



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



MAYCOM WILLAMS DE FARIAS SILVA

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DOS AMINOÁCIDOS
AROMÁTICOS TRIPTOFANO E TIROSINA E DOS AMINOÁCIDOS CISTEÍNA,
HISTIDINA E METIONINA SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO**

RECIFE

2022

MAYCOM WILLAMS DE FARIAS SILVA

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DOS AMINOÁCIDOS
AROMÁTICOS TRIPTOFANO E TIROSINA E DOS AMINOÁCIDOS CISTEÍNA,
HISTIDINA E METIONINA SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO**

Monografia apresentada por Maycom Willams de Farias Silva a Coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Severino Carlos Bezerra de Oliveira.

RECIFE

2022

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)

- S586e Silva, Maycom Willams de Farias
Estudo do comportamento eletroquímico dos aminoácidos aromáticos triptofano e tirosina e dos aminoácidos cisteína, histidina e metionina sobre eletrodo de carbono vítreo / Maycom Willams de Farias Silva. - 2022.
56 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, 2022.
1. Biomarcadores. 2. Mecanismo redox. 3. Estresse oxidativo. I. Oliveira, Severino Carlos Bezerra de, orient. II. Título

**ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DOS AMINOÁCIDOS
AROMÁTICOS TRIPTOFANO E TIROSINA E DOS AMINOÁCIDOS CISTEÍNA,
HISTIDINA E METIONINA SOBRE ELETRODO DE CARBONO VÍTREO**

Monografia apresentada por Maycom Willams de Farias Silva a Coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como um dos requisitos para a obtenção do título de Licenciado em Química.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Severino Carlos Bezerra de Oliveira (Orientador)
DQ/UFRPE

Profa. Dra. Katia Cristina Silva de Freitas
DQ/UFRPE

Prof. Dr. Marcilio Martins de Moraes
DQ/UFRPE

A minha mãe, pai e namorada pela
dedicação, companheirismo e amizade,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, Juride Cristina, por ter sido minha mãe e pai por toda minha infância, sendo meu maior alicerce na base familiar, sem você eu não seria nada, meu eterno agradecimento. EU TE AMO.

Ao meu pai, Marivaldo Francisco, que entrou na minha vida, dando o apoio e amor que eu precisava, você é meu exemplo. Muito obrigado.

A minha namorada, Nathália Raphaella, por ser maravilhosa, por toda paciência que tem comigo, e todos os momentos que compartilhamos.

Aos meus amigos do Laboratório de Eletroanalítica e Bioeletroquímica (LEB), Carlos, José, Nathalia, Maysa, Arthur, Alex, Severino e Eudes, muito obrigado por compartilhar esse tempo comigo me ensinando e me ajudando em todas as etapas e trabalhos desenvolvidos no laboratório, a ajuda de vocês me deu forças para continuar nessa estrada.

Agradeço ao Prof. Dr. Severino Carlos por ter me convidado a participar do programa de iniciação científica (PIBIC), durante os 3 anos que passei no programa, tive diversas experiências e oportunidades inesquecíveis, também agradeço pelo aceite em ser meu orientador na monografia e por todos os ensinamentos durante este período.

RESUMO

A oxidação de aminoácidos livres ou em resíduos de proteínas é gerada principalmente pela presença de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS) e vêm sendo associadas com diferentes doenças, como Parkinson, Alzheimer, diabetes e câncer. Assim essas interações vêm sendo investigadas ao longo do tempo para melhor compreensão desses eventos patológicos. O presente trabalho teve como objetivo principal investigar o comportamento eletroquímico em tampão fosfato (pH = 7,0) dos aminoácidos aromáticos triptofano (Trp) e tirosina (Tyr) e dos aminoácidos cisteína (Cis), histidina (His) e metionina (Met), sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE), utilizando técnicas voltamétricas e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Os resultados indicaram que todas as biomoléculas aqui investigadas são eletroativas. Os resultados do Trp obtidos pelas técnicas voltamétricas, indicam que o processo anódico principal ocorre pela retirada de um elétron e um próton com formação de vários produtos que adsorvem a superfície do GCE, os resultados de EIS da espécie confirmam este fenômeno. A Tyr teve seu comportamento investigado e um processo anódico principal foi detectado, envolvendo a retirada de um elétron e um próton, formando um radical fenóxi que segue a via de dimerização, formando um produto não-eletroativo que adsorve fortemente sobre o GCE, passivando sua superfície. A Cis, His e Met são oxidadas em três, uma e duas etapas respectivamente, todas irreversíveis. A eletro-oxidação da His diferentemente dos demais aminoácidos ocorreu em potenciais elevados já próximo a eletro-oxidação do eletrólito suporte.

Palavras-Chave: Biomarcadores. Mecanismo redox. Estresse oxidativo.

ABSTRACT

The oxidation of free amino acids or protein residues is generated mainly by the presence of reactive oxygen species (ROS) and nitrogen (RNS) and has been associated with different diseases, such as Parkinson's, Alzheimer's, diabetes, and cancer. Thus, these interactions have been investigated over time to better understand these pathological events. The main objective of this work was to investigate the electrochemical behavior in phosphate buffer (pH = 7.0) of the aromatic amino acids tryptophan (Trp) and tyrosine (Tyr) and of the amino acids cysteine (Cis), histidine (His), and methionine (Met), on the glassy carbon electrode surface (GCE), using voltammetric techniques and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The results indicated that all the biomolecules investigated here are electroactive. The Trp results obtained by the voltammetric techniques indicate that the main anodic process occurs by the removal of one electron and one proton, with the formation of several products that adsorb the surface of the GCE. The EIS data of the species confirm this phenomenon. Tyr had its behavior investigated and its main anodic process, like Trp, involves the removal of one electron and one proton, forming a radical that follows the dimerization pathway, forming a non-electroactive product that strongly adsorbs on the GCE, passivating its surface. Cys, His, and Met are oxidized in three, one, and two steps respectively, all of which are irreversible. Unlike the other amino acids, the electro-oxidation of His occurred at high potentials already close to the electro-oxidation of the supporting electrolyte.

