



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

ARTHUR SILVA ALVES

**ESTUDO ELETROANALÍTICO DO ÁCIDO ÚRICO E DA GUANINA SOBRE
ELETRODO DE CARBONO VÍTREO**

Recife

2024

ARTHUR SILVA ALVES

ESTUDO ELETROANALÍTICO DO ÁCIDO ÚRICO E DA GUANINA SOBRE
ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

Monografia apresentada a coordenação do curso de Licenciatura em Química, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Severino Bezerra de Oliveira

Recife

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- A474e Alves, Arthur Silva
Estudo eletroanalítico do ácido úrico e da guanina sobre eletrodo de carbono vítreo / Arthur Silva Alves.
2024.
65 f. : il.
- Orientador: Severino Carlos Bezerra de Oliveira.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Licenciatura em Química, Recife, 2024.
1. Ácido úrico. 2. Guanina. 3. Eletrodo de carbono vítreo. 4. Análise simultânea. I. Oliveira, Severino
Carlos Bezerra de, orient. II. Título

CDD 540

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

FOLHA DE APROVAÇÃO

ARTHUR SILVA ALVES

**ESTUDO ELETROANALÍTICO DO ÁCIDO ÚRICO E DA GUANINA SOBRE
ELETRODO DE CARBONO VÍTREO**

Aprovado em: _____.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Severino Carlos Bezerra de Oliveira – Orientador

Departamento de Química – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Katia Cristina Silva De Freitas – 1ª Avaliadora

Departamento de Química – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. André Liesen Nascimento – 2ª Avaliador

Departamento de Química – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico este trabalho aos meus familiares e amigos

AGRADECIMENTOS

Gostaria inicialmente de agradecer a Deus, pelo sopro divino, pela proteção e por permitir ter alcançado este marco na minha vida e pelas oportunidades que no tempo dele, me permitiu que eu as aproveitasse.

A minha mãe Maria do Socorro, por ter me colocado neste mundo, ter dado as bases da vida, por ter sido guerreira, por ter cuidado de mim e do meu irmão Thiago, sendo doméstica, com muito esforço, nos trilhou na vida.

Ao meu irmão Thiago Rodrigo por ter cuidado de mim e ter me permitido alcançar esta conquista, te amo meu irmão, Deus te abençoe grandemente!

Ao meu pai, Alexandre Vicente, ao meu irmão Diego Ribeiro, a minha avó Severina (Vó Bui) e a minha avó Josefa (Vovó Dedé), aos meus tios Alex, Sergio, José Carlos (Dé), Cícero Silva (Deda), Sandra, Aliane (Lane), Elenir (Ni) e Elenice (Nice), pelo apoio, força e incentivo.

Ao meu orientador ao longo de mais de três anos, o Prof. Dr. Severino Carlos, por ter me aberto as portas na pesquisa na área de química analítica e do Laboratório de Eletroanalítica e Bioeletroquímica (LEB) e por conseqüentemente ter vivido momentos incríveis lá e por toda a paciência, orientação e contribuições na experimentação e na escrita deste e de outros trabalhos.

Aos amigos do LEB, Alex Pedro, José Eudes, José Ailton, José Gouveia, Maysa Lima, Wellington, Gloria e aos que saíram, Nathália Lopes, Carlos Mendes, Maycom Williams, Severino neto, pelas conversas, companhia, ensinamentos, aprendizados, pela força e incentivo durante estes mais de três anos juntos.

Não poderia deixar de agradecer aos professores Cláudio Câmara e Marcílio Martins, por abrirem as portas do laboratório de produtos naturais e bioativos (LPNbio), por pelos momentos que lá vivi e da pesquisa na área de entomologia agrícola, por terem me orientado, por quase três anos, pela paciência, pelos conselhos e pelas broncas.

Aos amigos que fiz no LPNbio, Carolina Araújo, Milena Martins, Lucas Vitor, Carolina Bismarck, José Selva, Rodrigo Bastos, Tchiara Alves, pelos momentos vividos, pela ajuda e por terem me incentivado e dado forças durante a minha passagem por lá.

Aos amigos que eu fiz na graduação, “os pais do fogo”, Francisco de Assis (Chico), Natanael de Alencar, Luidje Lopes e Cayo Felipe, por tornar a lida na

universidade mais alegre, as conversas jogadas fora os rolês aleatórios, as carreiras levadas e “os churras”.

“A persistência é o menor caminho do êxito”. (Charles Chaplin)

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo principal demonstrar a atividade eletroquímica do AU e da GUA, em diferentes meios aquosos, sobre o eletrodo de carbono vítreo (ECV), através de diferentes técnicas voltamétricas, nomeadamente a voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (VOQ). Os resultados foram explorados para detecção e quantificação simultânea dessas espécies utilizando VPD. Além disso, os resultados experimentais serão utilizados para preparação de um material didático para aulas teóricas e práticas em disciplinas de eletroquímica e eletroanalítica ofertadas no Departamento de Química da UFRPE. Os resultados indicaram claramente que ambas as moléculas são facilmente eletro-oxidadas a partir de mecanismos complexos e com várias etapas. A oxidação do AU ocorreu a partir de um processo anódico principal (pico 1a), com a perda de dois elétrons e dois prótons, gerando uma di-imina quinonóide, que sofreu parcialmente eletrorredução (pico 1c) e/ou reagiu com a água gerando a alantoína. A GUA sofreu eletro-oxidação no N7 (pico 1a), formando um dímero eletroativo (pico 2a) e/ou 8-oxoguanina, eletrorreduzida reversivelmente (pico 3c/3a). Ambos AU e GUA apresentaram que seus processos anódicos foram controlados a partir de um transporte de massa via difusão. Em condições adequadas o AU e GUA foram detectados e quantificados simultaneamente em pH neutro, utilizando VPD. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para o AU foram de $\text{LOD} = 0,51 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $\text{LOQ} = 1,70 \mu\text{mol L}^{-1}$ e para GUA foram de $0,82 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $2,73 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Palavras Chaves: Ácido Úrico, Guanina, Eletrodo de Carbono Vítreo, Análise Simultânea.

ABSTRACT

The main objective of this work was to demonstrate the electrochemical activity of UA and GUA, in different aqueous media, on the glassy carbon electrode (GCE), through different voltammetric techniques, namely cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV) and square wave voltammetry (SWV). The results were exploited for simultaneous detection and quantification of these species using DPV. Furthermore, the experimental results will be used to prepare teaching material for theoretical and practical classes in electrochemistry and electroanalytical subjects offered at the Department of Chemistry at UFRPE. The results clearly indicated that both molecules are easily electro-oxidized through complex, multi-step mechanisms. The oxidation of UA occurred from a main anodic process (peak 1a), with the loss of two electrons and two protons, generating a quinonoid diimine, which partially underwent electroreduction (peak 1c) and/or reacted with water generating allantoin. GUA underwent electro-oxidation in N7 (peak 1a), forming an electroactive dimer (peak 2a) and/or 8-oxoguanine, reversibly electroreduced (peak 3c/3a). Both UA and GUA showed that their anodic processes were controlled from mass transport via diffusion. Under suitable conditions, UA and GUA were detected and quantified simultaneously at neutral pH, using DPV. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) for UA were $\text{LOD} = 0,51 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $\text{LOQ} = 1,70 \mu\text{mol L}^{-1}$ and for GUA they were $0.82 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $2.73 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Keywords: Uric Acid, Guanine, Glassy Carbon Electrode, Simultaneous Analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comparação entre as estruturas químicas da purina, do AU, da GUA, da ADE e da 8oxoGua.....	16
Figura 2. Estrutura das principais espécies tautoméricas e análogos aniônicos do AU.	19
Figura 3. Biossíntese do AU.....	20
Figura 4. Problemas relacionados a Hipo e hiperuricemia.	23
Figura 5. Estrutura das principais espécies tautoméricas e análogos catiônicos e aniônicos da GUA.	25
Figura 6. Biossíntese da GMF a partir da IMF.....	26
Figura 7. Reações indesejadas ocorridas com a GUA.	27
Figura 8. Sinal de excitação e voltamograma cíclico do ferricianeto de potássio ($K_3Fe(CN)_6$), $250 \mu mol L^{-1}$	31
Figura 9. Sinal de excitação para a técnica voltamétrica de PD.....	32
Figura 10. Sinal de excitação para a técnica voltamétrica de OQ.	33
Figura 11. Potenciostato modelo PGSTAT 302N.	35
Figura 12. Voltamogramas cíclicos no ECV do $[Fe(CN)_6]^{3-}$ $250 \mu mol L^{-1}$ em KCl $0,1 mol L^{-1}$, registrados em diferentes velocidades de varredura ($5-500 mV s^{-1}$).	36
Figura 13. Gráfico da I_{pa} vs. $v^{1/2}$ dos voltamogramas cíclicos do $[Fe(CN)_6]^{3-}$ em KCl, sobre o ECV, para diferentes velocidades ($5-500 mV s^{-1}$).....	38
Figura 14. Voltamogramas cíclicos sucessivos do AU $100 \mu mol L^{-1}$ sobre ECV em; (A) tampão acetato (pH = 4,3) e (B) tampão fosfato (pH = 7,0). Primeira varredura (—).	40
Figura 15. Varreduras sucessivas do AU em pH =7,0, tampão fosfato, em diferentes velocidades de varredura ($5-500 mV s^{-1}$).	41
Figura 16. Voltamograma sucessivos de PD do AU $100 \mu mol L^{-1}$ no ECV em: (A) tampão acetato (pH = 4,3) e (B) tampão fosfato (pH =7,0). Primeira varredura (—).	42
Figura 17. Voltamograma de OQ do AU $100 \mu mol L^{-1}$ sobre o ECV em: (A) e (C) em tampão acetato (pH = 4,3) e (B) e (D) tampão fosfato (pH = 7,0), (A) e (B) com a primeira varredura (—). Para (C) e (D), (—) varredura no sentido direto, (—) varredura no sentido inverso e (—) varredura resultante.	43
Figura 18. Mecanismo de eletro-oxidação do ácido úrico, para pH>pKa.	45

Figura 19. Voltamogramas cíclicos sucessivos da GUA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em ECV em: (A) tampão acetato, pH= 4,3 e (B) tampão fosfato, pH = 7,0. Primeira varredura (—)....	46
Figura 20. Varreduras sucessivas da GUA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH= 7,0, tampão fosfato, em diferentes velocidades de varredura (10-400 mV s^{-1}).....	47
Figura 21. Voltamogramas sucessivos de PD da GUA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ tamponada em tampão acetato, pH = 4,3 (A) e em tampão fosfato, pH = 6,99 (B). Primeira varredura (—).	48
Figura 22. Voltamograma de OQ da GUA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no ECV em: (A) e (C) tampão acetato (pH = 4,3) e (B) e (D) tampão fosfato (pH = 7,0). (A) e (B) com a primeira varredura (—). Para (C) e (D), (—) varredura no sentido direto, (—) varredura no sentido inverso e (—) voltamograma resultante.	49
Figura 23. Mecanismo de eletro-oxidação da GUA.	51
Figura 24. Voltamogramas cíclicos, de PD e de OQ em uma solução com de AU e GUA 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato, pH = 7,0.	52
Figura 25. Voltamograma e curva analítica em ECV do AU, nas concentrações de (a) 0,498, (b) 0,990, (c) 2,487 (d) 4,988, (e) 7,493 $\mu\text{mol L}^{-1}$ registrados em tampão fosfato pH= 7,0.....	55
Figura 26. Voltamograma e curva analítica em ECV da GUA, nas concentrações de (a) 0,498, (b) 0,99, (c) 2,487 (d) 4,988, (e) 7,493, (f) 9,991 $\mu\text{mol L}^{-1}$ registrados em tampão fosfato pH= 7,0.	56
Figura 27. Voltamogramas de DP e curva analítica em ECV da mistura de AU e GUA, nas concentrações equivalentes de (a) 0,498, (b) 0,990, (c) 2,487, (d) 4,988, (e) 7,493 $\mu\text{mol L}^{-1}$ registrados em tampão fosfato pH= 7,0.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relação dos reagentes utilizados.	33
Tabela 2. Diferenças de potenciais ($E_{pa}-E_{pc}$) e as razões entre as correntes dos picos anódicos e catódicos (I_{pa}/ I_{pc}) nos voltamogramas cíclicos com velocidades de varreduras de 5-500 mV s ⁻¹ para uma solução de $[Fe(CN)_6]^{3-}$ 250 μmol L ⁻¹ em KCl 0,1 mol L ⁻¹	36
Tabela 3. Dados de corrente de pico (I) e largura a meia a altura ($W_{1/2}$) de VC, VPD e VOQ, em uma mistura AU e da GUA 10 μM, sobre ECV.....	53
Tabela 4. Comparação de métodos eletroanalíticos para a detecção AU em presença de interferentes e de GUA em presença de interferentes.	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADE - Adenina

AMF- Adenosina 5'-Monofosfato ou Adenilato

AU - Ácido Úrico

DQE – Di-imina Quinonóide do Ácido Úrico

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

ECV - Eletrodo de Carbono Vítreo

ERO - Espécies Reativas de Oxigênio

ERN - Espécies Reativas de Nitrogênio

GMF – Guanosina 5'-Monofosfato ou Guanilato

GTF - Guanosina Trifosfato

GUA - Guanina

GUO - Guanosina

IMF – Inosina Monofosfato ou Inosinato

LOD - Limite de Detecção

LOQ - Limite de Quantificação

NAD - Dinucleotídeo de Nicotina e Adenosina

pH - Potencial Hidrogeniônico

pKa - Potencial de Ionização Acidíco

RNA - Ácido Oxiribonucleico

VC - Voltametria Cíclica

VOQ - Voltametria de Onda Quadrada

VPD - Voltametria de Pulso Diferencial

XAN - Xantina

7mGUA - 7-Metilguanina

8oxoGUA - 8-Oxoguanina

8OQ - 8-Oxo di-imino Quinonóide

SUMÁRIO

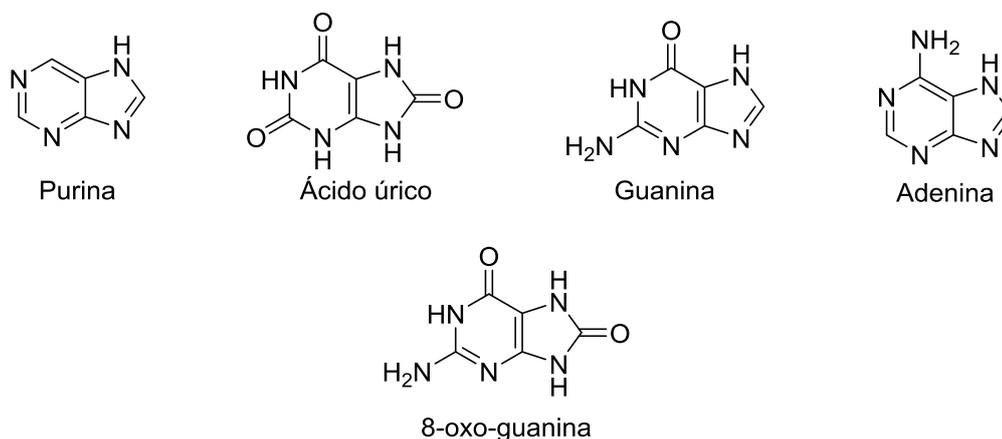
1. INTRODUÇÃO	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 ÁCIDO ÚRICO	19
2.2 GUANINA	24
2.3 Técnicas voltamétricas	28
3. Objetivo	18
3.1 OBJETIVO GERAL	18
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4. METODOLOGIA	33
4.1 Reagentes e soluções	33
4.2 Materiais e métodos	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 DETERMINAÇÃO DA ÁREA ELETROATIVA DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO	36
5.2 REAÇÕES REDOX DO ÁCIDO ÚRICO SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO.	39
5.2.1 Voltametria Cíclica	39
5.2.2 Voltametria de Pulso	41
5.2.3 Mecanismo de eletro-oxidação do ácido úrico	43
5.3 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA GUANINA	45
5.3.1 Voltametria Cíclica	45
5.3.2 Voltametria de Pulso Diferencial	47
5.3.3 Voltametria de Onda Quadrada	48
5.3.4 Mecanismo de Eletro-oxidação da Guanina	50
5.4 QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO ÚRICO E DA GUANINA	51
5.4.1 Escolha da técnica para quantificar o AU e a GUA.	51

5.4.2	Quantificação do AU.....	54
5.4.3	Quantificação da GUA.....	55
5.4.4	Quantificação do AU e da GUA simultaneamente.....	56
6.	CONCLUSÃO	58
7.	REFERÊNCIAS.....	60

1. INTRODUÇÃO

As purinas são caracterizadas por possuírem uma estrutura química de um anel pirimidínico, com dois nitrogênios nas posições um e três, ligado a um grupo imidazol, com dois nitrogênios, na posição sete e nove (MORAN *et al*, 2012). Temos como os maiores representantes dessa classe de compostos, a adenina (ADE), guanina (GUA), e o ácido úrico (AU), **Figura 1**. A GUA, ADE e AU estão envolvidos em diferentes funções biológicas importantes para o funcionamento corporal (MORAN *et al*, 2012).

Figura 1. Comparação entre as estruturas químicas da purina, do AU, da GUA, da ADE e da 8-oxoGUA.



Fonte: Autor

Quando em níveis homeostáticos, o AU cumpre o seu forte papel como um antioxidante no corpo humano, sendo um dos responsáveis pelo balanço no sistema redox do soro sanguíneo (LIU *et al*, 2021). A produção hepática de AU é de certa maneira sincronizada com os mecanismos de excreção do mesmo nos rins e no intestino de maneira a manter os níveis ideais, no entanto, quando alguns carregadores de íons urato, presentes nos rins deixam de cumprir a sua intrincada função de excreção e reabsorção; ou o metabolismo hepático passa a produzir o AU em demasia ou a simultaneidade de ambos os eventos podem resultar em altos níveis de AU sérico, que podem culminar em doenças como arteriosclerose, hipertensão, problemas cardiovasculares, artrite e gota (LIU *et al*, 2021).

A GUA é uma purina importante e presente em todos os organismos vivos, uma vez que está presente nos blocos construtores do DNA e do RNA, está envolvida em

diferentes papéis e em diversos processos intracelulares, que tem por função principal compor uma das mais densas formas de armazenamento de informações, como polinucleotídeo (MORAN *et al*, 2012). Outro ponto é que a GUA e seus derivados, nucleosídeos e nucleotídeos, são suscetíveis a danos oxidativos, a partir do desbalanço no sistema redox do corpo humano, gerando produtos, como 8-oxoGUA, **Figura 1**. A alta oxidação da GUA vem sendo associada a ocorrência de doenças, como cânceres, diabetes, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (BRETT; PIEDADE; SERRANO, 2000).

Uma ferramenta que possibilita investigar a reatividade e estabilidade de diferentes espécies biológicas, bem como no desenvolvimento de métodos para suas detecções e quantificações individuais e/ou simultânea, são as técnicas voltamétricas (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017). As técnicas voltamétricas no geral consistem na aplicação de um sinal de excitação (potencial) sobre um eletrodo de trabalho, o qual o analito será oxidado ou reduzido, gerando um sinal de resposta (corrente elétrica) (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017). Para a execução das respectivas técnicas, são utilizadas uma célula eletroquímica, que consistem em um conjunto de um eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência e um contra-eletrodo, que ficam submersos em uma solução contendo o analito, onde são realizados os experimentos (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017).

Um outro fator importante é a escolha do material do eletrodo de trabalho, vários tipos de eletrodos estão disponíveis, com propriedades distintas e de diferentes naturezas, podendo ser líquido como o mercúrio ou sólido como os metais platina e ouro ou ametálicos como grafite pirolítico, diamante dopado com boro ou carbono vítreo (ECV), este último material, é considerado um eletrodo de rotina e com fácil aceitação, uma vez que possui propriedades que se destacam como ser estável, inerte e possuir boa condutividade (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993).

