

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FUNDAMENTAL – DQF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WELLYTON SILVA VASCONCELOS

**UTILIZAÇÃO DE ELETRODO MODIFICADO COM REDE METALORGÂNICA
DE COBRE PARA DETECÇÃO DE TIÓIS**

Recife
2019

WELLYTON SILVA VASCONCELOS

**UTILIZAÇÃO DE ELETRODO MODIFICADO COM REDE METALORGÂNICA
DE COBRE PARA DETECÇÃO DE TIÓIS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Professora Dra. Madalena Carneiro da Cunha Areias

Coorientador: Professor Dr. Severino Alves Júnior

Recife
2019

Catálogo na fonte
Bibliotecária Arabelly Ascoli CRB4-2068

V331u Vasconcelos, Wellyton Silva
Utilização de eletrodo modificado com rede metalorgânica de
cobre para detecção de tióis / Wellyton Silva Vasconcelos. –
2019.
166 f.: il. fig., tab.

Orientadora: Madalena Carneiro da Cunha Areias
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.
CCEN. Química. Recife, 2019.
Inclui referências e anexos.

1. Rede metalorgânica. 2. Tióis. 3. Captopril. 4. Cisteína I.
Areias, Madalena Carneiro da Cunha (orientadora). II. Título.

543 CDD (22. ed.) UFPE-CCEN 2020-91

WELLYTON SILVA VASCONCELOS

“Utilização de Eletrodo Modificado com Rede Metalorgânica de Cobre para Detecção de Tióis.”

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação no Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Química.

Aprovado em: 30/08/2019

BANCA EXAMINADORA

Profa. Madalena Carneiro da Cunha Areias(Orientadora)

Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. José Licarion Pinto Segundo Neto

Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Severino Carlos Oliveira

Departamento de Química
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Rosa Fireman Dutra

Departamento de Engenharia Biomédica
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Wagner Bezerra dos Santos

Departamento de Química Fundamental
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pelo apoio e incentivo que sempre me deram.

À minha noiva Amanda Santana por estar sempre ao meu lado nos momentos bons e ruins.

À Profa. Dra. Madalena Areias pela orientação neste trabalho e por estar sempre disponível a compartilhar de seu conhecimento e me ajudar na minha formação.

Ao Prof. Dr. Severino Alves Júnior pela coorientação neste trabalho.

Aos amigos do DQF pelo companheirismo ao longo desses quatro anos de doutorado, em particular a Gilvaldo Gentil que me auxiliou inicialmente no preparo dos eletrodos.

Ao Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE que me possibilitou estar fazendo esse doutorado.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que fosse possível a realização deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho relata o desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas utilizando eletrodo quimicamente modificado por uma rede metalorgânica (MOF) formada por íons de cobre conectados pelo ligante orgânico ácido benzeno-1,3,5-tricarboxílico (BTC), aqui denominada Cu-BTC, para determinação voltamétrica de captopril (CAP), cisteína (CYS) e glutatona (GSH). O desenvolvimento desse estudo se deu em função do pequeno número de trabalhos encontrados na literatura que fazem uso de MOFs como sensores eletroquímicos para fins eletroanalíticos, além disso, as espécies orgânicas a serem determinadas fazem parte de uma classe de compostos organossulfurados, denominados tióis, de grande importância bioquímica. Os desafios para o desenvolvimento de eletrodos modificados com MOFs concentram-se no fato de que elas, por si só, não são boas condutoras elétricas, inviabilizando suas aplicações como sensores eletroquímicos. Para que fosse possível o uso da Cu-BTC como modificadora de eletrodos sólidos, foi necessário o aumento de suas propriedades condutoras, o qual foi realizado de duas formas: inicialmente, utilizou-se um copolímero condutor de acrilamida e acrilato de sódio como fixador de Cu-BTC na superfície de um eletrodo de carbono vítreo (GCE) e esse sensor foi empregado na determinação eletroanalítica de CAP e CYS por voltametria de pulso diferencial (DPV). Para os ensaios voltamétricos de GSH, nanopartículas de ouro foram usadas para aumentar a condutividade de Cu-BTC, formando um nanocompósito de Au@Cu-BTC, que foi utilizado na modificação da superfície do GCE. A determinação eletroanalítica de GSH foi feita utilizando-se a técnica de voltametria de onda quadrada (SWV). Todos esses analitos são detectados via formação de um complexo com o íon Cu(II) oriundo da quebra da MOF quando exposta a meios aquosos. Foram analisadas, utilizando as metodologias desenvolvidas, formulações farmacêuticas de CAP, amostras de suplemento alimentar de GSH e amostras de sangue desproteínizado. Os pHs ótimos encontrados para a realização desses estudos foram 3,0 para CAP e GSH e 4,0 para CYS. As faixas de trabalho com resposta linear foram de 0,5-7,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$) para CAP com limite de detecção de 0,20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 1,0-10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$) para CYS e GSH com limites de detecção de 0,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 0,30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$), respectivamente. As metodologias desenvolvidas apresentaram boa repetibilidade e se mostraram úteis na determinação eletroanalítica desses tióis.

Palavras-chave: Rede metalorgânica. Cu-BTC. Tióis. Captopril. Cisteína. Glutatona. Voltametria de pulso diferencial. Voltametria de onda quadrada.

ABSTRACT

This work reports the development of electroanalytical methodologies using chemically modified electrode by a metal-organic framework (MOF) formed by copper ions connected by the organic ligand benzene-1,3,5-tricarboxylic acid (BTC), here called Cu-BTC, for voltammetric determination of captopril (CAP), cysteine (CYS) and glutathione (GSH). The development of this study was due to the small number of papers in the literature that use MOFs as electrochemical sensors for electroanalytical purposes, in addition, the organic species under study are part of a class of organosulfur compounds, called thiols, of great biochemical importance. The challenges for the development of MOFs modified electrodes focus on the fact that MOFs are not good electrical conductors, which makes their applications as electrochemical sensors unfeasible. In order to make it possible to use Cu-BTC as a modifier of solid electrodes surfaces, its conductive properties had to be increased, which was carried out in two ways. Initially, a conductive copolymer of acrylamide and sodium acrylate was used as a Cu-BTC immobilizer on the surface of a glassy carbon electrode (GCE) and this sensor was used in the electroanalytical determination of CAP and CYS by differential pulse voltammetry (DPV). For the GSH voltammetric assays, gold nanoparticles were used to increase the conductivity of Cu-BTC, forming an Au@Cu-BTC nanocomposite, which was used to modify the surface of the GCE. The electroanalytical determination of GSH was performed using the square wave voltammetry (SWV) technique. All these analytes are detected via the formation of a complex with the Cu(II) ion resulting from the breakdown of MOF when exposed to aqueous media. Pharmaceutical formulations of CAP, GSH dietary supplement and deproteinized blood samples were analyzed using the developed methodologies. The optimal pHs found for these studies were 3.0 for CAP and GSH and 4.0 for CYS. The linear dynamic ranges were 0.5-7.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$) for CAP with a detection limit of 0.20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 1.0-10.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$) for CYS and GSH with detection limits of 0.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and 0.30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$), respectively. The developed methodologies showed good repeatability and proved to be useful in the electroanalytical determination of these thiols.

Keywords: Metal-organic framework. Cu-BTC. Captopril. Cysteine. Glutathione. Thiols. Differential pulse voltammetry. Square wave voltammetry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Esquema 1	–	Representação geral de um tiol como análogo de álcool ou fenol	24
Figura 1	–	Estrutura do CAP	25
Figura 2	–	Estrutura da CYS	30
Figura 3	–	Metabolismo da MET no organismo via TM e TS para biossíntese da CYS. Os números representam enzimas ou sequências da reação: (1) L-metionina-s-adenosil-transferase; (2) Transmetilação; (3) Adenosil-homocisteinase; (4) Cistationina- β -sintase; (5) Cistationase; (6) Remetilação (RM) da HCYS. ATP (Trifosfato de adenosina)	32
Figura 4	–	Vias do metabolismo da CYS. Os números representam as enzimas: (1) GCS; (2) CDO; (3) Cisteína sulfinato descarboxilase (CDS); (4) Aspartato aminotransferase (AST). (ADP) Difosfato de adenosina	33
Figura 5	–	Estrutura da GSH	36
Figura 6	–	Biossíntese da GSH. (1) GLU; (2) CYS; (3) γ -glutamil-cisteína; (4) GLI; (5) GSH	38
Figura 7	–	Representação esquemática de uma MOF, construída a partir de ligantes orgânicos e aglomerados metálicos	41
Figura 8	–	(A) Estrutura da MOF-5. Os tetraedros azuis representam os aglomerados de ZnO_4 , os átomos de oxigênio são representados por esferas vermelhas e os de carbono por esferas pretas. A esfera amarela representa a cavidade do poro da MOF-5. (B) SBU octaédrica de $Zn_4O(CO_2)_6$	42
Figura 9	–	Ligantes orgânicos comumente usados no processo de síntese de MOFs	43
Figura 10	–	Série de IRMOFs baseadas da topologia cúbica da MOF-5. (A) MOF-5; (B) IRMOF-8; (C) IRMOF-12; (D) IRMOF-16. Em cada vértice das estruturas há uma SBU octaédrica de $Zn_4O(CO_2)_6$	44

Figura 11	– (A) Unidade dimérica cobre-tetracarboxilato. (B) Representação estrutural da Cu-BTC, na qual os átomos de cobre são representados em verde, oxigênio em vermelho e carbono em cinza	47
Figura 12	– Fórmula estrutural do copolímero de acrilamida e acrilato de sódio ...	51
Figura 13	– Sinal de excitação do potencial em função do tempo na CV	54
Figura 14	– Voltamograma cíclico típico para um processo redox reversível	54
Figura 15	– Voltamograma cíclico para um processo redox irreversível	56
Figura 16	– Sinal de excitação em DPV	59
Figura 17	– Voltamograma típico de uma análise por DPV	59
Figura 18	– Sinal de excitação em SWV	60
Figura 19	– Perfis voltamétricos esquemáticos das correntes medidas durante os pulsos de ida (I_1) e volta (I_2) e a diferença resultante, ΔI , plotados contra o potencial em forma de escada	60
Figura 20	– Grupos funcionais encontrados na superfície de eletrodos de carbono. (1) Aril, (2) Éter, (3) Carbonila, (4) Aldeído, (5) Álcool, (6) Lactona, (7) Ácido carboxílico, (8) <i>o</i> -quinona, (9) Fenol e (10) <i>p</i> -quinona	62
Figura 21	– (A) Potenciostato/galvanostato Metrohm-Autolab (B) Esquema da célula de três eletrodos. (1) Trabalho: Cu-BTC/GCE, Cu-BTC/Au ou Au@Cu-BTC/GCE, (2) Referência: Ag/AgCl (KCl saturado), (3) Auxiliar: fio de Pt	67
Figura 22	– (A) GCE sem modificação. (B) GCE após modificação com Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio (A concentração de MOF utilizada nesse exemplo foi de 10,0 mg mL ⁻¹)	70
Figura 23	– Voltamograma cíclico de Cu-BTC/CGE em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7,0)	79
Figura 24	– Diagrama de Pourbaix do cobre em meio aquoso. SHE (Eletrodo padrão de hidrogênio, do inglês <i>Standard Hydrogen Electrode</i>)	81
Figura 25	– Voltamogramas cíclicos de Cu-BTC/CGE em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ para diferentes valores de pH	81

Figura 26	– (A) Voltamogramas cíclicos de Cu-BTC/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) para diferentes velocidades de varredura. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da raiz quadrada da velocidade de varredura	82
Figura 27	– (A) Voltamogramas cíclicos de 1,0 mmol L ⁻¹ de K ₃ [Fe(CN) ₆] em KCl 0,1 mol L ⁻¹ para diferentes velocidades de varredura. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da raiz quadrada da velocidade de varredura	83
Figura 28	– Voltamogramas cíclicos de 1,0 mmol L ⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE (azul) e em GCE não modificado (vermelho). GCE não modificado na ausência de CAP (preto)	84
Figura 29	– Oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE	85
Figura 30	– Voltamogramas cíclicos de 0,1 mmol L ⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH	85
Figura 31	– Formas de CAP em solução aquosa em função do pKa	86
Figura 32	– (A) Voltamogramas cíclicos de 50,0 μmol L ⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes velocidades de varredura. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da velocidade de varredura	87
Figura 33	– Cobertura superficial do eletrodo pelo CAP (nmol cm ⁻²) em função da velocidade de varredura (V s ⁻¹)	88
Figura 34	– Voltamograma de DP de 5,0 μmol L ⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE (linha azul). Ausência de CAP (linha preta)	88
Figura 35	– (A) Voltamogramas de DP de 10,0 μmol L ⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função do pH	89
Figura 36	– (A) Voltamogramas de DP de 5,0 μmol L ⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes concentrações	

	de Cu-BTC. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de Cu-BTC	90
Figura 37	– (A) Voltamogramas de DP de 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes tempos de deposição. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função do tempo de deposição	91
Figura 38	– (A) Voltamogramas de DP de para concentrações crescentes de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de CAP	92
Figura 39	– Voltamogramas cíclicos de 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} em Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH	94
Figura 40	– Formas de CYS em solução aquosa em função do pKa	95
Figura 41	– Fração de distribuição (α) das espécies de CYS em função do pH	96
Figura 42	– Oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE	96
Figura 43	– Voltamograma de DP de 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0) em Cu-BTC/GCE	97
Figura 44	– (A) Voltamogramas de DP de 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes tempos de deposição. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função do tempo de deposição	98
Figura 45	– (A) Voltamogramas de DP de para concentrações crescentes de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0) em Cu-BTC/GCE. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de CYS	99
Figura 46	– Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L^{-1} de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE (azul). Cu-BTC/GCE na ausência de GSH (preto)	100

Figura 47	– Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/Au (azul). Cu-BTC/Au na ausência de GSH (preto)	101
Figura 48	– Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE (azul). Au@Cu-BTC/GCE na ausência de GSH (preto). (B) Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em GCE não modificado (verde). GCE não modificado na ausência de GSH (vermelho)	102
Figura 49	– Voltamogramas de SW de 10,0 μmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH	104
Figura 50	– Voltamogramas de SW de 10,0 μmol L ⁻¹ de GSH em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes meios na concentração de 0,1 mol L ⁻¹ em pH 3,0	105
Figura 51	– (A) Voltamogramas de SW de 10,0 μmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes concentrações de Au@Cu-BTC. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de Au@Cu-BTC	105
Figura 52	– (A) Voltamogramas de SW de 10,0 μmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes tempos de deposição. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função do tempo de deposição	106
Figura 53	– (A) Voltamogramas cíclicos de 5,0 μmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes velocidades de varredura. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da velocidade de varredura	107
Figura 54	– (A) Voltamogramas de SW de 10,0 μmol L ⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 3,0) na presença de cobre disponível em diferentes condições. Au@Cu-BTC/GCE (vermelho) e GCE não modificado com 10,0 μmol L ⁻¹ de íon cobre em solução (preto)	107

Figura 55 – (A) Voltamogramas de SW para concentrações crescentes de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de GSH 109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Propriedades físico-químicas do CAP	26
Tabela 2	– Métodos convencionais de análise utilizados na determinação de CAP em amostras biológicas e formulações farmacêuticas	29
Tabela 3	– Sensores eletroquímicos utilizados na determinação de CAP em amostras farmacêuticas e biológicas	30
Tabela 4	– Propriedades físico-químicas da CYS	31
Tabela 5	– Métodos convencionais de análise utilizados na determinação de CYS em amostras farmacêuticas e biológicas	35
Tabela 6	– Sensores eletroquímicos utilizados na determinação de CYS em amostras farmacêuticas e biológicas	36
Tabela 7	– Propriedades físico-químicas da GSH	36
Tabela 8	– Métodos convencionais de análise utilizados na determinação de GSH em amostras farmacêuticas e biológicas	40
Tabela 9	– Sensores eletroquímicos utilizados na determinação de GSH em amostras farmacêuticas e biológicas	41
Tabela 10	– Eletrodos modificados por MOFs usados na determinação eletroanalítica de analitos orgânicos e inorgânicos	49
Tabela 11	– Eletrodos modificados com Cu-BTC usados na determinação eletroanalítica de espécies orgânicas	50
Tabela 12	– Eletrodos modificados com AuNPs usados na determinação eletroanalítica de espécies orgânicas e inorgânicas	52
Tabela 13	– Procedência e pureza dos reagentes utilizados	65
Tabela 14	– Eletrodos modificados utilizados na determinação de CAP por DPV	93
Tabela 15	– Determinação de CAP em amostra de comprimido (25,0 mg por comprimido) pelo método de recuperação	93
Tabela 16	– Eletrodos modificados utilizados na determinação de CYS por DPV	100
Tabela 17	– GCEs com e sem modificação utilizados na determinação de GSH	110

Tabela 18	–	Determinação de GSH em amostra de sangue desproteinizada e em suplemento diário de GSH	111
-----------	---	--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Difosfato de adenosina
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Trifosfato de adenosina
Au@Cu-BTC	Rede metalorgânica feita de nanopartículas de ouro e cobre com ácido benzeno-1,3,5-tricarboxílico
AuNPs	Nanopartículas de ouro
BDD	Diamante dopado com boro
BPF	Fator de potenciação da bradicinina
BRA	Bradicinina
BTC	Ácido benzeno-1,3,5-tricarboxílico
CAP	Captopril
CDO	Cisteína dioxigenase
CPE	Eletrodo de pasta de carbono
CSD	Cisteína sulfinato descarboxilase
CST	Cistina
Cu-BTC	Rede metalorgânica feita de cobre com ácido benzeno-1,3,5-tricarboxílico
CV	Voltametria cíclica
CYS	Cisteína
DMF	Dimetilformamida
DPV	Voltametria de Pulso Diferencial
ECA	Enzima conversora da angiotensina
GCE	Eletrodo de carbono vítreo
GCS	γ -Glutamilcisteína sintetase
GLI	Glicina
GLU	Ácido glutâmico
GSH	Glutathiona
GSSG	Dissulfeto de glutathiona

GST	Glutathione sintetase
HCYS	Homocisteína
HKUST-1	Hong Kong University of Science and Technology
IRMOFs	Redes metalorgânica isorreticulares
LOD	Limite de detecção
LDR	Faixa linear de trabalho
MET	Metionina
MOFs	Redes metalorgânicas
MWCNT	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas
NAC	N-acetilcisteína
PVP	Polivinilpirrolidona
RM	Remetilação
SBU _s	Unidades de construção secundária
SEM	Microscopia eletrônica de varredura
SWV	Voltametria de Onda Quadrada
TAU	Taurina
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TEP	Teprotídeo
TGA	Análise termogravimétrica
TM	Transmetilação
TS	Transulfuração

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO DA LITERATURA	24
2.1	Compostos organossulfurados	24
2.2	Tióis	24
2.2.1	Captopril	25
2.2.1.1	<i>Características farmacológicas</i>	27
2.2.1.2	<i>Métodos de análise de captopril</i>	28
2.2.2	Cisteína	30
2.2.2.1	<i>Biossíntese da cisteína</i>	31
2.2.2.2	<i>Importância biológica da cisteína</i>	33
2.2.2.3	<i>Implicações do uso de cisteína como suplemento alimentar na saúde humana</i>	34
2.2.2.4	<i>Métodos de análise de cisteína</i>	35
2.2.3	Glutathione	36
2.2.3.1	<i>Biossíntese da glutathione</i>	37
2.2.3.2	<i>Funções biológicas da glutathione</i>	38
2.2.3.3	<i>Glutathione e a saúde humana</i>	39
2.2.3.4	<i>Métodos de análise de glutathione</i>	40
2.3	As redes metalorgânicas	41
2.3.1	Métodos de síntese de MOFs	44
2.3.2	Caracterização de MOFs	46
2.3.3	A MOF de $[Cu_3(BTC)_2(H_2O)_3]_n$	47
2.3.4	Aplicabilidade das MOFs e uso como sensores eletroquímicos	48
2.3.5	Uso de Cu-BTC como sensor eletroquímico	49
2.4	Copolímero de acrilamida e acrilato de sódio	50
2.5	Nanopartículas de ouro	51
2.6	Técnicas voltamétricas aplicadas à eletroanálise	53
2.6.1	Voltametria cíclica	54
2.6.1.1	<i>Influência do pH na voltametria cíclica</i>	56
2.6.1.2	<i>Estudo de processos de adsorção por voltametria cíclica</i>	57

2.6.2	<i>Voltametria de pulso diferencial</i>	59
2.6.3	<i>Voltametria de onda quadrada</i>	60
2.7	Eletródos sólidos em eletroanálise	60
2.8	Eletródos quimicamente modificados	63
2.9	Objetivos	64
3	PARTE EXPERIMENTAL	65
3.1	Reagentes	65
3.2	Materiais e método	66
3.2.1	Materiais	66
3.2.1.1	<i>Polimento dos eletrodos</i>	66
3.2.1.2	<i>Filtração das amostras comerciais</i>	66
3.2.1.3	<i>Pesagem das amostras</i>	66
3.2.1.4	<i>Medidas de pH das soluções-tampão</i>	66
3.2.1.5	<i>Experimentos eletroquímicos</i>	67
3.2.1.6	<i>Caracterização das nanopartículas de ouro e das MOFs de Cu-BTC e Au@Cu-BTC</i>	68
3.2.2	Método	68
3.2.2.1	<i>Síntese das nanopartículas de ouro</i>	68
3.2.2.2	<i>Síntese dos nanocompósitos de Au@Cu-BTC</i>	69
3.2.2.3	<i>Preparo do modificador de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio ...</i>	69
3.2.2.4	<i>Pré-tratamento mecânico e ativação eletroquímica do GCE</i>	69
3.2.2.5	<i>Modificação do GCE para estudos eletroquímicos</i>	70
3.2.2.6	<i>Modificação do eletrodo de ouro para estudos eletroquímicos</i>	71
3.2.2.7	<i>Preparo das soluções-tampão fosfato</i>	71
3.2.2.8	<i>Estudos de voltamétrica cíclica no GCE modificado com Cu-BTC</i>	71
3.2.2.9	<i>Estudos de voltamétrica cíclica em Cu-BTC/GCE na presença de captopril</i>	72
3.2.2.10	<i>Estudos de voltamétrica de pulso diferencial em Cu-BTC/GCE na presença de captopril</i>	73
3.2.2.11	<i>Preparo e análise da amostra real de captopril em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	74

3.2.2.12	<i>Estudos de voltametria cíclica em Cu-BTC/GCE na presença de cisteína</i>	74
3.2.2.13	<i>Estudos de voltametria de pulso diferencial em Cu-BTC/GCE na presença de cisteína</i>	74
3.2.2.14	<i>Estudos de voltametria cíclica em Cu-BTC/GCE na presença de glutathiona</i>	75
3.2.2.15	<i>Estudos de voltametria cíclica no eletrodo de ouro modificado com Cu-BTC na presença de glutathiona</i>	76
3.2.2.16	<i>Estudos de voltametria cíclica no GCE modificado com Au@Cu-BTC na presença de glutathiona</i>	76
3.2.2.17	<i>Estudos de voltametria de onda quadrada em Au@Cu-BTC/GCE na presença de glutathiona</i>	76
3.2.2.18	<i>Preparo e análise por SWV das amostras reais de glutathiona</i>	77
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
4.1	Estudos em Cu-BTC	79
4.1.1	<i>Estudo de CV das propriedades eletroquímicas de Cu-BTC/GCE</i>	79
4.1.2	<i>Influência do pH na resposta eletroquímica de Cu-BTC/GCE</i>	80
4.1.3	<i>Efeito da velocidade de varredura na corrente de pico anódica de Cu-BTC/GCE</i>	82
4.1.4	<i>Estudos de oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE por CV</i>	83
4.1.5	<i>Influência do pH na oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE</i>	85
4.1.6	<i>Efeito da velocidade de varredura na corrente de pico anódica de CAP em Cu-BTC/GCE</i>	87
4.1.7	<i>Estudos de oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	88
4.1.8	<i>Influência do pH na intensidade da corrente de pico anódica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	89
4.1.9	<i>Efeito da concentração de Cu-BTC e do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico anódica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	90

4.1.10	<i>Determinação dos parâmetros analíticos para a oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	91
4.1.11	<i>Determinação de CAP em amostras farmacêuticas</i>	93
4.1.12	<i>Estudos de oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE por CV</i>	94
4.1.13	<i>Influência do pH na oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE</i>	94
4.1.14	<i>Estudos de oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	97
4.1.15	<i>Efeito do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico anódica de CYS em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	97
4.1.16	<i>Determinação dos parâmetros analíticos para a oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE por DPV</i>	98
4.1.17	<i>Estudos de oxidação eletroquímica de GSH em Cu-BTC/GCE por CV</i>	100
4.2	Estudos de oxidação eletroquímica de GSH em Cu-BTC/Au por CV	101
4.3	Estudos de oxidação eletroquímica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por CV	102
4.3.1	<i>A influência do pH na resposta eletroquímica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por SWV</i>	103
4.3.2	<i>Efeito da concentração de Au@Cu-BTC e do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico anódica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por SWV</i>	105
4.3.3	<i>Efeito da velocidade de varredura na oxidação de GSH em Au@Cu-BTC/GCE</i>	106
4.3.4	<i>Determinação dos parâmetros analíticos para a oxidação eletroquímica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por SWV</i>	108
4.3.5	<i>Determinação de GSH em amostras reais</i>	110
5	CONCLUSÕES	112
	REFERÊNCIAS	113
	ANEXO A – IMAGENS DE MICROSCOPIA E ANÁLISES	146
	ANEXO B – ARTIGOS PUBLICADOS	149

1 INTRODUÇÃO

Compostos organossulfurados constituem uma classe de moléculas orgânicas que contêm, pelo menos, uma ligação covalente entre carbono e enxofre (CREMLYN, 1996). Dentre o grande número de compostos organossulfurados existentes, destacam-se os tióis, análogos de álcoois e fenóis nos quais o átomo de oxigênio é substituído por um átomo de enxofre (STOKER, 2012). Os tióis constituem uma grande classe de compostos, naturais ou sintéticos, que apresentam como característica principal o forte odor que exalam como, por exemplo, o etanotiol e o butan-1-tiol, usados como odorantes do gás de cozinha (FINK, 2012; DIKSHITH, 2011), ou, por outro lado, podem apresentar aromas agradáveis quando em baixas concentrações como, por exemplo, o 2-furfuriltiol e a 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona, responsáveis pelos aromas de cafés e vinhos, respectivamente (HERDERICH et al., 2011; DAVIS & QIAN, 2011).

Muitos tióis possuem importância biológica e farmacêutica. Exemplos desses tióis incluem a cisteína (CYS, do inglês *Cysteine*), um aminoácido não essencial que desempenha importante papel na bioquímica de proteínas e peptídeos menores (DARDEVET, 2016), a glutatona (GSH), um antioxidante hidrossolúvel presente em grandes quantidades nas células animais (PIZZORNO, 2014), o captopril (CAP), um fármaco usado principalmente no controle da pressão arterial (CAPTOPRIL, 2020), a N-acetilcisteína (NAC), um metabólito da CYS produzido dentro do corpo humano usado principalmente no tratamento de envenenamento por acetaminofeno (PRESCOTT & CRITCHLEY, 1983) e a penicilamina, um medicamento antirreumático usado no tratamento de pacientes com artrite reumatoide ativa (PENICILAMINA, 2020).

Em função da importância bioquímica de muitos tióis, cresceu-se o interesse no desenvolvimento de métodos de monitoramento de rotina da concentração desses compostos em amostras biológicas e formulações farmacêuticas (TZANAVARAS, 2010). Diversos métodos convencionais de análise instrumental, tais como espectrofotométrico (KARLICEK & SOLICH, 1998; ZAIA et al., 1999; TSIOMLEKTSIS, 2010), fluorimétrico (IMAI et al., 1983; KARAKOSTA, 2009), quimiluminescente (ZHANG et al., 1996) e cromatográfico (BAHMAEI et al., 1997; SYPNIEWSKI & BALD, 1996) são relatados na literatura como úteis na determinação desses tióis em níveis de traço.

Métodos eletroquímicos, por sua vez, têm ganhado amplo uso na análise de traços como alternativa aos métodos convencionais, pois algumas técnicas voltamétricas classificam-se entre os meios mais sensíveis para medição direta da concentração de analitos, além de

fornecerem informações sobre os estados de oxidação das espécies químicas envolvidas e o reconhecimento de efeitos de complexação (COMPTON & BANKS, 2018). Outra possibilidade é a fabricação de dispositivos portáteis que podem ser utilizados no monitoramento contínuo dessas espécies bioativas (AREIAS et al., 2016a).

Trabalhos utilizando voltametria cíclica (CV, do inglês *Cyclic Voltammetry*) (AREIAS et al., 2016a; AREIAS et al., 2015; LEE et al., 2014; ENSAFI & ARABZADEH, 2012), voltametria de pulso diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*) (ZARGAR et al., 2015; HOSSEINI et al., 2013a; ENSAFI et al., 2011b) e voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*) (VITORETI et al., 2014) em eletrodos com e sem modificação de superfície foram relatados na literatura como simples, rápidos e sensíveis o bastante para detecção de tióis de interesse biológico e farmacêutico em níveis de traço.

O interesse pelo uso de técnicas voltamétricas na determinação eletroanalítica de tióis pode ter aumentado consideravelmente nos últimos anos, mas ainda são poucos os relatos na literatura de trabalhos que se utilizam de redes metalorgânicas (MOFs, do inglês *Metal-Organic Frameworks*) como modificadoras de eletrodos sólidos para esse fim (KUMAR et al., 2015, POURNARA et al., 2019). Isso pode estar associado ao fato de que MOFs convencionais não são boas condutoras elétricas devido, principalmente, ao caráter isolante de seus ligantes orgânicos (SADAKIYO et al., 2009), por esse motivo, houve um crescimento no interesse pela síntese de MOFs dopadas com outros materiais, tais como nanopartículas, espécies iônicas e nanotubos, permitindo que propriedades eletrônicas fossem nelas induzidas, possibilitando sua utilização como sensores eletroquímicos (KUMAR et al., 2015). Conseqüentemente, trabalhos recentes relatam o uso de MOFs amino-funcionalizada (WANG et al., 2014), dopada com nitrogênio (CUI et al., 2014) e com nanopartículas de ouro e sílica (HOSSEINI et al., 2013a) como modificadores de eletrodos sólidos na determinação de analitos orgânicos e inorgânicos.

Neste trabalho, discute-se o uso de uma MOF formada por íons de cobre conectados pelo ligante orgânico ácido benzeno-1,3,5-tricarboxílico (BTC) – $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$, HKUST-1 ou Cu-BTC – como modificadora da superfície de eletrodos sólidos na determinação de tióis bioativos, como CAP, CYS e GSH. Para isso, foi necessário o aumento das propriedades eletrônicas de Cu-BTC antes da modificação da superfície eletródica, que foi realizado de duas formas, ou seja, foram preparados dois modificadores diferentes. O primeiro foi através do uso de uma solução aquosa de um copolímero de acrilamida e acrilato de sódio como dispersante de Cu-BTC comercial e o segundo foi através da síntese de Cu-BTC dopada com nanopartículas de ouro (Au@Cu-BTC), a qual foi dispersa em uma solução alcóolica de dimetilformamida (DMF). No primeiro caso, a MOF comercial dispersa no copolímero de acrilamida e acrilato de

sódio foi usada na determinação eletroanalítica de CAP e CYS por DPV. No segundo caso, Au@Cu-BTC foi usada na determinação de GSH por SWV. O eletrodo sólido utilizado em ambos os estudos foi, especificamente, um eletrodo de carbono vítreo (GCE, do inglês *Glassy Carbon Electrode*), embora também tenha sido testado, em alguns momentos, em eletrodo de ouro. As metodologias desenvolvidas foram aplicadas na análise de comprimidos, para o CAP, e de amostras de sangue desproteinizadas e suplemento alimentar, para a GSH.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Compostos Organossulfurados

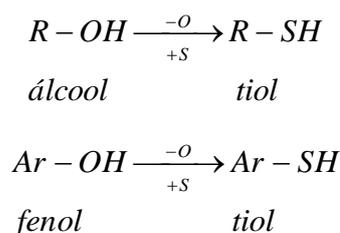
Os compostos organossulfurados podem ser definidos como moléculas que possuem uma ou mais ligações carbono-enxofre (CREMLYN, 1996). Eles estão presentes em diversos locais, inclusive no espaço interestelar (OPPENHEIMER & DALGARNO, 1974) no interior de vulcões (DE ROSA et al., 1975) e nas profundezas dos oceanos (MOORE, 1971).

Os compostos organossulfurados podem ser encontrados naturalmente na forma de certos aminoácidos, tais como CYS e metionina (MET), do tripeptídeo GSH, de enzimas, coenzimas, vitaminas e hormônios (CREMLYN, 1996). Outros compostos organossulfurados de interesse incluem o gás mostarda – sulfeto de bis(2-cloroetil) – um potente agente químico de guerra com potencial carcinogênico (DOI et al., 2011), a cefalosporina e a penicilina, poderosos antibióticos (PICHICHERO, 2006). Compostos organossulfurados sintéticos podem incluir as polissulfonas, uma classe de polímeros com alta estabilidade térmica e oxidativa (ROSE, 1974), os politiofenos, compostos heterocíclicos amplamente utilizados como substratos para síntese de muitos produtos agroquímicos e farmacêuticos (SWANSTON, 2006) e alguns solventes orgânicos, tais como o dimetil sulfóxido. Dentre os diversos tipos de compostos organossulfurados existentes, a classe dos tióis recebe destaque neste trabalho.

2.2 Tióis

Tióis, tioálcoois ou mercaptanas (R–SH) são compostos organossulfurados análogos de álcoois e fenóis nos quais o átomo de oxigênio é substituído por um átomo de enxofre (Esquema 1) (STOKER, 2012).

Esquema 1 – Representação geral de um tiol como análogo de álcool ou fenol



Fonte: STOKER (2012)

Há um grande número de tióis naturais ou sintéticos com diferentes características e aplicações. Muitos tióis têm como principal característica o forte odor que exalam. O 3-metil-

butan-1-tiol, por exemplo, é encontrado nas glândulas perianais de cangambás (*Mephitis mephitis*) e lhes conferem o mau cheiro (ANDERSEN & BERNSTEIN, 1975) e o 2-propanotiol está presente no odor do alho (KUWATA et al., 1982). Para alguns tióis, como a 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona, presente nos vinhos Sauvignon Blanc (DAVIS & QIAN, 2011), e o 2-furfuriltiol, presente no aroma do café fresco (HERDERICH et al., 2011), o odor varia de agradável em baixos níveis a desagradável em altos níveis.

Devido aos seus fortes odores, os tióis, como o butan-1-tiol e o etanotiol, são utilizados como agentes de alerta para vazamentos de gás liquefeito de petróleo (FINK, 2012). Há também outras aplicações de tióis que não estão diretamente relacionadas a seus fortes odores como, por exemplo, a utilização do 2-mercaptobenzotiazol como acelerador na vulcanização da borracha (DOGADKIN et al., 1958) ou como inibidor de corrosão (CEN et al., 2019).

Muitos tióis são compostos bioativos, ou seja, podem ser encontrados naturalmente em sistemas biológicos ou usados como fármacos (MOIDOVEANU & DAVID, 2002).

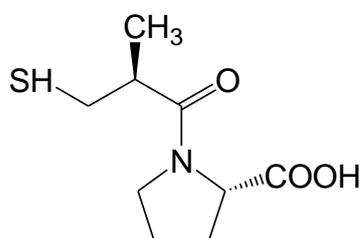
Tióis bioativos constituem uma classe importante de compostos de interesse biológico e farmacêutico. Alguns deles são poderosos antioxidantes que protegem as células contra as consequências dos danos induzidos pelos radicais livres, tais como a GSH e o ácido dihidrolipóico (SEN & PACKER, 2000; WLODEK, 2002), outros como CAP e NAC, podem ser utilizados como medicamentos na prevenção e tratamento de numerosos distúrbios crônicos (BOWMAN et al., 1983; PRESCOTT & CRITCHLEY, 1983; CAPTOPRIL, 2020).

Dentre o grande número de tióis bioativos, naturais ou sintéticos, recebem destaque neste trabalho o CAP, a CYS e a GSH.

2.2.1 Captopril

O CAP (Figura 1) é um fármaco indicado no tratamento de pacientes com hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva, infarto do miocárdio e nefropatia diabética (doença renal causada por diabetes) (CAPTOPRIL, 2020).

Figura 1 – Estrutura do CAP



Fonte: CREMLYN (1996)

Seu uso e sua venda são autorizados e regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a partir da portaria nº 3.916, de 30 outubro de 1998 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998).

As principais propriedades físico-químicas do CAP estão resumidas na Tabela 1.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas do CAP

Propriedades	Características
Aparência	Pó cristalino branco
Nomenclatura (IUPAC)	Ácido (2S)-1-[(2S)-2-metil-3-sulfanilpropanoil] pirrolidino-2-carboxílico
Massa molar	217,29 g mol ⁻¹
Solubilidade em água	190,0 g L ⁻¹ (25°C)
Ponto de fusão	103–104°C

Fonte: Dados obtidos do Sistema de Informações PUBCHEM (2020a)

O CAP foi inicialmente sintetizado a partir de peptídeos naturais extraídos do veneno da jararaca (*Bothrops jararaca*) (CUSHMAN et al., 1977). A história da sua síntese teve como ponto de partida a descoberta da bradicinina (BRA), um hipotensor e espasmogênico da musculatura lisa, gerada no plasma sanguíneo a partir da exposição deste ao veneno da *Bothrops jararaca* (ROCHA E SILVA et al., 1949). Embora fosse conhecida desde a década de 1940, foi só a partir do início da década de 1960 que a estrutura química da BRA foi elucidada (ELLIOTT et al., 1960) e, com isso, pôde ser sintetizada em laboratório (BOISSONAS, 1962). No entanto, as propriedades hipotensoras da BRA sintética eram completamente distintas daquela gerada pelo veneno. Foi só em 1965 que um pesquisador brasileiro observou que no veneno propriamente dito havia um potente fator de potencialização da BRA (BPF, do inglês *Bradykinin Potentiating Factor*) (FERREIRA et al., 1965).

O BPF foi descrito como uma família de pequenos peptídeos que atuavam na inibição de enzimas inativadoras da BRA (FERREIRA et al., 1965). Uma vez que o maior sítio de inativação da BRA era semelhante ao da enzima conversora da angiotensina (ECA), uma enzima que atua no controle da pressão arterial (ERDOS & WOHLER, 1963), o BPF passou então a ser estudado como inibidor da ECA. Do BPF foram isolados alguns peptídeos, dos quais o teprotídeo (TEP), um nonapeptídeo, foi o que apresentou maior habilidade em inibir a conversão da angiotensina I em angiotensina II (FERREIRA et al., 1970). Uma vez que o TEP

não era aceitável do ponto de vista clínico, pois não era oralmente ativo, seguiram-se estudos para obtenção de derivados sintéticos inspirados no TEP.

A contribuição fundamental para a obtenção desses derivados sintéticos veio do estudo envolvendo a síntese de inibidores não-peptídicos da carboxipeptidase-A, uma metaloenzima dependente de zinco (BYERS et al., 1972), semelhante à ECA. Esse enfoque orientou um grupo de cientistas a incluírem um grupamento tiol primário no protótipo, de forma a favorecer as interações efetivas do candidato a fármaco com a enzima-alvo, explorando a forte interação entre enxofre e zinco. Com isso, o CAP pôde ser sintetizado a partir da substituição do grupamento carboxílico terminal do derivado peptídico pelo grupamento tiol correspondente (CUSHMAN et al., 1977).

2.2.1.1 Características farmacológicas

Comercialmente vendido sob diversos nomes fantasia, tais como CAPOTRINEO®, CAPOX®, CAPTOLAB® dentre outros, o CAP pode ser encontrado na forma de comprimidos de 12,5 mg, 25 mg e 50 mg para administração oral (CAPTOPRIL, 2020). Suas características farmacológicas incluem:

Mecanismo de Ação

Seu mecanismo de ação hipotensora no organismo ocorre basicamente na sua eficácia de inibição da ECA provocando o relaxamento dos vasos sanguíneos, reduzindo a pressão arterial (KOROLKOVAS, 1988).

Farmacocinética

A administração de doses terapêuticas de comprimidos de CAP deve ser feita uma hora antes das refeições, uma vez que a presença de alimentos no trato gastrointestinal pode reduzir a absorção do fármaco em cerca de 30 a 40% (SINGHVI et al., 1982). Após ingestão de uma dose individual do medicamento, observa-se redução da pressão arterial em um período de 60 a 90 minutos. Para se atingir efeitos terapêuticos máximos, o tratamento pode se estender por várias semanas. Uma vez no organismo, em um período de 24 h, mais de 95% da dose absorvida é eliminada na urina, na qual 40 a 50% são medicamentos inalterados e o restante são metabólitos do CAP (ONOHAMA et al., 1981).

Posologia

Para pacientes com hipertensão, recomenda-se aos profissionais que o tratamento com CAP seja iniciado com a dosagem de 50 mg do fármaco uma vez ao dia (u.v.d) ou de 25 mg duas vezes ao dia (d.v.d). Não havendo redução satisfatória da pressão sanguínea após duas ou mais semanas, a dosagem pode ser aumentada para 100 mg u.v.d ou 50 mg d.v.d, acompanhada da restrição no consumo de sódio. Se, após algumas semanas, a pressão sanguínea ainda não seja satisfatoriamente controlada, pode-se administrar um diurético (por exemplo, hidroclorotiazida, 25 mg ao dia) juntamente com CAP. O aumento da dosagem de CAP pode ser novamente necessário, mas não deve exceder a quantidade diária de 450 mg (CAPTOPRIL, 2020).

No tratamento da insuficiência cardíaca, a dose diária inicial recomendada à maioria dos pacientes é de 25 mg d.v.d ou três vezes ao dia (t.v.d). A dosagem pode aumentar para 50 mg d.v.d ou t.v.d caso uma resposta satisfatória não seja alcançada. Se o paciente ainda não apresentar melhora clínica, a dose pode ser aumentada gradativamente após duas semanas, desde que não ultrapasse uma dosagem diária máxima de 450 mg (CAPTOPRIL, 2020).

Para pacientes que sofrem de disfunção ventricular esquerda após infarto do miocárdio, recomenda-se que a terapia seja iniciada três dias após o infarto. Após dose inicial de 6,25 mg, o tratamento com CAP deve ser seguido com a administração de 12,5 mg do fármaco t.v.d. A dose deve então ser aumentada para 25 mg t.v.d e novamente até atingir uma dose alvo de 50 mg t.v.d. O tratamento pode ser feito concomitantemente com a administração de trombolíticos, aspirina e bloqueadores beta (CAPTOPRIL, 2020).

Para pacientes que apresentem nefropatia diabética, a dose recomendada de CAP para uso prolongado é de 25 mg t.v.d. Todos os tratamentos devem ser realizados sob supervisão médica (CAPTOPRIL, 2020).

Contraindicações

Seu uso não é recomendado para pacientes com hipersensibilidade a inibidores da ECA, assim como para gestantes, uma vez que a sua atuação na inibição da ECA pode causar lesões e morte ao feto em desenvolvimento (SADECK et al., 1997).

2.2.1.2 Métodos de análise de captopril

É comum, durante o desenvolvimento de um novo fármaco, a realização de estudos químicos detalhados sobre controle de qualidade, estabilidade, identificação e ensaios clínicos

(SCHIRMER, 1982). Tais estudos promoveram o desenvolvimento contínuo de métodos de análise (BASELT & CRAVEY, 1995). Em hospitais, a análise de medicamentos é normalmente empregada para monitoramento terapêutico e toxicologia de emergência (BASELT, 1987). Com base nessas observações, é importante que métodos adequados de análise devam ser aplicados a compostos bioativos, tanto para a determinação dos princípios ativos em formulações farmacêuticas quanto para ensaios clínicos em amostras biológicas.

Vários métodos quantitativos de análise instrumental para determinação de CAP em formulações farmacêuticas são descritos na literatura. Tais métodos podem ser úteis no controle de qualidade sobre a correta dosagem do medicamento (NAVEDD, 2013).

Além da determinação de CAP em formulações farmacêuticas, os métodos de análise instrumental também podem ser usados no estudo da farmacocinética de CAP no organismo por análise de amostras biológicas, tais como plasma ou urina (KAWAHARA et al., 1981).

A Tabela 2 resume alguns trabalhos da literatura que utilizam métodos convencionais de análise instrumental na determinação de CAP em amostras farmacêuticas.

Tabela 2 – Métodos convencionais de análise utilizados na determinação de CAP em amostras biológicas e formulações farmacêuticas

Método	LDR ^a	LOD ^b	Referência
Espectrofotométrico	10,0 – 50,0 µg mL ⁻¹	0,66 µg mL ⁻¹	EL-ENANY et al., 2008
Fluorimétrico	0 – 20 mg L ⁻¹	2,3 µg L ⁻¹	KARAKOSTA, 2009
Quimiluminescente	1 – 200 µmol L ⁻¹	0,2 mmol L ⁻¹	ZHANG et al., 1996
Quimiluminescente	20 – 150 µmol L ⁻¹	2 µmol L ⁻¹	LIMA et al., 2016
Espectrofotométrico	0,1 – 1,5 µg mL ⁻¹	20 ng mL ⁻¹	EL-SHABRAWY et al., 2004
Fluorimétrico	0,92 – 460 µmol L ⁻¹	0,18 µmol L ⁻¹	SHI et al., 2018
Quimiluminescente	0,3 – 15,0 µg mL ⁻¹	0,05 µg mL ⁻¹	FU et al., 2017
Cromatográfico	50 – 1200 ng mL ⁻¹	10 ng mL ⁻¹	SYPNIEWSKI et al., 1996
Cromatográfico	5 – 500 ng mL ⁻¹	2 ng mL ⁻¹	LI et al., 1996

^a Faixa de trabalho linear. ^b Limite de detecção (As siglas vêm do inglês).

Fonte: O autor (2020)

Além dos métodos de análise instrumental até aqui relatados, métodos eletroquímicos têm avançado bastante no campo da análise de fármacos como o CAP. Muito disso se deve às técnicas voltamétricas, tais como DPV e SWV, classificarem-se entre os meios mais sensíveis

para medição direta da concentração de analitos (COMPTON & BANKS, 2018). Além disso, são técnicas de análise rápidas, que permitem a determinação simultânea de vários analitos, possibilitam a determinação de parâmetros cinéticos e mecanísticos e requerem volumes muito pequenos de amostra, geralmente na faixa de microlitros (MOLINA & GONZÁLEZ, 2016).

A Tabela 3 mostra um resumo de alguns sensores eletroquímicos encontrados na literatura desenvolvidos para determinação eletroanalítica de CAP em amostras farmacêuticas e biológicas.

Tabela 3 – Sensores eletroquímicos utilizados na determinação de CAP em amostras farmacêuticas e biológicas

Eletrodo	Técnica	LOD	Referência
BDD ^a	CV	25 $\mu\text{mol L}^{-1}$	SIANGPROH et al., 2003
CPE ^b modificado	DPV	1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$	SHAHROKHIAN et al., 2005
SMDE ^c	SWV	0,029 $\mu\text{mol L}^{-1}$	PARHAM & ZARGAR, 2005
GCE	CV	0,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	AREIAS et al., 2016a
GE ^d	DPV	0,019 $\mu\text{mol L}^{-1}$	SHETTI et al., 2015
BDD	SWV	36,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	VITORETI et al., 2014
CPE/FcCA ^e /TiO ₂	SWV	0,0096 $\mu\text{mol L}^{-1}$	RAOOF et al., 2011
MWCNT ^f /CuO	DPV	0,29 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ZARGAR et al., 2015

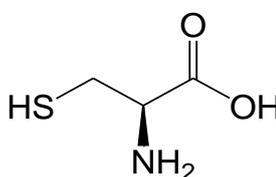
^a Diamante dopado com boro. ^b Eletrodo de pasta de carbono. ^c Eletrodo de mercúrio de gota estática. ^d Eletrodo de ouro. ^e Ácido carboxílico ferroceno. ^f Nanotubos de carbono de paredes múltiplas. (Todas as siglas vêm do inglês).

Fonte: O autor (2020)

2.2.2 Cisteína

A CYS (Figura 2) é um aminoácido não essencial encontrado na constituição da maior parte das proteínas (DEVLIN, 2010).

Figura 2 – Estrutura da CYS



Fonte: DEVLIN (2020)

As principais propriedades físico-químicas da CYS estão resumidas na Tabela 4.

Tabela 4 – Propriedades físico-químicas da CYS

Propriedades	Características
Aparência	Cristal branco
Nomenclatura (IUPAC)	Ácido (2R)-2-amino-3-sulfanilpropanóico
Massa molar	121,16 g mol ⁻¹
Solubilidade em água	277,0 g L ⁻¹ (25°C)
Ponto de fusão	240°C

Fonte: Dados obtidos do Sistema de Informações PUBCHEM (2020b)

Seu nome tem origem na palavra grega *kustis*, que significa “bexiga”, pois ela foi descoberta a partir da análise de cálculos urinários pelo cientista inglês William Wollaston em 1810, sob a forma de cistina (CST) (WOLLASTON, 1810 apud VICKERY et al., 1931, p. 174-175), uma substância composta por duas moléculas de CYS unidas por uma ponte dissulfeto, um tipo de ligação covalente entre dois átomos de enxofre (–S–S–) (DEVLIN, 2010).

Durante muito tempo, a CST e a CYS trouxeram um enorme quebra-cabeça para os químicos. Quando Karl Mörner isolou pela primeira vez a CST a partir da hidrólise de proteínas em 1899 (MÖRNER, 1899 apud VICKERY, 1972, p. 104), o grande problema era descobrir como essa substância se combinava na molécula da proteína. Gustav Embden sugeriu em 1901 que a CST isolada por Mörner era, na verdade, um produto secundário da hidrólise da proteína, que o resíduo de meia CST era de fato a unidade de aminoácido na cadeia peptídica de proteínas contendo enxofre (EMBDEN, 1901 apud VICKERY, 1972, p. 104).

Hoje não há mais dúvidas de que o resíduo de meia CST (a CYS) é a unidade real contida na proteína, mas desde a sugestão de Embden em 1901, levaram-se mais de 50 anos de pesquisa para que isso fosse descoberto a partir de estudos de hidrólise da insulina por métodos cromatográficos (RYLE et al., 1955 apud VICKERY, 1972, p. 105-106).

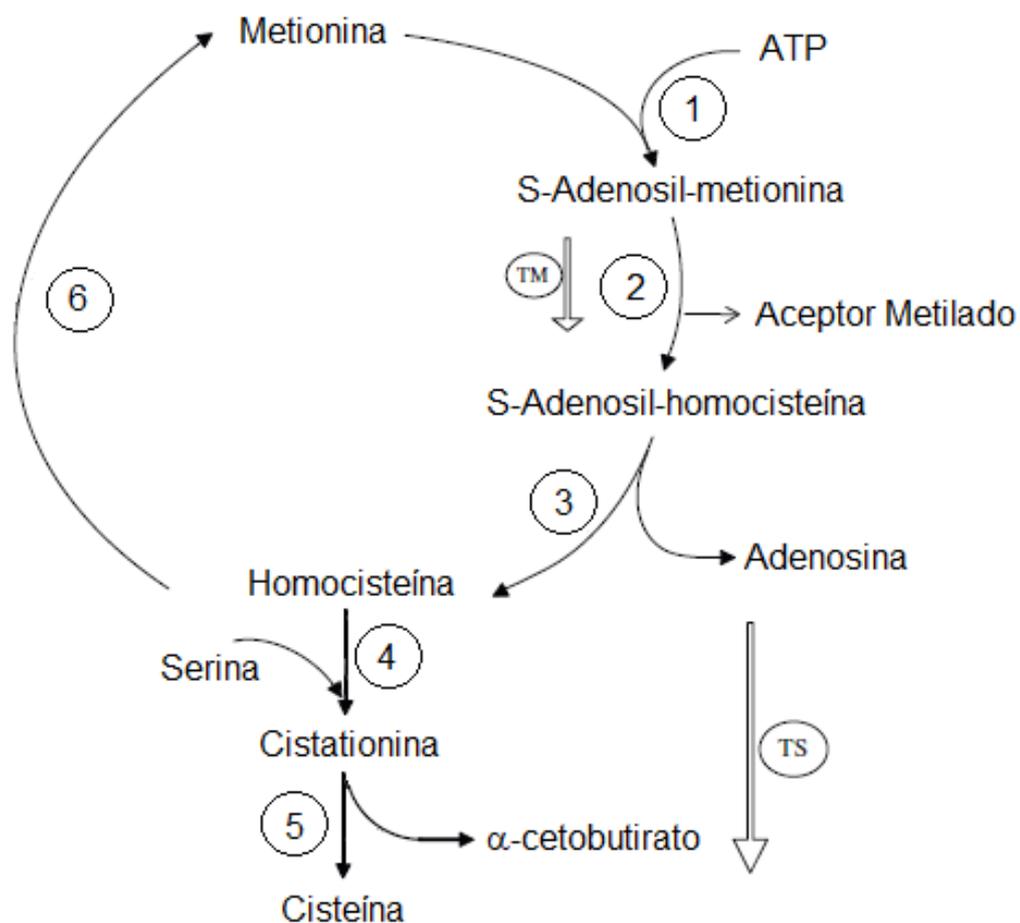
2.2.2.1 Biossíntese da cisteína

A CYS é encontrada naturalmente em diversos alimentos tais como carne, laticínios, ovos, nozes, sementes e legumes, além disso, pode ser sintetizada no corpo humano a partir da transmetilação (TM) da MET, um aminoácido essencial que se converte inicialmente em homocisteína (HCYS) que, por sua vez, sofre transulfuração (TS) a partir da reação com a serina

para produzir cistationina, cujo produto da clivagem origina a CYS (DEVLIN, 2010; STIPANUK, 1986).

A Figura 3 mostra um esquema de biossíntese da CYS a partir do metabolismo da MET.

Figura 3 – Metabolismo da MET no organismo via TM e TS para biossíntese da CYS. Os números representam enzimas ou sequência da reação: (1) L-metionina-s-adenosil-transferase; (2) Transmetilação; (3) Adenosil-homocisteinase; (4) Cistationina- β -sintase; (5) Cistationase; (6) Remetilação (RM) da HCYS. ATP (Trifosfato de adenosina)



Fonte: Adaptado de DARDEVET (2016)

A TS da HCYS para originar CYS depende da vitamina B6, enquanto que a sua RM para gerar a MET é dependente de vitamina B12 e ácido fólico (DARDEVET, 2016).

A presença do grupo sulfidril ($-SH$) no final da cadeia lateral da CYS é que é a responsável pela sua alta capacidade reativa e, portanto, confere suas muitas funções biológicas nos seres humanos (FAHEY, 1977).

2.2.2.2 Importância biológica da cisteína

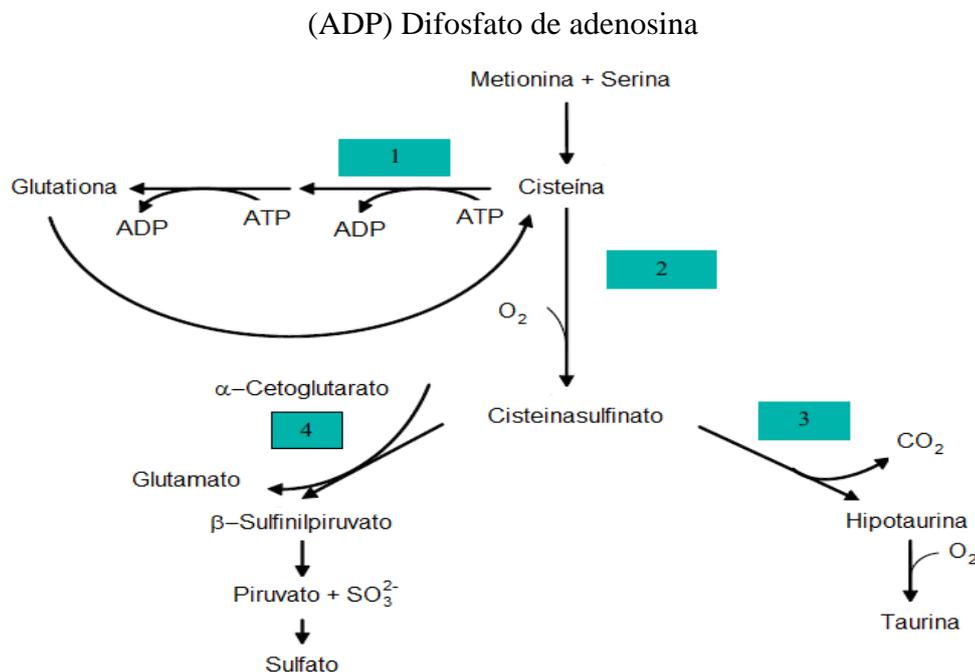
A importância biológica da CYS está associada ao seu metabolismo no organismo. A CYS é um aminoácido necessário para a síntese de proteínas e compostos não proteicos, como a taurina (TAU) e o sulfato inorgânico (DARDEVET, 2016).

Juntamente com o ácido glutâmico (GLU) e a glicina (GLI), a CYS é um constituinte essencial da GSH, um poderoso antioxidante encontrado em todos os tecidos humanos, cuja capacidade de proteger os tecidos gordurosos dos efeitos prejudiciais causados pelos radicais livres é atribuída especificamente à presença do resíduo de CYS na sua estrutura (LU, 2013).

O metabolismo da CYS é regulado por algumas enzimas, as quais atuam para conservar as concentrações de CYS dentro da faixa ideal a fim de apoiar a síntese de seus metabólitos e mantê-la abaixo do nível de citotoxicidade (STIPANUK et al., 2006). Nesse sentido, a cisteína dioxigenase (CDO) catalisa a oxidação do grupo sulfidríla da CYS, produzindo cisteinasulfinato, um precursor da síntese da TAU, bem como substrato da síntese do sulfato inorgânico. Por sua vez, a γ -glutamilcisteína sintetase (GCS) catalisa a reação de síntese da GSH (STIPANUK et al., 2002).

A Figura 4 sintetiza as vias de metabolismo da CYS para síntese de seus principais metabólitos a partir da catálise de algumas enzimas.

Figura 4 – Vias do metabolismo da CYS. Os números representam as enzimas: (1) GCS; (2) CDO; (3) Cisteína sulfinato descarboxilase (CSD); (4) Aspartato aminotransferase (AST).