Keywords: Biomarkers. Redox mechanism. Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura geral dos aminoácidos.....	12
Figura 2 – Sinal de excitação e voltamograma de CV.....	20
Figura 3 – Sinal de excitação e voltamograma de DPV.	21
Figura 4 – Sinal de excitação e voltamograma de SWV.	22
Figura 5 – Representações gráficas da perturbação do sistema (A), diagrama de Nyquist (B) e circuito elétrico (C).....	23
Figura 6 – Potenciostato e célula eletroquímica.....	27
Figura 7 - Voltamogramas sucessivos do Trp 1,0 mmol L ⁻¹ , em tampão fosfato (pH = 7,0).	30
Figura 8 – Varreduras sucessivas em CV do Trp 1,0 mmol L ⁻¹ em pH = 7,15.	32
Figura 9 – Representação do diagrama de Nyquist de espectros de EI do Trp 1,0 mmol L ⁻¹ (pH = 7,15).	33
Figura 10 - Representação do diagrama de Nyquist de espectros sucessivos de EI do Trp 1,0 mmol L ⁻¹ (pH = 7,0).	34
Figura 11 - Mecanismo de eletro-oxidação do Trp.	36
Figura 12 - Voltamogramas sucessivos da Tyr 2,0 mmol L ⁻¹ , em tampão fosfato (pH = 7,0).	38
Figura 13 - Varreduras sucessivas em CV da Tyr 1,0 mmol L ⁻¹ em pH = 7,15.	39
Figura 14 – Representação do diagrama de Nyquist dos espectros de EI do Tyr 1,0 mmol L ⁻¹ (pH = 7,0).	40
Figura 15 – Representação do diagrama de Nyquist dos espectros sucessivos de EI do Tyr 1,0 mmol L ⁻¹ (pH = 7,0).	41
Figura 16 - Mecanismo de oxidação proposto para a p-Tyr.	42
Figura 17 - Voltamogramas sucessivos da Cys 1,0 mmol L ⁻¹ , em tampão fosfato (pH = 7,0).	43
Figura 18 - Voltamogramas sucessivos da His 2,0 mmol L ⁻¹ , em tampão fosfato (pH = 7,0).	45
Figura 19 - Voltamogramas sucessivos da Met 2,0 mmol L ⁻¹ , em tampão fosfato (pH = 7,0).	47
Figura 20 – Espectros UV-Vis dos aminoácidos aromáticos Trp, Tyr e Phe, em meio neutro.	49

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 - Nomenclatura e classificação dos aminoácidos.....	13
Tabela 1 - Substâncias com seus respectivos fabricantes.....	26
Tabela 2 – Potenciais de oxidação dos aminoácidos em DPV sobre a superfície do GCE em tampão fosfato pH ~ 7.0.	31
Tabela 3 - Valores das correntes do pico 1a referentes aos voltamogramas registrados em uma solução do Trp 1,0 mmol L ⁻¹ em pH = 7,15, Fig. 5	32
Tabela 4 - Valor das R_{ct} dos espectros de impedância da Trp 1,0 mmol L ⁻¹ pH = 7,15.	35
Tabela 5 - Valores das correntes do pico 1a referentes aos voltamogramas registrados em uma solução de Tyr 1,0 mmol L ⁻¹ na Fig. 9	39
Tabela 6 - Valor das R_{ct} dos espectros de impedância da Tyr 1,0 mmol L ⁻¹ pH 7,0. .	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ag AgCl	Eletrodo de referência de prata / cloreto de prata
Arg	Arginina
Cys	Cisteína (do inglês “Cysteine”)
CV	Voltametria cíclica (do inglês “Cyclic Voltammetry”)
DPV	Voltametria de pulso diferencial (do inglês “Differential Pulse Voltammetry”)
dsDNA	Ácido desoxirribonucleico de dupla fita (do inglês “double-stranded Deoxyribonucleic acid”)
EIS	Espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês “Electrochemical Impedance Spectroscopy”)
GCE	Eletrodo de carbono vítreo (do inglês “Glassy Carbon Electrode”)
His	Histidina
Lys	Lisina (do inglês “Lysine”)
Met	Metionina
Phe	Fenilalanina (do inglês “Phenylalanine”)
RNS	Espécies reativas de nitrogênio (do inglês “Reactive Nitrogen Species”)
ROS	Espécies reativas de oxigênio (do inglês “Reactive Oxygen Species”)
SWV	Voltametria de onda quadrada (do inglês “Square Wave Voltammetry”)
Tyr	Tirosina (do inglês “Tyrosine”)
Trp	Triptofano

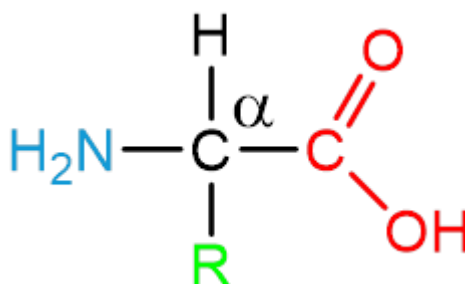
SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	25
3	METODOLOGIA	26
3.1	MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.2	PARÂMETROS VOLTAMÉTRICOS	26
3.3	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	ESTUDO DA ELETRO-OXIDAÇÃO DE AMINOÁCIDOS	29
4.1.1	Estudo redox do Triptofano.....	29
4.1.2	Estudo redox da Tirosina.....	37
4.1.3	Estudo redox da Cisteína.....	42
4.1.4	Estudo redox da Histidina.....	44
4.1.5	Estudo redox da Metionina	45
4.1.6	Estudo redox da Arginina, Lisina e Fenilalanina	48
4.2	ESTUDO DA ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	48
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Os α -aminoácidos são compostos que possuem várias funções, como, ajudar na regulação de diferentes processos biológicos, bem como alguns são precursores de outras biomoléculas importantes, a função mais conhecida dos α -aminoácidos é participar da produção das proteínas, servindo como “blocos” nessa produção. A estrutura dos α -aminoácidos, **Figura 1**, é composta por um carbono central, geralmente quiral (com exceção da glicina), chamado de carbono alfa ($C\alpha$), a ele são conectados quatro ligantes diferentes, um grupo amina ($-NH_2$), um grupo carboxílico ($-COO^-$), um hidrogênio e por último uma cadeia lateral ($-R$), diferente em cada aminoácido (NELSON e COX, 2019).

Figura 1 - Estrutura geral dos aminoácidos.