Dentre as demais variações das técnicas voltamétricas, três delas se destacam, são as principais e as mais convencionais, são elas a voltametria cíclica (VC), a voltametria de pulso diferencial (VPD) e a voltametria de onda quadrada (VOQ), são utilizadas para estudar diversas substâncias eletroativas, a principal diferença entre as mesmas é a maneira em que é realizada a aplicação do sinal de potencial e como é realizada a aquisição de sinal analítico (PACHECO *et al*, 2013).

O AU é eletroativo e é bastante investigado quanto as suas propriedades eletroquímicas (STRUCK; ELVING, 1965; GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST,

1982; VOLK; YOST; BRAJTER-TOTH, 1989). A GUA também demonstra comportamento eletro-oxidativo e também é bastante estudada neste aspecto (GOYAL; DRYHURST, 1982; SUBRAMANIAN; DRYHURST, 1986; OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2001; DICULESCU; PIEDADE; OLIVEIRA-BRETT, 2007).

Este trabalho tem como objetivo revisar o comportamento anódico do AU e da GUA em meio aquoso sobre o ECV, utilizando técnicas voltamétricas e explorar as propriedades eletroquímicas dessas espécies para suas detecções e quantificações simultâneas. Todos os resultados foram comparados com resultados prévios da literatura e serão também propostos como material didático para a disciplina de eletroquímica e eletroanalítica do Departamento de Química da UFRPE.

2. OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Detectar e quantificar simultaneamente o ácido úrico e guanina utilizando um eletrodo de carbono vítreo e técnicas voltamétricas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Utilizar a voltametria cíclica para estabelecer a área eletroativa real do eletrodo de carbono vítreo pré-tratado anodicamente.
- Utilizar técnicas voltamétricas, cíclica e técnicas de pulso, para estudar propriedades eletroquímicas e termodinâmicas, tais como potencial de pico (E_{pico}), transporte de massa, difusão e reações redox, do ácido úrico e da guanina em meios aquosos, com diferentes valores de pH's, sobre eletrodo de carbono vítreo pré-tratado anodicamente.
- Comparar os resultados eletroquímicos do ácido úrico e da guanina sobre o eletrodo de carbono vítreo com os dados da literatura.
- Utilizar técnicas voltamétricas e eletrodo de carbono vítreo para detectar e quantificar o ácido úrico e a guanina em meios aquosos individualmente e simultaneamente.

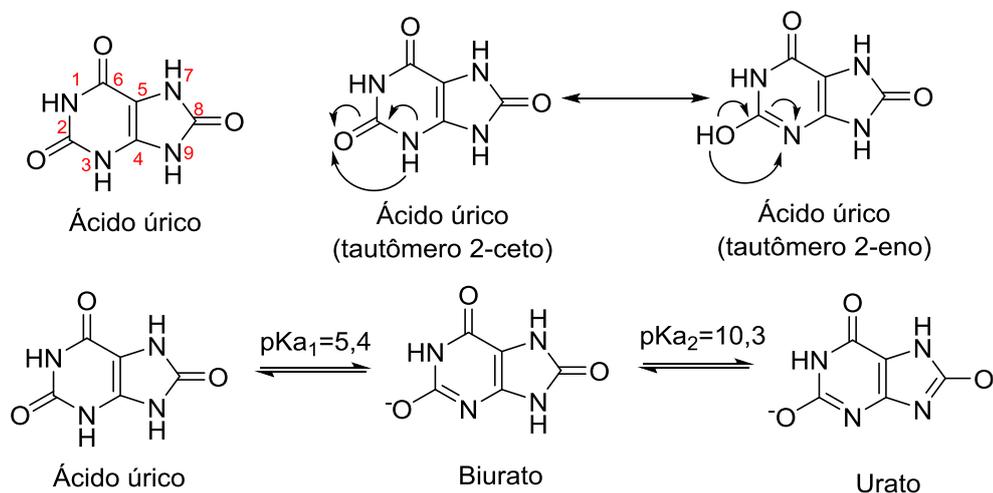
- Confeccionar um material didático complementar para estudantes de graduação para auxiliar na parte experimental de disciplinas de eletroquímica e eletroanalítica, ofertadas pelo Departamento de Química da UFRPE.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ÁCIDO ÚRICO

O ácido úrico (AU) (7,9-dihidro-1H-purina-2,4,6(3H)-triona) foi descoberto em 1776, por Carl Wilhelm Scheele, através de cálculos na bexiga (LIU *et al*, 2021) e foi sintetizado pela primeira vez em 1882, pelo químico Ivan Horbaczewski (LIU *et al*, 2021). O AU é um ácido diprótico ($pK_{a1} = 5,4$ e $pK_{a2} = 10,3$), **Figuras 1 e 2**, que em pH fisiológico encontra-se predominantemente como ânion (LIU *et al*, 2021). O AU apresenta estrutura tautomérica com três grupos ceto como estrutura mais estável, no entanto, por influência do equilíbrio lactama-lactima, ocorre a formação de uma lactima no carbono 2 (C-2), o que o torna mais susceptível a ocorrer a desprotonação, como sugerem estudos (JIMÉNEZ; ALDERETE, 2005).

Figura 2. Estrutura das principais espécies tautoméricas e aniónicas do AU.

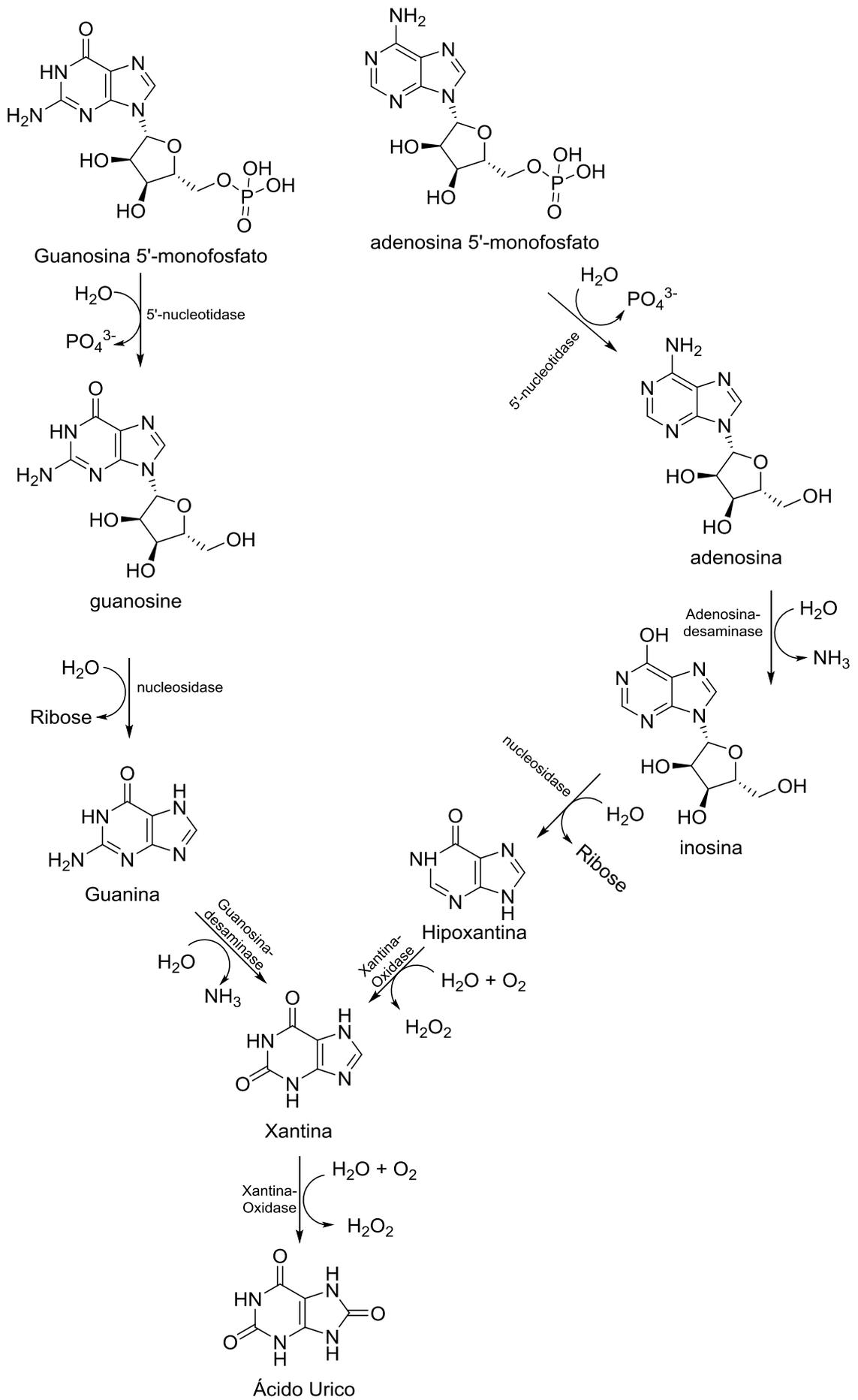


Fonte: Adaptado de Jiménez & Alderete (2005).

O AU é o metabolito final das purinas GUA e ADE, **Figura 3**. Partindo da GMF, a partir da ação da 5'-nucleotidase, é convertida em guanosina que vem a sofrer interferência da enzima nucleosidase e é convertida em guanina. A partir de então temos a formação da xantina (XAN) que tanto pode ser originada pela conversão da

guanina, pela ação da enzima guanina-desaminase, quanto pela ação da xantina-oxidase, que transforma a hipoxantina em XAN, esta última enzima citada é responsável também pela conversão da XAN em AU, **Figura 3**, (NELSON; COX, 2014). Partindo da adenosina monofosfato (AMP), primeiro ocorre a separação do grupo fosfato, pela enzima 5'-nucleotidase, posteriormente a adenosina é transformada em inosina, através da ação da enzima adenosina-desaminase, em sequência a inosina é separada da ribose, pela enzima nucleotidase, e é transformada em hipoxantina. Por fim a hipoxantina, a partir da xantina oxidase, é transformado em XAN e em AU (NELSON; COX, 2014).

Figura 3. Biossíntese do AU.



Fonte: Adaptado de Nelson & Cox (2014)

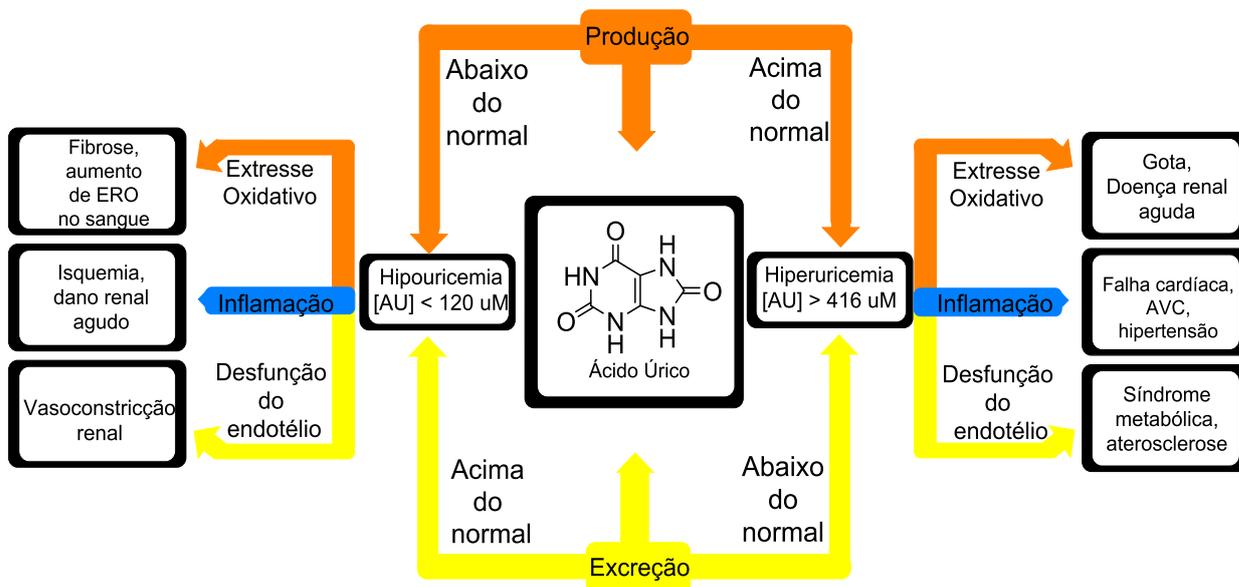
Quando o AU se encontra em níveis normais, nos homens, 3,5 a 7,0 mg/dL (208–416 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e nas mulheres, 2,6 a 6,0 mg/dL (155–339 $\mu\text{mol L}^{-1}$) (MAIUOLO *et al*, 2015; LIU *et al*, 2021), o AU é um agente antioxidante muito potente, tal qual, é o agente responsável pela eliminação de 70% dos radicais livres do plasma sanguíneo e 50% da atividade de limpeza dos radicais livres do soro sanguíneo (LIU *et al*, 2021). Além disso, protege as paredes dos vasos sanguíneos, no qual evita a peroxidação da camada lipídica das células (LIU *et al*, 2021). Os rins desempenham um papel de muita importância nos níveis do AU, no qual, são responsáveis pela excreção de 70% do respectivo ácido, na forma de sal de urato e muito disso é atribuído a ação de carregadores de urato que conduzem a respectiva espécie química, através de uma intrincada gama de mecanismos, da corrente sanguínea para os néfrons, através do túbulo proximal (NELSON; COX, 2014; SO; THORENS, 2010; MAIUOLO *et al*, 2015). Estes carregadores são peças-chaves para a manutenção dos níveis homeostáticos do AU, sendo tanto de excreção quanto de reabsorção, afinal, 90% do AU produzido é mantido no corpo enquanto 10% são eliminados (LIU *et al*, 2021; RICHETTE; BARDIN, 2010).

Uma condição pouco comum, porém relevante, é o fato de alguns poucos indivíduos apresentarem a prevalência da condição de baixo nível de AU sanguíneo denominada hipouricemia ($[\text{AU}] < 2,0 \text{ mg/dL}$ ou $120 \mu\text{mol L}^{-1}$), ao qual é atribuída ação de genes que podem atuar na produção abaixo do normal do AU e/ou culminar na atuação excessiva dos carregadores de urato, resultando na excreção anormal do AU (NAKAYAMA *et al*, 2019). Essa condição também pode ser induzida, pelo uso demasiado de supressores da enzima xantina oxidase (LIU *et al*, 2021; NAKAYAMA *et al*, 2019), a prevalência deste quadro pode levar a peroxidação da camada epitelial interna dos vasos sanguíneos, **Figura 4**, devido à capacidade antioxidante reduzida no plasma (LIU *et al*, 2021).

Quando a concentração de ácido úrico ultrapassa os valores máximos ($> 6,0 \text{ mg/dL}$ ou $339 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $>7,0 \text{ mg/dL}$ ou $416 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente nas mulheres e nos homens), temos então uma condição denominada de hiperuricemia, no qual, pode tanto ser causada pela atividade reduzida dos carregadores de urato quanto pela produção anormal de ácido úrico ou pela ocorrência de ambos os eventos simultaneamente (LIU *et al*, 2021). Fatores como obesidade, doenças renais,

hipertensão, doença renal crônica, síndromes metabólicas e hábitos alimentares podem levar a ocorrência da hiperuricemia e principalmente a gota (PANDA *et al*, 2023), **Figura 4**. O abuso de uma dieta rica em purinas/frutose pode induzir ao acúmulo de 1-fosfato-glicose, que também induz a ação da enzima AMP deaminase que cataliza a reação para a geração de inosina monofosfato, que então segue para a geração de AU. A maior causa de hiperuricemia é por deficiências nos carregadores de urato (MANDAL; MOUNT, 2015; LIU *et al*, 2021). A gota é o tipo de artrite inflamatória mais comum que pode acometer homens, é resultante da prevalência da hiperuricemia assintomática durante anos que resulta na precipitação de cristais de urato de sódio em cartilagens de juntas, principalmente na primeira junta metatarsofalangial (DESIDERI *et al*, 2014). Esta deposição também pode ocorrer nos rins podendo originar cálculos renais e inflamação dos rins por consequência (WU *et al*, 2021).

Figura 4. Problemas relacionados a Hipo e hiperuricemia.



Fonte: Adaptado de Liu *et al* (2021)

Durante o catabolismo das purinas, as duas últimas etapas envolvem a ação da enzima xantina oxidase, a respectiva enzima catalisa a reação da hipoxantina em XAN (oriundo do catabolismo da adenosina 5'-monofosfato) e da reação da XAN em AU, em ambos os casos há liberação de peróxido de hidrogênio e quando há excesso de produção de AU, existe consequentemente também de peróxido de hidrogênio que

é uma espécie reativa de oxigênio (ERO), podendo resultar um estresse oxidativo (LIU *et al*, 2021).

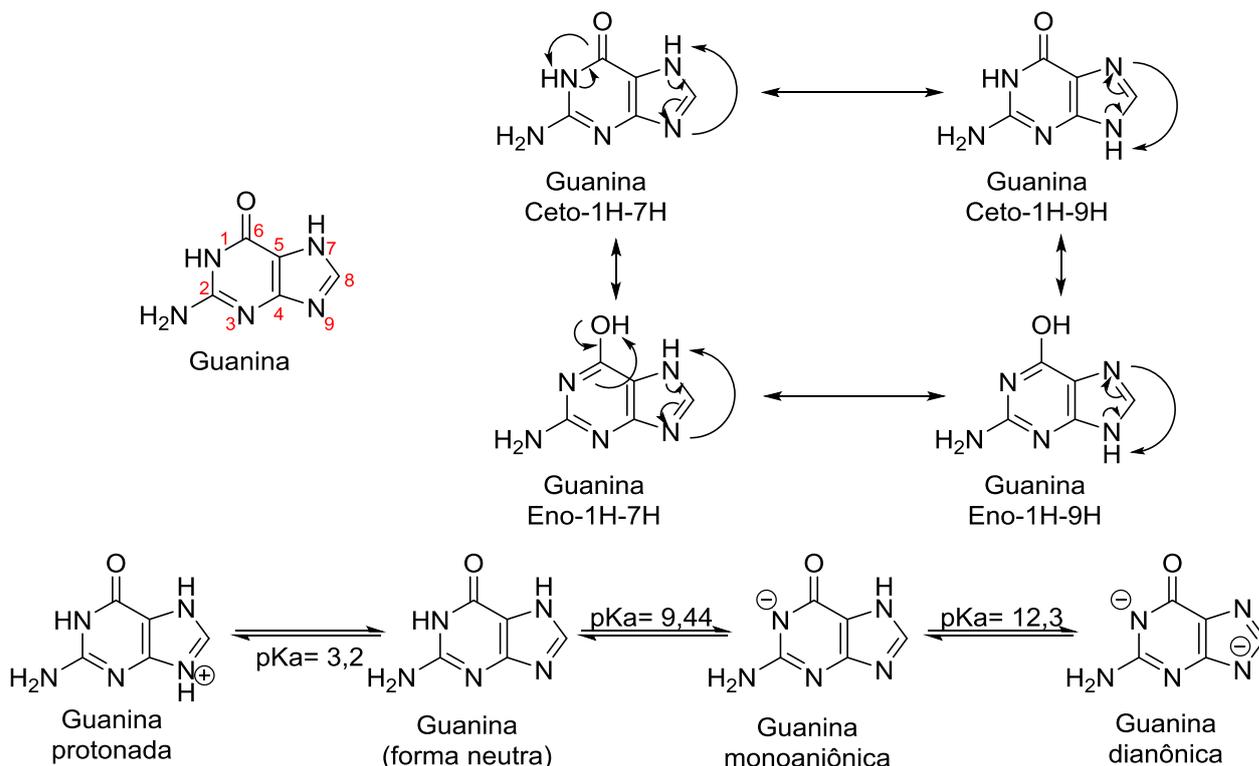
Atualmente, a técnica mais comumente empregada para quantificar o ácido úrico em amostras reais é o método colorimétrico-enzimático (WANG; WEN; KONG, 2019), no entanto, as técnicas de absorção ultravioleta (NORAZMI *et al*, 2017), fluorescência (WU *et al*, 2019), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e por arraste gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM) (LI *et al*, 2018; LI *et al*, 2018) e técnicas eletroquímicas, incluindo voltametria de pulso diferencial, cíclica e amperometria (LIU *et al*, 2019; ROCHELEAU & PURDY, 1991; GHANBARI & AHMADI, 2017), também são utilizadas. As propriedades redox do AU também já foram bem exploradas utilizando diferentes técnicas eletroquímicas (AAFRIA *et al*, 2022).