Fonte: Adaptado de DARDEVET (2016)

O fator determinante do tipo de metabólito sintetizado é a concentração de CYS no organismo (KWON & STIPANUK, 2001). Quando a concentração de CYS é alta (ensaios realizados com incubação de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de CYS nos hepatócitos de ratos), a síntese de sulfato e TAU é favorecida, devido a maior produção de cisteinasulfinato, por outro lado, a síntese de GSH é favorecida quando a concentração de CYS é baixa (incubação de $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$) (STIPANUK et al., 1992).

Resíduos de CYS também são encontrados na constituição da maioria das proteínas, contribuindo na estabilização de suas estruturas terciárias (pelo estabelecimento das pontes dissulfeto) e podendo atuar como sítios ativos das mesmas, dada a alta reatividade do grupo –SH presente em sua estrutura (DEVLIN, 2010; NELSON & CREIGHTON, 1994).

Por todos esses motivos, o entendimento claro do metabolismo da CYS, o conhecimento de suas necessidades e os fatores que o impactam são vantajosos para a saúde humana.

2.2.2.3 Implicações do uso de cisteína como suplemento alimentar na saúde humana

A baixa ingestão de alimentos ricos em vitamina B6, vitamina B12, ácido fólico e MET pode levar a uma deficiência de CYS, uma vez que esses nutrientes estão envolvidos em sua biossíntese. Níveis inadequados de CYS podem prejudicar a função do sistema imunológico, além de diminuir a capacidade de prevenir danos ao organismo causados pelos radicais livres (DROGE, 2005). Dessa forma, a CYS pode ser usada como um complemento para evitar sua falta de suprimento.

Em relação ao uso como suplemento nutricional, a CYS pode ser também encontrada nas formas de NAC ou de cloridrato de L-cisteína. Suplementos à base de CYS possuem regulamentação na ANVISA a partir da Instrução Normativa n° 28, de 26 de julho de 2018 (BRASIL, 2018).

Alguns trabalhos relatados na literatura indicam benefícios à saúde pelo uso de suplementos alimentares à base de CYS e seus derivados, tais como poder antioxidante (BADALOO et al., 2002), regulação da função mucolítica (MEDURI et al., 2009), fortalecimento dos cabelos (PETRI et al., 1990), prevenção de doenças cardíacas (GO & JONES, 2011), prevenção de diabetes (JAIN, 2012) e proteção do sistema digestivo (LINDERBORG et al., 2011).

Devido a essas importantes implicações, a CYS atraiu grande interesse em nível industrial, principalmente em áreas relacionadas a produtos farmacêuticos, medicamentos e nutracêuticos. No entanto, a eficácia de suplementos à base de CYS ainda requer estudos mais

aprofundados baseados em ensaios clínicos para que se haja um consenso sobre suas reais contribuições na saúde humana (PLAZA et al., 2018).

2.2.2.4 Métodos de análise de cisteína

Uma vez que a CYS está presente na constituição de diversas proteínas e peptídeos menores, determinar quantitativamente as concentrações de CYS em amostras biológicas e farmacêuticas é de grande importância, pois constitui um primeiro passo para a compreensão dos mecanismos de ação de espécies químicas que a utilizem como precursor.

Vários métodos quantitativos de análise instrumental para determinação de CYS em suplementos alimentares e amostras biológicas são descritos na literatura. A Tabela 5 resume alguns trabalhos que se utilizam desses ensaios.

Tabela 5 – Métodos convencionais de análise utilizados na determinação de CYS em amostras farmacêuticas e biológicas

Método	LDR	LOD	Referência
Espectrofotométrico	1,0 – 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	2,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HORMOZI-NEZHAD et al., 2012
Espectrofotométrico	0,02 – 6,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$	-	EID, 1998
Fluorimétrico	10 – 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	-	PÉREZ-RUIZ et al., 1991
Fluorimétrico	0,2 – 8,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ENSAFI et al., 2009
Quimiluminescente	2,0 – 500,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$	PÉREZ-RUIZ et al., 2002
Quimiluminescente	1,0 – 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,67 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ZHU et al., 2003
Cromatográfico	10 – 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$	GLOWACKI & BALD, 2009
Cromatográfico	0,5 – 750,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$	IVANOV et al., 2001

Fonte: O autor (2020)

Além dos métodos de análise instrumental relatados, métodos eletroquímicos, em especial os que usam técnicas voltamétricas, também têm sido utilizados na determinação de CYS em amostras farmacêuticas e biológicas.

A Tabela 6 resume alguns trabalhos da literatura que utilizam técnicas eletroquímicas na determinação voltamétrica de CYS nessas amostras em eletrodos sólidos com e sem modificação de superfície.

Tabela 6 – Sensores eletroquímicos utilizados na determinação de CYS em amostras farmacêuticas e biológicas

Eletrodo	Técnica	LOD	Referência
Pt/POAP ^a /GCE	CV	0,08 $\mu\text{mol L}^{-1}$	LIU et al., 2010
CTC ^b /CG ^c	CV	0,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$	LEE et al., 2015
GCE	CV	0,03 $\mu\text{mol L}^{-1}$	AREIAS et al., 2016b
DMBQ ^d /ZnO/NPs ^e /CPE	SWV	0,05 $\mu\text{mol L}^{-1}$	KHALILZADEH et al., 2015
p-APM ^f /CNTPE ^g	DPV	0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ENSAFI et al., 2011a

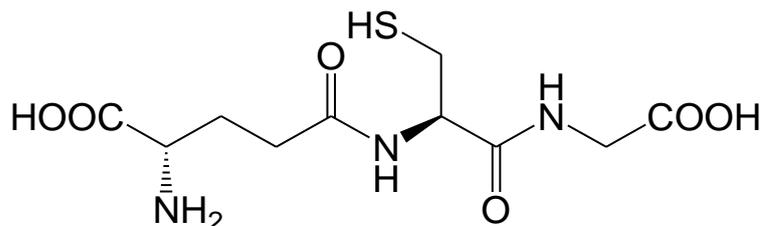
^a Poli(o-aminofenol). ^b Ciclotricatecilenol. ^c Eletrodo de carbono. ^d 8,9-dihidróxi-7-metil-12H-benzotiazol [2,3-b]quinazolin-12-ona. ^e Nanopartículas. ^f p-aminofenol. ^g Eletrodo de pasta de nanotubos de carbono. (Todas as siglas vêm do inglês).

Fonte: O autor (2020)

2.2.3 Glutathiona

A GSH (Figura 5), como já discutido anteriormente, é um poderoso antioxidante presente nas células animais (PIZZORNO, 2014).

Figura 5 – Estrutura da GSH



Fonte: CREMLYN (1996)

Suas principais características físico-químicas são descritas na Tabela 7.

Tabela 7 – Propriedades físico-químicas da GSH

Propriedades	Características
Aparência	Pó cristalino branco
Nomenclatura (IUPAC)	Ácido (2S)-2-amino-5-[[[(2R)-1-(carboximetilamino)-1-oxo-3-sulfanilpropan-2-il]amino]-5-oxopentanóico
Massa molar	307,33 g mol^{-1}
Solubilidade em água	292,5 g L^{-1} (25°C)
Ponto de fusão	195°C

Fonte: Dados obtidos do Sistema de Informações PUBCHEM (2020c)

A GSH foi descoberta em 1888 por J. de Rey-Paihade a partir da reação de extratos de leveduras com enxofre elementar. Das palavras gregas para “amor” e “enxofre”, ele resolveu dar o nome de *philothion* para sua nova substância (DE REY-PAIHADA, 1888 apud WU, 2013, p. 149). Estudos subsequentes levaram Frederick G. Hopkins a sugerir em 1921 que o *philothion* se tratava de um dipeptídeo formado por CYS e GLU. A presença de GLI na estrutura foi ignorada muito provavelmente pela interpretação errada do teste de Van Skyle para a determinação de aminoácidos contendo o grupo amina. Hopkins resolveu dar o nome de “glutathiona” ao composto, pois preservava a terminação do nome original e acrescentava um lembrete da existência do GLU na sua estrutura (HOPKINS, 1921 apud WU, 2013, p. 149).

Com base no conteúdo de nitrogênio e enxofre da GSH isolada de leveduras, sangue e fígado, G. Hunter e B. A. Eagles indicaram em 1927 que a GSH não era um dipeptídeo, mas se tratava de um tripeptídeo formado por GLU, CYS e um aminoácido adicional de baixo peso molecular (HUNTER & EAGLES, 1927 apud WU, 2013, p. 149–150). Em uma reinvestigação em 1929, Hopkins admitiu que a presença GLI havia sido negligenciada em seu trabalho anterior e, com isso, sugeriu que a GSH era um tripeptídeo formado por GLU, CYS e GLI, o qual foi confirmado em estudos subsequentes por síntese química e enzimática, degradação e métodos físicos (HOPKINS, 1929 apud WU, 2013, p. 150).

2.2.3.1 *Biossíntese da glutathiona*

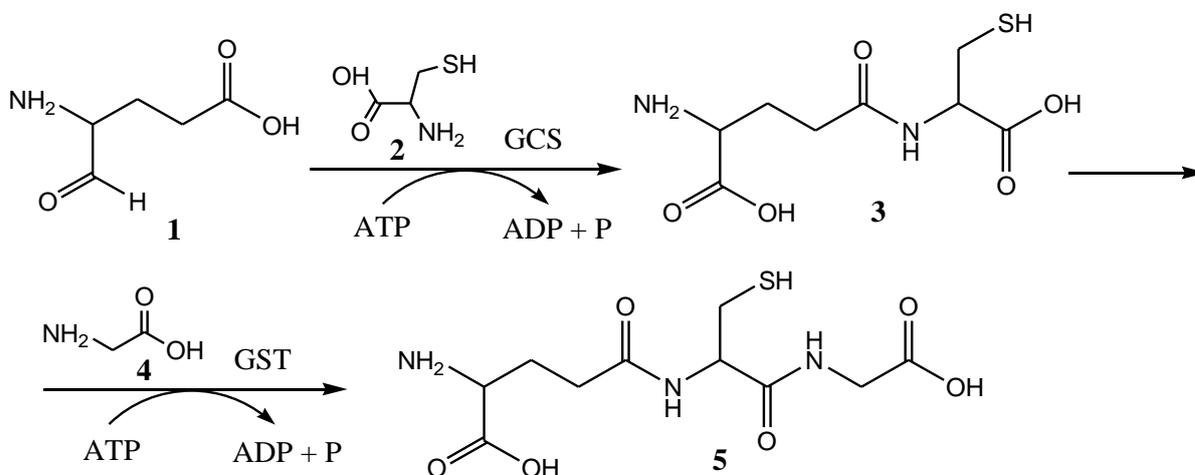
O tripeptídeo GSH é sintetizado dentro das células a partir dos aminoácidos GLI, CYS e GLU (REID & JAHOOR, 2000).

Praticamente todos os tipos de células podem sintetizar a GSH, entretanto o fígado é o seu principal produtor e exportador. A maior parte da GSH celular (cerca de 85–90%) está presente no hialoplasma, uma vez que ela é sintetizada quase que exclusivamente no citoplasma, o restante encontra-se em muitas organelas, tais como mitocôndrias e peroxissomos (SMITH et al., 1996). Diferentemente da síntese de proteínas, não é necessária a ação do RNA, seja ele mensageiro, ribossômico ou transportador, para que a síntese de GSH ocorra (BEUTLER, 1989).

A biossíntese de GSH ocorre em duas etapas: na primeira, a enzima GCS catalisa a formação da ligação peptídica entre o grupo γ -carboxil do GLU e o grupo amino da CYS. Essa ligação protege a GSH da hidrólise pelas peptidases intracelulares, uma vez que ela ocorre no grupo γ -carboxil, em vez do α -carboxil do GLU. Na segunda etapa, a GLI une-se ao dipeptídeo

γ -glutamil-cisteína para formar a GSH. Essa reação é catalisada pela glutathiona sintetase (GST) (Figura 6) (BEUTLER, 1989).

Figura 6 – Biossíntese da GSH. (1) GLU; (2) CYS; (3) γ -glutamil-cisteína; (4) GLI; (5) GSH



Fonte: Adaptado de NOCTOR (1998)

2.2.3.2 Funções biológicas da glutathiona

A concentração de GSH no interior das células animais varia de 0,5 a 10,0 mmol L⁻¹. Fora das células, por exemplo no plasma, as concentrações de GSH costumam ser baixas, na faixa de 2,0 a 20,0 μ mol L⁻¹, exceção feita ao ácido biliar que pode conter até 10,0 mmol L⁻¹ de GSH (MEISTER & ANDERSON, 1983).

A maioria das funções biológicas da GSH requer sua forma reduzida, ou seja, o estado em que ela possui o grupo sulfidril livre. No entanto, o resíduo de CYS presente em sua composição pode ser facilmente oxidado a dissulfeto de GSH (GSSG) por eletrófilos (como os radicais livres), contribuindo para a perda líquida de GSH intracelular. A proporção de [GSH] para [GSSG], que é frequentemente usada como um indicador do estado redox celular, deve ser maior que 10 em condições fisiológicas normais. GSH/GSSG é o principal par redox que determina a capacidade antioxidante das células (BEUTLER, 1989).

A GSH é um inibidor eficaz de radicais livres, protegendo as células dos efeitos tóxicos dos compostos reativos de oxigênio, fortalecendo o sistema imunológico (AOYAMA & NAKAKI, 2013; REID & JAHOOOR, 2000). A GSH desempenha um papel importante na diminuição da resposta à desnaturação proteica ao impedir a oxidação de grupos sulfidrilas por peróxidos (GRIFFITH, 1999; WU et al., 2004). Além disso, pode ser uma fonte de reserva de CYS em caso de desnutrição (FUKAGAWA et al., 1996).

2.2.3.3 *Glutathione e a saúde humana*

A manutenção de níveis adequados de GSH no organismo é importante para várias funções celulares críticas. A deficiência de GSH está associada ao aparecimento e progressão de inúmeras enfermidades, tais como doenças neurodegenerativas (LIU et al., 2004), doenças pulmonares (RAHMAN, 2005), imunodeficiências (PETERSON et al., 1998), doenças cardiovasculares (LEOPOLD & LOSCALZO, 2005), doenças crônicas relacionadas à idade (SAMIEC et al., 1998), doenças hepáticas (DELEVE & KAPLOWITZ, 1990) e fibrose cística (BISHOP et al., 2005). Por outro lado, níveis elevados de GSH em células tumorais, por exemplo, são capazes de aumentar a capacidade antioxidante e a resistência ao estresse oxidativo dessas células, conferindo-lhes resistência a vários medicamentos quimioterápicos utilizados no tratamento de cânceres de medula óssea, mama, cólon, laringe e pulmão (BALENDIRAN et al., 2004).

O reconhecimento de que os níveis descontrolados de GSH no organismo estão intimamente associados a diversas doenças gerou um interesse considerável de pesquisadores na identificação de terapias destinadas a controlar tais níveis, a fim de modular o risco ou a progressão da doença (BALLATORI et al., 2009).

Na tentativa de aumentar as concentrações sistêmicas e/ou intracelulares de GSH, métodos de administração direta de GSH por via intravenosa (HAUSER et al., 2009), intrabronquial (PROUSKY, 2008) e intranasal (ALLEN, 2008) foram estudados e mostraram eficácia no combate às enfermidades associadas a baixos níveis de GSH no organismo. Além disso, a administração de GSH também pode ser feita por suplementação oral, a qual ainda é controversa e carece de estudos mais aprofundados (PIZZORNO, 2014).

Evidências experimentais mínimas demonstraram aumentos significativos nos níveis sanguíneos ou intracelulares de GSH através da suplementação oral com GSH reduzida em ratos (FAVILLI et al., 1997; HAGEN et al., 1990). No entanto, a absorção de GSH por administração oral direta em humanos ainda não foi demonstrada adequadamente. Isso pode estar associado ao fato de que o trato gastrointestinal humano contém quantidades significativas de γ -glutamil-transferase que pode impedir a absorção intacta significativa de GSH a partir de sua suplementação oral (PIZZORNO, 2014). Alguns estudos, porém, demonstraram ação benéfica da administração oral direta de GSH a longo prazo em humanos (ALLEN & BRADLEY, 2011; BASRI et al., 2017), mas tais estudos ainda são muito incipientes. Por essa razão, suplementos a base de GSH ainda não possuem regulamentação na ANVISA. Para contornar tais problemas, o uso de precursores de GSH na suplementação oral, tais como NAC

ou sais de sódio de GSH, é mais comum. Tais nutrientes se mostraram úteis no aumento da concentração sistêmica e celular de GSH em humanos (PENDYALA & CREAVER, 1995; TRUSCELLI et al., 2017).

2.2.3.4 Métodos de análise de glutatona

Dada essa importância bioquímica, farmacêutica e médica da GSH, métodos analíticos de monitoramento de rotina desse composto foram desenvolvidos ao longo dos anos visando a sua quantificação em amostras biológicas e formulações farmacêuticas (TZANAVARAS, 2010).

Um resumo de alguns trabalhos que utilizam tais métodos é descrito na Tabela 8.

Tabela 8 – Métodos convencionais de análise utilizados na determinação de GSH em amostras farmacêuticas e biológicas

Método	LDR	LOD	Referência
Espectrofotométrico	50 – 600 $\mu\text{mol L}^{-1}$	-	RAGGI et al., 1991
Espectrofotométrico	5,0 – 200,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	3,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HORMOZI-NEZHAD et al., 2012
Espectrofotométrico	0 – 0,25 mmol L^{-1}	-	ZHENG et al., 2015
Fluorimétrico	5,0 – 1000,0 $\mu\text{g L}^{-1}$	-	HISSIN & HILF, 1976
Quimiluminescente	0,15 – 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,058 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HAN et al., 2006
Cromatográfico	1,0 – 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$	APPALA et al., 2016
Cromatográfico	2,5 – 60,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$	SUTARIYA et al., 2012
Cromatográfico	5 – 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$	3 $\mu\text{mol L}^{-1}$	RELLÁN-ÁLVAREZ et al., 2006
Cromatográfico	0,5 – 500,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$	IVANOV et al., 2001
Cromatográfico	0,01 – 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$	0,01 $\mu\text{mol L}^{-1}$	CAMERA et al., 2001
Cromatográfico	25 – 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$	12 $\mu\text{mol L}^{-1}$	RAGGI et al., 1997

Fonte: O autor (2020)

Métodos eletroquímicos, em especial os que usam técnicas voltamétricas, também têm sido utilizados na determinação de GSH em amostras farmacêuticas e biológicas em eletrodo com e sem modificação (Tabela 9).

Tabela 9 – Sensores eletroquímicos utilizados na determinação de GSH em amostras farmacêuticas e biológicas

Eletrodo	Técnica	LOD	Referência
GCE	CV	0,14 $\mu\text{mol L}^{-1}$	AREIAS et al., 2016c
CNT/BF ^a /CPE	SWV	0,03 $\mu\text{mol L}^{-1}$	SOLTANI et al., 2014
MWCNT/CPE	SWV	0,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$	KEYVANFARD et al., 2016
BPPDNi ^b /Pt:Co-NPs/CPE	SWV	0,5 nmol L^{-1}	JAHANDARI et al., 2019
AB-CS ^c /GCE	DPV	0,058 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HUANG et al., 2017b
MWCNT/SPEs ^d	DPV	0,47 $\mu\text{mol L}^{-1}$	TURUNC et al., 2013

^a Benzoilferroceno. ^b Bis(1,10-fenantrolina) (1,10-fenatrolin-5,6-diona) níquel(II) hexafluorofosfato. ^c Negro de acetileno e quitosana. ^d Eletrodos impressos (Todas as siglas vêm do inglês).

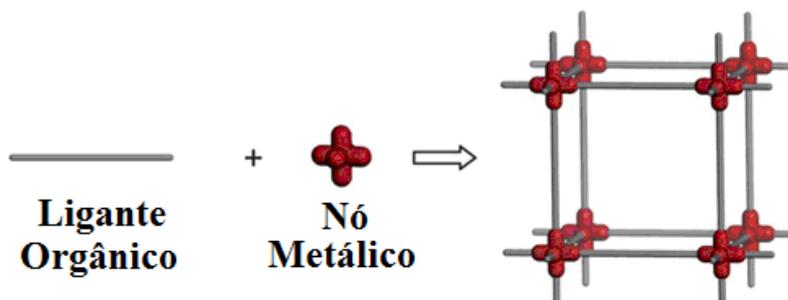
Fonte: O autor (2020)

2.3 As redes metalorgânicas

As redes de coordenação, 1D, 2D ou 3D, conhecidas por MOFs, fazem parte de uma nova classe de polímeros de coordenação com propriedades de materiais orgânicos e inorgânicos que têm como principais características: alta cristalinidade, alta porosidade e forte interação metal-ligante orgânico (HENDON et al., 2017).

As MOFs são montadas a partir de íons ou aglomerados metálicos como articulações e moléculas orgânicas como ligantes (BRANDON et al., 2012). Um esquema genérico estrutural de uma MOF pode ser visto na Figura 7.

Figura 7 – Representação esquemática de uma MOF, construída a partir de ligantes orgânicos e aglomerados metálicos.



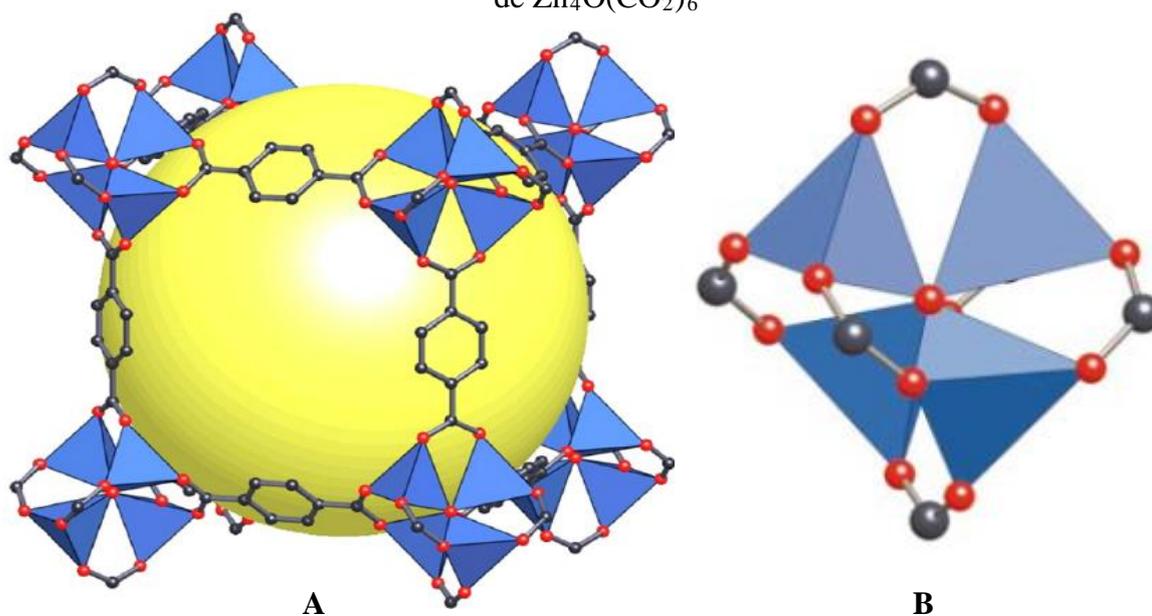
Fonte: Adaptado de BRANDON et al. (2012)

A síntese de MOFs a partir de íons metálicos simples e ligantes orgânicos não é tão fácil, uma vez que a falta de direcionabilidade dos íons costuma resultar em uma falta de controle da

estrutura sintetizada (YAGHI et al., 2003). Na prática, as MOFs costumam ser sintetizadas sob condições pré-determinadas para produzir unidades secundárias de construção (SBUs, *do inglês Secondary Building Units*) no lugar de íons simples. As SBUs são, em geral, estruturas rígidas formadas por complexos metal-carboxilato que, na topologia das MOFs, ocupam o vértice de células unitárias e, ao se conectarem a ligantes polipróticos, transformam-se em redes altamente porosas e resistentes (EDDADOUDI et al., 2001).

Estruturas porosas sintetizadas a partir de SBUs conectadas a ligantes orgânicos foram demonstradas pela primeira vez na MOF-2 (LI et al., 1998) e na MOF-5 (LI et al., 1999). Na MOF-5 (Figura 8A), por exemplo, unidades de $Zn_4O(CO_2)_6$ contendo quatro aglomerados tetraédricos de ZnO_4 com um vértice comum e seis átomos de carbono formam SBUs octaédricas (Figura 8B) que, quando unidas por ligantes de benzeno, transformam-se em uma estrutura de alta porosidade (indicada por sua sorção) e estabilidade (indicada por análise térmica e estudos de difração de raios X) (EDDAOUDI et al., 2001; LI et al., 1999).

Figura 8 – (A) Estrutura da MOF-5. Os tetraedros azuis representam os aglomerados de ZnO_4 , os átomos de oxigênio são representados por esferas vermelhas e os de carbono por esferas pretas. A esfera amarela representa a cavidade do poro da MOF-5. (B) SBU octaédrica de $Zn_4O(CO_2)_6$



Fonte: Adaptado de LI et al. (1999)

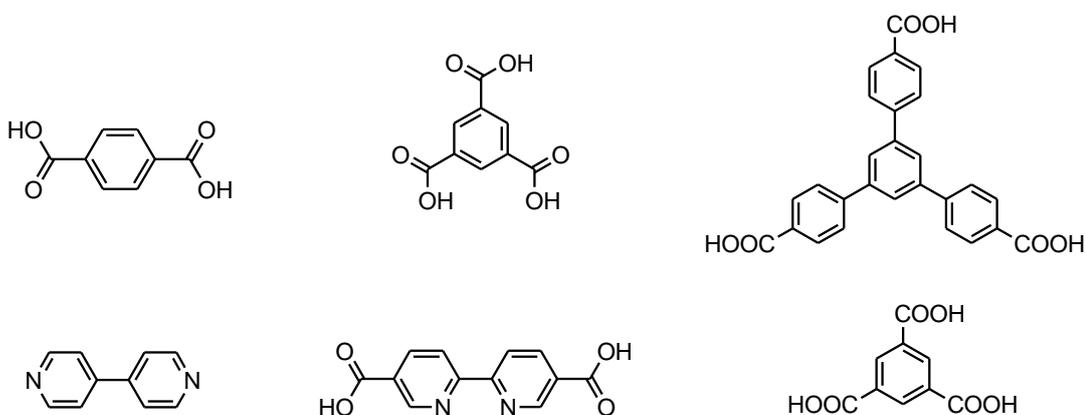
Diferentes íons metálicos constituintes das SBUs, assim como diversas moléculas orgânicas podem ser utilizados no processo de síntese das MOFs (TRANCHEMONTAGNE et al., 2009, PAZ et al., 2012).

A escolha dos íons metálicos para a síntese de uma MOF pode incluir desde íons de metais de transição (Zn^{2+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} e Cu^{2+} , por exemplo), até íons de metais alcalinos ou terras raras. Outras variáveis tais como o estado de oxidação do metal, o número de coordenação e a geometria de coordenação também devem ser levadas em consideração na construção de uma MOF (KITAGAWA et al., 2004).

Quanto aos ligantes orgânicos, a escolha vai depender do número de sítios básicos de Lewis que este possui e do ângulo relativo dos sítios de ligação, pois essas propriedades desempenham um papel importante na morfologia e na topologia da rede (HOFFART & LOEB, 2005). Em geral, moléculas multidentadas que possuem átomos de N e/ou O doadores de elétrons (como as aromáticas policarboxiladas, as aminas heterocíclicas e os arilfosfonatos) são as mais utilizadas como ligantes (PAZ et al., 2012).

A Figura 9 mostra alguns dos ligantes orgânicos mais comuns usados na síntese de MOFs.

Figura 9 – Ligantes orgânicos comumente usados no processo de síntese de MOFs



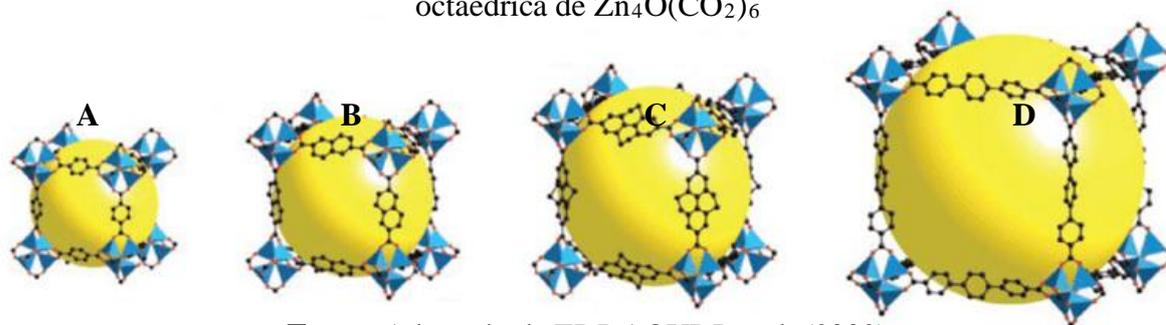
Fonte: PAZ et al. (2012)

As vantagens das MOFs em relação a outros materiais nanoporosos tais como as zeólitas, por exemplo, é a possibilidade de controle da estrutura e tamanho dos poros durante a síntese a partir da escolha cuidadosa dos íons metálicos e dos ligantes orgânicos (HU, 2011). Além disso, as MOFs apresentam alta estabilidade química, térmica e grandes áreas superficiais específicas (TRANCHEMONTAGNE et al., 2009; FURUKAWA et al., 2010).

O controle do tamanho dos poros das MOFs é de extrema importância, principalmente em aplicações que envolvam adsorção seletiva e/ou separação de gases (CAMPOS, 2014). Tal controle pode ser feito a partir da mudança do ligante orgânico no processo de síntese da MOF (EDDAOUDI et al., 2002). Esse efeito pode ser visto na Figura 10, a qual mostra uma série de

MOFs isorreticulares (IRMOFs - são aquelas que apresentam a mesma topologia estrutural, mas diferentes tamanhos de poros por mudança do ligante orgânico) baseada na topologia cúbica da MOF-5.

Figura 10 – Série de IRMOFs baseadas da topologia cúbica da MOF-5. (A) MOF-5; (B) IRMOF-8; (C) IRMOF-12; (D) IRMOF-16. Em cada vértice das estruturas há uma SBU octaédrica de $Zn_4O(CO_2)_6$



Fonte: Adaptado de EDDAOUDI et al. (2002)

2.3.1 Métodos de síntese de MOFs

Diversas são as vias para síntese de MOFs. Dentre elas, as mais utilizadas são: síntese por difusão lenta (CHEN et al., 2005; QIU et al., 2005); hidro/solvotermal (MAJANO & PÉREZ-RAMIREZ, 2012; SCHLICHTTE et al., 2004); assistida por micro-ondas ou ultrassom (sonoquímica) (KHAN & JHUNG, 2015); mecanoquímica (PICHON & JAMES, 2008) e eletroquímica (AL-KUTUBI et al., 2015).

Síntese por difusão lenta

Fundamenta-se na dissolução dos reagentes de partida em um solvente apropriado e, após evaporação lenta do solvente, o ligante coordena-se ao aglomerado metálico, produzindo a estrutura cristalina da MOF. Em geral, utilizam-se sais de metais de transição (d ou f) e ácidos di- ou tricarbônicos como reagentes de partida. A síntese é normalmente realizada em sistema aberto, ou parcialmente aberto, à temperatura ambiente. É um método de síntese bastante lento, que pode durar semanas ou até meses (STOCK & BISWAS, 2012).

Síntese hidro/solvotermal

O termo hidro/solvotermal indica que tanto a água quanto outros solventes estão presentes na mistura reacional e que o processo ocorre sob aquecimento. A mistura reacional (sais metálicos e ligantes orgânicos) é colocada em reatores fechados (geralmente de teflon®), que são posteriormente colocados dentro de autoclaves e levados à estufa para aquecimento. O

processo de aquecimento é relativamente lento, requer longos períodos de reação (de dias a semanas) até que a síntese aconteça (STOCK & BISWAS, 2012).

Síntese assistida por micro-ondas

Na síntese assistida por micro-ondas, os precursores metálicos e orgânicos são dissolvidos em solvente apropriado e colocados em reatores específicos para micro-ondas. O sistema é, então, aquecido até temperatura de interesse durante o tempo de reação desejado. Terminado o tempo reacional, a mistura é resfriada até temperatura ambiente, filtrada a vácuo, lavada e seca (STOCK & BISWAS, 2012).

Síntese assistida por ultrassom

Na síntese assistida por ultrassom, os precursores metálicos e orgânicos da MOF são dissolvidos em solvente apropriado e, em seguida, colocados em banho ultrassônico à temperatura ambiente. O tamanho e a morfologia do produto da reação variam com o tempo. Após o tempo de interesse, o produto sintetizado é filtrado, lavado e seco (STOCK & BISWAS, 2012).

Síntese mecanoquímica

Na síntese mecanoquímica, os reagentes precursores da MOF (sais de metais e ligantes orgânicos) são moídos em um reator contendo esferas de diâmetro controlado, sob determinada frequência de vibração, por um determinado tempo e sem aquecimento até a formação do polímero de coordenação. A principal vantagem da síntese mecanoquímica em relação às demais é a não utilização de solventes orgânicos, sendo, portanto, uma técnica menos danosa ao ambiente (PICHON & JAMES, 2008).

Síntese eletroquímica

Na síntese eletroquímica, uma solução aquosa é previamente preparada pela dissolução do ligante orgânico e um eletrólito suporte (condutor) em solvente adequado (que pode ser água ou uma mistura de solventes). Os íons metálicos que farão parte da estrutura da MOF são introduzidos a partir da dissolução anódica no meio reacional por aplicação de uma diferença de potencial. A síntese é geralmente realizada sob agitação magnética e corrente fixa por um pequeno tempo. Transcorrido esse tempo, o produto obtido é centrifugado, lavado e seco (STOCK & BISWAS, 2012).

2.3.2 Caracterização de MOFs

As MOFs sintetizadas pelas diferentes metodologias relatadas na seção anterior devem ser caracterizadas por diferentes técnicas para determinar suas propriedades físico-químicas (BEDIA et al., 2019).

A estabilidade térmica de uma MOF, por exemplo, pode ser determinada por análise termogravimétrica (TGA, do inglês *Thermal Gravimetric Analysis*). A TGA mede a variação da massa do material em função da temperatura em uma atmosfera controlada (sob fluxo de gases como N₂, Ar ou O₂). Além de determinar a estabilidade térmica da MOF, essa técnica pode ser útil para estimar o volume de poro acessível ao solvente (BEDIA et al., 2019).

A cristalinidade e os parâmetros estruturais da MOF podem ser determinados por difração de raios-X. Ao comparar o difratograma da MOF sintetizada com outros relatados na literatura ou com o de uma amostra padrão, pode-se obter a sua identificação estrutural (BEDIA et al., 2019).

No que diz respeito às técnicas de microscopia, a microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) é bastante usada para caracterização de MOFs. Ela gera imagens bidimensionais de alta resolução que exibem a forma do material e suas variações espaciais, revelando informações sobre a morfologia externa, dispersão e mistura de fases. Já a microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês *Transmission Electron Microscopy*) costuma ser utilizada para determinar o tamanho de partículas e dados cristalográficos, como índices de plano e deslocamentos (BEDIA et al., 2019).

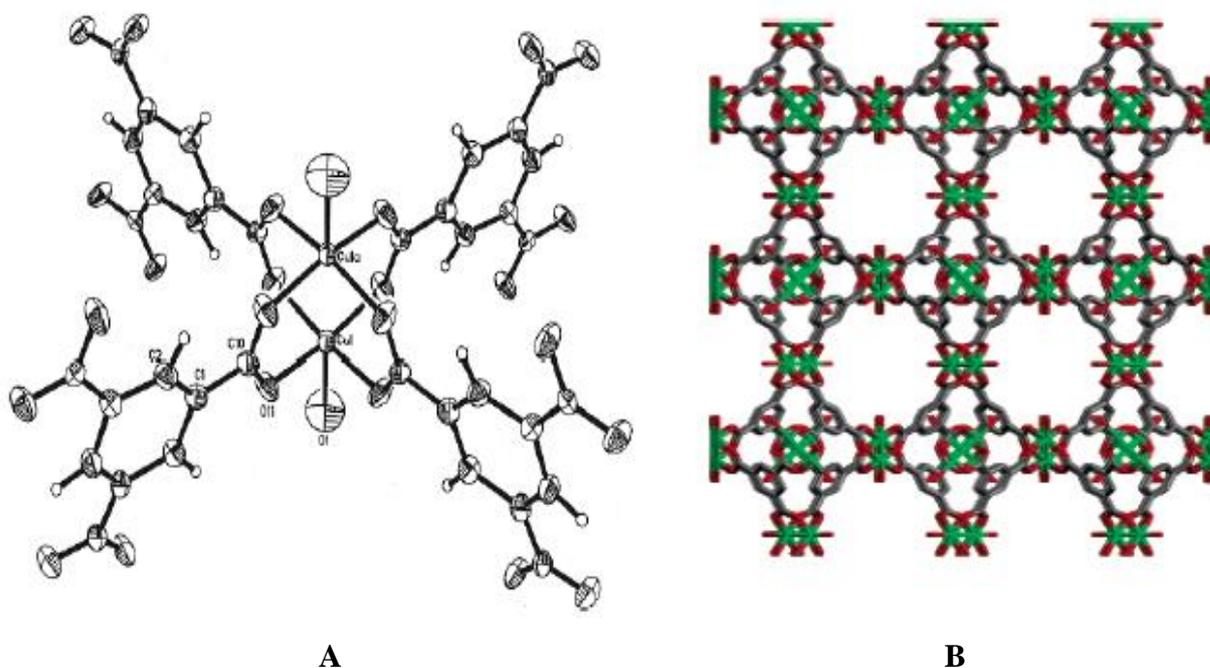
A espectroscopia no infravermelho (IRS, do inglês *Infrared Spectroscopy*) pode ser utilizada para verificar as bandas de absorção dos grupos funcionais associados ao ligante orgânico. Nesse caso, as bandas mais investigadas são as do grupo carboxilato, dos anéis benzênicos e da hidroxila a partir dos picos de absorção característicos das ligações C–H, C–O, C=C, C=O e O–H (DATURI, 2012).

Dependendo das características das MOFs e das aplicações desejadas, outras técnicas de caracterização podem ser empregadas, tais como a espectroscopia de raios-X por energia dispersiva (ZIREHPOUR et al., 2017), usada na determinação das concentrações dos elementos químicos presentes na MOF e o espalhamento dinâmico de luz (HIRSCHLE et al., 2016), usada para informar a distribuição de tamanho das estruturas sintetizadas, dentre outras.

2.3.3 A MOF de $[Cu_3(BTC)_2(H_2O)_3]_n$

Dentre os diferentes tipos de MOFs sintetizadas pelos diversos métodos existentes, um dos materiais de grande interesse por parte dos investigadores é o $[Cu_3(BTC)_2(H_2O)_3]_n$, também conhecido como HKUST-1 ou MOF-199, aqui denominada Cu-BTC. Este material possui como ligante orgânico o BTC e como SBU uma unidade dimérica de cobre-tetracarboxilato (Figura 11A) com uma curta separação internuclear cobre-cobre de 2,630 Å. Doze átomos de oxigênio oriundos dos grupos carboxilatos dos dois ligantes BTC ligam-se aos quatro sítios de coordenação de cada um dos íons Cu^{2+} em uma estrutura cristalina de face centrada com grupo espacial $Fm\bar{3}m$. Cada metal completa sua esfera de coordenação pseudo-octaédrica com um ligante aqua axial oposto ao vetor Cu-Cu (Figura 11B). O comprimento da ligação Cu-OCO é de 1,952 Å e da ligação Cu-OH₂ é de 2,165 Å (CHUI et al., 1999). As moléculas de água coordenadas com os metais são removidas no vácuo, criando centros de Cu^{2+} acessíveis que podem atuar como sítios de ácido de Lewis (HARTMANN et al., 2008). Todos os detalhes cristalinos da MOF foram determinados por difração de raios-X (CHUI et al., 1999).

Figura 11 – (A) Unidade dimérica cobre-tetracarboxilato. (B) Representação estrutural da Cu-BTC, na qual os átomos de cobre são representados em verde, oxigênio em vermelho e carbono em cinza



Fonte: Adaptado de CHUI et al. (1999)

Este polímero de coordenação possui em sua estrutura duas cavidades octaédricas de diferentes tamanhos, a cavidade central com diâmetro interno de 9,0 Å e uma gaiola menor com cerca de 5,0 Å de diâmetro. Essas cavidades comunicam-se através de janelas triangulares com 3,5 Å de diâmetro (MARTIN-CALVO et al., 2011).

2.3.4 Aplicabilidade das MOFs e uso como sensores eletroquímicos

A possibilidade de variar o tamanho e a natureza das estruturas das MOFs sem alterar suas SBUs permitiu sintetizar IRMOFs com maior abertura de poros e menor densidade, favorecendo a exploração de suas aplicações em diferentes áreas. Nesse sentido, a estabilidade térmica e química de muitas MOFs tornaram-nas passíveis de funcionalização orgânica e inorgânica após a síntese (FURUKAWA et al., 2013), o que permitiu que elas tivessem potencial aplicação no armazenamento de gases (MURRAY et al., 2009), na catálise heterogênea (LEE et al., 2009), no carregamento de fármacos (TAYLOR-PASHOW et al., 2009), como membranas condutoras de prótons para aplicações em células de combustível (YOON et al., 2013), como sensores (KRENO et al., 2012), dentre outras.

Em relação ao uso das MOFs como sensores, a maioria das pesquisas até agora são direcionadas para o desenvolvimento de sensores quimiluminescentes (DIAMANTIS et al., 2018), os quais se mostraram úteis na detecção de uma série de analitos orgânicos e inorgânicos em níveis de traço (LUSTIG et al., 2017).

Mais recentemente, as MOFs têm sido utilizadas na modificação de eletrodos sólidos para determinação voltamétrica de espécies orgânicas e inorgânicas (POURNARA et al., 2019). Eletrodos quimicamente modificados possibilitam o maior acúmulo de analitos em sua superfície devido a alta capacidade de adsorção do modificador em relação à espécie alvo (COMPTON & BANKS, 2018), o que acaba tornando atraente o uso de polímeros de coordenação altamente porosos e com uma variedade de grupos funcionais, tais como as MOFs, como sensores eletroquímicos. Embora o interesse pelo uso de MOFs como modificadoras de eletrodos sólidos tenha aumentado consideravelmente nos últimos anos, as pesquisas nesse campo ainda são incipientes, o que justifica um estudo mais aprofundado no uso dessa nova classe de polímeros de coordenação para esse fim.

No momento, os desafios a serem enfrentados no desenvolvimento estendido de eletrodos modificados com MOFs concentram-se em avaliar potenciais MOFs que possam ser úteis na determinação eletroanalítica de espécies orgânicas e inorgânicas em diferentes

matrizes, estudar a estabilidade química das MOFs quando em solução e examinar a capacidade de sorção das MOFs para analitos específicos (POURNARA et al., 2019).

Nesse sentido, houve um crescente número de trabalhos reportados na literatura, nos últimos anos, descrevendo a fabricação e utilização de eletrodos modificados por diferentes MOFs na determinação eletroanalítica de diversos analitos orgânicos e inorgânicos (Tabela 10).

Tabela 10 – Eletrodos modificados por MOFs usados na determinação eletroanalítica de analitos orgânicos e inorgânicos

MOF	Técnica	Analito	LOD	Referência
UiO-66	DPV	Hidroquinona	0,056 $\mu\text{mol L}^{-1}$	DENG et al., 2017
UiO-66	DPV	Catecol	0,072 $\mu\text{mol L}^{-1}$	DENG et al., 2017
UiO-66	DPV	Resorcinol	3,51 $\mu\text{mol L}^{-1}$	DENG et al., 2017
MOF-525	DPV	Dopamina	0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HUANG et al., 2017a
MIL-101	DPV	Catecol	4,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$	WANG et al., 2018a
MOF-525	DPV	Luteolina	0,35 nmol L^{-1}	CAO et al., 2018
UiO-66	SWV	Paraoxon	0,2 nmol L^{-1}	KARIMIAN et al., 2019
UiO-66	SWV	Clorpirifós	1,0 nmol L^{-1}	KARIMIAN et al., 2019
MIL-101	DPV	Hidroquinona	0,66 $\mu\text{mol L}^{-1}$	WANG et al., 2018a
MIL-101	DPV	Metronidazol	0,24 $\mu\text{mol L}^{-1}$	GU et al., 2018
MIL-101	DPV	Quercetina	0,06 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ZHANG et al., 2018
MIL-101	DPASV ^a	Pb ²⁺	0,5 nmol L^{-1}	WANG et al., 2016a
Ni-MOF	SWASV ^b	Pb ²⁺	0,508 $\mu\text{mol L}^{-1}$	GUO et al., 2017

^a Voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial. ^b Voltametria de redissolução anódica de onda quadrada. (Todas as siglas vêm do inglês).

Fonte: O autor (2020)

2.3.5 Uso de Cu-BTC como sensor eletroquímico

Apesar da Cu-BTC não ser estável em meio aquoso (o ambiente de trabalho mais comum para um eletrodo) (MCHUGH et al., 2018), muitos estudos foram desenvolvidos recentemente na literatura fazendo uso de eletrodos modificados baseados em Cu-BTC na determinação eletroanalítica de diversas moléculas orgânicas (Tabela 11).

Tabela 11 – Eletrodos modificados com Cu-BTC usados na determinação eletroanalítica de espécies orgânicas

Sensor	Técnica	Analito	LOD	Referência
Cu-BTC/Nafion	DPV	Dopamina	0,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$	LI et al., 2018b
Cu-BTC/Nafion	DPV	Dopamina	0,11 nmol L^{-1}	SOFI et al., 2019
Cu-BTC/Grafite	SWV	Catecol	0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$	BRONDANI et al., 2017
Cu-BTC/Grafeno	DPV	Hidroquinona	0,59 $\mu\text{mol L}^{-1}$	LI et al., 2018a
Cu-BTC/Grafeno	DPV	Catecol	0,33 $\mu\text{mol L}^{-1}$	LI et al., 2018a
Cu-BTC/Nafion	DPV	Glifosato	0,14 pmol L^{-1}	CAO et al., 2019
Cu-BTC/ERGO ^a	DPV	TNP ^b	0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$	WANG et al., 2018b
Cu-BTC/SWCNT ^c	DPV	Hidroquinona	0,08 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ZHOU et al., 2015
Cu-BTC/SWCNT	DPV	Catecol	0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$	ZHOU et al., 2015
Au-SH-SiO ₂ @Cu-BTC	DPV	Hidrazina	0,01 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HOSSEINI et al., 2013b
Au-SH-SiO ₂ @Cu-BTC	DPV	Cisteína	0,008 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HOSSEINI et al., 2013a

^a Óxido de grafeno eletrorreduzido. ^b 2,4,6-trinitrofenol. ^c Nanotubos de carbono de parede simples. (Todas as siglas vêm do inglês).

Fonte: O autor (2020)

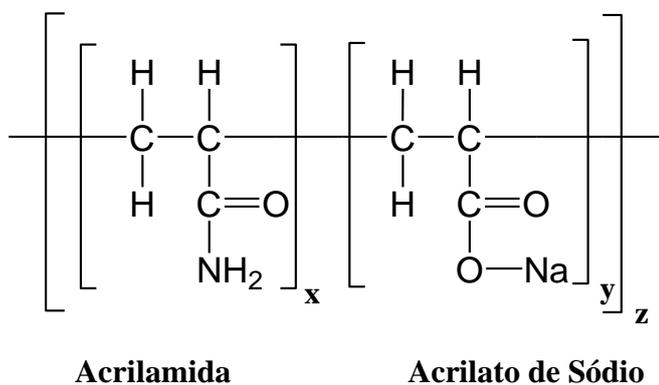
Uma vez que a CU-BTC por si só não é uma boa condutora elétrica (KUMAR et al., 2015), o uso de Cu-BTC como sensor eletroquímico depende de sua funcionalização com outras espécies, tais como nanopartículas, espécies iônicas e nanotubos de carbono, ou, em outros casos, elas podem ser ancoradas em espécies altamente condutoras, como no caso dos trabalhos que fizeram uso do copolímero de Nafion® (LI et al., 2018b; SOFI et al., 2019; CAO et al., 2019) durante a modificação do eletrodo, para que as respostas eletroquímicas da MOF em termos de corrente sejam potencializadas.

2.4 Copolímero de acrilamida e acrilato de sódio

O copolímero de acrilamida e acrilato de sódio (Figura 12) faz parte da classe dos polímeros superabsorventes (SAPs, do inglês *Super Absorbent Polymers*), sendo estruturas poliméricas reticuladas tridimensionais que, em solução aquosa, complexam grupos catiônicos

reativos devido ao seu caráter aniônico (POURJAVADI et al., 2009; HE et al., 2016). Ele é obtido pela polimerização de acrilamida e acrilato de sódio.

Figura 12 – Fórmula estrutural do copolímero de acrilamida e acrilato de sódio.



Fonte: POURJAVADI et al. (2009)

Uma vez que a MOF de Cu-BTC apresenta terminais de íons Cu^{2+} em sua estrutura, estes são incorporados pelo copolímero através de forças eletrostáticas e trocas de carga, a partir dos grupos carboxilatos e dos átomos de nitrogênio dos grupos amidas presentes em sua estrutura (OROZCO-GUAREÑO et al., 2010). Dessa forma, o copolímero ao interagir com a MOF permite que propriedades eletrônicas sejam nela induzidas, de modo a ampliar a resposta analítica, possibilitando a sua utilização como modificador de eletrodo sólido para fins eletroanalíticos sem a necessidade de síntese de Cu-BTC com outros materiais funcionalizantes, agilizando o processo de modificação do eletrodo sólido.

2.5 Nanopartículas de ouro

Nanopartículas de ouro (AuNPs) são pequenas partículas de ouro com diâmetros que podem variar de 1 a 100 nm. A síntese de AuNPs foi inicialmente explorada para fins científicos há mais de 150 anos na obra de Michael Faraday, através da redução do íon metálico a partir de uma solução aquosa de AuCl_4^- (FARADAY, 1857 apud CHEN et al., 2014, p. 163), mas foi somente a partir de 1951 que Turkevich popularizou a síntese de AuNPs a partir da redução de HAuCl_4 na presença de citrato em meio aquoso (TURKEVICH et al., 1951).

Uma das características mais importante das AuNPs é a facilidade com que sua superfície pode ser modificada. A afinidade da superfície das AuNPs por diversas espécies tais como fosfinas, aminas e tióis permite a sua bioconjugação com uma variedade de biomoléculas (DANIEL & ASTRUC, 2004), favorecendo suas aplicações como genossensores (AUTHIER et al., 2001), biossensores (O'NEAL et al., 2004), em bioeletrônica (LIU & LU, 2003), dentre

outras. Além disso, as AuNPs podem ser sintetizadas de diversas formas (esferas, bastões, prismas etc.) e tamanhos (JANA et al., 2001).

As distintas propriedades físicas e químicas das AuNPs as tornam excelentes estruturas para a fabricação de sensores eletroquímicos, uma vez que elas podem oferecer uma plataforma adequada para multifuncionalização com uma ampla gama de ligantes orgânicos ou biológicos, permitindo a detecção seletiva de íons, pequenas moléculas e alvos biológicos (HAICK, 2007).

Seguindo essa linha, muitos trabalhos encontrados na literatura discutem o uso de eletrodos modificados com AuNPs funcionalizadas com diferentes espécies químicas na determinação eletroanalítica de íons metálicos, pequenas moléculas orgânicas e proteínas de maneira rápida e com alta sensibilidade. AuNPs também têm sido utilizadas na forma de nanocompósitos com MOFs (HOSSEINI et al., 2013a; HOSSEINI et al., 2013b) a fim de aumentar suas propriedades condutoras, possibilitando seu uso como sensores eletroanalíticos (Tabela 12).

Tabela 12 – Eletrodos modificados com AuNPs usados na determinação eletroanalítica de espécies orgânicas e inorgânicas.

Sensor	Técnica	Analito	LOD	Referência
rGO ^a /AuNPs	DPV	Dopamina	0,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$	LIU et al., 2012a
G-PEI ^b /AuNPs	DPV	Dopamina	0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$	PONNUSAMY et al., 2014
AuNPs/rGO/Quitosana	DPV	Prolactina	0,038 ng mL^{-1}	SUN et al., 2015
PDDA ^c -rGO/Au NPs	SWV	Angiogenina	0,064 pmol L^{-1}	CHEN et al., 2015
AuNPs/RBH ^d	EIS ^e	Cu^{2+}	12,5 fmol L^{-1}	PENG et al., 2016
AuNPs/MMPF ^f -6(Fe)	DPV	Hidroxilamina	4,0 nmol L^{-1}	WANG et al., 2016b
Au-SH-SiO ₂ @Cu-BTC	DPV	Hidrazina	0,01 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HOSSEINI et al., 2013b
Au-SH-SiO ₂ @Cu-BTC	DPV	Cisteína	0,008 $\mu\text{mol L}^{-1}$	HOSSEINI et al., 2013a

^a Óxido de grafeno reduzido. ^b Grafeno-Polietilenoimina. ^c Poli (dialil dimetil amônio cloreto). ^d Rodamina B hidrazina. ^e Espectroscopia de impedância eletroquímica. ^f metal-metaloporfirina (Todas as siglas vêm do inglês).

Fonte: O autor (2020)

2.6 Técnicas voltamétricas aplicadas à eletroanálise

O campo da eletroquímica denominado voltametria desenvolveu-se a partir dos estudos de polarografia realizados pelo químico checoslovaco Jaroslav Heyrovsky em 1922 (HEYROVSKY, 1922 apud KOUNAVES, 1997, p. 711).

A característica comum dentre as técnicas voltamétricas é que elas envolvem a medida da aplicação de uma diferença de potencial (E) entre os eletrodos de trabalho e de referência e o monitoramento da corrente resultante (I) que flui através da célula eletroquímica (KOUNAVES, 1997). O potencial é o parâmetro controlado que faz com que as espécies químicas presentes na solução sejam eletrolisadas (oxidadas ou reduzidas) no eletrodo de trabalho. Quando o potencial aplicado se torna suficientemente negativo ou positivo, as espécies químicas são eletrolisadas e a corrente produzida é registrada (WANG, 1988).

As técnicas voltamétricas possuem como vantagens analíticas sua alta sensibilidade, a possibilidade de uso de um grande número de solventes e eletrólitos, a determinação simultânea de vários analitos, a capacidade de determinar parâmetros cinéticos e mecanísticos e a facilidade com que potenciais em forma de onda podem ser gerados e pequenas correntes medidas (KOUNAVES, 1997).

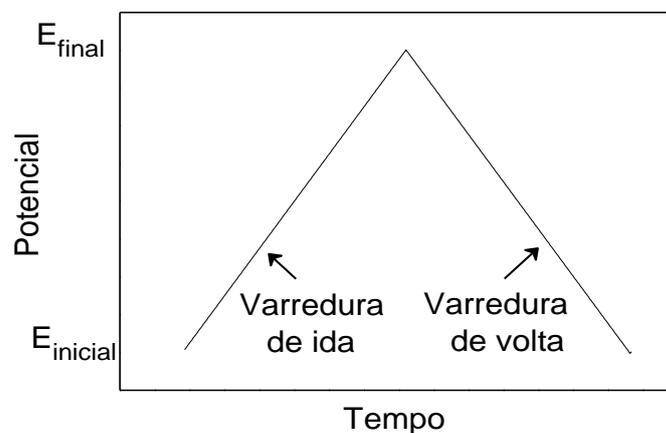
A voltametria é altamente empregada em estudos de processos de oxidação e redução, por meio da difusão ou adsorção dos analitos às superfícies eletródicas e dos mecanismos de transferência de elétrons em superfícies modificadas de eletrodos, que possibilitam a determinação da concentração de íons metálicos e moléculas orgânicas em diferentes matrizes, dentre outras coisas (SKOOG et al., 2009).

Dentre as técnicas voltamétricas existentes, a CV, a DPV e a SWV serão aqui discutidas. A CV por ser uma técnica que oferece uma localização rápida dos potenciais redox das espécies eletroativas e uma avaliação conveniente do efeito dos meios no processo redox (WANG, 2006). A DPV e a SWV por se classificarem entre os meios mais sensíveis para a medição direta da concentração de analitos em solução. A alta sensibilidade atribuída a essas duas técnicas ocorre devido ao aumento significativo na resposta associada à corrente faradaica (referente às reações redox na superfície do eletrodo) em relação à corrente capacitiva (necessária para carregar a dupla camada elétrica existente na interface eletrodo/solução) (COMPTON & BANKS, 2018).

2.6.1 Voltametria cíclica

A CV consiste na varredura linear, em forma de onda triangular, do potencial aplicado a um eletrodo de trabalho estacionário (em uma solução sem agitação) (KOUNAVES, 1997) (Figura 13).

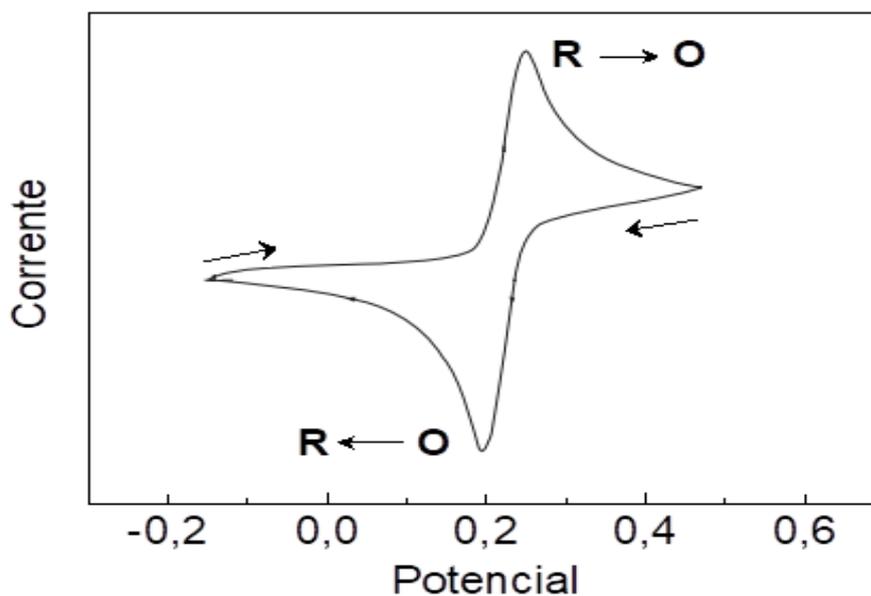
Figura 13 – Sinal de excitação do potencial em função do tempo na CV



Fonte: BARD & FAULKNER (2001)

Cada onda triangular constitui um ciclo e dependendo da informação procurada, um ou vários ciclos podem ser usados. À medida que o potencial é varrido, a corrente resultante é medida. O gráfico da corrente medida em função do potencial é chamado de voltamograma cíclico (WANG, 2006) (Figura 14).