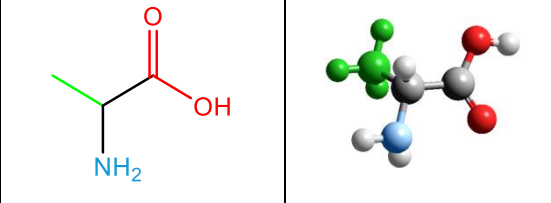
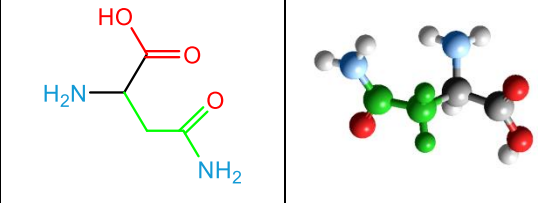
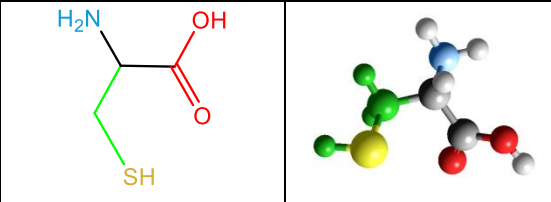
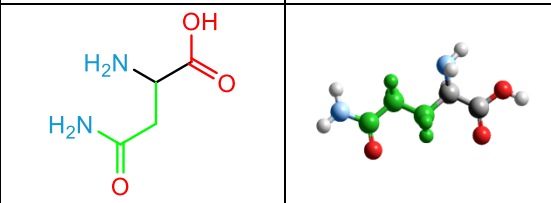
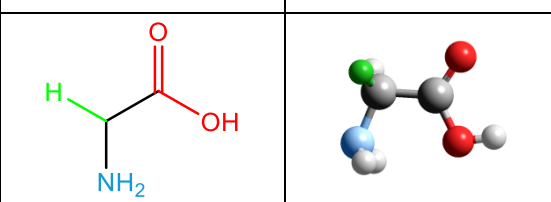
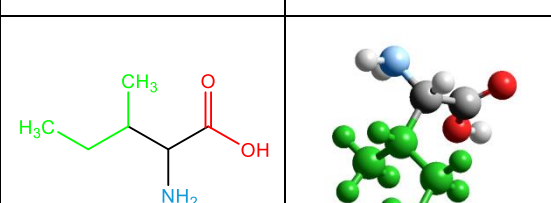


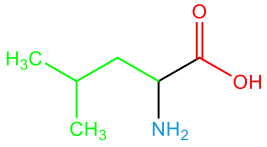
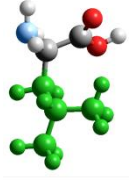
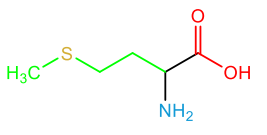
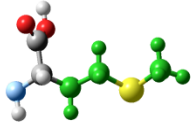
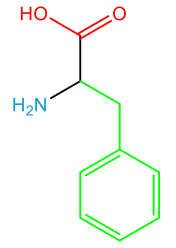

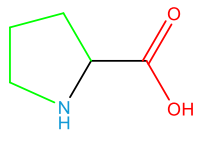
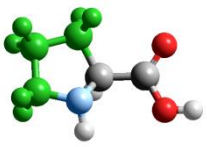
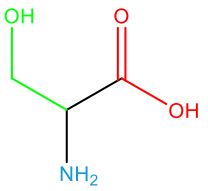
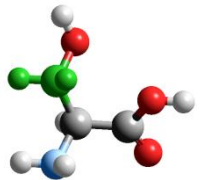
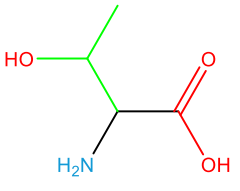
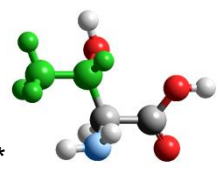
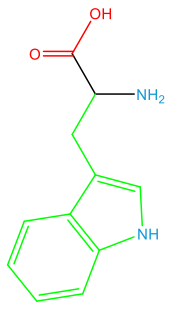
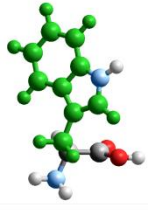
Fonte: (NELSON e COX, 2019) Adaptado.

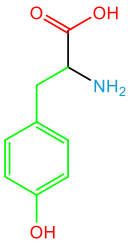
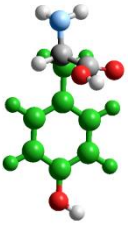
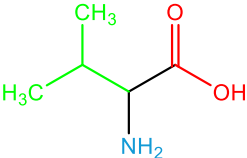
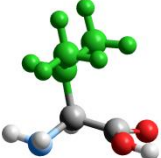
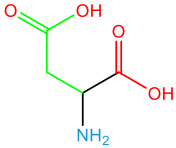
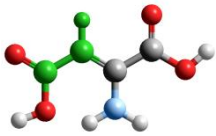
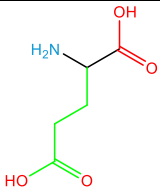
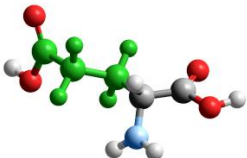
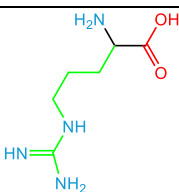
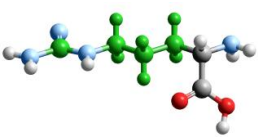
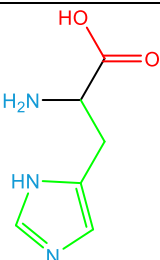
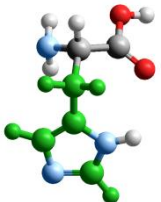
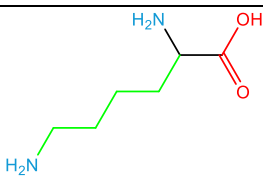
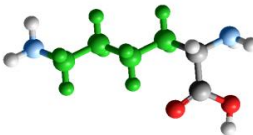
A cadeia lateral ($-R$) define as características dos α -aminoácidos, podendo ser polares, apolares, ácidos, básicos ou neutros. Existem centenas de aminoácidos, porém, na síntese proteica apenas vinte (20) desses aminoácidos são utilizados (WU, 2010).

A esses vinte α -aminoácidos foram atribuídas siglas e formas de identifica-los facilmente na sequência de formação das proteínas, como uma abreviação de três letras ou símbolos de apenas uma letra, como podemos observar no **Quadro 1**.

Quadro 1 - Nomenclatura e classificação dos aminoácidos.