3.2 GUANINA

A guanina (2-oxo-6-aminopurina) (GUA) faz parte de armazenamento de informações no contexto biológico, é uma das moléculas substrato para uma gama de diferentes reações químicas na forma de nucleotídeo pirofosfato, nucleosídeo mono e difosforilado, geralmente estão associadas a função regulatória (MORAN *et al*, 2012).

A GUA é pouco solúvel, quando em meio ácido pode aceitar um próton no nitrogênio na posição 7 (N-7) ($pK_b = 10,8$) e quando em meio básico desprotona em N-1 ($pK_a = 9,44$) e em N-9 ocorre a segunda desprotonação ($pK_a = 12,3$), em pH fisiológico se encontra predominantemente na forma neutra (LISKA *et al*, 2019). A GUA teoricamente possui quatro isômeros mais propensos de ocorrerem, dentre eles diferenciando-se entre duas espécies tautoméricas lactamas e duas lactimas, **Figura 5**. A GUA permanece na forma ceto-1H-9H, como sólido, enquanto em solução a guanina se encontra majoritariamente em na forma ceto-1H-9H, sem o hidrogênio em N-1 e carga negativa, embora é sabido que fique alternando com a forma ceto-1H-7H (LIPPERT; GUPTA, 2008; JANG *et al*, 2003).

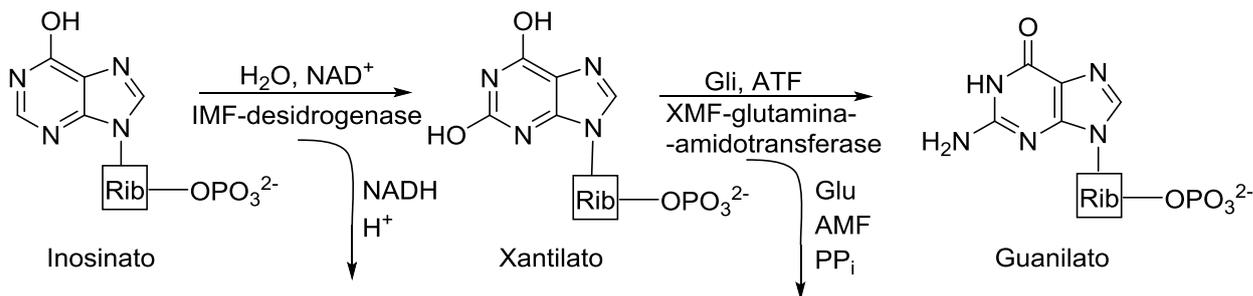
Figura 5. Estrutura das principais espécies tautoméricas e análogos catiônicos e aniônicos da GUA.



Fonte: Adaptado de Lippert; Gupta (2008).

A biossíntese da GUA possui várias etapas, que inicia na 5-fosforribosil-1-pirofosfato e termina na síntese do inosinato (IMF), chamado também de síntese de novo de nucleotídeos púricos. A partir do IMF, que é o primeiro precursor de ambas adenosina 5'-monofosfato ou adenilato e da guanosina 5'-monofosfato ou guanilato (GMF). Partindo do IMF, por intermédio da enzima IMF-desidrogenase e do nucleotídeo de nicotina e adenosina (NAD^+), oxida o carbono 2 (C-2) do IMF gerando a xantosina monofosfato (XMF). Em sequência, o XMF reage com a glutamina no C-2 por intermédio da GMF-sintase e a adenosina trifosfato, substituindo um grupo óxido por um grupo amina, produzindo então a GMF, **Figura 6**. Em sequência, já no ciclo catabólico, a GMF é desfosforada por intermédio da 5'-nucleotidase formando guanosina que pela ação da enzima nucleosidase, a guanosina perde o grupo ribose (RIB) e é transformada em GUA, **Figura 3**, (NELSON; COX, 2014).

Figura 6. Biossíntese da GMF a partir da IMF.



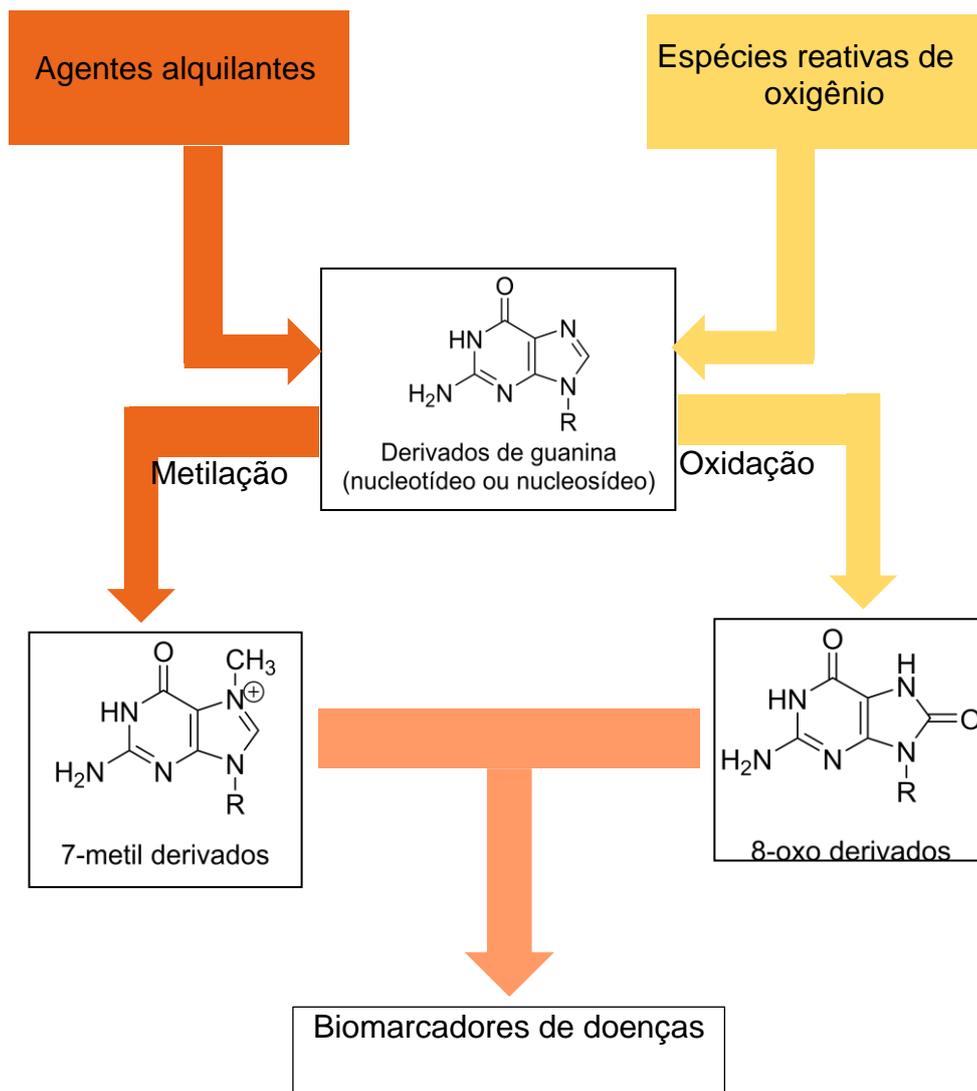
Fonte: Adaptado de Nelson & Cox (2014)

A GUA está presente em diversos processos no corpo humano, alguns deles estão os seus respectivos derivados a guanosina (GUO), guanosina 5'-monofosfato e a (GMF) guanosina 5'-trifosfato (GTF). No cérebro, a GUO protege os neurônios de morte excitotóxica, estimulando a produção de um fator neurotrópico e apresenta propriedades neuromodulatórias, ansiolítica, antiamnésica e anticonvulsante. A GMF participa de processos cardíacos, metabolismo celular e no aprimoramento da resposta do sistema imunológico. níveis anormais de determinados derivados de purinas podem indicar a presença de várias doenças (LISKA *et al*, 2019).

Baixos níveis de GMF podem resultar em distúrbios cerebrais. Uma alta taxa de excreção de guanosina pode resultar em carcinoma (LI; LIU, 2020). Outros derivados de guanina também sinalizam a ocorrência de problemas graves, de fato, a GUA é entre as bases nitrogenadas de ácidos nucleicos considerada bem reativa dentre as demais, tanto na posição N-7, para agentes alquilantes, quanto na posição C-8, para ERO (LISKA *et al*, 2019; MENDES *et al*, 2020). Uma vez que os mecanismos internos no sistema antioxidante se encontram desbalanceados devido a elevada produção de ERO ou espécies reativas de nitrogênio (ERN), podem atacar tanto as bases pirimidínicas quanto as púricas, principalmente os derivados nucleosídeos e nucleotídeos da GUA, gerando defeitos nas ligações da dupla fita do ácido desoxirribonucleico (DNA), podendo resultar em apoptose celular, que está relacionado a uma série de diferentes problemas, como doenças autoimunes, cardiovasculares, renais e diversos tipos de cânceres (CHIORCEA-PAQUIM; OLIVEIRA-BRETT, 2021; OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2007). Altos níveis de 8-oxoguanina (8oxoGUA) denotam uma baixa capacidade de auto reparação do DNA e um elevado risco de câncer, monitorar a concentração de guanina e seus derivados é fundamental para compreender os seus respectivos papéis biológicos e

diagnósticos de doenças (LI; LIU, 2020). A exposição a agentes alquilantes pode gerar um padrão anômalo na metilação do DNA. A presença de 7-metilguanina (7mGUA) em alta quantidade pode ser encontrado em amostras de fluidos corporais em fumantes é um importante biomarcador de câncer (MENDES *et al*, 2020; BROTONS *et al*, 2015).

Figura 7. Reações indesejadas ocorridas com a GUA.



Fonte: Autor

Várias técnicas visam detectar e quantificar a guanina, dentre muitas, destacam-se métodos por CLAE (WEIMANN; BELLING; POULSEN, 2002), CG-EM (WU *et al*, 1999), por fluorimetria (SINGH *et al*, 2022). Os estudos realizados com as técnicas voltamétricas possibilitaram detectar e quantificar, bem como compreender

os processos redox da GUA e seus derivados 7mGUA, GUO (MARKAS *et al*, 1992; BRETT; MATYSIK, 1997).

3.3 TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS

Eletroquímica é um ramo da química, com inúmeras aplicações tecnológicas, como processos de corrosão, produção de pilhas, baterias, diferentes tipos de sensores e até de combustíveis renováveis como o hidrogênio, que tem como base a relação entre eventos químicos e elétricos (BARD; FALKNER, 2000). Neste campo de estudo, uma grande parcela dentre as diferentes subáreas lida com mudanças químicas ocorridas pela aplicação de corrente elétrica e pela geração de corrente elétrica através de reações químicas (BARD; FALKNER, 2000). Dentre os muitos campos de estudo da eletroquímica, temos a eletroanalítica, nesta área aplica-se a eletroquímica no desenvolvimento de métodos para detecção e quantificação de inúmeras espécies e são baseados nas propriedades redox desses analitos (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017). Dentre as muitas técnicas eletroanalíticas, as técnicas voltamétricas ganham evidência, no qual, é um grupo de métodos eletroanalíticos que se baseiam na medição da corrente em função do potencial aplicado para eletro-oxidação e/ou eletro-redução do analito, sob condições controladas (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017).

A voltametria foi desenvolvida a partir da polarografia nos anos 1920 pelo químico Jaroslav Heyrovsky, que a princípio é um tipo de voltametria que naquele momento utilizavam eletrodo gotejante de mercúrio, como eletrodo de trabalho e um outro eletrodo de referência apenas (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017; PACHECO *et al*, 2013). Na voltametria geralmente, se usam três eletrodos, o eletrodo de trabalho, o eletrodo de referência e o contra eletrodo, no qual, o eletrodo de trabalho, onde é aplicado uma diferença de potencial entre o eletrodo de referência, ocorrem as reações induzidas pela troca eletrônica e onde serão captados os sinais eletroquímicos da espécie em estudo. O eletrodo de referência, tendo como principal função manter o potencial constante, em relação ao eletrodo de trabalho, durante o experimento e o contra eletrodo, também chamado eletrodo auxiliar, que evita com que o potencial do eletrodo de referência seja alterado, fazendo com que a corrente elétrica percorra o eletrodo de trabalho e o contra eletrodo, fazendo com que não ocorram distorções no voltamograma, assim como era comum com sistemas com dois eletrodos (eletrodos de trabalho e de referência) (PACHECO *et al*, 2013). Todos estes

eletrodos, durante o experimento, permanecem imersos dentro da solução contendo o analito ou um eletrólito suporte, este conjunto forma a célula eletroquímica (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017; WANG, 2000).

Os eletrodos de trabalho em especial a pesar de poderem ter volume e tamanho variável, em geral, ocasionalmente são discos planos de um material condutor, que pode ser um metal nobre como o ouro e a platina ou de matriz carbônica, tal como, carbono vítreo, diamante dopado com boro, grafite pirolítico, grafeno e nanotubos de carbono, um material semiconductor como óxidos de estanho ou de índio ou um metal recoberto com mercúrio, no geral, o que será um fator de escolha do material é a aplicação em que será destinado o eletrodo (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017).

Dentre os eletrodos de carbono, um material em especial, ganha destaque, o carbono vítreo, um material amorfo, com domínios majoritariamente formado por sítios com hibridização sp^2 , possui aparência escura, brilhante e quebradiço que lembra vidro. A obtenção deste material, se dá pela pirólise de resinas carbonáceas, em atmosfera inerte, que resulta em um material com alta condutividade elétrica, frequentemente empregado em análises voltamétricas (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993; USKOKOVIĆ, 2021).

Também podem ser utilizados eletrodos modificados, onde, faz-se o emprego de um eletrodo de trabalho convencional como substrato de modificação (entendem-se como eletrodos convencionais, os eletrodos compostos pelos materiais anteriormente citados), no qual, é aplicado um composto que tem por fim aumentar a sensibilidade e a seletividade para a detecção de um analito que se tenha interesse por estudar.

O eletrodo de referência geralmente é utilizado o eletrodo de prata/ cloreto de prata, embora possam ser utilizados também o eletrodo de calomelano, ou seja, o eletrodo de mercúrio/ cloreto mercurioso, enquanto para o contra-eletrodo, pode ser utilizado uma bobina de fio de platina ou um bastão de grafite (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017; PACHECO *et al*, 2013).

Quando se aplica um potencial ao eletrodo na célula eletroquímica, temos a ocorrência de dois fenômenos de natureza elétrica denominados corrente faradáica que é resultante da transferência de carga entre o eletrodo e o analito que ocorrem na interface do eletrodo (assim denominada, pois obedece as leis de Faraday) e a corrente capacitiva, esta última está relacionada com a formação da dupla camada que é formada a frente da face do eletrodo, esta última advém pelas moléculas do

solvente em contrapartida a face do eletrodo de trabalho carregada, de maneira a criar uma área com carga de sinal oposto e de mesma intensidade a carga presente no eletrodo, mantendo a neutralidade elétrica do sistema, este tipo de corrente não é proporcional a concentração do analito e nem está relacionada com os processos eletroquímicos do analito e é indesejada (PACHECO *et al*, 2013).

As técnicas voltamétricas, diferem entre si principalmente no que concerne a obtenção de sinal analítico, ou seja, o sinal de corrente. Também podemos listar aqui a maneira que a corrente capacitiva influencia, a maneira de registrar os sinais de corrente nos voltamogramas e a largura dos picos, etapas de pré-concentração do analito e a maneira de inversão da direção da varredura. A escolha da técnica voltamétrica a ser empregada em um tipo de análise, será feita pelo tipo de informação que se queira obter, seja norteadada pelo comportamento do analito em presença do potencial aplicado ou seja pela interação entre o analito e o eletrodo carregado (PACHECO *et al*, 2013).

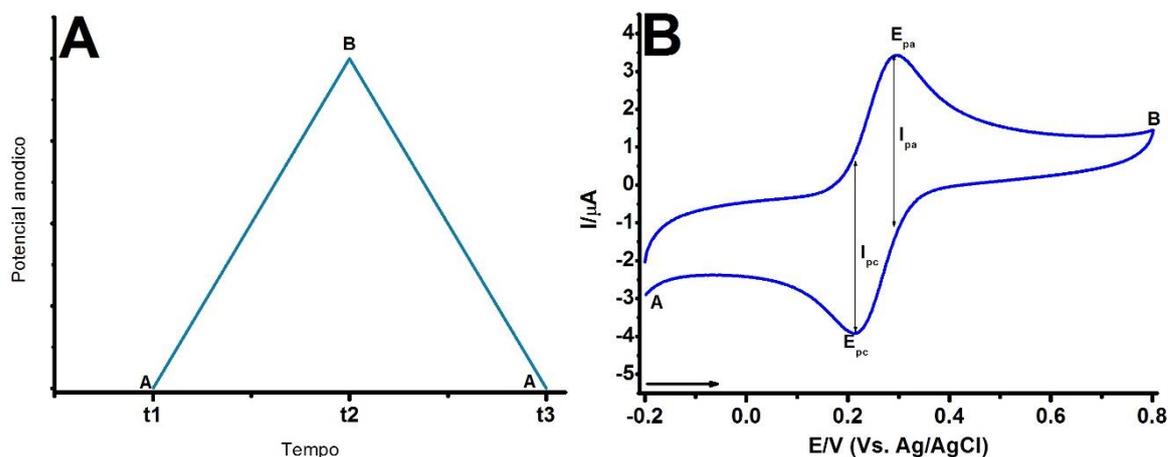
A voltametria cíclica (VC), é um método eletroquímico dinâmico que é utilizado para medir eventos redox, também é uma técnica que pode ser usada para estudar a difusão das espécies do seio da solução para a face do eletrodo. Nesta técnica, o potencial aplicado durante uma varredura, o sinal de excitação, tem uma forma triangular, no qual, na base deste sinal estão o início e o fim da varredura, o potencial inicial e o de potencial inicial ou vértice (em caso de múltiplas varreduras), e no ápice do “triângulo” é o potencial máximo atingido, definido dentro da janela, **figura 8A** (RUSLING, 1994).

Em caso de reação reversível, O sinal de corrente inicia a partir de um potencial pré-definido ao qual, atingindo um potencial específico a reação ocorre e o potencial segue até atingir um valor máximo, ao que começa a cair. Então a varredura segue no sentido oposto ao inicial, ao qual é registrado um pico de igual intensidade dos produtos para os reagentes (BRETT & OLIVEIRA-BRETT, 1993). Considerada a reação $O + ne^- \rightleftharpoons R$, a velocidade de oxidação do reagente será igual a velocidade de redução do produto, o que significa dizer que a intensidade do sinal registrado para o pico catódico e para o pico anódico serão equivalentes, de intensidade igual, porém, de sinal oposto, **figura 8B**, (HARRIS, 2017; BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993).

Em caso de reação irreversível, a reação ocorre apenas no sentido direto, $O + ne^- \rightarrow R$, fazendo com que seja registrado apenas um processo reacional no

voltamograma cíclico, devido que a reação no sentido contrário seja lenta ou não ocorra (HARRIS, 2017).

Figura 8. Sinal de excitação e voltamograma cíclico do ferricianeto de potássio ($K_3Fe(CN)_6$), $250 \mu\text{mol L}^{-1}$.