Figura 14 – Voltamograma cíclico típico para um processo redox reversível



Fonte: Adaptado de WANG (2006)

A Figura 14 mostra a resposta esperada de um par redox reversível durante um ciclo de potencial. Inicialmente assume-se que apenas a espécie na forma oxidada (O) esteja presente. Ao escolher uma varredura positiva de potencial para o meio ciclo de ida, deve-se observar que o potencial inicial seja suficientemente negativo para reduzir a espécie O na superfície do eletrodo. À medida que o potencial se aproxima do potencial formal (E°) característico do processo redox, uma corrente anódica começa a aumentar, até que um pico seja atingido. Depois de atravessar a região de potencial em que o processo de oxidação ocorre ($R \rightarrow O$), a direção da varredura de potencial é invertida. Durante a varredura de volta, a espécie O (gerada no meio ciclo de ida e acumulada perto da superfície do eletrodo) é reduzida a R ($O \rightarrow R$), resultando em um pico catódico (WANG, 2006).

A corrente de pico, em amperes, para um processo redox reversível é medida pela equação de Randles-Ševčík:

$$I_p(A) = 2,69 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} A D^{\frac{1}{2}} \nu^{\frac{1}{2}} C \quad (1)$$

Na equação acima, n é o número de elétrons; A é a área eletroativa do eletrodo (em cm^2); D é o coeficiente de difusão (em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$); C é a concentração (em mol cm^{-3}) e ν é a velocidade de varredura (em V s^{-1}) (BARD & FAULKNER, 2001; COMPTON & BANKS, 2018).

De acordo com a Equação 1, a corrente de pico aumenta com a raiz quadrada da velocidade de varredura. Essa dependência é indicativa de um processo eletroquímico controlado por difusão (BARD & FAULKNER, 2001; COMPTON & BANKS, 2018).

A posição dos picos no eixo do potencial é indicada por E° . Para um processo reversível, ele é dado por:

$$E^\circ = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad (2)$$

Na equação acima, E_{pa} é o potencial de pico anódico e E_{pc} é potencial de pico catódico.

A separação entre os potenciais de pico (ΔE_p) para um processo redox reversível é dada por:

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = \frac{0,059}{n} V \quad (3)$$

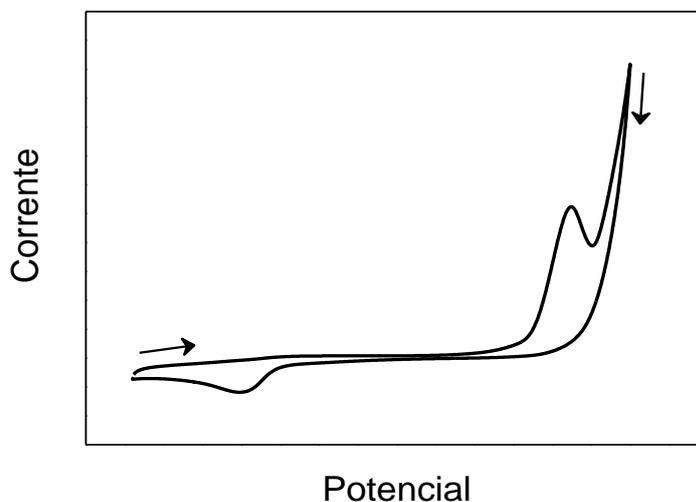
Assim, ΔE_p para um processo reversível envolvendo um elétron é cerca de 59 mV. Os potenciais de pico catódico e anódico são independentes da velocidade de varredura (WANG, 2006).

O potencial de meio pico ($E_{p/2}$), no qual a corrente é metade da corrente de pico, pode ser relacionado com o potencial polarográfico de meia onda ($E_{1/2}$) pela seguinte equação:

$$E_{p/2} = E_{1/2} \pm \frac{0,028}{n} V \quad (4)$$

Para os processos irreversíveis (aqueles com troca lenta de elétrons), os picos individuais são reduzidos em tamanho e amplamente separados (Figura 15).

Figura 15 – Voltamograma cíclico para um processo redox irreversível



Fonte: O autor (2020)

Nos processos irreversíveis, I_p , em amperes, pode ser calculada por:

$$I_p (A) = 2,99 \times 10^5 n(n_a + \alpha)^{\frac{1}{2}} AD^{\frac{1}{2}} \nu^{\frac{1}{2}} C \quad (5)$$

Na equação acima, n , A , D , ν e C são os mesmos parâmetros para o processo reversível, n_a é o número de elétrons envolvidos na etapa de transferência de carga e α é o coeficiente de transferência de carga (HENSTRIDGE et al., 2012; SHIMIZU et al., 2016; GUIDELLI et al., 2014a; GUIDELLI et al., 2014b).

2.6.1.1 Influência do pH na voltametria cíclica

Em presença de compostos orgânicos, as voltametrias cíclicas realizadas em meio aquoso são em geral dependentes do pH, uma vez que a adição ou remoção de um elétron pode induzir a captação ou perda de um próton (COMPTON & BANKS, 2018).

Em um processo eletroquimicamente reversível em que a espécie A produz B, a reação redox ocorre em uma única etapa, onde A recebe m -prótons e consome n -elétrons, gerando B:



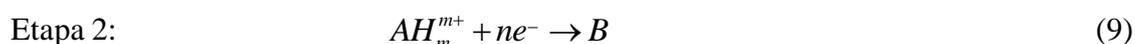
O reflexo disso é que, em diferentes concentrações de H^+ , a posição da onda voltamétrica, monitorada pelo seu potencial de pico, move-se em função da concentração desse íon, de acordo com a Equação 7,

$$E_p = const.1 + \frac{RT}{nF} \ln[H^+]^m \quad (7)$$

na qual, *const. 1* é uma constante que depende do potencial formal do par redox A/B e de suas concentrações, *F* é a constante de Faraday (em C mol⁻¹), *R* é a constante universal dos gases (em J mol⁻¹ K⁻¹), *T* é a temperatura (em K) e *n* já foi definido anteriormente na Equação 1 (COMPTON & BANKS, 2018).

Assim, quando a concentração de íons H^+ aumenta, o potencial de pico desloca-se para valores mais positivos.

Em um processo eletroquimicamente irreversível, assumimos que a reação redox da espécie A produzindo B, ocorre em etapas separadas (Equações 8 e 9).



Como consequência, o potencial de pico também se move em função da concentração de H^+ , de acordo com a Equação 10,

$$E_p = const.2 + \frac{RT}{(n_a + \alpha)F} \ln \frac{[H^+]^m}{K} \quad (10)$$

na qual, *const. 2* é uma constante que está relacionada com o potencial formal e as concentrações do intermediário AH_m^{m+} e do produto B e *K* é a constante de equilíbrio da etapa 1 (COMPTON & BANKS, 2018).

Portanto, em um processo irreversível a variação da concentração de H^+ tem o mesmo impacto que no processo reversível, isto é, quando a concentração de íons H^+ aumenta, o potencial de pico se desloca para valores mais positivos.

2.6.1.2 Estudo de processos de adsorção por voltametria cíclica

A CV pode ser usada para avaliar o comportamento interfacial de compostos eletroativos. Tanto os reagentes, quanto os produtos podem estar envolvidos em um processo de adsorção–dessorção (WANG, 2006).

A resposta eletroquímica de uma reação $O + ne^- \rightleftharpoons R$ pode ser significativamente afetada pela adsorção de “O” ou “R” na superfície do eletrodo (BARD & FAULKNER, 2001).

Para melhor entender como as características das espécies O e R impactam na CV (potencial e corrente de pico), dois casos distintos devem ser considerados:

Caso 1: O e R adsorvidos são eletroativos com reação reversível e as contribuições de O e R dissolvidos são desprezíveis. Situações em que ocorrem: (a) quando a voltametria é realizada em uma velocidade tão alta que as espécies adsorvidas não têm tempo de difundir apreciavelmente da superfície do eletrodo para a solução e (b) quando a adsorção é tão forte que mesmo em concentrações muito baixas ainda assim forma-se uma camada da espécie na superfície do eletrodo. Nesta condição, assume-se que o número de mols da espécie adsorvida à superfície (Γ_0^*) dentro da faixa de potencial da onda, independe do potencial. A onda tem uma forma simétrica e a corrente de pico é proporcional a velocidade de varredura segundo a Equação 11,

$$I_p(A) = \frac{n^2 F^2}{4RT} v A \Gamma_0^* \quad (11)$$

na qual, Γ_0^* é a quantidade da substância adsorvida na superfície do eletrodo (em mol cm⁻²) e os outros parâmetros já foram definidos anteriormente (BARD & FAULKNER, 2001).

O potencial de pico é dado pela equação 12,

$$E_p = E^0 - \left(\frac{RT}{nF} \right) \ln \left(\frac{b_O}{b_R} \right) \quad (12)$$

na qual, b_O e b_R são parâmetros que dependem do número de mols e das energias livres-padrão de O e R adsorvidos (BARD & FAULKNER, 2001).

Caso 2: Somente O adsorvido é eletroativo, porém a reação é totalmente irreversível. Nesta condição, a corrente de pico é também proporcional à velocidade de varredura segundo a Equação 13, mas a onda é deslocada negativamente comparada com a onda de um processo reversível e o formato simétrico é distorcido.

$$I_p(A) = \frac{\alpha F^2 A v \Gamma_0^*}{2,718RT} \quad (13)$$

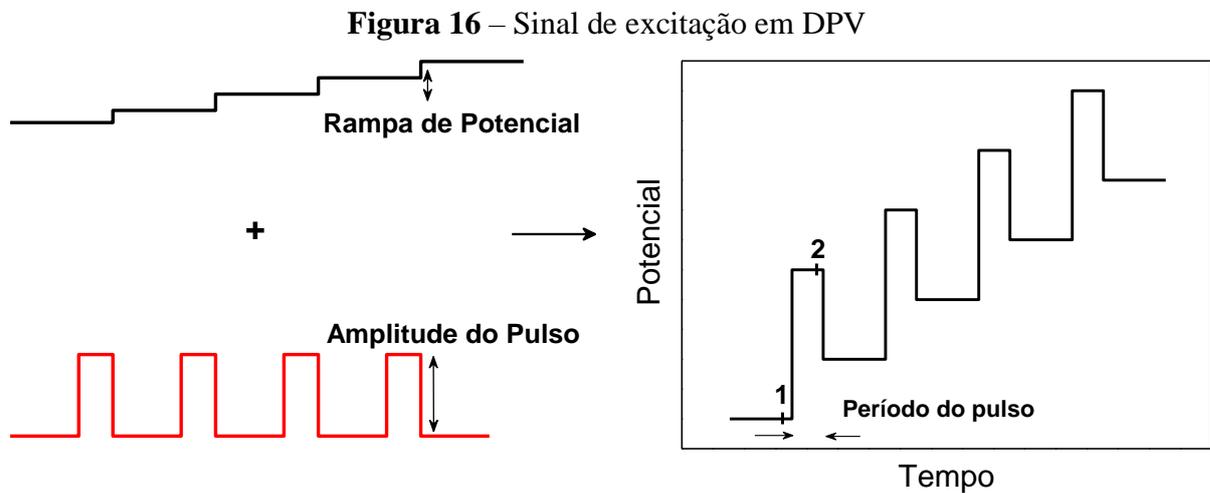
O potencial de pico é dado pela equação 14,

$$E_p = E^0 - \left(\frac{RT}{\alpha F} \right) \ln \left(\frac{RT}{\alpha F} \frac{k^0}{v} \right) \quad (14)$$

na qual, k^0 é a constante de velocidade padrão de uma reação heterogênea (BARD & FAULKNER, 2001).

2.6.2 Voltametria de pulso diferencial

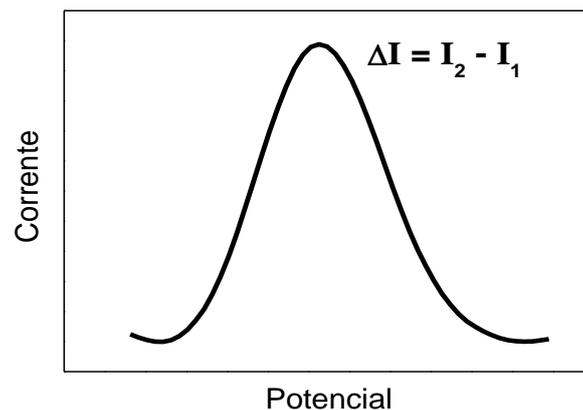
A DPV é uma técnica voltamétrica que se baseia na aplicação de um pulso de potencial fixo em forma de onda, de pequena amplitude e que, sobreposto a uma mudança lenta de potencial de base, é mostrado graficamente como um potencial em forma de escada (Figura 16) (COMPTON & BANK, 2018).



Fonte: Adaptado de COMPTON & BANKS (2018)

A medição da corrente ocorre em dois pontos para cada pulso de potencial, o primeiro ponto (1), imediatamente antes da aplicação do pulso e o segundo (2), imediatamente antes do final de cada pulso (Figura 16). As correntes 1 e 2 são então subtraídas, uma vez que a primeira é a contribuição da corrente capacitiva e a segunda é a contribuição da corrente faradaica e, então, constrói-se o gráfico dessa diferença contra o potencial em forma de escada, gerando um voltamograma em forma de pico (Figura 17) (COMPTON & BANKS, 2018).

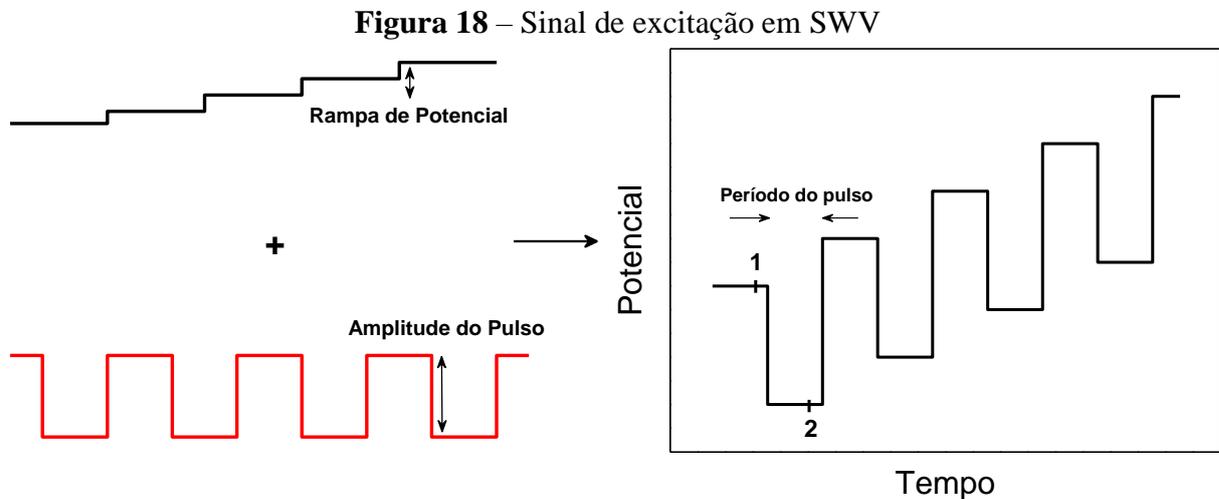
Figura 17 – Voltamograma típico de uma análise por DPV



Fonte: Adaptado de COMPTON & BANKS (2018)

2.6.3 Voltametria de Onda Quadrada

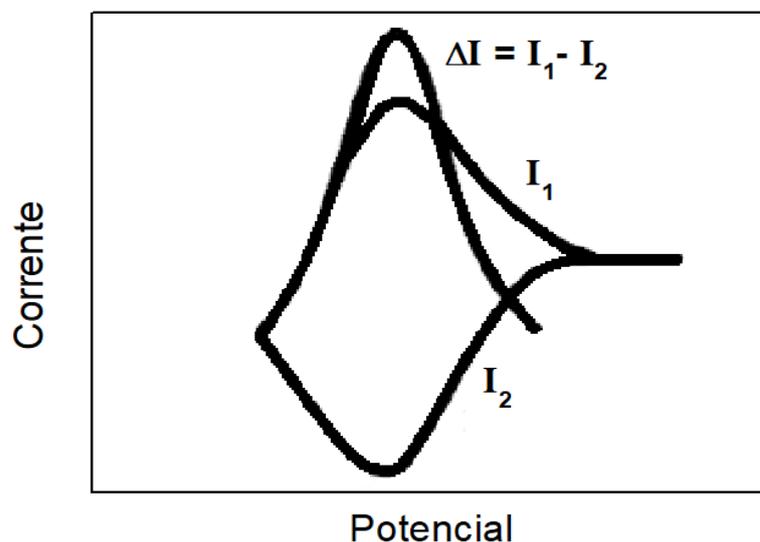
Na SWV, o sinal de excitação consiste em um pulso de onda quadrada simétrico em amplitude sobreposto a uma mudança lenta de potencial de base em forma de escada (Figura 18) (COMPTON & BANKS, 2018).



Fonte: Adaptado de COMPTON & BANKS (2018)

Assim como na DPV, as correntes são medidas em dois pontos, como por exemplo, os pontos 1 e 2 na Figura 18, que correspondem aos finais dos pulsos de ida e volta, respectivamente. A diferença entre elas (ΔI) é plotada em relação ao potencial em forma de escada, gerando o voltamograma característico dos experimentos de SWV (Figura 19).

Figura 19 – Perfis voltamétricos esquemáticos das correntes medidas durante os pulsos de ida (I_1) e volta (I_2) e a diferença resultante, ΔI , plotados contra o potencial em forma de escada



Fonte: Adaptado de COMPTON & BANKS (2018)

O principal benefício da SWV em relação à DPV é a diminuição apreciável que se pode obter em relação à corrente capacitiva. Isso decorre da subtração das correntes nos pontos 1 e 2 e o fato de que, na pequena faixa de potencial entre os pulsos de ida e volta, a capacitância interfacial é aproximadamente constante. Isso também permite pulsos curtos e velocidades de varredura mais rápidas, assim como favorece a obtenção de limites de detecção mais baixos (COMPTON & BANKS, 2018).

2.7 Eletrodos sólidos em eletroanálise

Eletrodos sólidos começaram a ser usados em eletroanalítica a partir da década de 1950. A popularidade do uso desses eletrodos se deu em função da necessidade de encontrar alternativas à utilização de eletrodos à base de mercúrio (KISSINGER & HEINEMAN, 1996).

O material constituinte do eletrodo de trabalho influencia fortemente o desempenho do procedimento voltamétrico. Espera-se que o eletrodo de trabalho selecionado forneça uma alta relação sinal-ruído e respostas com alta repetibilidade. Assim, sua seleção depende do comportamento redox do analito investigado e da corrente de fundo sobre a região de potencial na qual ocorre a medida. Em geral, os requisitos impostos aos eletrodos são os seguintes: inércia eletroquímica em uma ampla janela de potenciais, altos potenciais em relação às evoluções de hidrogênio e oxigênio, baixa corrente residual e a possibilidade de renovação suficientemente simples da sua superfície (USLU & OZKAN, 2007).

Diversos materiais sólidos podem ser usados como eletrodos de trabalho. Os mais utilizados são à base de carbono, platina, rutênio e ouro. Prata, níquel, bismuto e cobre também podem ser usados para algumas aplicações específicas (WANG, 1988).

Eletrodos de metais nobres

Eletrodos de metais nobres, tais como platina, ouro e paládio, são comumente considerados inertes, entretanto eles podem ser altamente ativos sob certas condições eletroquímicas. As vantagens eletroquímicas associadas a esses eletrodos estão relacionadas à sua alta condutividade. Além disso, apresentam baixa corrente de fundo, superfície rica e respostas com alta repetibilidade. Desvantagens em relação a esses eletrodos incluem o baixo potencial para evolução de hidrogênio, possibilidade de formação de camadas de óxidos em suas superfícies ou a dissolução de metais, que podem gerar erros sistemáticos nas medidas (KISSINGER & HEINEMAN, 1996; WANG, 1988).

Em particular, eletrodos de ouro foram muito usados na determinação de traços elementares (POSEY & ANDREWS, 1980; CHUNGUO, 1984). Devido ao baixo potencial

para evolução de hidrogênio, as faixas catódicas de potencial costumam ser limitadas para a sua utilização e por essa razão, são comumente usados em faixas de potenciais mais positivos para determinação de espécies que são mais difíceis de oxidar, tais como fármacos (MASAWAT & SLATER, 2007; PALAHARN et al., 2003; SHETTI et al., 2015).

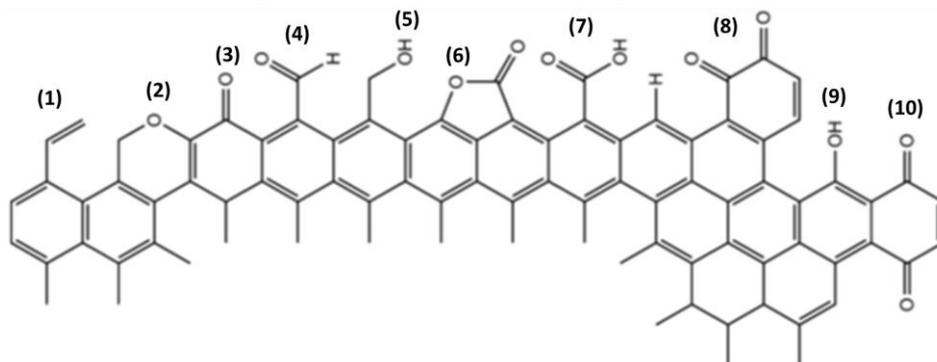
Eletrodos à base de carbono

Eletrodos à base de carbono geralmente possuem aplicações eletroanalíticas mais abrangentes do que os eletrodos de metais nobres devido à sua ampla janela de potencial de trabalho, baixa corrente de fundo, diversificada química de superfície, inércia química e possibilidade de adequação a várias aplicações. No entanto, a velocidade de transferência de elétrons em superfícies de carbono é geralmente mais lenta do que a observada em eletrodos de metais nobres (USLU & OZKAN, 2007). Eles podem ser classificados em homogêneos (carbono vítreo, grafite, fulerenos, nanotubos de carbono e diamante) ou heterogêneos (pasta de carbono e pasta de carbono modificada) (WANG, 1988).

Em particular, o GCE tem sido muito utilizado devido suas excelentes propriedades elétricas e mecânicas, ampla faixa de potencial de trabalho, extrema inércia química e facilidade de renovação de superfície (KINOSHITA, 1988). Suas aplicações em eletroanalítica são bem extensas, com ênfase na dosagem de fármacos (RADI et al., 2004; NIGOVIC & SIMUNIC, 2003) e detecção de espécies em amostras biológicas (EL-MAALI, 2000; RADI et al., 2003).

Cada tipo de eletrodo de carbono tem diferentes quantidades de sítios defeituosos que afetarão a sua reatividade frente um determinado analito (BANKS & COMPTON, 2006), pois ela está diretamente associada aos grupos funcionais (Figura 20) que podem estar presentes em sua superfície (fenóis, carbonilas, lactonas, ácidos carboxílicos e outros) (MCCREERY, 1991).

Figura 20 – Grupos funcionais encontrados na superfície de eletrodos de carbono. (1) Aril, (2) Éter, (3) Carbonila, (4) Aldeído, (5) Álcool, (6) Lactona, (7) Ácido carboxílico, (8) *o*-quinona, (9) Fenol e (10) *p*-quinona



Fonte: Adaptado de HARFIELD, et al. (2012)

Nesse sentido, é importante a realização de um pré-tratamento da superfície do eletrodo antes da sua utilização, de modo a criar uma superfície ativa e repetível a fim de melhorar seu desempenho analítico. Tal pré-tratamento pode consistir em um procedimento mecânico de polimento com partículas de alumina. Além disso, o polimento pode ser seguido de ativação eletroquímica (DEKANSKI et al., 2001). Ao mesmo tempo que a ativação eletroquímica produz uma superfície repetível, aumenta a transferência de elétrons e a adsorção específica (SHI et al., 2007).

Além do tratamento mecânico e da ativação eletroquímica, a sensibilidade e seletividade dos eletrodos de trabalho podem ser melhoradas pelo uso de um mediador na determinação analítica (COMPAGNONE et al., 1993; SHANKARAN & NARAYANAN, 2001) ou a partir da modificação da sua superfície (INOUE & KIRCHHOFF, 2000; SALIMI & HALLAI, 2005; NDAMANISHA et al., 2009).

2.8 Eletrodos quimicamente modificados

Eletrodos quimicamente modificados começaram a ser descritos na literatura a partir da década de 1970 (MOSES et al., 1975). A modificação da superfície de eletrodos sólidos permitiu a construção de uma base para novas aplicações eletroanalíticas e para a construção de diferentes tipos de sensores eletroquímicos (STRADIOTTO et al., 2003). Em geral, a modificação é feita a partir da ligação ou da imobilização, na superfície do eletrodo sólido, de um fino filme da espécie química desejada (PEREIRA et al., 2002). Em comparação aos eletrodos sólidos convencionais, as características e reatividade dos eletrodos modificados podem ser melhor controladas, uma vez que a modificação transfere as propriedades físico-químicas do modificador para a superfície do eletrodo sólido (USLU & OZKAN, 2007).

O desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados baseia-se principalmente na obtenção de um maior grau de seletividade, que pode ser acoplado à alta sensibilidade alcançável pela técnica voltamétrica empregada e à possibilidade de eletrocatalise de reações específicas em comparação aos eletrodos não modificados (PEREIRA et al., 2012).

Diversas espécies químicas podem ser utilizadas como modificadores de eletrodos, sendo as mais populares: filmes metálicos (MATH et al., 2019), nanopartículas metálicas (LIU et al., 2012a), nanomateriais de carbono (KEYVANFARD et al., 2016), filmes poliméricos (SONG & SHIU, 2001) e moléculas biológicas (LIU et al., 2012b).

Embora exista uma grande quantidade de modificadores químicos descritos na literatura, a busca por novos materiais é sempre contínua. Nesse sentido, nos últimos anos,

MOFs têm se popularizado como modificadoras de eletrodos. Seu potencial uso na modificação de superfícies eletródicas para análises voltamétricas ocorre devido, principalmente, às suas grandes áreas superficiais (que podem chegar até $7000\text{--}8000\text{ m}^2\text{ g}^{-1}$) (FARHA et al., 2012), que melhorariam a pré-concentração do analito no eletrodo e aos seus largos tamanhos de poro (HÖNICKE et al., 2018), que permitiriam a rápida difusão de vários analitos até a superfície do eletrodo. Além disso, MOFs podem ser funcionalizadas com um grande número de espécies químicas que, se apropriadas, podem facilitar a adsorção seletiva de analitos no curso da análise voltamétrica (POURNARA et al., 2019).

Pesquisas no campo de uso das MOFs como modificadoras de eletrodos sólidos para fins eletroanalíticos ainda são incipientes, mas se mostram bastante promissoras.

2.9 Objetivos

Geral

Desenvolvimento de eletrodo modificado com rede metalorgânica de cobre para determinação eletroanalítica de CAP, CYS e GSH.

Específicos

Avaliar a eficiência do copolímero de acrilamida e acrilato de sódio, assim como das nanopartículas de ouro no aumento da condutividade elétrica de Cu-BTC de modo a favorecer seu uso como sensor eletroquímico;

Aplicar as metodologias desenvolvidas na avaliação das concentrações de CAP, CYS e GSH em amostras farmacêuticas e biológicas empregando as técnicas de DPV e SWV;

Verificar as melhores condições de pH para análise de cada tiol;

Comparar o desempenho do eletrodo modificado produzido com outros descritos da literatura.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes

Todos os reagentes empregados foram de grau analítico não sendo necessária purificação prévia (Tabela 13).

Tabela 13 – Procedência e pureza dos reagentes utilizados

Reagente	Pureza	Procedência
Basolite™ C300 (Cu-BTC)	98%	Sigma-Aldrich
L-cisteína	97%	Sigma-Aldrich
Bicarbonato de sódio	99%	Sigma-Aldrich
Cloreto de potássio	99%	Sigma-Aldrich
Hidróxido de potássio	99%	Sigma-Aldrich
Ácido benzeno-1,3,5-tricarboxílico	95%	Sigma-Aldrich
Glutationa reduzida	≥ 98%	Sigma-Aldrich
Polivinilpirrolidona	> 98%	Sigma-Aldrich
Butan-1-ol	99,8%	Vetec
Acetato de cobre (II)	98%	Vetec
Fosfato de potássio dibásico	99%	Vetec
Citrato de sódio	99%	Merck
Ácido clorídrico	36%	Merck
Ácido fórmico	99%	Merck
Dimetilformamida	≥ 99,8 %	Merck
Etanol	99%	Merck
Copolímero de acrilamida/acrilato de sódio	99%	Angene Chemical
Captopril	99%	LAFEPE
Ácido fosfórico	85%	Fmaia
Fosfato de Potássio Monobásico	99%	Cinética Química
Ferrocianeto de Potássio	99%	J. T. Baker
Ácido tetracloroáurico(III) tri-hidratado	99,99%	Alfa Aesar
Ácido benzóico	99,5%	Dinâmica

Fonte: O autor (2020)

As cápsulas de complemento alimentar de GSH reduzida foram adquiridas na Oficial Farma e os comprimidos de Capotríneo em farmácia.

Os tióis foram mantidos sob refrigeração e as suas soluções preparadas no momento do uso. A água utilizada no preparo das soluções foi purificada pelo sistema Milli-Q (resistividade 18,2 MΩ).

3.2 Materiais e método

3.2.1 Materiais

3.2.1.1 Polimento dos eletrodos

No processo de polimento dos eletrodos, utilizou-se suspensões de Alumina 0,05 μm; 0,3 μm e 1,0 μm e pano de polimento metalográfico, ambos da marca Teclago (Vargem Grande Paulista, SP, Brasil).

3.2.1.2 Filtração das amostras comerciais

A solução dos comprimidos de Capotríneo foi filtrada em papel de filtro de filtração média adquirido na Casa do Laboratório (Recife, PE, Brasil) e as cápsulas de complemento alimentar de GSH, em filtro tipo seringa Chromafil Xtra 0,45 μm, adquirido na Macherey-Nagel GmbH & Co. KG (Düren, Alemanha).

3.2.1.3 Pesagem das amostras

As amostras de tióis foram pesadas em balança analítica marca SHIMADZU (Kyoto, Japão), modelo AUY220, com auxílio de espátula descartável de polietileno, lavada com água Milli-Q.

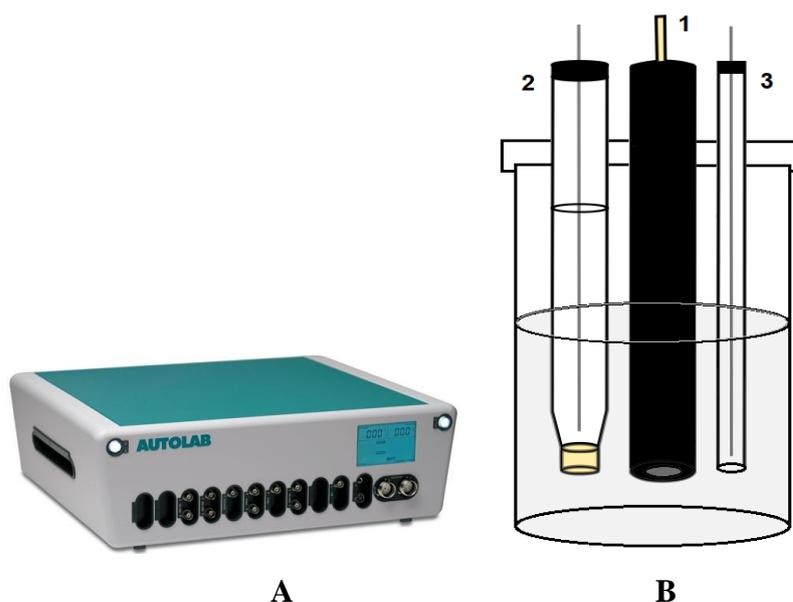
3.2.1.4 Medidas de pH das soluções-tampão

As medidas de pH das soluções-tampão foram realizadas com um pHmetro digital Hanna Instruments (Woonsocket, RI, EUA), modelo HI 2221, acoplado com eletrodo de vidro combinado, previamente calibrado com soluções-tampão, pHs 4,0; 7,0 e 9,0 (conforme a faixa requerida).

3.2.1.5 Experimentos eletroquímicos

As medidas eletroquímicas foram realizadas em uma célula confeccionada com polietileno descartável, com volume aproximado de 20,0 mL, contendo 3,0 mL de solução-tampão, num arranjo de três eletrodos (trabalho, referência e auxiliar), colocada em uma gaiola de Faraday, utilizando um potenciostato/galvanostato Metrohm-Autolab (Utrecht, Países Baixos), modelo PGSTAT 128N (Figura 21).

Figura 21 – (A) Potenciostato/galvanostato Metrohm-Autolab. (B) Esquema da célula de três eletrodos. (1) Trabalho: Cu-BTC/GCE, Cu-BTC/Au ou Au@Cu-BTC/GCE, (2) Referência: Ag/AgCl (KCl saturado), (3) Auxiliar: fio de Pt



Fonte: O autor (2020)

O aparelho foi controlado por um computador através da interface *Universal Serial Bus* (USB) e o programa NOVA versão 1.11.

Todos os potenciais foram medidos em relação a um eletrodo de referência de Ag/AgCl em KCl saturado (Figura 21B.2), tendo como eletrodo auxiliar um fio de Pt (Figura 21B.3) e como eletrodos de trabalho (Figura 21B.1) GCE ou ouro modificados com Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio, além disso, o GCE também foi modificado com Au@Cu-BTC.

3.2.1.6 Caracterização das nanopartículas de ouro e das MOFs de Cu-BTC e Au@Cu-BTC

A distribuição de tamanho e o tamanho das nanopartículas de ouro foram caracterizados por TEM (Figura A1, Anexos) utilizando um microscópio eletrônico modelo Tecnai 20 de 200 kV, da marca FEI (Waltham, MA, EUA). Os dados de difração de raios-X em pó para Cu-BTC e Au@Cu-BTC (Figura A2, Anexos) foram coletados em um difratômetro de raios-X Bruker (Billerica, MA, EUA), modelo D8 Advance operando sob radiação $\text{CuK}\alpha$ (40 kV, 40 mA) equipado com um detector LynxEye. O padrão de difração foi coletado na faixa de 2θ de 5-50° com um tamanho de passo de 0,01° e um tempo de contagem de 1 s passo⁻¹. As microestruturas das amostras de Cu-BTC e Au@Cu-BTC foram analisadas por SEM (Figura A4, Anexos) utilizando um microscópio eletrônico modelo MIRA 3, marca TESCAN (Brno, República Tcheca), operando a 10 kV. A estabilidade térmica das MOFs (Figura A5, Anexos) foi determinada com um analisador térmico da marca SHIMADZU (Kyoto, Japão), modelo DTG-60H, com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob atmosfera dinâmica de oxigênio (50 mL min⁻¹). As MOFs também foram analisadas por espectroscopia de infravermelho (entre 4.000 cm⁻¹ e 500 cm⁻¹) (Figura A3, Anexos) usando um espectrômetro modelo IFS66, da marca Bruker (Billerica, MA, EUA).

3.2.2 Método

3.2.2.1 Síntese das nanopartículas de ouro

AuNPs foram sintetizadas de acordo com o método de Turkevich. Inicialmente, aqueceram-se 150,0 mL de uma solução aquosa de HAuCl_4 0,01% em uma chapa sob agitação até a ebulição. Assim que a solução começou a ferver, adicionaram-se 5,0 mL de uma solução aquosa de citrato de sódio 0,5% e o aquecimento foi mantido constante durante 10 minutos. O produto final, uma solução de cor vermelho escuro, foi resfriado até a temperatura ambiente (ZHAO et al., 2013).

Após a síntese das AuNPs, 13,0 mL de uma solução aquosa 0,45 mmol L⁻¹ de polivinilpirrolidona (PVP) (MM = 44.000) foram adicionados gota a gota à solução das AuNPs, sob agitação, e a mistura preparada foi mantida à temperatura ambiente e deixada em repouso durante 24 h. A solução final, nanopartículas (nanoesferas) de ouro estabilizadas com PVP, foi então lavada 3 vezes com água, empregando ciclos de precipitação/ressuspensão usando centrifugação com 14.000 rpm durante 30 minutos e finalmente dispersando em DMF (ZHAO et al., 2013).

3.2.2.2 Síntese dos nanocompósitos de Au@Cu-BTC

Os nanocompósitos de Au@Cu-BTC foram fornecidos pelo Laboratório de Terras Raras do Departamento de Química Fundamental da UFPE, os quais foram preparados a partir da síntese de nanopartículas esféricas de Cu-BTC na presença de AuNPs. Em processo típico, dissolveram-se 3,8 mmol (0,8g) de BTC em 30,0 mL da suspensão de AuNPs em DMF, sob agitação. Em seguida, essa mistura foi adicionada gota a gota a uma solução contendo 1,6 mmol (0,3 g) de acetato de sódio e 0,03 mol (4,0 g) de ácido benzóico dissolvidos em 30,0 mL de butan-1-ol, durante um período de 30 minutos à temperatura ambiente. Foi possível observar a formação de partículas suspensas azuis. O sistema foi mantido sob agitação por mais 30 minutos, e as partículas azuis formadas foram precipitadas por centrifugação (6.000 rpm, 10 minutos) e depois lavadas três vezes com etanol (LI et al., 2017). O produto obtido foi então disperso em volume adequado de DMF de modo a obter uma suspensão com concentração final de 6,15 mg mL⁻¹ de Au@Cu-BTC, a qual foi usada como estoque para posterior modificação do GCE.

3.2.2.3 Preparo do modificador de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio

Dissolveram-se 2,0 g do copolímero de acrilamida/acrilato de sódio em 400 mL de água. Em seguida, uma alíquota de 1,0 mL dessa mistura foi transferida para um tubo EppendorfTM e adicionou-se uma quantidade de Cu-BTC comercial (BasoliteTM C300) suficiente para se obter uma concentração de 10,0 mg mL⁻¹ de Cu-BTC que foi submetida à sonicação por 20 minutos até formar uma suspensão estável. Essa suspensão foi usada como estoque para posterior modificação do GCE.

3.2.2.4 Pré-tratamento mecânico e ativação eletroquímica do GCE

Antes da modificação, o GCE foi cuidadosamente polido com uma suspensão de alumina 1,0 µm e em seguida lavado com água Milli-Q por 10 s. O processo foi repetido para as suspensões de alumina 0,3 µm e 0,05 µm. Em seguida, o eletrodo foi polido novamente em um pano de polimento metalográfico sem a presença de alumina e depois lavado com água Milli-Q por 10 s (CHEN et al., 1995). Para assegurar ainda mais a remoção do resíduo de alumina, o GCE foi colocado na célula eletroquímica contendo 3,0 mL de uma solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ desoxigenada no pH de interesse e realizaram-se voltametrias cíclicas entre -0,4 V e +0,8 V a uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ até que se obtivessem

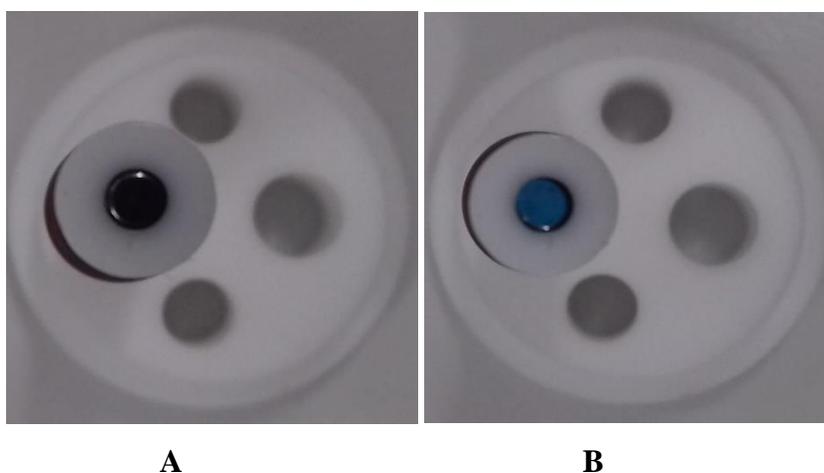
voltamogramas repetíveis (cerca de 5 ciclos). Após pré-tratamento mecânico, o GCE foi ativado eletroquimicamente (DEVADAS et al., 2013) em uma solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaHCO_3 , desoxigenada, a partir do registro de voltamogramas cíclicos repetíveis (cerca de 7 ciclos) entre -1.2 V e $+2.0 \text{ V}$ a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . Após ativação eletroquímica, prosseguiram-se os processos de modificação da superfície eletródica descritos na seção seguinte.

3.2.2.5 Modificação do GCE para estudos eletroquímicos

Os modificadores preparados com as suspensões de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio e Au@Cu-BTC em DMF foram depositados na superfície do eletrodo de diferentes maneiras.

Para os experimentos realizados na determinação de CAP, após ativação eletroquímica do GCE descrita na seção 3.2.2.4, $6,0 \mu\text{L}$ da suspensão de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio foram gotejados na superfície do eletrodo sólido com o auxílio de uma micro-pipeta e, em seguida, a superfície eletródica foi seca em estufa ($100 \text{ }^\circ\text{C}$) até formar um fino filme (Figura 22) (HOSSEINI et al., 2013a).

Figura 22 – (A) GCE sem modificação. (B) GCE após modificação com Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio (A concentração de MOF utilizada nesse exemplo foi de $10,0 \text{ mg mL}^{-1}$)



Fonte: O autor (2020)

Para os estudos de determinação de CYS, o processo de modificação foi o mesmo utilizado para o CAP, com a diferença de que o volume da suspensão de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio gotejado na superfície do eletrodo foi de $2,0 \mu\text{L}$.

Para a GSH, foram usados os dois tipos de modificadores, a suspensão de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio e a suspensão de Au@Cu-BTC, sendo, em ambos os casos, gotejados 2,0 μL das suspensões na superfície do eletrodo sólido seguida de secagem a 100 °C até a formação do fino filme de MOF sobre a superfície do eletrodo de GCE.

Os volumes diferentes das suspensões das MOFs (6,0 μL e 2,0 μL) se deram em função das diferentes áreas superficiais dos eletrodos utilizados. O GCE utilizado na determinação de CAP tinha uma área superficial maior que o GCE utilizado na determinação de CYS e GSH.

Após cada experimento, o eletrodo passou novamente pelos processos de pré-tratamento mecânico e ativação eletroquímica, seguidos de modificação da superfície.

3.2.2.6 Modificação do eletrodo de ouro para estudos eletroquímicos

O eletrodo de ouro foi preparado seguindo os mesmos processos de pré-tratamento mecânico e ativação descritos para o GCE na seção 3.2.2.4. Após ativação, 2,0 μL da suspensão de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio foram gotejados na superfície do eletrodo sólido com o auxílio de uma micro-pipeta e em seguida, a superfície eletródica foi seca em estufa (100 °C) até a formação de um fino filme.

Após cada experimento, o eletrodo passou novamente pelos processos de pré-tratamento mecânico e ativação eletroquímica, seguidos de modificação da superfície.

3.2.2.7 Preparo das soluções-tampão fosfato

Soluções-tampão fosfato foram preparadas pela mistura de volumes adequados de soluções estoque de H_3PO_4 e KH_2PO_4 , ambas na concentração de 0,1 mol L^{-1} para se obter a faixa de pH 2,0–4,0 (a mistura foi monitorada por pHmetro digital até que o pH de interesse fosse obtido) e de KH_2PO_4 e K_2HPO_4 , ambas na concentração de 0,1 mol L^{-1} para se obter a faixa de pH 5,0–7,0 (HOSSEINI et al., 2013a).

3.2.2.8 Estudos de voltametria cíclica no GCE modificado com Cu-BTC

As propriedades eletroquímicas do GCE modificado com Cu-BTC (Cu-BTC/GCE) foram inicialmente estudadas por CV.

Para a realização desses estudos, a solução estoque de 10,0 mg mL^{-1} de Cu-BTC foi inicialmente diluída para 1,0 mg mL^{-1} em solução aquosa 5,0 mg mL^{-1} de acrilamida/acrilato de sódio. O GCE foi então modificado, seguindo o método descrito na seção 3.2.2.5 (para o

CAP). Após modificação, o eletrodo foi imerso na célula eletroquímica contendo 3,0 mL de tampão fosfato (pH 7,0), previamente desoxigenada, e voltamogramas cíclicos foram registrados no intervalo de $-0,4$ V a $+0,8$ V a uma velocidade de varredura de $50,0$ mV s^{-1} .

Após obtenção dos voltamogramas em pH 7,0, o procedimento acima descrito foi repetido para outros valores de pH do tampão na faixa de 3,0–6,0 para estudos de influência do pH do meio na resposta eletroquímica de Cu-BTC/GCE.

Estudos de CV variando a velocidade de varredura também foram feitos para Cu-BTC/GCE. Nesses estudos, o procedimento foi semelhante ao adotado no estudo de pH, exceto pelo fato de que a concentração de Cu-BTC foi diluída para $0,05$ mg mL^{-1} e o pH do tampão foi mantido fixo no valor 3,0. Voltamogramas cíclicos foram obtidos para 5 diferentes valores de velocidade de varredura ($25,0$; $50,0$; $100,0$; $150,0$ e $200,0$ mV s^{-1}).

Todos os experimentos descritos nessa seção foram realizados em triplicata.

3.2.2.9 Estudos de voltametria cíclica em Cu-BTC/GCE na presença de captopril

Na presença de uma amostra padrão de CAP, os estudos de CV foram realizados inicialmente em GCE modificado com uma suspensão contendo $1,0$ mg mL^{-1} de Cu-BTC dispersa em solução aquosa $5,0$ mg mL^{-1} de acrilamida/acrilato de sódio, em uma célula eletroquímica, previamente desoxigenada por 5 min., contendo 3,0 mL de solução $1,0$ mmol L^{-1} de CAP em tampão fosfato $0,1$ mol L^{-1} (pH 3,0). O potencial foi varrido no intervalo de $-0,4$ V a $+1,6$ V numa velocidade de varredura de $50,0$ mV s^{-1} .

A influência do pH na oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE foi estudada a partir da obtenção de voltamogramas cíclicos variando o pH na faixa entre 3,0–7,0. Nesse estudo, a concentração de Cu-BTC utilizada foi de $0,8$ mg mL^{-1} e a concentração de CAP foi de $0,1$ mol L^{-1} . O potencial foi varrido no intervalo de $-0,4$ V a $+0,8$ V numa velocidade de varredura de $50,0$ mV s^{-1} .

O efeito da velocidade de varredura na oxidação eletroquímica de CAP foi estudado por CV em GCE modificado com $0,05$ mg mL^{-1} de Cu-BTC dispersa em $5,0$ mg mL^{-1} de acrilamida/acrilato de sódio, imerso em uma célula eletroquímica contendo 3,0 mL de solução $50,0$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em tampão fosfato $0,1$ mol L^{-1} (pH 3,0), para 5 diferentes velocidades de varredura ($10,0$; $20,0$; $30,0$; $40,0$ e $50,0$ mV s^{-1}).

Todos os experimentos descritos acima foram realizados em triplicata.

3.2.2.10 Estudos de voltametria de pulso diferencial em Cu-BTC/GCE na presença de captopril

Voltamogramas de DP foram obtidos inicialmente para GCE modificado com 1,0 mg mL⁻¹ de Cu-BTC dispersa em 5,0 mg mL⁻¹ de acrilamida/acrilato de sódio, em 3,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) (previamente desoxigenada por 5 min.) na presença de 5,0 µmol L⁻¹ de CAP. Nesse primeiro estudo, o potencial de deposição foi mantido em +0,1 V durante 360 s, seguido por uma etapa de repouso de 5 s. Transcorrido esse tempo, o potencial foi varrido em sentido anódico até +0,6 V, com velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹.

O efeito do pH na resposta eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV foi estudado nas mesmas condições descritas acima, exceto pelo fato de que a concentração do analito preparada foi de 10,0 µmol L⁻¹ e o pH do tampão variou de 2,0 até 6,0.

Diferentes concentrações de Cu-BTC também foram analisadas por DPV (0,36; 0,42; 0,50; 0,62; 0,79; 1,65 e 3,30 mg mL⁻¹) em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) na presença de 5,0 µmol L⁻¹ de CAP. Os parâmetros de DPV foram os mesmos utilizados nos estudos anteriores.

A pré-concentração do analito na superfície do eletrodo modificado com Cu-BTC foi analisada por DPV variando o tempo de deposição (120, 180, 240, 300, 360 e 420 s). A concentração de Cu-BTC utilizada nesse caso foi de 0,5 mg mL⁻¹ e o pH mantido em 3,0 para uma concentração de CAP igual a 10,0 µmol L⁻¹.

Visando a obtenção de uma melhor resposta eletroquímica do eletrodo, foram verificadas as melhores condições para a etapa de redissolução relativas à DPV. Aqui, são apresentados somente os valores dos parâmetros que tiveram as melhores respostas: tempo de modulação: 0,1 s, intervalo de tempo: 0,6 s e amplitude de modulação: 0,01 V. Tais parâmetros conduziram a uma velocidade de varredura para DPV de 8,3 mV s⁻¹.

Voltamogramas de DP foram obtidos nas condições otimizadas para Cu-BTC/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) na presença de concentrações crescentes de CAP (0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0 e 7,0 µmol L⁻¹) para determinação da faixa linear de trabalho, do coeficiente de determinação (R²), da equação de regressão linear e do limite de detecção. A concentração de Cu-BTC utilizada nesse caso foi de 0,5 mg mL⁻¹ e o tempo de deposição de 360 s.

Todos os voltamogramas de DPV foram otimizados utilizando correção de linha de base e suavização com filtro Savitzky-Golay (janela de 9 pontos).

Todos os experimentos descritos nessa seção foram realizados em triplicata.

3.2.2.11 Preparo e análise da amostra real de captopril em Cu-BTC/GCE por DPV

Três comprimidos da amostra comercial de CAP foram finamente pulverizados e uma quantidade equivalente à massa de um comprimido foi precisamente pesada e dissolvida em 50,0 mL de água ultrapura. A mistura foi agitada durante 20 minutos e filtrada para um balão volumétrico de 100,0 mL, usando processo convencional (funil de vidro e papel de filtro de filtragem média), lavando com a água ultrapura até aferir o balão.

Para os estudos voltamétricos, uma alíquota de 10,0 μL da solução aquosa preparada do fármaco de CAP foi transferida para a célula eletroquímica contendo 3,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3) e os voltamogramas de DP foram obtidos nas condições otimizadas descritas na seção 3.2.2.10.

Em seguida, realizaram-se ensaios de recuperação de CAP por adição, de alíquota suficiente para se obter uma concentração de 1,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do padrão de CAP, à uma célula eletroquímica contendo 10,0 μL da amostra do fármaco de CAP em 3,0 mL de solução tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3).

Todos os ensaios foram feitos em triplicata.

3.2.2.12 Estudos de voltametria cíclica em Cu-BTC/GCE na presença de cisteína

Na presença de uma amostra padrão de CYS, os estudos de CV foram realizados inicialmente em GCE modificado (seção 3.2.2.5 para CYS) com uma suspensão contendo 0,05 mg mL^{-1} de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio, em uma célula eletroquímica, desoxigenada por 5 min., contendo 3,0 mL de solução 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (variando o pH na faixa de 3,0–7,0), numa velocidade de varredura de 50,0 mV s^{-1} . Os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de potencial de $-0,4 \text{ V}$ a $+0,8 \text{ V}$, com tempo de espera de 120 s, para facilitar a pré-concentração do analito na superfície do eletrodo.

Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.2.2.13 Estudos de voltametria de pulso diferencial em Cu-BTC/GCE na presença de cisteína

Voltamogramas de DP foram obtidos inicialmente para GCE modificado com 0,5 mg mL^{-1} de Cu-BTC dispersa em 5,0 mg mL^{-1} de acrilamida/acrilato de sódio, em 3,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0) (previamente desoxigenada por 5 min.) na presença de 5,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS. Nesse primeiro estudo, o potencial de deposição foi mantido em $+0,1 \text{ V}$ com tempo de deposição de 360 s, seguido por uma etapa de repouso de 5 s. Transcorrido esse tempo, o

potencial foi varrido em sentido anódico até +0,5 V, a uma velocidade de varredura de 20,0 mV s⁻¹.

Para CYS, as melhores condições para a etapa de redissolução relativas à DPV foram: tempo de modulação: 0,05 s, intervalo de tempo: 0,25 s e amplitude de modulação: 0,025 V. Tais parâmetros conduziram a uma velocidade de varredura para DPV de 20,0 mV s⁻¹.

A pré-concentração do analito na superfície do eletrodo modificado com Cu-BTC foi analisada por DPV variando o tempo de deposição (180, 240, 360, 420 e 480 s). A concentração de Cu-BTC utilizada nesse caso foi de 0,5 mg mL⁻¹ e o pH mantido em 4,0 para uma concentração de CYS igual a 5,0 µmol L⁻¹.

Voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos para GCE modificado com 0,5 mg mL⁻¹ de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio, em 3,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) (previamente desoxigenada por 5 min.) na presença de concentrações crescentes de CYS (1,0; 3,0; 5,0; 7,0 e 10,0 mol L⁻¹) para determinação da faixa linear de trabalho, do coeficiente de determinação (R²), da equação de regressão linear e do limite de detecção. Nesse estudo, o potencial de deposição foi mantido em +0,1 V com tempo de deposição de 420s, seguido por uma etapa de repouso de 5 s. Após esse tempo, o potencial foi varrido em sentido anódico até +0,5 V.

Todos os voltamogramas de DPV foram otimizados utilizando correção de linha de base e suavização com filtro Savitzky-Golay (janela de 9 pontos).

Todos os experimentos descritos nessa seção foram realizados em triplicata.

3.2.2.14 Estudos de voltametria cíclica em Cu-BTC/GCE na presença de glutatona

Para a amostra padrão de GSH, os estudos de CV foram realizados inicialmente em GCE modificado (seção 3.2.2.5 para GSH) com uma suspensão contendo 0,1 mg mL⁻¹ de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio, em uma célula eletroquímica contendo 3,0 mL de solução 0,1 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0), numa velocidade de varredura de 50,0 mV s⁻¹. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de potencial de -0,4 V a +0,8 V, com tempo de espera de 5 s.

Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.2.2.15 Estudos de voltametria cíclica no eletrodo de ouro modificado com Cu-BTC na presença de glutathione

Voltamogramas cíclicos foram obtidos para o eletrodo de ouro modificado com 0,1 mg mL⁻¹ Cu-BTC (Cu-BTC/Au) em 3,0 mL de solução 0,7 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) a uma velocidade de varredura de 50,0 mV s⁻¹. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de potencial de -0,2 V a +0,8 V, com tempo de espera padrão de 5 s. Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.2.2.16 Estudos de voltametria cíclica no GCE modificado com Au@Cu-BTC na presença de glutathione

Para a realização desses estudos, a solução estoque de 6,15 mg mL⁻¹ de Au@Cu-BTC foi inicialmente diluída para 61,5 µg mL⁻¹ em uma mistura de DMF (92,5%) e etanol (7,5%), a qual facilitou sua adesão à superfície do eletrodo.

Os estudos iniciais de CV na presença de uma amostra padrão de GSH em GCE modificado (seção 3.2.2.5 para GSH) com a MOF de Au@Cu-BTC (Au@Cu-BTC/GCE) foram feitos em uma célula eletroquímica contendo 3,0 mL de solução 0,1 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) (sem desoxigenação), numa velocidade de varredura de 20,0 mV s⁻¹. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de potencial de -0,4 V a +1,0 V, com tempo de espera de 120 s, para facilitar a pré-concentração do analito na superfície do eletrodo.

Todos os experimentos foram feitos em triplicata.

3.2.2.17 Estudos de voltametria de onda quadrada em Au@Cu-BTC/GCE na presença de glutathione

O efeito do pH na resposta eletroquímica de GSH foi estudado por SWV em Au@Cu-BTC/GCE em 3,0 mL de solução 10,0 µmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato (variando a faixa de pH de 2,0–7,0) para uma concentração de 61,5 µg mL⁻¹ de Au@Cu-BTC. Nesse estudo, o potencial de deposição foi mantido em -0,4 V com tempo de deposição de 120 s, seguido por uma etapa de repouso de 5 s. Transcorrido esse tempo, o potencial foi varrido em sentido anódico até +0,8 V, a uma velocidade de varredura de 75 mV s⁻¹.

Estudos de SWV em Au@Cu-BTC nas mesmas condições foram realizados para verificar a influência de outros eletrólitos suporte (formiato/ácido fórmico e cloreto de potássio/ácido clorídrico) na resposta eletroquímica de GSH, mantendo-se o pH fixo em 3,0.

A pré-concentração do analito na superfície de Au@Cu-BTC/GCE foi analisada por SWV variando o tempo de deposição (30, 60, 120, 180, 240 e 300 s). A concentração de Au@Cu-BTC utilizada nesse caso foi de $61,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e o pH mantido em 3,0 para uma concentração de GSH igual a $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. O potencial de deposição foi mantido em +0,1 V e varrido até +0,6 V após a pré-concentração do analito.

Diferentes concentrações de Au@Cu-BTC também foram analisadas por SWV (0,0615; 0,308; 0,461; 0,615; 1,54; 3,08 e $6,15 \text{ mg mL}^{-1}$) em 3,0 mL de solução $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0), com tempo de deposição de 240 s e potencial de deposição de +0,1 V.

Os parâmetros otimizados para a etapa de redissolução relativa à SWV foram: frequência: 15 Hz, passo de potencial: 0,005 V, Amplitude de pulso: 0,05 V. Tais parâmetros conduziram a uma velocidade de varredura para SWV de $75,0 \text{ mV s}^{-1}$.

Voltamogramas de SW foram obtidos para Au@Cu-BTC/GCE em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) na presença de concentrações crescentes de GSH (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0 e $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) para determinação da faixa linear de trabalho, do coeficiente de determinação (R^2), da equação de regressão linear e do limite de detecção. A concentração de Au@Cu-BTC utilizada nesse caso foi de $0,461 \text{ mg mL}^{-1}$ e o tempo de deposição de 240 s. As condições de redissolução foram as otimizadas descritas anteriormente.