Aminoácidos			
Nome	Classificação (Cadeia lateral)	Polaridade (Cadeia lateral)	Estrutura
Alanina (Ala, A)	Neutro	Apolar	
Asparagina (Asn, N)	Neutro	Polar	
Cisteína (Cys, C)	Neutro	Polar	
Glutamina (Gln, Q)	Neutro	Polar	
Glicina (Gly, G)	Neutro	Apolar	
Isoleucina (Ile, I)	Neutro	Apolar	

Leucina (Leu, L)	Neutro	Apolar		
Metionina (Met, M)	Neutro	Apolar		
Fenilalanina (Phe, F)	Neutro	Apolar		
Prolina (Pro, P)	Neutro	Apolar		
Serina (Ser, S)	Neutro	Polar		
Treonina (Thr, T)	Neutro	Polar		
Triptofano (Trp, W)	Neutro	Apolar		

Tirosina (Tyr, Y)	Neutro	Polar		
Valina (Val, V)	Neutro	Apolar		
Ácido Aspártico (Asp, D)	Ácido	Polar		
Ácido Glutâmico (Glu, E)	Ácido	Polar		
Arginina (Arg, R)	Básico	Polar		
Histidina (His, H)	Básico	Polar		
Lisina (Lys, K)	Básico	Polar		

Dentre esses vinte aminoácidos, foram selecionados oito deles para a realização de um estudo eletroquímico e espectrofotométrico, onde suas propriedades redox e óticas foram investigadas, foram eles, os aminoácidos aromáticos triptofano,

tirosina e fenilalanina, os aminoácidos sulfurados cisteína e metionina, e os demais aminoácidos arginina, histidina e lisina.

Descoberto em 1901 na caseína, o triptofano (ácido (S)-2-Amino-3-(1H-indol-3-il)-propanoico) tem um ponto de fusão de 282 °C e uma solubilidade em água de 1,14 g/100 mL, uma baixa solubilidade em comparação com a maioria dos aminoácidos selecionados para o estudo. Sendo um aminoácido essencial, não pode ser sintetizado pelo nosso organismo, sendo necessário então, sua ingestão pela alimentação, pode ser encontrado em fontes diversas como ovos, peixes e soja (JÚNIOR, VERDE e LANDIM, 2021).

Sendo precursor da vitamina B3 (niacina), da melatonina e também da serotonina, Trp possui funções muito importantes no pleno funcionamento do organismo. A serotonina é um neurotransmissor que atua na regulação do apetite, humor e sono, sendo necessário manter seus níveis ideais no organismo.

Com um ponto de fusão de 344 °C, o mais alto dentre os selecionados, a tirosina (ácido (S)-2-Amino-3-(4-hidroxifenil)-propanoico) é um aminoácido não essencial e possui uma baixa solubilidade em água, 0,045 g/100mL, sendo sintetizada a partir da oxidação *in vivo* da fenilalanina, através da enzima *fenilalanina hidroxilase*, a conformação mais comum é a *para*-tirosina, porém, um excesso de espécies reativas de oxigênio, nitrogênio ou cloro podem oxidar a fenilalanina antes mesmo da enzima, produzindo assim, a *meta*-tirosina, a *orto*-tirosina a partir de EROs, a *para*-tirosina pode ser convertida em 3-nitro-tirosina por meio de ERNs e a 3-cloro-tirosina com um excesso de cloro (NASCIMENTO, R. et al, 2019; NASCIMENTO, M. et al, 2022).

A partir de enzimas, a tirosina é convertida em L-DOPA, que por sua vez será convertida em dopamina, um neurotransmissor importante no sistema de recompensa do cérebro, que muitas vezes é induzida por drogas, aumentando a liberação da dopamina ou impedindo que ela seja reabsorvida pelos neurônios transmissores para que o efeito que ela proporciona pare (WISE e ROBBLE, 2020). A dopamina é convertida nas catecolaminas norepinefrina e epinefrina (adrenalina) que são responsáveis pela resposta biológica ao perigo ou estresse, aumentando fluxo sanguíneo, aumentando o ritmo da respiração entre outros efeitos. Um desequilíbrio na produção dos isômeros e variantes da tirosina vem sendo relacionadas com doenças humanas graves, como Alzheimer, câncer, Parkinson entre outras (NASCIMENTO, R. et al, 2019; NASCIMENTO, M. et al, 2022).

Com sua descoberta em 1884, em cálculos renais na forma de cistina (um dímero de cisteína, ligados por uma ponte dissulfeto) a cisteína (ácido (R)-2-amino-3-sulfanil-propanoico) tem um ponto de fusão de 178 °C e uma alta solubilidade em água (17,4 g/100 mL). Não é um aminoácido essencial, sendo sintetizada *in vivo* principalmente no fígado, tendo como precursora a metionina (WU, 2010).

A partir da cisteína são formados compostos que atuam na detoxificação do corpo a partir do fígado, entre eles estão a glutathiona, um tripeptídeo formado por resíduos de ácido glutâmico, glicina e cisteína, sua ação antioxidante vem do grupamento tiol presente no resíduo de cisteína (GRIFFITH, 1987).

A histidina (ácido (S)-2-amino-3-(3H-imidazol-4-il) propanoico) foi descoberta em 1896 em uma protamina do esturjão, um peixe ósseo, possui um ponto de fusão de 277 °C e uma solubilidade em água de 4,19 g/100 mL, encontrado em maiores quantidades em carnes, ovos, leite e derivados e soja (BRASIL, 2011; VICKERY e LEAVENWORTH, 1928).

É precursora da histamina uma amina vasodilatadora e neurotransmissor importante nos processos de resposta imunológica e inflamatória em respostas a alergias (MAJNO e PALADE, 1961).

A metionina (ácido(S)-2-amino-4-(metilsulfanil)-butanoico) foi descoberta em 1922 também a partir da caseína, essa, possui uma solubilidade em água de 5,06 g/100 mL, tem um ponto de fusão em torno de 283 °C, é um aminoácido essencial, encontrado principalmente em fontes de proteínas como carnes, peixes, frutos do mar, legumes e verduras em menores quantidades (BRASIL, 2011).

Como foi mencionando anteriormente, a metionina é precursora da cisteína. Além dessa função, a metionina é precursora da S-Adenosil-Metionina (SAM), essa espécie participa diretamente na metilação de bases do DNA, como a citosina (Cyt), produzindo a 5-metil-citosina (5-mCyt), alterações nos níveis normais dessa metilação vem sendo associada a diversos tipos de doenças humanas, como Parkinson, Alzheimer, alguns tipos de câncer e diabetes (MENDES, 2021).