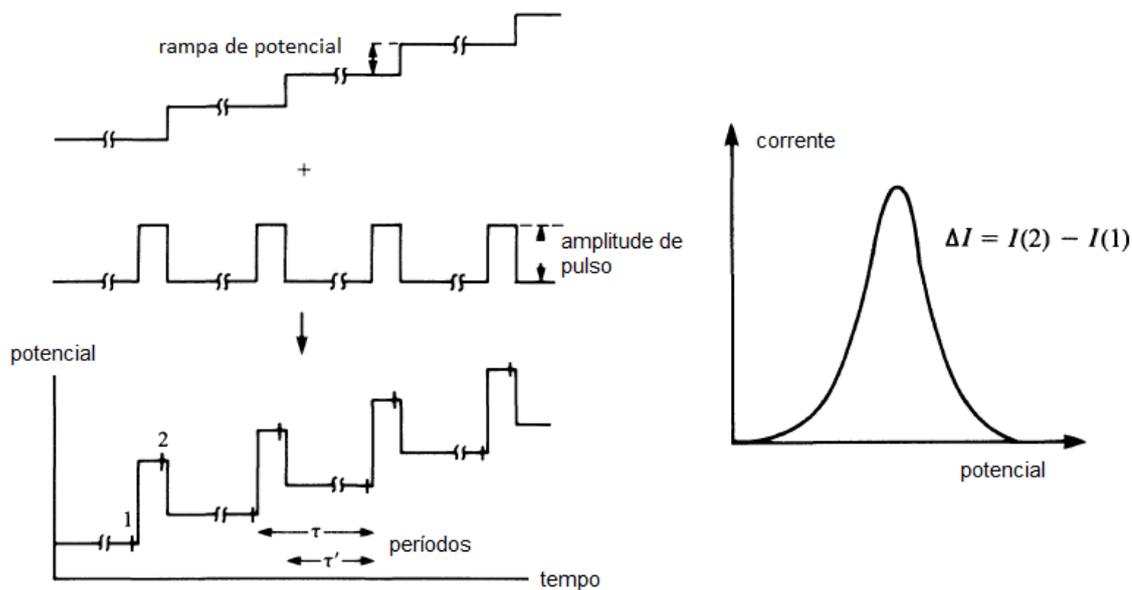


Fonte: Adaptado de Skoog, West, Holler, Crouch (2007)

As técnicas de pulso foram desenvolvidas inicialmente para sistemas polarográficos (OSTERYOUNG; SCHREIRER, 1988), como uma maneira de reduzir a influência da corrente capacitiva, neste caso, o desprendimento da gota de mercúrio era sincronizado com a leitura do sinal de corrente, que acontecia ao final da vida da gota. O que distingue entre os diferentes tipos de técnicas de pulso é a maneira como se realiza a obtenção dos sinais e o formato do degrau dos potenciais (PACHECO *et al*, 2013; OSTERYOUNG; SCHREIRER, 1988). Dentre os mais variados tipos de voltametria de pulso, destacam-se a voltametria de pulso diferencial (VDP) e a voltametria de onda quadrada (VOQ).

Na VPD, a maneira como é feita a aquisição de sinal ocorre na base do sinal e no final do pulso, a primeira corrente registrada é subtraída com o valor corrente do final do pulso e então o valor resultante é plotado no gráfico versus o potencial, gerando assim um voltamograma. A corrente capacitiva gerada na subida do pulso, logo se esvai, pois a corrente capacitiva diminui exponencialmente, enquanto a corrente faradáica diminui linearmente, então escolhe-se o momento para a realização da segunda leitura de corrente podendo-se desprezar a contribuição da corrente capacitiva (PACHECO *et al*, 2013).

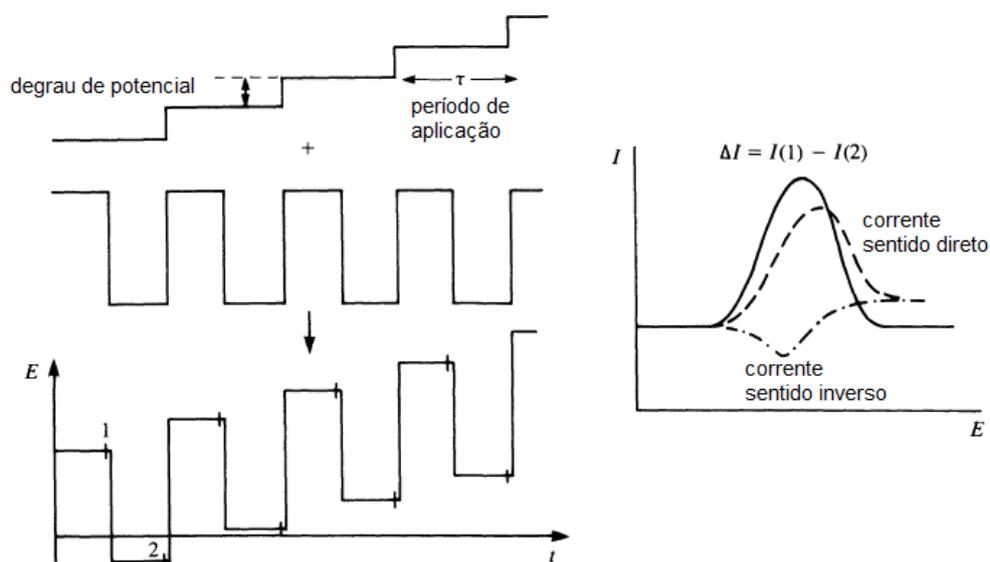
Figura 9. Sinal de excitação para a técnica voltamétrica de PD.



Fonte: Pacheco *et al* (2013)

Na VOQ, temos uma situação de leitura de sinal no final de cada degrau do sinal de excitação, uma no final do pulso no sentido direto e outra no final do pulso no sentido inverso, deste jeito, há uma diminuição expressiva da corrente capacitiva e leitura nos dois sentidos, resultando em um voltamograma que registra a varredura no sentido anódico e catódico com velocidades bem maiores que os executados na técnica de pulso diferencial e com aspectos pertinentes a voltametria cíclica como a varredura nos sentidos anódico e catódico (PACHECO *et al*, 2013; BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993).

Figura 10. Sinal de excitação para a técnica voltamétrica de OQ.



Fonte: Pacheco *et al* (2013)

4. METODOLOGIA

4.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados nos experimentos estão listados na **tabela 1**, acompanhados de seus índices de pureza.

Tabela 1. Relação dos reagentes utilizados.

Reagente	Fabricante	Pureza (%)
Acetato de sódio	Anidrol	99,0
Ácido úrico	Sigma-Aldrich	99,0
Ácido acético	VWR chemicals	99,7
Cloreto de potássio	Moderna	98,0
Dihidrogeno fosfato de sódio	Neon	99,5

Ferricianeto de potássio	Moderna	99,0
Guanina	Sigma-Aldrich	98,0
Monohidrogeno fosfato de sódio	Neon	99,0

As soluções tampão utilizadas como eletrólito suporte nos trabalhos de composição 1 mol L^{-1} acetato de sódio (7,2 mL) + 1 mol L^{-1} ácido acético (12,5 mL), para 100 mL e com pH = 4,3 e outra de composição $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ hidrogenofosfato de sódio (30,5 mL) + $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ dihidrogenofosfato de sódio (19,5 mL) para 100 mL de solução e com pH = 7,0. A aferição do pH foi realizada com um pHmetro da Metrohm, modelo 827. A solução de ferricianeto de potássio foi preparada com concentração de $250 \mu\text{mol L}^{-1}$, na solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de cloreto de potássio.

Todas as soluções mãe de ácido úrico (AU) e guanina (GUA) foram preparadas pela dissolução com algumas gotas de uma solução de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ de NaOH e água Milli-Q®, até atingir o volume necessário para atingir a concentração de 1 mmol L^{-1} .

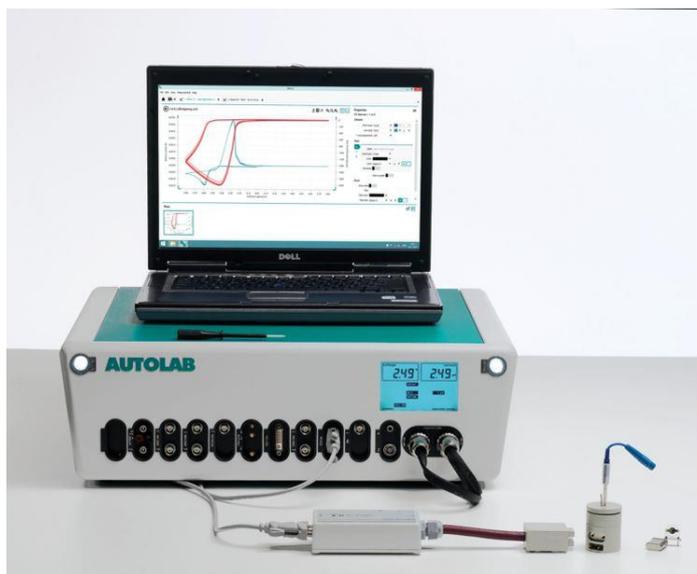
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

As leituras voltamétricas foram registradas, à temperatura ambiente ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$), a partir de um potenciostato, da Metrohm Autolab modelo PGSTAT 302N, **Figura 11**, controlado via software, EcoChemie/Utrecht versão NOVA 2.1.6. Uma célula eletroquímica padrão foi utilizada, com o eletrodo de trabalho, o eletrodo de carbono vítreo (ECV) (metrohm, $\Phi = 3,0 \text{ mm}$), um contra-eletrodo, um bastão de grafite e um eletrodo de referência, um Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$). O ECV antes de cada teste era polido usando alumina (granulometria 1,0 micron) e lavado com água.

Os parâmetros operacionais da voltametria cíclica (VC) foram: incremento de potencial de 2 mV e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . Além disso, os experimentos para estabelecer o transporte de massa das espécies investigadas do seio da solução para a superfície do ECV, foram realizados por VC variando sua velocidade de varredura de 10 até 500 mV s^{-1} . Para voltametria de pulso diferencial (VPD) os parâmetros foram: amplitude de pulso de potencial de 50 mV, largura de pulso de 70 ms, incremento de potencial de 5 mV e velocidade de varredura de 5 mV s^{-1} . Para voltametria de onda quadrada (VOQ), esses parâmetros foram: amplitude de pulso de 50 mV, frequência de 8 Hz e potencial de incremento de 6 mV,

correspondendo a uma velocidade de 50 mV s^{-1} . Todos os voltamogramas PD e alguns voltamogramas de OQ foram submetidos ao método matemático para correção da linha de base, utilizando um passo de potencial de 5 mV , ofertado no NOVA 2.1.6. Todos os estudos foram realizados em triplicado.

Figura 11. Potenciostato modelo PGSTAT 302N.



Fonte: https://www.metrohm.com/pt_br/produtos/electrochemistry/modular-line.html (2022).

As curvas analíticas foram levantadas sob os parâmetros voltamétricos PD otimizados. A célula eletroquímica foi preenchida com $4,00 \text{ mL}$ de eletrólito ($0,2 \text{ mol L}^{-1}$ hidrogenofosfato de sódio e $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ dihidrogenofosfato de sódio), $\text{pH} = 7,0$, e três varreduras de VPD foram registradas. Em seguida, alíquotas sucessivas da solução estoque ($1,00 \text{ mmol L}^{-1}$ tanto de AU, quanto de GUA e para os dois simultaneamente) foram adicionadas à célula e após cada adição foram registradas três varreduras de PD. A solução foi agitada por 20 segundos antes de cada varredura registrada sem limpeza do ECV.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DA ÁREA ELETROATIVA DO ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

Para estabelecer a área eletroativa do eletrodo de trabalho, voltamogramas cíclicos foram registrados com diferentes velocidades (5, 10, 25, 50, 100, 200, 300, 400, 500 mV s^{-1}) em uma solução de ferricianeto de potássio $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, **Figura 12**. Entre cada leitura a solução era homogeneizada e a superfície do eletrodo era lavada suavemente com água.

Em todos os voltamogramas cíclicos um par redox em $E_{p1a/1c} \sim 0,30 / 0,22 \text{ V}$ foi observado, com suas correntes de pico aumentando com a velocidade de varredura registrada, **Figura 12 e Tabela 2**. Como esperado, os picos 1a/1c correspondem a um processo da eletro-oxidação/redução do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993).

Figura 12. Voltamogramas cíclicos no ECV do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, registrados em diferentes velocidades de varredura ($5\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$).

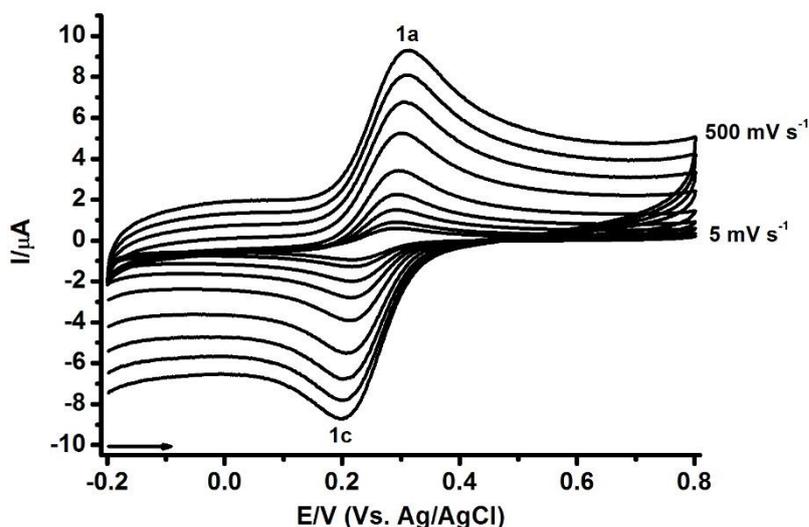


Tabela 2. Diferenças de potenciais ($E_{pa} - E_{pc}$) e as razões entre as correntes dos picos anódicos e catódicos (I_{pa} / I_{pc}) nos voltamogramas cíclicos com velocidades de varreduras de $5\text{-}500 \text{ mV s}^{-1}$ para uma solução de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $250 \mu\text{mol L}^{-1}$ em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

v (mV s^{-1})	$E_{pa} - E_{pc}$ (mV)	I_{pa} / I_{pc} (μA)
5	70	1.11
10	68	1.10

25	70	1.25
50	70	1.07
100	75	1.07
200	83	1.07
300	83	1.12
400	97	1.14
500	105	1.16

Em geral, as diferenças entre o pico anódico e o catódico do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ observadas, em especial, nos processos ocorridos nos voltamogramas registrados com as velocidades de 5 a 100 mV s^{-1} , figuraram por volta dos 68-75 mV, em conjunto com os valores das razões entre as correntes do pico catódico e anódico próximos a 1, **Tabela 2**, caracterizando um sistema redox reversível (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993). Os resultados da **Tabela 2**, também demonstraram que em relação a cinética do eletrodo e o transporte de massa que a velocidade de varredura utilizada influencia na reversibilidade do sistema eletroquímico, uma vez que, quanto mais rápida for a velocidade de varredura de tensão, mais fina será a camada de difusão (COMPTON; BANKS, 2018).

O número de elétrons de uma reação redox reversível que ocorre sobre a superfície de um eletrodo pode ser estabelecido pela VC pela **Equação 1**. Assim os resultados da **Tabela 2** e a **Equação 1** estabelecem que o processo redox reversível do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ ocorre com a transferência de um elétron, em concordância com dados da literatura (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993):

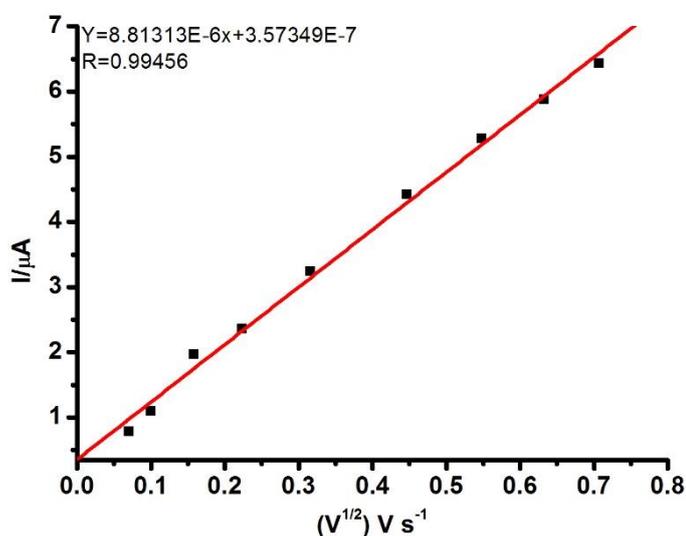
$$|E_{pa} - E_{pc}| \sim 2.3 \frac{RT}{nF} \text{ (ou } 59/n \text{ mV em } 298 \text{ K) (Equação 1)}$$

A área geométrica (A_{geo}) de eletrodos de trabalho a base de carbono é determinada através de suas dimensões físicas, entretanto pode existir diferenças em relação a suas áreas eletroativas reais (A_{real}), considerando que geralmente os eletrodos de carbono são porosos e não há como estabelecer quais partes estão eletroquimicamente ativas ou inativas (FERRARI et al, 2018). Uma maneira de

resolver este problema é estabelecer a A_{real} a partir de uma técnica interfacial como a voltametria (FERRARI et al, 2018), e que utilizaremos aqui neste trabalho.

A partir dos dados dos voltamogramas do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ $250 \mu\text{mol L}^{-1}$, **Figura 13**, foi possível estabelecer uma relação linear da raiz quadrada da velocidade de varredura e as correntes de pico anódico (1a), com um excelente coeficiente de correlação, $r = 0.994$, caracterizando um transporte de massa do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ do seio da solução para a interface do ECV, mediada por um sistema difusional (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993), **Figura 13**.

Figura 13. Gráfico da I_{pa} vs. $v^{1/2}$ dos voltamogramas cíclicos do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ em KCl, sobre o ECV, para diferentes velocidades (5-500 mV s^{-1}).



