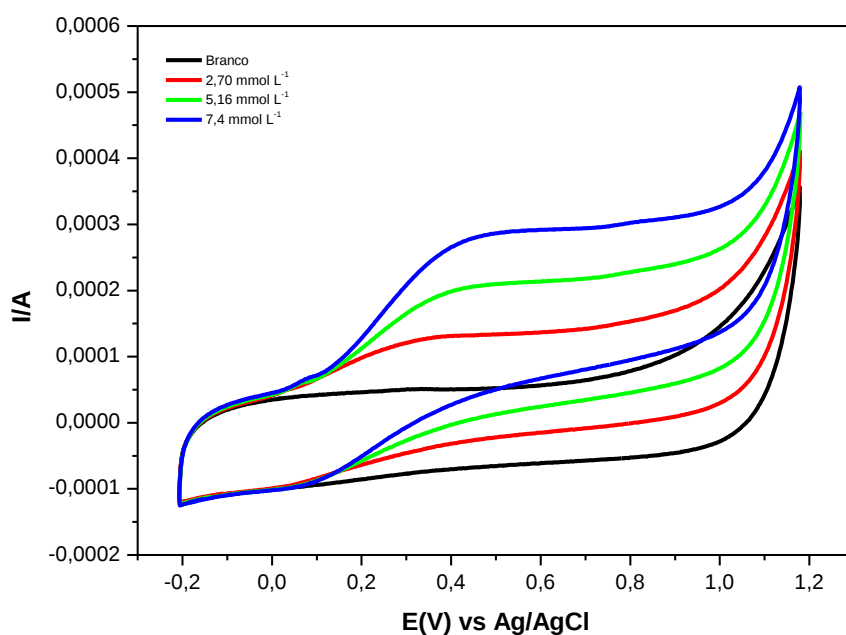


Figura 17 - Voltamogramas cíclicos do Medicamento C em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 2,7; 5,16 e 7,4 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

Tabela 2 - Dados resultantes da oxidação de ácido ascórbico nos medicamentos analisados.

Medicamento	Massa de AA no comprimido vitamina C	Massa do comprimido vitamina C pesada	Corrente de pico anódica (y)	Concentração de AA no comprimido (x)	Massa determinada de AA
A	1g	3,9790 g	3,45x10 ⁻⁴ A	6,08 mmol L ⁻¹	0,931g
B	1g	3,6852 g	3,69x10 ⁻⁴ A	6,54 mmol L ⁻¹	1,001g
C	1g	3,7180 g	3,63x10 ⁻⁴ A	6,43 mmol L ⁻¹	0,984g

As concentrações obtidas a partir dos dados da função $y = 3,13504 \times 10^{-5} + 0,05158x$ estão no intervalo da linearidade da curva analítica, demonstrando que os resultados estão coerentes com o esperado.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010) o ácido ascórbico comprimidos contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_6H_8O_6$, de modo que as massas determinadas de ácido ascórbico nesse experimento estão dentro dessa porcentagem, embora neste trabalho esse resultado não seja usado como parâmetro para controle de qualidade.

Com essa informação é possível determinar o erro relativo (E_r) das medidas das massas usando a equação 3:

$$E_r = \frac{x_i - x_v}{x_v} \times 100\% \quad (3)$$

Em que:

x_i = valor medido e x_v = valor verdadeiro

Tabela 3 – Erro relativo das massas de ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C.

Erro Relativo	
Medicamento A	- 6,9 %
Medicamento B	0 %
Medicamento C	- 1,6 %

Um outro experimento foi realizado a partir do preparo de 50 mL de solução do comprimido de vitamina C dos medicamentos A, B e C. A concentração de AA na solução preparada é de $0,113 \text{ mol L}^{-1}$. Nesse experimento a concentração de AA é o dobro da concentração de AA do experimento anterior.

Ao adicionar os volumes da solução contendo os medicamentos ao tampão fosfato, na célula eletroquímica, e feitas as leituras dos voltamogramas cíclicos observa-se que há um aumento na corrente de pico anódica a cada adição, resultante da oxidação de maior número de moléculas de ácido ascórbico na superfície do eletrodo, um comportamento esperado para as análises que

preveem a oxidação do ácido ascórbico, uma vez que sua concentração esteja aumentando.

Na adição de 2000 μL a concentração de ácido ascórbico é de 18,9 mmol L^{-1} nos três medicamentos. No medicamento A a corrente de pico anódica equivale a 1,45 mA, conforme mostra a Figura 16.

Os Medicamentos B e C também apresentaram comportamento semelhante, de modo que a corrente de pico anódica do Medicamento B, na concentração de 18,9 mmol L^{-1} é de 1,46 mA, e no Medicamento C é de 1,51 mA, mostrados nas Figuras 17 e 18, respectivamente.

Como a concentração teórica de ácido ascórbico em solução é a mesma nos três comprimidos é de se esperar que o perfil da sua oxidação fosse semelhante.

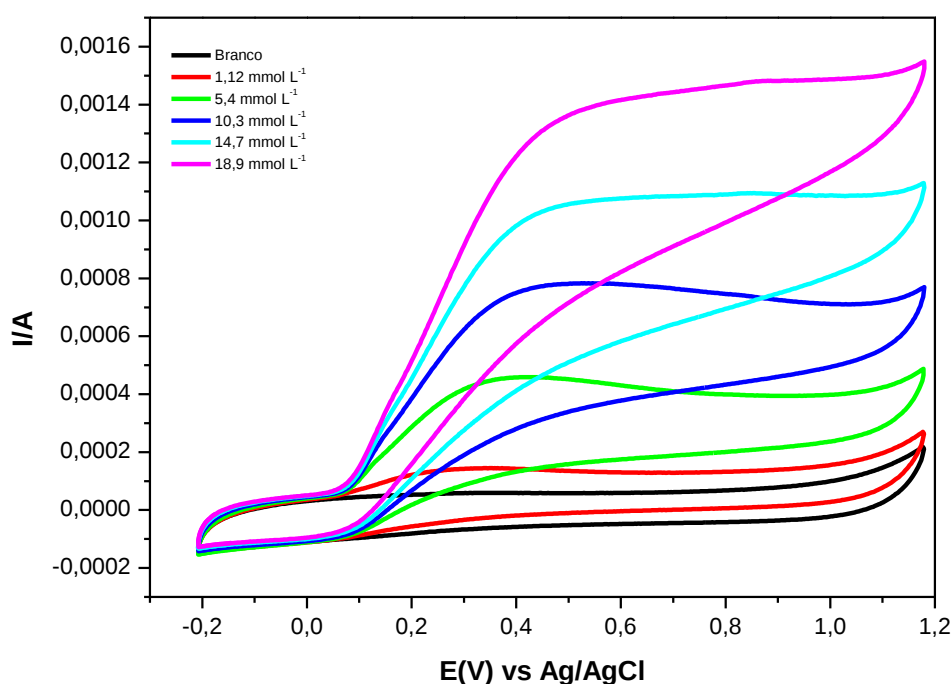


Figura 18 - Voltamogramas cíclicos do Medicamento A em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} , pH 5, nas concentrações de 1,12; 5,4; 10,3; 14,7 e 18,9 mmol L^{-1} de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s^{-1} .