A arginina (ácido 2-amino-5-(diaminometilideno-amino) pentanoico) foi descoberta em 1886 em extratos de mudas de tremoço, está entre os aminoácidos mais solúveis com uma solubilidade de 18,6 g/100mL de água a 25°C e tem um ponto de ebulição de 238°C. Não é considerado um aminoácido essencial, pois a maior parte

da Arginina do nosso corpo é oriunda do “turnover” proteico, também é sintetizada *in vivo* tendo a Citrulina como sua precursora (WU, 2010).

Quando criança/adolescente, a arginina estimula a hipófise para uma maior secreção do hormônio do crescimento, já quando adulto, a arginina é precursora da creatina, sendo também responsável pela produção de óxido nítrico (NO). O óxido nítrico atua na regulação de diversos processos endoteliais e cardiovasculares e a ingestão de arginina de forma oral, vem sendo estudada para a prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares (LUCOTTI *et al*, 2009; VALLANCE e LEIPER, 2004).

Descoberta em 1889 a partir da caseína uma proteína do leite, a lisina (ácido 2,6-diaminohexanóico) tem uma alta solubilidade em água no valor de 78,2 g/100 mL e um ponto de fusão próximo de 224 °C, sendo um dos aminoácidos essenciais, é necessário à sua ingestão através da alimentação, encontrada com facilidade em carnes, leite e derivados, soja e em menores quantidades em legumes e verduras (BRASIL, 2011).

Possui diversas funções no organismo, desde participação em processos que geram acetil-CoA que por sua vez, participa no ciclo de Krebs responsável pela geração indireta de energia no organismo (MOTTA, 2011), até a sua metilação, que alterando a estrutura de histonas (proteínas matrizes, que enrolam a dupla-fita de DNA e tem participação na regulação dos genes), altera a expressão gênica, facilitando-a ou causando uma repressão (DAMBACHER, HAHN e SCHOTTA, 2010; MARTIN e ZHANG, 2005).

A fenilalanina (ácido 2-amino-3-fenil-propanoico) é um aminoácido essencial, a sua ingestão por meio da alimentação é estritamente necessária, carnes, ovos, queijos e soja são as maiores fontes deste aminoácido, mas também podemos encontrá-lo em quantidades razoáveis em frutas, legumes e verduras, como o maracujá, salsa e ervilhas (ARAÚJO *et al*, 2016; BRASIL, 2011).

Com uma solubilidade de 2,96 g/100mL, um pouco mais baixa em comparação com os outros aminoácidos citados anteriormente, e um ponto de fusão de 284 °C, um dos mais altos e é precursora da tirosina (WU, 2010). A síndrome Fenilcetonúria é causada pela falta da enzima *phenylalanine hydroxylase*, que é responsável pela conversão da fenilalanina em tirosina, ocasionando um acúmulo de fenilalanina no sangue. Os pacientes acometidos por esta síndrome são chamados de pacientes fenilcetonúricos (BRANDALIZE e CZERESNIA, 2004).

No corpo humano há um sistema regulador de reações redox, chamado de sistema redox (ou balanço redox), que é responsável pela produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS), como por exemplo, os radicais livres hidroxila ($\bullet\text{OH}$). Quando há uma produção em excesso dessas espécies reativas é instaurado, um estado que é denominado de estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode causar problemas em processos biológicos importantes, como, a fosforilação de proteínas, apoptose celular e também causar danos oxidativos em biomoléculas importantes como proteínas, aminoácidos e até mesmo o DNA (PIZZINO, 2017).

Diversas técnicas são utilizadas para o desenvolvimento de métodos com o propósito de detectar e quantificar biomarcadores relacionados a doenças humanas (BERTHIAS et al., 2020; SELLIES et al., 2021; SPACKMAN; STEIN; MOORE, 1958).

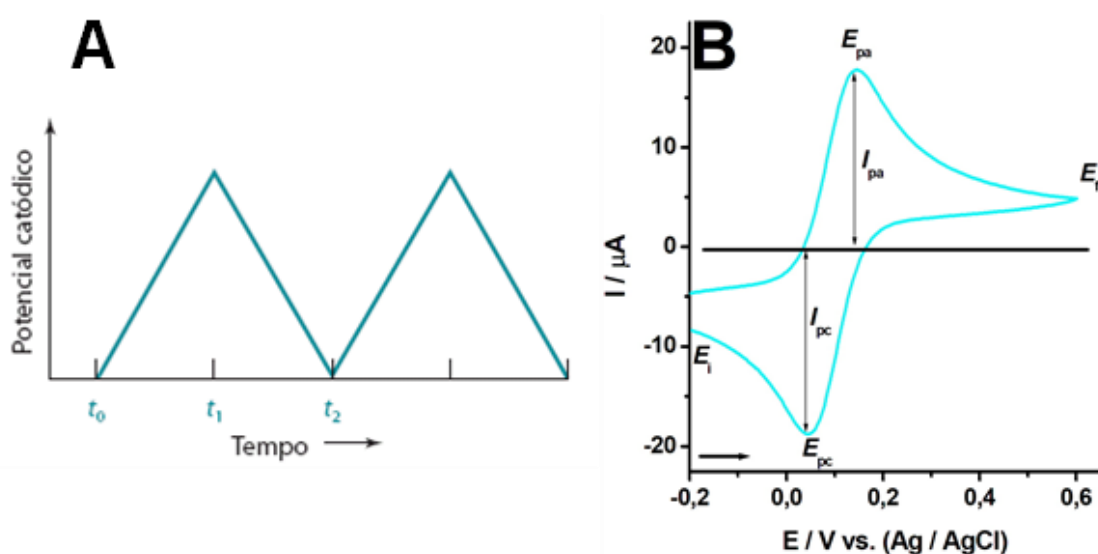
A eletroquímica baseia-se em fenômenos onde há uma transferência de carga que pode ocorrer no seio de uma solução (processo homogêneo) ou na superfície de um eletrodo (processo heterogêneo). A representação dessa transferência de carga pode ser feita seguindo: $O + ne^- \rightarrow R$. Onde a espécie oxidada (O) após receber uma certa quantidade de elétrons é transformada na espécie reduzida (R) (OLIVEIRA, 2010).

A partir da aplicação do potencial sobre um eletrodo, são geradas duas correntes, a corrente faradaica que é a corrente de interesse, pois é relacionada com a transferência de carga entre a superfície eletrodo-análito, e a corrente capacitiva, gerada por meio da separação de cargas na dupla camada, entre o eletrodo e a solução onde não houve transferência de carga, a corrente total é mensurada pela soma das duas correntes. Partindo desse princípio, as técnicas voltamétricas tem como objetivo mensurar a corrente elétrica (I) em uma célula eletroquímica gerada a partir da aplicação de um potencial (E) onde ambos variam com o tempo (HARRIS, 2017; SKOOG, 2006).