Voltando agora para o cálculo da A_{real} os dados experimentais da **Figura 13** foram inseridos na equação de Randles-Sevcik para sistemas reversíveis controlados por difusão, **Equação 2** (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993), e a A_{real} do ECV foi estabelecida.

$$I_{pa} = 2,69 \times 10^5 n^{3/2} A D_0^{1/2} C_0 v^{1/2} \text{ (Equação 2)}$$

Considerando:

$n = 1$ (números de elétrons transferidos);

$D_0 = 7,6 \times 10^{-6}$ (coeficiente de difusão do ferricianeto em cloreto de potássio);

$C_0 = 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} = 2,5 \times 10^{-7} \text{ mol mL}^{-1}$ (concentração do ferricianeto de potássio);

$$I_{pa} / v^{1/2} = B = 8,81313 \times 10^{-6}$$

Logo:

$$8,81313 \times 10^{-6} = 2,69 \times 10^5 \times \mathbf{A} \times 2,76 \times 10^{-3} \times 2,5 \times 10^{-7}$$

$$\mathbf{A} = \mathbf{0,047 \text{ cm}^2}$$

Já a área geométrica do ECV também foi calculada aqui pela equação 3, como segue abaixo.

$$\mathbf{A} = \pi r^2 \text{ (Equação 3)}$$

$$\Phi = 3,0 \text{ mm} = 0,3 \text{ cm}$$

$$r = 1,5 \text{ mm} = 0,15 \text{ cm}$$

$$\mathbf{A} = \pi (0,15)^2$$

$$\mathbf{A} = \mathbf{0,071 \text{ cm}^2}$$

Esses resultados indicaram um percentual da área eletroativa (%REAL), **Equação 4**, de 66%, indicando sítios inativos na superfície do eletrodo (MENDES; SILVA; OLIVEIRA, 2021). Entretanto esses resultados também demonstraram uma excelente performance do ECV utilizado, uma vez que os resultados da prova eletroquímica, **Figura 13**, foram bem satisfatórios e concordantes com a literatura (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993).

$$\%REAL = (A_{\text{real}} / A_{\text{geo}}) \times 100 \text{ (Equação 4)}$$

5.2 REAÇÕES REDOX DO ÁCIDO ÚRICO SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO.

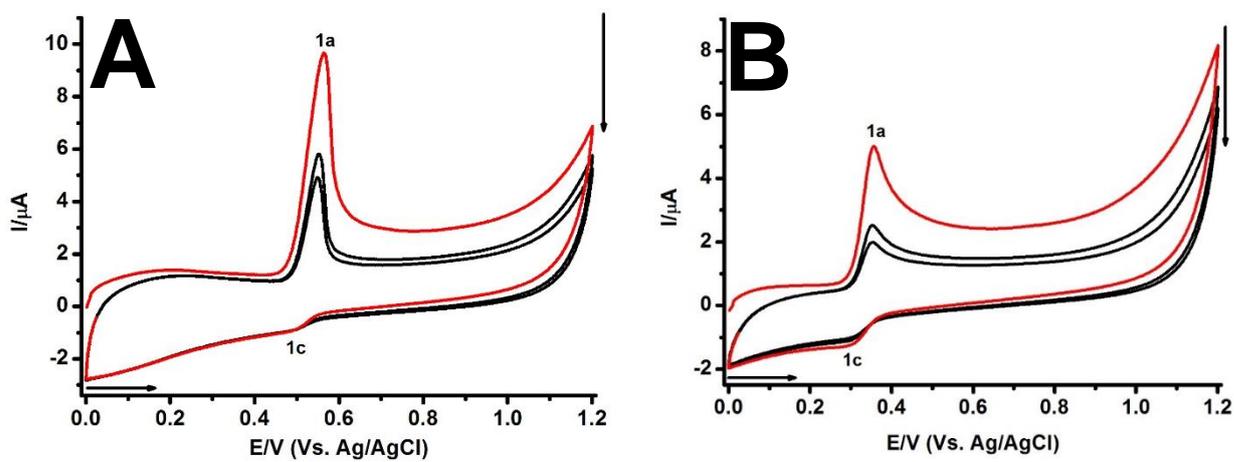
5.2.1 Voltametria Cíclica

As reações redox do AU sobre o ECV pré-tratado anodicamente foi investigado em diferentes meios aquosos, tampão acetato (pH = 4,3) e fosfato (pH = 7,0), **Figura 18**, primeiramente utilizando VC; na janela de potencial de 0,0 V até 1,2 V e em $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Voltamogramas sucessivos do AU em meio ácido, pH = 4,3, **Figura 14A**, demonstraram dois processos redox, o primeiro no sentido anódico ocorreu em $E_{p1a} = 0,56 \text{ V}$, com uma alta corrente de pico $I_{p1a} = 7,94 \mu\text{A}$ e o segundo na direção catódico em $E_{p1c} = 0,49 \text{ V}$, com uma baixa corrente $I_{p1c} = -322 \text{ nA}$ (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982).

Os voltamogramas cíclicos do AU em meio aquoso com pH neutro também apresentaram dois processos, **Figura 14B**, entretanto foram identificados em valores de potenciais menos positivos, o pico 1a em $E_{p1a} = 0,36$ V com $I_{p1a} = 3,98$ μ A e o pico 1c em $E_{p1c} = 0,31$ V e com $I_{p1c} = -4,76$ nA, em concordância com resultados anteriores da literatura (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982).

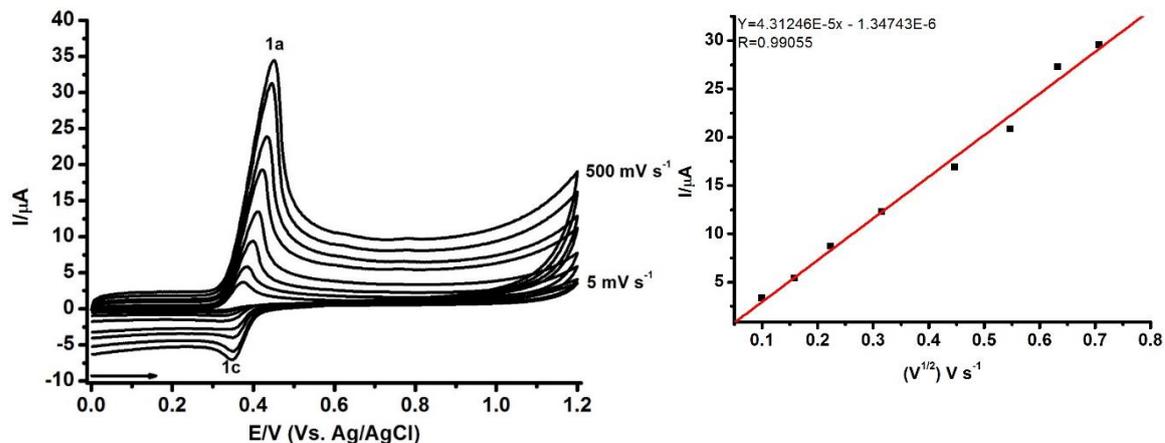
Figura 14. Voltamogramas cíclicos sucessivos do AU 100 μ mol L⁻¹ sobre ECV em; (A) tampão acetato (pH = 4,3) e (B) tampão fosfato (pH = 7,0). Primeira varredura (—).



Mais adiante, foram obtidos voltamogramas com o auxílio da técnica de CV, através de uma solução de AU 100 μ mol L⁻¹, tamponada em pH=7,0, em uma janela de potencial de 0,0 V a 1,2 V e com velocidades de varredura que variaram de 10 até 500 mV s^{-1} . Semelhante aos voltamogramas cíclicos do AU anteriormente obtidos, o processo eletroquímico registrado foi o pico anódico 1a, $E_{p1a} \sim 0,41$ V, relacionado com a eletro-oxidação do AU e o pico catódico 1c, registrado durante a varredura no sentido catódico, $E_{p1c} \sim 0,33$ V, relacionado com a eletrorredução do produto do processo 1a, o intermediário altamente reativo, a di-imina quinonóide (DQE) (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982), **Figura 15**.

A partir dos voltamogramas do AU registrados em diferentes velocidades de varredura foi possível então estabelecer se suas reações redox na interface do eletrodo foram controladas pelo transporte de massa difusional ou adsorativo (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993). A relação entre a raiz quadrada da velocidade de varredura e a corrente de pico anódico 1a, foi linear, com um bom coeficiente de correlação $r = 0,991$, caracterizando um processo controlado pelo transporte de massa difusional, **Figura 15**.

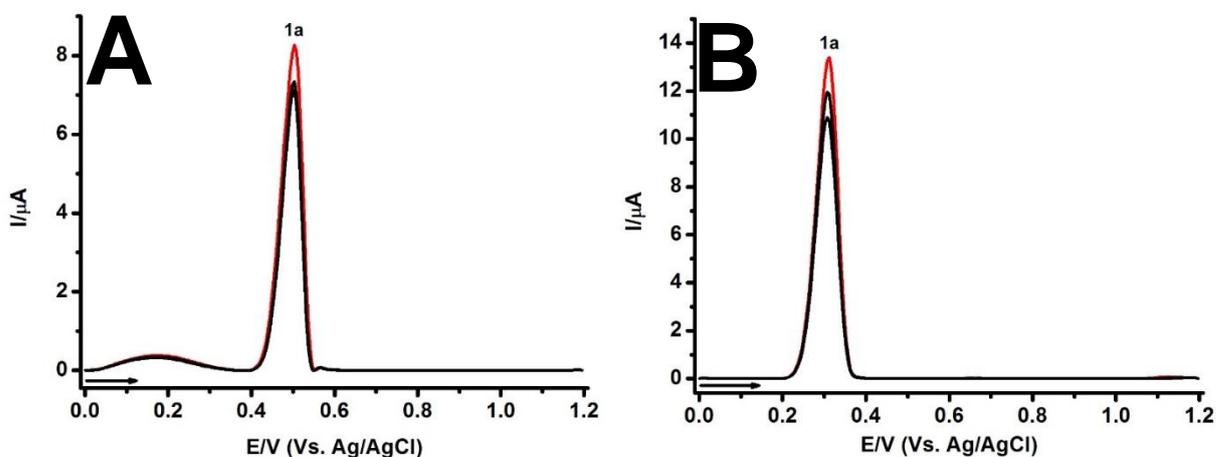
Figura 15. Varreduras sucessivas do AU em pH =7,0, tampão fosfato, em diferentes velocidades de varredura (5-500 mV s⁻¹).



5.2.2 Voltametria de Pulso

Em sequência, foram conduzidos estudos das reações redox do AU com a técnica de VPD, com janela de potencial de 0,0 V até 1,2 V registrados em tampão acetato pH = 4,3, com $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ e em tampão fosfato, com $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$. Em ambos os meios, os voltamogramas do AU $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ identificaram apenas o processo anódico 1a, em $E_{p1a} = 0,50 \text{ V}$ e $I_{p1a} = 8,27 \mu\text{A}$ (pH = 4,3) e em $E_{p1a} = 0,31 \text{ V}$ e $I_{p1a} = 13,3 \mu\text{A}$ (pH = 6,99). Os resultados de VPD indicaram que a oxidação do AU sobre o ECV ocorre com um equilíbrio ácido base de Bronsted-Lowry ocorrendo paralelamente e influenciando na transferência de carga, uma vez que em pH neutro o valor do potencial de oxidação foi 0,19 V menos positivo em relação ao pH = 4,3 (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982). Além disso, os resultados também indicaram uma boa resolução de pico (seletividade), em $W_{1/2} = 58 \text{ mV}$ (pH = 4,3) e $W_{1/2} = 58 \text{ mV}$ (pH = 6,99), e sensibilidade para quantificação do AU em ambos os meios explorados. O pico 1a foi associado com a eletro-oxidação do AU para o intermediário DQE (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982), **Figura 16A**.

Figura 16. Voltamograma sucessivos de PD do AU $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ no ECV em: (A) tampão acetato (pH = 4,3) e (B) tampão fosfato (pH =7,0). Primeira varredura (—).

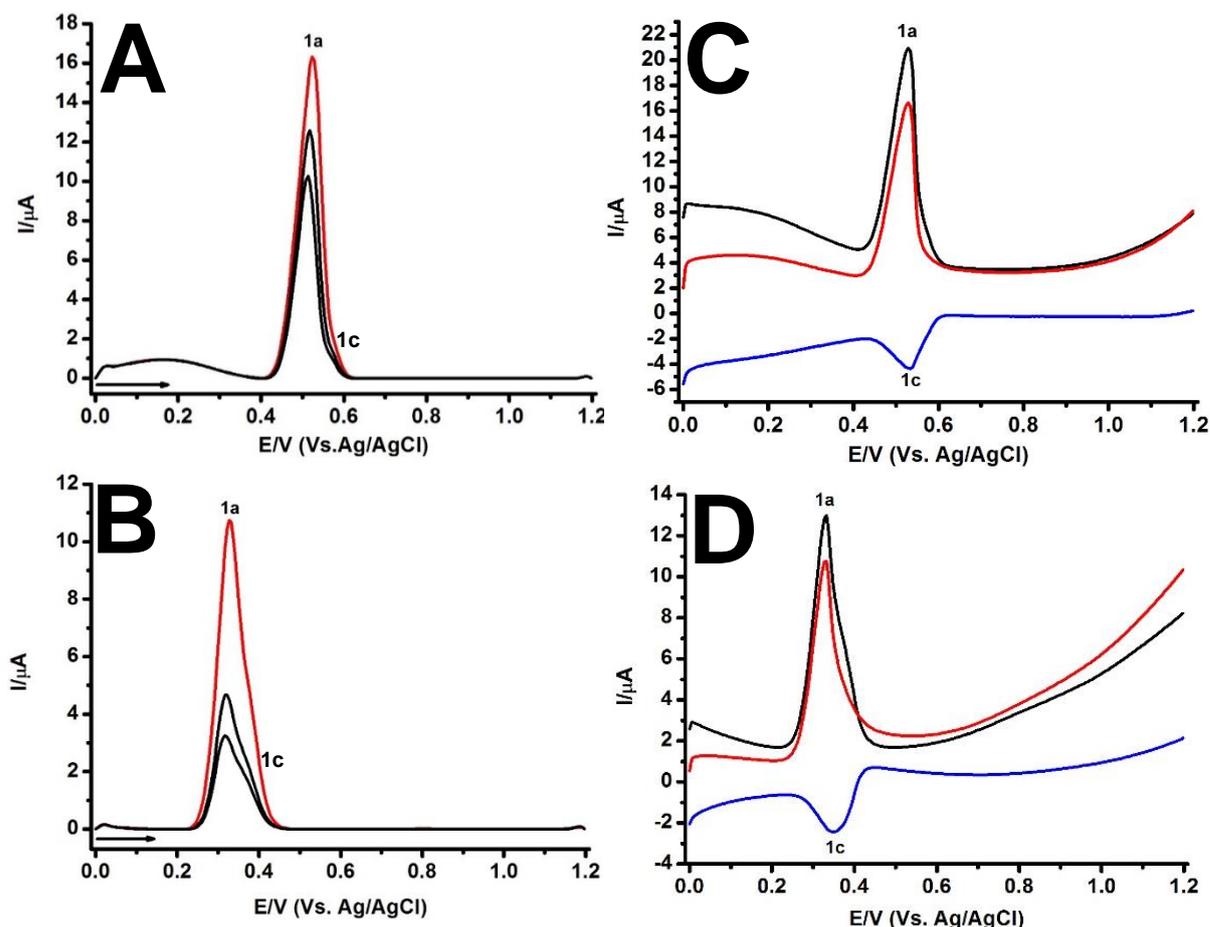


Por fim, os experimentos de VPD foram repetidos utilizando VOQ e os voltamogramas foram registrados em $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

Os voltamogramas sucessivos de OQ do AU $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ identificaram o processo anódico 1a em $E_{p1a} = 0,53 \text{ V}$ e $I_{p1a} = 16,6 \mu\text{A}$ (pH = 4,3), **Figura 17A**, e em $E_{p1a} = 0,31 \text{ V}$ e $I_{p1a} = 10,75 \mu\text{A}$ (pH = 7,00) **Figura 17B**.

Uma grande vantagem da VOQ é a possibilidade de identificar durante apenas uma varredura se a reação de transferência de elétrons é reversível ou não, como a corrente é amostrada em pulsos positivos e negativos, picos correspondentes à oxidação e redução das espécies eletroativas na superfície do eletrodo podem ser obtidos no mesmo experimento (PACHECO et al, 2013). Assim, os voltamogramas de OQ em ambos os pHs, demonstraram mais claramente a reversibilidade do pico 1a, confirmada pelas componentes direta e reversa da corrente total, **Figuras 17C e 17D**, o processo anódico 1a foi associado com a eletro-oxidação do AU para o intermediário DQE (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982).

Figura 17. Voltamograma de OQ do AU $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o ECV em: (A) e (C) em tampão acetato (pH = 4,3) e (B) e (D) tampão fosfato (pH = 7,0), (A) e (B) com a primeira varredura (—). Para (C) e (D), (—) varredura no sentido direto, (—) varredura no sentido inverso e (—) varredura resultante.



Os processos ocorridos no sentido catódico foram notados nas técnicas de VC e VOQ, sendo na última, mais evidente, devido à natureza da técnica, na VOQ, a aquisição de sinal da atividade redox do analito é feita no sentido anódico e catódico quase simultaneamente e muito rapidamente (PACHECO, 2013), fazendo com que certas espécies químicas eletroativas, que permanecem próximas a face do eletrodo sejam detectadas e neste caso, o somatório dos sinais obtidos formam o voltamograma, que demonstram um pico muito mais intenso do que os registrados com a técnica de VC, **Figura 14A e 14B**.

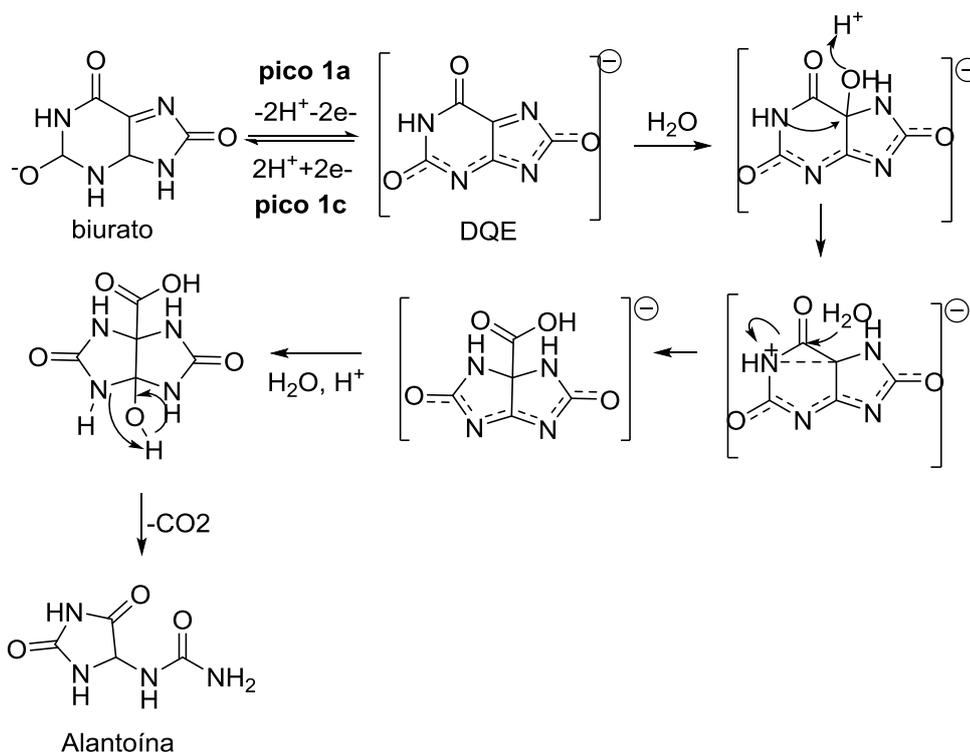
5.2.3 Mecanismo de eletro-oxidação do ácido úrico

A eletro-oxidação do AU vem sendo bastante explorada, em eletrodos líquidos e sólidos, alguns deles com proposta de mecanismos próprios e bem estabelecidos

(STRUCK; ELVING, 1965; GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982; VOLK; YOST; BRAJTER-TOTH, 1989).

Na literatura, é descrito que as reações redox do AU ocorre inicialmente a partir de uma eletro-oxidação, pico 1a, com a perda de dois elétrons e participação de dois prótons, registrado aqui neste trabalho a partir dos voltamogramas cíclicos, de PD e de OQ, **Figuras 13, 14 e 15**, gerando assim, uma espécie química instável, DQE, **Figura 18**, que tem um tempo meia-vida, e pode sofrer eletrorredução ganhando dois prótons e dois elétrons, se comportando como um par redox do AU, processo este registrado no pico 1c, **Figuras 13 e 15**, e reage paralelamente com uma molécula de água sofrendo rearranjos até novamente reagir com mais uma molécula de água e um próton, descarboxila e abre o anel gerando finalmente a alantoína, **Figura 18**. Este mecanismo só é válido para quando o $\text{pH} > \text{pKa}$ (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982). Para processos ocorridos em meio ácido, mais especificamente, quando o $\text{pH} < \text{pKa}$, o mecanismo é mais complexo, possui muitas etapas de degradação, independentes da variação de potencial, no qual, resultam na produção de aloxano, 5-hidróxihidantoína, ácido parabânico e uréia, além da alantoína (STRUCK; ELVING, 1965; GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982; VOLK; YOST; BRAJTER-TOTH, 1989).

Figura 18. Mecanismo de eletro-oxidação do ácido úrico, para $\text{pH} > \text{pK}_a$.