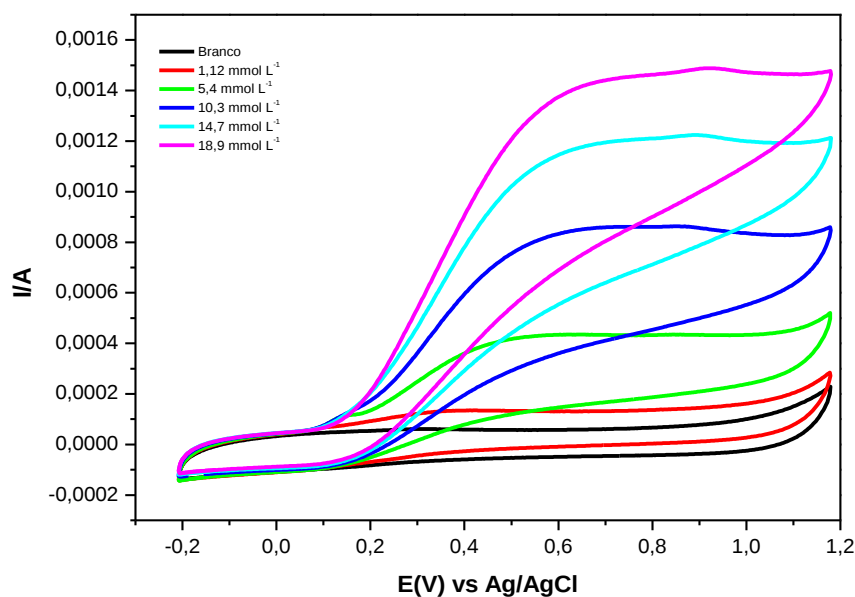


Figura 19 - Voltamogramas cíclicos do Medicamento B em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 1,12; 5,4; 10,3; 14,7 e 18,9 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

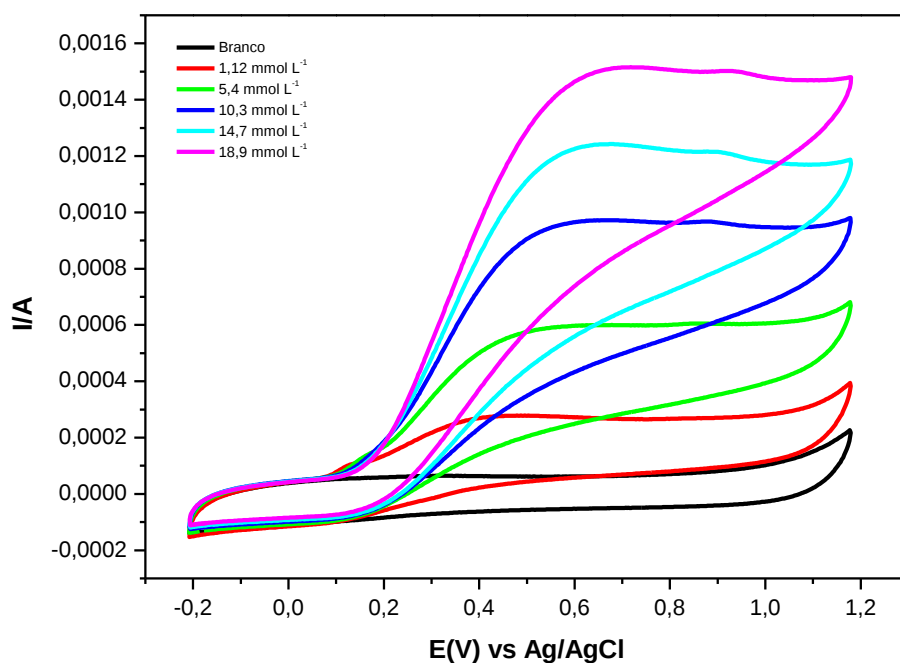


Figura 20 - Voltamogramas cíclicos do Medicamento C em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, nas concentrações de 1,12; 5,4; 10,3; 14,7 e 18,9 mmol L⁻¹ de AA, utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

O próximo experimento também foi realizado com soluções preparadas a partir de comprimidos de vitamina C, das três marcas adquiridas. A proposta foi mostrar na Figura 21 o perfil dos voltamogramas cíclicos dos medicamentos A, B e C, ao fazer a leitura direta na célula eletroquímica de 50 mL preparados da solução na concentração $0,113 \text{ mol L}^{-1}$, usando o eletrodo de trabalho modificado com Nafion®.

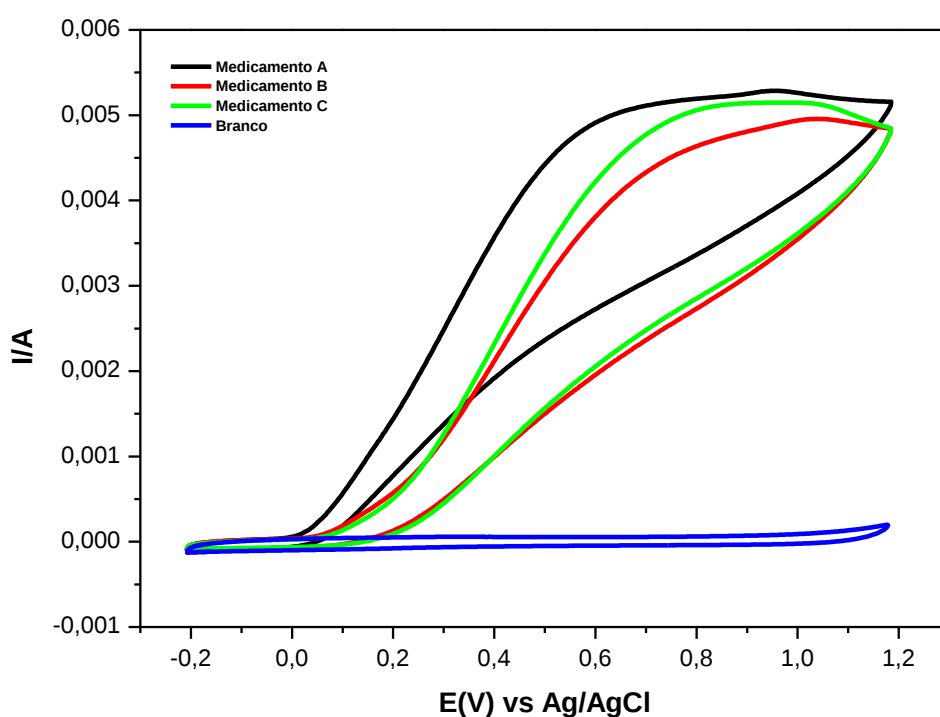


Figura 21 - Voltamogramas cíclicos em $0,113 \text{ mol L}^{-1}$ de solução dos Medicamentos A, B e C utilizando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura $0,05 \text{ V s}^{-1}$.