Todos os voltamogramas de SWV foram otimizados utilizando correção de linha de base e suavização com filtro Savitzky-Golay (janela de 9 pontos).

Todos os experimentos descritos nessa seção foram realizados em triplicata.

3.2.2.18 Preparo e análise por SWV das amostras reais de glutatona

Glutatona como complemento alimentar

Comprimidos comerciais de GSH reduzida (3 unidades) foram pesados e finamente pulverizados. Uma massa do pó correspondente à massa de um comprimido foi pesada com precisão, dissolvida em 100 mL de água ultrapura com sonicação constante (20 minutos) e filtrada através de um filtro tipo seringa de $0,45 \mu\text{m}$ diretamente em um tubo Eppendorf® e mantidas sob refrigeração até o momento do uso.

Para os estudos voltamétricos, alíquotas de 10,0 μL da amostra comercial de GSH foram transferidas para a célula eletroquímica contendo 3,0 mL de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3). Em seguida, foram adicionados volumes do padrão de GSH (equivalentes a 4,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$) à célula eletroquímica contendo uma nova amostra comercial de GSH tamponada, para a realização dos ensaios de recuperação e os voltamogramas de SW foram posteriormente obtidos nas condições otimizadas.

Amostra biológica contendo glutathione

A análise da amostra biológica foi realizada em um total de 17 amostras de sangue periférico e cordão de recém-nascidos (utilizando EDTA como anticoagulante) coletadas de doadores voluntários, misturadas (este procedimento foi necessário para obter o volume necessário para realizar a análise eletroquímica, uma vez que os volumes originais das amostras coletadas não foram suficientes para realizar os experimentos) e processadas para obter eritrócitos. Plasma e leucócitos foram isolados dos glóbulos vermelhos e descartados após centrifugação em gradiente de dupla densidade (Histopaque 1.077 e 1.119, Sigma-Aldrich), em seguida, os eritrócitos foram lavados em solução aquosa de NaCl 0,9%, separados em alíquotas e armazenados a -80°C . Eritrócitos totais diluídos (1: 250 com HClO_4 a 5%) foram completamente homogeneizados e centrifugados a 10.000 rpm por 15 min a 4°C . O teor de GSH (6,95 $\mu\text{mol L}^{-1}$) foi determinado e seu valor foi utilizado para comparação com a nova metodologia.

Para estudos voltamétricos, uma alíquota da amostra diluída foi tamponada com tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH 3) e transferida (0,5 mL) para a célula eletroquímica. Em seguida, a amostra foi analisada por SWV nas condições otimizadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados aqui discutidos foram divididos em função do tipo de eletrodo modificado utilizado. Inicialmente será discutido o uso de GCE modificado com Cu-BTC dispersa numa solução aquosa do copolímero de acrilamida/acrilato de sódio, na determinação eletroanalítica de CAP, CYS e GSH. A seguir, o uso de eletrodo de ouro, também modificado com Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio, na determinação eletroanalítica de GSH. Por fim, a utilização do GCE modificado com Au@Cu-BTC dispersa numa mistura de 92,5% de DMF e 7,5% de etanol, na determinação eletroanalítica de GSH.

4.1 Estudos em Cu-BTC/GCE

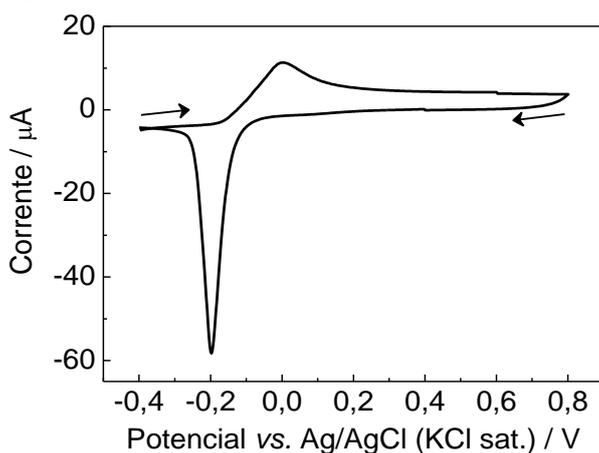
Neste trabalho, a presença de íons Cu(II), liberados da quebra da MOF, na superfície do eletrodo desempenha um papel muito importante na análise voltamétrica de tióis, pois catalisa a oxidação destes a partir da diminuição do potencial, o que torna a metodologia desenvolvida bastante atrativa.

O comportamento descrito acima foi verificado a partir das respostas eletroquímicas de Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio depositada na superfície do GCE. Tais resultados serão relatados nas próximas seções. Inicialmente o estudo foi feito na ausência dos tióis e, posteriormente, na presença destes.

4.1.1 Estudo de CV das propriedades eletroquímicas de Cu-BTC/GCE

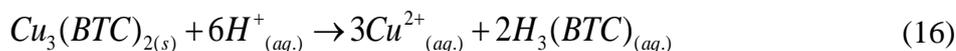
A Figura 23 mostra a resposta relacionada ao estudo por CV das propriedades eletroquímicas de Cu-BTC/GCE em solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0).

Figura 23 – Voltamograma cíclico de Cu-BTC/CGE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0)



Fonte: O autor (2020)

Como pode ser visto na Figura 23, a resposta para CV em Cu-BTC/GCE consistiu em um par de picos anódico e catódico em, aproximadamente, +0,01 V e -0,20 V, respectivamente, que correspondem à reação redox do cobre (Equação 15) (HOSSEINI et al., 2013a) liberado de Cu-BTC, devido a sua decomposição em meio aquoso (Equação 16) (AL-JANABI et al., 2016):



A Cu-BTC dispersa em DMF como modificadora de GCE apresenta uma condutividade elétrica muito baixa nas mesmas condições de análise, o que inviabiliza seu uso como modificadora de eletrodos para fins eletroanalíticos (HOSSEINI et al., 2013a; HOSSEINI et al., 2013b). Entretanto, foi observado que a incorporação do copolímero de acrilamida/acrilato de sódio como dispersante de Cu-BTC levou a um aumento significativo da intensidade das correntes obtidas para a reação redox de cobre, favorecendo sua aplicação em eletroanálise.

A viabilidade de utilização de Cu-BTC como sensor eletroquímico sem a necessidade de dopagem foi atribuída inicialmente às características condutoras do copolímero (LEE et al., 2005), que em solução aquosa tem caráter aniônico (ZEYNALI & RABBII, 2002) e seus grupos carboxilatos, assim como os átomos de nitrogênio de seus grupos amidas interagem com os terminais de cobre acessíveis em Cu-BTC (FOMINA et al., 2015; OROZCO-GUAREÑO et al., 2010) facilitando o processo de transferência de elétrons e, conseqüentemente, o aumento da resposta voltamétrica.

4.1.2 Influência do pH na resposta eletroquímica de Cu-BTC/GCE

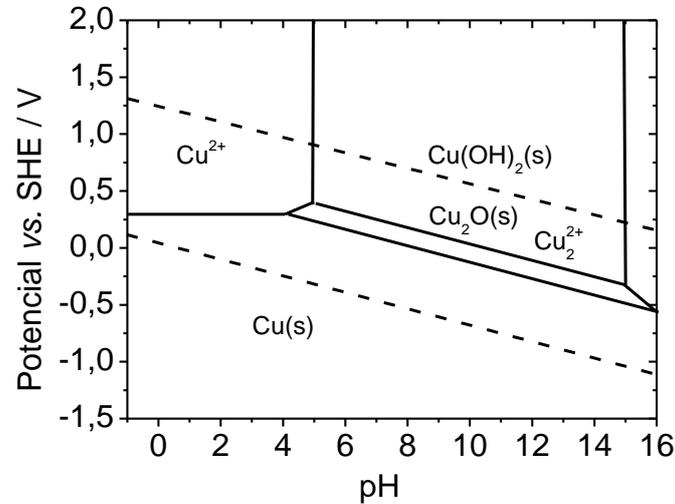
Para verificar a influência do pH do meio nas repostas eletroquímicas de Cu-BTC/GCE na ausência de tióis e escolher o melhor pH para análise voltamétrica, foram conduzidos experimentos de CV em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ para diferentes valores de pH.

Para a escolha do pH ideal em meio aquoso, dois fatores devem ser considerados: (a) a liberação do íon Cu(II) da MOF depende da concentração de H⁺ do meio, conforme foi anteriormente mostrado na Equação 16 e (b) a estabilidade do íon Cu(II) liberado é também afetado pela concentração de H⁺, pois outras espécies de cobre podem se formar.

Analisando o diagrama de Pourbaix para as espécies de cobre em meio aquoso (Figura 24), o íon Cu(II) ocorre somente no meio com pH máximo em torno de 5 (BEVERSKOG & PUIGDOMENECH, 1995; SHAIKH et al., 2011). Acima desse valor, a presença de espécies

como $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e Cu_2O podem contribuir para a queda do sinal analítico de oxidação de cobre devido a diminuição da concentração do íon $\text{Cu}(\text{II})$ disponível.

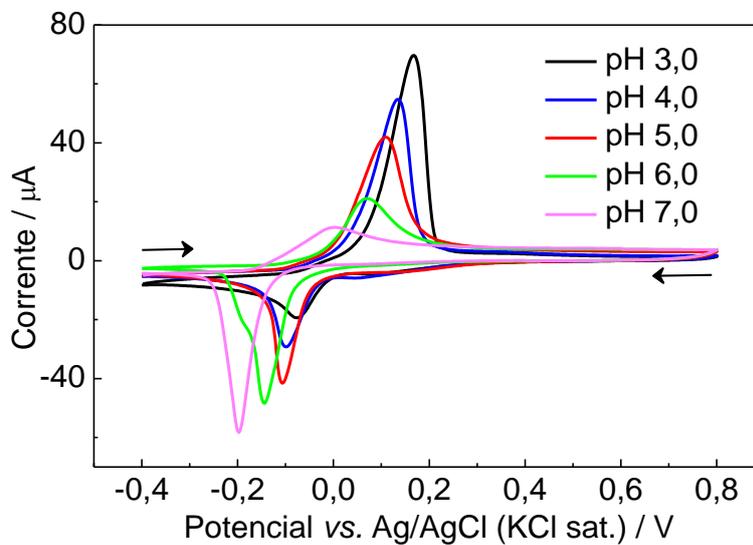
Figura 24 – Diagrama de Pourbaix do cobre em meio aquoso. SHE (Eletrodo padrão de hidrogênio, do inglês *Standard Hydrogen Electrode*)



Fonte: Adaptado de BEVERSKOG & PUIGDOMENECH (1995)

A Figura 25 mostra as respostas obtidas para o estudo de CV de Cu-BTC/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ sob diferentes valores de pH (3,0–7,0).

Figura 25 – Voltamogramas cíclicos de Cu-BTC/CGE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ para diferentes valores de pH



Fonte: O autor (2020)

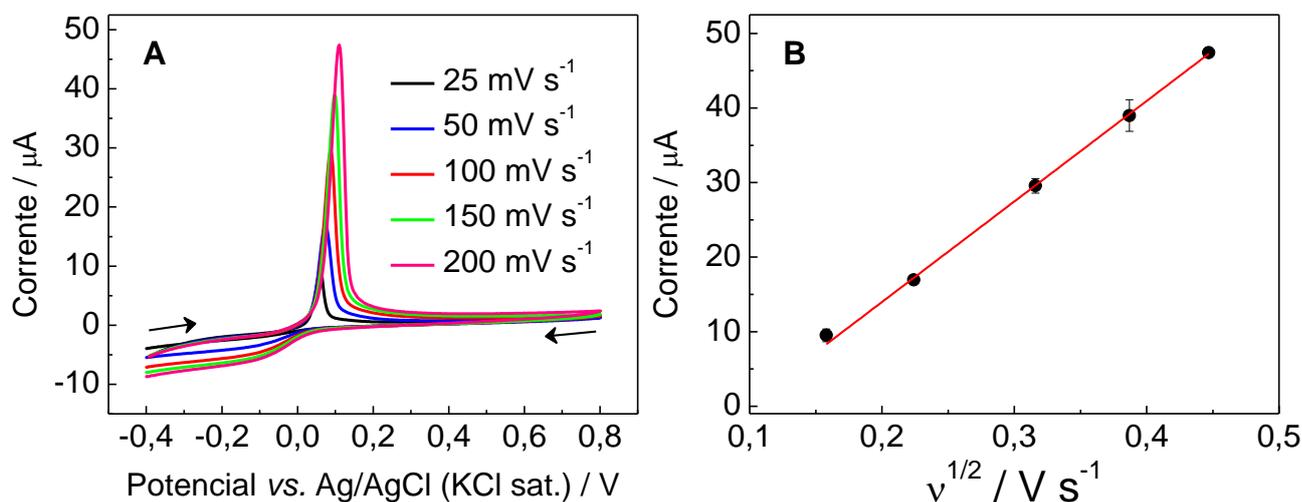
Como observado na Figura 25, a resposta voltamétrica de Cu-BTC/GCE é influenciada pelo pH do meio. Os potenciais de pico catódicos e anódicos deslocam-se para valores menos positivos à medida que o pH aumenta. Esse comportamento pode ser descrito pela presença das espécies orgânicas (BTC e copolímero) associadas aos íons Cu(II) (COMPTON & BANKS, 2018).

Foi observado também que as correntes de pico anódicas aumentam com a diminuição do pH enquanto que o inverso ocorre com as correntes de pico catódicas. O aumento das correntes de pico anódicas em função do pH ocorre devido à maior disponibilidade, na superfície do eletrodo, de íons Cu(II) oriundos da quebra da MOF para maiores concentrações de H^+ no meio, conforme foi mostrado na Equação 16. Por outro lado, mesmo com a menor disponibilidade de íons Cu(II) em valores maiores de pH, há um aumento do pico catódico à medida que o pH aumenta devido à adsorção de outras espécies de cobre, tais como $Cu(OH)_2$ e Cu_2O (RICHARDSON et al., 2001). Com base no comportamento de Cu-BTC/GCE nas condições avaliadas, o pH 3,0 foi escolhido para os ensaios posteriores dada a maior disponibilidade da espécie oxidada de cobre na superfície do eletrodo.

4.1.3 Efeito da velocidade de varredura na corrente de pico anódica de Cu-BTC/GCE

O efeito da velocidade de varredura na oxidação do cobre oriundo de Cu-BTC foi investigado por CV em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) (Figura 26).

Figura 26 – (A) Voltamogramas cíclicos de Cu-BTC/GCE em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) para diferentes velocidades de varredura. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da raiz quadrada da velocidade de varredura



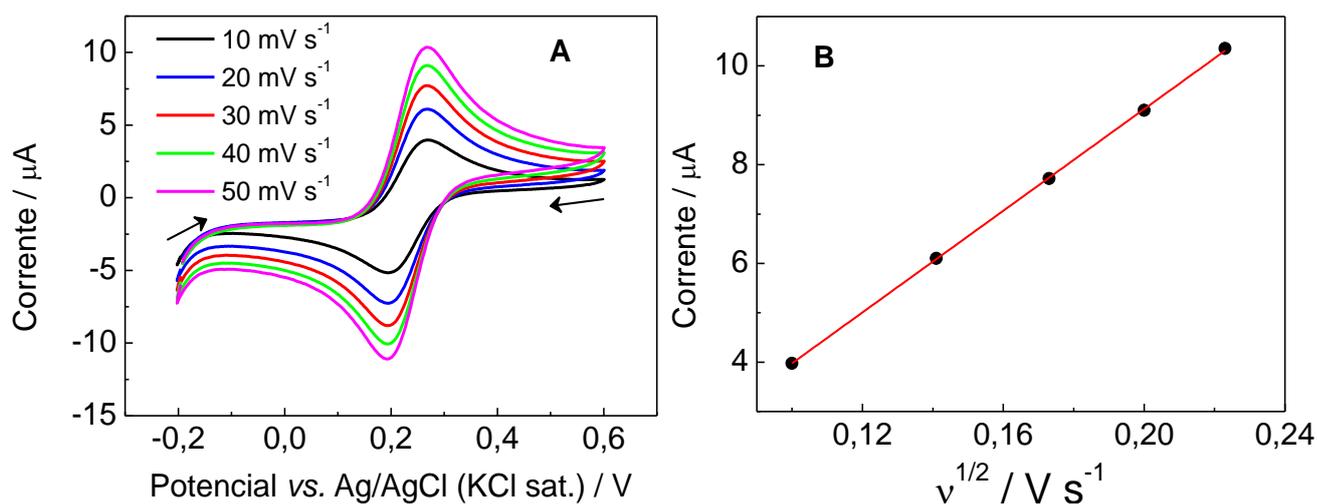
Fonte: O autor (2020)

A Figura 26A mostra que a resposta em termos de corrente de pico para a oxidação de cobre em Cu-BTC/GCE aumenta com o aumento da velocidade de varredura (v) e possui relação direta com sua raiz quadrada (Figura 26B).

A predição da variação da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura é um importante resultado analítico que indica que o processo voltamétrico é controlado por difusão (BARD & FAULKNER, 2001) e, uma vez que o sistema é irreversível, a corrente de pico anódica (I_{pa}), em amperes, pode ser calculada a partir da Equação 5 (seção 2.6.1).

A área eletroativa do GCE foi determinada por CV em uma solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ no eletrólito $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, variando a velocidade de varredura na faixa de $10\text{--}50 \text{ mV s}^{-1}$ (Figura 27) e usando a equação de Randles-Ševčík para um sistema reversível (Equação 1, seção 2.4.1).

Figura 27. (A) Voltamogramas cíclicos de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes velocidades de varredura. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da raiz quadrada da velocidade de varredura



Fonte: O autor (2020)

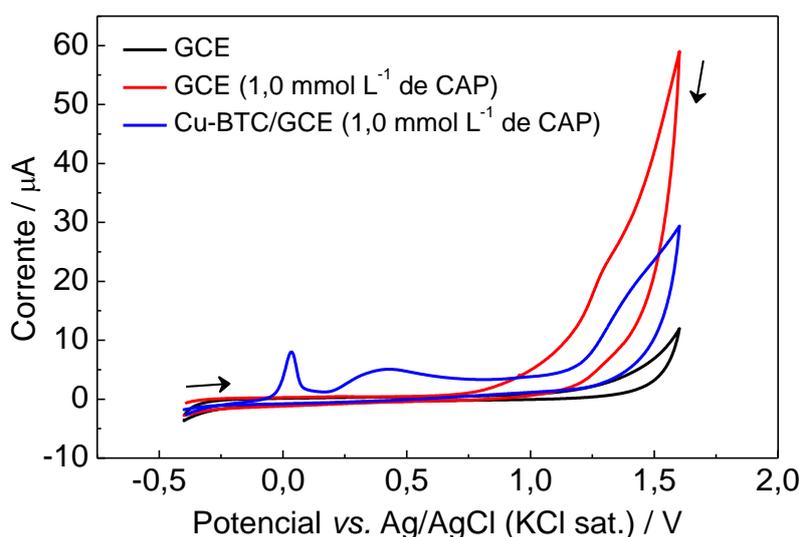
Para $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ em $\text{KCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$: $n = 1$ e $D = 7,6 \times 10^6 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e a partir da inclinação do gráfico de I_{pa} vs. $v^{1/2}$, a área p \hat{o} de ser calculada (ZARGAR et al., 2015). Assim, uma $\text{área eletroativa de } 0,0624 \text{ cm}^2$ foi estimada.

4.1.4 Estudos de oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE por CV

Estudos publicados na literatura mostram que, em meio aquoso, os íons $\text{Cu}(\text{II})$ catalisam a reação de oxidação de tióis (AREIAS et al., 2015; 2016a; 2016b; 2016c).

Para verificar a influência de Cu(II) oriundo da quebra de Cu-BTC na oxidação eletroquímica de CAP, realizaram-se estudos de CV para Cu-BTC/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) na presença de 1,0 mmol L⁻¹ de CAP. Os resultados obtidos foram comparados aos de GCE sem modificação (Figura 28).

Figura 28 – Voltamogramas cíclicos de 1,0 mmol L⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE (azul) e em GCE não modificado (vermelho). GCE não modificado na ausência de CAP (preto)



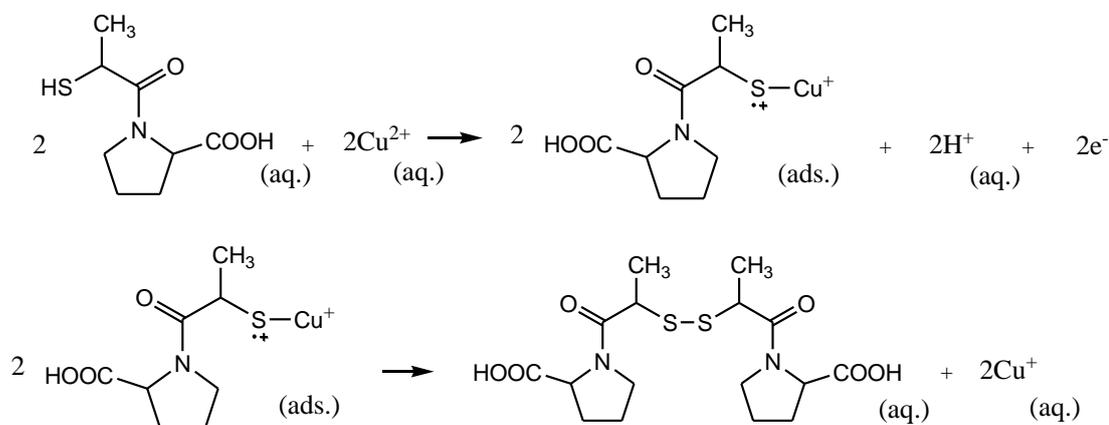
Fonte: O autor (2020)

De acordo com a Figura 28, para Cu-BTC/GCE na presença de CAP (linha azul), observa-se um ombro com potencial de pico em, aproximadamente, +1,25 V que está relacionado à oxidação direta de CAP em GCE e é consistente com trabalho reportado na literatura (AREIAS et al., 2015). Esse ombro também aparece em GCE não modificado (linha vermelha) na mesma região de potencial. O potencial de pico em, aproximadamente, +0,03 V está relacionado à oxidação do cobre oriundo da MOF, como discutido anteriormente. O terceiro pico em aproximadamente +0,45 V está relacionado ao efeito eletrocatalítico da oxidação do CAP adsorvido com o cobre, uma vez que ele não aparece quando o tiol está ausente da solução como visto na seção 4.1.2. Esse resultado está de acordo com trabalho da literatura que utiliza GCE não modificado no estudo da oxidação eletroquímica de CAP por cobre presente em solução aquosa (AREIAS et al., 2016a), no qual também se observa o efeito eletrocatalítico da oxidação de CAP provocado pelo cobre a partir da diminuição do potencial para +0,24 V, em relação àquele requerido para a oxidação direta de CAP em GCE (+1,24 V). Essa diferença de potenciais para oxidação eletroquímica de CAP nos dois trabalhos (+0,45 V

comparado com +0,24 V) pode estar relacionada aos efeitos de superfície provocados pela presença de Cu-BTC.

De acordo com estudos prévios (AREIAS et al., 2015; AREIAS et al., 2016a), a oxidação eletroquímica de CAP catalisada pelo cobre em Cu-BTC/GCE pode ser escrita de acordo com a reação (Figura 29):

Figura 29 – Oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE

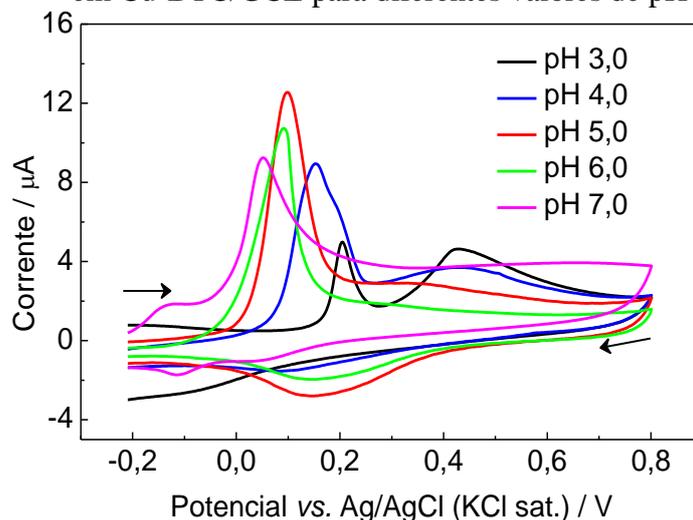


Fonte: Adaptado de AREIAS et al. (2015)

4.1.5 Influência do pH na oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE

Para verificar a influência do pH na resposta eletroquímica do eletrodo de Cu-BTC/GCE em presença de 0,1 mmol L⁻¹ de CAP, foram realizadas voltametrias cíclicas em tampão fosfato variando o pH entre 3,0 e 7,0 (Figura 30).

Figura 30 – Voltamogramas cíclicos de 0,1 mmol L⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH



Fonte: O autor (2020)

Conforme discutido na seção 4.1.2, em valores de pH acima de 5,0 o meio tem uma forte influência na formação de compostos insolúveis de cobre, entre eles, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ e Cu_2O , que por formarem complexos pouco solúveis com o CAP inviabilizam o emprego da metodologia.

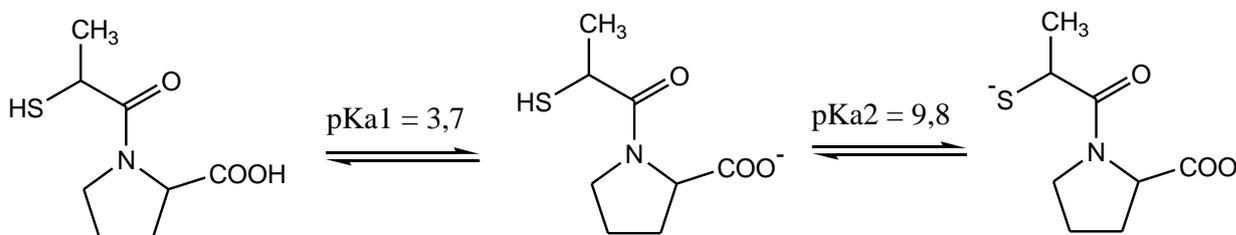
Ao realizar o procedimento experimental em pH 7,0 (linha rosa), foram observados um pico anódico em +0,05 V relacionado com a oxidação do cobre da MOF e um segundo pico anódico em -0,1 V que pode estar relacionado com a oxidação de uma outra espécie de cobre diferente da primeira e, como já se esperava, não foi observada nenhuma interação com o CAP.

No experimento realizado em pH 6,0 (linha verde) foi observado somente um pico anódico em +0,05 V relativo à oxidação do cobre liberado da MOF. Da mesma forma que em pH 7,0, também não foi possível visualizar interações entre cobre e CAP.

Por outro lado, em valores de pH iguais a 3,0, 4,0 e 5,0 (linhas preta, azul e vermelha, respectivamente), com a diminuição do pH evidencia-se o aparecimento de um segundo pico de oxidação na faixa entre +0,30 e +0,45 V, atribuído à oxidação do complexo cobre-CAP, anteriormente observado (AREIAS et al, 2016a). Além disso, observa-se uma diminuição do pico de oxidação do cobre da MOF devido à sua interação com o CAP (ZARGAR et al., 2015).

Em pH 3,0, o pico de interação do cobre com CAP tem uma intensidade maior do que aquelas observadas nos valores de pH 4,0 e 5,0, pois nesse valor de pH, a molécula do CAP está em maior quantidade na sua forma totalmente protonada, o que favorece a sua acumulação na superfície do eletrodo (ZARGAR et al., 2015). A Figura 31, mostra as formas do CAP e suas constantes de ionização relativas à desprotonação do grupo carboxila (pK_{a1}) e do grupo tiol (pK_{a2}).

Figura 31 – Formas de CAP em solução aquosa em função do pK_a .



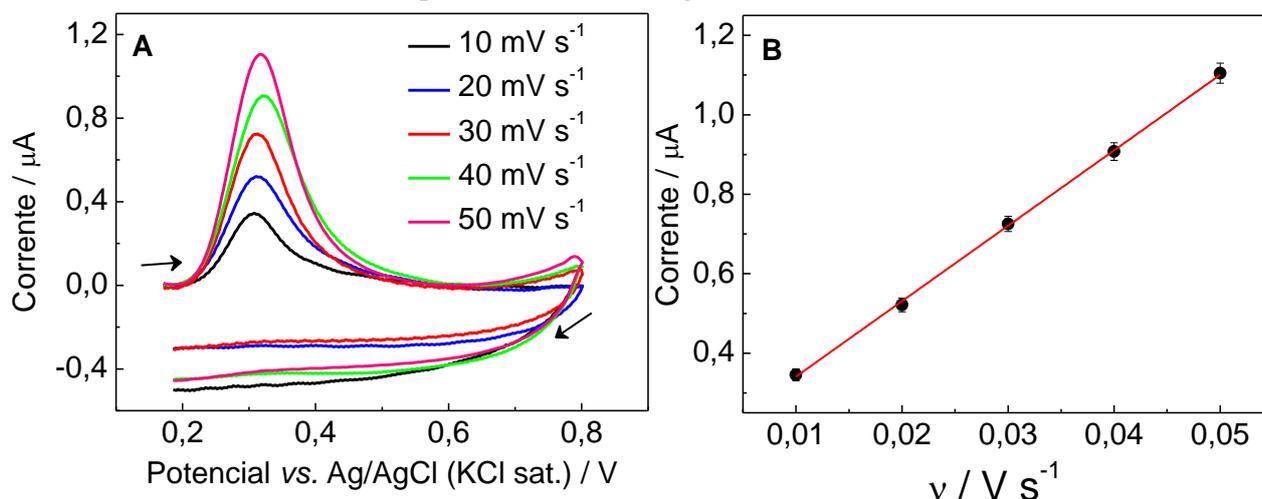
Fonte: Adaptado de ZARGAR et al. (2015)

Considerando-se que em pH 3,0 o pico de oxidação do complexo cobre-CAP mostrou-se mais intenso e suficientemente afastado do pico de oxidação do cobre, optou-se por realizar os estudos posteriores nessa condição.

4.1.6 Efeito da velocidade de varredura na corrente de pico anódica de CAP em Cu-BTC/GCE

Semelhante ao experimento realizado em Cu-BTC/GCE na ausência de CAP (seção 4.1.3), o efeito da velocidade de varredura na corrente de pico anódica também foi estudado em Cu-BTC/GCE na presença de $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP, variando a velocidade de varredura na faixa de $10,0\text{--}50,0 \text{ mV s}^{-1}$ em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) (Figura 32).

Figura 32 – (A) Voltamogramas cíclicos de $50,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes velocidades de varredura. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da velocidade de varredura.



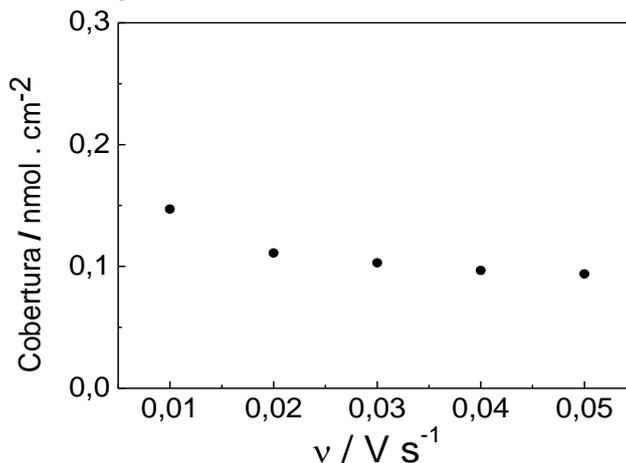
Fonte: O autor (2020)

Na presença do analito alvo, o aumento da intensidade da corrente de pico anódica (Figura 32A) mostrou dependência linear com a velocidade de varredura (Figura 32B). Esse comportamento indica que o processo eletrooxidativo ocorre via adsorção do complexo de cobre-CAP na superfície do GCE, resultado que também foi observado em trabalho similar utilizando GCE sem modificação (AREIAS et al. 2016a).

Para um sistema irreversível, a corrente de pico anódica, em amperes, pode ser calculada pela Equação 13 (seção 2.6.1.2), assim como a quantidade da espécie adsorvida.

Ao calcular, a partir da Equação 13, a quantidade do complexo cobre-CAP que adsorve na superfície do eletrodo, obteve-se um valor de aproximadamente $1,1 (\pm 0,2) \cdot 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$. A Figura 33 mostra a relação entre a quantidade do complexo adsorvido na superfície do eletrodo e a velocidade de varredura. Como observado na Figura 33, a quantidade adsorvida é independente da velocidade de varredura, como é esperado para um processo que ocorre via adsorção (BARD & FAULKNER, 2001).

Figura 33 – Cobertura superficial do eletrodo pelo complexo cobre-CAP (nmol cm^{-2}) em função da velocidade de varredura (V s^{-1})



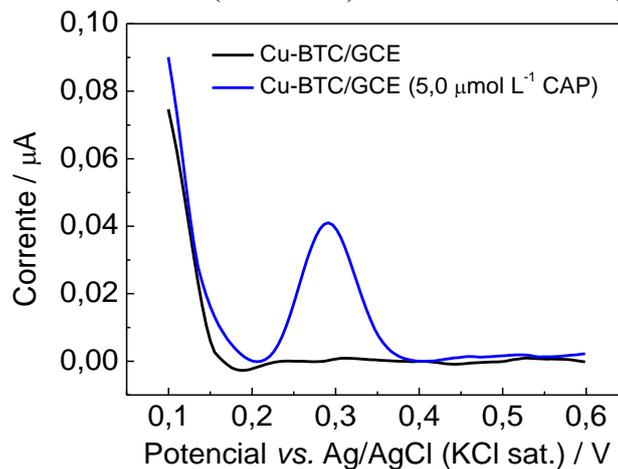
Fonte: O autor (2020)

4.1.7 Estudos de oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV

O estudo de oxidação eletroquímica de CAP por CV (seção 4.1.5) possibilitou a detecção do analito em concentrações apenas acima de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. Na tentativa de aumentar a sensibilidade do método, os estudos seguintes de oxidação de CAP em Cu-BTC/GCE foram realizados por DPV, uma vez que essa técnica possibilita o aumento significativo da corrente faradaica em relação à corrente capacitiva, favorecendo a obtenção de limites de detecção mais baixos (COMPTON & BANKS, 2018).

A Figura 34 mostra os voltamogramas de DP obtidos para Cu-BTC/GCE em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) na ausência e na presença de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP.

Figura 34 – Voltamograma de DP de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE (linha azul). Ausência de CAP (linha preta).



Fonte: O autor (2020)

Em presença de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP (linha azul), observa-se o aparecimento de um pico de oxidação em, aproximadamente, $+0,3 \text{ V}$ associado à oxidação de CAP via formação do complexo cobre-CAP como discutido anteriormente. Por outro lado, em ausência de CAP (linha preta), nenhum pico foi observado.

Como pode ser visto nas respostas obtidas por DPV, a concentração de CAP detectada foi menor quando comparada aos resultados obtidos por CV, por esse motivo, a determinação eletroanalítica de CAP em Cu-BTC/GCE foi realizada por DPV. A otimização da análise por DPV é descrita nas próximas seções.

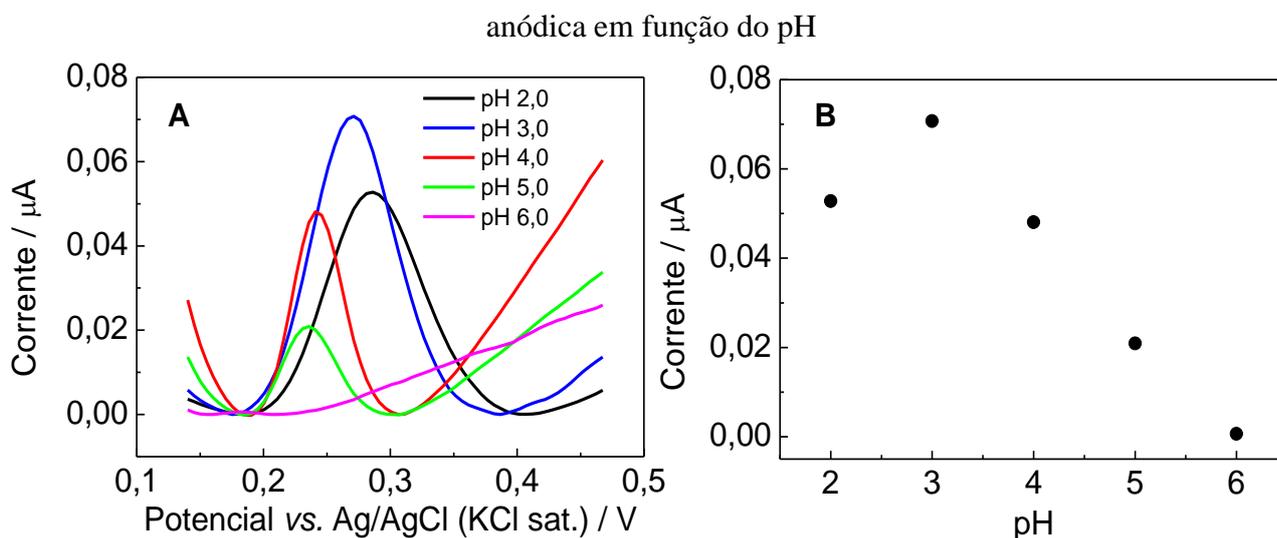
4.1.8 Influência do pH na intensidade da corrente de pico anódica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV

Uma vez que a DPV foi a técnica escolhida para determinação da faixa linear de trabalho de Cu-BTC/GCE no estudo da oxidação eletroquímica de CAP, resolveu-se realizar também o estudo de pH do meio para essa técnica, visando verificar se o pH de melhor resposta seria semelhante ao encontrado nos estudos realizados por CV.

Para esse estudo, voltamogramas de DP de uma solução contendo $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP foram obtidos em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para diferentes valores de pH (2,0–6,0) (Figura 35).

Observa-se na Figura 35B que a corrente de pico aumenta com o aumento do pH de 2,0 para 3,0, seguido de uma diminuição gradual à medida que o pH continua a aumentar.

Figura 35 – (A) Voltamogramas de DP de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH. (B) Comportamento da corrente de pico



Fonte: O autor (2020)

Como discutido anteriormente, a melhor resposta voltamétrica para oxidação de CAP se dá em valores menores de pH, devido à protonação do CAP, que facilita a sua acumulação na superfície do eletrodo influenciando, assim, a reação eletroquímica (ZARGAR et., 2015). Além disso, há o fato de que a MOF tem menor estabilidade em soluções aquosas mais ácidas (AL-JANABI et al., 2016), liberando uma maior quantidade de cobre na superfície do eletrodo, o qual catalisa a oxidação de CAP.

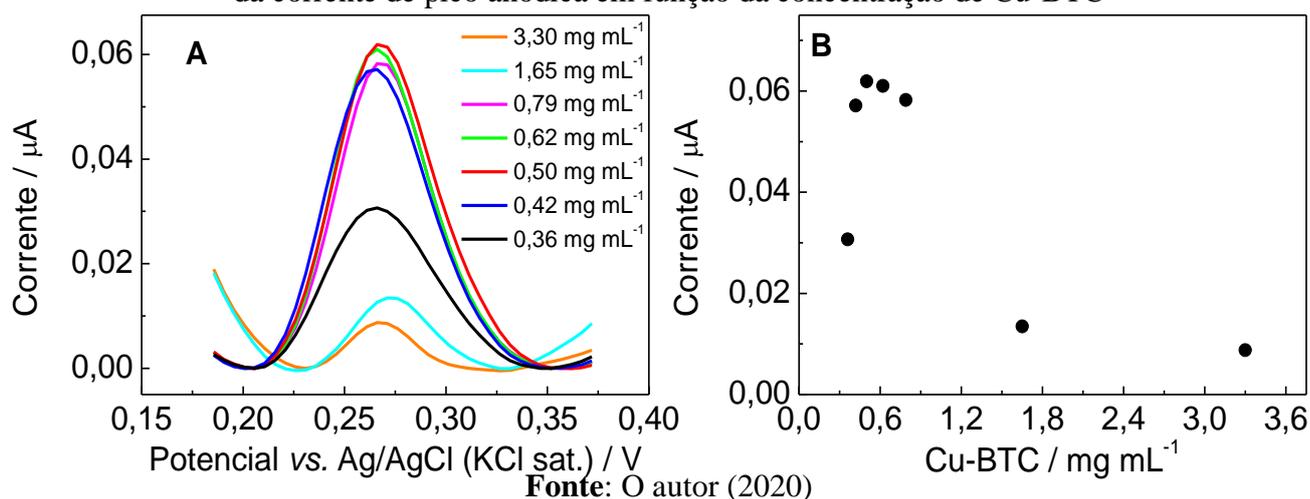
Considerando o exposto acima, esperava-se que em pH 2,0, a resposta eletroquímica para oxidação de CAP fosse maior que nos demais valores de pH. Entretanto, isso não foi observado dado a condição de que a MOF em meios mais ácidos que em pH 3,0 se decompõe tão facilmente que o cobre liberado da sua quebra acaba difundindo muito rapidamente para a solução, diminuindo, assim, a sua concentração na superfície do eletrodo e consequentemente a resposta eletroanalítica. Por esses motivos a solução tampão fosfato com pH 3,0 foi utilizada nos estudos seguintes por DPV.

4.1.9 Efeito da concentração de Cu-BTC e do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico anódica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV

Para encontrar a melhor condição de determinação de CAP em Cu-BTC/GCE, foram realizados estudos de efeito da concentração de Cu-BTC e do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico anódica.

Voltamogramas de DP de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) foram obtidos para diferentes concentrações de Cu-BTC ($0,36\text{--}3,3 \text{ mg mL}^{-1}$) (Figura 36).

Figura 36 – (A) Voltamogramas de DP de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes concentrações de Cu-BTC. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de Cu-BTC

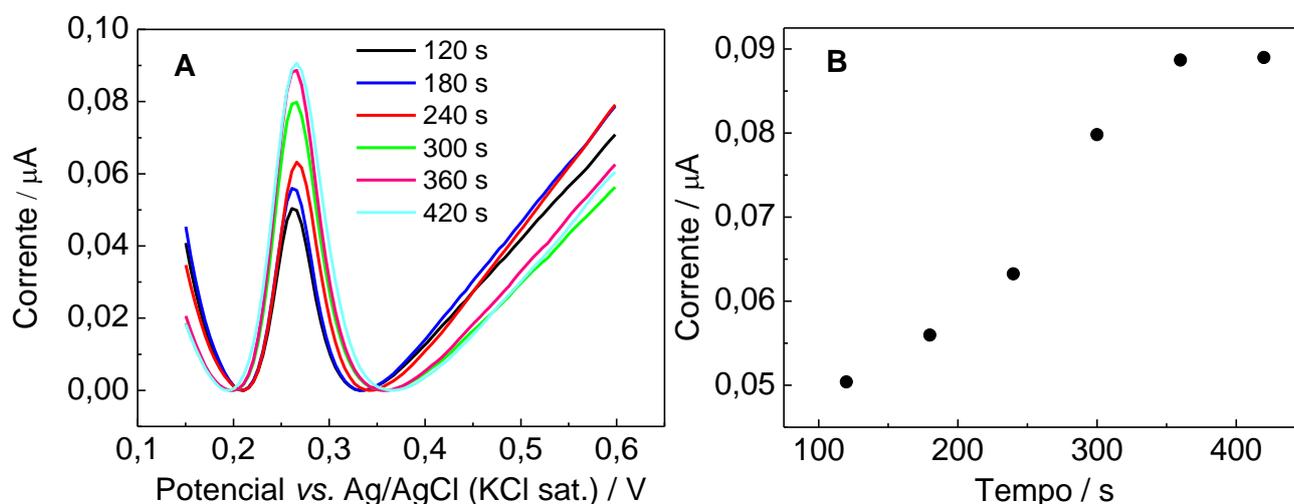


Fonte: O autor (2020)

Como pode ser visto na Figura 36B, a corrente de pico para oxidação do CAP em, aproximadamente, +0,27 V atinge o valor máximo para uma concentração de 0,50 mg mL⁻¹ de Cu-BTC. Depois disso, a corrente de pico começa a diminuir em intensidade, provavelmente devido à saturação da superfície do eletrodo (SCHOLZ, 2010).

Posteriormente, voltamogramas de DP para 10,0 μmol L⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) foram obtidos aumentando o tempo de pré-concentração do analito no eletrodo (120–420 s) (Figura 37).

Figura 37 – (A) Voltamogramas de DP de 10,0 μmol L⁻¹ de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes tempos de deposição. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função do tempo de deposição



Fonte: O autor (2020)

De acordo com a Figura 37B, a corrente de pico para a oxidação de CAP aumentou até 360-420 s, não havendo mais alteração significativa a partir de então, muito provavelmente pela saturação da superfície do eletrodo (LOVRIC, 2005).

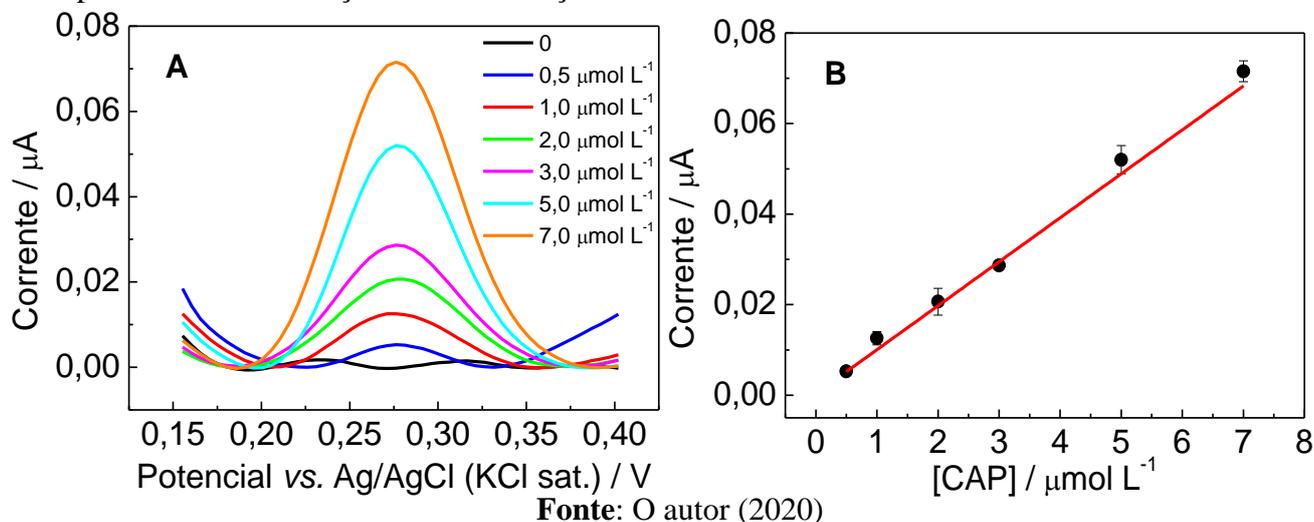
Após os resultados obtidos, a concentração de Cu-BTC e o tempo de pré-concentração utilizados para as medições subsequentes foram de 0,5 mg mL⁻¹ e 360 s, respectivamente.

4.1.10 Determinação dos parâmetros analíticos para a oxidação eletroquímica de CAP em Cu-BTC/GCE por DPV

Os parâmetros analíticos, tais como a faixa de trabalho linear, o coeficiente de determinação, a equação de regressão linear e o limite de detecção, foram examinados a fim de validar o método proposto.

A Figura 38 mostra os voltamogramas de DP obtidos para CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) na faixa de concentração de 0,5 a 7,0 μmol L⁻¹.

Figura 38 – (A) Voltamogramas de DP para concentrações crescentes de CAP em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de CAP



Como pode ser visto na Figura 38A, a corrente de pico em, aproximadamente, +0,27 V aumenta com o aumento da concentração de CAP e mostra boa linearidade na faixa de concentração entre 0,5 a 7,0 μmol L⁻¹ de CAP (Figura 38B), com um desvio-padrão relativo de 3,52 % (n = 3). A partir do ajuste linear, foi possível obter a seguinte relação:

$$I_{pa} (\mu A) = 0,000358 + 0,00971 [CAP] / \mu mol L^{-1} \quad R^2 = 0,993 \quad (17)$$

O LOD do método proposto de 0,20 μmol L⁻¹, foi calculado pela fórmula $LOD = \frac{3,3 \cdot \sigma_b}{S}$ na qual σ é o desvio padrão da interceptação do eixo da ordenada e S a inclinação da linha de regressão (SHRIVASTAVA, 2011).

A Tabela 14 compara a resposta característica de Cu-BTC/GCE com outros eletrodos modificados reportados na literatura para determinação de CAP utilizando DPV, indicando que a nova metodologia é compatível com àquelas listadas, sendo capaz de detectar concentrações muito baixas do tiol. O diferencial do Cu-BTC/GCE em relação aos outros eletrodos é o processo simples de modificação da superfície do eletrodo, pois não há necessidade de nenhuma etapa adicional de síntese de Cu-BTC, além disso, pode ser utilizada Cu-BTC comercial no processo de fabricação do eletrodo.

Tabela 14 – Eletrodos modificados utilizados na determinação de CAP por DPV

Eletrodo	Modificador	LDR ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
CPE	Cobalto-5-nitrosalofeno	4-110	1,1	SHAHROKHIAN et al., 2005
CPE	Grafeno/ferroceno	1-430	0,87	GHOLIVAND & KHODADADIAN, 2013
CPE	MWCNT/ferroceno	0,5-12	0,15	FOULADGAR, 2011
CPE	CNT/DHB ^a	0,2-30	0,07	MAZLOUM-ARDAKANI et al., 2012
CPE	MWCNT/CuO nanopartículas	1-10	0,29	ZARGAR et al., 2015
GCE	Cu-BTC	0,5-7	0,20	Este trabalho

^a (E)-3-((2- (2,4-dinitrofenil)hidrazono)metil)benzeno-1,2-diol. (A sigla vêm do inglês)

Fonte: O autor (2020)

4.1.11 Determinação de CAP em amostras farmacêuticas

O método analítico proposto foi utilizado na determinação de CAP em uma amostra comercial de comprimido (25,0 mg de CAP por comprimido) da marca Capotrino por ensaio de recuperação. Voltamogramas de DP foram obtidos para três diferentes soluções contendo $1,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CAP em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0).

Os resultados mostrados na Tabela 15 revelam boa repetibilidade para essa concentração de CAP. Além disso, esse método apresentou taxa de recuperação de 93,3 % e um desvio padrão relativo de 1,10 % (n = 3).

Tabela 15 – Determinação de CAP em amostra de comprimido (25,0 mg por comprimido) pelo método de recuperação

Amostra	Encontrado (mg por comprimido)	Adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Capotrino	24,4($\pm 0,5$)	0	3,39($\pm 0,06$)	-
		1,2	4,51($\pm 0,05$)	93,3

Fonte: O autor (2020)

Conforme relatado em trabalhos anteriores (AREIAS et al., 2016b; AREIAS et al., 2016c) a CYS e a GSH também podem ser oxidadas em eletrodos sólidos pela formação de um complexo com cobre. Entretanto, esses compostos estão ausentes na matriz estudada (comprimidos de CAP), não interferindo nas respostas. Sendo assim, os resultados obtidos mostram que a metodologia proposta pode ser aplicada na determinação de CAP em amostras farmacêuticas.

4.1.12 Estudos de oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE por CV

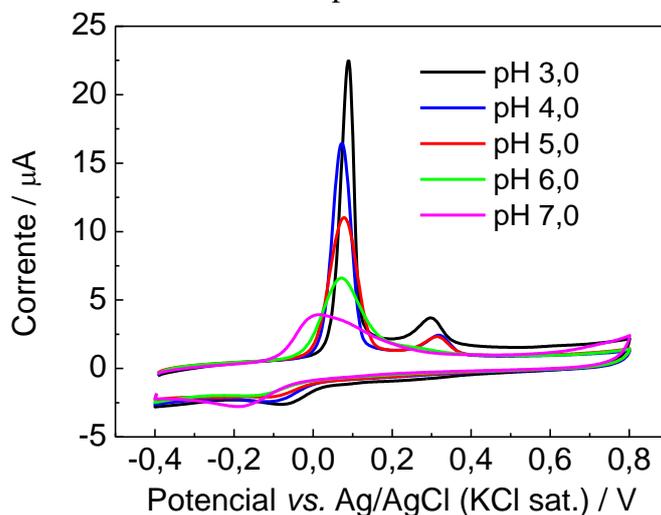
Além dos estudos de oxidação eletroquímica de CAP, o eletrodo de Cu-BTC/GCE produzido também foi utilizado no estudo da oxidação eletroquímica de CYS. Uma vez que esse aminoácido possui um grupo sulfidril em sua estrutura, sua oxidação pode também ser catalisada pelo cobre proveniente da MOF (HOSSEINI et al., 2013a; AREIAS et al., 2016b).

4.1.13 Influência do pH na oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE

Os primeiros ensaios de oxidação da CYS foram feitos por CV em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ para diferentes valores de pH (3,0–7,0) visando encontrar a melhor resposta eletroquímica em termos de corrente para a oxidação da CYS e a melhor separação de picos entre a oxidação do cobre oriundo da MOF e a oxidação da CYS via formação de complexo com o cobre.

As respostas eletroquímicas para oxidação de 10,0 μmol L⁻¹ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH são mostradas na Figura 39.

Figura 39 – Voltamogramas cíclicos de 10,0 μmol L⁻¹ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ em Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH

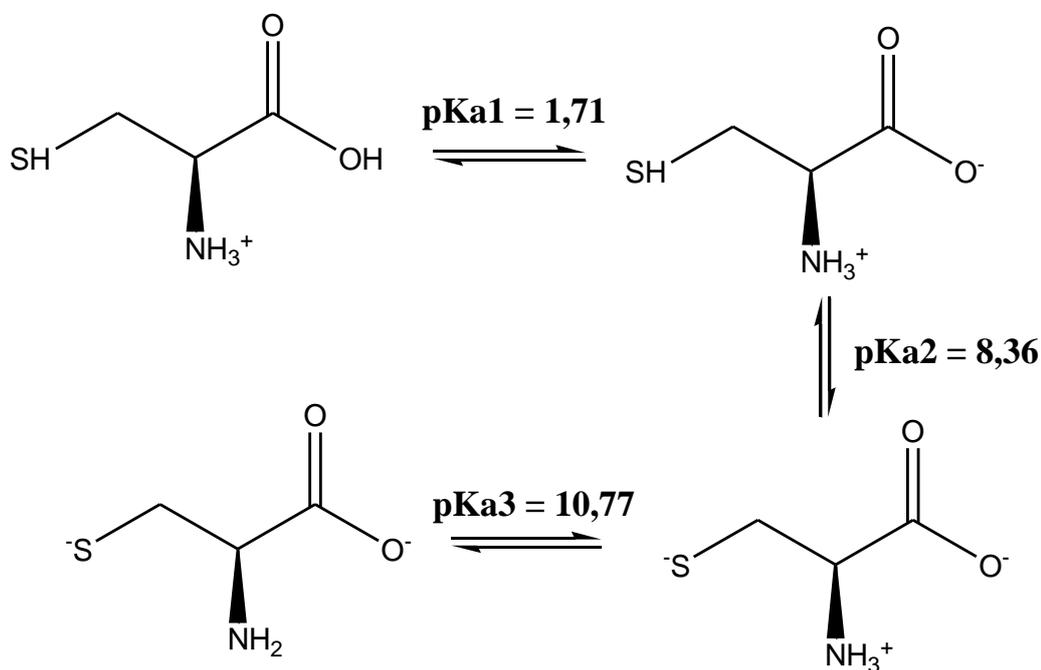


Fonte: O autor (2020)

De acordo com a Figura 39, quando o pH do tampão se encontra na faixa de 3,0 a 5,0 (linhas preta, azul e vermelha), dois picos anódicos podem ser observados. O primeiro pico com potenciais variando, aproximadamente, de +0,08 V a +0,09 V é atribuído à oxidação do cobre liberado da rede metalorgânica de Cu-BTC e o segundo pico que varia de, aproximadamente, +0,29 V a +0,31 V é atribuído à oxidação da CYS via formação do complexo com o cobre. À medida que o pH aumenta para 6,0 e 7,0, o segundo pico anódico desaparece e o primeiro desloca-se para potenciais menos positivos de +0,06 V e +0,01 V, respectivamente.

Tais resultados experimentais podem ser explicados em função das espécies iônicas existentes de CYS para diferentes valores de pH. A CYS contém os grupos funcionais COOH, SH e NH₂ com valores de pKa iguais a 1,71, 8,36 e 10,77, respectivamente (Figura 40).

Figura 40 – Formas de CYS em solução aquosa em função do pKa

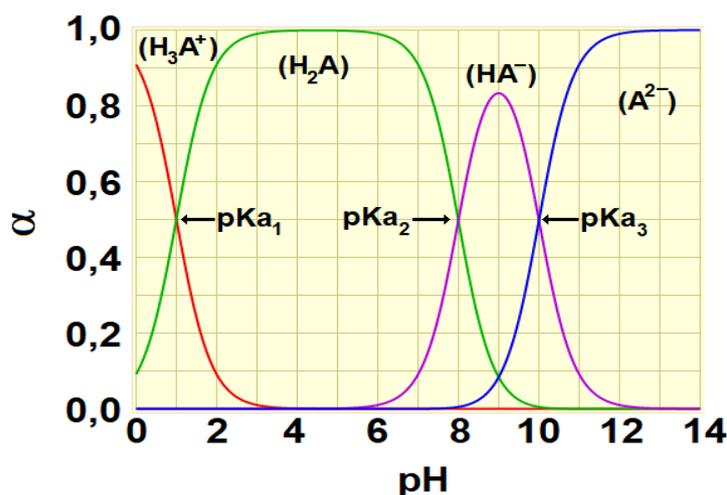


Fonte: Adaptado de HOSSEINI et al. (2013a)

Dentre esses grupos, o grupo SH é o que possui a maior tendência em se oxidar, formando um dissulfeto (DEVLIN, 2010). A Figura 41 mostra os processos de oxidação para a CYS em solução aquosa e a fração de distribuição (α) das espécies iônicas de CYS em função do pH.

De acordo com as respostas obtidas no estudo de oxidação da CYS, observa-se na Figura 41 que a segunda espécie [H₂A] (íon bipolar – *zwitterion*) é a responsável pela formação do dissulfeto e é a espécie predominante na faixa de pH entre 4,0 e 5,0.