Com um perfil qualitativo, a voltametria cíclica (CV) é amplamente empregada para o estudo prévio do comportamento redox de diferentes espécies, sendo utilizada para a determinação de mecanismos redox, a partir da detecção de intermediários e seus produtos finais (HARRIS, 2017; SKOOG, 2006; OLIVEIRA, 2010). Na CV o potencial é aplicado na forma de onda triangular, **Figura 2A**, onde a varredura é realizada sentido direto, do tempo t_0 ao t_1 . Ao atingir o valor máximo do potencial estabelecido, o potencial toma agora o sentido reverso realizando a varredura do t_1 ao

t_2 para completar o ciclo, este ciclo pode ser reproduzido diversas vezes (HARRIS, 2017; SKOOG, 2006). A corrente é mensurada linearmente, com a aplicação do potencial e registrada para montar um gráfico onde teremos I versus E , este gráfico é chamado de voltamograma, **Figura 2B**. A reação exemplificada na **Figura 2**, representa uma reação reversível, onde teremos uma manutenção da concentração, tanto da substância reduzida, quanto oxidada na superfície do eletrodo (HARRIS, 2017).

Figura 2 – Sinal de excitação e voltamograma de CV.



Fonte: (HARRIS, 2017; OLIVEIRA, 2010) Adaptado.

Na **Figura 2B**, podemos considerar alguns parâmetros, como o potencial do pico anódico (E_{pa}), potencial do pico catódico (E_{pc}), valor máximo da corrente no pico de oxidação (I_{pa}) e valor máximo da corrente no pico de redução (I_{pc}). Para uma reação reversível a separação do potencial dos picos anódico e catódico é dado pela **Equação 1** (HARRIS, 2017; OLIVEIRA, 2010).

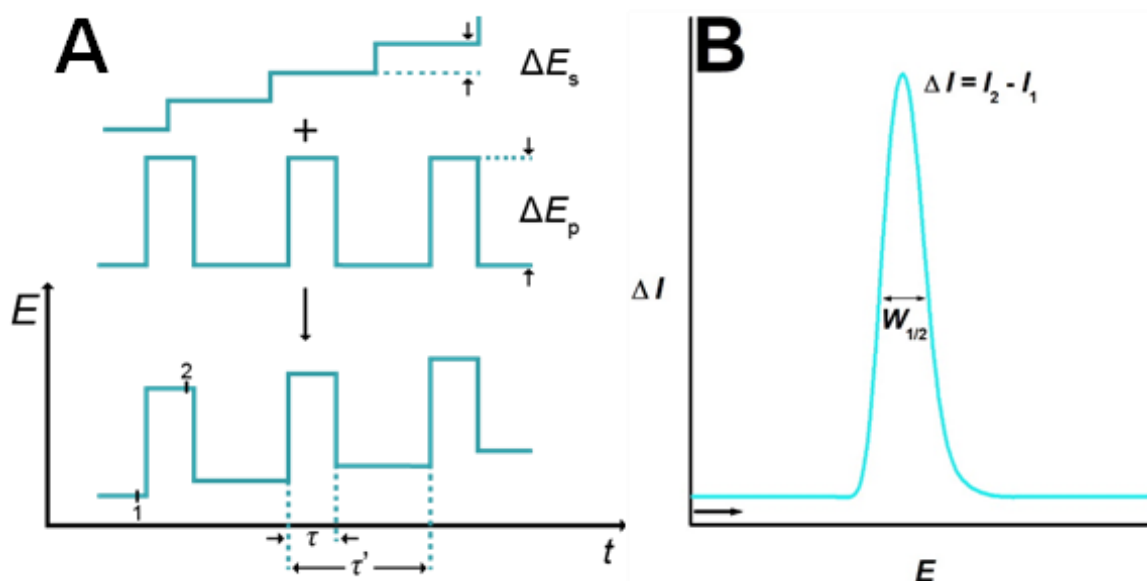
Equação 1 – Separação dos picos anódico e catódico para um sistema reversível

$$|E_{pa} - E_{pc}| = \frac{57}{n} mV \quad (\text{Eq. 1})$$

Na voltametria de pulso diferencial (DPV), o potencial é aplicado em pulsos durante um curto período de tempo (τ), cada pulso possui uma amplitude de pulso (ΔE_p) fixa, os pulsos são sobrepostos a uma escada crescente de potencial onde cada

degrau possui um valor ΔE_s , **Figura 3A** (OLIVEIRA, 2010). A corrente é mensurada um pouco antes, e ao fim de sua aplicação, dessa forma, a corrente resultante é obtida pela diferença das duas correntes mensuradas (OLIVEIRA, 2010). A corrente resultante é então plotada versus o potencial aplicado para obtermos o voltamograma **Figura 3B**.

Figura 3 – Sinal de excitação e voltamograma de DPV.



Fonte: (OLIVEIRA, 2010) Adaptado.

Assim como na CV, podemos considerar alguns parâmetros a partir do sinal de excitação, **Figura 3A**, como τ' determina a largura do pulso, se τ for multiplicado pelo ΔE_s , é possível determinar a velocidade de varredura (ν). No voltamograma, **Figura 3B**, podemos utilizar a largura de meia altura do pico para determinar a quantidade de elétrons está envolvida no processo investigado, **Equação 2**, onde ($W_{1/2}$) largura a meia altura em mV e (n) número de elétrons transferidos (BRETT e OLIVEIRA-BRETT, 1993),