Apesar de se obter valores mais altos de corrente de pico (aproximadamente 5 mA) em relação aos outros experimentos realizados, observa-se que o perfil do voltamograma cíclico do AA no comprimido de vitamina C (Figura 22) vai se diferenciando em relação ao voltamograma cíclico do AA padrão.

Em concentrações mais próximas do padrão verifica-se a semelhança entre os VC, já em concentrações maiores o perfil da oxidação tende a se distanciar, isso sugere que em concentrações mais elevadas pode ocorrer uma saturação da superfície do eletrodo de trabalho.

Sendo assim, o aumento da quantidade de AA em solução resulta em um aumento da densidade de corrente.

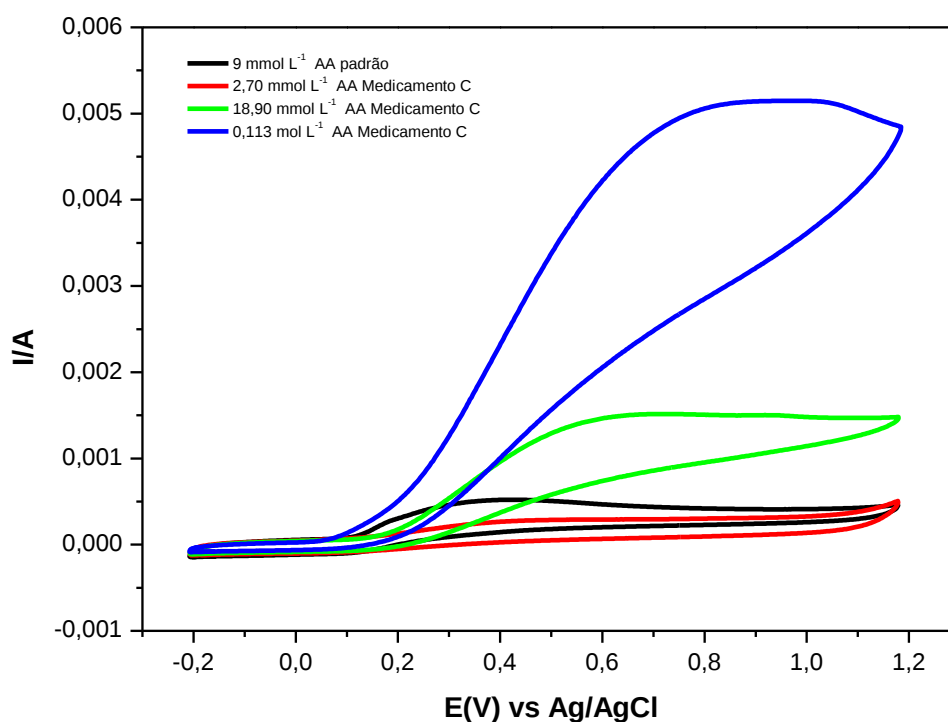


Figura 22 - Voltamogramas cíclicos mostrando o perfil da oxidação de AA no Medicamento C com o aumento da concentração em relação ao AA padrão, usando eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

5.8 Investigando a interferência de ácido cítrico na oxidação de ácido ascórbico

O ácido cítrico faz parte da composição dos comprimidos de vitamina C, como um excipiente, de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010) sua classe terapêutica é descrita como um acidulante, mas também pode ser considerado uma substância antioxidante, assim como o ácido ascórbico.

Para testar sua atividade eletroquímica, como um possível interferente, foi feito um experimento a partir de adições sucessivas de ácido ascórbico padrão e ácido cítrico padrão, ambos a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para identificar até que ponto o ácido cítrico pode ser um interferente.

Primeiramente, foram feitas 5 adições de $100 \text{ }\mu\text{L}$ de AA, com concentrações finais entre $9,9 \times 10^{-4}$ a $4,76 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, à 10 mL de tampão fosfato, pH 5, seguidas de 10 adições de $100 \text{ }\mu\text{L}$ de AC, com concentrações entre $9,43 \times 10^{-4}$ a $8,69 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, registrados os voltamogramas na Figura 23.

Analisando individualmente os voltamogramas podemos afirmar que até a concentração de $4,76 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de AA houve um aumento de corrente significativo de $6,02 \times 10^{-4} \text{ A}$, após iniciar a adição de AC a corrente variou de $4,9 \times 10^{-4}$ a $6,04 \times 10^{-4} \text{ A}$ com uma concentração máxima de AC de $8,69 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Esses resultados sugerem que apenas o AA contribuiu para o aumento da corrente, sendo assim, o ácido cítrico não pode ser considerado um interferente nessas condições.

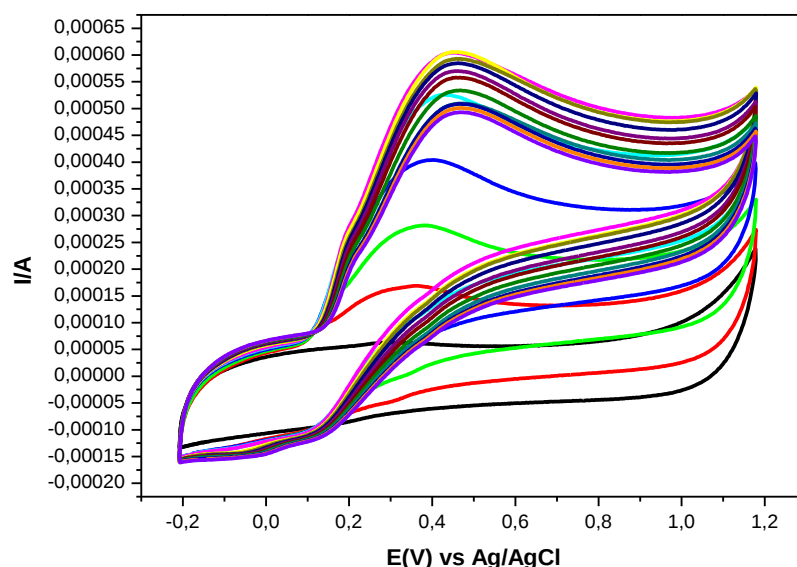


Figura 23 - Voltamogramas cíclicos a partir de adições de AA e AC padrão em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidade de varredura 0,05 V s⁻¹.