Fonte: Adaptado de Goyal, Brayter-toth, Dryrurst (1982)

5.3 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA GUANINA

5.3.1 Voltametria Cíclica

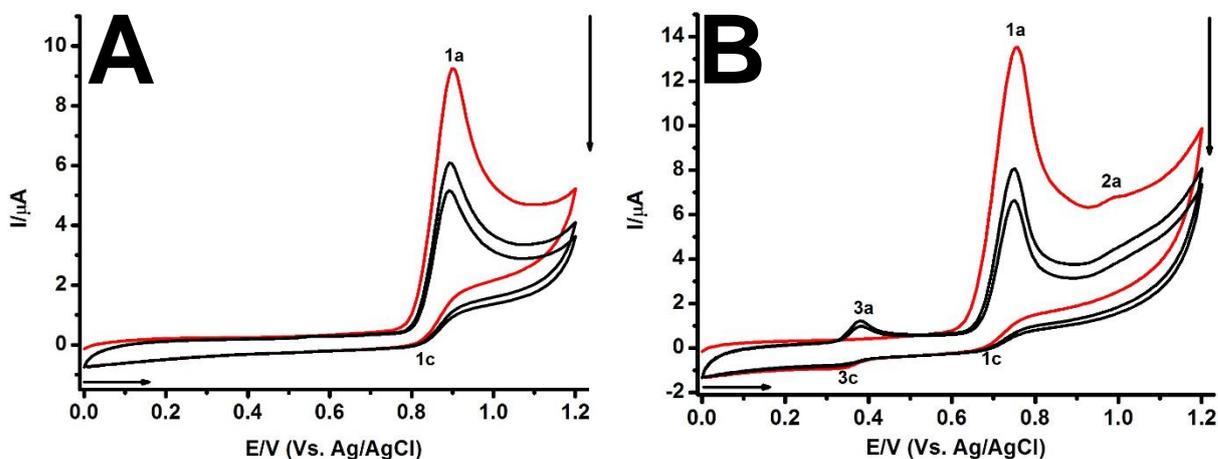
Reações redox da GUA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre um ECV, previamente tratado eletroquimicamente, foram investigadas a partir da VC, VPD e VOQ, em meios aquosos, o eletrólito tampão acetato, $\text{pH} = 4,3$ e tampão fosfato $\text{pH} = 7,0$. Os voltamogramas cíclicos da GUA foram sempre registrados de $0,0 \text{ V}$ até $1,2 \text{ V}$ e $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Em meio ácido, os voltamogramas sucessivos da GUA detectaram no sentido direto um único pico 1a em $E_{p1a} = 0,90 \text{ V}$, com $I_{p1a} = 7,03 \mu\text{A}$, relacionado com a sua eletro-oxidação (OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2002), já no sentido reverso, ocorreu um processo catódico em $E_{p1c} = 0,85 \text{ V}$, com baixa corrente de pico, **Figura 19A**, (FERAPONTOVA, 2004).

Em pH fisiológico, **Figura 19B**, a eletro-oxidação da GUA foi complexa e vários processos redox foram identificados. Na primeira varredura no sentido direto foram detectados dois processos anódicos subsequentes, 1a e 2a, em $E_{p1a} = 0,75 \text{ V}$ com $I_{p1a} = 10,35 \mu\text{A}$ e $E_{p2a} = 0,97 \text{ V}$ e $I_{p2a} = 145 \text{ nA}$, respectivamente. Nas varreduras

sucessivas foi detectado o par redox 3c/3a em $E_{p3c/3a} = 0,38 / 0,33$ V, em concordância com resultados anteriores da literatura (OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2002; GOYAL; DRYHURST, 1982).

Para estabelecer o transporte de massa da GUA do seio da solução até a interface carregada do eletrodo, foi realizado um novo experimento com a VC, por meio de uma solução de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, em tampão fosfato pH = 6,99, em uma janela de potencial de 0,0 V a 1,2 V, em diferentes velocidades de varredura (10 a 500 mV s^{-1}), o qual resultaram vários voltamogramas com dados eletroquímicos similares de voltamogramas cíclicos anteriormente obtidos em experimentos conduzidos neste meio. Os voltamogramas apresentaram dois picos anódicos, ocorridos nos potenciais de $E_{p1a} \sim 0,85$ V, relacionado com a eletro-oxidação da guanina e em $E_{p2a} \sim 1,03$ V, referente a oxidação do produto do processo 1a, um dímero (OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2002). E no sentido catódico, verificou-se a presença do pico 2c em $E_{p2c} = 0,37$ V, **Figura 19**.

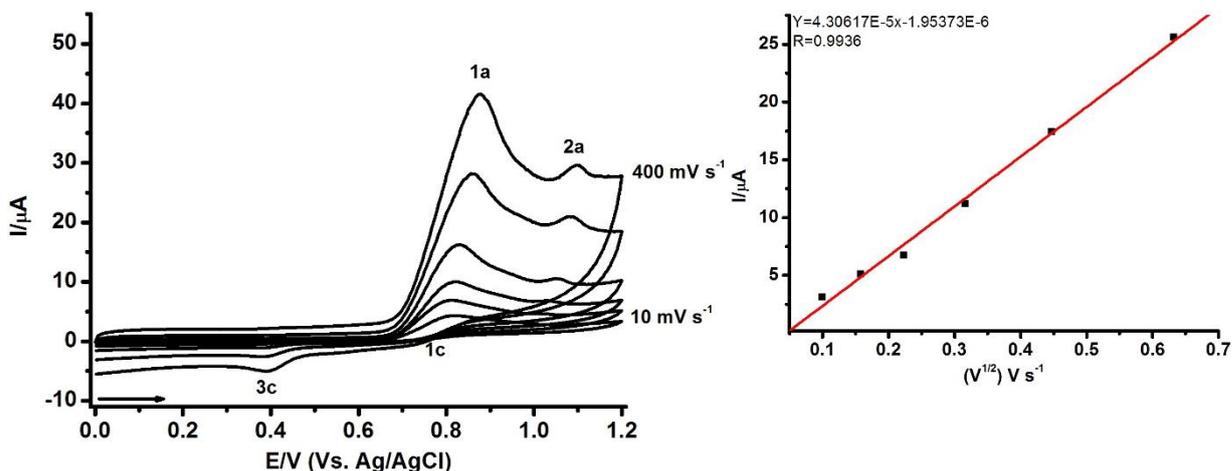
Figura 19. Voltamogramas cíclicos sucessivos da GUA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em ECV em: (A) tampão acetato, pH= 4,3 e (B) tampão fosfato, pH = 7,0. Primeira varredura (—).



Por meio destes voltamogramas, foi possível, através da relação entre a raiz quadrada da velocidade de varredura e a corrente do pico 1a, no qual, foi possível atestar pelo coeficiente de correlação linear $R = 0,994$, que a GUA tem transporte de massa do seio da solução para a interface do eletrodo controlado predominantemente

por difusão, em concordância com dados anteriores (PRAMANIK; KARKAMAR; DAS, 2023), **Figura 20**.

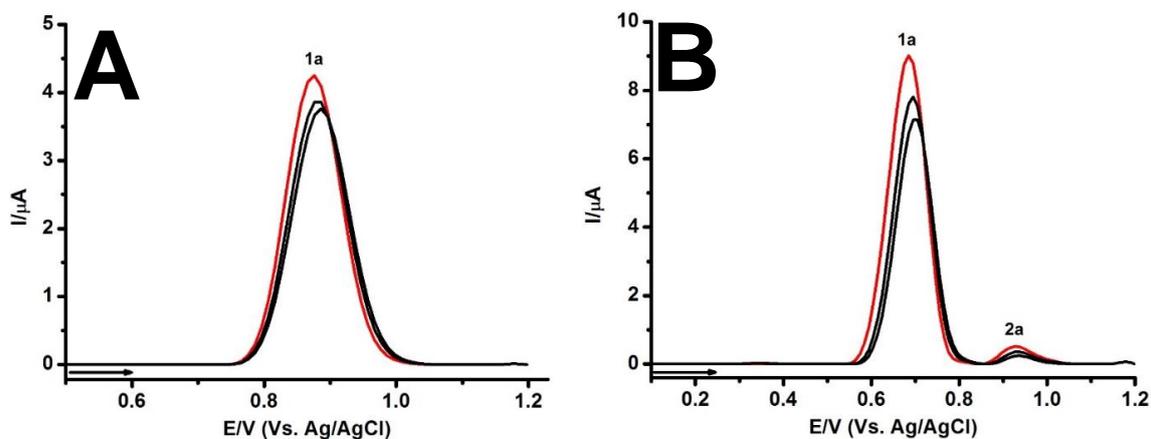
Figura 20. Varreduras sucessivas da GUA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH= 7,0, tampão fosfato, em diferentes velocidades de varredura (10-400 mV s^{-1}).



5.3.2 Voltametria de Pulso Diferencial

Os experimentos também foram conduzidos com a técnica de VPD, com $\nu = 5$ mV s^{-1} e com janela de potencial de 0,0 V até 1,2 V. Nos testes realizados na GUA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em pH = 4,3, foi possível verificar apenas uma reação de oxidação no potencial de $E_{p1a} = 0,88$ V e com $I_{p1a} = 4,25$ μA , relacionada com a eletro-oxidação da GUA, **Figura 21A**. Já nos testes realizados em pH = 7,0, os voltamogramas de PD apresentaram dois picos, os picos 1a e 2a em $E_{p1a} = 0,68$ V, com $I_{p1a} = 9,02$ μA e em $E_{p2a} = 0,93$ V, com $I_{p2a} = 517$ nA respectivamente, no qual, evidenciam duas reações subsequentes, a oxidação da GUA e de um de seus produtos, o dímero (OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2002), **Figura 21B**.

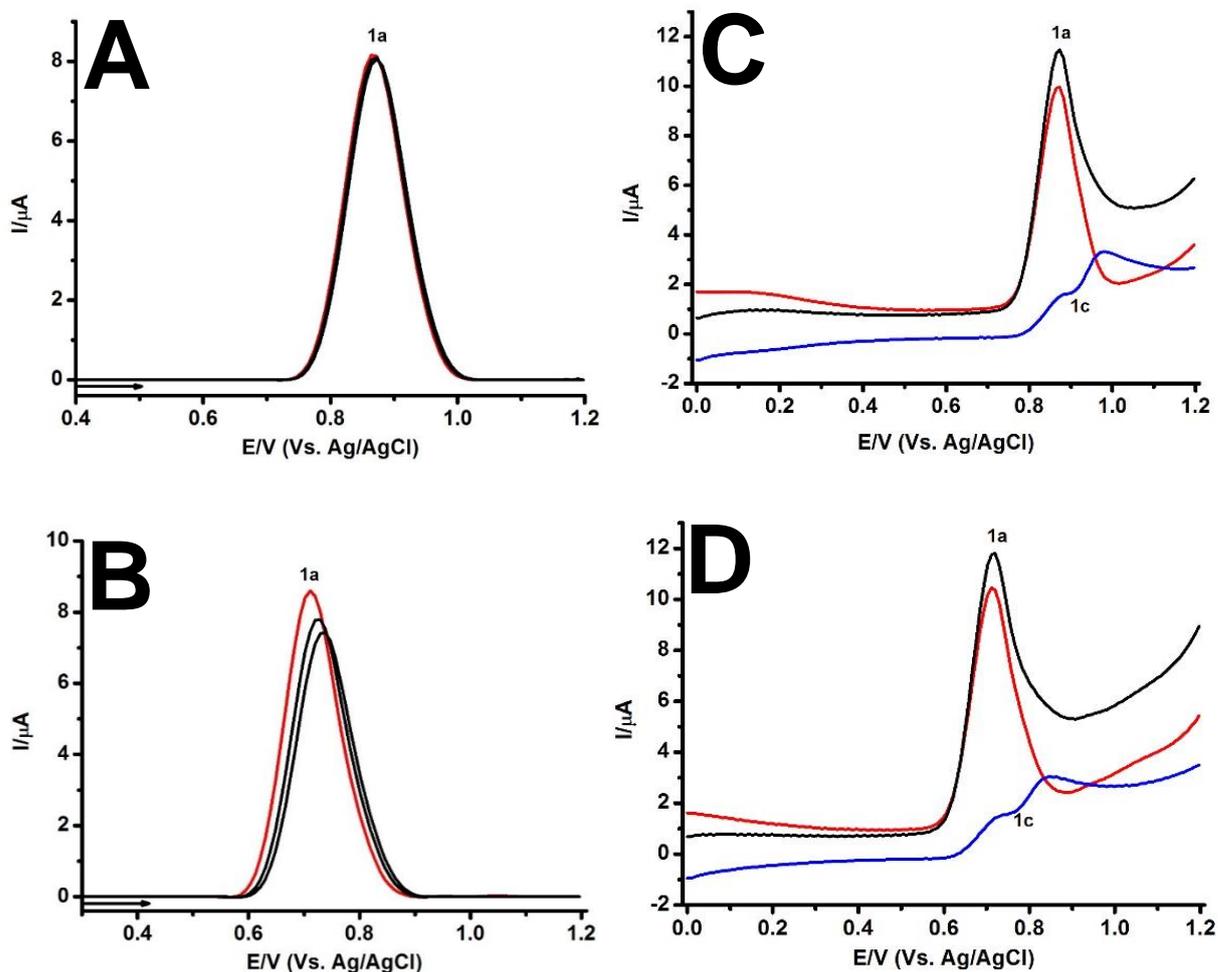
Figura 19. Voltamogramas sucessivos de PD da GUA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ tamponada em tampão acetato, pH = 4,3 (A) e em tampão fosfato, pH = 6,99 (B). Primeira varredura (—).



5.3.3 Voltametria de Onda Quadrada

Também foram realizados experimentos com a GUA com a técnica de VOQ, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ de 0,0 V até 1,2 V, a concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, os testes conduzidos com o pH = 4,3, foi verificado a presença de um único pico, o pico 1a em $E_{p1a} = 0,86 \text{ V}$ com $I_{p1a} = 8,16 \mu\text{A}$, no voltamograma resultante com linha de base corrigida, **Figura 22A e 22C**. Os experimentos realizados em pH = 7,0, indicaram a oxidação da GUA ocorreu em 0,68 V com $I_{p1a} = 8,60 \mu\text{A}$. Em ambos os pHs a separação da corrente total para corrente direta e reversa, indicou que o processo 1a ocorre irreversivelmente.

Figura 20. Voltamograma de OQ da GUA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ no ECV em: (A) e (C) tampão acetato (pH = 4,3) e (B) e (D) tampão fosfato (pH = 7,0). (A) e (B) com a primeira varredura (—). Para (C) e (D), (—) varredura no sentido direto, (—) varredura no sentido inverso e (—) voltamograma resultante.



Inicialmente, podemos notar que para GUA os processos ocorridos em meio ácido, aconteceram em potenciais mais positivos, em relação aos mesmos processos ocorridos em condições de pH fisiológico, devido a maior quantidade de entidades de guanina desprotonadas em relação a mesma submetida a pH's mais ácidos, **Figuras 20, 21 e 22**.

Ainda nos processos ocorridos em pH fisiológico, temos os picos 3c e 3a, no qual, foi associado com a redução reversível do produto da oxidação da GUA, a 8-oxoGUA (OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2001), respectivamente, se tratando de um par redox, **Figura 20B**, no qual, o pico 3a só é observado a partir da segunda varredura. O pico 2a evidencia a produção de dímeros, que por sua vez diminuem substancialmente a intensidade dos demais processos redox, devido a formação de filmes resistivos na face do eletrodo e também faz com que a partir dos

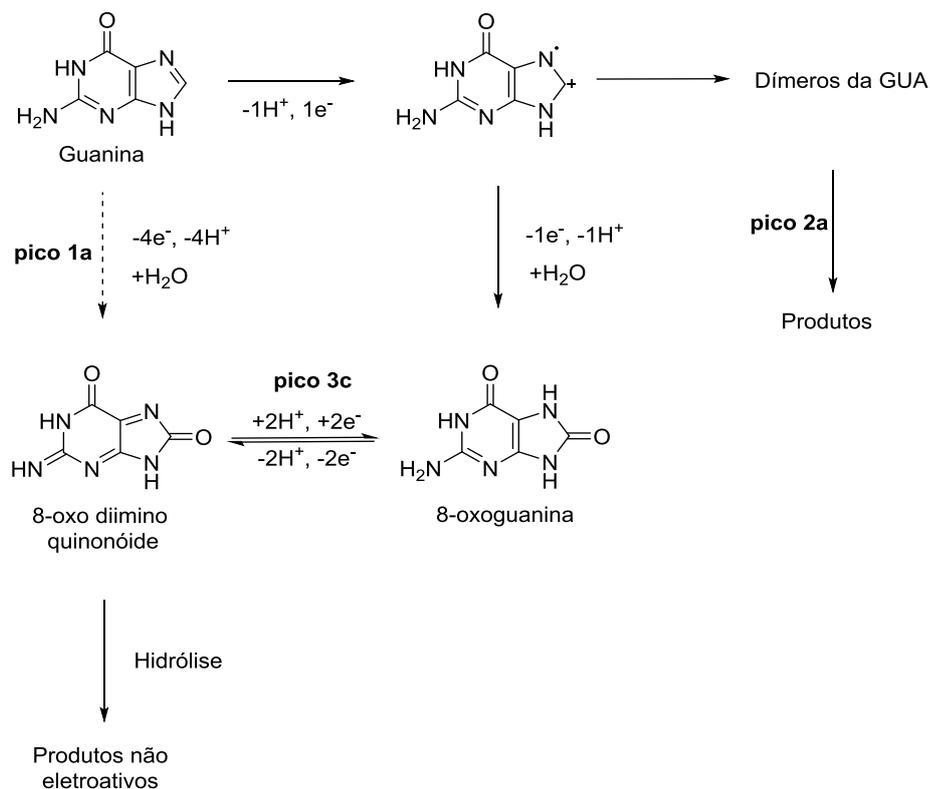
registros sucessivos o pico 1a seja deslocado para valores de potenciais maiores, **Figuras 20B e 21B**.

5.3.4 Mecanismo de Eletro-oxidação da Guanina

A eletro-oxidação da GUA foi bem estudada e é bem estabelecida na literatura, utilizando diferentes técnicas eletroquímicas e sobre diferentes eletrodos sólidos, principalmente eletrodos de carbono (GOYAL; DRYHURST, 1982; OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2001; FERAPONTOVA, 2004; DICULESCU; PIEDADE; OLIVEIRA-BRETT, 2007).

De acordo com a literatura, inicialmente a GUA sofre a perda de 1 elétron e um próton gerando um radical, associada com o pico 1a, o radical pode dimerizar, e na sequência ser eletro-oxidado (pico 2a), **Figura 18B e 19B** (LI; BATCHELOR-MCAULEY; COMPTON, 2010). Além disso, o radical paralelamente pode reagir com a água, perdendo mais um próton e um elétron e gerando a 8-oxoGUA. A 8-oxoGUA é um produto eletroativo sofrendo uma eletrorredução reversível no ECV, referente aos picos 3c/3a, **Figura 18B** (GOYAL; DRYHURST, 1982; SUBRAMANIAN; DRYHURST, 1986; OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2001; DICULESCU; PIEDADE; OLIVEIRA-BRETT, 2007). A cinética da eletro-oxidação da GUA no ECV dependia fortemente do pH, da janela e da velocidade de varredura de potencial. Assim, na VC e na VOQ, em velocidades maiores, o processo 1c foi mais facilmente detectado, uma vez que correspondia a eletrorredução do radical intermediário instável (FERAPONTOVA, 2004), **Figura 23**. Em velocidades de varredura mais baixas os voltamogramas cíclicos e de PD detectaram facilmente o processo 2a. Nos nossos resultados experimentais o processo reversível de eletrorredução da 8-oxoGUA foi detectado apenas por CV em meio neutro. As técnicas voltamétricas demonstraram claramente potencialidade em detectar, esclarecer e auxiliar na compreensão da oxidação de espécies biológicas em condições adequadas, meio aquoso e tamponado em pH fisiológico, neste caso da GUA.