Figura 41 – Fração de distribuição (α) das espécies de CYS em função do pH

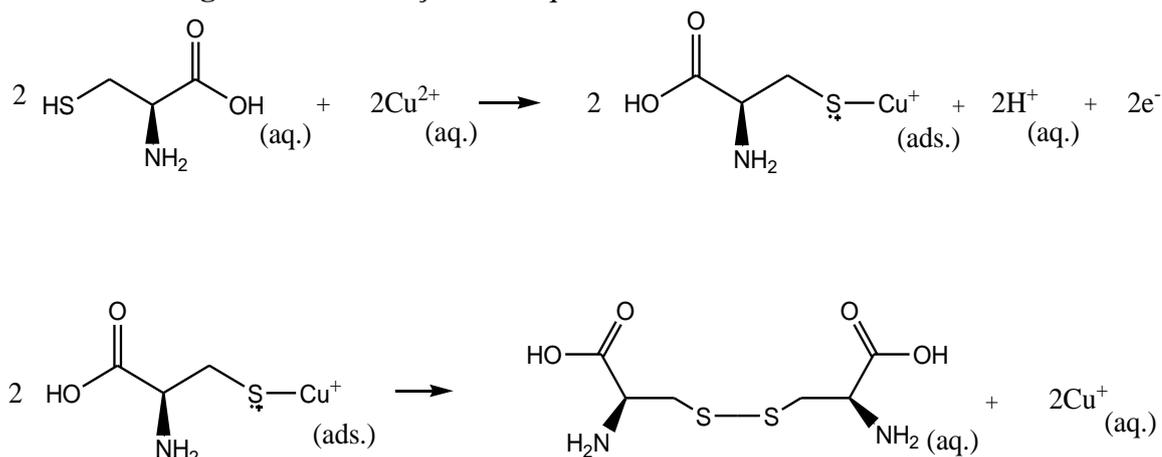


Fonte: Adaptado de HOSSEINI et al. (2013a)

Apesar dos experimentos realizados com pH 4,0 (linha preta) e 5,0 (linha azul), com tempo de deposição de 120 s, terem apresentado comportamentos semelhantes, isto é, maior corrente de pico para oxidação da CYS e um maior afastamento entre os picos de oxidação do cobre e o da interação com a CYS, o pH 4,0 foi escolhido pois, nos experimentos subsequentes, utilizou-se um tempo de deposição de 420 s, o que poderia propiciar a hidrólise do cobre em pH 5,0 e, com isso, uma perda de sensibilidade. Estudos em pH acima de 7,0 não foram realizados, pois, como já discutido anteriormente ocorre formação de hidróxidos e óxidos de cobre (CHUGHTAI et al., 2015) e, por esse motivo, o complexo cobre-CYS não é observado.

De acordo com os estudos prévios (HOSSEINI et al., 2013a; ZHOU et al., 2007; AREIAS et al., 2016b), a oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE pode ser escrita de acordo com a reação (Figura 42):

Figura 42 – Oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE.



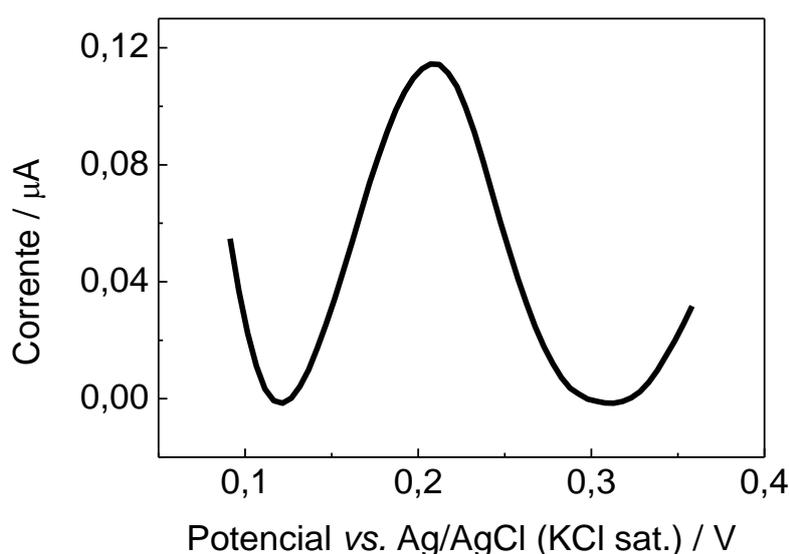
Fonte: Adaptado de AREIAS et al. (2016b)

4.1.14 Estudos de oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE por DPV

Na tentativa de aumentar a sensibilidade do método, os estudos seguintes de oxidação de CYS em Cu-BTC/GCE foram realizados por DPV.

A Figura 43 mostra o voltamograma de DP obtido para Cu-BTC/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) na presença de 5,0 μmol L⁻¹ de CYS.

Figura 43 – Voltamograma de DP de 5,0 μmol L⁻¹ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) em Cu-BTC/GCE



Fonte: O autor (2020)

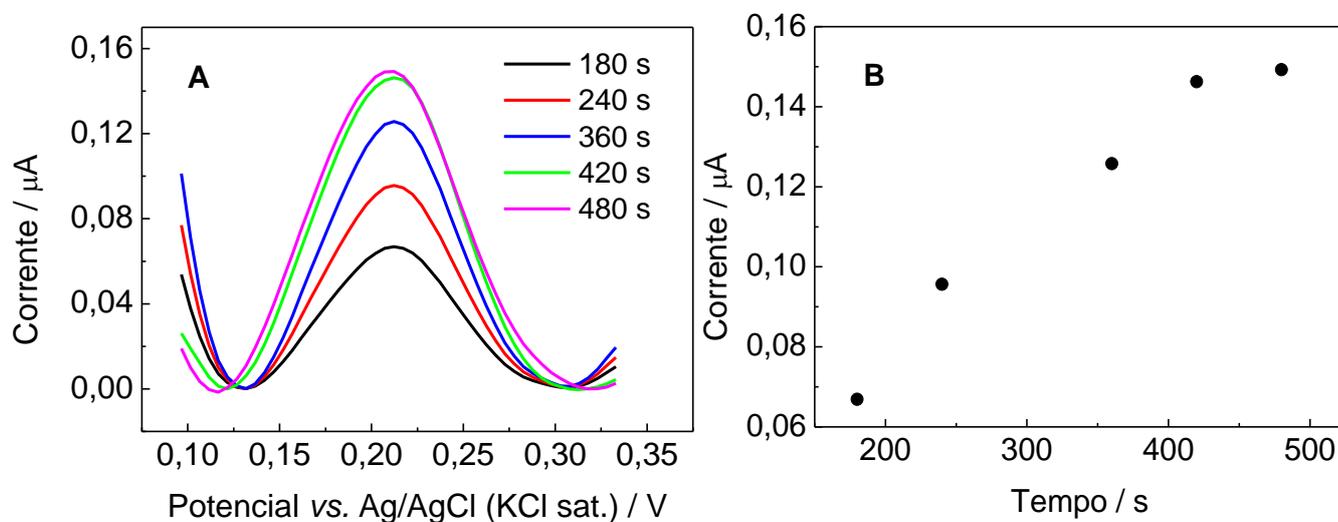
Em presença de 5,0 μmol L⁻¹ de CYS, observa-se o aparecimento de um pico de oxidação em, aproximadamente, +0,21 V associado à oxidação de CYS via formação do complexo com cobre como discutido anteriormente.

Como observado nas respostas obtidas por DPV, a concentração de CYS detectada foi menor quando comparada aos resultados obtidos por CV, por esse motivo, a determinação eletroanalítica de CYS em Cu-BTC/GCE foi realizada por DPV.

4.1.15 Efeito do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico anódica de CYS em Cu-BTC/GCE por DPV

Voltamogramas de DP para 5,0 μmol L⁻¹ de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) foram obtidos aumentando o tempo de pré-concentração do analito no eletrodo (180–480 s) (Figura 44).

Figura 44 – (A) Voltamogramas de DP de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de CYS em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) em Cu-BTC/GCE para diferentes tempos de deposição. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função do tempo de deposição



Fonte: O autor (2020)

De acordo com a Figura 44B, a corrente de pico para a oxidação de CYS aumentou até 420-480 s, não havendo mais alteração significativa a partir de então, muito provavelmente pela saturação da superfície do eletrodo (LOVRIC, 2005).

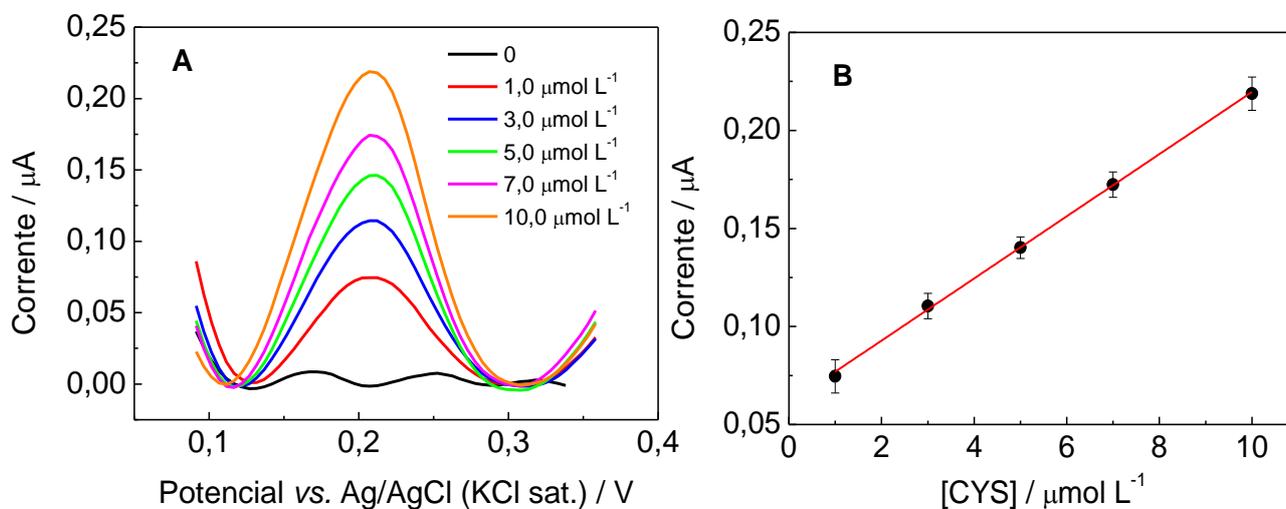
Após os resultados obtidos, o tempo de pré-concentração utilizados para as medições subsequentes foi de 420 s.

4.1.16 Determinação dos parâmetros analíticos para a oxidação eletroquímica de CYS em Cu-BTC/GCE por DPV

Assim como nos experimentos realizados com CAP, a oxidação de CYS em Cu-BTC/GCE também foi estudada por DPV. Para validar o método proposto, foram determinados parâmetros analíticos tais como: faixa de trabalho linear, coeficiente de determinação, equação de regressão linear e limite de detecção.

A Figura 45 mostra os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para a CYS em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) com um tempo de deposição de 420 s, na faixa de concentração de $1,0$ a $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 45 – (A) Voltamogramas de DP para concentrações crescentes de CYS em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) em Cu-BTC/GCE. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de CYS



Fonte: O autor (2020)

Como pode ser visto na Figura 45A, a corrente de pico em, aproximadamente, +0,21 V aumenta com o aumento da concentração de CYS e mostra relação linear na faixa de concentração entre 1,0 a 10,0 μmol L⁻¹ de CYS (Figura 45B), com um desvio-padrão relativo de 3,74 % (n = 3). Do ajuste linear obteve-se a seguinte relação:

$$I_{pa} (\mu A) = 0,06109 + 0,01585 [CYS] / \mu mol L^{-1} \quad R^2 = 0,998 \quad (18)$$

O LOD do método proposto de 0,25 μmol L⁻¹, foi calculado pela fórmula $LOD = \frac{3,3 \cdot \sigma_b}{S}$ (SHRIVASTAVA, 2011).

A Tabela 16 compara a resposta eletroquímica de Cu-BTC/GCE com a de outros eletrodos modificados reportados na literatura para determinação de CYS utilizando DPV.

De acordo com a Tabela 16, o Cu-BTC/GCE apresentou resultados semelhantes a outros eletrodos modificados relatados na literatura, indicando que ele pode ser utilizado no estudo da oxidação eletroquímica de CYS. O diferencial do Cu-BTC/GCE em relação aos outros eletrodos é o processo simples de modificação da superfície do eletrodo, pois não há necessidade de nenhuma etapa adicional de síntese de Cu-BTC, além disso, pode ser utilizada Cu-BTC comercial no processo de fabricação do eletrodo.

Tabela 16 – Eletrodos modificados utilizados na determinação de CYS por DPV

Eletrodo	Modificador	LDR	LOD	Referência
		($\mu\text{mol L}^{-1}$)	($\mu\text{mol L}^{-1}$)	
GCE	Catecol	1-10	0,2	LIU et al., 2012b
GCE	(Quercetina–AgNPs–GN ^a)	0,9-12,4	0,28	ZARE et al., 2016
GCE	poli(ácido p-cumárico)/MWCNT	7,5-50	1,1	ZIYATDINOVA et al., 2018
GCE	Au-SH-SiO ₂ @Cu-MOF	0,02-300	0,008	HOSSEINI et al., 2013a
GCE	Cu-BTC	1-10	0,25	Este trabalho

^a Nanofolhas de grafeno. (A sigla vêm do inglês)

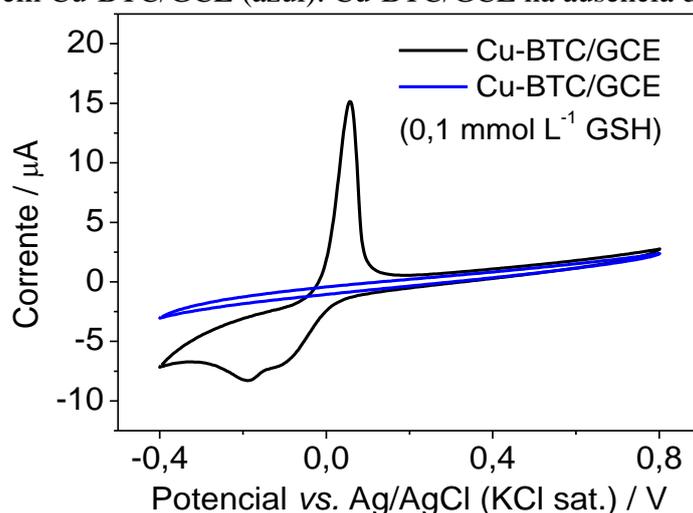
Fonte: O autor (2020)

4.1.17 Estudos de oxidação eletroquímica de GSH em Cu-BTC/GCE por CV

O eletrodo de Cu-BTC/GCE produzido, além dos estudos de oxidação eletroquímica de CAP e CYS, também foi utilizado no estudo da oxidação eletroquímica de GSH, uma vez que esse tripeptídeo também apresenta um grupo sulfidríla em sua estrutura quando na forma reduzida e também sofre efeito de oxidação eletrocatalítico do cobre (AREIAS et al., 2016c).

As respostas de CV para Cu-BTC/GCE em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) na ausência e na presença de 0,1 mmol L⁻¹ de GSH são mostradas na Figura 46.

Figura 46 – Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/GCE (azul). Cu-BTC/GCE na ausência de GSH (preto)



Fonte: O autor (2020)

Como visto na Figura 46, diferentemente das respostas obtidas para o CAP e a CYS, nenhuma resposta para oxidação de GSH foi observada a partir da interação com cobre oriundo de Cu-BTC (linha azul). Na ausência de GSH (linha preta) são observados apenas os picos anódico e catódico em, aproximadamente, +0,07 V e -0,2 V, respectivamente, referentes à reação redox do cobre, como já relatado anteriormente nos estudos de oxidação de CAP e CYS e em outros trabalhos da literatura (HOSSEINI et al., 2013a; 2013b).

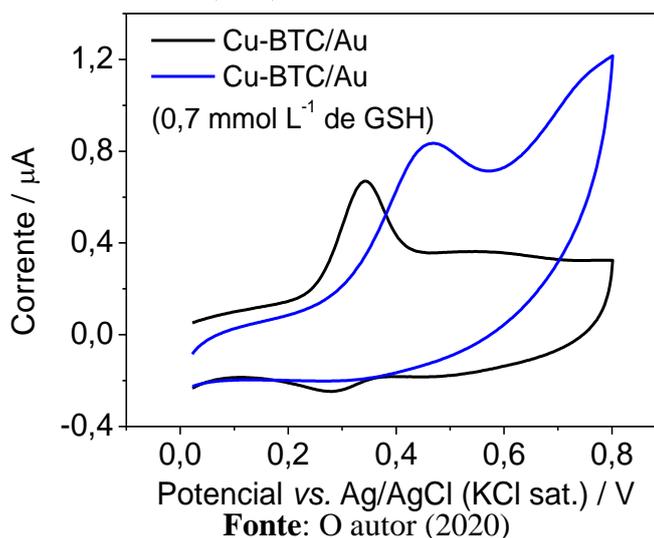
Voltametrias cíclicas foram também realizadas em outros valores de pH, mas nenhuma resposta para oxidação de GSH foi observada. Este fato pode estar associado ao tempo de deposição não ter sido suficiente para verificar a formação do complexo, dado que a cinética de transferência de elétrons da GSH é mais lenta se comparada a do CAP e da CYS, que possuem tamanhos menores.

Não sendo possível a utilização de Cu-BTC/GCE no estudo de oxidação voltamétrica de GSH usando a mesma metodologia aplicada ao CAP e à CYS, outros ensaios foram feitos utilizando um eletrodo sólido de ouro no lugar do GCE. Tais ensaios foram baseados em trabalhos da literatura (HOSSEINI et al., 2013a; 2013b) e pelo conhecimento prévio de que o ouro tem maior afinidade com o cobre e com tióis (CAO et al., 2004; XUE et al., 2014) que o carbono vítreo.

4.2 Estudos de oxidação eletroquímica de GSH em Cu-BTC/Au por CV

Os ensaios iniciais de oxidação de GSH em Cu-BTC/Au foram feitos por CV em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0). As respostas voltamétricas na ausência e na presença de 0,7 mmol L⁻¹ de GSH são mostradas na Figura 47.

Figura 47 – Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Cu-BTC/Au (azul). Cu-BTC/Au na ausência de GSH (preto)



A Figura 47 mostra, na ausência de GSH, um par de picos anódico e catódico em, aproximadamente, +0,32 V e +0,28 V, respectivamente, que estão relacionados a reação redox do cobre liberado de Cu-BTC quando essa é exposta em meio aquoso, semelhante à resposta observada em Cu-BTC/GCE. Na presença de 0,7 mmol L⁻¹ de GSH, observa-se um pico anódico em, aproximadamente, +0,45 V, sugerindo que ocorre a oxidação eletrocatalítica da GSH, assim como observado para o Cu-BTC/GCE na presença de CAP e de CYS.

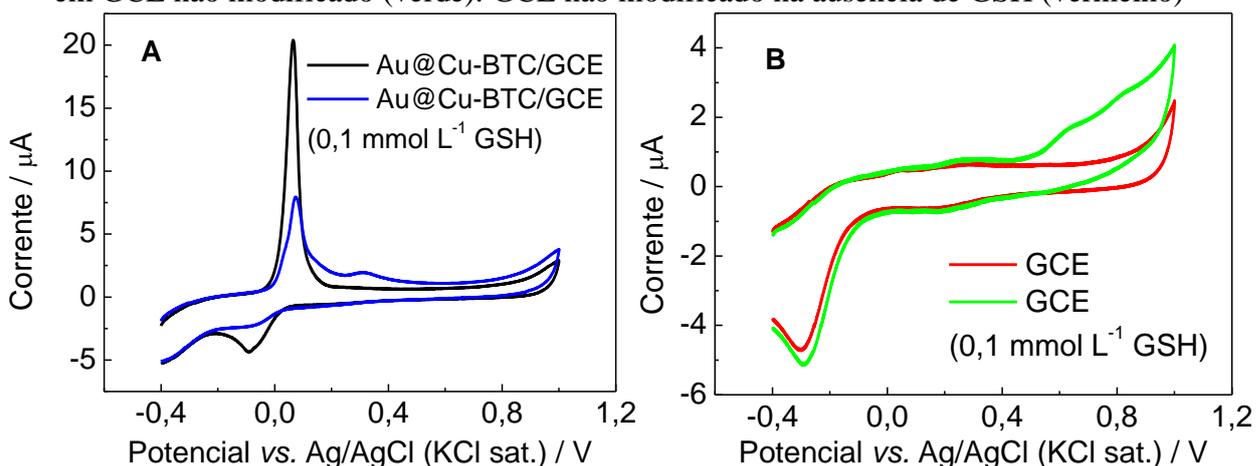
Estudos posteriores nesse eletrodo modificado não foram realizados pois as respostas de CV para a oxidação da GSH foram observadas apenas para concentrações do analito acima de 0,1 mmol L⁻¹, o qual pode ser futuramente aprimorado utilizando técnicas mais sensíveis. Entretanto, visando verificar a interação do ouro com a Cu-BTC e sua participação na oxidação da GSH via formação do complexo com o cobre, uma MOF de Cu-BTC foi sintetizada em presença de AuNPs, a qual foi utilizada para modificar a superfície de um GCE (Au@Cu-BTC/GCE).

4.3 Estudos de oxidação eletroquímica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por CV

Os estudos preliminares em Au@Cu-BTC/GCE foram primeiramente realizados em nosso laboratório pela aluna de doutorado Nadja Vanessa de Almeida Ferraz, cujos resultados preliminares foram publicados em sua tese (FERRAZ, 2017). Posteriormente, os estudos foram aprimorados e complementados.

Voltamogramas cíclicos foram registrados na ausência e na presença de 0,1 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE e em GCE (Figura 48).

Figura 48 – (A) Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE (azul). Au@Cu-BTC/GCE na ausência de GSH (preto). (B) Voltamograma cíclico de 0,1 mmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em GCE não modificado (verde). GCE não modificado na ausência de GSH (vermelho)



Fonte: O autor (2020)

A Figura 48B (linha verde) mostra dois picos anódicos em GCE na presença de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de GSH em aproximadamente $+0,6 \text{ V}$ e $+0,8 \text{ V}$. Esses picos foram atribuídos à oxidação direta do grupo sulfidril presente na GSH que é primeiramente convertido a ácido sulfênico e depois a ácido sulfínico (ENACHE & OLIVEIRA-BRETT, 2011). Esses dois picos anódicos também foram observados em estudos anteriores de oxidação de CYS em GCE não modificado (AREIAS et al., 2016b). Uma vez que a CYS está presente na estrutura da GSH (MCBEAN, 2017), esse comportamento torna-se coerente. O pico catódico em aproximadamente $-0,3 \text{ V}$ é atribuído a presença de oxigênio dissolvido, já que os ensaios não foram realizados sem atmosfera inerte.

Para o eletrodo modificado com Au@Cu-BTC (Figura 48A), a resposta eletroquímica na ausência de GSH (linha preta) mostra um par de picos anódico e catódico em, aproximadamente, $+0,01 \text{ V}$ e $-0,1 \text{ V}$, respectivamente, relacionados a reação redox de cobre(II) liberados de Au@Cu-BTC quando em meio aquoso, semelhante às respostas observadas anteriormente no ensaios utilizando a MOF sem a dopagem com ouro.

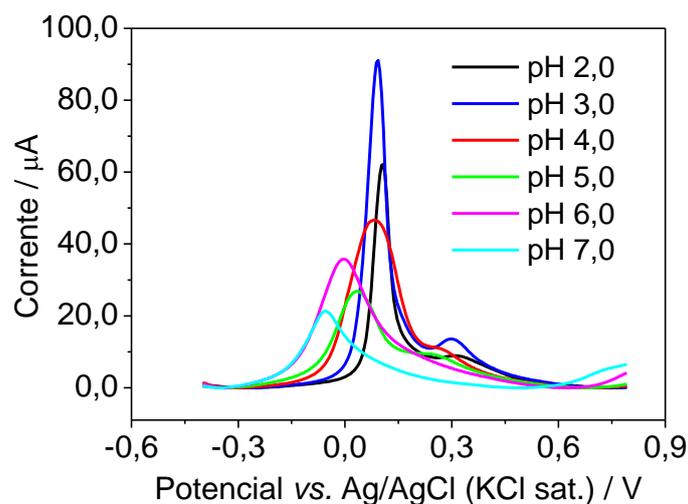
Em presença de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de GSH em Au@Cu-BTC/GCE (linha azul), o par de picos anódico e catódico em, aproximadamente, $+0,01 \text{ V}$ e $-0,1 \text{ V}$, respectivamente, diminui em intensidade de corrente e surge um novo pico anódico em aproximadamente $+0,30 \text{ V}$, o que sugere que o cobre(II) oriundo de Au@Cu-BTC está sendo consumido e está ocorrendo a oxidação da GSH a partir da formação do complexo com cobre, respectivamente. A mudança do potencial para um valor menos positivo está relacionada com os efeitos superficiais da presença de Au@Cu-BTC.

Visando aumentar a sensibilidade da metodologia, os estudos seguintes foram realizados por SWV. Essa técnica foi utilizada pois possibilita a diminuição substancial da corrente capacitiva, que permite trabalhar em uma velocidade de varredura maior comparada à DPV sem aumento da relação sinal/ruído, obtendo respostas mais intensas em termos de corrente, ou seja, maior sensibilidade (BARD & FAULKNER, 2001).

4.3.1 A influência do pH na resposta eletroquímica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por SWV

O efeito da concentração de íons H^+ na oxidação de $10,0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em Au@Cu-BTC/GCE foi realizado em soluções tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ variando o pH de 2,0 a 7,0 (Figura 49).

Figura 49 – Voltamogramas de SW de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes valores de pH



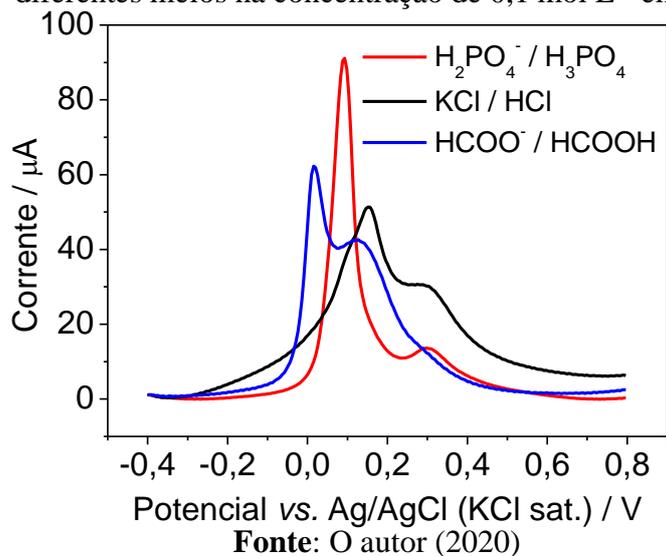
Fonte: O autor (2020)

De acordo com a Figura 49, em valores de pH entre 2,0 e 5,0, dois picos anódicos podem ser observados. O primeiro pico que varia de, aproximadamente, $+0,04 \text{ V}$ a $+0,11 \text{ V}$ é atribuído à oxidação do cobre liberado de Au@Cu-BTC e, o segundo pico que varia de aproximadamente $+0,25 \text{ V}$ a $+0,32 \text{ V}$ é atribuído à oxidação do complexo cobre-GSH formado a partir do cobre liberado pela Cu-BTC. À medida que o pH aumenta para 6,0 e 7,0, o segundo pico anódico desaparece e o primeiro desloca-se para potenciais menos positivos de 0 V e $-0,05 \text{ V}$, respectivamente. Entre os valores de pH estudados, o pH 3,0 fornece uma onda com alta corrente de pico, pois a protonação de GSH facilita sua acumulação na superfície do eletrodo em meio mais ácido (DONG et al., 2016), por isso, essa condição foi utilizada para a realização dos experimentos posteriores. Estudos em pH acima de 7,0 não foram realizados pois, neste pH o cobre hidroliza (CHUGHAI et al., 2015) e, por esse motivo, o complexo cobre-GSH não é observado.

Para verificar a influência da natureza do eletrólito suporte, foram utilizados diferentes meios na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 3,0: dihidrogenofosfato/ácido fosfórico ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{H}_3\text{PO}_4$), formiato/ácido fórmico ($\text{HCOO}^-/\text{HCOOH}$) e cloreto de potássio/ácido clorídrico (KCl/HCl) e as respostas eletroquímicas obtidas por SWV são mostradas na Figura 50.

Os voltamogramas ilustrados na Figura 50 mostram que, em tampão dihidrogenofosfato/ácido fosfórico, os picos de oxidação do próprio cobre e do complexo cobre-GSH estão bem separados. Isso é muito importante porque evita que os processos se sobreponham. Assim, esta solução tampão foi usada para realizar os experimentos seguintes.

Figura 50 – Voltamogramas de SW de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes meios na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em pH 3,0

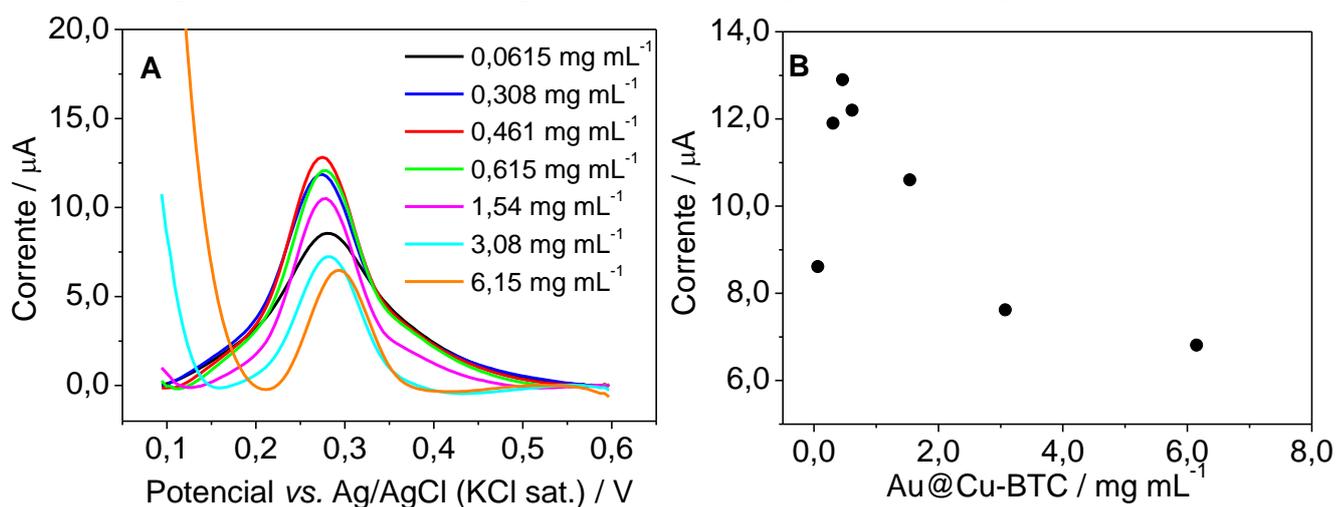


4.3.2 Efeito da concentração de Au@Cu-BTC e do tempo de deposição na intensidade da corrente de pico anódica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por SWV

Para avaliar a influência da concentração da Au@Cu-BTC e do tempo de deposição na resposta eletroquímica da GSH em Au@Cu-BTC/GCE, foram realizados estudos de SWV em presença de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0).

O estudo da melhor concentração de Au@Cu-BTC foi realizado variando a concentração da MOF entre $0,0615 \text{ mg mL}^{-1}$ e $6,15 \text{ mg mL}^{-1}$ (Figura 51).

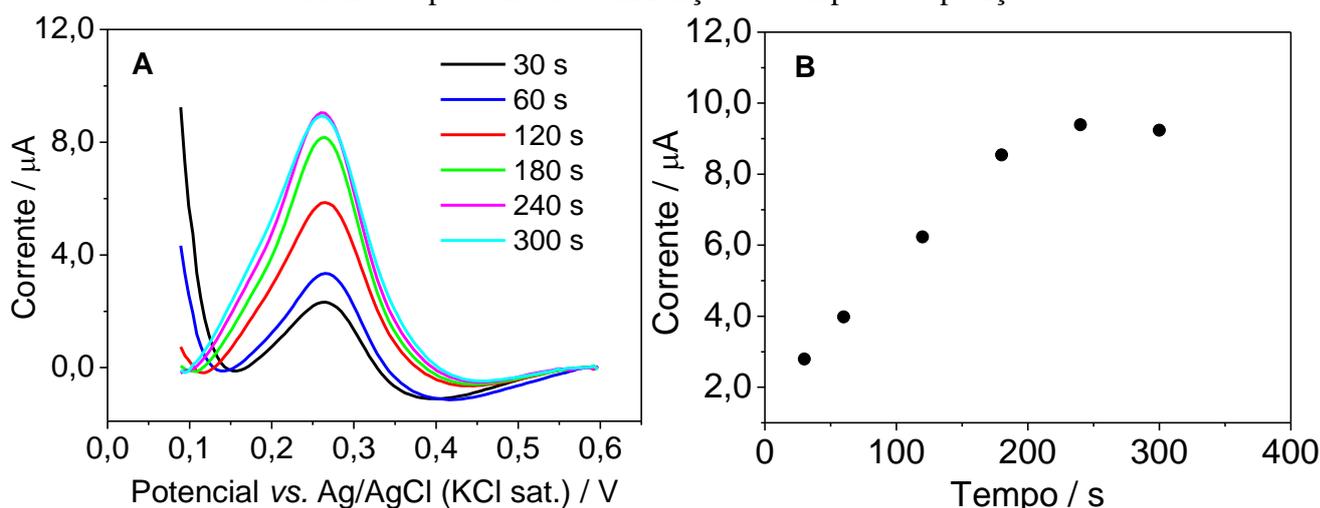
Figura 51 – (A) Voltamogramas de SW de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes concentrações de Au@Cu-BTC. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da concentração de Au@Cu-BTC



Como pode ser visto na Figura 51A, a corrente de pico para oxidação de GSH em, aproximadamente, +0,25 V atinge o valor máximo em 0,461 mg mL⁻¹ de Au@Cu-BTC. Depois disso, a corrente de pico cai drasticamente, provavelmente devido à saturação da superfície do eletrodo (Figura 51B) (SCHOLZ, 2010).

A pré-concentração do analito foi estudada variando o tempo de deposição entre 30 e 300 s (Figura 52).

Figura 52 – (A) Voltamogramas de SW de 10,0 μmol L⁻¹ de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes tempos de deposição. (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função do tempo de deposição



Fonte: O autor (2020)

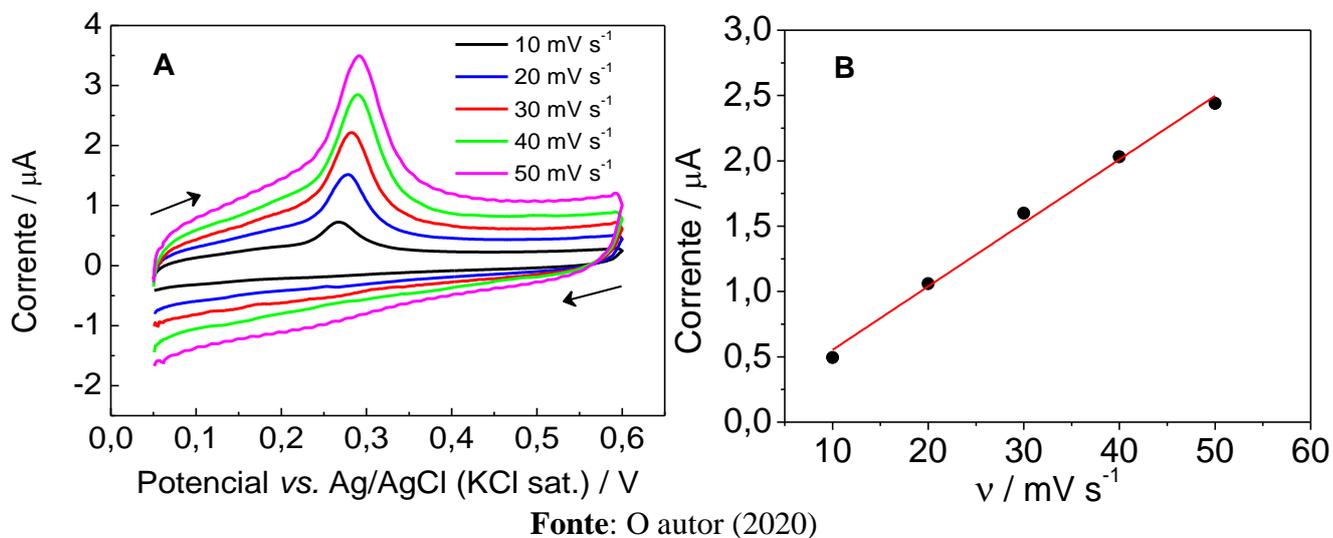
A Figura 52B mostra que a corrente de pico para a oxidação de GSH em Au@Cu-BTC/GCE aumenta até o tempo de deposição de 240 s, sem alteração adicional posterior. Dessa forma, o tempo de pré-concentração de 240 s foi utilizado para todos os ensaios posteriores.

4.3.3 Efeito da velocidade de varredura na oxidação de GSH em Au@Cu-BTC/GCE

Em presença de íons cobre(II), a GSH forma um complexo de cobre-GSH (AREIAS et al., 2016c). Para entender o mecanismo de oxidação da GSH em Au@Cu-BTC/GCE a partir da formação desse complexo com cobre, voltamogramas cíclicos em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) foram obtidos em diferentes velocidades de varredura (10 a 50 mV s⁻¹) (Figura 53).

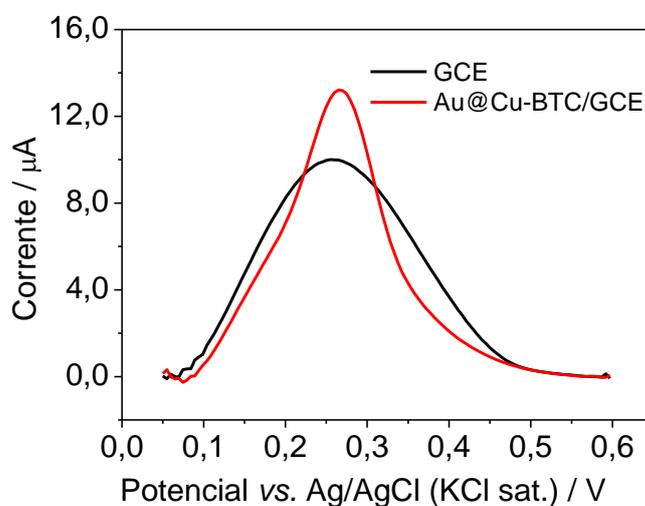
De acordo com a Figura 53B, na presença de 5,0 μmol L⁻¹ de GSH, verificou-se que a corrente de pico anódica em, aproximadamente, +0,25 V aumenta proporcionalmente com a velocidade de varredura. Esse comportamento é consistente com o comportamento eletroquímico de espécies adsorvidas na superfície do CGE (COMPTON & BANKS, 2018).

Figura 53 – (A) Voltamogramas cíclicos de $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE para diferentes velocidades de varredura (B) Comportamento da corrente de pico anódica em função da velocidade de varredura



A Figura 54 compara a resposta de oxidação de GSH por SWV em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) quando o íon cobre(II) é fornecido pelo eletrodo modificado de Au@Cu-BTC/GCE com a resposta em GCE não modificado na presença de cobre(II) em solução.

Figura 54 – Voltamogramas de SW de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) na presença de cobre disponível em diferentes condições. Au@Cu-BTC/GCE (vermelho) e GCE não modificado com $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de íon cobre em solução (preto)



A Figura 54 mostra que a resposta eletroquímica de Au@Cu-BTC conduz a uma maior intensidade na corrente de pico quando comparada com o experimento realizado em GCE não modificado na presença de $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cobre(II) em solução. Esse aumento na corrente de pico pode ser associado ao efeito da presença das nanopartículas de ouro incorporadas à estrutura de Cu-BTC. As nanopartículas de ouro são liberadas da Au@Cu-BTC na superfície do GCE (DUAN et al., 2013) e fornecem uma condição mais favorável para a deposição de cobre reduzido (CAO et al., 2004) do que a superfície de GCE sem modificação.

Para melhor entender as etapas realizadas a partir da modificação do eletrodo até a oxidação de GSH na presença do íon cobre(II) oriundo de Au@Cu-BTC/GCE, são detalhados os passos a seguir:

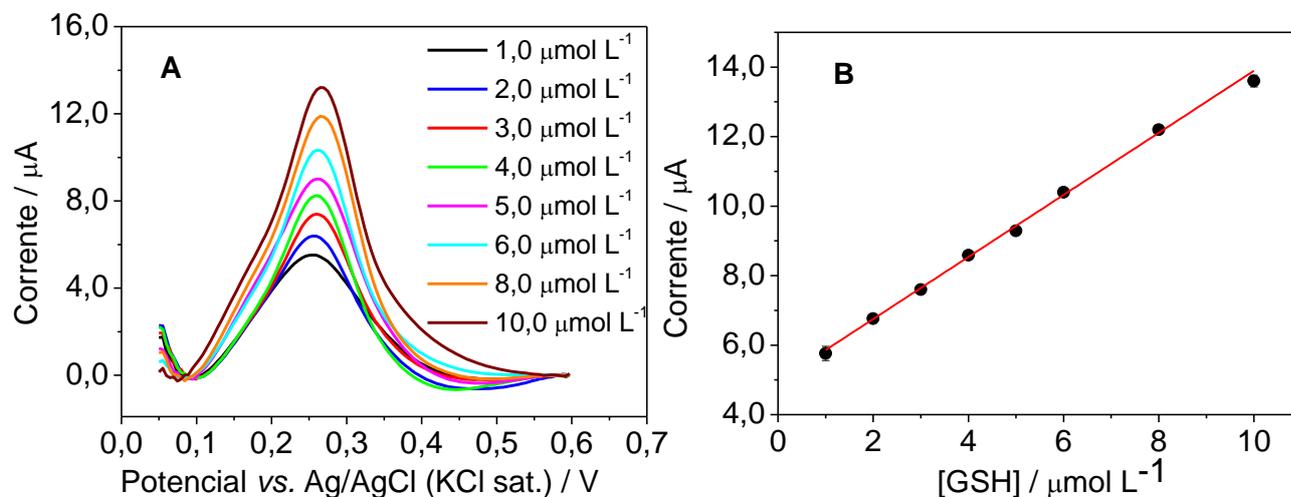
- 1) Modificação do eletrodo: a suspensão de Au@Cu-BTC é gotejada na superfície do GCE ativado com NaHCO_3 .
- 2) Decomposição da MOF: Em pH 3, Au@Cu-BTC se decompõe liberando Cu^{2+} .
- 3) Adsorção de AuNPs: Em pH 3, a decomposição de Au@Cu-BTC também libera AuNPs que adsorvem na superfície do GCE.
- 4) Deposição eletroquímica de cobre em AuNPs: Após a aplicação do potencial de deposição de $+0,05 \text{ V}$, o Cu^{2+} é reduzido a Cu^0 . O cobre reduzido (Cu^0) se deposita nas AuNPs previamente adsorvidas na etapa 3.
- 5) Oxidação da GSH: Durante a varredura anódica de $+0,05 \text{ V}$ a $+0,6 \text{ V}$ o Cu^0 é oxidado a Cu^+ que complexa com a GSH ($[\text{Cu-SG}]^+$) e adsorve na superfície do eletrodo. Além disso, o complexo de $[\text{Cu-SG}]^+$ é oxidado na superfície do eletrodo de acordo com a reação: $2[\text{Cu-SG}]^+ \rightarrow \text{Cu}_2(\text{GSSG}) + 2\text{e}^-$.

4.3.4 Determinação dos parâmetros analíticos para a oxidação eletroquímica de GSH em Au@Cu-BTC/GCE por SWV

Para a quantificação analítica de GSH, foram realizados estudos de SWV em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) com tempo de pré-concentração do analito de 240 s em Au@Cu-BTC/GCE, com $0,461 \text{ mg mL}^{-1}$ da MOF, na presença de concentrações crescentes do analito ($1,0$ – $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Figura 55).

Verifica-se, de acordo com a Figura 55A, um aumento na corrente de pico em, aproximadamente, $+0,25 \text{ V}$ com o aumento da concentração de GSH, mostrando relação linear na faixa de concentração de GSH entre $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 55B) com desvio padrão relativo médio de $1,21 \%$ ($n = 3$).

Figura 55 – (A) Voltamogramas de SW para concentrações crescentes de GSH em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) em Au@Cu-BTC/GCE. (B) Comportamento da corrente de pico de anódica em função da concentração de GSH



Fonte: O autor (2020)

A partir do ajuste linear para o intervalo de concentração estudado, encontrou-se a seguinte relação:

$$I_{pa} (\mu A) = 4,979 + 0,881 [\text{GSH}] / \mu\text{mol L}^{-1} \quad R^2 = 0,997 \quad (19)$$

Com base na faixa de concentração de GSH presente nos fluidos fisiológicos para um indivíduo saudável (2,0–12,0 µmol L⁻¹) (MEISTER & ANDERSON, 1983), a faixa de trabalho linear obtida nesse estudo sugere que a amostra pode ser analisada sem a necessidade de pré-tratamento. O LOD de 0,30 µmol L⁻¹ foi calculado pela fórmula $LOD = \frac{3,3 \cdot \sigma_b}{S}$ (SHRIVASTAVA, 2011).

Para efeitos de comparação, as características de diferentes técnicas voltamétricas para a detecção de GSH usando GCE com e sem modificação são apresentadas na Tabela 17.

Dentre esses métodos, três apresentaram LOD melhores que o obtido pela metodologia aqui proposta (AREIAS et al., 2016c; LUZ et al., 2007; GONG et al., 2005). No entanto, no que diz respeito à utilização do GCE sem modificação (AREIAS et al., 2016c), os íons Cu(II) necessários para o processo redox são adicionados à solução antes da análise, introduzindo mais etapas no procedimento com mais possibilidades de erro no procedimento. No método aqui descrito, os íons Cu(II) são fornecidos diretamente pelo GCE modificado previamente preparado. Considerando o trabalho que utiliza a ortoquinona como modificador (GONG et al., 2005), a

modificação do eletrodo requer uma etapa adicional que envolve a deposição de nanotubos de carbono de parede simples no GCE, um processo que é caro em comparação com a metodologia proposta. Finalmente, a ftalocianina tetrassulfonada utilizada na modificação do GCE (LUZ et al., 2007) é um corante muito tóxico (KARIMI et al., 2018), e a LDR da técnica é muito estreita.

Tabela 17 – GCEs com e sem modificação utilizados na determinação de GSH

Técnica	Modificador	LDR ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
CV	-	1-10	0,14	AREIAS et al., 2016c
CV	DEPD ^a	20-100	6,24	NEKRASSOVA et al., 2002
CV	Catecol	6-59	1,0	LAWRENCE et al., 2001
CV	GSH-SO _x ^b /Os-PVP ^c	1-200	0,5	MAO & YAMAMOTO, 2000
CV	SWCNT/TOQ ^d	0,07-500	0,07	GONG et al., 2005
CV	CoTSPC ^e -PLL ^f	0,05-2,16	0,02	LUZ et al., 2007
CV	Ácido cafeico	0,3-500	2,2	LEE & COMPTON, 2013
SWV	Au@Cu-BTC/GCE	1-10	0,3	Este trabalho

^a N,N-dietil-fenilenodiamina. ^b Glutathiona sulfidril oxidase. ^c ósmio-polivinilpiridina. ^d Triptyceno ortoquinona. ^e ftalocianina tetrassulfonada de cobalto. ^f poli (L-lisina). (As siglas vêm do inglês).

Fonte: O autor (2020)

4.3.5 Determinação de GSH em Au@Cu-BTC/GCE em amostras reais

O método analítico proposto foi utilizado na determinação de GSH em uma amostra de sangue desproteïnizada contendo $6,95 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH e em suplemento diário contendo $4,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ de GSH.

Voltamogramas de SW foram obtidos para três diferentes soluções contendo a amostra de sangue desproteïnizado e a amostra de suplemento alimentar em solução tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0). Os resultados são mostrados na Tabela 18.

Tabela 18 – Determinação de GSH em amostra de sangue desproteïnizada e em suplemento diário de GSH

Amostra	Concentração de GSH ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Sangue	6,95	8,47
Suplemento	4,00	3,93

Fonte: O autor (2020)

De acordo com a Tabela 18, a concentração de GSH encontrada na amostra de sangue desproteïnizada foi de $8,47 \mu\text{mol L}^{-1}$, valor que é em torno de 22% maior que a concentração conhecida. Considerando que esta metodologia só detecta compostos contendo grupos sulfidril (tióis), essa diferença pode ser atribuída à presença de CYS não dosada. O método apresentou um desvio padrão relativo de 1,00 % ($n = 3$).

Para o suplemento alimentar, a concentração de GSH encontrada foi de $3,93 \mu\text{mol L}^{-1}$, valor que corresponde a 98,2% de recuperação da quantidade adicionada inicialmente à célula eletroquímica ($4,00 \mu\text{mol L}^{-1}$). O método apresentou um desvio padrão relativo de 1,04 % ($n = 3$).

Esse resultado mostra que a metodologia pode ser empregada no controle de qualidade de suplemento de GSH, podendo ser estendida para outros fármacos contendo unicamente este tiol, como é o caso de clareadores de pele, usados em indústria cosmética.

5 CONCLUSÕES

O copolímero de acrilamida/acrilato de sódio mostrou-se fundamental na obtenção das respostas voltamétricas de oxidação e redução de Cu-BTC em eletrodos de carbono vítreo e ouro e, portanto, pode ser usado como imobilizador dessa MOF na modificação de eletrodos.

A Cu-BTC dispersa no copolímero de acrilamida/acrilato de sódio mostrou-se eficiente no estudo da oxidação eletroquímica de CAP e CYS.

O preparo dos eletrodos modificados com Cu-BTC em acrilamida/acrilato de sódio foi bem simples e rápido.

Nanopartículas de ouro também podem ser utilizadas para aumentar da condutividade elétrica de Cu-BTC e, com isso, empregadas na modificação de superfícies eletródicas na forma de um nanocompósito de Au@Cu-BTC.

O eletrodo modificado de Au@Cu-BTC mostrou-se eficiente no estudo de oxidação eletroquímica de GSH.

As melhores respostas para CAP e GSH foram em pH 3,0, enquanto que o pH ótimo de trabalho para a CYS foi 4,0.

Amostras biológicas de sangue e suplemento alimentar de GSH foram analisadas por SWV e formulações farmacêuticas de CAP por DPV, em eletrodos modificados com Au@Cu-BTC e Cu-BTC, respectivamente. As técnicas mostraram-se eficientes na determinação do conteúdo desses tióis em amostras reais, as quais exigiram um mínimo de preparo.

O eletrodo de Au@Cu-BTC pode ser utilizado também na determinação de tióis totais em amostras reais, como foi evidenciado na análise da amostra de sangue desproteinizada.

REFERÊNCIAS

AL-JANABI, N., ALFUTIMIE, A., SIPERSTEIN, F. R., FAN, X. Underlying mechanism of the hydrothermal instability of $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$ metal-organic framework. **Front. Chem. Sci. Eng.**, v. 10, p. 103–107, 2016.

AL-KUTUBI, H., GASCON, J., SUDHÖLTER, E. J. R., RASSAEI, L. Electrosynthesis of metal–organic frameworks: Challenges and opportunities. **Chem. Electro. Chem.**, v. 2, p. 462–474, 2015.

ALLEN, J. Inhaled glutathione for the prevention of air pollution-related health effects: A brief review. **Altern. Ther. Health. Med.**, v. 14, p. 42–44, 2008.

ALLEN, J., BRADLEY, R. D. Effects of oral glutathione supplementation on systemic oxidative stress biomarkers in human volunteers. **J. Altern. Complement. Med.**, v. 17, p. 827–833, 2011.

ANDERSEN, K. K., BERNSTEIN, D. T. Some chemical constituents of the scent of the striped skunk (*Mephitis mephitis*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 1, p. 493–499, 1975.

AOYAMA, K., NAKAKI, T. Impaired glutathione synthesis in neurodegeneration. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 14, p. 21021–21044, 2013.

APPALA, R. N., CHIGURUPATI, S., APPALA, R. V. V. S. S., SELVARAJAN, K. K., MOHAMMAD, J. I. A simple HPLC-UV method for the determination of glutathione in PC-12 cells. **Scientifica**, p. 1–6, 2016.

AREIAS, M. C. C., SHIMIZU, K., COMPTON, R. G. Voltammetric detection of captopril using an unmodified glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 28, p. 1–7, 2016a.

AREIAS, M. C. C., SHIMIZU, K., COMPTON, R. G. Cysteine determination via adsorptive stripping voltammetry using a bare glassy carbon electrode. **Analyst**, v. 141, p. 5563–5570, 2016b.

AREIAS, M. C. C., SHIMIZU, K., COMPTON, R. G. Voltammetric detection of glutathione: an adsorptive stripping voltammetry approach. **Analyst**, v. 141, p. 2904–2910, 2016c.

AREIAS, M. C. C., TOH, H. S., LEE, P. T., COMPTON, R. G. Voltammetric detection of captopril on graphite screen printed electrodes. **Electroanalysis**, v. 27, p. 742–748, 2015.

AUTHIER, L., GROSSIORD, C., GROSSIER P., LIMOGES, B. Gold Nanoparticle-Based Quantitative Electrochemical Detection of Amplified Human Cytomegalovirus DNA Using Disposable Microband Electrodes. **Anal. Chem.**, v. 73, p. 4450–4456, 2001.

BADALOO, A., REID, M., FORRESTER, T., HEIRD, W. C., JAHOOR, F. Cysteine supplementation improves the erythrocyte glutathione synthesis rate in children with severe edematous malnutrition. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 76, p. 646–652, 2002.

BAHMAEI, M., KHOSRAVI, A., ZAMIRI, C., MASSOUMI, A., MAHMOUDIAN, M. Determination of captopril in human serum by HPLC using solid-phase extraction. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 15, p. 1181–1186, 1997.

BALENDIRAN, G. K., DABUR, R., FRASER, D. The role of glutathione in cancer. **Cell. Biochem. Funct.**, v. 22, p. 343–352, 2004.

BALLATORI, N., KRANCE, S. M., NOTENBOOM, S., SHI, S., TIEU, K., HAMMOND, C. L. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. **Biol. Chem.**, v. 390, p. 191–214, 2009.

BANKS, C. E., COMPTON, R. G. New electrodes for old: from carbon nanotubes to edge plane pyrolytic graphite. **Analyst**, v. 131, p. 15–21, 2006.

BARD, A. J., FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 2. Ed. Danvers: Wiley, 2001.

BASELT, R. C. **Analytical procedures for therapeutic drug monitoring and emergency toxicology**. 2. Ed., PSG, Littleton, MA, USA, 1987.

BASELT, R. C. CRAVEY, R. H. **Disposition of toxic drugs and chemicals in man. Chemical Toxicology Institute.** 4. Ed., Foster City, CA, USA, 1995.

BASRI, N. R. H., MOHKTAR, M. S., ZAMAN, W. S. W. K., YUSOF, H. I. M. The effects of oral glutathione supplementation on human volunteers: an observation on metabolic syndrome status. In: IBRAHIM, F., USMAN, J., AHMAD, M., HAMZAH, N., TEH, S. (Eds.) 2nd International Conference for Innovation in Biomedical Engineering and Life Sciences. ICIBEL, 2017.

BEDIA, J., MUELAS-RAMOS, V., PEÑAS-GARZÓN, M., GÓMEZ-AVILÉS, A., RODRÍGUEZ, J. J., BELVER, C. A review on the synthesis and characterization of Metal Organic Frameworks for photocatalytic water purification. **Catalysts**, v. 9, 52, p. 1–43, 2019.

BEVERSKOG, B., PUIGDOMENECH, I. **Revised Pourbaix diagrams for copper at 5 to 150°C.** Swedish Nucl. Power Insp., 1995.

BEUTLER, E. Nutritional and metabolic aspects of glutathione. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 9, p. 287–302, 1989.

BOISSONNAS, R. A. The synthesis of bradykinin. **Biochemical Pharmacology**, v. 10, p. 35–38, 1962.

BOWMAN, G., BACKER, U., LARSSON, S., MELANDER, B., WHALANDER, L. Oral acetylcysteine reduces exacerbation rate in chronic bronchitis; report of a trial organized by the Swedish Society for Pulmonary Diseases. **Eur. J. Respir. Dis.**, v. 63, p. 405–415, 1983.

BRANDON, J. B., BARRON, P. M., CHOE, W. Recent advances in porphyric metal-organic frameworks: materials design, synthetic strategies, and emerging applications. **Cryst. Eng. Comm**, v. 14, p. 3839–3846, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instrução Normativa n° 28, de 26 de julho de 2018. Estabelece as listas de constituintes, de limites de uso, de alegações e de rotulagem complementar dos suplementos alimentares. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 jul. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n° 3.916, de 30 de outubro de 1998. Dispõe sobre a aprovação da Política Nacional de Medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 out. 1998.

BRONDANI, D., ZAPP, E., DA SILVA HEYING, R., DE SOUZA, B., CRUZ VIEIRA, I. Copper-based Metal-organic Framework Applied in the Development of an Electrochemical Biomimetic Sensor for Catechol Determination. **Electroanalysis**, v. 29, p. 2810–2817, 2017.

CAMERA, E., RINALDI, M., BRIGANTI, S., PICARDO, M., FANALI, S. Simultaneous determination of reduced and oxidized glutathione in peripheral blood mononuclear cells by liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 757, p. 69–78, 2001.

CAMPOS, V. O. Síntese e caracterização de redes metalorgânicas baseadas em zinco e ácidos benzenodicarboxílicos. 2014. 89 f. Dissertação - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

CAO, L. Y., DIAO, P., ZHU, T., LIU, Z. F. Uniform Electrochemical Deposition of Copper onto Self-Assembled Gold Nanoparticles. **J. Phys. Chem. B**, v. 108, p. 3535–3539, 2004.

CAO, M., YIN, X., BO, X., GUO, L. High-performance electrocatalyst based on metal-organic framework/macroporous carbon composite for efficient detection of luteolin. **J. Electroanal. Chem.**, v. 824, p. 153–160, 2018.

CAO, Y., WANG, L., SHEN, C., WANG, C., HU X., WANG, G. An electrochemical sensor on the hierarchically porous Cu-BTC MOF platform for glyphosate determination. **Sens. Actuators, B**, v. 283, p. 487–494, 2019.

CAPTOPRIL. Bula do medicamento CAPOTRINEO®. Disponível em: <http://cdn.remediobarato.com/pdf/45c369109c14c813931d35e202fa7293.pdf>, Acesso em: 10 de abril de 2020.