5.9 Efeito da velocidade de varredura na oxidação do ácido ascórbico

Esse estudo pretende verificar se as reações de oxidação do ácido ascórbico, que ocorrem na superfície do eletrodo, acontecem por processos de difusão ou adsorção. Para isso foram feitas voltametrias cíclicas em 1,96 mmol L⁻¹ de AA padrão com velocidades de varredura de potencial de 10, 30, 50, 70, 100, 130, 150, 170, 200, 250 e 300 mV s⁻¹, conforme mostra a Figura 24.

Observando-se os voltamogramas cíclicos verifica-se que o potencial de oxidação se desloca para valores mais positivos, acima de 0,2 V, e ocorre um aumento da corrente de pico anódica à medida que as velocidades de varreduras aumentam, porém, os picos de oxidação se apresentam poucos definidos com o aumento das velocidades de varreduras.

Sendo assim, os voltamogramas cíclicos obtidos em velocidades de varreduras menores apresentam melhor definição e por isso sua utilização é mais apropriada para as análises. Para os experimentos realizados com o

eletrodo de trabalho modificado nas análises de AA foi escolhida a velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

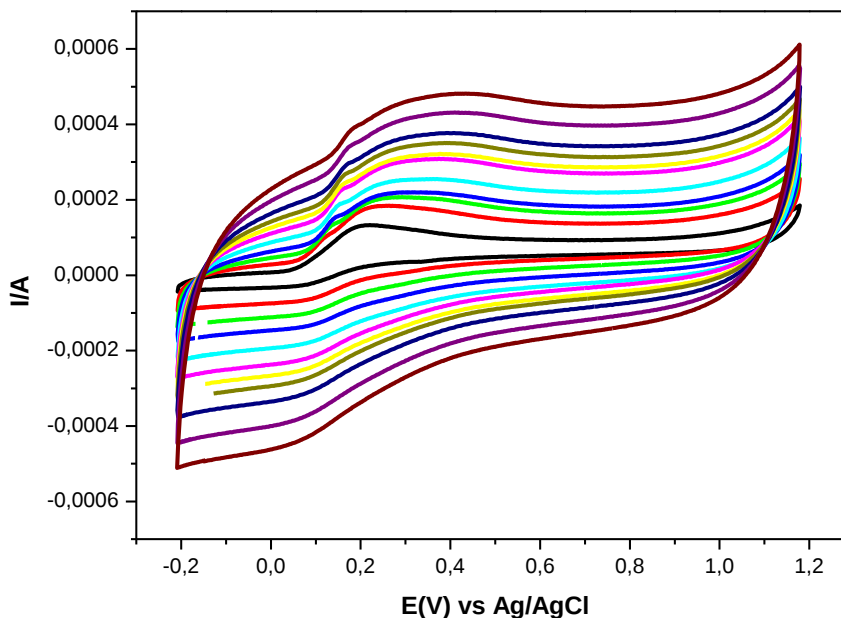


Figura 24 - Voltamogramas cíclicos para AA $1,96 \text{ mmol L}^{-1}$, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5, com eletrodo de trabalho modificado com Nafion®. Velocidades de varredura (10 mV s^{-1} a 300 mV s^{-1}).

Com esses dados foi construído um gráfico da corrente de pico versus a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial, Figura 25, indicando uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura, o que significa que o processo de oxidação na superfície do eletrodo é controlado por difusão.

Estudos conduzidos por Wenya He et al. (2016) mostram os efeitos da velocidade de varredura sobre o comportamento eletroquímico de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico, em que os gráficos das correntes de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura mostraram relações lineares no intervalo de $10 - 200 \text{ mV s}^{-1}$, o que indica que as reações destas três moléculas foram controladas por processos de difusão.

Yang et al. (2014) também concluiu que a oxidação de AA em diferentes velocidades de varredura ($10 - 300 \text{ mV s}^{-1}$) mostrou as correntes de pico

anódicas aumentar linearmente com a raiz quadrada da velocidade, sugerindo um comportamento típico de uma reação controlada por difusão.

Além disso, um gráfico de $\log I_p$ versus $\log v$ foi plotado, Figura 26, para verificar se o processo de oxidação de AA no eletrodo é controlado por difusão ou adsorção. A equação da reta é $y = -3,17851 + 0,37424x$ e $R = 0,98146$. A relação linear também é encontrada entre o $\log I_p$ e o $\log v$, com coeficiente angular de 0,37.

De acordo com Silva et al. (2015) o coeficiente angular da reta próximo a 0,5 confirma que o processo de oxidação de AA na superfície do eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion® é controlado por difusão.

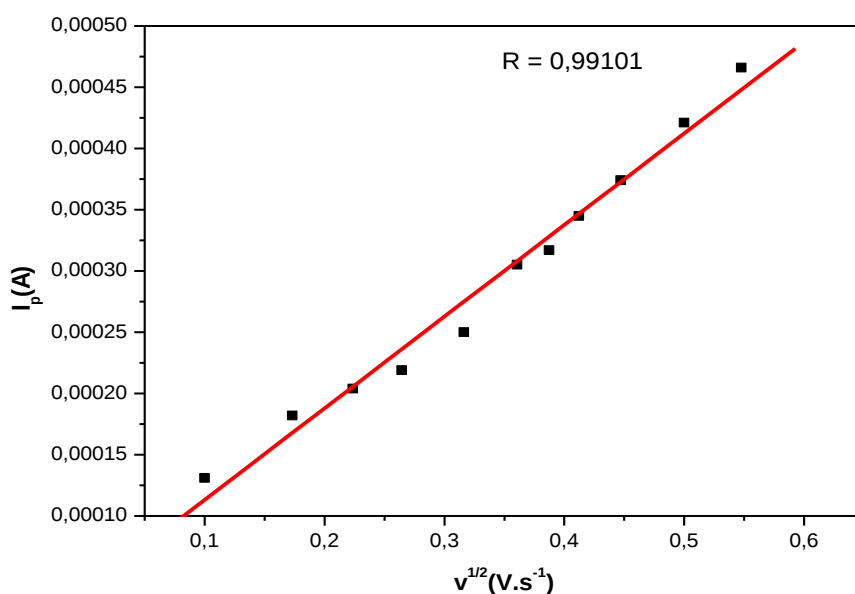


Figura 25 - Comportamento da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial para o AA. Velocidades de varredura (10 mV s^{-1} a 300 mV s^{-1}).