Equação 2 – Determinação do nº de elétrons envolvidos em um processo redox

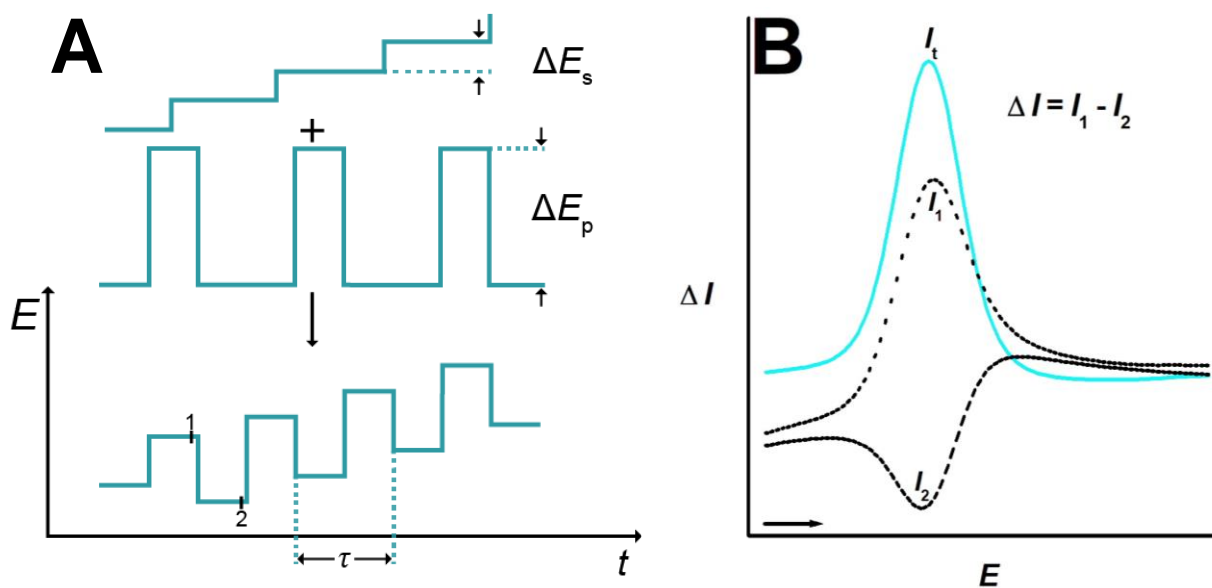
$$W_{1/2} = 90/n \quad (\text{Eq. 2})$$

A voltametria de onda quadrada (SWV) é, **Figura 4**, assim como a DPV uma técnica de pulso, porém, o pulso agora é constituído por uma onda quadrada com amplitude de potencial fixo (ΔE_p), aplicado por um curto período de tempo τ , sendo

esses pulsos sobrepostos a uma escada de potencial, em que cada degrau possui um valor ΔE_s fixo. “Devido à construção da onda, durante cada ciclo de frequência $f = \tau^{-1}$, um pulso de potencial positivo é aplicado ao eletrodo durante metade do ciclo a que se segue, na restante metade, a aplicação de um pulso de potencial negativo.” (OLIVEIRA, 2010). Durante a aplicação do potencial anódico, as espécies sobre a superfície do eletrodo de trabalho são oxidadas, e assim que o sinal do potencial é invertido, essas espécies que foram oxidadas voltam são novamente reduzidas (HARRIS, 2017). A corrente é mensurada um pouco antes do fim dos pulsos anódico e catódico, desta forma, há uma diminuição na influência da corrente capacitiva na corrente total.

Por tanto, é possível calcular a corrente total envolvida no processo a partir da diferença da corrente direta (I_1) e corrente reversa (I_2), **Figura 4B**, obtendo um sinal mais intenso quando comparada com a DPV (HARRIS, 2017).

Figura 4 – Sinal de excitação e voltamograma de SWV.



Fonte: (OLIVEIRA, 2010) Adaptado.

A Espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) é utilizada para o estudo de sistemas eletroquímicos, a partir de uma perturbação do equilíbrio desse sistema, **Figura 5A**, essa perturbação pode ser feita por meio de uma aplicação de um potencial ou corrente fixos em uma janela de frequências. A partir dessa perturbação no sistema, teremos uma resposta que pode ser relacionado aos processos redox, **Figura 5B**, já que todo sistema eletroquímico pode ser representado* por um circuito elétrico com resistências e capacitâncias equivalentes **Figura 5C** (WANG *et al*, 2021).

Figura 5 – Representações gráficas da perturbação do sistema (A), diagrama de Nyquist (B) e circuito elétrico (C).



Fonte: (SILVERMAN, 1986, apud RIBEIRO; SOUZA; ABRANTES, 2015; WANG et al., 2021)

Adaptado.

A célula eletroquímica mais comum utilizada é composta por três eletrodos, um eletrodo de referência, um contra eletrodo, e por fim, um eletrodo de trabalho, assim como as técnicas voltamétricas, os eletrodos de trabalho foram evoluindo com o tempo, os eletrodos sólidos são os mais utilizados (SWAIN, 2007), são produzidos a partir de diversos materiais, desde carbono à metais, como ouro e platina, os materiais utilizados para a construção de um eletrodo de trabalho deve seguir alguns critérios rigorosos, por exemplo, ser um material condutor, possuir uma estabilidade química e eletroquimicamente, apresentar uma rápida transferência de elétrons para diversos processos redox, entre outras (SWAIN, 2007). Os eletrodos de carbono são amplamente utilizados, por possuírem as maiores janelas de potenciais positivos, dentre todos os eletrodos sólidos utilizados atualmente, sendo assim o principal substrato para o estudo de processos anódicos. Os eletrodos de carbono podem ser confeccionados em várias formas, na forma de carbono sp^2 , tais como, carbono vítreo (GCE), grafite, fibra de carbono, nano-tubos de carbono, entre outros, e também na forma de carbono sp^3 , como o eletrodo de diamante dopado com boro (SWAIN, 2007).

A técnica de espectroscopia do UV-visível baseia-se no princípio de absorção molecular. Um feixe de luz é enviado através de uma célula contendo a amostra, uma parte da luz é absorvida pela amostra, e a quantidade de luz que não foi absorvida, será mensurada por um sensor (SKOOG, 2006). A transmitância é o valor obtido nessa amostra, porém, de acordo com a Lei de Beer-Lambert, **Equação 4**, podemos relacionar essa transmitância com a absorbância da amostra (SKOOG, 2006; HARRIS, 2017).

Equação 3 – Lei de Beer-Lambert

$$A = -\log T \quad (\text{Eq. 4})$$

A absorvância está diretamente ligada a grupos cromóforos presentes na amostra. Grupos cromóforos são estruturas capazes de absorver e reemitir luz na região do ultravioleta e da luz visível, a partir deles conseguimos identificar as cores de compostos orgânicos, como os carotenoides que presentes em frutas e verduras, por exemplo, tomate e cenoura, proporcionando a essas a coloração vermelho/alaranjado (SKOOG, 2006).

O objetivo principal deste trabalho foi investigar o comportamento eletroquímico em tampão fosfato (pH = 7,0) dos aminoácidos aromáticos triptofano (Trp) e tirosina (Tyr) e dos aminoácidos cisteína (Cis), histidina (His) e metionina (Met), sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo (GCE), utilizando técnicas voltamétricas e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Dados experimentais espectroscópicos UV desses aminoácidos foram também investigados.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral:

- Investigar o comportamento eletroquímico em meio fisiológico dos aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e dos aminoácidos cisteína, histidina e metionina.