Figura 21. Mecanismo de eletro-oxidação da GUA.



Fonte: Adaptado de Li, Batchelor-Mcauley, Compton, (2010)

5.4 QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO ÚRICO E DA GUANINA

5.4.1 Escolha da técnica para quantificar o AU e a GUA.

Testes com uma solução de AU e GUA $10\ \mu\text{mol L}^{-1}$ foram conduzidos por VC, VPD e VOQ, em tampão fosfato, $\text{pH} = 7,0$, com o intuito de selecionar a técnica voltamétrica mais adequada para aplicações analíticas, para detecção e quantificação simultaneamente desses analitos.

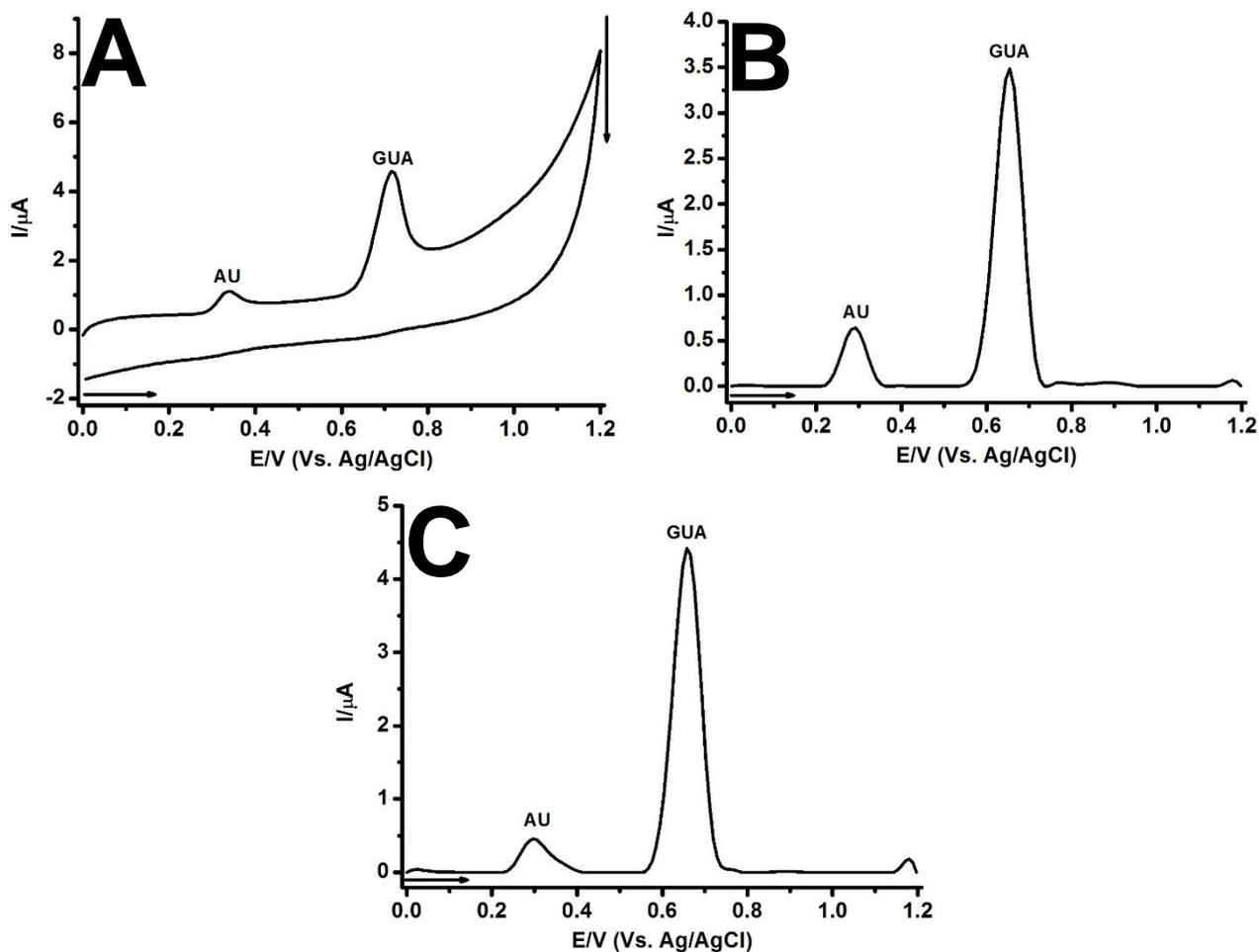
Com a técnica de VC, executada com $\nu = 100\ \text{mV s}^{-1}$, foi possível obter um voltamograma com dois picos bem definidos no sentido anódico da varredura, onde o ocorrido em $E_{pAU} = 0,34\ \text{V}$ e com $I_{pAU} = 545\ \text{nA}$, relativo a eletro-oxidação do AU (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982), e um segundo, mais positivo, em $E_{pGUA} = 0,72\ \text{V}$ e com $I_{pGUA} = 2.94\ \mu\text{A}$, relativo a eletro-oxidação da GUA (GOYAL, DRYHURST, 1982), **Figura 24A**.

Em sequência, testes também foram conduzidos com a técnica de VPD, executado com $\nu = 10\ \text{mV s}^{-1}$, o qual resultou um voltamograma com dois pico subsequentes bem definidos, um primeiro em potencial menos positivo, em $E_{pAU} =$

0,29 V e com $I_{pAU} = 640$ nA, relacionado com a eletro-oxidação do AU (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982), um segundo em $E_{pGUA} = 0,65$ V e com $I_{pGUA} = 3.48$ μ A, relacionado com a eletro-oxidação da GUA (GOYAL, DRYHURST, 1982) **Figura 24B**.

E através da técnica de VOQ, executada em $v = 50$ mV s^{-1} , registrou dois processos anódicos principais. No voltamograma resultante, com linha de base corrigida, podemos observar os processos em $E_{pAU} = 0,30$ V com $I_{pAU} = 456$ nA e $E_{pGUA} = 0,66$ V com $I_{pGUA} = 4.42$ μ A (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982) **Figura 24C**.

Figura 22. Voltamogramas cíclicos (A), de PD (B) e de OQ (C) em uma solução com de AU e GUA 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato, pH = 7,0.



Devido aos processos eletroquímicos ocorrerem em potenciais menos positivos em pH = 7,0, como visto nos experimentos preliminares, com ambos AU e GUA a

concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ isolados, **Figuras 14, 16, 17, 19, 21 e 22**. Optou-se por analisar o comportamento eletroquímico de AU e GUA, ambas a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ simultaneamente para verificar a interação de ambos os analitos sob uma situação controlada para posteriormente vir a ser quantificado, no qual, foi verificado que se comportam como previsto na literatura (PRAMANIK; KARKAMAR; DAS, 2023).

Através da análise dos voltamogramas registrando o comportamento eletroquímico do AU e da GUA simultaneamente, podemos levantar alguns critérios que nortearam a escolha da técnica de VPD, ao qual, serão quantificados ambos os analitos individual e simultaneamente.

Todas as técnicas detectaram claramente os picos anódicos do AU e da GUA e é possível evidenciar uma maior sensibilidade para detecção da GUA uma vez que para concentrações equivalentes o sinal (corrente de pico) era significativamente mais intenso para última, **TABELA 3**. Em relação a sensibilidade (larguras de meia altura, $W_{1/2}$) os resultados de VPD foram mais satisfatórios, uma vez que para ambos os analitos foram menores em relação a VC e VOQ, para o AU e em relação a VC para a GUA, menores larguras a meia altura denotam picos mais estreitos e picos mais definidos, conseqüentemente, maior sensibilidade (BRETT; OLIVEIRA-BRETT, 1993), **TABELA 3**. Uma vez que o AU mostrou sinais analíticos de menor intensidade, em comparação com a GUA, na VPD, a relação de corrente maior e largura a meia altura menor denotam valores que indicam uma situação onde a sensibilidade para o AU foram melhores em relação a VC e VOQ. Por último, os resultados de PD demonstraram uma maior predileção ao apresentarem apenas os processos de eletro-oxidação dos analitos, portanto, foram mais sensíveis e seletivos em relação a detecção e quantificação do AU e da GUA, **TABELA 3**.

Tabela 3. Dados de corrente de pico (I) e largura a meia a altura ($W_{1/2}$) de VC, VPD e VOQ, em uma mistura AU e da GUA $10 \mu\text{M}$, sobre ECV.

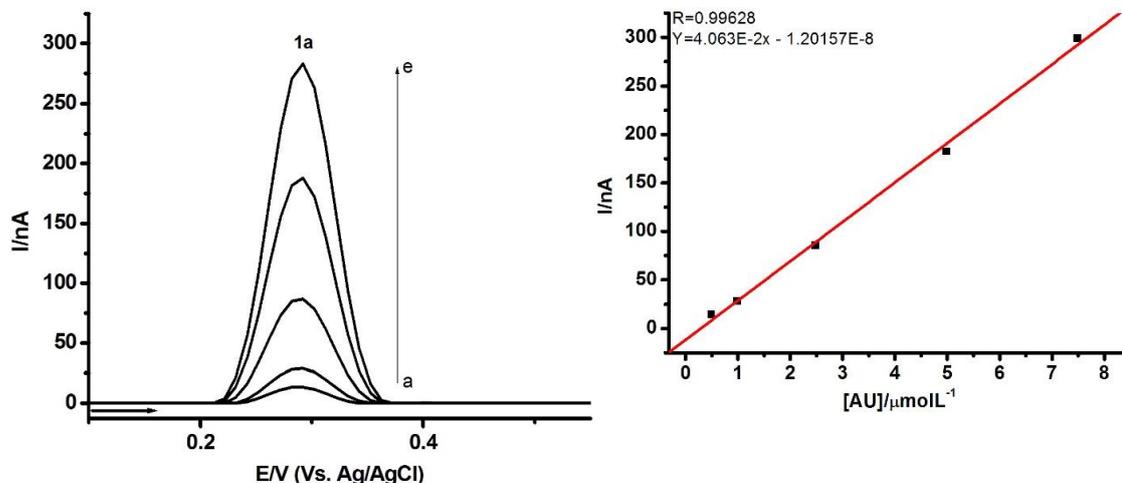
	AU	GUA
	I (nA) / $W_{1/2}$ (mV)	I (μA) / $W_{1/2}$ (mV)
VC	545 nA / 59 mV	2,63 μA / 69 mV
VPD	640 nA / 66 mV	3,48 μA / 75 mV
VOQ	456 nA / 76 mV	4.42 μA / 75 mV

5.4.2 Quantificação do AU

A partir de um volume definido (4 mL) de tampão fosfato pH = 7,0 contidas em um béquer, foram adicionadas em sequência 20, 20, 62, 108 e 114 μL de uma solução mãe de AU $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, de maneira a preparar *in situ* as concentrações de 0,498, 0,990, 2,487, 4,988 e 7,493 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de AU. A medida que eram adicionados os volumes predefinidos da solução mãe, eram submetidos a análise na técnica de VPD, a cada inserção, de 0,0 V até 1,2 V, com $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$, em tampão fosfato, pH = 7,0, no ECV sem limpeza entre as análises, realizados em triplicata, em que apresentaram picos ocorridos em $E_{p1a} = 0,29 \text{ V}$ e $I_{p1a} = 13 \text{ nA}$, referente a concentração de 0,498 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e variavam até $I_{p1a} = 0,28 \mu\text{A}$, relativo com a concentração de 7,493 $\mu\text{mol L}^{-1}$, **Figura 25**, onde o respectivo pico está associado a eletro-oxidação do AU a DQE, que sofre diversos processos degradativos podendo gerar produtos não eletroatrativos como a alantoína, aloxano e uréia e eletroatrativos como a 5-hidróxihidantoína e o ácido parabânico (GOYAL; BRAJTER-TOTH; DRYHURST, 1982; VOLK; YOST; BRAJTER-TOTH, 1989).

Ainda por meio dos dados anteriormente obtidos, foi possível estabelecer uma relação entre concentração e corrente de pico, no qual, na faixa de concentração de 0,498 $\mu\text{mol L}^{-1}$ até 7,493 $\mu\text{mol L}^{-1}$, foi obtida um excelente coeficiente de correlação linear de $R = 0,996$, da média das correntes, **Figura 25**. Ainda foi calculado o limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para este sistema, com a equação da reta de I_{pa} , $Y = 4.063 \times 10^{-2} [\text{AU}] - 1.20157 \times 10^{-8}$, no qual, o LOD pode ser obtido pela fórmula $3\sigma / S$ e o LOQ através da fórmula $10\sigma / S$, onde, σ é o desvio padrão e S é a inclinação da reta, onde o LOD = 0,54 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e LOQ = 1,79 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 23. Voltamograma e curva analítica em ECV do AU, nas concentrações de (a) 0,498, (b) 0,990, (c) 2,487 (d) 4,988, (e) 7,493 $\mu\text{mol L}^{-1}$ registrados em tampão fosfato pH= 7,0.



5.4.3 Quantificação da GUA

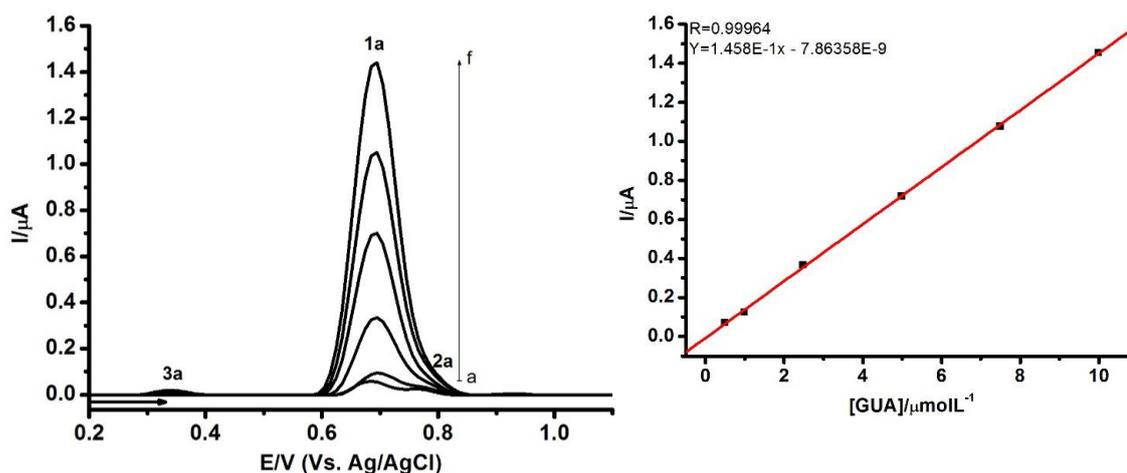
Em um béquer contendo 4mL de tampão fosfato de pH = 7,0, foram preparadas as soluções de 0,498, 0,990, 2,487, 4,988, 7,493 e 9,991 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de GUA, adicionando 20, 20, 62, 108, 114 e 120 μL de uma solução mãe de 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de GUA. A cada volume da solução mãe admitido na solução, a mesma era submetida a análises com a técnica de VPD, em uma janela de potencial de 0,0 V até 1,2 V, com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , em tampão fosfato, pH = 7,0, sobre o ECV sem limpeza entre as análises. Os testes foram realizados em triplicata.

Foram observados processos eletro-oxidativos em $E_{p1a} \sim 0,69 \text{ V}$, onde ocorreram com as variações das concentrações a variação da sua corrente de $I_{p1a} = 59 \text{ nA}$ até $I_{p1a} = 1.44 \mu\text{A}$, de concentração de 0,498 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e a concentração de 9,991 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Também ocorreram outros processos eletro-oxidativos, o pico 2a no potencial de $E_{p2a} \sim 0,77 \text{ V}$, associado a eletro-oxidação do dímero formado a partir da reação de dois radicais gerados no processo redox anterior, registrados no pico 1a, e um terceiro, o pico 3a, o potencial de $E_{p3a} \sim 0,34 \text{ V}$ (OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2002), **Figura 26**. Ambos os processos eletroquímicos, os picos 2a e 3a, possuem baixa intensidade e não interferem na identificação do pico principal, o pico 1a e não chegaram a interferir na quantificação da guanina.

Os processos eletro-oxidativos registrados no pico 1a, apresentaram correntes de picos proporcionais as concentrações preparadas, no qual, foi possível constatar um excelente coeficiente de correlação linear de $R = 0,999$, da média das correntes,

Figura 26. Com o e equação da reta de $Y = 1.458 \times 10^{-1}[\text{GUA}] - 7.86358 \times 10^{-9}$ encontrados na correlação, foi possível calcular o LOD e o LOQ, no qual, foram encontrados os valores de $0,21 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,72 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Figura 24. Voltamograma e curva analítica em ECV da GUA, nas concentrações de (a) 0.498, (b) 0,99, (c) 2,487 (d) 4,988, (e) 7,493, (f) 9,991 $\mu\text{mol L}^{-1}$ registrados em tampão fosfato pH= 7,0.



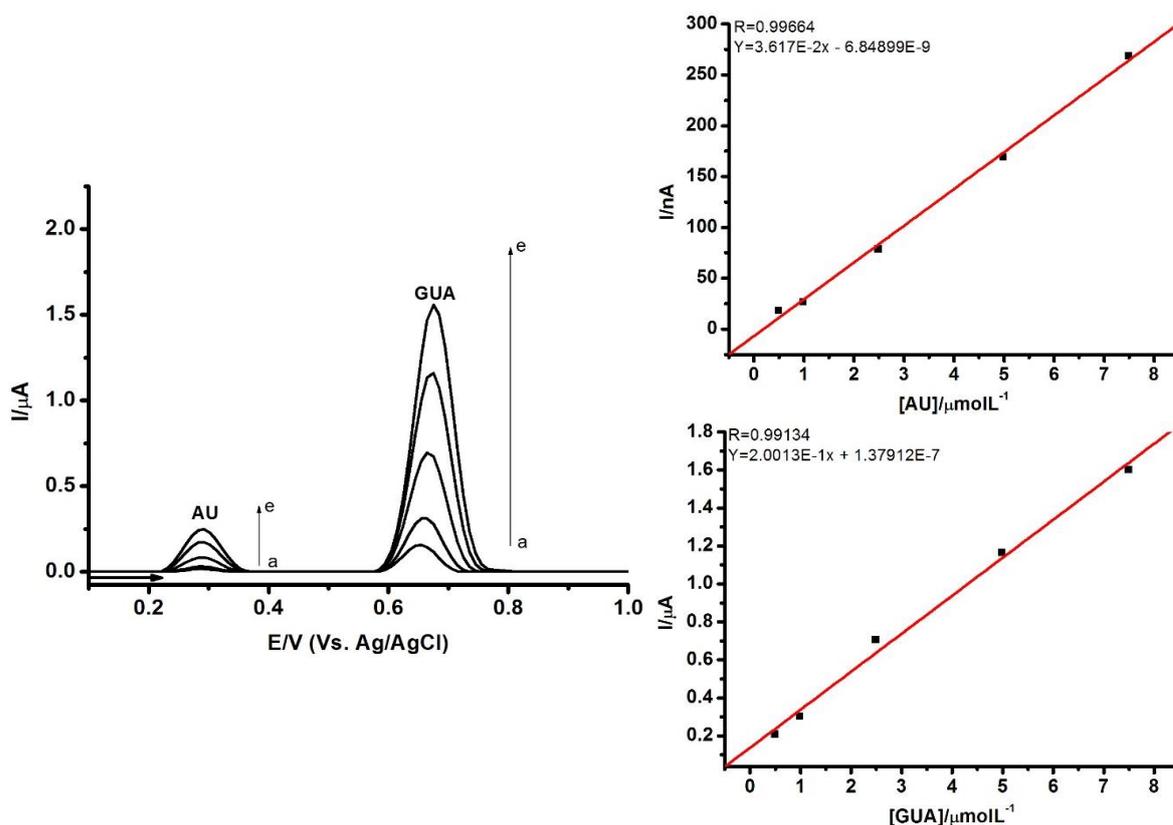
5.4.4 Quantificação do AU e da GUA simultaneamente

A partir de um volume definido em 4 mL de tampão fosfato, foram preparadas as soluções de AU e GUA, nas concentrações equivalentes 1/1 de 0,498, 0,990, 2,487, 4,988 e 7,493 $\mu\text{mol L}^{-1}$, adicionando 20, 20, 62, 108 e 114 μL , da solução mãe, contendo de AU e de GUA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ sucessivamente anteriormente a cada teste com a técnica de VPD. Em uma janela de potencial de 0,0 V até 1,2 V, com velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} , em tampão fosfato, pH= 7,0, no ECV sem limpeza entre as análises, foram as condições de testagem. Todos os resultados foram executados em triplicata.