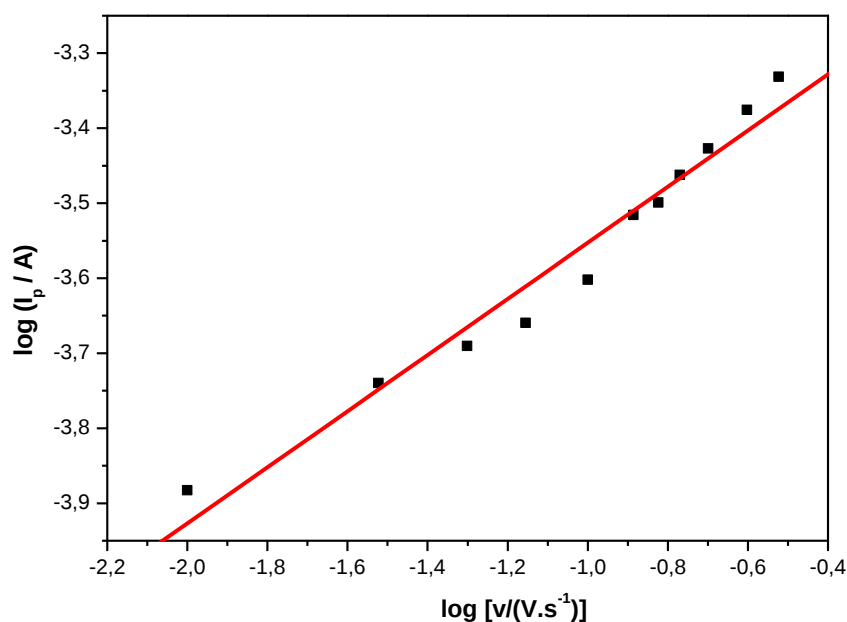


Figura 26 - Comportamento do logaritmo da corrente de pico com o logaritmo da velocidade de varredura de potencial para o AA. Equação da reta: $\log I = -3,17851 + 0,37424 \log v$.

5.10 Perfil da oxidação de ácido ascórbico por voltametria de onda quadrada

A oxidação de ácido ascórbico padrão e dos comprimidos de vitamina C também foram analisados por SWV e DPV. Esses experimentos, embora não se tenha a intenção de compará-los com VC, puderam ser utilizados para verificação do perfil da oxidação de AA por meio das duas técnicas.

Conforme se observa na Figura 27 ocorre um aumento da corrente à medida que são feitas as adições de ácido ascórbico padrão (100, 500, 1000, 1500 e 2000 μL) na célula eletroquímica. Mais uma vez observa-se que o aumento da corrente está diretamente relacionado com a concentração de AA no meio, na qual aumenta de $9,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ até $0,016 \text{ mol L}^{-1}$. A corrente registrada na concentração equivalente a $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ de AA é igual a 1,24 mA.

As amostras de comprimidos de vitamina C foram analisadas por SWV, conforme a sequência de voltamogramas apresentados na Figura 28 ocorre um aumento da corrente nos comprimidos dos medicamentos A, B e C, e um

deslocamento do potencial de oxidação para valores mais positivos em relação ao ácido ascórbico padrão. Foram feitas adições de 100, 500, 1000, 1500 e 2000 μL das soluções contendo o comprimido de vitamina C a partir da solução tampão fosfato.

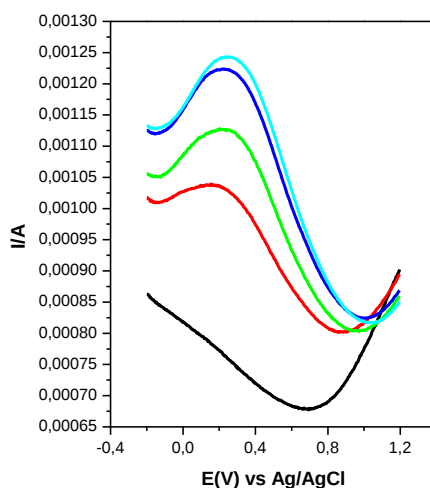


Figura 27 – Voltamograma de onda quadrada obtido para oxidação do ácido ascórbico padrão em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5. Condições da SWV: $f = 10\text{Hz}$, $a = 0,55\text{ V}$.

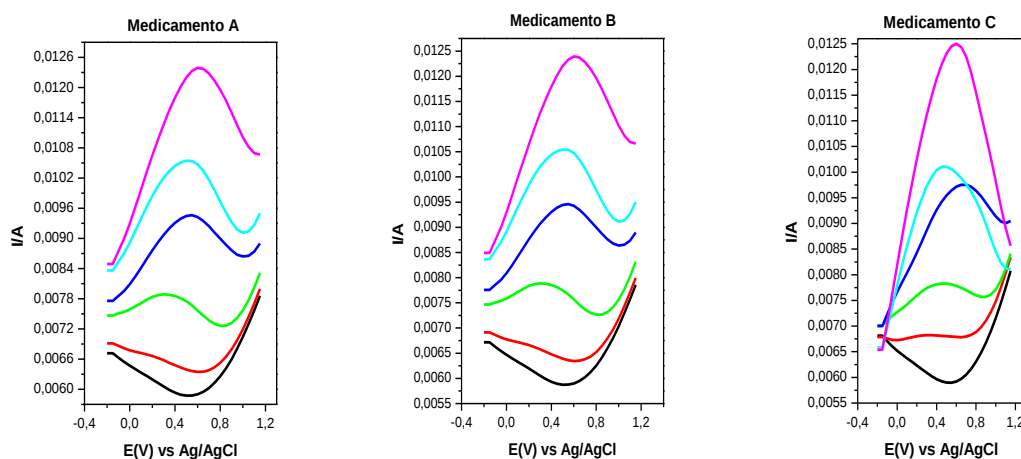


Figura 28 - Voltamogramas de onda quadrada obtido para oxidação do ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 5. Condições da SWV: $f = 10\text{Hz}$, $a = 0,55\text{ V}$.

5.11 Perfil da oxidação de ácido ascórbico por voltametria de pulso diferencial

Outro estudo foi feito utilizando a técnica de DPV nas análises de ácido ascórbico padrão e dos comprimidos de vitamina C, na Figura 29 podemos acompanhar o comportamento da oxidação do ácido ascórbico padrão nas adições de 100, 500, 1000 e 1500 μL . Na adição de 1500 μL ($c = 0,013 \text{ mol L}^{-1}$) a corrente é equivalente a $5,91 \times 10^{-4} \text{ A}$. Na sequência de voltamogramas mostrados na Figura 30, também evidenciamos o aumento da corrente em decorrência do aumento da concentração de AA na célula eletroquímica.