CEN, H., CAO, J., CHEN, Z., GUO, X. 2-mercaptobenzothiazole as a corrosion inhibitor for carbon steel in supercritical CO₂-H₂O condition. **Applied Surface Science**, v. 476, p. 422–434, 2019.

CHEN, P. FRYLING, M. A. MCCREERY, R. L. Electron transfer kinetics at modified carbon electrode surfaces: the role of specific surface sites. **Analytical Chemistry**, v. 67, p. 3115–3122, 1995.

CHEN, X., LI, Q. W., WANG, X. M. Gold nanostructures for bioimaging, drug delivery and therapeutics. In: BALTZER, N., THIERRY C. (Ed.). **Precious Metals for Biomedical Applications**, p. 163–176, 2014.

CHEN, X. Y., ZHAO, B. SHI, W., XIA, J., CHENG, P., LIAO, D. Z., YAN, S. P., JIANG, Z. H. Microporous metal-organic frameworks built on a Ln₃ cluster as a six-connecting node. **Chem. Mat.**, v. 17, p. 2866–2874, 2005.

CHEN, Z., ZHANG, C., LI, X., MA, H., WAN, C., LI, K., LIN, Y. Aptasensor for electrochemical sensing of angiogenin based on electrode modified by cationic polyelectrolyte-functionalized graphene/gold nanoparticles composites. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 65, p. 232–237, 2015.

CHUGHTAI, A. H., AHMAD, N., YOUNUS, H. A., LAYPKOVIC, A., VERPOORT, F. Metal-organic frameworks: versatile heterogeneous catalysts for efficient catalytic organic transformations. **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, p. 6804–6849, 2015.

CHUI, S. S. Y., LO, S. M. F., CHARMANT, J. P. H., ORPEN, A. G., WILLIAMS, I. D. A chemically functionalizable nanoporous material [Cu₃(TMA)₂(H₂O)₃]_n, **Science**, v. 283, p. 1148–1150, 1999.

CHUNGUO, C. Determination of cadmium(II) at a gold electrode in the presence of selenium(IV) by anodic-stripping voltammetry with enhancement by iodide ion. **Talanta**, v. 31, p. 221–223, 1984.

COMPAGNONE, D., FEDERICI, G., SCARCIGLIA, L., PALLESCHI, G. Amperometric glutathione electrodes. **Biosen. Bioelectron.**, v. 8, p. 257–263, 1993.

COMPTON, R. G., BANKS, C. E. **Understanding Voltammetry**. World Scientific: London, 3. Ed., 2018.

CREMLYN, R. J. **An introduction to organosulfur chemistry**. Chichester [etc]: John Wiley & Sons, 1996.

CUI, L., WU, J., JU, H. Nitrogen doped porous carbon derived from metal-organic gel for electrochemical analysis of heavy-metal ion. **Appl. Mater. Interfaces**, v. 6, p. 16210–16216, 2014.

CUSHMAN, D. W., CHEUNG, H. S., SABO, E. F. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. **Biochemistry**, v. 16, p. 5484–5491, 1977.

DANIEL, M. C., ASTRUC, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum- size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. **Chemical Reviews-Columbus**, v. 104, p. 293–346, 2004.

DARDEVET, D. (Ed.). **The molecular nutrition of amino acids and proteins**. 1. Ed. Academic Press, 2016.

DATURI, M. Infrared characterisation of Metal Organic Frameworks. **Current Physical Chemistry**, v. 12, p. 178–188, 2012.

DAVIS, P. M., QIAN, M. C. Progress on volatile sulfur compound analysis in wine. **ACS Symposium Series**, v. 1068, p. 93–115, 2011.

DEKANSKI, A., STEVANOVIĆ, J., STEVANOVIĆ, R., NIKOLIĆ, B., JOVANOVIĆ, V. Glassy Carbon Electrodes I. Characterization and Electrochemical Activation. **Carbon**, v. 39, p. 1195–1205, 2001.

DELEVE, L. D., KAPLOWITZ, N. Importance and regulation of hepatic glutathione. **Semin. Liver Dis.**, v. 10, 251–266, 1990.

DENG, M., LIN, S., BO, X., GUO, L. Simultaneous and sensitive electrochemical detection of dihydroxybenzene isomers with UiO-66 metal-organic framework/mesoporous carbon. **Talanta**, v. 174, p. 527–538, 2017.

DE ROSA, M., GAMBACORTS, A., MINALE, L. A terpenoid 4,7-thianaphthenequinone from an extremely thermophilic and acidophilic micro-organism. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, v. 10, p. 392–393, 1975.

DEVADAS, B., RAJKUMAR, M., CHEN, S.-M. Simultaneous Determination of Adenine and Thymine in Presence of Guanine at Electrochemically Activated Glassy Carbon Electrode. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 8, p. 5241–5249, 2013.

DEVLIN, T. M. **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations**, JohnWiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, USA, 7. Ed., 2010.

DIAMANTIS, S. A., MARGARITI, A., POURNARA, A. D., PAPAEFSTATHIOU, G. S., MANOS, M. J., LAZARIDES, T. Luminescent metal–organic frameworks as chemical sensors: common pitfalls and proposed best practices. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 5, p. 1493–1511, 2018.

DIKSHITH T. S. S. **Handbook of chemicals and safety**. CRC Press, Boca Raton: Florida, USA, 2011.

DOGADKIN, B. A., TUTORSKII, I. A., PEVZNER, D. M. The mechanism of vulcanization in the presence of 2-mercaptobenzothiazole. **Rubber Chemistry and Technology**, v. 31, p. 751–755, 1958.

DOI, M., HATTORI, N., YOKOYAMA, A., ONARI, Y., KANEHARA, M., MASUDA, K., TONDA, T., OHTAKI, M., KOHNO, N. Effect of mustard gas exposure on incidence of lung cancer: a longitudinal study. **American Journal of Epidemiology**, v. 173, p. 659–666, 2011.

DONG, J., HUO, S., SHEN, S., XU, J., SHI, T., ELDING, L. I. Reactivity of the glutathione species towards the reduction of ormaplatin (or tetraplatin). **Bioorganic Med. Chem. Lett.**, v. 26, p. 4261–4266, 2016.

DROGE, W. Oxidative stress and ageing: is ageing a cysteine deficiency syndrome? **Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.**, v. 360, p. 2355–2372, 2005.

DUAN, J., HE, D., WANG, W., LIU, Y., WU, H., WANG, Y., FU, M. Glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles for ractopamine and metaproterenol sensing. **Chem. Phys. Lett.**, v. 574, p. 83–88, 2013.

EDDAOUDI, M., KIM, J., ROSI, N., VODAK, D., WACHTER, J., O'KEEFFE, M., YAGHI, O. M. Systematic design of pore size and functionality in isoreticular MOFs and their application in methane storage. **Science**, v. 295, p. 469–472, 2002.

EDDAOUDI, M., MOLER, D. B., LI, H., CHEN, B., REINEKE, T. M., O'KEEFFE, M., YAGHI, O. M. Modular Chemistry: Secondary Building Units as a Basis for the Design of Highly Porous and Robust Metal–Organic Carboxylate Frameworks. **Accounts of Chemical Research**, v. 34, p. 319–330, 2001.

EID, M. A. Spectrophotometric determination of cysteine and N-acetylcysteine in pharmaceutical preparations. **Microchimica Acta**, v. 129, p. 91–95, 1998.

EL-ENANY, N., BELAL, F., RIZK, M. Novel spectrophotometric method for the assay of captopril in dosage forms using 2,6-dichloroquinone-4-chlorimide. **Int. J. Biomed. Sci.**, v. 4, p. 147–154, 2008.

ELLIOTT, D. F., LEWIS, G. P., HORTON, E. W. Structure of bradykinin. **Biochem. J.**, v. 76 p.16, 1960.

EL-MAALI, N. A. Voltammetric analysis of ceftazidime after preconcentration at various mercury and carbon electrodes: application to sub-ppb level determination in urine samples. **Talanta**, v. 51, p. 957–968, 2000.

EL-SHABRAWY, Y., EL-ENANY, N., SALEM, K. Sensitive kinetic spectrophotometric determination of captopril and ethamsylate in pharmaceutical preparations and biological fluids. **Farmaco**, v. 59, p. 803–808, 2004.

ENACHE, T. A., OLIVEIRA-BRETT, A. M. Boron doped diamond and glassy carbon electrodes comparative study of the oxidation behaviour of cysteine and methionine. **Bioelectrochemistry**, v. 81, p. 46–52, 2011.

ENSAFI, A. A., ARABZADEH, A. A new sensor for electrochemical determination of captopril using chlorpromazine as a mediator at a glassy carbon electrode. **J. Anal. Chem**, v. 67, p. 486–496, 2012.

ENSAFI, A. A., DADKHAH-TEHRANI, S., KARIMI-MALEH, H. A Voltammetric Sensor for the Simultaneous Determination of L-Cysteine and Tryptophan Using a p-Aminophenol-Multiwall Carbon Nanotube Paste Electrode. **Analytical Sciences**, v. 27, p. 409–414, 2011a.

ENSAFI, A. A., MALEH-KARIMI, H., MALLAKPOUR, S., REZAEI, B. Highly sensitive voltammetric sensor based on catechol-derivative-multiwall carbon nanotubes for the catalytic determination of captopril in patient human urine samples. **Colloid. Surf. B**, v. 87, p. 480–488, 2011b.

ENSAFI, A. A., REZAEI, B., NOUROOZI, S. Flow injection spectrofluorimetric determination of cystine and cysteine. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 2, 288–193, 2009.

ERDOS, E. G., WOHLER, J. R. Inhibition “in vivo” of the enzymatic inactivation of bradykinin and kallidin. **Biochem. Pharmacol.**, v. 12, p.1163–1169, 1963.

FAHEY, R. C. Biologically important thiol-disulfide reactions and the role of cyst(e)ine in proteins: an evolutionary perspective. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 86, p. 1–30, 1977.

FAVILLI, F., MARRACCINI P., IANTOMASI T., VINCENZINI, M. T. Effect of orally administered glutathione on glutathione levels in some organs of rats: Role of specific transporters. **Br. J. Nutr.**, v. 78, p. 293–300, 1997.

FARHA, O. K., ERYAZICI, I., JEONG, N. C., HAUSER, B. G., WILMER, C. E., SARJEANT, A. A., SNURR, R. Q., NGUYEN, S. T., YAZAYDIN, A. O., HUPP, J. T. Metal-organic framework materials with ultra-high surface áreas: is the sky the limit? **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, p. 15016–15021, 2012.

FERRAZ, N. V. A. Design de um novo sensor eletroquímico para detecção de glutatona reduzida baseado no metal-organic framework cobre (II) – benzeno – 1,3,5 – tricaboxilato. 2017. 151 f. Dissertação – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2017.

FERREIRA, S. H., BARTELT, D. C., GREENE, L. J. Isolation of bradykinin-potentiating peptides form Bothrops jararaca venom. **Biochemistry**, v. 9 p. 2583–2593, 1970.

FERREIRA, S. H., ROCHA e SILVA, M. Potentiation of bradykinin and eledoisin by BPF (Bradykinin Potentiating Factor) from Bothrops jararaca venom. **Experientia**, v. 21, p. 347–349, 1965.

FINK, J. **Petroleum engineer's guide to oil field chemicals and fluids**. Elsevier, Waltham: MA, USA, 2012.

FOMINA, E. K., KRUL, L. P., GRINYUK, E. V. Phase state of aqueous solutions of acrylamide–sodium acrylate copolymers in the presence of copper, zinc, and manganese ions. **Rus. J. of Appl. Chem.**, v. 88, p. 1500–1504, 2015.

FOULADGAR, M. Electrocatalytic measurement of trace amount of captopril using multiwall carbon nanotubos as a sensor and ferrocene as a mediator. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 6, p. 705–716, 2011.

FU, Z., HUANG, W., LI, G., HU, Y. A chemiluminescence reagent free method for determination of captopril in medicine and urine samples by using trivalent silver. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 7, p. 252–257, 2017.

FUKAGAWA, N. K., AJAMI, A. M., YOUNG, V. R. Plasma methionine and cysteine kinetics in response to an intravenous glutathione infusion in adult humans. **Am. J. Physiol.**, v. 270, p. 209–214, 1996.

FURUKAWA, H., CORDOVA, K. E., O'KEEFFE, M., YAGHI, O. M. The Chemistry and Applications of Metal-Organic Frameworks. **Science**, v. 341, 1230444, 2013.

FURUKAWA, H., KO, N., GO, Y. B., ARATANI, N., CHOI, S. B., CHOI, E., YAZAYDIN, A. O., SNURR, R. Q., O'KEEFFE, M., KIM, J., YAGHI, O. M. Ultrahigh porosity in metal-organic frameworks. **Science**, v. 329, p. 424–428, 2010.

GHOLIVAND, M. B., KHODADADIAN, M. Simultaneous voltammetric determination of captopril and hydrochlorothiazide on a Graphene/Ferrocene composite carbon paste electrode. **Electroanalysis**, v. 25, p. 1263–1270, 2013.

GLOWACKI, R., BALD, E. Fully automated method for simultaneous determination of total cysteine, cysteinylglycine, glutathione and homocysteine in plasma by HPLC with UV absorbance detection. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 3400–3404, 2009.

GO, Y. M., JONES, D. P. Cysteine/cystine redox signalling in cardiovascular disease. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 50, p. 495–509, 2011.

GONG, K., ZHU, X., ZHAO, R., XIONG, S., MAO, L., CHEN, C. Rational attachment of synthetic triptycene orthoquinone onto carbon nanotubes for electrocatalysis and sensitive detection of thiols. **Anal. Chem.**, v. 77, p. 8158–8165, 2005.

GRIFFITH, O. W. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 27, p. 922–935, 1999.

GU, J., YIN, X., BO, X., GUO, L. High Performance Electrocatalyst Based on MIL-101(Cr)/Reduced Graphene Oxide Composite: Facile Synthesis and Electrochemical Detections. **ChemElectroChem.**, v. 5, p. 2893–2901, 2018.

GUIDELLI, R., COMPTON, R. G., FELIU, J. M., GILEADI, E., LIPKOWSKI, J., SCHMICKLER, W., TRASATTI, S. Defining the transfer coefficient in electrochemistry: An assessment (IUPAC Technical Report). **Pure Appl. Chem.**, v. 86, p. 245–258, 2014a.

GUIDELLI, R., COMPTON, R. G., FELIU, J. M., GILEADI, E., LIPKOWSKI, J., SCHMICKLER, W., TRASATTI, S. Definition of the transfer coefficient in electrochemistry (IUPAC Recommendations 2014). **Pure Appl. Chem.**, v. 86, p. 259–262, 2014b.

GUO, H., ZHENG, Z., ZHANG, Y., LIN, H., XU, Q. Highly selective detection of Pb^{2+} by nanoscale Ni-based metal-organic framework fabricated through one-pot hydrothermal reaction. **Sens. Actuators, B**, v. 248, p. 430–436, 2017.

HAGEN, T. M., WIERZBICKA, G. T., BOWMAN, B. B., AW, T. Y., JONES, D. P. Fate of dietary glutathione: Disposition in the gastrointestinal tract. **Am. J. Physiol.**, v. 259, p. 530–535, 1990.

HAN, H. Y., HE, Z. K., ZENG, Y. E. Determination of glutathione in human serum using the $\text{Ru}(\text{phen})_3^{2+}$ - KMnO_4 system. **Microchimica Acta**, v. 155, p. 431–434, 2006.

HARFIELD, J. C., BATCHELOR-MCAULEY, C., COMPTON, R. G. Electrochemical determination of glutathione: a review. **Analyst**, v. 137, p. 2285–2296, 2012.

HARTMANN, M., KUNZ, S., HIMSL, D., TANGERMANN, O. Adsorptive separation of isobutene and isobutane on $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$. **Langmuir**, v. 24, p. 8634–8642, 2008.

HAUSER, R. A., LYONS, K. E., MCCLAIN, T., CARTER, S. Randomized, double-blind, pilot evaluation of intravenous glutathione in Parkinson's disease. **Mov. Disord.**, v. 24, p. 979–983, 2009.

HE, S., ZHANG, F., CHENG, S., WANG, W. Synthesis of Sodium Acrylate and Acrylamide Copolymer/GO Hydrogels and Their Effective Adsorption for Pb^{2+} and Cd^{2+} . **ACS Sustainable Chem. Eng.**, v. 4, p. 3948–3959, 2016.

HENDON, C. H., RIETH, A. J., KORZYŃSKI, M. D., DINCĂ M. Grand Challenges and Future Opportunities for Metal–Organic Frameworks. **ACS Cent. Sci.**, v. 3, p. 554–563, 2017.

HENSTRIDGE, M. C., LABORDA, E., DICKINSON, E. J. F., COMPTON, R. G. Redox systems obeying Marcus-Hush-Chidsey electrode kinetics do not obey the Ranfles-Ševčík

equation for linear sweep voltammetry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 664, p. 73–79, 2012.

HERDERICH, M., FRANCIS, I., UGLIANO, M., SIEBERT, T., JEFFERY, D. Analysis and formation of key sulfur aroma compounds in wine. **ACS Symposium Series**, v. 1068, p. 267–286, 2011.

HIRSCHLE, P., PREISS, T., AURAS, F., PICK, A., VÖLKNER, J., VALDEPÉREZ, D., WITTE, G., PARAK, W. J., RÄDLER, J. O., WUTTKE, S. Exploration of MOF nanoparticle sizes using various physical characterization methods – is what you measure what you get? **CrystEngComm**, v. 18, p. 4359–4368, 2016.

HISSIN, P. J., HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 74, p. 214–226, 1976.

HOFFART, D. J., LOEB, S. J. Metal–organic rotaxane frameworks: three-dimensional polyrotaxanes from lanthanide-ion nodes, pyridinium N-oxide axles, and crown-ether wheels. **Angew. Chem. Int.**, v. 6, p. 901–904, 2005.

HÖNICKE, I. M., SENKOVSKA, I., BON, V., BABURIN, I. A., BÖNISCH, N., RASCHKE, S., EVANS, J. D., KASKEL, S. Balancing mechanical stability and ultrahigh porosity in crystalline framework material. **Angew. Chem. Inter. Edit.**, v. 57, p. 13780–13783, 2018.

HORMOZI-NEZHAD, M. R., SEYEDHOSSEINI, E., ROBATJAZI, H. Spectrophotometric determination of glutathione and cysteine based on aggregation of colloidal gold nanoparticles. **Scientia Iranica**, v. 19, p. 958–963, 2012.

HOSSEINI, H., AHMAR, H., DEHGHANI, A., BAGHERI, A., TADJARODI, A., FAKHARI, A. R. A novel electrochemical sensor based on metal-organic framework for electro-catalytic oxidation of L-cysteine. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 42, p. 426–429, 2013a.

HOSSEINI, H., AHMAR, H., DEHGHANI, A., BAGHERI, A., FAKARI, A. R., AMINI, M. M. Au-SH-SiO₂ nanoparticles supported on metal-organic framework (Au-SH-SiO₂@Cu-

MOF) as a sensor for electrocatalytic oxidation and determination of hydrazine. **Electrochimica Acta**, v. 88, p. 301–309, 2013b.

HU, M. Design, synthesis and applications of Metal Organic Frameworks. 2011. 80 f. Thesis – Worcester Polytechnic Institute, Worcester, EUA, 2011.

HUANG, T. Y., KUNG, C. W., LIAO, Y. T., KAO, S. Y., CHENG, M., CHANG, T. H., HENZIE, J., ALAMRI, H. R., ALOTHMAN, Z. A., YAMAUCHI, Y., HO, K. C., WU, K. C.-W. Enhanced charge collection in MOF-525-PEDOT nanotube composites enable highly sensitive biosensing. **Adv. Sci.**, v. 4, 1700261, 2017a.

HUANG, Y., CHEN, M., LI, X., ZHANG, C. Voltammetric separation and determination of glutathione and L-tyrosine with chlorogenic acid as an electrocatalytic mediator. **Electroanalysis**, v. 29, p. 1141–1146, 2017b.

INOUE, T., KIRCHHOFF, J. R. Electrochemical Detection of Thiols with a Coenzyme Pyrroloquinoline Quinone Modified Electrode. **Anal. Chem.**, v. 72, p. 5755–5760, 2000.

IMAI, K., TOYO'OKA T., WATANABE, Y. A novel fluorogenic reagent for thiols: Ammonium 7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonate. **Anal. Biochem.**, v. 128, p. 471–473, 1983.

IVANOV, A., NAZIMOV, I., BARATOVA, L., LOBAZOV, A., POPKOVICH, G. Determination of biologically active low-molecular-mass thiols in human blood. **Journal of Chromatography A**, v. 913, p. 315–318, 2001.

JAHANDARI, S., TAHER, M. A., KARIMI-MALEH, H., MANSOURI, G. Simultaneous voltammetric determination of glutathione, doxorubicin and tyrosine based on the electrocatalytic effect of a nickel(II) complex and of Pt:Co nanoparticles as a conductive mediator. **Microchimica Acta**, v. 186, p. 1–7, 2019.

JAIN, S. K. L-cysteine supplementation as an adjuvant therapy for type-2 diabetes. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 90, p. 1061–1064, 2012.

JANA, N. R., GEARHEART, L., MURPHY, C. J. Seeding Growth for Size Control of 5–40 nm Diameter Gold Nanoparticles. **Langmuir**, v. 17, p. 6782–6786, 2001.

KARAKOSTA, T. Development of fluorimetric sequential injection methods for the determination of pharmaceutically active thiols using o-phthalaldehyde and monobromobimane as derivatizing reagents. Dissertação - Aristotelian University of Thessaloniki, Grécia, 2009.

KARIMI, A. R., ROSTAMINEZHAD, B., KHODADADI, A. Effective removal of a cobalt-tetrasulfonated phthalocyanine dye from an aqueous solution with a novel modified chitosan-based superabsorbent hydrogel. **J. Appl. Polym. Sci.**, v. 135, p. 1–10, 2018.

KARIMIAN, N., FAKHRI, H., AMIDI, S., HAJIAN, A., ARDUINI, F., BAGHERI, H. (2019). A novel sensing layer based on metal-organic framework UiO-66 modified with TiO₂-graphene oxide: application to rapid, sensitive and simultaneous determination of paraoxon and chlorpyrifos. **New Journal of Chemistry**, v. 43, p. 2600–2609, 2019.

KARLICEK, R. SOLICH, P. Flow-injection spectrophotometric determination of captopril using online solid phase extraction. **Pharmazie**, v. 53, p. 549-551, 1998.

KAWAHARA, Y., HISAOKA, M., YAMAZAKI, Y., INAGE, A., MORIOKA, T. Determination of captopril in blood and urine by high performance liquid chromatography. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 29, p. 150–157, 1981.

KEYVANFARD, M., JALILIAN, Z., ALIZAD. K. Voltammetric determination of glutathione in pharmaceutical and biological samples using multiwall carbon nanotubes paste electrode in the presence of rutin as a mediator. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, 2016.

KHALILZADEH, M. A., KARIMI-MALEH, H., GUPTA, V. K. A Nanostructure Based Electrochemical Sensor for Square Wave Voltammetric Determination of L-Cysteine in the Presence of High Concentration of Folic Acid. **Electroanalysis**, v. 27, p. 1766–1773, 2015.

KHAN, N. A., JHUNG, S. H. Synthesis of metal-organic frameworks (MOFs) with microwave or ultrasound: Rapid reaction, phase-selectivity, and size reduction. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 285, p. 11–23, 2015.

KINOSHITA, K. **Carbon, electrochemical and physical properties**, John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, 1988.

KISSINGER, P. T., HEINEMAN, W. R. (Eds). **Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry**, 2nd Ed., Marcel Dekker, New York, 1996.

KITAGAWA, S., KITAURA, R., NORO, S. I. Functional porous coordination polymers. **Angew. Chem. Int.**, v. 18, p. 2334–2375, 2004.

KOROLKOVAS, A. **Essentials of Medicinal Chemistry**, Wiley, 1988.

KOUNAVES, S. P. Voltammetric Techniques. In: SETTLE, F. A. (Ed.). **Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry**. Arlington: Prentice Hall PTR, Upper Saddle River, NJ, p. 709–725, 1997.

KRENO, L. E., LEONG, K., FARHA, O. K., ALLENDORF, M., VAN DUYN R. P., HUPP, J. T. Metal–Organic Framework Materials as Chemical Sensors. **Chem. Rev.**, v. 112, p. 1105–1125, 2012.

KUMAR, P., DEEP, A., KIM, K. H. Metal organic frameworks for sensing applications. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 73, p. 39–53, 2015.

KUWATA, K., UEBORI, M., YAMADA, K., YAMAZAKI, Y. Liquid chromatographic determination of alkylthiols via derivatization with 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). **Analytical Chemistry**, v. 54, p. 1082–1087, 1982.

KWON, Y. H., STIPANUK, M. H. Cysteine regulates expression of cysteine dioxygenase and gamma-glutamylcysteine synthetase in cultured rat hepatocytes. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 280, p. 804–815, 2001.

LAWRENCE, N. S., DAVIS, J., COMPTON, R. G. Electrochemical detection of thiols in biological media, **Talanta**, v. 53, p. 1089–1094, 2001.

LEE, P. T., COMPTON, R. G. Electrochemical detection of NADH, cysteine, or glutathione using a caffeic acid modified glassy carbon electrode. **Electroanalysis**, v. 25, p. 1613–1620, 2013.

LEE, J. Y., FARHA, O. K., ROBERTS, J., SCHEIDT, K. A., NGUYEN, S. T., HUPP, J. T. Metal-organic framework materials as catalysts. **Chem. Soc. Rev.**, v. 38, p. 1450–1459, 2009.

LEE, P. T., THOMSON, J. E., KARINA, A., SALTER, C., JOHNSTON, C., DAVIES, S. G., COMPTON, R. G. Selective electrochemical determination of cysteine with a cyclotricatechylene modified carbon electrode. **Analyst**, v. 140, p. 236–242, 2015.

LEE, P. T., WARD, K. R., TSCHULIK, K., CHAPMAN, G., COMPTON, R. G. Electrochemical detection of glutathione using a poly(caffeic acid) nanocarbon composite modified electrode. **Electroanalysis**, v. 26, p. 366–373, 2014.

LEE, P. Y., JÉRÔME, F. L. D., HERMAN, P. V. L. Electrokinetics of diffuse soft interfaces. III. Interpretation of data on the polyacrylamide/water interface. **Langmuir**, v. 21, p. 6220–6227, 2005.

LEOPOLD, J. A., LOSCALZO, J. Oxidative enzymopathies and vascular disease. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 25, p. 1332–1340, 2005.

LI, J., XIA, J., ZHANG, F., WANG, Z., LIU, Q. A Novel Electrochemical Sensor Based on Copper-based Metal-Organic Framework for the Determination of Dopamine, *Talanta*, v. 181, p. 80–86, 2018a.

LI, J., XIA, J., ZHANG, F., WANG, Z., LIU, Q. An electrochemical sensor based on copper-based metal-organic frameworks-graphene composites for determination of dihydroxybenzene isomers in water., *J. Chin. Chem. Soc.*, v. 65, p. 743–749, 2018b.

LI, K., TAN, L., ZHOU, J. A. HPLC determination of captopril in human plasma and its pharmacokinetic study. **Biomed. Chromatogr.**, v. 10, p. 237–239, 1996.

LI, Y., LI, X., GUAN, Q., ZHANG, C., XU, T., DONG, Y., BAI, X., ZHANG, W. Strategy for chemotherapeutic delivery using a nanosized porous metal-organic framework with a central composite design. **Int. J. Nanomedicine**, v. 12, p. 1465–1474, 2017.

LI, H., EDDAOUDI, M., GROU, T. L., YAGHI, O. M. Establishing microporosity in open metal-organic frameworks: gas sorption isotherms for Zn(BDC) (BDC = 1,4-benzenedicarboxylate). **J. Am. Chem. Soc.**, v. 120, p. 8571–8572, 1998.

LI, H., EDDAOUDI, M., O'KEEFFE, M., YAGHI, O. M. Design and synthesis of an exceptionally stable and highly porous metal-organic framework. **Nature**, v. 402, p. 276–279 1999.

LIMA, M. J. A., FERNANDES, R. N., TANAKA, A. A., REIS, B. F. Development of a new procedure for determination of captopril in pharmaceutical formulations employing chemiluminescence and a multicommuted flow analysis approach. **Luminescence**, v. 31, p. 288–294, 2016.

LINDERBORG, K., MARVOLA, T., MARVOLA, M., SALASPURO, M.; FARKKILA, M., VAKEYAINEN, S. Reducing carcinogenic acetaldehyde exposure in the achlorhydric stomach with cysteine. **Alcohol. Clin. Exp. Res.**, v. 35, p. 516–522, 2011.

LIU, H., WANG, H., SHENVI, S., HAGEN, T. M., LIU, R. M. Glutathione metabolism during aging and in Alzheimer disease. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1019, p. 346–349, 2004.

LIU, J., LU, Y. A colorimetric lead biosensor using DNAzyme- directed assembly of gold nanoparticles. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, p. 6642–6643, 2003.

LIU, L. P., YIN, Z. J., YANG, Z. S. A L-cysteine sensor based on Pt nanoparticles/Poly(o-aminophenol) film on glassy carbon electrode. **Bioelectrochemistry**, v. 79, p. 84–89, 2010.

LIU, S., YAN, J., HE, G., ZHONG, D., CHEN, J., SHI, L., ZHOU, X., JIANG, H. Layer-by-layer assembled multilayer films of reduced graphene oxide/gold nanoparticles for the electrochemical detection of dopamine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 672, p. 40–44, 2012a.

LIU, X., LY, H., SUN, Q., ZHONG, Y., ZHAO, J., FU, J., LIN, M., WANG, J. Differential pulse voltammetric determination of L-cysteine after cyclic voltammetry in presence of catechol with glassy carbon electrode. **Analytical Letters**, v. 15, p. 2246–2256, 2012b.

LOVRIC, M. Stripping Voltammetry. In: SCHOLZ, F. (Ed.). *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications*. Berlin: Springer, p 191–210, 2005.

LU, S. C. Glutathione synthesis. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1830, p. 3143–3153, 2013.

LUSTIG, W. P., MUKHERJEE, S., RUDD, N. D., DESAI, A. V., LI, J., GHOSH, S. K. Metal–organic frameworks: functional luminescent and photonic materials for sensing applications. **Chemical Society Reviews**, v. 46, p. 3242–3285, 2017.

LUZ, R. C. S., DAMOS, F. S., GANDRA, P. G., MACEDO, D. V., TANAKA, A. A., KUBOTA, L. T. Electrocatalytic determination of reduced glutathione in human erythrocytes. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 387, p. 1891–1897, 2007.

MAJANO, G., PÉREZ-RAMIREZ, J. Room Temperature Synthesis and Size Control of HKUST-1. **Helvetica Chimica Acta**, v. 95, p. 2278–2286, 2012.

MAO, L., YAMAMOTO, K. Amperometric biosensor for glutathione based on osmiumpolyvinylpyridine gel polymer and glutathione sulfhydryl oxidase. **Electroanalysis**, v. 12, p. 577–582, 2000.

MARTIN-CALVO, A., GARCIA-PEREZ, E., GARCIA-SANCHEZ, A., BUENO-PEREZ, R., HAMAD, S., CALERO, S. Effect of air humidity on the removal of carbon tetrachloride from air using Cu–BTC metal–organic framework, **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, p. 11165–11174, 2011.

MASAWAT, P., SLATER, J. M. The determination of tetracycline residues in food using a disposable screen-printed gold electrodes (SPGE). **Sensors and Actuators B**, v. 124, p. 127–132, 2007.

MATH, C., DUNGCHAI, W., THANASUPSIN, S. P. Metallic Film Modified Screen-Printed Carbon Electrode for Determination of 17 α -Methyltestosterone. **Key Engineering Materials**, v. 824, p. 182–189, 2019.

MAZLOUM-ARDAKANI, M., SHEIKH-MOHSANI, M. A., MIRJALILI, B. F., ZAMANI, L. Simultaneous determination of captopril, acetaminophen and tryptophan at a modified electrode based on carbon nanotubes. **J. Electroanal. Chem.**, v. 686, p. 12–18, 2012.

MCBEAN, G. J. Cysteine, glutathione, and thiol redox balance in astrocytes. **Antioxidants**, v. 6, 62, p. 1–13, 2017.

MCCREERY, R. L. **Electroanalytical Chemistry**. Marcel Dekker Inc, v. 17, p. 259, 1991.

MCHUGH, L. N., MCPHERSON, M. J., MCCORMICK, L. J., MORRIS, S. A., WHEATLEY, P. S., TEAT, S. J., MCKAY, D., DAWSON, D. M., SANSOME, C. E. F., ASHBROOK, S. E., STONE, C. A., SMITH, M. W., MORRIS, R. E. Hydrolytic stability in hemilabile metal-organic frameworks. **Nat. Chem.**, v. 10, p. 1096–1102, 2018.

MEDURI, A., GRENGA, P.L.; SCOROLLI, L.; CERUTI, P.; FERRERI, G. Role of cysteine in corneal wound healing after photorefractive keratectomy. **Ophthalmic. Res.**, v. 41, p. 76–82, 2009.

MEISTER, A., ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 52, p. 711–760, 1983.

MOIDOVEANU, S. C., DAVID, V. Sample preparation in chromatography. **Journal of Chromatography Library**, v. 65, p. 1–930, 2002.

MOLINA, Á., GONZÁLEZ, J. **Pulse voltammetry in physical electrochemistry and electroanalysis**. Monographs in electrochemistry, Springer, 2016.

MOORE, R. E. Bis-(3-oxoundecyl) polysulphides in dictyopteris. **Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications**, v. 19, p. 1168b–1169, 1971.

MOSES, P. R., WIER, L., MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Anal. Chem.**, v. 47, p. 1882–1886, 1975.

MURRAY, L. J., DINCĂ M., LONG, J. R. Hydrogen storage in metal-organic frameworks. **Chem. Soc. Rev.**, v. 38, p. 1294–1314, 2009.

NDAMANISHA, J. C., BAI, J., QI, B., GUO, L. Application of electrochemical properties of ordered mesoporous carbon to the determination of glutathione and cysteine. **Anal. Biochem.**, v. 386, p. 79–84, 2009.

NEKRASSOVA, O., WHITE, P. C., THRELFELL, S., HIGNETT, G., WAIN, A. J., LAWRENCE, N. S., DAVIS, J., COMPTON, R. G. An electrochemical adaptation of Ellman's test. **Analyst**, v. 127, p. 797–802, 2002.

NELSON, J. W., CREIGHTON, T. E. Reactivity and ionization of the active site cysteine residues of DsbA, a protein required for disulfide bond formation in vivo. **Biochemistry**, v. 33, p. 5974–5983, 1994.

NIGOVIC, B., SIMUNIC, B. Voltammetric assay of azithromycin in pharmaceutical dosage forms. **J Pharm Biomed Anal.**, v. 32, p. 197–202, 2003.

NOCTOR, G., ARISI, A. C. M., JOUANIN, L., KUNERT, K. J., RENNENBERG, H., FOYER, C. H. Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants, **J. Exp. Bot.**, v. 49, p. 623–647, 1998.

ONOHAMA, K., HIRAKATA, H., ISEKI, K., FUJIMI, S. OMAE, T. KOBAYASHI, M., KAWAHARA, Y. Blood concentration and urinary excretion of captopril (SQ 14,255) in patients with chronic renal failure. **Hypertension**, v. 3, p. 456–459, 1981.

OPPENHEIMER, M., DALGARNO, A. Chemistry of sulfur in interstellar clouds. **Astrophys. J.**, v. 187, p. 231–236, 1974.

OROZCO-GUAREÑO, E., SANTIAGO-GUTIÉRREZ, F., MORÁN-QUIROZ, J. L., HERNANDEZ-OLMOS, S. L., SOTO, V., CRUZ, W. DE LA, MANRÍQUEZ, R., GOMEZ-

SALAZAR, S. Removal of Cu(II) ions from aqueous streams using poly(acrylic acid-co-acrylamide) hydrogels. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 349, p. 583–593, 2010.

PALAHARN, S., CHAROENRAKS, T., WANGFUENGGANAGUL, N., GRUDPAN, K., CHAILAPAKUL, O. Flow injection analysis of tetracycline in pharmaceutical formulation with pulsed amperometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 499, p. 191–197, 2003.

PARHAM, H., ZARGAR, B. Square Wave Voltammetric (SWV) Determination of Captopril in Reconstituted Serum and Pharmaceutical Formulations, **Talanta**, v. 65, p. 776–780, 2005.

PAZ, F. A. A., KLINOWSKI, J., VILELA, S. M. F., TOMÉ, J. P. C., CAVALEIRO, J. A. S., ROCHA, J. Ligand design for functional metal–organic frameworks. **Chem. Soc. Rev.**, v. 41, p. 1088–1110, 2012.

PENG, D., HU, B., KANG, M., WANG, M., HE, L., ZHANG, Z., FANG, S. Electrochemical sensors based on gold nanoparticles modified with rhodamine B hydrazide to sensitively detect Cu(II). **Applied Surface Science**, v. 390, p. 422–429, 2016.

PENICILAMINA. Bula do medicamento CUPRIMINE®. Disponível em: <http://www.saudeireta.com.br/catinc/drugs/bulas/cuprimine.pdf>, Acesso em: 10 de abril de 2020.

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

PÉREZ-RUIZ, T., MARTÍNEZ-LOZANO, C., TOMÁS, V., LAMBERTOS, G. Flow-injection successive determination of cysteine and cystine in pharmaceutical preparations. **Talanta**, v. 38, p. 1235–1239, 1991.

PÉREZ-RUIZ, T., MARTÍNEZ-LOZANO, C., TOMÁS, V., MARTÍN, J. Flow injection chemiluminescent method for the successive determination of L-cysteine and L-cystine using photogenerated tris(2,2'-bipyridyl) ruthenium (III). **Talanta**, v. 58, p. 987–994, 2002.

PETERSON, J. D., HERZENBERG, L. A., VASQUEZ, K., WALTENBAUGH, C. Glutathione levels in antigen-presenting cells modulate Th1 versus Th2 response patterns. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 95, p. 3071–3076, 1998.

PETRI, H., PIERCHALLA, P., TRONNIER, H. The efficacy of drug therapy in structural lesions of the hair and in diffuse effluvium—comparative double blind study. **Schweiz. Rundsch. Med. Prax.**, v. 79, p. 1457–1462, 1990.

PICHICHERO, M. E. Cephalosporins can be prescribed safely for penicillin-allergic patients. **The Journal of Family Practice**, v. 55, p. 106–112, 2006.

PICHON, A., JAMES, S. L. An array-based study of reactivity under solvent-free mechanochemical conditions—insights and trends. **CrystEngComm**, v. 10, p. 1839–1847, 2008.

PIZZORNO, J. Glutathione! **Integrative Medicine**, v. 13, p. 8–12, 2014.

PLAZA, N. C., GARCÍA-GALBIS, M. R., MARTÍNEZ-ESPINOSA, R. M. Effects of the usage of L-cysteine (L-Cys) on human health. **Molecules**, v. 23, p. 575–587, 2018.

PONNUSAMY, V. K., MANI, V., CHEN, S.-M., HUANG, W.-T., & JEN, J.-F. Rapid microwave assisted synthesis of graphene nanosheets/polyethyleneimine/gold nanoparticle composite and its application to the selective electrochemical determination of dopamine. **Talanta**, v. 120, p. 148–157, 2014.

POSEY, R. S., ANDREWS, R. W. Stripping voltammetry of tellurium(IV) in 0.1 M perchloric acid at rotating gold disk electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 119, p. 55–66, 1980.

POURJAVADI, A., SOLEYMAN, R., BARDAJEE, G. R., GHAVAMI, S. Novel superabsorbent hydrogel based on natural hybrid backbone: optimized synthesis and its swelling behavior. **Bull. Kor. Chem. Soc.**, v. 30, p. 2680–2686, 2009.

POURNARA, A. D., TARLAS, G. D., PAPAEFSTATHIOU, G. S., MANOS, M. J. Chemically modified electrodes with MOFs for the determination of inorganic and organic analytes via voltammetric techniques: a critical review. **Inorg. Chem. Front.**, v. 6, p. 3440–3445, 2019.

PRESCOTT, L. F.; CRITCHLEY, J. A. The treatment of acetaminophen poisoning. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 23, p. 87–191, 1983.

PROUSKY, J. The treatment of pulmonary diseases and respiratory-related conditions with inhaled (nebulized or aerosolized) glutathione. **Evid Based Complement Altern Med.**, v. 5, p. 27–35, 2008.

PUBCHEM. Captopril. U. S. National Library of Medicine. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44093>, Acesso em 11 de abril de 2020a.

PUBCHEM. Cysteine. U. S. National Library of Medicine. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5862>, Acesso em 13 de abril de 2020b.

PUBCHEM. Glutathione. U. S. National Library of Medicine. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/124886>, Acesso em 13 de abril de 2020b.

QIU, L. G., XIE, A. J., ZHANG, L. D. Encapsulation of catalysts in supramolecular porous frameworks: Size- and shape-selective catalytic oxidation of phenols. **Adv. Mater.**, v. 17, p. 689–692, 2005.

RADI, A., BEKHIET, G., WAHDAN, T. Electrochemical Study of Zolpidem at Glassy Carbon Electrode and Its Determination in a Tablet Dosage Form by Differential Pulse Voltammetry. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, p. 1063–1065, 2004.

RADI, A., EL RIES, M. A., KANDIL, S. Electrochemical study of the interaction of levofloxacin with DNA. **Analytica Chimica Acta**, v. 495, p. 61–67, 2003.

RAGGI, M. A., NOBILE, L., GIOVANNINI, A. G. Spectrophotometric determination of glutathione and of its oxidation product in pharmaceutical dosage forms. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 9, p. 1037–1040, 1991.

RAGGI, M. A., MANDRIOLI, R., BUGAMELLI, F., SABBIONI, C. Comparison of analytical methods for quality control of pharmaceutical formulations containing glutathione. **Chromatographia**, v. 46, p. 17–22, 1997.

RAHMAN, I. Regulation of glutathione in inflammation and chronic lung diseases. **Mutat. Res.**, v. 579, p. 58–80, 2005.

RAOOF, J. B., OJANI, R., BAGHAYERI, M. Sensitive voltammetric determination of captopril using a carbon paste electrode modified with Nano-TiO₂/Ferrocene carboxylic acid. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 32, p. 1685–1692, 2011.

REID, M., JAHOR, F. Methods for Measuring Glutathione Concentration and Rate of Synthesis. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.**, v. 3, p. 385–390, 2000.

RELLÁN-ÁLVAREZ, R., HERNÁNDEZ, L. E., ABADÍA, J., ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ. Direct and simultaneous determination of reduced and oxidized glutathione and homoglutathione by liquid chromatography-electrospray/mass spectrometry in plant tissue extracts. **Analytical Biochemistry**, v. 356, p. 254–264, 2006.

RICHARDSON, T. J., SLACK, J. L., RUBIN, M. D. Electrochromism in copper oxide thin films. **Electrochimica Acta**, v. 46, p. 2281–2284, 2001.

ROSE, J. B. Preparation and properties of poly(arylene ether sulphones). **Polymer**, v. 15, p. 456–465, 1974.

SADAKIYO, M., YAMADA, T., KITAGAWA, H. Rational designs for highly proton-conductive metal organic frameworks. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 131, p. 9906–9907, 2009.

SADECK, L. S., FERNANDES, M., SILVA, S. M., TRINDADE, A. A., CHIA, C. Y., RAMOS, J. L., LEONE, C. R. Captopril use in pregnancy and its effects on the fetus and the newborn: case report. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Sao Paulo**, v. 52, p. 328–332, 1997.

SALIMI, A., HALLAI, R. Catalytic oxidation of thiols at preheated glassy carbon electrode modified with abrasive immobilization of multiwall carbon nanotubes: applications to amperometric detection of thiocytosine, l-cysteine and glutathione. **Talanta**, v. 66, p. 967–975, 2005.

SAMIEC, P. S., DREWS-BOTSCH, C., FLAGG, E. W., KURTZ, J. C., STERNBERG JÚNIOR, P., REED, R. L., JONES, D. P. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 24, p. 699–704, 1998.

SCHIRMER, R. E. **Modern Methods of Pharmaceutical Analysis**. CRC press: Florida, v. 2, 1982.

SCHLICHTE K., KRATZKE, T., KASKEL, S. Improved synthesis, thermal stability and catalytic properties of the metal-organic framework compound $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 73, p. 81–88, 2004.

SCHOLZ, F. (Ed.). **Electroanalytical methods: Guide to experiments and applications**. Springer, 2nd Ed, 2010.

SEN, C. K., PACKER, L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 72, p. 653–665, 2000.

SHAHROKHIAN, S., KARIMI, M., KHAJEHSHARIFI, H. Carbon-paste electrode modified with cobalt-5-nitrosalophen as a sensitive voltammetric sensor for detection of captopril. **Sensor. Actuat. B Chem.**, v. 109, p. 278–284, 2005.

SHAIKH, A. A., FIRDAWS, J., BADRUNESSA, S., SERAJEE, S., RAHMAN, M. S., BAKSHI, P. K. Electrochemical studies of the pH dependence of Cu(II) reduction in aqueous Britton-Robinson Buffer Solution. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 6, p. 2333–2343, 2011.

SHANKARAN, D. R., NARAYANAN, S. S. Amperometric sensor for thiols based on mechanically immobilized nickel hexacyanoferrate modified electrode. **Bull. Electrochem.**, v. 17, p. 277–280, 2001.

SHETTI, N. P., MALODE, S. J., NANDIBEWOR, S. T. Electro-oxidation of captopril at a gold electrode and its determination in pharmaceuticals and human fluids. **Anal. Methods**, v. 7, p. 8673–8682, 2015.

SHI, K., HU, K., WANG, S., LAN, C. Y., SHIN, K. K. Structural studies of electrochemically activated glassy carbon electrode: Effects of chloride anion on the redox responses of copper deposition. **Electrochimica Acta**, v. 52, p. 5907–5913, 2007.

SHI, Y., PENG, J., MENG, X., HUANG, T., ZHANG, J., HE, H. (2018). Turn-on fluorescent detection of captopril in urine samples based on hydrophilic hydroxypropyl β -cyclodextrin polymer. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, p. 1–12, 2018.

SHIMIZU, K., SEPURANU, L., COMPTON, R. G. Innovative catalyst design for the oxygen reduction reaction for fuel cells. **Chem. Sci.**, v. 7, p. 3364–3369, 2016.

SHRIVASTAVA, A. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, p. 21–25, 2011.

SIANGPROH, W., NAGMUKOT, P., CHALAPAKUL, O. Electrochemical Determination of Captopril at Boron-Doped Diamond Thin Film Electrode Applied to a Flow Injection System. **Sens. Actuators, B**, v. 91, p. 60–66, 2003.

SINGHVI, S. M., MCKINSTRY, D. N., SHAW, J. M., WILLARD, D. A., MIGDALOF, B. H. Effect of food on the bioavailability of captopril in healthy subjects. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 22, p. 135–140, 1982.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 999 p, 2009.

SMITH, C. V., JONES, D. P., GUENTHNER, T. M., LASH, L. H., LAUTERBURG, B. H. Compartmentation of glutathione: implications for the study of toxicity and disease. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 140, p. 1–12, 1996.

SOFI, F. A., BHAT, M. A., MAJID, K. (2019). Cu²⁺-BTC based metal–organic framework: a redox accessible and redox stable MOF for selective and sensitive electrochemical sensing of acetaminophen and dopamine. **New Journal of Chemistry**, v. 43, p. 3119–3127, 2019.

SOLTANI, H., BEITOLLAHI, H., HATEFI-MEHRJARDI, A., TAJIK, S. TORKZADEH-MAHANI, M. Voltammetric determination of glutathione using a modified single walled carbon nanotubes paste electrode. **Analytical and Bioanalytical Electrochemistry**. v. 6, p. 67–79, 2014.

SONG, F. Y., SHIU, K. K. Preconcentration and electroanalysis of silver species at polypyrrole film modified glassy carbon electrodes. **Electroanal. Chem.**, v. 498, p. 161–170, 2001.

STIPANUK, M. H. Metabolism of sulfur-containing amino acids. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 6, p. 179–209, 1986.

STIPANUK, M. H., COLOSO, R. M., GARCIA, R.A., BANKS, M. F. Cysteine concentration regulates cysteine metabolism to glutathione, sulfate and taurine in rat hepatocytes. **J. Nutr.**, v. 122, p. 420–427, 1992

STIPANUK, M. H., DOMINY Jr., J. E., LEE, J. I., COLOSO, R. M. Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism. **J. Nutr.**, v. 136, p. 1652–1659, 2006.

STIPANUK, M. H., LONDONO, M., LEE, J. I., HU, M., YU, A. F. Enzymes and metabolites of cysteine metabolism in nonhepatic tissues of rats show little response to changes in dietary protein or sulfur amino acid levels. **J. Nutr.**, v. 132, p. 3369–3378, 2002.

STOCK, N., BISWAS, S. Synthesis of metal-organic frameworks (MOFs): Routes to various MOF topologies, morphologies, and composites. **Chem. Rev.**, v. 112, p. 933–969, 2012.

STOKER, H. S. **General, Organic, and Biological Chemistry**. 6th Ed. Cengage Learning: Boston, MA, USA, 2012.

STRADIOTTO, N. R., YAMANAKA, H., ZANONI, M. V. B. Electrochemical sensors: A powerful tool in analytical chemistry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, p. 159–173, 2003.

SUN, X. J., Z.; WANG, H.; ZHAO, H. Highly sensitive detection of peptide hormone prolactin using gold nanoparticles-graphene nanocomposite modified electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 10, p. 9714–9724, 2015.

SUTARIYA, V., WEHRUNG, D., GELDENHUYS, W. J. Development and validation of a novel RP-HPLC method for the analysis of reduced glutathione. **J. Chromatogr. Sci.**, v. 50, p. 271–276, 2012.

SWANSTON, J. **Thiophene**. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Weinheim: Willey-VCH, 2006.

SYPNIEWSKI, S., BALD, E. Determination of captopril and its disulphides in whole human blood and urine by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection and precolumn derivatization. **J. Chromatogr. A**, v. 729, p. 335–340, 1996.

TAYLOR-PASHOW, K. M. L., ROCCA, J. D., XIE, Z. G.; TRAN, S., LIN, W. B. Postsynthetic modifications of iron-carboxylate nanoscale metal-organic frameworks for imaging and drug delivery. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 131, p. 14261–14263, 2009.

TRANCHEMONTAGNE, D. J., MENDOZA-CORTÉS, J. L., O'KEEFFE, M., YAGHI, O. M. Secondary building units, nets and bonding in the chemistry of metal-organic frameworks. **Chem. Soc. Rev.**, v. 38, p. 1257–1283, 2009.

TRUSCELLI, G., TANZILLI, G., VICECONTE, N., DOMINICI, M., ARRIVI, A., SOMMARIVA, L., GRANATELLI, A., GAUDIO, C., MANGIERI, E. Glutathione sodium salt as a novel adjunctive treatment for acute myocardial infarction. **Medical Hypotheses**, v. 102, p. 48–50, 2017.

TSIOMLEKTSIS, A. Alkyl-esters of propiolic acid as derivatizing reagents for thiols: study of the reactions under flow conditions and development of sequential injection methods for the determination of pharmaceutically active thiols. Dissertação, Aristotelian University of Thessaloniki, Grécia, 2010.

TURKEVICH, J., STEVENSON, P. C., HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions Faraday Society**, v. 11, p. 55–75, 1951.

TURUNC, E. KARADENIZ, H., ARMAGAN, G., ERDEM, A., YALCIN, A. Electrochemical Determination of Glutathione in Plasma at Carbon Nanotubes Based Screen Printed Electrodes. **Comb. Chem. & High Thr. Scr.**, v. 16, p. 695–701, 2013.

TZANAVARAS, P. D. Automated determination of pharmaceutically and biologically active thiols by sequential injection analysis: a review. **The Open Chemical and Biomedical Methods Journal**, v. 3, p. 37–45, 2010.

USLU, B., OZKAN, S. A. Solid electrodes in electroanalytical chemistry: present applications and prospects for high throughput screening of drug compounds. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 10, p. 495–513, 2007.

VICKERY, H. B. The History of the Discovery of the Amino Acids II. A Review of Amino Acids Described Since 1931 as Components of Native Proteins. **Advances in Protein Chemistry**, v. 26, p. 81–171, 1972.

VICKERY, H. B., SCHMIDT, C. L. A. The History of the Discovery of the Amino Acids. **Chemical Reviews**, v. 9, p. 169–318, 1931.

VITORETI, A. B. F., ABRAHÃO, O., GOMES, R. A. S., SALAZAR-BANDA, G. R., OLIVEIRA, R. T. S. Electroanalytical determination of captopril in pharmaceutical formulations using boron-doped diamond electrodes. **Int. J. Electrochem. Sci**, v. 9, p. 1044–1054, 2014.

WANG, H., HU, Q., MENG, Y., JIN, Z., FANG, Z., FU, Q., GAO, W., XU, L., SONG, Y., LU, F. Efficient detection of hazardous catechol and hydroquinone with MOF-rGO modified carbon paste electrode. **J. Hazard. Mater.**, v. 353, p. 151–157, 2018a.

WANG, J. **Analytical electrochemistry**. 3rd Ed. Hoboken: Wiley-VCH, Nova Jersey, EUA, 2006.

WANG, J. **Electroanalytical techniques in clinical chemistry and laboratory medicine**. Hoboken: Wiley-Blackwell, Nova Jersey, EUA, 1988.

WANG, Y., CAO, W., WANG, L., ZHUANG, Q., NI, Y. Electrochemical determination of 2,4,6-trinitrophenol using a hybrid film composed of a copper-based metal organic framework and electroreduced graphene oxide. **Microchimica Acta**, v. 185, 315, 2018b.

WANG, Y., DU, K., CHEN, Y., LI, Y., HE, X. Electrochemical determination of lead based on metal-organic framework MIL-101(Cr) by differential pulse anodic stripping voltammetry. **Anal. Methods**, v. 8, p. 3263–3269, 2016a.

WANG, Y., WANG, L., CHEN, H., HU, X., MA, S. Fabrication of Highly Sensitive and Stable Hydroxylamine Electrochemical Sensor Based on Gold Nanoparticles and Metal–Metalloporphyrin Framework Modified Electrode. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 8, p. 18173–18181, 2016b.

WANG, Y., GE, H., WU, Y, YE, G., CHEN, H., HU, X, Construction of an electrochemical sensor based on amino-functionalized metal-organic frameworks for differential pulse anodic stripping voltammetric determination of lead, **Talanta**, v. 129, p. 100–105, 2014.

WLODEK, L. Beneficial and harmful effects of thiols. **Pol. J. Pharmacol.**, v. 54, p. 215–223, 2002.

WU, G. **Amino Acids: Biochemistry and Nutrition**, CRC Press, New York, EUA, 2013.

WU, G., FANG, Y. Z., YANG, S., LUPTON, J. R. TURNER, N. D. Glutathione metabolism and its implications for health. **J. Nutr.**, v. 134, p. 489–492, 2004.

XUE, Y., LI, X., LI, H., ZHANG, W. Quantifying thiol-gold interactions towards the efficient strength control. **Nature Communications**, v. 5, p. 1–9, 2014.

YAGHI, O. M., O'KEEFFE, M., OCKWIG, N. W., CHAE, H. K., EDDAOUDI, M., KIM, J. Reticular synthesis and the design of new materials. **Nature**, v. 423, p. 705–714, 2003.

YOON, M., SUH, K., NATARAJAN, S., KIM, K. Proton conduction in metal-organic frameworks and related modularly built porous solids. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 52, p. 2688–2700, 2013.

ZARE, H. R., JAHANGIRI-DEHAGHANI, F., SHEKARI, Z., BENVIDI, A. Electrocatalytic simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid and l-Cysteine in real samples using quercetin silver nanoparticles–graphene nanosheets modified glassy carbon electrode. **Applied Surface Science**, v. 375, p. 169–178, 2016.

ZARGAR, B., PARHAM, H., HATAMIE, A. Electrochemical investigation and stripping voltammetric determination of captopril at CuO nanoparticles/multi-wall carbon nanotube nanocomposite electrode in tablet and urine samples. **Anal. Methods**, v. 7, p. 1026–1035, 2015.

ZEYNALI, M. E., RABBII, A. Alkaline hydrolysis of Polyacrylamide and study on Poly(acrylamide-co-sodium acrylate) properties. **Iranian Polymer Journal**, v. 11, p. 269–275, 2002.

ZHANG, W., ZONG, L., GENG, G., LI, Y., ZHANG, Y. Enhancing determination of quercetin in honey samples through electrochemical sensors based on highly porous polypyrrole coupled with nanohybrid modified GCE. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 257, p. 1099–1109, 2018.

ZHANG, Z. D., BAEYENS, W. R. G., ZHANG, X. R., VAN DER WEKEN, G. Chemiluminescence flow-injection analysis of captopril applying a sensitized rhodamine 6G method. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 14, p. 939–945, 1996.

ZHAO, P., LI, N., ASTRUC, D. State of the art in gold nanoparticle synthesis. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 257, p. 638–665, 2013.

ZHENG, X., DUAN, C., SHEN, J., DUAN, X. Determination of reduced glutathione by spectrophotometry coupled with anti-interference compensation. **Analytical Methods**, v. 7, p. 5006–5011, 2015.

ZHOU, J., LI, X., YANG, L., YAN, S., WANG, M., CHENG, D., CHEN, Q., DONG, Y., LIU, P., CAI, W., ZHANG, C. The Cu-MOF-199/single-walled carbon nanotubes modified electrode for simultaneous determination of hydroquinone and catechol with extended linear ranges and lower detection limits. **Analytica Chimica Acta**, v. 899, p. 57–65, 2015.

ZHOU, M., DING, J., GUO, L., SHANG, Q. Electrochemical behavior of L-cysteine and its detection at ordered mesoporous carbon-modified glassy carbon electrode. **Analytical Chemistry**, v. 79, p. 5328–5335, 2007.

ZHU, L., LI, X., ZHU, G. Electrochemiluminescent determination of L-cysteine with a flow-injection analysis system. **Anal. Sci.**, v. 19, p. 575–578, 2003.

ZIREHPOUR, A., RAHIMPOUR, A., SHAMSABADI, A. A., SHARIFIAN GH., M., SOROUSH, M. Mitigation of Thin-Film Composite Membrane Biofouling via Immobilizing Nano-Sized Biocidal Reservoirs in the Membrane Active Layer. **Environmental Science & Technology**, v. 51, p. 5511–5522, 2017.