Os voltamogramas gerados, apresentaram a presença de dois picos anódicos, ambos representados com as siglas designadas para as espécies químicas em análise, associadas aos picos ali expostos, **Figura 27**, onde, o primeiro pico, $E_{p\text{AU}} \sim 0,29 \text{ V}$, (seguindo o sentido da varredura, do menos positivo ao mais positivo), está associado a eletro-oxidação do ácido úrico (GOYAL; DRYHURST, 1982), e o segundo mais positivo, em $E_{p\text{GUA}} = 0,66 \text{ V}$, associado a eletro-oxidação da GUA (OLIVEIRA-BRETT; DICULESCU; PIEDADE, 2002), com picos que se estendem de $I_{p\text{AU}} = 16,6 \text{ nA}$, até $I_{p\text{AU}} = 248 \text{ nA}$, equivalentes a concentração de 0,498 e 0,991 $\mu\text{mol L}^{-1}$,

respectivamente, para o AU e as correntes de $I_{pGUA} = 159 \text{ nA}$ até $I_{pGUA} = 1,89 \text{ }\mu\text{A}$, respectivamente, proporcionais as concentrações de $0,498$ e $0,991 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ da GUA. As correntes observadas no pico associado ao processo eletro-oxidativo do AU e as correntes de pico da GUA se demonstraram proporcionais as concentrações de, sendo assim, os valores médios de corrente demonstraram um excelente coeficiente de correlação de $R = 0,996$, para o AU e $R = 0,991$ para a GUA, **Figura 27**. Para o AU, foi encontrada a equação da reta, $Y = 3.617 \times 10^{-2}[\text{AU}] - 6.84899 \times 10^{-9}$, $\text{LOD} = 0,51 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e o $\text{LOQ} = 1,70 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Já para a GUA, a equação da reta foi de $Y = 2.0013 \times 10^{-1}[\text{GUA}] + 1.37912 \times 10^{-7}$, $\text{LOD} = 0,82 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e o $\text{LOQ} = 2,73 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$.

Figura 25. Voltamogramas de DP e curva analítica em ECV da mistura de AU e GUA, nas concentrações equivalentes de (a) $0,498$, (b) $0,990$, (c) $2,487$, (d) $4,988$, (e) $7,493 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ registrados em tampão fosfato $\text{pH} = 7,0$.



Através dos dados obtidos através de análise simultânea com voltametria, de ambos AU e GUA, é possível comparar com outras produções, **TABELA 4**, de maneira a evidenciar o desempenho dos métodos analíticos baseados em voltametria com o ECV e o eletrodo de pasta de grafite modificado e LOD's com valores próximos, para efeito de comparação, com os valores encontrados neste trabalho.

A lista de métodos vão desde o ECV com a técnica de VOQ (JOHN, 2005), o eletrodo de pasta de carbono modificado com ferrato de neodímio (NdFeO₃/PG), com a técnica de VPD (KUMAR *et al*, 2019) ao eletrodo de pasta de carbono modificado com manganato de níquel (NiMn₂O₄ /PG), com a técnica de VPD (PRAMANIK; KARKAMAR; DAS, 2022).

Tabela 4. Comparação de métodos eletroanalíticos para a detecção AU em presença de interferentes e de GUA em presença de interferentes.

Analito	método	pH	LOD (μmolL^{-1})	Faixa linear (μmolL^{-1})	Tipo de interferente	Referência
AU	VPD-ECV	7,0	0,51	0,498 - 7,493	Guanina	Este trabalho
AU	VOQ-ECV	4,0	1	-	Ácido ascórbico	(JOHN, 2005)
AU	VPD- NdFeO ₃ /PG	5,0	0,32	1 - 120	Guanina	(KUMAR <i>et al</i> , 2019)
AU	VPD- NiMn ₂ O ₄ /PG	5,0	0,4	3 - 120	Guanina	(PRAMANIK; KARKAMAR; DAS, 2022)
GUA	DPV - ECV	7,0	0,82	0,498 - 7,493	Ácido úrico	Este trabalho
GUA	VPD- NdFeO ₃ /PG	5,0	0,3	0,5 - 100	Ácido úrico	(KUMAR <i>et al</i> , 2019)
GUA	VPD- NiMn ₂ O ₄ /PG	5,0	0,4	0,5 - 100	Ácido úrico	(PRAMANIK; KARKAMAR; DAS, 2022)

6. CONCLUSÃO

As respostas voltamétricas de um ECV foram investigadas utilizando como prova o par redox [Fe(CN)₆]^{4-/3-} e foram bem satisfatórias com excelentes desempenhos analíticos. De acordo com os resultados eletroquímicos na técnica de

VC, foi possível mensurar, através da equação de Randles-Sevcik, a área eletroativa do ECV utilizado, de 0,047 cm² e calculado a sua área real ativa de 66%.

O comportamento redox das purinas AU e GUA em meios aquosos, foram aqui investigados por meio das técnicas de VC, VPD e VOQ, sobre o ECV, em condições experimentais controladas, em tampão acetato, pH ácido (pH = 4,3) e em tampão fosfato, o pH fisiológico (pH = 7,0). A técnica voltamétrica escolhida para a quantificação do AU e da GUA, foi a técnica de PD, em meio fisiológico (pH = 7,0).

O comportamento redox do AU foi observado sobre o ECV, no qual, na eletro-oxidação do AU ocorreu em um único processo, dependente do pH, com a perda de dois prótons e dois elétrons, associado com a formação de um intermediário, DQE, que pode tanto ser reduzido a AU novamente, quanto pode seguir degradando até a alantoína, esta segunda é a via mais propensa de ser seguida. Através de múltiplos voltamogramas na técnica de VC, foi verificado que os processos redox identificados foram controlados a partir de um transporte de massa por difusão.

A quantificação do AU foi realizada no ECV, somente na técnica de VPD, em pH fisiológico, no qual, através das correntes dos picos relativos a eletro-oxidação do AU, em diferentes concentrações, foram detectados de maneira inequívoca mesmo na presença da GUA, o que pode ser evidenciado dos coeficientes de correlação encontrados de 0,996 e 0,996, para o AU apenas e em presença da GUA, respectivamente. Também foi possível calcular o LOD e o LOQ para o AU apenas, de 0,54 e 1,79 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente e para o AU, e em presença da GUA que foi de LOD = 0,51 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o LOQ = 1,70 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

O comportamento redox da GUA foi investigado em ECV, onde, na eletro-oxidação da GUA ocorreu em uma única etapa, dependente do pH, no qual ocorreu a perda de um próton e um elétron, originando um radical instável que pode dimerizar ou pode reagir com a água para a formação de 8oxoGUA. Foi observado também a ocorrência de um processo redutivo de um par redox da guanina, atribuído a redução de um suposto radical, observado nos voltamogramas de VC e OQ. Através de múltiplos voltamogramas, em diferentes velocidades de varredura, no qual foi possível constatar que o transporte de massa da GUA ocorreu predominantemente por difusão.

Os estudos conduzidos através da técnica de VPD, em pH fisiológico, pela eletro-oxidação da GUA, em diferentes concentrações, no qual, pelas intensidades correntes de pico obtidas, permitiu uma detecção sem pormenores da GUA, onde, pôde ser constatado nos coeficientes de correlação de 0,999 e 0,991, para apenas a

GUA e para GUA em presença do AU, respectivamente. Através destes testes na técnica de VPD, foi possível obter os LOD e de LOQ para GUA, no qual, apenas para GUA, foram de $0,21 \mu\text{mol L}^{-1}$ e de $0,72 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Em presença do AU, os valores de LOD e LOQ foram de $0,82 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $2,73 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Estes resultados demonstram as capacidades das técnicas voltamétricas nos estudos de comportamento redox, bem como, estudos cinéticos e de para quantificação de substâncias eletroativas, portanto, este material foi produzido apresentando diversos resultados, no qual, poderão ser utilizados como material suporte em aulas de disciplinas de eletroquímica e eletroanalítica no curso de química da UFRPE.

7. REFERÊNCIAS

AAFRIA, S. *et al.* Electrochemical biosensing of uric acid: A review. **Microchemical Journal**, p. 107945, 2022.

BARD, A.J.; FAULKNER, L.R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, 2000.

BRETT, A.M.O.; MATYSIK, F. Sonoelectrochemical studies of guanine and guanosine. **Bioelectrochemistry and bioenergetics**, v. 42, n. 2, p. 111-116, 1997.

BRETT, A.M.O.; PIEDADE, J.A.P.; SERRANO, S.H.P. Electrochemical Oxidation of 8-Oxoguanine. **Electroanalysis**, v. 12, n. 12, p. 969-973, 2000.

BRETT, C.; OLIVEIRA-BRETT, A. **Electrochemistry: Principles, Methods and Applications**. Oxford: Oxford Science University Publications ed., 1993. 444 p.

BROTONS, A. *et al.* Voltammetric Behaviour of 7-Methylguanine Using Screen-printed Graphite Electrodes: towards a Guanine Methylation Electrochemical Sensor. **Electroanalysis**, v. 27, n. 12, p. 2766-2772, 2015.

CHAUDHARY, K. *et al.* Uric acid-key ingredient in the recipe for cardiorenal metabolic syndrome. **Cardiorenal medicine**, v. 3, n. 3, p. 208-220, 2013.

CHIORCEA-PAQUIM, A.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Nanostructured material-based electrochemical sensing of oxidative DNA damage biomarkers 8-oxoguanine and 8-oxodeoxyguanosine: a comprehensive review. **Microchimica Acta**, 2021, V. 188, n. 58, p. 1-13.

COMPTON, R. G., BANKS, C. E., **Understanding Voltammetry**. 2nd Edition. World Scientific Publishing Europe, 2018.

DESIDERI, G. *et al.* Is it time to revise the normal range of serum uric acid levels?. **European Review for Medical & Pharmacological Sciences**, v. 18, n. 9, 2014.

DICULESCU, V.; PIEDADE, J. A. P.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. Electrochemical behaviour of 2,8-dihydroxyadenine at a glassy carbon electrode, **Bioelectrochemistry**, 2007, v. 70, p. 141-146.

FERAPONTOVA, E.E. Electrochemistry of guanine and 8-oxoguanine at gold electrodes. **Electrochimica acta**, v. 49, n. 11, p. 1751-1759, 2004.

FERRARI, A. G *et al.* Determination of the electrochemical area of screen-printed electrochemical sensing platforms. **Biosensors**, v. 8, n. 2, p. 53, 2018.

GHANBARI, K.; AHMADI, F. NiO hedgehog-like nanostructures/Au/polyaniline nanofibers/reduced graphene oxide nanocomposite with electrocatalytic activity for non-enzymatic detection of glucose. **Analytical biochemistry**, v. 518, p. 143-153, 2017.

GOYAL, R. N.; BRAJTER-TOTH, A.; DRYHURST, G. Further insights into the electrochemical oxidation of uric acid. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 131, p. 181-202, 1982.

GOYAL, R.N.; DRYHURST, G. Redox chemistry of guanine and 8-oxyguanine and a comparison of the peroxidase-catalyzed and electrochemical oxidation of 8-oxyguanine. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 135, n. 1, p. 75-91, 1982.

HARRIS, D. **Análise Química Quantitativa**, 9^o ed. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora Ltda., 2017. 774 p.

JANG, Y.H. *et al.* p K a Values of Guanine in Water: Density Functional Theory Calculations Combined with Poisson- Boltzmann Continuum- Solvation Model. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 1, p. 344-357, 2003.

JIMÉNEZ, V.; ALDERETE, J. B. Theoretical calculations on the tautomerism of uric acid in gas phase and aqueous solution. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 755, n. 1-3, p. 209-214, 2005.

JOHN, S. A. Simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid using glassy carbon electrodes in acetate buffer solution. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 579, n. 2, p. 249-256, 2005.

KUMAR, Y. *et al.* Electrochemical determination of guanine and uric acid using NdFeO₃ Nps modified graphite paste electrode. **NIScPR Journal of Scientific and Industrial Research**, v.78, n.3, p.177-181, 2019.

LI, Q. *et al.* Determination of uric acid in biological samples by high performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry and study on pathogenesis of pulmonary arterial hypertension in pulmonary artery endothelium cells. **RSC advances**, v. 8, n. 45, p. 25808-25814, 2018.

LI, Q. *et al.* Urinary metabolomics study of patients with gout using gas chromatography-mass spectrometry. **BioMed research international**, v. 2018, 2018.

LI, Q.; BATCHELOR-MCAULEY, C.; COMPTON, R. G. Electrochemical oxidation of guanine: electrode reaction mechanism and tailoring carbon electrode surfaces to

switch between adsorptive and diffusional responses. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 114, n. 21, p. 7423-7428, 2010.

LIPPERT, B., GUPTA, D. Promotion of rare nucleobase tautomers by metal binding. **Dalton Transactions**, n. 24, p. 4619-4634, 2009.

LISKA, A. *et al.* Oxidation potentials of guanine, guanosine and guanosine-5'-monophosphate: theory and experiment. **Electrochem Acta**, V.318, p.108–119, 2019.

LIU, L. *et al.* A novel electrochemical sensor based on bimetallic metal–organic framework-derived porous carbon for detection of uric acid. **Talanta**, v. 199, p. 478-484, 2019.

LIU, N. *et al.* The role of oxidative stress in hyperuricemia and xanthine oxidoreductase (XOR) inhibitors. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, 2021.

LI, Y.; LIU, J.. Sensing guanine and its derivatives: From molecular recognition to applications. **Sensors and Actuators Reports**, v. 2, n. 1, p. 100020, 2020.

MAIUOLO, J. *et al.* Regulation of uric acid metabolism and excretion. **International journal of cardiology**, v. 213, p. 8-14, 2016.

MANDAL, A. K.; MOUNT, David B. The molecular physiology of uric acid homeostasis. **Annual review of physiology**, v. 77, p. 323-345, 2015.

MARKAS, A. T. *et al.* Comparative study of the voltammetric behaviour of guanine at carbon paste and glassy carbon electrodes and its determination in purine mixtures by differential-pulse voltammetry. **Analyst**, v. 117, n. 10, p. 1613-1618, 1992.

MENDES, C.H.S *et al.* Electrochemical Detection of Guanine-methylation Using Glassy Carbon Electrode. **Electroanalysis**, v. 32, n. 1, p. 19-28, 2020.

MENDES, C.H.S; SILVA, M.W.F.; OLIVEIRA, S.C.B. Voltammetric determination of 5-methylcytosine at glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 895, p. 115437, 2021.

MORAN, L. A.; HORTON, H. R.; SCRIMGEOUR, K. G.; PERRY, M. D. **Principles of Biochemistry** Fifth Edition, pearson, 2012.

NAKAYAMA, A. *et al.* Clinical practice guideline for renal hypouricemia. **Human Cell**, v. 32, p. 83-87, 2019.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2014.

NORAZMI, N. *et al.* Uric acid detection using uv-vis spectrometer. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2017. p. 012031.

OLIVEIRA-BRETT, A.M., DICULESCU, V., PIEDADE, J.A.P. Electrochemical oxidation mechanism of guanine and adenine using a glassy carbon microelectrode. **Bioelectrochemistry**, v. 55, n. 1-2, p. 61-62, 2002.

OSTERYOUNG, J.G.; SCHREINER, M.M. Recent advances in pulse voltammetry. **CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 19, n. sup1, p. S1-S27, 1988.

OWENS, J.L.; MARSH JR, H.A.; DRYHURST, G. Electrochemical oxidation of uric acid and xanthine: an investigation by cyclic voltammetry, double potential step chronoamperometry and thin-layer spectroelectrochemistry. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 91, n. 2, p. 231-247, 1978.

PACHECO, W. F. *et al.* Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PANDA, S. *et al.* Human Diseases Induced by Oxidative Damage in DNA. In: Nucleic Acid Biology and its Application in Human Diseases. **Singapore: Springer Nature Singapore**,. p. 135-166, 2023.

PRAMANIK, S.; KARMAKAR, P. I.; DAS, D. K. Electrochemical Sensing of Uric Acid and Guanine Using a Graphite Paste Electrode of NiMn₂O₄ Spinel Nanoparticles. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 134-147, 2023.

RICHETTE, P.; BARDIN, T. Colchicine for the treatment of gout. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 11, n. 17, p. 2933-2938, 2010.

ROCHELEAU, M.; PURDY, W. C. The application of quaternary ammonium ionic polymers to electroanalysis: Part 2. Voltammetric studies with quaternary ammonium functionalized polymer film-coated electrodes. **Electroanalysis**, v. 3, n. 9, p. 935-939, 1991.

RUSLING, J.F.; SUIB, S. L. Characterizing materials with cyclic voltammetry. **Advanced Materials**, v. 6, n. 12, p. 922-930, 1994.

SINGH, G. *et al.* Graphene oxide functionalized organosilane based fluorescent biosensor for detecting guanine in human urine. **Materials Chemistry and Physics**, v. 287, p. 126130, 2022.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R. **Principles of instrumental analysis**. Cengage learning, 2017.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH, **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo-SP, 2006.

SO, A. *et al.* Uric acid transport and disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 120, n. 6, p. 1791-1799, 2010.

STRUCK, W.A.; ELVING, P.J. Electrolytic oxidation of uric acid: Products and mechanism. **Biochemistry**, v. 4, n. 7, p. 1343-1353, 1965.

SUBRAMANIAN, P.; DRYHURST, G. Electrochemical oxidation of guanosine formation of some novel guanine oligonucleosides. **Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry**, v. 224, n. 1-2, p. 137-162, 1987.

USKOKOVIC, V. A historical review of glassy carbon: Synthesis, structure, properties and applications. **Carbon Trends**, v. 5, p. 100116, 2021.

VOLK, K.J.; YOST, R.A.; BRAJTER-TOTH, A. On-line electrochemistry/thermospray/tandem mass spectrometry as a new approach to the study of redox reactions: the oxidation of uric acid. **Analytical chemistry**, v. 61, n. 15, p. 1709-1717, 1989.

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**, John Wiley & Sons, 2000.

WANG, Q.; WEN, Xu; KONG, Jinming. Recent progress on uric acid detection: a review. **Critical reviews in analytical chemistry**, v. 50, n. 4, p. 359-375, 2020.

WEIMANN, A., BELLING, D., POULSEN, H.E. Quantification of 8-oxo-guanine and guanine as the nucleobase, nucleoside and deoxynucleoside forms in human urine by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. **Nucleic acids research**, v. 30, n. 2, p. e7-e7, 2002.

WU, K. *et al.* A gas chromatography/electron capture/negative chemical ionization high-resolution mass spectrometry method for analysis of endogenous and exogenous N 7-(2-hydroxyethyl) guanine in rodents and its potential for human biological monitoring. **Chemical research in toxicology**, v. 12, n. 8, p. 722-729, 1999.

WU, M. *et al.* Hyperuricemia causes kidney damage by promoting autophagy and NLRP3-mediated inflammation in rats with urate oxidase deficiency. **Disease Models & Mechanisms**, v. 14, n. 3, p. dmm048041, 2021.

WU, W. *et al.* Nitrogen-doped carbon nanodots prepared from polyethylenimine for fluorometric determination of salivary uric acid. **Microchimica Acta**, v. 186, p. 1-8, 2019.