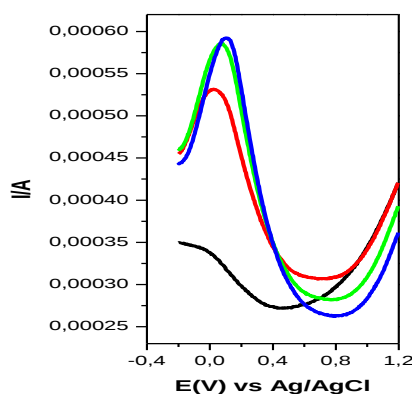


Figura 29 - Voltamograma de pulso diferencial para oxidação do ácido ascórbico padrão em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5. Condições da DPV: $a = 0,55 \text{ V}$.

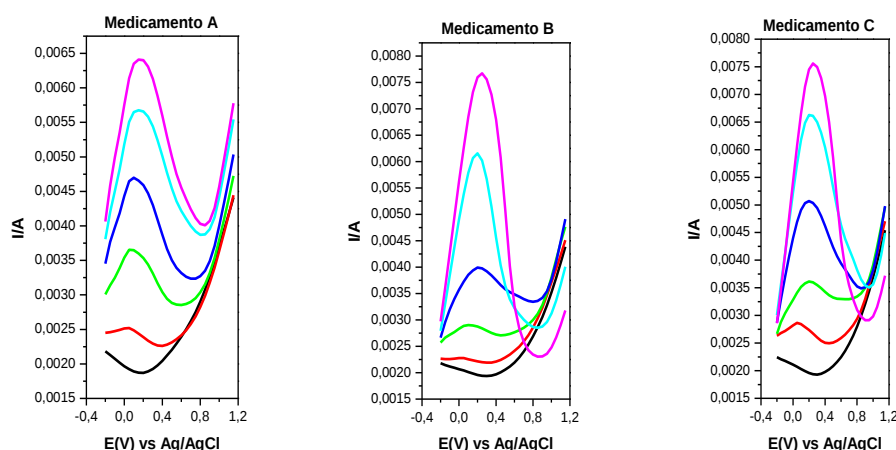


Figura 30 - Voltamogramas de pulso diferencial obtido para oxidação do ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C em eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion®, em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 5. Condições da DPV: $a = 0,55 \text{ V}$.

A Tabela 4 mostra que as correntes obtidas para os comprimidos de vitamina C, analisados por SWV e DPV, apresentaram valores mais altos por SWV. Essas análises foram feitas a partir de uma mesma solução dos comprimidos de vitamina C, no mesmo dia e utilizando o mesmo eletrodo modificado, evidenciando um sinal maior de corrente por meio da técnica de voltametria de onda quadrada em relação à técnica de voltametria de pulso diferencial.

Tabela 4 – Valores de correntes correspondentes à $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ de AA em solução contendo o comprimido de vitamina C obtido por SWV e DPV.

	Corrente – SWV	Corrente – DPV
Medicamento A	12,3 mA	6,3 mA
Medicamento B	12,3 mA	7,6 mA
Medicamento C	12,4 mA	7,5 mA

5.12 Acompanhamento da oxidação de ácido ascórbico padrão ao longo do tempo de armazenamento

O experimento foi realizado a partir do preparo de 50 mL de uma solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido ascórbico padrão utilizando o eletrodo de carbono vítreo para as medidas eletroquímicas. O objetivo foi acompanhar a oxidação do AA no intervalo de 15 dias, mantendo a solução em um balão fechado sob temperatura ambiente e em contato com luz.

Na Figura 31 podemos observar que a corrente de pico diminui a cada medida feita demonstrando que a oxidação do AA ocorre de forma bem lenta. A corrente no primeiro dia da análise é registrada em $3,44 \times 10^{-4} \text{ A}$ e no 15º dia de análise foi registrado uma corrente de $1,32 \times 10^{-4} \text{ A}$.

Um outro experimento havia sido realizado com o eletrodo de carbono vítreo modificado usando as soluções preparadas com os comprimidos de vitamina C, porém a cada dia em que as medidas de corrente foram sendo

registradas observou-se que a corrente anódica oscilava entre valores maiores e menores ao longo do tempo, isso se deve às alterações apresentadas na área da superfície do eletrodo a cada novo preparo. Por isso a escolha de fazer esse experimento utilizando apenas o eletrodo de carbono vítreo.

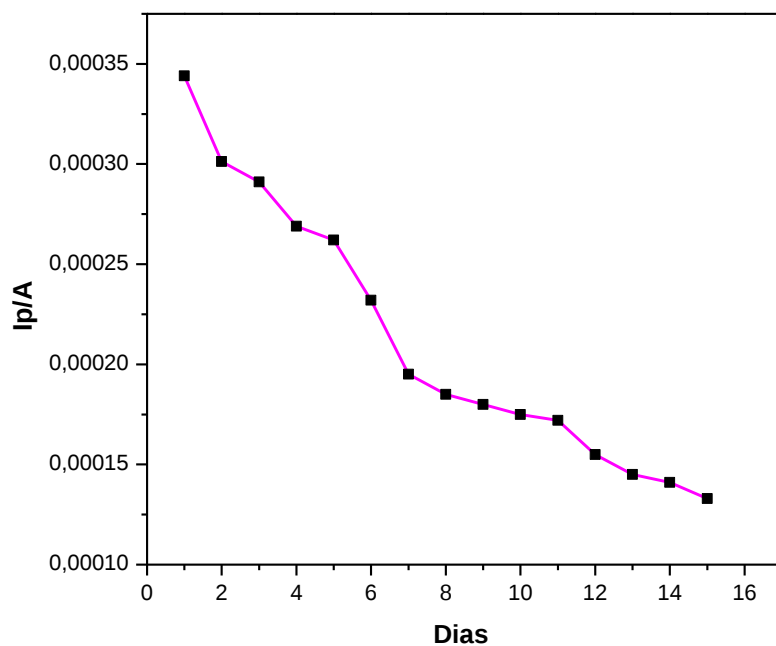


Figura 31 - Comportamento da corrente de pico anódica a partir de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ AA, obtida por voltametria cíclica ao longo do tempo de armazenamento, com eletrodo de carbono vítreo.

6. CONCLUSÕES

A modificação do eletrodo de carbono vítreo utilizando a mistura de carbono em pó e Nafion mostrou uma sensibilidade maior para as análises de ácido ascórbico em solução. O material usado como modificador apresentou boa aderência à superfície do eletrodo de carbono vítreo e estabilidade no decorrer da execução dos experimentos.