ZIYATDINOVA, G., KOZLOVA, E., BUDNIKOV, H. Selective electrochemical sensor based on the electropolymerized p-coumaric acid for the direct determination of l-cysteine. **Electrochimica Acta**, v. 270, p. 369–377, 2018.

ANEXO A – IMAGENS DE MICROSCOPIA E ANÁLISES

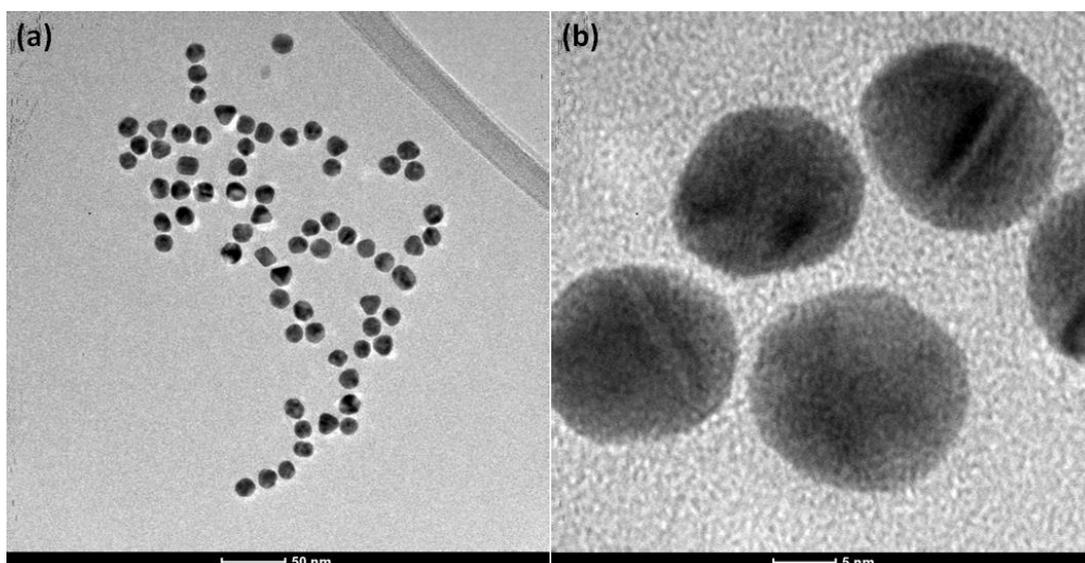


Figura A1. Imagens de microscopia de transmissão de nanopartículas de Au estabilizadas por PVP.

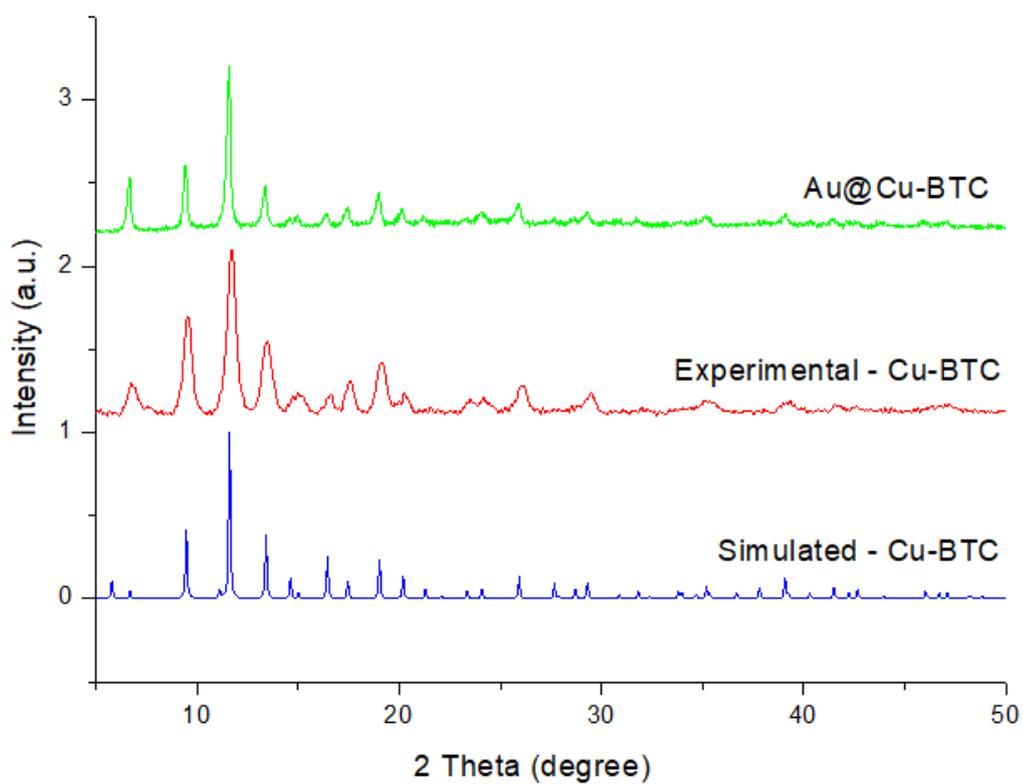


Figura A2. Padrão de difração de raios-X em pó de nanocompósitos de Au@Cu-BTC, nanopartículas de Cu-BTC e simulação de cristais de Cu-BTC.

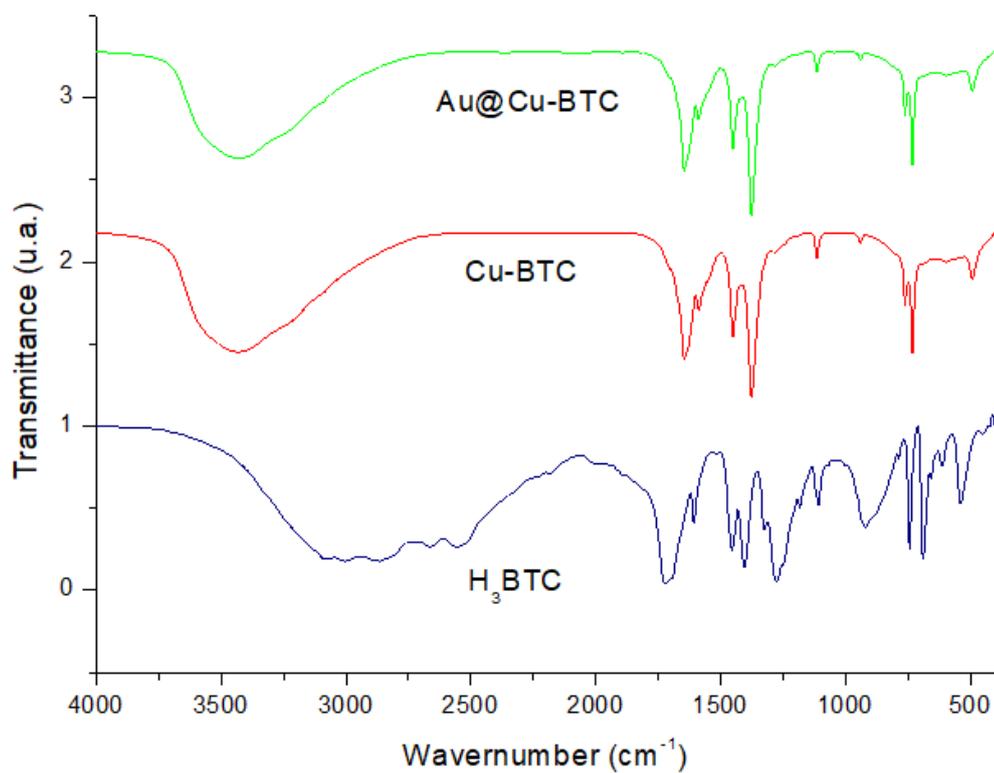


Figura A3. Espectros de FTIR de ácido 1,3,5-benzenotricarboxílico (H₃BTC), Cu-BTC e Au@Cu-BTC.

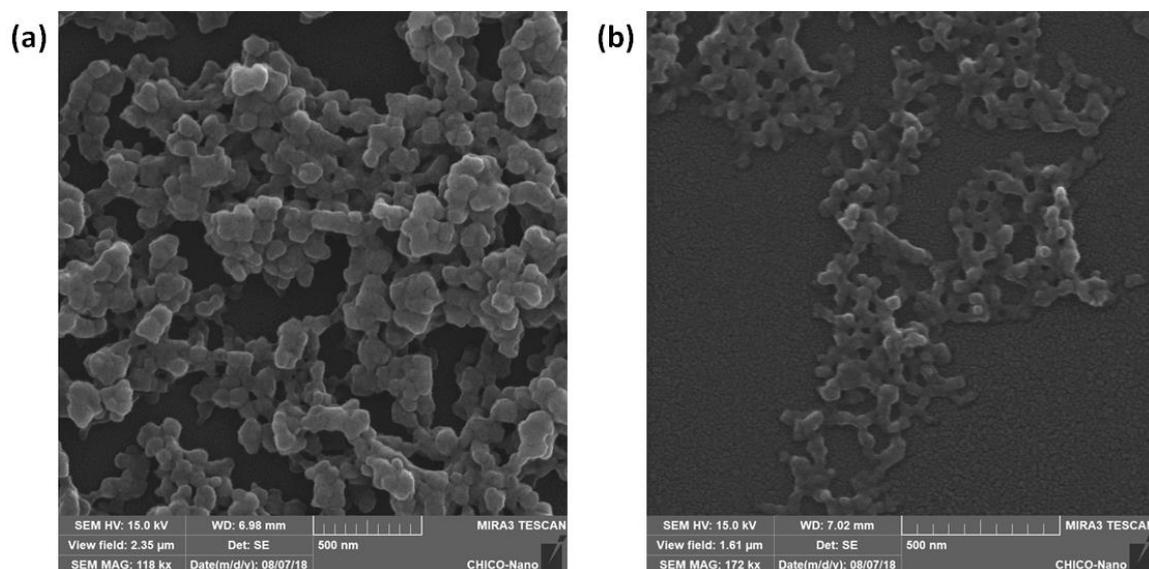


Figura A4. Imagens de microscopia de varredura de (a) nanopartículas de Cu-BTC e (b) nanocompósitos de Au@Cu-BTC.

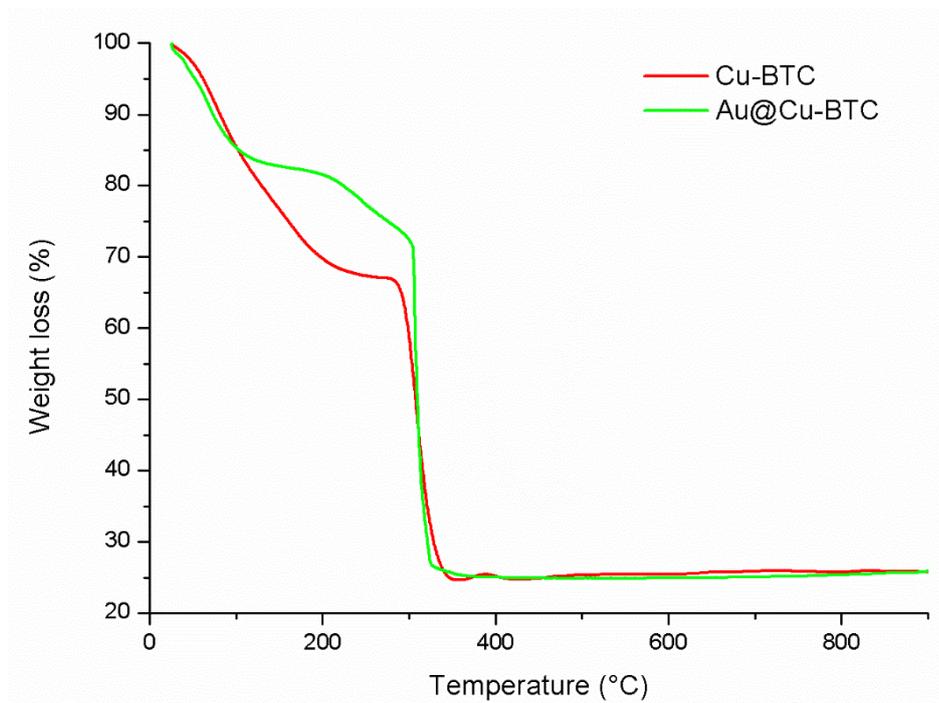
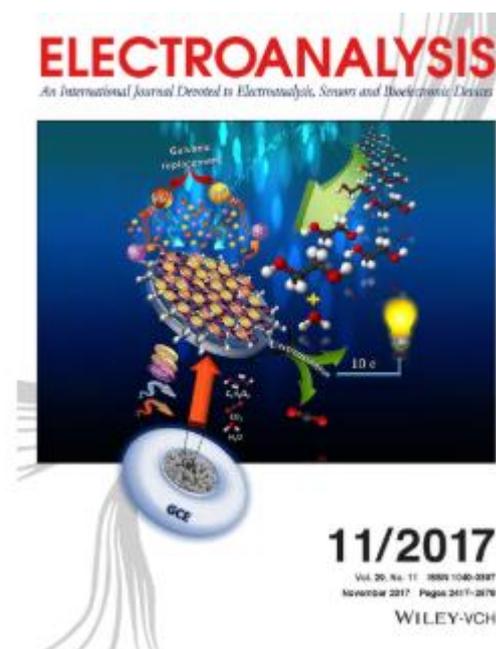


Figura A5. Análises termogravimétricas de nanopartículas de Cu-BTC e nanocompósitos de Au@Cu-BTC.

ANEXO B – ARTIGOS PUBLICADOS**ARTIGO 1****Voltammetric Determination of Captopril on a Glassy Carbon Electrode Modified with Copper Metal-organic Framework**

Research Article publicado no periódico *Electroanalysis*

Fator de Impacto: 2,69; Qualis A3



DOI: 10.1002/elan.201700384

Voltammetric Determination of Captopril on a Glassy Carbon Electrode Modified with Copper Metal-organic Framework

Wellyton Silva Vasconcelos,^[a] Gilvaldo Gentil da Silva,^[a] Severino Alves Junior,^[a] Janaína Versiani dos Anjos,^[a] and Madalena Carneiro da Cunha Areias*^[a]

Abstract: We report in this work, a new method for the determination of captopril by differential pulse voltammetry using a glassy carbon electrode modified with a copper metal-organic framework (H-Kust-1 or $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$ or Cu-BTC), immobilized on the surface by a copolymer of acrylamide and sodium acrylate. This compound is detected by the formation of a copper(II)-captopril complex that is observed in an oxidation potential at ca.

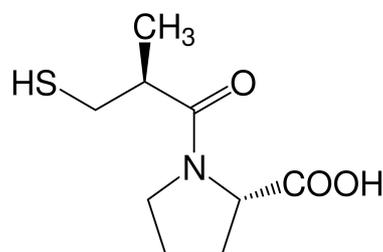
+0.28 V vs. Ag/AgCl. A linear dynamic range is obtained for a captopril concentration of 0.5 μM to 7.0 μM and the voltammetric response is highly reproducible within 3.52 % error. The sensitivity of $9.71 \pm 0.37 \text{ nA } \mu\text{M}^{-1}$ and the limit of detection of $0.20 \pm 0.01 \mu\text{M}$ make this methodology highly applicable for practical applications. The determination of captopril in a commercial pharmaceutical sample showed a recovery of 93.3 %.

Keywords: Copper metal-organic framework • H Kust-1 or $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$ or Cu-BTC • Captopril • Acrylamide and sodium acrylate copolymer • Differential pulse voltammetry

1 Introduction

Captopril (Scheme 1), chemically known as 1-[(2S)-3-mercapto-2-methylpropionyl]-L-proline is an orally active drug indicated in the treatment of patients with hypertension, congestive heart failure, left ventricular dysfunction after myocardial infarction and diabetic nephropathy [1]. Captopril is a specific competitive inhibitor of angiotensin I-converting enzyme (ACE), the enzyme responsible for the conversion of angiotensin I to angiotensin II. The inhibition of ACE causes relaxation of blood vessels, reducing the blood pressure [2]. As with any other ACE inhibitor, toxic effects associated with captopril treatment may occur. Major toxic effects include proteinuria or neutropenia when this drug is given in high doses to patients with renal insufficiency and minor toxic effects include altered sense of taste, skin rashes, and drug fever, which may occur in up to 10 % of patients [3]. Therefore, there is a need of the development of a practical sensor to continuously monitor the administration of this drug.

The determination of thiols, such as captopril, has provided a great challenge to the electroanalytical community in past decades due mainly to the poor voltammetric behavior of thiols in solid electrodes [4]. Although conventional methods of instrumental analysis such as spectrophotometry [5], fluorimetry [6], chemiluminescence [7] and chromatography [8–9] are reported in the literature as useful in the determination of captopril due to their high sensitivity and selectivity, such methods require that the samples have to be sent to specialized clinical laboratories, which makes the analysis take a long period of time and can be costly.



Scheme 1. Structure of Captopril.

In this sense, electrochemical methods appear as promising in the replacing the conventional methods in the determination of captopril, mainly due to their simplicity, high sensitivity, rapid detection time and lower cost of analysis [10]. The study of oxidation of thiols at solid electrodes was initially stimulated by the increasing interest in electrocatalysts such as phthalocyanine derivatives [11–15], organic mediators [16,17], or enzymes [18].

More recently, works using cyclic voltammetry (CV) [19], differential pulse voltammetry (DPV) [20] and square wave voltammetry (SWV) [21] on electrodes with and without surface modification have been reported in the literature as simple, fast and sensitive enough to detect

[a] W. Silva Vasconcelos, G. G. da Silva, S. Alves Junior, J. V. dos Anjos, M. C. da Cunha Areias
Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Jornalista Anibal Fernandes, s/n° Cidade Universitária – Recife, PE – CEP 50.740-560
E-mail: areias.madalena@gmail.com

captopril at low concentrations. Furthermore, as an electrochemical device can be made portable, it is feasible to manufacture a device that can be used to monitor a patient continuously.

Although the interest in the use of electrochemical methods in the determination of captopril has increased considerably in recent years, there are still few reports in the literature about sensors that use metal-organic frameworks (MOFs) as modifiers of electrodes surfaces for electroanalytical purposes [22]. This can be associated to the fact that MOFs are not good electrical conductors due mainly to the insulating character of their ligands [23]. For this reason, there are a growing interest in the synthesis of MOFs doped with other materials, such as nanoparticles, ionic species and nanotubes, allowing electronic properties to be induced in them, facilitating their use as sensors [22]. Therefore, recent works has been reported in the literature involving the use of amino-functionalized [24], nitrogen-doped [25] and with nanoparticles of gold and silica [26] as electrode modifiers in the determination of lead, heavy metals and L-cysteine, respectively.

Acrylamide and sodium acrylate copolymer is a super-absorbent polymer (SAP) that is a three-dimensional cross-linked polymeric structure that in aqueous solution incorporates, mainly, reactive cationic groups [27,28]. In this work, we show that the copolymer impregnated with Cu-BTC induces the electronic properties of the MOF, facilitating its use as electrode modifier for electroanalytical purposes with no need additional synthesis step on MOF.

Herein, we describe a quantitative and sensitive detection of captopril by differential pulse voltammetry using a copper metal-organic framework (Cu-BTC) modified electrode impregnated with a copolymer of acrylamide and sodium acrylate.

2 Experimental

2.1 Chemicals and Reagents

All chemicals and reagents used in this work were of analytical grade. Basolite™ C300 (H-Kust-1 or Cu₃(BTC)₂ or Cu-BTC [C₁₈H₆Cu₃O₁₂, +98%]) was purchased from Sigma-Aldrich, acrylamide/sodium acrylate copolymer was purchased from Angene Chemical, captopril (C₉H₁₅NO₃S, +99%) was purchased from LAFEPE, potassium ferricyanide (K₃[Fe(CN)₆], +99%) was purchased from J. T. Baker, phosphoric acid (H₃PO₄, 85%) was purchased from Fmaia, potassium phosphate monobasic (KH₂PO₄, +99%) was purchased from Cinética Química, potassium phosphate dibasic (K₂HPO₄, +99%) was purchased from Vetec. Phosphate buffer solutions (0.1 M) of different pH values were prepared from stock solutions of 0.1 M H₃PO₄, KH₂PO₄ and K₂HPO₄. Alumina suspensions (1.0 μm, 0.3 μm and 0.05 μm) were purchased from Teclago. All solutions were prepared with ultrapure water from Direct-Q® 3 UV purification pack with resistivity not less than 18,2 MΩ cm.

2.2 Voltammetry

All electrochemical experiments were performed at 25 °C under N₂ atmosphere in a polyethylene electrochemical cell (volume 3 mL) using a three-electrode system in a Faraday cage with PGSTAT 128N potentiostat/galvanostat (Metrohm-Autolab BV, Utrecht, The Netherlands) and NOVA software (v.1.11) as an operating interface.

All potentials were reported against silver/silver chloride reference electrode ([Ag/AgCl, saturated KCl], +0.197 V vs. standard hydrogen electrode). A platinum wire (1 mm in diameter) was used as a counter electrode.

A glassy carbon electrode (GCE, area 0.0624 cm²) was obtained from Fundação de Apoio a Ciência, Tecnologia e Educação – FACTER. The surface area of the electrode was determined by conducting cyclic voltammetry (CV) in 1.0 mM K₃[Fe(CN)₆] in the 0.1 M KCl electrolyte at different scan rates [29].

Prior to each experiment, a bare GCE was carefully polished with alumina suspensions of 1.0, 0.3 and 0.05 μm, in this order, onto a metallographic polishing cloth, then rinsed with ultrapure water in between. Then the electrode was again polished onto a metallographic polishing cloth without the presence of alumina and then rinsed with ultrapure water. Then, the CGE was placed in deaerated 0.1 M phosphate buffer and a CV was performed between −0.4 V and +0.8 V vs. Ag/AgCl at a scan rate of 50 mVs^{−1} until reproducible voltammograms (about 5 cycles) were obtained. The treated GCE was thereafter rinsed thoroughly with ultrapure water and dried in the air. All experiments were performed in triplicate, showing the mean values of the analysis.

2.3 Preparation of Copper Metal-organic Framework Glassy Carbon Electrode (Cu-BTC/GCE)

A stable suspension of 0.5 mg mL^{−1} MOF in 5.0 mg mL^{−1} acrylamide/sodium acrylate copolymer aqueous solution was obtained after 20.0 min of sonication. Thereafter, the treated GCE surface was dried, 6.0 μL of this suspension was dropped onto it surface and it was dried at 100 °C during 3 minutes [30] to form a thin film.

2.4 Analytical Application

The preparation of commercial captopril sample was performed as follows: 3 tablets were weighed and finely powdered. An appropriate amount of the powder obtained (equal to the weight of one tablet) was precisely weighed and dissolved in 50.0 mL of ultrapure water. The mixture was stirred for 20 minutes, filtered, and diluted to a 100.0 mL. Then, the commercial captopril sample was analyzed using recovery method.

3 Results and Discussion

3.1 Electrochemical Oxidation of Captopril on Cu-BTC/GCE

Cyclic voltammograms of 1 mM captopril in 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) on Cu-BTC/GCE was recorded at 50 mV s^{-1} (Figure 1).

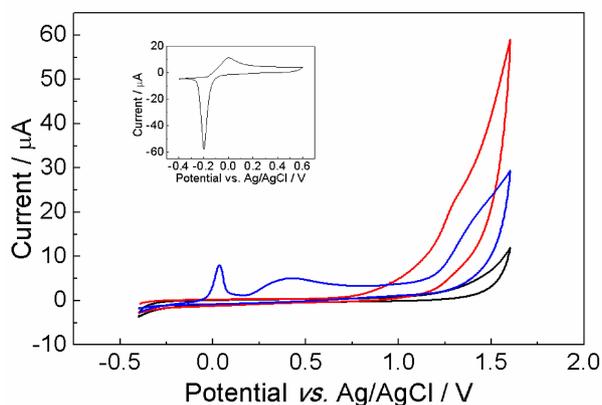
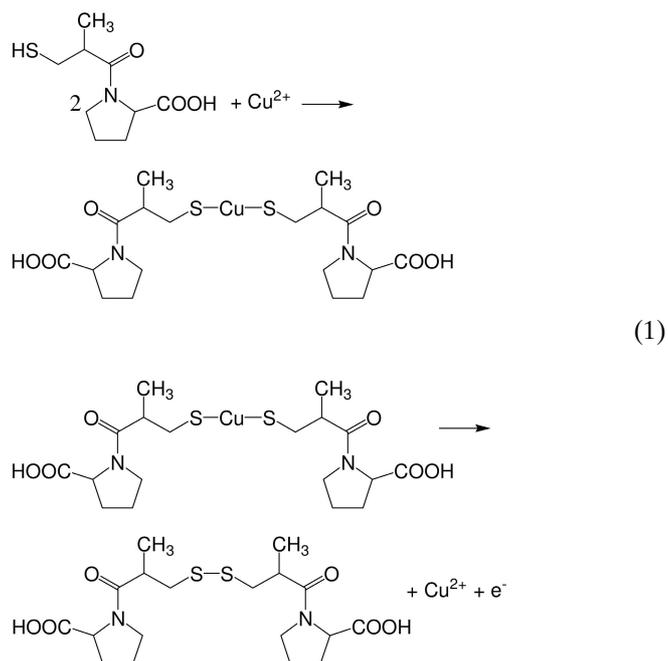


Fig. 1. The cyclic voltammograms of 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) in presence and absence (in the insert) of 1 mM captopril on Cu-BTC/GCE (blue) recorded at 50 mV s^{-1} . Black (No captopril) and red (1 mM captopril) on GCE.

Three anodic peaks were observed in the voltammogram (blue line). A pair of anodic and cathodic peaks observable in the voltammogram at ca. $+0.01 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ and ca. $-0.2 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, respectively, is related to the redox reaction of copper (Figure 1, in the insert) as the exposure of $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$ to an aqueous solution breaks the Cu-BTC bonds leading to the formation of BTC-acid and copper ion $[\text{Cu}_3(\text{BTC})_2 + 6\text{H}^+ \rightarrow 3\text{Cu}^{2+} + 2\text{H}_3(\text{BTC})]$ [26, 31].

The anodic shoulder found at ca. $+1.25 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, consistent with the previous report [19], is related to the direct oxidation of captopril $[2\text{RSH} \rightarrow \text{RSSR} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-]$, where RSH is captopril and RSSR is a dimer. This shoulder also appears on GCE (red line). The other peak at a ca. $+0.45 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ seems to be a catalytic effect related to the oxidation of a copper(II)-captopril compound, as it does not appear when captopril is absent from the solution (Figure 1, in the insert). This is consistent with the previous report where the oxidation peak of captopril appears at ca. $+0.24 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ [10], indicating that the oxidation of captopril occurs via formation of the copper(II)-captopril complex compound. The displacement of the potential to more positive value may be related with surface effects of the MOF presence. Such a low potential is an important advantage for analytical detection of this reagent. According to obtained results and the previous studies [10, 19], the electrochemical oxidation of captopril on Cu-BTC/GCE would be written as:



Since MOF is poorly conductive, electrochemical responses to oxidation and reduction of copper were expected to be non-intense, as related in previous work [26]. However, after the use of acrylamide/sodium acrylate copolymer as a MOF immobilizer on the GCE surface, the responses obtained for copper oxidation and reduction were potentialized. This behavior is similar to Cu-BTC doped with different materials, such as amino-functionalized, and nitrogen and gold nanoparticles [24–26]. The viability of using Cu-BTC immobilized with acrylamide/sodium acrylate copolymer as an electrochemical sensor without doping was initially attributed to the conductive characteristics of the copolymer [32]. In solution, this copolymer has an anionic character [33] and their carboxylate groups interacts with the copper terminals [34], accessible in the MOF facilitating the electron transfer process and consequently increased electrochemical response.

3.2 The Influence of pH on CV Responses of Cu-BTC/GCE

The effect of pH on the CV response of Cu-BTC/GCE in absence and in presence of 0.1 mM captopril in 0.1 M phosphate buffer solutions ranging 7.0 to 3.0 was studied (Figure 2).

In the absence of captopril (Figure 2A), as the pH decreases (7.0 to 3.0) the cathodic peak shifts to more positive values (-0.2 V to -0.1 V). This behavior may be associated to the copper reduction being dependent on the pH of the medium [35]. In addition, the anodic peak currents increase with decreasing pH, whereas the opposite occurs with the cathodic peak currents.

In the presence of 0.1 mM captopril (Figure 2B), in the pH range 7.0 to 5.0 an anodic peak ranging at ca. $+0.1 \text{ V}$

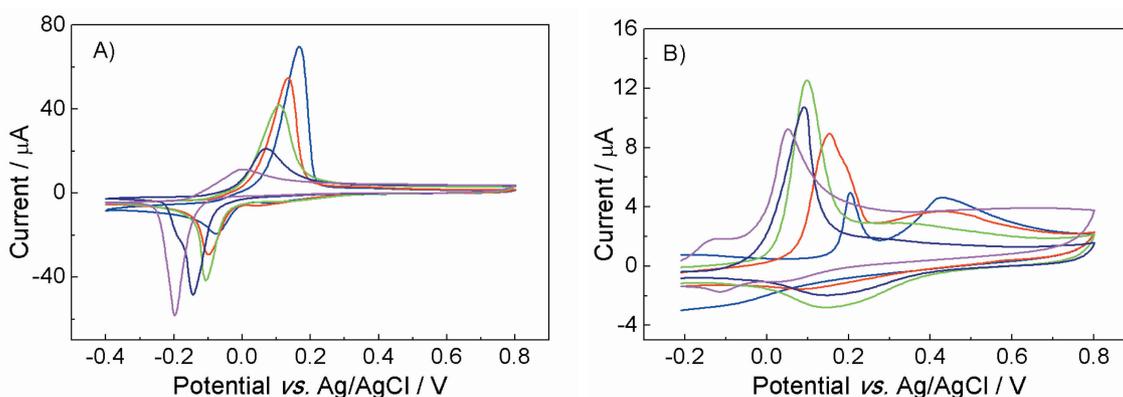


Fig. 2. The cyclic voltammograms of 0.1 M phosphate buffer in different pH values on Cu-BTC/GCE in (A) absence and (B) presence of 0.1 mM captopril recorded at 50 mV s^{-1} : Pink: 7.0; dark blue: 6.0; green: 5.0; red: 4.0 and blue: 3.0.

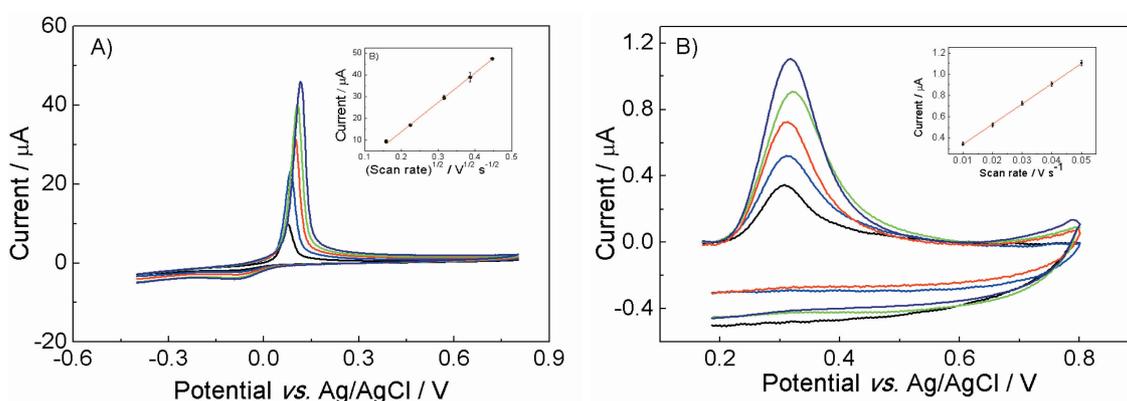


Fig. 3. The cyclic voltammograms of 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) in the (A) absence and (B) presence of $50.0 \mu\text{M}$ captopril on Cu-BTC/GCE at different scan rates. (A) Black: 0.025 V s^{-1} ; blue: 0.05 V s^{-1} ; red: 0.1 V s^{-1} ; green: 0.15 V s^{-1} and dark blue: 0.2 V s^{-1} . (B) Black: 0.01 V s^{-1} ; blue: 0.02 V s^{-1} ; red: 0.03 V s^{-1} ; green: 0.04 V s^{-1} and dark blue: 0.05 V s^{-1} . In the inserts, the peak current as a function of (A) square root of the scan rate and (B) the scan rate.

to ca. $+0.05 \text{ V}$ (*vs.* Ag/AgCl) is attributed to the oxidation of copper released from the MOF. In addition, in the pH 5.0, we can see a small shoulder at ca. $+0.35 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ attributed to the interaction of the MOF with the captopril. When the pH decreases from 4.0 to 3.0 we can see clearly the decreasing of the peak related with the MOF and the increase and displacement of the second peak related to the captopril interaction at ca. $+0.45 \text{ V vs. Ag/AgCl}$. This behavior is better observed in pH 3 because the protonation of captopril facilitates its accumulation on the electrode surface in more acidic media [20]. Studies at pH above 7.0 were not performed since the MOF is unstable, leading the formation of CuO nanoparticles [36].

3.3 Effect of Scan Rate on the Anodic Peak Currents

A previous report [10] shows that in presence of copper (II) ions, captopril forms the copper(II)-captopril complex compound. In order to understand the mechanism of oxidation of copper in absence (Figure 3A) and presence

(Figure 3B) of captopril on Cu-BTC/GCE, cyclic voltammograms in 0.1 M phosphate buffer pH 3.0 (the best condition) were obtained at different scan rates.

In absence of captopril, Figure 3A, it is found that the anodic peak current increases with the scan rate and has linear dependence with the square root of the scan rate (Figure 3A, in the insert), indicating that the oxidation was diffusion controlled. Whereas, in presence of $50.0 \mu\text{M}$ captopril (Figure 3B), it was found that the anodic peak current increases in direct proportion with the scan rate (Figure 3B, in the insert). This behavior is consistent with surface-bound species on the CGE, previously observed in the study of the oxidation of captopril in presence of copper(II) on CGE without modification [10]. The surface coverage of the electrode of $1.1 (\pm 0.2) \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$ by the complex formed between copper (II) and captopril is independent of the scan rate, as is expected for a controlled surface process [37].

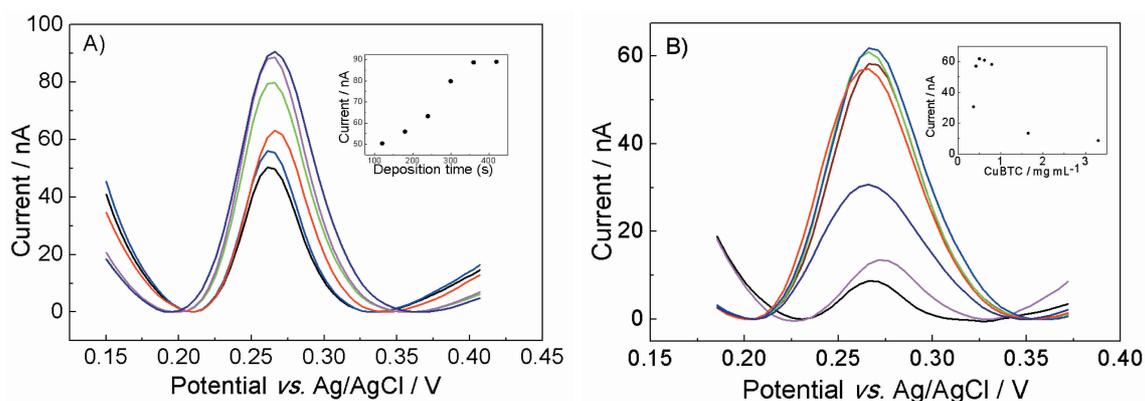


Fig. 4. The differential pulse voltammograms in 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) on Cu-BTC/GCE (made with 0.5 mg mL^{-1} of Cu-BTC) in presence of (A) $10.0 \mu\text{M}$ of captopril in different deposition times (black: 120 s; blue: 180 s; red: 240 s; green: 300 s, pink: 360 s and dark blue: 420 s) and (B) $5.0 \mu\text{M}$ of captopril (deposition time of 360 s) in different concentrations of Cu-BTC (black: 0.36 mg mL^{-1} ; pink: 0.42 mg mL^{-1} ; brown: 0.5 mg mL^{-1} ; green: 0.62 mg mL^{-1} ; blue: 0.79 mg mL^{-1} ; red: 1.65 mg mL^{-1} and dark blue: 3.30 mg mL^{-1}). In the inserts, the anodic peak current as a function of (A) the deposition time and (B) the concentrations of Cu-BTC.

3.4 Determination of Captopril on Cu-BTC/GCE Using Differential Pulse Voltammetry

The following studies of captopril oxidation on Cu-BTC/GCE were made by differential pulse voltammetry, since this technique shows a higher sensitivity when compared to cyclic voltammetry, due to the minimization of capacitive current and the pre-concentration of the analyte of interest in the working electrode surface [29]. In order to find the best condition to determine the concentration of captopril using this method, the deposition time (Figure 4A) and the concentration of Cu-BTC (Figure 4B) were evaluated.

The differential pulse voltammograms of $10.0 \mu\text{M}$ captopril in 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) obtained increasing the pre-concentration time of the analyte (Figure 4A) showed that the peak current for the oxidation of captopril increased up to 360 s, with no further significant change thereafter (Figure 4A, in the insert), most probably due to saturation of the electrode surface [38].

Thereafter, the best concentration of Cu-BTC (Figure 4B) was evaluated in $5.0 \mu\text{M}$ captopril solution in presence of 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) and the deposition time of 360 s. According to Figure 4B (in the insert), the peak current for the oxidation of captopril increases up to 0.5 mg mL^{-1} , with no further significant change thereafter.

For analytical quantification of captopril, differential pulse voltammetry was conducted in 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) with a pre-concentration time of the analyte of 360 s on Cu-BTC made with 0.5 mg mL^{-1} of Cu-BTC with different concentrations of the analyte. It is shown in the Figure 5, that the anodic peak increases with the increasing of concentration of captopril. When the peak current is plotted against the concentration of captopril, it is found a linear dependence between $0.5 \mu\text{M}$ and $7.0 \mu\text{M}$ (Figure 5, in the insert) with the mean relative

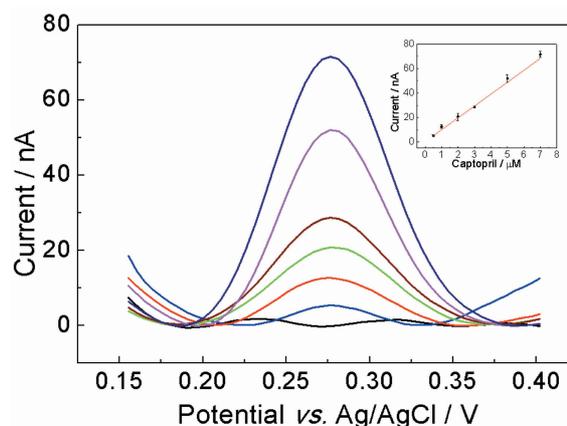


Fig. 5. The differential pulse voltammograms of captopril in 0.1 M phosphate buffer (pH 3.0) on Cu-BTC/GCE. Black: No captopril; blue: $0.5 \mu\text{M}$; red: $1.0 \mu\text{M}$; green: $2.0 \mu\text{M}$; brown: $3.0 \mu\text{M}$; pink: $5.0 \mu\text{M}$; and dark blue: $7.0 \mu\text{M}$. Deposition time of captopril of 360 s. Cu-BTC concentration of 0.5 mg mL^{-1} . In the insert, the anodic peak current as a function of captopril concentration.

standard deviation of 3.52% ($n=3$). From the best fit-line for the concentration range up $7.0 \mu\text{M}$, following relationship is derived.

$$I_p/nA = (9.71 \pm 0.37)[\text{captopril}]/\mu\text{M} \quad (2)$$

$$R^2 = 0.993$$

The limit of detection (LOD) of $0.20 \pm 0.01 \mu\text{M}$ ($n=3$) was calculated using the formula, $LOD = \frac{3\sigma}{S}$ where σ is the standard deviation and S is the sensitivity [39]. Therefore, the linear dynamic range obtained in this study i.e., from $0.5 \mu\text{M}$ to $7.0 \mu\text{M}$ suggests that the sample can be analyzed without pre-treatment.

Table 1 compares differential pulse voltammetric methods which have utilized modified electrodes, indicat-

Table 1. Summary of electrochemical techniques reported for the detection of captopril by DPV

Electrode	Modification	Method	LDR (μM)	LOD (μM)	Reference
GCE	Cu-BTC	DPV	0.5–7	0.20	This work
CP	MWCNT/CuO nanoparticles	DPV	1–10	0.29	[20]
CP	Cobalt-5-nitrosalophen	DPV	4–110	1.1	[40]
CP	Graphene/ferrocene	DPV	1–430	0.87	[41]
CP	MWCNT/ferrocene	DPV	0.5–12	0.15	[42]
CP	CNT/DHB	DPV	0.2–30	0.07	[43]

CP: Carbon Paste; GCE: Glassy carbon electrode; DPV: Differential pulse voltammetry; LDR: Linear Dynamic Range; LOD: Limit of Detection; CNT: Carbon Nanotubes; MWCNT: Multiwalled Carbon Nanotubes; DHB: (E)-3-((2-(2,4-dinitrophenyl) hydrazono) methyl) benzene-1,2-diol. Cu-BTC: $\text{C}_{18}\text{H}_6\text{Cu}_3\text{O}_{12}$ (copper metal-organic framework).

ing that the proposed method can be used for determination of captopril. The advantage of the Cu-BTC/GCE in relation to the other modified electrodes is the simple process of modifying the surface of the electrode because no additional synthesis step on MOF is necessary. Moreover, the stability of Cu-BTC in the acrylamide and sodium acrylate copolymer solution allows the manufacture of modified screen-printed electrodes, which can be stored at room temperature for a long period for further use. In addition, the screen printing technology is very attractive because electrode production is fast, easy and simple.

The proposed analytical method was used in the determination of captopril in a commercial tablets samples (25 mg captopril per tablet). DPV curves were obtained for three different solutions containing 1.2 μM of captopril in a 0.1 M phosphate buffer pH 3.0. The results revealed satisfactory reproducibility for this concentration of captopril. In addition, this method gave a recovery of 93.3% and the relative standard deviation was 1.10% ($n=3$), Table 2.

Table 2. Determination of captopril in tablet sample (25 mg per tablet) by recovery method.

Sample	Found (mg per tablet)	Added (μM)	Found (μM)	Recovery (%)
Capotrinoe	24.4(± 0.5)	0	3.39(± 0.06)	–
		1.2	4.51(± 0.05)	93.3

As reported in previous works [44,45], L-cysteine and glutathione can also be oxidized in solid electrodes by the formation of a complex with copper(II). However, these compounds are absent in the studied matrix (tablets of captopril), having no interference on the signals of captopril. Thus, this result shows that the proposed methodology can be successfully applied to determination of captopril in industrial samples.

4 Conclusion

In this work, we demonstrate the electrochemical detection of captopril in commercial pharmaceutical formula-

tions by differential pulse voltammetry, using a glassy carbon electrode modified with a copper metal-organic framework (Cu-BTC) immobilized on the surface of the electrode by a copolymer of acrylamide and sodium acrylate. Captopril is detected by the formation of a copper(II)-captopril complex ($\text{Cu}(\text{SR})_2$) which is oxidized at ca. +0,28 V vs. Ag/AgCl. The analytical parameters such sensitivity ($9.71 \pm 0.37 \text{ nA } \mu\text{M}^{-1}$), limit of detection ($0.20 \pm 0.01 \mu\text{M}$), linear dynamic range up 7.0 μM and low overpotential, make this approach comparable to the other methods discussed. The determination of captopril in pharmaceutical samples showed a recovery of 93.3%. This result shows that this methodology can be successfully applied in industrial samples.

Acknowledgements

The authors wish to thank the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) for the financial support of this work.

References

- [1] U.S. Food and Drug Administration. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/la-bel/2015/018343_s0861bl.pdf (accessed 16 Feb. 2017).
- [2] A. Korolkovas. *Essentials of Medicinal Chemistry*, Wiley, 1988.
- [3] B. G. Katzung. *Basic & Clinical Pharmacology*, Prentice-Hall, 2014.
- [4] N. S. Lawrence, J. Davis, R. G. Compton. *Talanta* 2001, 53, 1089–1094.
- [5] R. Karlicek, P. Solich, *Pharmazie* 1998, 53, 549–551.
- [6] K. Imai, T. Toyo'oka, Y. Watanabe, *Anal. Biochem.* 1983, 128, 471–473.
- [7] Z. D. Zhang, W. R. G. Baeyens, X. R. Zhang, G. Van der Weken, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1996, 14, 939–945.
- [8] M. Bahmaei, A. Khosravi, C. Zamiri, A. Massoumi, M. Mahmoudian, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 1997, 15, 1181–1186.
- [9] S. Sypniewski, E. Bald, *J. Chromatogr. A* 1996, 729, 335–340.
- [10] M. C. C. Areias, K. Shimizu, R. G. Compton, *Electroanalysis* 2016, 28, 1–7.
- [11] J. Park, B. R. Shaw, *J. Electrochem. Soc.* 1994, 141, 323.
- [12] B. Filanovsky, *Anal. Chim. Acta* 1999, 394, 91.

- [13] S. Zhang, W. L. Sun, Y. Z. Xian, W. Zhang, L. T. Jin, K. Yamamoto, S. G. Tao, J. Y. Jin, *Anal. Chim. Acta* **1999**, *399*, 213.
- [14] G. Y. Shi, J. X. Lu, F. Xu, W. L. Sun, L. T. Jin, K. Yamamoto, S. G. Tao, J. Y. Jin, *Anal. Chim. Acta* **1999**, *391*, 307.
- [15] M. J. Aquirre, M. Issacs, F. Armyo, N. Bocchi, J. H. Zagal, *Electroanalysis* **2000**, *10*, 571.
- [16] X. Gong, H. L. Li, *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 238.
- [17] N. S. Lawrence, J. Davis, L. Jiang, T. G. J. Jones, S. N. Davies, R. G. Compton, *Analyst* **2000**, *125*, 661.
- [18] L. Q. Mao, K. Yamamoto, *Electroanalysis* **2000**, *12*, 577.
- [19] M. C. C. Areias, H. S. Toh, P. T. Lee, R. G. Compton, *Electroanalysis* **2015**, *27*, 1–8.
- [20] B. Zargar, H. Parham, A. Hatamie, *Anal. Methods* **2015**, *7*, 1026–1035.
- [21] A. B. F. Vitoreti, O. Abrahão, R. A. S. Gomes, G. R. Salazar-Banda, R. T. S. Oliveira, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2014**, *9*, 1044–1054.
- [22] P. Kumar, A. Deep, K. H. Kim, *Trends in Anal. Chem.* **2015**, *73*, 39–53.
- [23] M. Sadakiyo, T. Yamada, H. Kitagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9906–9907.
- [24] Y. Wang, H. Ge, Y. Wu, G. Ye, H. Chen, X. Hu, *Talanta* **2014**, *129*, 100–105.
- [25] L. Cui, J. Wu, H. Ju, *Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 16210–16216.
- [26] H. Hosseini, H. Ahmar, A. Dehghani, A. Bagheri, A. Tadjarodi, A. R. Fakhari, *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *42*, 426–429.
- [27] A. Pourjavadi, R. Soleyman, G. R. Bardajee, *B. Kor. Chem. Soc.* **2009**, *30*, 2680–2686.
- [28] S. He, F. Zhang, S. Cheng, W. Wang, *ACS Sustainable Chem. Eng.* **2016**, *4*, 3948–3959.
- [29] A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, Wiley, Danvers **2001**.
- [30] F. Israr, D. K. Kim, Y. Kim, S. J. Ohc, K. Choon Ng, W. Chun, *Ultrason. Sonochem.* **2016**, *29*, 186–193.
- [31] N. Al-Janebi, A. Alfutimie, F. R. Siperstein, Xiaolei Fan, *Front. Chem. Sci. Eng.* **2016**, *10*, 103–107.
- [32] P. Y. Lee, F. L. D. Jérôme, P. V. L. Herman, *Langmuir* **2005**, *21*, 6220–6227.
- [33] M. E. Zeinali, A. Rabbii, *Iran. Polym. J.* **2002**, *11*, 269–275.
- [34] E. K. Fomina, L. P. Krul, E. V. Grinyuuk, *Rus. J. of Appl. Chem.* **2015**, *88*, 1500–1504.
- [35] A. A. Shaikh, J. Firdaws, S. Badrunnessa, S. Serajee, M. S. Rahman, P. K. Bakshi. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2011**, *6*, 2333–2343.
- [36] A. H. Chughtai, N. Ahmad, H. A. Younus, A. Laypkovc, F. Verpoort, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 6804–6849.
- [37] R. G. Compton, C. E. Banks, *Understanding Voltammetry*, World Scientific, London, **2011**.
- [38] M. Lovric, in *Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications* (Ed: F. Scholz), Springer, Berlin **2005**, pp. 191–210.
- [39] J. C. Miller, J. N. Miller. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Prentice-Hall, London, **2000**.
- [40] S. Shahrokhian, M. Karimi, H. Khajehsharifi, *Sensor Actuat. B Chem.* **2005**, *109*, 278–284.
- [41] M. B. Gholivand, M. Khodadadian, *Electroanalysis* **2013**, *25*, 1263–1270.
- [42] M. Fouladgar, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2011**, *6*, 705–716.
- [43] M. Mazloum-Ardakani, M. A. Sheikh-Mohseni, B. F. Mirjalili, L. Zamani, *J. Electroanal. Chem.* **2012**, *686*, 12–18.
- [44] M. C. C. Areias, K. Shimizu, R. G. Compton, *Analyst* **2016**, *141*, 5563–5570.
- [45] M. C. C. Areias, K. Shimizu, R. G. Compton, *Analyst* **2016**, *141*, 2904–2910.

Received: June 30, 2017

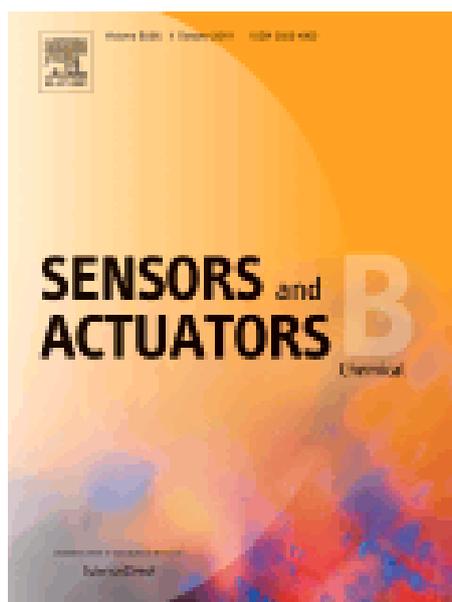
Accepted: August 18, 2017

Published online on September 4, 2017

ARTIGO 2**Gold-copper metal-organic framework nanocomposite as a glassy carbon electrode modifier for the voltammetric detection of glutathione in commercial dietary supplements**

Research Article submetido ao periódico *Sensors and Actuators B: Chemical*

Fator de Impacto: 6,39; Qualis A1





Gold-copper metal-organic framework nanocomposite as a glassy carbon electrode modifier for the voltammetric detection of glutathione in commercial dietary supplements

Nadja Vanessa de Almeida Ferraz^a, Wellyton Silva Vasconcelos^a, Cecília Santos Silva^a, Severino Alves Junior^a, Célia G. Amorim^b, Maria da Conceição Branco S. M. Montenegro^b, Madalena Carneiro da Cunha Areias^{a,*}

^a Departamento de Química Fundamental, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Jornalista Anibal Fernandes, s/n, Cidade Universitária, 50.740-560, Recife, Pernambuco, Brazil

^b REQUIMTE/Departamento de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313, Porto, Portugal

ARTICLE INFO

Keywords:

Gold-copper metal-organic framework
Copper-1,3,5-benzenetricarboxylate
Glutathione
Square wave voltammetry

ABSTRACT

An electrochemical sensor based on a gold-copper metal-organic framework immobilized on the surface of glassy carbon electrode has been developed for the electrocatalytic oxidation and determination of glutathione. Gold nanoparticles were incorporated into copper-1,3,5-benzenetricarboxylate and the composition and structure of the resulting nanocomposite (Au@Cu-BTC) were verified by transmission electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy, X-ray powder diffractometry, scanning electron microscopy and Fourier transform infrared spectroscopy. Cyclic and square wave voltammetric studies of the electrochemical behavior of glutathione at the modified electrode showed that the incorporation of gold particles increased the conductivity of Cu-BTC. Glutathione was detected by the formation of a Cu (II)-glutathione complex and its subsequent oxidation at ca. + 0.25 V vs. Ag/AgCl. The proposed methodology exhibited a low limit of detection ($0.30 \mu\text{mol L}^{-1}$) and a wide linear dynamic range ($1\text{--}10.0 \mu\text{mol L}^{-1}$) with good sensitivity ($0.89 \pm 0.02 \mu\text{A} \mu\text{mol L}^{-1}$) and repeatability (2.14 %). The high recovery (98.2 %) obtained in the analysis of a dietary supplement renders this new approach very attractive for the analytical determination of glutathione in commercial samples, particularly if the technique is extended to commercially produced screen-printed electrodes.

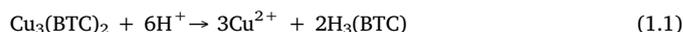
1. Introduction

Metal-organic frameworks (MOFs) are crystalline nanomaterials containing transition metal ions (or clusters) coordinated with multifunctional organic linkers to form porous coordination polymers with repeating structures and high internal surface area [1]. The flexibility, pore size, shape and structure of MOFs can be changed in a predictable manner by adopting different combinations of connectors and binders, providing many opportunities for functionalization and the development of materials for specific applications [2]. Moreover, the flexible and porous nature of MOFs allow guest molecules, such as metals, to diffuse into the block structure, while the geometry and size of the pores play a key role in the selection of target molecules that can be incorporated [3].

Copper-1,3,5-benzenetricarboxylate (Cu-BTC) is the best known and most widely investigated member of the MOF family [4]. The subunit of

this MOF has a three-dimensional structure comprising a binuclear Cu^{2+} center with each Cu atom connected to four oxygen atoms from the BTC linker [5]. Cu-BTC has been employed in many applications, such as vapor sensing [6], gas absorption [7] and membrane-based separation processes [8], because of its high surface area ($600\text{--}1600 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) [9], large pore volume (approx. $0.7 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$) [10] and good thermal stability (up to 350°C) [11].

Cu-BTC exhibits structural instability in aqueous media (Eq. 1.1) which, because of the insulating character of $\text{H}_3(\text{BTC})$ [12], gives rise to unstable electrocatalytic properties and limits use of the MOF as a sensor with electrochemical transduction.



For this reason, few reports are available regarding the use MOFs as modifiers of electrode surfaces for application as electroanalytical sensors [13]. In order to minimize this problem, amino groups have

* Corresponding author.

E-mail address: areias.madalena@gmail.com (M.C. da Cunha Areias).

been anchored to the skeleton structure of the MOF with the aim of increasing its binding affinity towards transition metal ions. This procedure is of fundamental importance with respect to the electrochemical use of the MOF because most of the transition metals used are redox active [14] and could be applied with advantage as electrode surface modifiers [15].

In this context, Wang et al. [16] functionalized Cu-BTC with amino groups in order to develop a modified glassy carbon electrode (GCE) for the voltammetric detection of lead based on the accumulation of the metal ion on the electrode surface by selective complexation with the free amino groups. The auxiliary ligand 2,2'-bipyridine has also been employed to increase the stability and electrocatalytic properties of Cu-BTC, while the GCE modified with this MOF exhibited a strong catalytic effect on the oxygen reduction reaction [17].

An alternative strategy to enhance the electrocatalytic activity of Cu-BTC involves the incorporation of gold nanoparticles (Au NPs) into the MOF to form a nanocomposite with a large and renewable surface area, good biocompatibility and high conductivity [18]. GCEs modified with Au-SH-SiO₂ nanoparticles supported on Cu-BTC have been used successfully in the determination L-cysteine [15] and hydrazine [19], although a significant disadvantage of the system is the extensive time required to prepare the electrode.

It has recently been shown that the electrochemical properties of Cu-BTC could be enhanced by immobilizing the MOF on the surface of an electrode with the superabsorbent copolymer acrylamide and sodium acrylate [20]. In this case, the structural instability of the MOF in aqueous medium was advantageous since, in the presence of captopril, the liberated Cu²⁺ ions formed a Cu (II)-thiol complex that catalyzed the oxidation of the anti-hypertensive drug, thereby establishing a basis for the development of an electrochemical sensor.

In consideration of the above, we were encouraged to develop a new nanocomposite and to explore the possibility of using the material to modify a GCE for the detection of glutathione (L-γ-glutamyl-L-cysteinylglycine; GSH). This tripeptide is the most common low molecular weight thiol in animal cells [17,21] and is present in the physiological fluids of healthy humans at concentrations of around 2–12 μmol L⁻¹ [22]. GSH plays important roles in the maintenance of redox homeostasis against oxidative stress and in the inactivation of toxic compounds [23,24]. Depletion of GSH is associated with several pathologies such as diabetes mellitus [25], cancer [26] and neurodegenerative diseases [27], and is a common feature of apoptotic cell death [28,29]. Dietary supplements of GSH-based products, several of which are currently available on the market, are essential to replenish levels of the reduced form of this thiol when requirements are not met by normal nutritional intake, but their efficacy has not been proven in all cases [28–30].

Conventional methods for the analysis of GSH include fluorescence-based high performance liquid chromatography [31,32] or capillary electrophoresis [33], mass spectrometry [34] and electrochemical detection [33], although derivatization of GSH may be required since traces of Cu ions present in aqueous solution catalyze the oxidation reaction of glutathione and impede its determination [35].

An interesting alternative to these conventional approaches is the use of electrochemical sensors that are generally simple to apply and allow rapid detection at low cost for application in continuous long-term analysis. A previous study [36] revealed that a bare GCE could be used to detect GSH electrochemically provided that the analyte was present in an aqueous solution to which Cu²⁺ ions had been. Under these conditions, the thiol formed a 1:1 complex with Cu (II), the subsequent oxidation of which gave a voltammetric response typical of a surface bound specie at ca. + 0.25 V vs. silver/silver chloride (Ag/AgCl) electrode. With the aim of eliminating the necessity to add Cu²⁺ ions to the analyte, we prepared a nanocomposite of gold-copper metal-organic framework (Au@Cu-BTC) based on the incorporation of spherical Au NPs into Cu-BTC, and used this material to develop a very conductive GCE for the determination of GSH in commercial products.