O eletrodo de trabalho modificado com Nafion mostrou-se eficaz na condução das medidas eletroquímicas para oxidação de ácido ascórbico, confirmado pelo aumento da corrente de pico anódica à medida que a concentração de ácido ascórbico aumentava observado nos registros dos voltamogramas.

As análises executadas por VC, SWV, DPV, combinadas com as condições experimentais empregadas possibilitaram determinar a oxidação de ácido ascórbico em solução. As análises por SWV mostraram uma maior sensibilidade de sinal de corrente que as análises por DPV.

As concentrações de ácido ascórbico determinadas nos medicamentos se encontram dentro na linearidade da curva analítica do ácido ascórbico padrão, possibilitando com isso determinar as massas de ácido ascórbico nos comprimidos de vitamina C, dentro da porcentagem de ácido ascórbico prevista pela Farmacopeia Brasileira.

Em relação às concentrações pode se concluir que quanto mais próximas forem as concentrações de ácido ascórbico nos medicamentos analisados das concentrações de ácido ascórbico padrão, maior será a semelhança entre os perfis voltamétricos, caso contrário, esses perfis tendem a se distanciar.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARABALI, V.; EBRAHIMI, M.; ABBASGHORBANI, M.; GUPTA, V. K.; FARSI, M.; GANJALI, M. R.; KARIMI, F. Electrochemical determination of vitamin C in the presence of NADH using a CdO nanoparticle/ionic liquid modified carbon paste electrode as a sensor. *Journal of Molecular Liquids*, v. 213, p. 312–316, 2016.
- ARANHA, F. Q.; et al. O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas no idoso. *Rev. Nutr.*, Campinas, n.13, v. 2, p. 89-97, 2000.
- ATTIA, T. Z. Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid mixture in their pure forms and combined dosage form. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 169, p. 82–86, 2016.
- BALBANI, A. P. S.; STELZER, L.B.; MONTOVANI, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, v. 72, n. 6, p. 400-406, 2006.
- BANIPAL, P. K.; SHARMA, M.; AGGARWAL, N.; BANIPAL, T. S. Investigations to explore interactions in (polyhydroxy solute + L-ascorbic acid + H₂O) solutions at different temperatures: Calorimetric and viscometric approach. *J. Chem. Thermodynamics*, v. 102, p. 322–332, 2016.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, New York, John Wiley & Sons, 2001, 850p.
- BI, H.; DUARTE, C. M.; BRITO, M.; VILAS-BOAS, V.; CARDOSO, S.; FREITAS, P. Performance enhanced UV/vis spectroscopic microfluidic sensor for ascorbic acid quantification in human blood. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 85, p. 568–572, 2016.
- BRASIL. Agência nacional de vigilância sanitária. *Farmacopéia brasileira*. 5º.ed. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm Acessado em 10 de outubro 2016.
- BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*. New York, Oxford University Press, 1993, 444p.
- CARVALHO, S. E. Q. Desenvolvimento e aplicação de eletrodos quimicamente modificados com hexacianoferratos dos metais Fe, Ni e Co. São Carlos, 2011. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo.
- CASTRO, S. S. L.; MORTIMER, R. J.; OLIVEIRA, M. F.; STRADIOTTO, N. S. Electrooxidation and Determination of Dopamine Using a Nafion®-Cobalt Hexacyanoferrate Film Modified Electrode. *Sensors*, v. 8, p. 1950-1959, 2008.
- CHOUKAIRI, M.; BOUCHTA, D.; BOUNAB, L.; ATYAH, M. B.; ELKHAMLI, R.; CHAOUKET, F.; RAISSOUNI, I.; RODRIGUEZ, I.N. Electrochemical detection of uric acid and ascorbic acid: Application in sérum. *Journal of Electroanalytical Chemistry* v. 758, p.117–124, 2015.
- CLAYDEN, J.; GREEVS, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. *Organic Chemistry*, Oxford University Press, United Kingdom, 2000. 1469p.

FERREIRA, R. Linus Pauling: por que vitamina C. *Química Nova*, v. 27, n. 2, p. 356-357, 2004.

FIORUCCI, A. R.; SOARES, M. H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. A importância da vitamina C na sociedade através dos tempos. *Química Nova na Escola*, n. 17, p. 3-7, 2003.

FONG, J. F. YEE.; CHIN, S. F.; NG, S. M. A unique “turn-on” fluorescence signalling strategy for highly specific detection of ascorbic acid using carbono dots as sensing probe. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 85 p. 844–852, 2016.

FUNGARO, D. A.; BRETT, C. M. A. Eletrodos modificados com polímeros perfluorados e sulfonados: aplicações em análises ambientais. *Química Nova*, v. 23, n. 6, p. 805-811, 2000.

GONZALEZ, E. R.; STRADIOTTO, N. R. Métodos de determinação de parâmetros cinéticos de processos eletródicos. *Química Nova*, p. 38-42, 1982.

GRANERO, A. M.; PIERINI, G. D.; ROBLEDO, S. N.; DI NEZIO, M. S.; FERNANDEZ, H.; ZON, M. A. Simultaneous determination of ascorbic and uric acids and dopamine in human serum samples using three-way calibration with data from square wave voltammetry. *Microchemical Journal*, v. 129, p. 205–212, 2016.

GUO, Z.; HUANG, GUO-QING.; LI, J.; WANG, ZE-YU, XU, XIANG-FENG. Graphene oxide-Ag/poly-L-lysine modified glassy carbon electrode as an electrochemical sensor for the determination of dopamine in the presence of ascorbic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 759, p. 113–121, 2015.

HANSEN, S. N.; SCHJOLDAGER, J. G.; PAIDI, M. D.; LYKKESFELDT, J.; TVEDEN-NYBORG, P. Maternal vitamin C deficiency does not reduce hippocampal volume and β -tubulin III intensity in prenatal Guinea pigs. *Nutrition Research*, v. 36, p. 692-702, 2016.

KALAMBATE, P. K.; RAWOOL, C. R.; SRIVASTAVA, A. K. Voltammetric determination of pyrazinamide at graphene-zinc oxide nanocomposite modified carbono paste electrode employing differential pulse voltammetry. *Sensors and Actuators B*, v. 237, p. 196–205, 2016.

LANE, R. F.; HUBBARD, A. T. Electrochemisry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes trough olefinic substituents. *J. Phys. Chem.*, n. 77, p. 1401-1410, 1973.

LE COUTEUR, P.; BURRESON, J. Os botões de Napoleão: as 17 moléculas que mudaram a história. Rio de Janeiro, Zahar, 2006. 343p.

LIU, B.; LUO, L.; DING, Y.; SI, X.; WEI, Y.; OUYANG, X.; XU, DUO. Differential pulse voltammetric determination of ascorbic acid in the presence of folic acid at electro-deposited NiO/graphene composite film modified electrode. *Electrochimica Acta*, v. 142 p. 336–342, 2014.

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

MANELA-AZULAY, M.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A.; PEREZ, M. A.; FILGUEIRA, A. L.; CUZZI, T. Vitamina C. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 78, n. 3, p. 265-274, 2003.

MARZAL, P. C. Determinação seletiva de p-nitrofenol com eletrodo de carbono vítreo recoberto com membrana de Nafion. Campinas, 2000, Dissertação (Mestrado), Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas.

MIRET, J. A.; MUNNÉ-BOSCH, S. Absciscic acid and pyrabactin improve vitamin C contents in raspberries. Food Chemistry, v. 203, p.216-223, 2016.

MORAN, A. L.; et al. Bioquímica. 5 ed. São Paulo: Pearson, 798p. 2013.

NOGUEIRA, Fernanda dos Santos. Teores de ácido L-ascórbico em frutas e sua estabilidade em sucos. Campos dos Goytacazes, 2011. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

NUNES, L. M. S. Desenvolvimento de eletrodo de filme de bismuto depositado sobre cobre para aplicações eletroanalíticas. São Carlos, 2007. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de São Carlos.

NUNES, L. O. Síntese, caracterização e aplicação do óxido de grafite e grafeno em estudos eletroquímicos envolvendo ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina e epinefrina. Diamantina, 2013. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. Química Nova, v. 32, n.3, p.689-702, 2009.

PAIM, A. P. S.; KRONKA, E. A. M.; REIS, B. F. Determinação espectrofotométrica de ácido ascórbico em fármacos empregando amostragem binária em fluxo. Química Nova, v. 21, n. 1, p. 47–50, 1998.

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

PERLA, V.; NIMMAKAYALA, P.; NADIMI, M.; ALAPARTHI, S.; HANKINS, G. R.; EBERT, A.W.; REDDY, U. K. Vitamin C and reducing sugars in the world collection of Capsicum baccatum L. genotypes. Food Chemistry, v. 208, p.189-198, 2016.

PINHEIRO, S. C. L.; JR. I. M. R. Uso de membranas de Nafion para a construção de sensores ópticos para medidas de pH. Quim. Nova, v. 28, n. 5, p. 932-936, 2005.

RATHINARAJ, S. B.; NETO, R. O.; MACEDO, Y. L.; BARA, M. T. R.; CUNHA, L. C.; CARVALHO, L. A. F.; GIL, E. S. Electroanalysis for Quality Control of Acerola (Malpighia emarginata) Fruits and their Commercial Products. Food Anal. Methods, v.8, p. 86–92, 2015.

REIS, N. S.; SERRANO, S. H. P.; MENEGHATTI, R.; GIL, E. S. Métodos eletroquímicos usados para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais. Latin American Journal of Pharmacy, v. 28, n. 6, p. 949–953, 2009.

ROSA, J. S.; et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, n. 27, v. 4, p. 837-846, 2007.

SARKAR, A.; SINHA, B. Solution properties and taste behavior of lactose monohydrate in aqueous ascorbic acid solutions at different temperatures: Volumetric and rheological approach. *Food Chemistry*, v.211, p.590–597, 2016.

SCHERER, R.; RYBKA, A. C. P.; GODOY, H. T. Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1137-1140, 2008.

SILVA, L. P.; LOURENCAO, B. C.; FILHO, O. F. Determinação voltamétrica simultânea de besilato de anlodipino e hidroclorotiazida em amostras de urina sintética utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro. *Quim. Nova*, v. 38, n. 6, p. 801-806, 2015.

SILVA, L. S.; OLIVEIRA, T. N.; BALLIN, M. A.; PEIXOTO, C. R. M. Ascorbic acid determination using a carbon paste electrode modified with iron (III) ions adsorbed on humic acid. *Eclética Química*, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 39-43, 2006.

SILVA, R. R.; FERREIRA, G. A; SILVA, S. L.; A procura da vitamina C. *Química Nova na Escola*, v. 31, n. 2, p. 31-32, 1995.

SILVA, T. G.; SALLES, M. O.; PAIXÃO, T. R. L. Investigação do uso de eletrodo de carbono vítreo modificado com hexacianoferrato de rutênio para detecção de procaína. *Química Nova*, v. 38, n. 1, p. 85-90, 2015.

SKOOG, D. A. et al. *Fundamentos de Química Analítica*. São Paulo: Thomson, 2006. 999p.

SOUSA, C. M. S.; SILVA, H. R.; VIEIRA, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAUJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

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

SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. A.; MACHADO, S. A. S. Voltametria de onda quadrada. Segunda parte: aplicações. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 790-797, 2004.

SOUZA, M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. *Química Nova*, v. 20, n. 2, 1997.

TADAYON, F.; VAHED, S.; BAGHERI, H. Au-Pd/reduced graphene oxide composite as a new sensing layer for electrochemical determination of ascorbic acid, acetaminophen and tyrosine. *Materials Science and Engineering C*, v.68, p. 805–813, 2016.

TICIANELLI, E. A., GONZALEZ, E. R. *Eletroquímica: Princípios e Aplicações*. São Paulo, Edusp, 2013. 220p.

TOLEDO, R. A. Estudo eletroquímico e desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas para determinação de antidepressivos tricíclicos e neurotransmissores. São Carlos, 2006. Tese (Doutorado), Universidade de São Carlos.

VENDRAME, Z. B. Eletrodos modificados e não modificados na determinação de compostos sulfurados – um estudo comparativo. Santa Maria, 2004. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Santa Maria.

WENYA, HE; DING, YU; ZHANG, W.; JI, L.; ZHANG, XIN; YANG, F. A highly sensitive sensor for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid based on ultra-small Ni nanoparticles. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v.775, p. 205–211, 2016.

Xi, L.; REN, D.; LUO, J.; ZHU, YAN. Electrochemical analysis of ascorbic acid using copper nanoparticles/polyaniline modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 650, p.127–134, 2010.

YANG, F.; WANG, J.; CAO, Y.; ZHANG, LU; ZHANG, XIN. A highly sensitive ascorbic acid sensor based on carbon-supported CoPd nanoparticles. *Sensors and Actuators B*, v. 205, p. 20–25, 2014.

ZHOU, J.; SHENG, M.; JIANG, X.; WU, G.; GAO, F. Simultaneous Determination of Dopamine, Serotonin and Ascorbic Acid at a Glassy Carbon Electrode Modified with Carbon-Spheres. *Sensors*, v.13, p.14029-14040, 2013.