2. Methods

2.1. Chemicals and reagents

Analytical grade GSH (C₁₀H₁₇N₃O₆S), potassium ferricyanide (K₃[Fe(CN)₆]), potassium phosphate monobasic (KH₂PO₄), potassium phosphate dibasic (K₂HPO₄), potassium chloride (KCl), potassium hydroxide (KOH), sodium bicarbonate (NaHCO₃), sodium hydroxide (NaOH) and benzene-1,3,5-tricarboxylic acid (C₆H₃(CO₂H)₃; H₃BTC), polyvinylpyrrolidone [(C₆H₉NO)_n; PVP] and trisodium citrate (C₆H₉Na₃O₉) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), hydrochloric acid (HCl), formic acid (HCOOH), dimethylformamide (DMF), ethanol (CH₃OH) and phosphoric acid (H₃PO₄) were from Merck (Kenilworth, NJ, USA), 1-butanol (CH₃(CH₂)₃OH) and copper(II) acetate (Cu(CH₃COO)₂) were from Vetec Química Fina (Duque de Caxias, RJ, Brazil), benzoic acid (C₇H₆O₂) was from Dinâmica Química Contemporânea (Indaiatuba, SP, Brazil) and ACS grade hydrogen tetrachloroaurate (III) trihydrate (HAuCl₄.3H₂O) was from Alfa Aesar (Thermo Fisher Scientific, Heysham, UK). Commercial tablets of reduced glutathione were purchased from Oficial Farma (São Roque, SP, Brazil), alumina suspensions (1.0 and 0.05 μm) were from Buehler (Coventry, UK) and Chromafil® Xtra syringe filters (0.45 μm) were from Macherey-Nagel (Düren, Germany). Phosphate buffer solutions (0.1 mol L⁻¹) with different pH values were prepared from 1 mol L⁻¹ stock solutions of H₃PO₄, KH₂PO₄ and K₂HPO₄. All solutions were prepared with ultrapure water with resistivity ≥ 18.2 MΩ cm.

2.2. Synthesis of Au NPs and Au@Cu-BTC

Au NPs were prepared according to the method of Turkevich [37] whereby an aqueous solution of HAuCl₄ (0.01 %, 150 mL) was heated to boiling point on a hot plate stirrer, an aqueous solution of trisodium citrate (0.5 %, 5 mL) was added and heating maintained for 10 min to yield a deep red solution. After cooling to room temperature, the Au NPs were stabilized [38] by the dropwise addition under stirring of 13 mL of a 0.45 mmol L⁻¹ aqueous solution of PVP. The mixture was maintained at room temperature for 24 h, the Au NPs washed with H₂O employing three cycles of centrifugal precipitation (30 min at 14,000 rpm) and resuspension, and finally dispersed in DMF.

Spherical type nanoparticles of Cu-BTC were synthesized in the presence of Au NPs using a modification of the method of Li et al. [39]. In a typical process, a stirred solution comprising 3.8 mmol (0.8 g) of H₃BTC dissolved in 30 mL of Au NPs dispersed in DMF was added dropwise at room temperature over a period of 30 min to a solution containing 1.6 mmol (0.3 g) Cu(CH₃COO)₂ and 0.03 mol (4.0 g) C₇H₆O₂ dissolved in 30 mL of butanol. The system was kept under stirring for a further 30 min, and the blue suspended particles so-formed precipitated by centrifugation (10 min at 6000 rpm) and washed three times with ethanol.

2.3. Characterization of Au NPs and Au@Cu-BTC

Transmission electron microscopy (TEM) and energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDX) were performed using a FEI Tecnai 20 instrument (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) with a 200 kV field emission gun. The TEM samples were prepared by transferring drops of the reaction solution onto a carbon-coated TEM grid with the aid of a needle tip. X-ray powder diffraction (XRD) data were collected on a Bruker (Billerica, MA, USA) model D8 Advance X-ray diffractometer operated with CuKα1 radiation at 40 kV and 40 mA, and equipped with a LynxEye detector. Diffraction patterns were recorded in the 2θ range of 5 - 50° with a step size of 0.01° and a count time of 1 s step⁻¹. Scanning electron microscopy (SEM) images were obtained using a Tescan (Brno, Czechia) MIRA 3 microscope operated at 10 kV. Thermogravimetric analyses (TGA) and differential thermal analyses (DTA) were performed using a Shimadzu (Kyoto, Japan) DTG-60H thermal analyzer at a

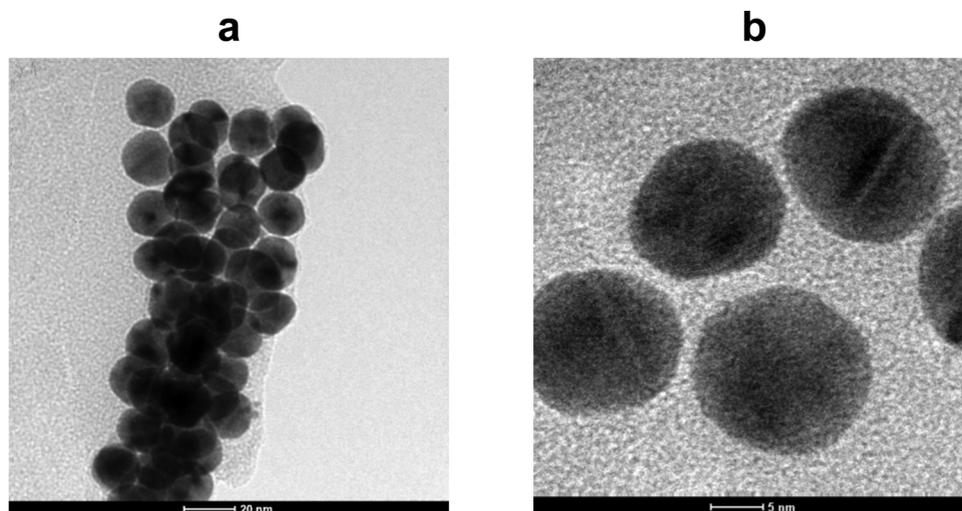


Fig. 1. Transmission electron micrographs of gold nanoparticles in the absence (a) and presence (b) of polyvinylpyrrolidone.

heating rate of $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ under a dynamic oxygen atmosphere (50 mL min^{-1}). Fourier transform infrared (FTIR) spectra in the range $4000 - 500\text{ cm}^{-1}$ were recorded using a Bruker IFS66 spectrometer.

2.4. Voltammetric set-up and preparation of the bare GCE

Electrochemical experiments were performed at room temperature in a polyethylene electrochemical cell (volume 3 mL) connected to a Metrohm-Autolab (Utrecht, The Netherlands) model PGSTAT 10 potentiostat/galvanostat running GPES software (v 4.9.007) as operating interface. The three-electrode cell was equipped with a Metrohm-Autolab carbon rod counter electrode (2 mm diameter) and an Ionode (Tennyson, Australia) Ag/AgCl (saturated KCl) reference electrode ($+0.197\text{ V}$ vs. standard hydrogen electrode). The surface area of the bare GCE working electrode (purchased from Ionode) was determined to be 0.062 cm^2 by cyclic voltammetry performed at different scan rates with $1.0\text{ mmol L}^{-1}\text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ in $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ KCl}$ as electrolyte [40].

Prior to each experiment, the bare GCE was cleaned by immersion for 5 min in a freshly prepared solution containing $2\text{ mol L}^{-1}\text{ NaOH}$ and (31%) H_2O_2 mixed 3:1 (v/v). The electrode was then carefully polished on a metallographic polishing cloth with alumina suspensions of 1.0 and $0.05\text{ }\mu\text{m}$, incorporating an ultrapure water rinse in between, and subsequently with the same polishing cloth but without alumina. The electrode was finally rinsed with ultrapure water and activated with NaHCO_3 solution to generate carbonyl, carboxyl and hydroxyl functional groups that would promote the adsorption of the Cu (II)glutathione complex [41]. For this purpose, the clean GCE was immersed in $0.1\text{ mol L}^{-1}\text{ NaHCO}_3$ and the potential cycled between -1.2 V and $+2.0\text{ V}$ vs. Ag/AgCl at a scan rate of 0.1 V s^{-1} until a stable voltammogram was achieved (typically 7 scans), following which the electrode was rinsed thoroughly with ultrapure water and dried at $100\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.5. Modification of the GCE with Au@Cu-BTC

Modification of the surface of the activated GCE was performed using $2.0\text{ }\mu\text{L}$ of a stable suspension of Au@Cu-BTC obtained by sonication of a mixture containing 0.461 mg mL^{-1} of MOF in 7.5% ethanol and 92.5% DMF for 30 min . In order to avoid migration of the MOF away from the electrode surface, the Au@Cu-BTC suspension was cast dropwise from a micropipette onto the electrode surface in five separate steps, each involving the same volume of suspension, and the surface of the electrode was dried at $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ after each deposition step. The modified electrode was maintained at room temperature for 4 min before use, and a new electrode was prepared for each experiment.

2.6. Determination of GSH

A pre-determined amount of analytical grade GSH was pipetted into 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer (pH 3) and the mixture stirred vigorously for 30 s followed by 30 s rest to avoid convection. The Au@Cu-BTC-modified GCE was dipped into the GSH solution and a deposition potential of 0.05 V vs. Ag/AgCl was applied for 4 min . Cyclic and square wave voltammograms were recorded between $+0.05$ and $+0.6\text{ V}$ vs. Ag/AgCl. Square wave voltammograms were measured at a frequency of 15 Hz , a step potential of 5 mV and an amplitude pulse of 50 mV . The repeatability of assays carried out using Au@Cu-BTC-modified GCEs was assessed by a single researcher, using different electrodes on different days and under different atmospheric conditions, by performing eight successive measurements of $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ of GSH [42]. All experiments were performed in triplicate and the data presented as mean values.

2.7. Preparation of a commercial sample of GSH

Commercial tablets of reduced L GSH (3 units) were weighed and finely powdered. A mass of powder corresponding exactly to the weight of one tablet was accurately weighed, dissolved in 100 mL of ultrapure water with constant sonication, and filtered through a $0.45\text{ }\mu\text{m}$ syringe filter directly into an Eppendorf tube. The concentration of GSH in the sample was established using the standard addition recovery method.

3. Results and discussion

3.1. Characterization of Au NPs and Au@Cu-BTC

The TEM images shown in Fig. 1 depict Au NPs as uniform spherical particles with a mean diameter of 20 nm . In the absence of PVP, the Au NPs clustered in specific regions rendering it difficult fully to identify a single particle (Fig. 1a), although particle dispersion was greatly improved in the presence of PVP (Fig. 1b). In contrast, SEM images of Cu-BTC (Fig. 2a) and the Au@Cu-BTC nanocomposite (Fig. 2b) revealed small irregular shaped particles with mean diameters of $118 \pm 23\text{ nm}$ and $154 \pm 21\text{ nm}$, respectively. TEM micrographs of Au@Cu-BTC (Fig. 2c) verified that the structure of Cu-BTC was maintained while the surfaces of the crystals were smooth with the Au NPs mainly encapsulated within the nanocrystalline material rather than on the outer surface, a structure that favors the stable combination of the two components. The EDX of Au@Cu-BTC exhibited peaks associated with C, O, Cu and Au, thereby confirming the presence of AuNPs (Fig. 2d).

Although the presence of AuNPs could be observed clearly in the

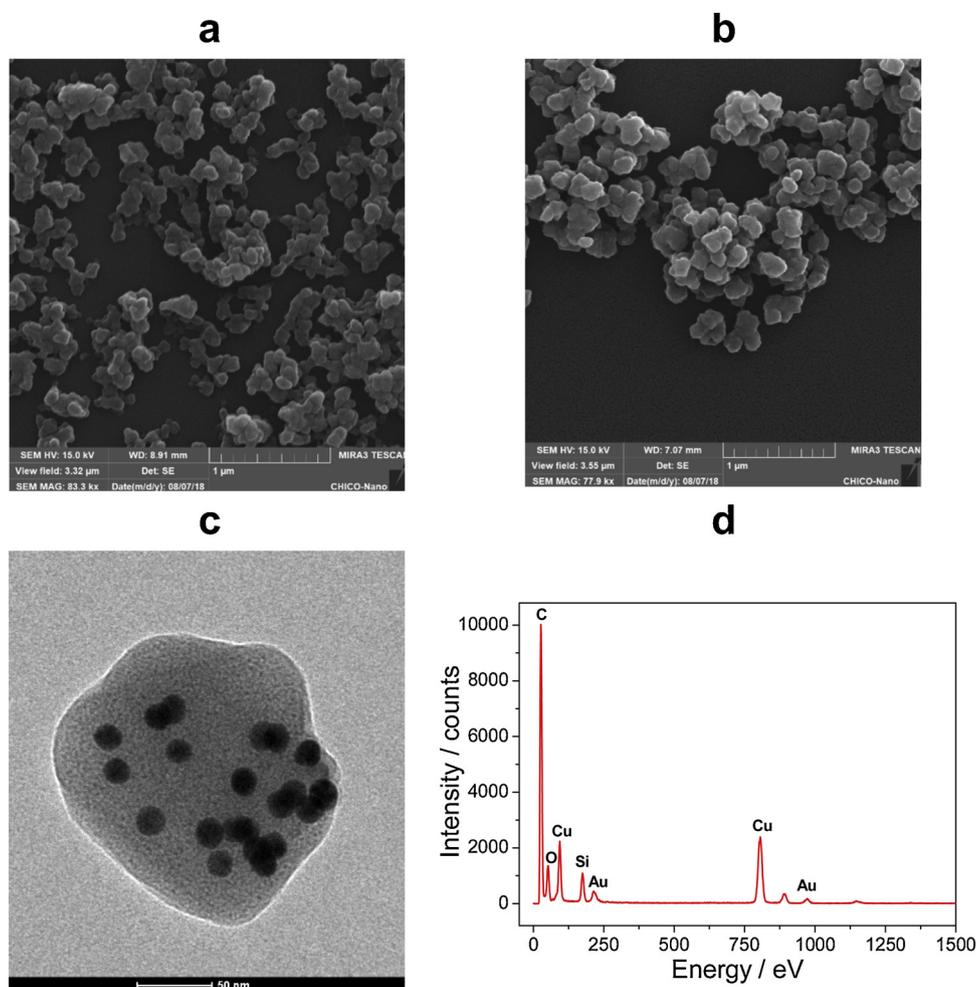


Fig. 2. Scanning electron micrographs of Cu-BTC nanoparticles (a) and Au@Cu-BTC nanocomposite (b). A transmission electron microscopy of Au@Cu-BTC is shown in panel (c) with the corresponding energy-dispersive X-ray spectrum presented in (d).

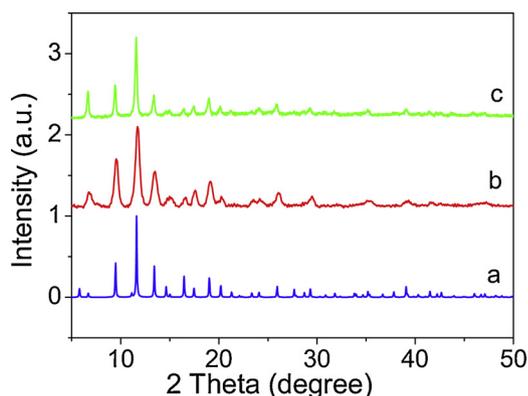
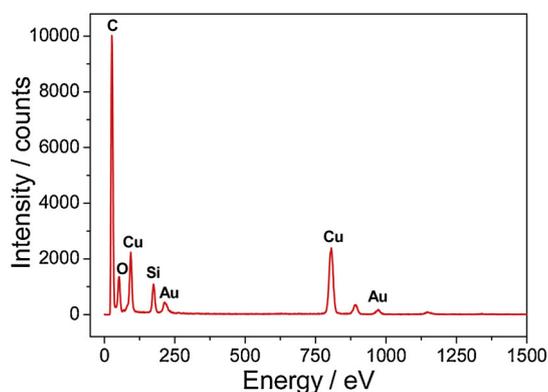


Fig. 3. X-ray powder diffractograms showing simulated pattern of Cu-BTC crystals (a) and patterns recorded for Cu-BTC nanoparticles (b), and Au@Cu-BTC nanocomposite (c).

TEM image of Au@Cu-BTC (Fig. 2c), when the XRD patterns of Cu-BTC nanoparticles and Au@Cu-BTC nanocomposites were compared to the theoretical pattern calculated on the basis of the Cu-BTC structure (Fig. 3), no peaks corresponding to extraneous material could be detected in either of the MOFs. The failure to observe diffraction peaks associated with Au NPs can be attributed to their low concentration and/or reduced size, and suggests that the MOF structure was preserved even after Au NP encapsulation.



Thermograms of Cu-BTC and the Au@Cu-BTC nanocomposite (Fig. 4) revealed similar distinct mass loss events in both samples between 25 and 100 °C, corresponding to losses of water from the MOF surface and pores, and between 100 and 300 °C, corresponding to losses of water molecules from the MOF pores and coordinated with Cu^{2+} ions. The events observed between 300 and 900 °C may be attributed to the collapse of MOFs and decomposition of the organic ligand with subsequent formation of carbonaceous material. However, the TGA profiles of Cu-BTC (Fig. 4a) and Au@Cu-BTC (Fig. 4b) showed some differences as, for example, in the range 220–300 °C where loss of mass may also be due to incorporated PVP. Interestingly, the DTA profile of Au@Cu-BTC in this temperature range indicated a subtle exothermic effect, likely associated with thermo-oxidation of the Au NPs stabilizing polymer.

In the FTIR spectra of Cu-BTC and Au@Cu-BTC presented in Fig. 5, bands related to the ligand-metal coordination modes can be clearly observed. Bands at approximately 1648 and 1380 cm^{-1} are attributable to asymmetric and symmetrical stretching, respectively, of carboxylate groups (COO^-), while the band in the region of 763 cm^{-1} corresponds to Cu–O bond stretching and the broad band around 3440 cm^{-1} is characteristic of O–H bonds of water molecules. The absence of bands associated with stretching of the free ligand reinforces the hypothesis of purity of the obtained materials as indicated by XRD. Although the FTIR spectrum of the Au@Cu-BTC nanocomposite verified the integrity of its structure, a small band could be observed at approximately 1673 cm^{-1} (Fig. 5 insert) and this was attributed to C=O stretching related to the embedded PVP. This finding suggests that PVP not only protects Au NPs

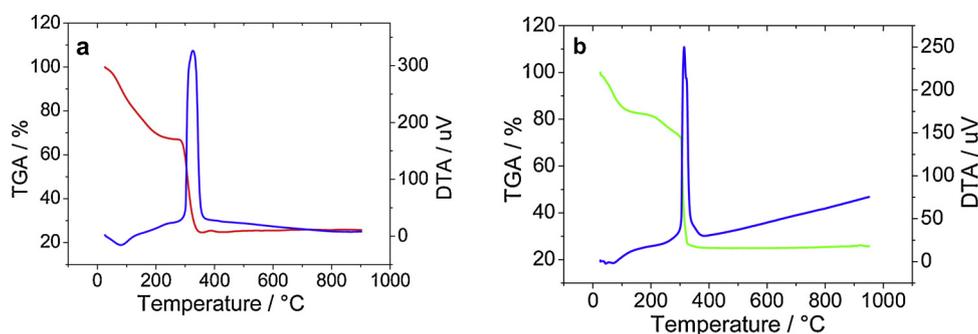


Fig. 4. Thermogravimetric analysis (TGA) and differential thermal analysis (DTA) of Cu-BTC nanoparticles (a) and Au@Cu-BTC nanocomposite (b).

from agglomeration but also exhibits affinity for Cu^{2+} ions and directs the formation of Cu-BTC crystals in synthesis solutions through weak interactions with the C=O groups and N atoms of the pyrrolidone rings [43].

3.2. Electrochemical oxidation of GSH on Au@Cu-BTC-modified GCE

The voltammogram obtained with a bare GCE at 20 mV s^{-1} in the presence of 0.1 mmol L^{-1} of GSH in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer (pH 3) exhibited two anodic peaks at around + 0.6 and + 0.8 V vs. Ag/AgCl (Fig. 6, green line), which may be attributed to the direct oxidation of the sulfhydryl group of GSH into sulfenic acid and subsequently sulfinic acid according to [44]:



where GSSG is a dimer. These two anodic peaks have been observed previously in the voltammogram of cysteine and ascribed to its direct oxidation [45], a finding that accounts for the electrochemical behavior of GSH since cysteine is a component of the tripeptide [46]. The cathodic peak detected at around -0.3 V vs. Ag/AgCl was attributed to the presence of dissolved oxygen.

Preliminary cyclic voltammetry studies performed with the MOF-modified GCE were carried out with an electrode treated with $0.0615 \text{ mg mL}^{-1}$ of Au@Cu-BTC. In the absence of GSH, the voltammogram exhibited a pair of anodic and cathodic peaks at ca. + 0.01 V and -0.1 V vs. Ag/AgCl, respectively (Fig. 6, blue line). These peaks are related to the redox reaction of Cu released from Au@Cu-BTC, since the same effect has been observed on exposure of a Cu-BTC-modified GCE to aqueous solution [20]. Upon addition of 0.1 mol L^{-1} of GSH,

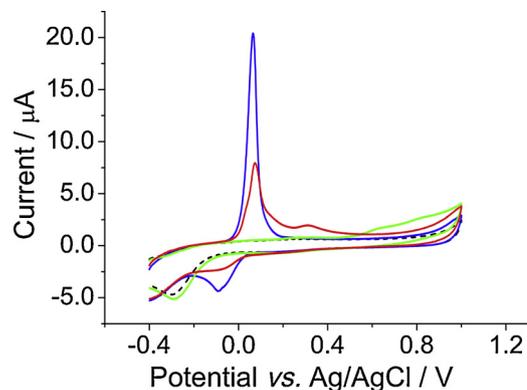


Fig. 6. Cyclic voltammograms recorded in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer (pH 3) at 20 mV s^{-1} with a bare GCE in the presence (green line) and absence (black dashed line) of 0.1 mmol L^{-1} of GSH, and with a GCE modified with $0.0615 \text{ mg mL}^{-1}$ Au@Cu-BTC in the presence (red line) and absence (blue line) of 0.1 mmol L^{-1} of GSH. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

these anodic and cathodic peaks decreased and an anodic oxidation peak appeared at ca. + 0.30 V vs. Ag/AgCl (Fig. 6, red line), signifying the consumption of Cu from the MOF and oxidation of the Cu (II)-GSH complex, respectively. The shift of potential to a less positive value in comparison with the direct oxidation of GSH (Fig. 6, green line) is related to the surface effects of the Cu (II)-GSH complex, as previously observed [36].

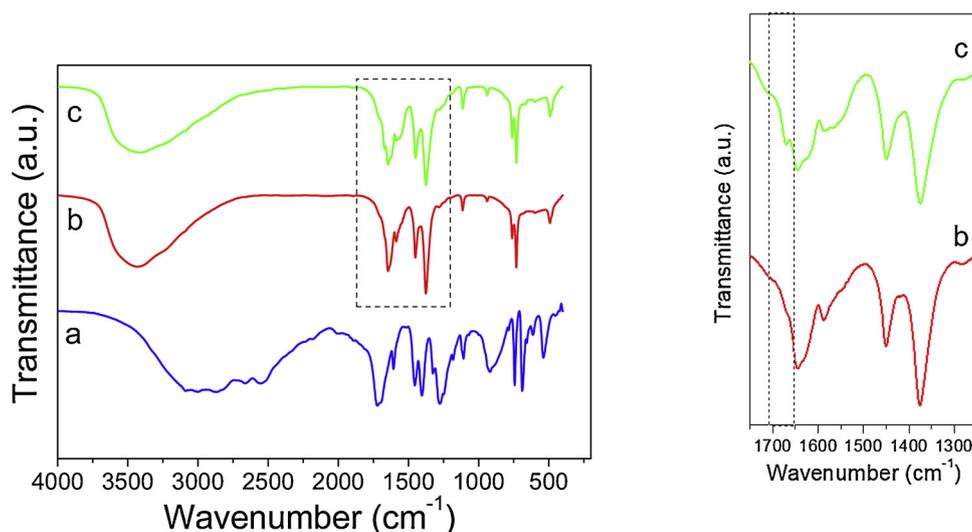


Fig. 5. Fourier transform infrared spectra of H_3BTC (a), Cu-BTC (b) and Au@Cu-BTC (c): the insert shows the spectra of Cu-BTC and Au@Cu-BTC expanded in the region 1700 to 1300 cm^{-1} .

3.3. Optimization of analytical parameters for GSH determination

Considering the need to develop a methodology to detect concentrations of GSH lower than $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, studies of the optimization of pH, nature of the supporting electrolyte, MOF concentration and deposition time were performed using square wave voltammetry, since this technique not only minimizes the capacitive current but also pre-concentrates Cu on the electrode surface [47]. The influence of pH on the oxidation of $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ GSH on a GCE modified with $0.0615 \text{ mg mL}^{-1}$ of Au@Cu-BTC was assessed in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solutions with pH values ranging between 2 and 7 (Fig. S1, Supplementary data). For pH values in the range 2–5, two anodic peaks could be observed, the first in the region from ca. $+0.04$ to $+0.11 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ was attributed to the oxidation of Cu released from the MOF, and the second between ca. $+0.25$ and $+0.32 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ was associated with oxidation of the Cu (II)-GSH complex. When the pH of the buffer was increased to 6 and 7, the second anodic peak disappeared and the first peak was displaced to 0 and $-0.05 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, respectively. A pH of 3 was chosen for further studies because this condition facilitated the protonation of GSH and afforded a wave with high peak current (I_p) [48]. Studies at pH values > 7 were not performed since Cu ions were oxidized to copper oxide and the Cu-GSH complex was not formed under these conditions [49].

In order to determine the effect of the supporting electrolyte on the oxidation of $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ GSH on a GCE modified with Au@Cu-BTC, voltammograms were measured in 0.1 mol L^{-1} phosphate, formate and chloride buffers, each at pH 3 (Fig. S2, Supplementary data). The voltammograms showed that the best separation of the anodic peaks associated with the oxidation of Cu and the Cu (II)-GSH complex was obtained using phosphate buffer. This finding is important because peak overlap increases the difficulty in establishing a baseline from which to determine the value of I_p .

The influence of MOF concentration at the electrode surface on the oxidation of $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ GSH was determined by recording square wave voltammograms using GCEs modified with concentrations of Au@Cu-BTC in the range 0.0615 – 6.15 mg mL^{-1} (Fig. S3, Supplementary data). The results revealed that the maximum I_p at ca. $+0.25 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ was achieved when the Au@Cu-BTC concentration was increased to 0.461 mg mL^{-1} , following which I_p decreased drastically, probably because of surface saturation of the electrode.

The effects of deposition times in the range 30–300 s on the oxidation of $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ GSH were studied using a GCE modified with 0.461 mg mL^{-1} of Au@Cu-BTC (Fig. S4, Supplementary data). The I_p associated with oxidation of the Cu (II)-GSH complex increased with increasing deposition times up to 240 s, but no further significant changes were observed thereafter. In light of the results outlined above, all subsequent experiments were carried out in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer at pH 3 using a GCE modified with 0.461 mg mL^{-1} of Au@Cu-BTC and a deposition time of 240 s.

3.4. Reaction mechanism

Cyclic voltammograms are governed by adsorption or diffusion-controlled processes and the systematic analysis of the dependence of I_p on scan rate can provide evidence to distinguish between these two mechanisms. In the surface-controlled process, the specie is attached to the surface of the electrode and I_p intensity is directly proportional to scan rate. In contrast, in processes governed by diffusion, I_p increases with the square root of the scan rate [47]. In order to understand the mechanism of oxidation of Cu in the presence of GSH using a Au@Cu-BTC-modified GCE, cyclic voltammograms were performed at scan rates ranging from 10 to 50 mV s^{-1} (Fig. S5, Supplementary data). In the presence of $5.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ GSH, the anodic I_p at ca. $+0.25 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ increased proportionally with scan rate, a behavior that is consistent with surface-bound species on the GCE [47], as previously observed for the oxidation of GSH on an unmodified GCE in the presence of Cu^{2+}

ions [36].

The square wave voltammogram obtained for the oxidation of $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ GSH in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer (pH 3) using a Au@Cu-BTC-modified GCE (with $1.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ of Cu (II) ion available in the nanocomposite) exhibited a higher I_p than that recorded using a bare GCE with $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ of Cu^{2+} added to the analyte solution (Fig. S6, Supplementary data). This implies a significant increase in sensitivity even though the amount of Cu (II) ion in the nanocomposite was some seven-fold lower than that in the supplemented solution. The enhancement of sensitivity can be attributed to the effect of the gold nanoparticles incorporated into Cu-BTC structure. These particles tend to be released from the composite and deposited onto the GCE surface [50], thereby providing a more favorable environment for the deposition of reduced Cu [51]. In this manner, the concentration of Cu^0 deposited onto the Au⁰/GCE surface is much higher than that deposited on the surface of the bare GCE.

The sequential steps that occur during electrode modification and GSH oxidation may be summarized as follows: (i) Au@Cu-BTC is adsorbed onto the surface of the GCE surface; (ii) the nanocomposite decomposes in buffer at pH 3 releasing Cu^{2+} ions and Au^0 particles that deposit onto the GCE surface; (iii) application of a potential of $+0.05 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ causes the Cu^{2+} ions to be reduced to Cu^0 and deposited onto the Au^0 particles on the electrode surface; (iv) in the course of an anodic scan from $+0.05$ to $+0.6 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, Cu^0 is oxidized to Cu^+ , which complexes with GSH to form $(\text{Cu-SG})^+$ that is adsorbed onto the electrode surface, and (v) the GSH complex is oxidized at the electrode surface according to:



3.5. Figures of merit for the determination of GSH

In order to quantify the amount of GSH in a sample of dietary supplement, a calibration curve was constructed by performing square wave voltammetry using a GCE modified with 0.461 mg mL^{-1} Au@Cu-BTC, a deposition time of 240 s and concentrations of analyte ranging from 1 to $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer at pH 3 (Fig. 7a). The plot of anodic I_p at ca. $+0.25 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ against GSH concentration in the range 1.0 and $10.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ revealed a linear association with a mean relative standard deviation of 1.21 % ($n = 3$) (Fig. 7a insert). The best-fit line within the linear dynamic range (LDR) followed the relationship:

$$I_p / \mu\text{A} = (0.89 \pm 0.02) [\text{GSH}] / \mu\text{mol L}^{-1} \quad (R^2 = 0.997) \quad (3.3)$$

The limit of detection (LOD) was calculated according to the formula [52]:

$$\text{LOD} = \frac{3\sigma}{S} \quad (3.4)$$

(where σ is the standard deviation and S is the sensitivity) and gave a value of $0.3 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($n = 3$), which is compatible with the linear range of the method. The repeatability of the sensor investigated over eight successive assays of different solutions containing $10.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ GSH was 2.14 %.

3.6. Application of the method to dietary supplement

The usefulness of the proposed method was evaluated by applying the modified electrode to the determination of GSH concentration in a commercial dietary supplement containing 250 mg of analyte per tablet. Pre-determined amounts of GSH (1.0 – $4.0 \mu\text{mol L}^{-1}$) were transferred to solutions of the commercial tablet containing $4.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ of GSH in 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer at pH 3. The square wave voltammograms obtained (Fig. 7b) showed that the anodic I_p increased with respect to GSH concentration in accordance with the linear

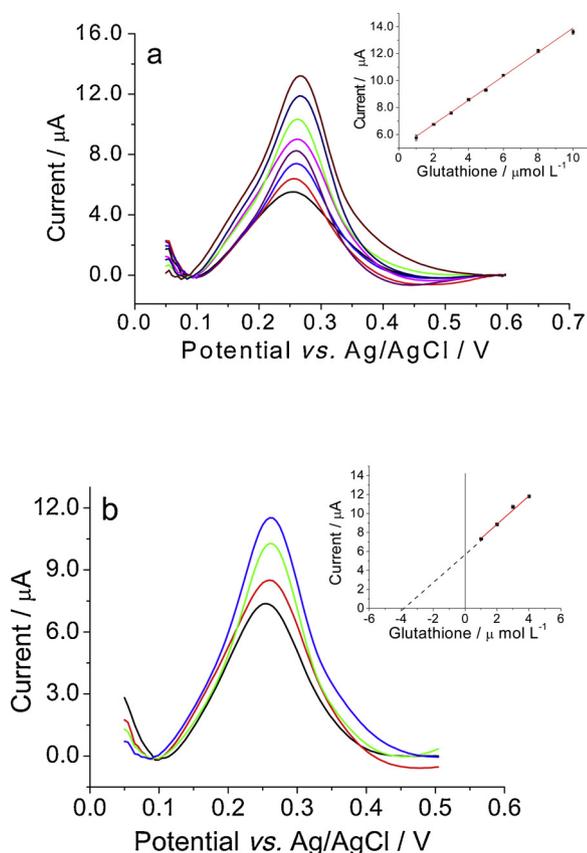


Fig. 7. Square wave voltammograms obtained using a Au@Cu-BTC-modified GCE in the presence of 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer at pH 3 containing different concentrations of GSH as follows: (a) Calibration plot: $1.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (black line), $2.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (red line), $3.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (light blue line), $4.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (purple line), $5.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (pink line), $6.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (green line), $8.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (dark blue line) and $10.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (brown line), and (b) Dietary supplement analysis: $1.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (black line), $2.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (red line), $3.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (green line) and $4.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (blue line). The inserts show anodic peak current as a function of GSH concentration. The experimental conditions were: deposition time, 240 s; Au@Cu-BTC concentration, 0.461 mg mL^{-1} ; frequency, 15 Hz; step potential, 5 mV; pulse amplitude, 50 mV. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

relationship:

$$I_p / \mu\text{A} = (1.49 \pm 0.06) [\text{standard GSH}] / \mu\text{mol L}^{-1} \quad (R^2 = 0.995) \quad (3.5)$$

Extrapolation of the best-fit line to zero current (Fig. 7b insert) afforded a concentration of $3.93 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ of GSH, implying a recovery of 98.2 %.

For comparison purposes, the characteristics of different voltammetric techniques for the detection of GSH using GCEs are presented in Table 1. Among these methods, only entries 1, 5 and 6 exhibited LOD values better than that attained with the proposed methodology. However, regarding the use of a bare GCE (entry 1), the Cu (II) ions necessary for the oxidation reaction must be added to the solution prior to analysis, thus introducing more steps into the procedure with further possibilities of error in the procedure. In the method described herein, Cu ions are furnished by the previously prepared modified GCE, and this characteristic will be very useful when the methodology is extended to commercially produced screen-printed electrodes. Considering method 5, modification of an electrode with triptycene orthoquinone requires an additional step involving deposition of single-walled carbon nanotubes onto the GCE, a process that is costly in comparison with the proposed methodology. Finally, the electrode

Table 1

Characteristics of published electrochemical techniques for the quantification of glutathione using glassy carbon electrodes (GCE).

	Modification of GCE	Method	LDR ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Reference
1	None	CV	1-10	0.14	[36]
2	DEPD	CV	20-100	6.24	[53]
3	Catechol	CV	6-59	1	[54]
4	GSH-SOx/Os-PVP	CV	1-200	0.5	[55]
5	SWCNT/TOQ	CV	0.07-500	0.07	[56]
6	CoTSPc-PLL	CV	0.05-2.16	0.02	[57]
7	Caffeic acid	CV	$0.3-5 \times 10^3$	2.2	[58]
8	Au@Cu-BTC	SWV	1-10	0.3	This work

Au@Cu-BTC, copper-1,3,5-benzenetricarboxylate impregnated with spherical gold nanoparticles; CoTSPc-PLL, cobalt tetrasulfonated phthalocyanine immobilized on poly(L-lysine) film; CV, cyclic voltammetry; DEPD, *N,N*-diethyl-*p*-phenylenediamine; GSH-SOx, glutathione sulfhydryl oxidase; LDR, linear dynamic range; LOD, limit of detection; Os-PVP: osmium-polyvinylpyridine; SWCNT/TOQ, single-walled carbon nanotubes/synthetic triptycene orthoquinone; SWV, square wave voltammetry.

modification required in method 6 involves the use of cobalt-tetra-sulfonated phthalocyanine, a very toxic dye [59], and the LDR of the technique is very narrow.

4. Conclusions

The present study has demonstrated that immobilization of Au@Cu-BTC onto the surface of a GCE enables construction of a sensor for the detection of GSH with an excellent LOD ($0.30 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) and sensitivity ($0.89 \pm 0.02 \text{ } \mu\text{A } \mu\text{mol L}^{-1}$). The superior characteristics of the modified GCE are due to the formation of a Cu (II)-GSH complex and the use of gold nanoparticles in conjunction with an MOF that enhances their conductivity leading to a significant increase in the analytical signal. The linear dynamic range from $1.0-10.0 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$, the low overpotential and the good recovery (98.2 %) obtained in the analysis of a dietary supplement suggests that the new electrode represents a feasible alternative for application in the analytical determination of GSH in commercial samples. Future work will be carried out to extend this procedure to screen-printed electrodes for use in quality control during the manufacture of products based on GSH.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

The authors thank José Yago Rodrigues for help with the SEM imaging and the Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) for TEM and XRD experiments. NVAf, WSS, SAJ and MCCA wish to thank the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for financial support (Programa de Apoio a Núcleos de Excelência - Pronex/APQ-0675-1.06/14 and Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia - INCT/APQ-0549-1.06/17). Financial assistance from FCT/MEC co-financed by FEDER under Partnership Agreement PT2020 (UID/MULTI/04378/2013—POCI/01/0145/FEDER/007728) together with Norte Portugal Regional Coordination and Development Commission (CCDR-N)/NORTE2020/Portugal 2020 (Norte-01-0145-FEDER-000024) and POCI-01-0145-FEDER-031322 is gratefully acknowledged.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.127636>.

References

- [1] C.H. Hendon, A.J. Rieth, M.D. Korzyński, M. Dincă, Grand challenges and future opportunities for metal-organic frameworks, *ACS Cent. Sci.* 3 (2017) 554–563, <https://doi.org/10.1021/acscentsci.7b00197>.
- [2] A. Dhakshinamoorthy, H. Garcia, Metal-organic frameworks as solid catalysts for the synthesis of nitrogen-containing heterocycles, *Chem. Soc. Rev.* 43 (2014) 5750–5765, <https://doi.org/10.1039/c3cs60442j>.
- [3] B. Xiao, Q. Yuan, Nanoporous metal organic framework materials for hydrogen storage, *Particuology* 7 (2009) 129–140, <https://doi.org/10.1016/j.partic.2009.01.006>.
- [4] S.P. Gavrih, Y.D. Lampeka, Heterophase synthesis of the high-porosity metal-organic framework compound copper(II) benzenetricarboxylate and its composite with phosphotungstic acid, *Theor. Exp. Chem.* 49 (2013) 130–134, <https://doi.org/10.1007/s11237-013-9306-x>.
- [5] N. Schäfer, F. Kaptejin, M.A. Van Der Veen, K.F. Domke, Understanding the inhibiting effect of BTC on CuBTC growth through experiment and modeling, *Cryst. Growth Des.* 17 (2017) 5603–5607, <https://doi.org/10.1021/acs.cgd.7b00938>.
- [6] G. Lu, O.K. Farha, L.E. Kreno, P.M. Schoencker, K.S. Walton, R.P. Van Duyne, J.T. Hupp, Fabrication of metal-organic framework-containing silica-colloidal crystals for vapor sensing, *Adv. Mater.* 23 (2011) 4449–4452, <https://doi.org/10.1002/adma.201102116>.
- [7] S. Bordiga, L. Regli, F. Bonino, E. Groppo, C. Lamberti, B. Xiao, P.S. Wheatley, R.E. Morris, A. Zecchina, Adsorption properties of HKUST-1 toward hydrogen and other small molecules monitored by IR, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 9 (2007) 2676–2685, <https://doi.org/10.1039/b703643d>.
- [8] Y. Mao, L. Shi, H. Huang, Q. Yu, Z. Ye, X. Peng, Mesoporous separation membranes of $\{[\text{Cu}(\text{BTC}-\text{H}_2)(\text{H}_2\text{O})_2]\cdot 3\text{H}_2\text{O}\}$ nanobelts synthesized by ultrasonication at room temperature, *CrystEngComm* 15 (2013) 265–270, <https://doi.org/10.1039/C2CE26302E>.
- [9] N. Al-Janabi, P. Hill, L. Torrente-Murciano, A. Garforth, P. Gorgojo, F. Siperstein, X. Fan, Mapping the Cu-BTC metal-organic framework (HKUST-1) stability envelope in the presence of water vapour for CO_2 adsorption from flue gases, *Chem. Eng. J.* 281 (2015) 669–677, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.020>.
- [10] M. Schlesinger, S. Schulze, M. Hietschold, M. Mehring, Evaluation of synthetic methods for microporous metal-organic frameworks exemplified by the competitive formation of $[\text{Cu}_2(\text{btc})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ and $[\text{Cu}_2(\text{btc})(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})]$, *Microporous Mesoporous Mater.* 132 (2010) 121–127, <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2010.02.008>.
- [11] Y.R. Lee, J. Kim, W.S. Ahn, Synthesis of metal-organic frameworks: a mini review, *Korean J. Chem. Eng.* 30 (2013) 1667–1680, <https://doi.org/10.1007/s11814-013-0140-6>.
- [12] N. Al-Janabi, A. Alfutimie, F.R. Siperstein, X. Fan, Underlying mechanism of the hydrothermal instability of $\text{Cu}_3(\text{BTC})_2$ metal-organic framework, *Front. Chem. Sci. Eng.* 10 (2016) 103–107, <https://doi.org/10.1007/s11705-015-1552-0>.
- [13] P. Kumar, A. Deep, K.H. Kim, Metal organic frameworks for sensing applications, *TrAC Trends Anal. Chem.* 73 (2015) 39–53, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.009>.
- [14] S. Wang, Y. Hou, S. Lin, X. Wang, Water oxidation electrocatalysis by a zeolitic imidazolate framework, *Nanoscale* 6 (2014) 9930–9934, <https://doi.org/10.1039/c4nr02399d>.
- [15] H. Hosseini, H. Ahmar, A. Dehghani, A. Bagheri, A. Tadjarodi, A.R. Fakhari, A novel electrochemical sensor based on metal-organic framework for electro-catalytic oxidation of L-cysteine, *Biosens. Bioelectron.* 42 (2013) 426–429, <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.09.062>.
- [16] Y. Wang, H. Ge, Y. Wu, G. Ye, H. Chen, X. Hu, Construction of an electrochemical sensor based on amino-functionalized metal-organic frameworks for differential pulse anodic stripping voltammetric determination of lead, *Talanta* 129 (2014) 100–105, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.05.014>.
- [17] J. Mao, L. Yang, P. Yu, X. Wei, L. Mao, Electrocatalytic four-electron reduction of oxygen with copper (II)-based metal-organic frameworks, *Electrochem. Commun.* 19 (2012) 29–31, <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2012.02.025>.
- [18] I. Petean, G. Tomoaia, O. Horovitz, A. Mocanu, M. Tomoaia-Cotisel, Cysteine mediated assembly of gold nanoparticles, *J. Optoelectron. Adv. Mater.* 10 (2008) 2289–2292.
- [19] H. Hosseini, H. Ahmar, A. Dehghani, A. Bagheri, A.R. Fakhari, M.M. Amini, Electrochimica Acta Au-SH-SiO₂ 2 nanoparticles supported on metal-organic framework (Au-SH-SiO₂ @ Cu-MOF) as a sensor for electrocatalytic oxidation and determination of hydrazine, *Electrochim. Acta* 88 (2013) 301–309, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.10.064>.
- [20] W. Silva Vasconcelos, G.G. da Silva, S. Alves Junior, J.V. dos Anjos, M.C. da Cunha Areias, Voltammetric determination of captopril on a glassy carbon electrode modified with copper metal-organic framework, *Electroanalysis* 29 (2017) 2572–2578, <https://doi.org/10.1002/elan.201700384>.
- [21] M. Ahmed, Synthesis and structural analysis of copper (II) glutathione complexes via Cu-S linkage, *World Appl. Sci. J.* 29 (11) (2014) 1357–1362, <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2014.29.11.1648>.
- [22] G. Wu, Y.-Z. Fang, S. Yang, J.R. Lupton, N.D. Turner, Glutathione metabolism and its implications for health, *J. Nutr.* 134 (2004) 489–492, <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.489>.
- [23] J. Sastre, F.V. Pallardó, J. Viña, Glutathione, oxidative stress and aging, *Age (Omaha)* 19 (1996) 129–139, <https://doi.org/10.1007/BF02434082>.
- [24] P.S. Samiec, C. Drews-Botsch, E.W. Flagg, J.C. Kurtz, P. Sternberg, R.L. Reed, D.P. Jones, Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes, *Free Radic. Biol. Med.* 24 (1998) 699–704, [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(97\)00286-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(97)00286-4).
- [25] K. Yoshida, J. Hirokawa, S. Tagami, Y. Kawakami, Y. Urata, T. Kondo, Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux, *Diabetologia* 38 (1995) 201–210, <https://doi.org/10.1007/BF00400095>.
- [26] M. Benhar, I.L. Shtytaj, J.S. Stamler, A. Savarino, Dual targeting of the thioredoxin and glutathione systems in cancer and HIV, *J. Clin. Invest.* 126 (2016) 1630–1639, <https://doi.org/10.1172/JCI85339>.
- [27] A.P. Mazzetti, M.C. Fiorile, A. Primavera, M. Lo Bello, Glutathione transferases and neurodegenerative diseases, *Neurochem. Int.* 82 (2015) 10–18, <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.01.008>.
- [28] J. Allen, R.D. Bradley, Effects of oral glutathione supplementation on systemic oxidative stress biomarkers in human volunteers, *J. Altern. Complement. Med.* 17 (2011) 827–833, <https://doi.org/10.1089/acm.2010.0716>.
- [29] S. Sonthalia, D. Daulatabad, R. Sarkar, Glutathione as a skin whitening agent: facts, myths, evidence and controversies, *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 82 (2016) 262, <https://doi.org/10.4103/0378-6323.179088>.
- [30] C.K. Sen, Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements, *Mol. Cell. Biochem.* 196 (1999) 31–42, <https://doi.org/10.1023/A:1006910011048>.
- [31] X. Wang, D. Chi, D. Song, G. Su, L. Li, L. Shao, Quantification of glutathione in plasma samples by HPLC using 4-fluoro-7-nitrobenzofuran as a fluorescent labeling reagent, *J. Chromatogr. Sci.* 50 (2012) 119–122, <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmr039>.
- [32] S. Marchand, G. de Revel, A HPLC fluorescence-based method for glutathione derivatives quantification in must and wine, *Anal. Chim. Acta* 660 (2010) 158–163, <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.09.042>.
- [33] T. Inoue, J.R. Kirchhoff, Determination of thiols by capillary electrophoresis with amperometric detection at a coenzyme pyroloquinoline quinone modified electrode, *Anal. Chem.* 74 (2002) 1349–1354, <https://doi.org/10.1021/ac0108515>.
- [34] D. Tsikas, M. Raida, J. Sandmann, S. Rossa, W.G. Forssmann, J.C. Frölich, Electro spray ionization mass spectrometry of low-molecular-mass S-nitroso compounds and their thiols, *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* 742 (2000) 99–108, [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(00\)00141-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(00)00141-9).
- [35] K. Ngamchuea, C. Batchelor-Mcauley, R.G. Compton, The copper(II)-Catalyzed oxidation of glutathione, *Chem. Eur. J.* 22 (2016) 15937–15944, <https://doi.org/10.1002/chem.201603366>.
- [36] M.C.C. Areias, K. Shimizu, R.G. Compton, Voltammetric detection of glutathione: an adsorptive stripping voltammetry approach, *Analyst* 141 (2016) 2904–2910, <https://doi.org/10.1039/C6AN00550K>.
- [37] J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hillier, The formation of colloidal gold, *J. Phys. Chem.* 57 (1953) 670–673, <https://doi.org/10.1021/ji50508a015>.
- [38] A.N. Grace, K. Pandian, One pot synthesis of polymer protected gold nanoparticles and nanoprims in glycerol, *Colloid. Surface. A* 290 (2006) 138–142, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.05.015>.
- [39] Y. Li, X. Li, Q. Guan, C. Zhang, T. Xu, Y. Dong, X. Bai, W. Zhang, Strategy for chemotherapeutic delivery using a nanosized porous metal-organic framework with a central composite design, *Int. J. Nanomed.* (2017) 1465–1474, <https://doi.org/10.2147/IJN.S119115>.
- [40] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed., John Wiley & Sons, INC., United States of America, 2000.
- [41] J.C. Harfield, C. Batchelor-Mcauley, R.G. Compton, Electrochemical determination of glutathione: a review, *Analyst* 137 (2012) 2285–2296, <https://doi.org/10.1039/c2an35090d>.
- [42] Y.A. Lenis, A.F. Agudelo, J.F. Pérez, Analysis of statistical repeatability of a fixed bed downdraft biomass gasification facility, *Appl. Therm. Eng.* 51 (2013) 1006–1016, <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2012.09.046>.
- [43] G. Lu, S. Li, Z. Guo, O.K. Farha, B.G. Hauser, X. Qi, Y. Wang, S. Han, X. Liu, J.S. Duchene, H. Zhang, Q. Zhang, X. Chen, J. Ma, S.C.J. Loo, W.D. Wei, Y. Yang, J.T. Hupp, F. Huo, Imparting functionality to a metal-organic framework material by controlled nanoparticle encapsulation, *Nat. Chem.* 4 (2012) 310–316, <https://doi.org/10.1038/nchem.1272>.
- [44] T.A. Enache, A.M. Oliveira-Brett, Boron doped diamond and glassy carbon electrodes comparative study of the oxidation behaviour of cysteine and methionine, *Bioelectrochemistry* 81 (2011) 46–52, <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2011.02.001>.
- [45] M.C.C. Areias, K. Shimizu, R.G. Compton, Cysteine determination via adsorptive stripping voltammetry using a bare glassy carbon electrode, *Analyst* 141 (2016) 5563–5570, <https://doi.org/10.1039/C6AN01413E>.
- [46] G. Mcbean, Cysteine, glutathione, and thiol redox balance in astrocytes, *Antioxidants* 6 (2017) 62, <https://doi.org/10.3390/antiox6030062>.
- [47] R.G. Compton, C.E. Banks, *Understanding Voltammetry*, 2nd edition, Imperial College Press, 2010, <https://doi.org/10.1142/P726>.
- [48] J. Dong, S. Huo, S. Shen, J. Xu, T. Shi, L.I. Elding, Reactivity of the glutathione species towards the reduction of ormaplatin (or tetraplatin), *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 26 (2016) 4261–4266, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.07.046>.
- [49] A.H. Chughtai, N. Ahmad, H.A. Younus, A. Laypkov, F. Verpoort, Metal-organic frameworks: versatile heterogeneous catalysts for efficient catalytic organic transformations, *Chem. Soc. Rev.* 44 (2015) 6804–6849, <https://doi.org/10.1039/c4cs00395k>.

- [50] J. Duan, D. He, W. Wang, Y. Liu, H. Wu, Y. Wang, M. Fu, Glassy carbon electrode modified with gold nanoparticles for ractopamine and metaproterenol sensing, *Chem. Phys. Lett.* 574 (2013) 83–88, <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2013.04.057>.
- [51] L.Y. Cao, P. Diao, T. Zhu, Z.F. Liu, Uniform electrochemical deposition of copper onto self-assembled gold nanoparticles, *J. Phys. Chem. B* 108 (2004) 3535–3539, <https://doi.org/10.1021/jp036688u>.
- [52] J. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Prentice Hall, 2005.
- [53] O. Nekrassova, P.C. White, S. Threlfell, G. Hignett, A.J. Wain, N.S. Lawrence, J. Davis, R.G. Compton, An electrochemical adaptation of Ellman's test, *Analyst* 127 (2002) 797–802, <https://doi.org/10.1039/b202780c>.
- [54] N.S. Lawrence, J. Davis, R.G. Compton, Electrochemical detection of thiols in biological media, *Talanta* 53 (2001) 1089–1094, [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00579-8](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00579-8).
- [55] L. Mao, K. Yamamoto, Amperometric biosensor for glutathione based on osmium-polyvinylpyridine gel polymer and glutathione sulfhydryl oxidase, *Electroanalysis* 12 (2000) 577–582, [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(200005\)12:8<577::AID-ELAN577>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(200005)12:8<577::AID-ELAN577>3.0.CO;2-9).
- [56] K. Gong, X. Zhu, R. Zhao, S. Xiong, L. Mao, C. Chen, Rational attachment of synthetic triptycene orthoquinone onto carbon nanotubes for electrocatalysis and sensitive detection of thiols, *Anal. Chem.* 77 (2005) 8158–8165, <https://doi.org/10.1021/ac0512397>.
- [57] R. De Cássia Silva Luz, F.S. Damos, P.G. Gandra, D.V. De MacEdo, A.A. Tanaka, L.T. Kubota, Electrocatalytic determination of reduced glutathione in human erythrocytes, *Anal. Bioanal. Chem.* 387 (2007) 1891–1897, <https://doi.org/10.1007/s00216-006-1053-6>.
- [58] P.T. Lee, R.G. Compton, Electrochemical detection of NADH, cysteine, or glutathione using a caffeic acid modified glassy carbon electrode, *Electroanalysis* 25 (2013) 1613–1620, <https://doi.org/10.1002/elan.201300145>.
- [59] A.R. Karimi, B. Rostamizhad, A. Khodadadi, Effective removal of a cobalt-tetra-sulfonated phthalocyanine dye from an aqueous solution with a novel modified chitosan-based superabsorbent hydrogel, *J. Appl. Polym. Sci.* 135 (16) (2018) 1–10, <https://doi.org/10.1002/app.46167>.

Nadja Vanessa de Almeida Ferraz is professor of Physiotherapy at Maurício de Nassau University - Campina Grande, Brazil. She holds a degree of Physiotherapist by the State University of Paraíba, Brazil, Master of Materials Science at Federal University of Pernambuco, Brazil and, PhD in Biotechnology in Health by the Northeast Network of Biotechnology from Federal University of Pernambuco, Brazil. She completed post-doctoral internships at University of Porto, Portugal. She has 1 patent and, is author or co-author of 5 publications in specialized journals.

Wellyton Silva Vasconcelos is a professor of Basic, Technical and Technological Education of the Federal Institute of Education, Science and Technology of the State of Pernambuco, Pesqueira unit, Brazil. He holds a bachelor's degree in Chemistry from the Vale do Acaraú State University, Ceará, Brazil and, a master's degree in Electroanalytical Chemistry from the Federal University of Pernambuco, Brazil. He is currently a PhD student in Electroanalytical Chemistry by the Federal University of Pernambuco, Brazil. He has experience in Analytical Chemistry, with emphasis on Electroanalytical sensors. He has 1 patent and, is author or co-author of 3 publications in specialized journals.

Cecília Santos Silva is post-doctoral internships at Federal University of Pernambuco, Brazil. She holds a bachelor's degree in Chemistry from the Federal University of Sergipe,

Brazil, master's degree in Chemistry from the Federal University of Sergipe, Brazil and, Ph.D. in Chemistry from the Federal University of Pernambuco, Brazil. She has experience in synthesis and characterization of materials, develops scientific work in inorganic chemistry, working mainly on the following topics: interaction of textile fibers and drugs with coordination polymers, photothermal conversion and drug release. She is author or co-author of 3 publications in specialized journals.

Severino Alves Junior is Professor of Chemistry at the Department of Fundamental Chemistry of the Federal University of Pernambuco, Brazil where he is a Leader Group of the Rare Earth Laboratory. He holds a bachelor's degree in Chemistry from the Federal University of Rio Grande do Norte, Brazil and a PhD in Chemistry from the Federal University of Pernambuco, Brazil. He completed post-doctoral internships at CIS Bio International Division *in vitro* Technologies, CIS BIO, and at the Faculty of Pharmacy of the University of Porto, Portugal. His research focuses on luminescence of complexes with lanthanide ions; incandescence; solar concentrators; synthesis of supramolecules; photon markers for the auxiliary diagnosis of breast and prostate cancer; metal organic frameworks and covalent organic frameworks, gun shoot residue markers and use of metal organic frameworks in sorption of drugs, pesticides and dyes as well as in the synthesis of hydrogels, bioinspired, focused on the theranostic of the cancer. He has 18 patents and, is author or co-author of more than 180 publications in specialized journals.

Célia Maria Pinto Gomes Amorim is Auxiliary Professor at the Department of Chemical Sciences of the Faculty of Pharmacy of the University of Porto, Portugal. She obtained her PhD in Pharmaceutical Sciences in 2009 at University of Porto, Faculty of Pharmacy. She teaches classes of Inorganic Chemistry, Analytical Chemistry, Physical Chemistry and Applied Physics, Instrumental Methods of Analysis and Applied Physics. Her research interests are related to several aspects of automation for analytical control using flow analysis techniques coupled to potentiometric detection, namely chromatography with potentiometric detection. Lately she has been working in the development of semi-permeable polymeric membranes for biological and environmental samples. She is the author of more than 24 scientific publications indexed in the Science Citation Index.

Maria da Conceição Branco da Silva de Mendonça Montenegro is Senior Lecturer in Chemical Sciences since 1979 at Faculty of Pharmacy, Oporto University. She obtained her PhD in Pharmaceutical Chemistry in 1991 at University of Porto. Until now has published about 167 scientific papers, most of them related with electroanalytical sensors. Her main research interests are in the development of (bio) sensors with potentiometric or electrochemical transduction and development and validation of analytical methods for clinical analysis. Her current research activity is also focused on the development of polymeric membranes for biological and environmental samples separation and also detection purposes.

Madalena Carneiro da Cunha Areias is Professor of Chemistry at the Department of Fundamental Chemistry of the Federal University of Pernambuco, Brazil where she is a Leader Group of the Electroanalytical Laboratory. She holds a degree in Industrial Chemistry from the Federal University of Pernambuco, Brazil and, obtained her Master and PhD degrees in Analytical Chemistry at the University of São Paulo, Brazil. She completed post-doctoral internships at Université Paris 12, France, University of Oxford, England and, University of Porto, Portugal. Her research focuses on electrochemical studies of organic reactions in aqueous media in graphite powder cell and, development of electrochemical sensors based on electrocatalytic effect of metals (Au, Ag, Cu); metal-organic frameworks and, organic compounds (thiols complexes, quinones) adsorbed on the carbon electrodes surface. She has 1 patent and, is author or co-author of 22 publications in specialized journals.