Objetivos específicos:

- Investigar o comportamento redox dos aminoácidos aromáticos Trp e Tyr em meio aquoso tampão fosfato, sobre o GCE, por meio das técnicas voltamétricas CV, DPV e SWV.
- Investigar o comportamento eletroquímico dos aminoácidos Trp e Tyr em meio fisiológico sobre à superfície do GCE, utilizando EIS.
- Investigar o comportamento redox dos aminoácidos sulfurados Cys e Met em meio aquoso tampão fosfato sobre o GCE, utilizando CV, DPV e SWV.
- Investigar o comportamento redox do aminoácido His em meio aquoso sobre o GCE, utilizando CV, DPV e SWV.
- Elaborar um texto didático para apoio nas aulas da disciplina análise instrumental 2 e bioeletroquímica, sobre a temática voltametria e impedância eletroquímica, com base teórica -experimental.

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os reagentes que foram utilizados neste trabalho, **Tabela 1**, possuem pureza analítica e foram utilizados sem qualquer tratamento adicional.

Tabela 1 - Substâncias com seus respectivos fabricantes

Reagente	Fabricante	Pureza
DL-Arginina	Sigma-Aldrich	>95%
L-Cisteína	Sigma-Aldrich	97%
DL-Fenilalanina	Sigma-Aldrich	99%
L-Histidina	Sigma-Aldrich	>99%
Monocloridrato de DL-Lisina	Sigma-Aldrich	>98%
L-Metionina	Sigma-Aldrich	>98%
L-Tirosina	Sigma-Aldrich	>98%
L-Triptofano	Sigma-Aldrich	>98%
Hidróxido de sódio	Anidrol	>99%
Fosfato de sódio bibásico anidro	Neon	99,8%
Fosfato de sódio monobásico anidro	Neon	98%
Cloreto de potássio	Moderna	>98%

Uma solução tampão foi utilizada como eletrólito suporte aquoso durante o trabalho, com sua composição sendo $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{HPO}_4$ (30,5 mL) + $0,2 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaH}_2\text{PO}_4$ (19,5 mL) para um total de 100 mL de solução e com $\text{pH} = 7,0$. A aferição do pH foi feita com o auxílio de um pHmetro da Metrohm, modelo 827.

As soluções estoque dos aminoácidos Arg, Cys, Phe, His, Lys, Met, Tyr e Trp, foram preparadas a partir da pesagem dos sólidos após foram dissolvidos com algumas gotas de NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e diluídos com a solução tampão até o volume desejado, já preparando a amostra no pH das análises posteriores.

3.2 PARÂMETROS VOLTAMÉTRICOS

Os experimentos foram realizados à temperatura ambiente ($T = 25^\circ\text{C}$), com o auxílio do potenciostato/galvanostato Autolab Electrochemical Instruments, Utrecht, Holanda, funcionando no modo potenciostático, PGSTAT 302N, **Figura 6**, controlado

através do software GPES (General Purpose Electrochemical System) versão 4.9, da Echo- Chemie, Utrecht, Holanda.

Foi utilizada uma célula eletroquímica padrão de três eletrodos (trabalho, referência e contra-eletrodo), **Figura 6**. O eletrodo de trabalho foi um eletrodo de carbono vítreo (GCE) com diâmetro da sua superfície de 1,6 mm do fabricante ALS-Japan. O eletrodo de referência foi um eletrodo de Ag|AgCl|KCl (3 mol L⁻¹) e o contra eletrodo, um eletrodo de grafite.

O eletrodo de trabalho passou por um pré-tratamento mecânico e eletroquímico, antes de iniciar os experimentos e sempre nas trocas de técnicas, o polimento mecânico foi feito em uma placa de polimento sobre spray de diamante da Kemet 1 Micron, posteriormente ao polimento, um pré-tratamento eletroquímico foi realizado, utilizando a janela de potencial 0,0 até + 1,4 V, varreduras sucessivas foram realizadas, com o eletrodo inserido em uma solução do eletrólito de suporte, para estabilizar a linha de base antes dos experimentos.

Durante os experimentos realizados para o estudo da adsorção de produtos eletro-gerados na superfície do GCE, foi estabelecido um procedimento de limpeza branda e simples. Dessa forma, o eletrodo era removido da solução, lavado abundantemente com água ultra pura, a solução era homogeneizada e o eletrodo era reinserido a mesma, prosseguindo com o experimento.

Figura 6 – Potenciostato e célula eletroquímica



Fonte: (NASCIMENTO, 2021) Adaptado.

Para a técnica de CV, os parâmetros utilizados foram: velocidade de varredura (ν) de $\nu = 100 \text{ mVs}^{-1}$ e degrau de potencial de 5 mV. Já para a técnica DPV os parâmetros foram: largura de pulso de 70 ms, amplitude do pulso de 50 mV, degrau de potencial de 10 mV e $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$. Na SWV utilizamos degrau de potencial de 13 mV, amplitude do pulso 50 mV, frequência 8 Hz e $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Para a técnica de impedância eletroquímica, foram utilizados os parâmetros: perturbação de raiz quadrática média (rms) de 5 mV, 10 valores de frequência por década, com uma faixa de frequência de 65.000 até 0,01 Hz.

3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR

As medidas de absorbância no UV-Vis foram realizadas utilizando um espectrofotômetro Agilent 8453, Califórnia, Estados Unidos, abrangendo uma janela de comprimento de onda de 200 a 750 nm. Para a aquisição e tratamento de dados foi utilizado o software UV-Visible ChemStation, que controla o equipamento.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTUDO DA ELETRO-OXIDAÇÃO DE AMINOÁCIDOS

O estudo da eletro-oxidação de todos os aminoácidos aqui investigados, foram realizados em meio aquoso, tampão fosfato (pH = 7,0), sobre o GCE a partir das técnicas voltamétricas CV, DPV e SWV e EIS. Estudos exploratórios foram então realizados inicialmente com a CV e voltamogramas foram registrados nas soluções aquosas da Trp, Tyr, Cys, His e Met primeiro na faixa catódica (0,0 V até -1,0 V. Para todos os aminoácidos, nenhum processo foi identificado. Utilizando a janela anódica de potencial de 0,0 até + 1,4 V, todos os aminoácidos citados foram eletroativos sobre o GCE. Assim todos os estudos posteriores foram realizados na região anódica de potencial (0,0 até + 1,4 V).

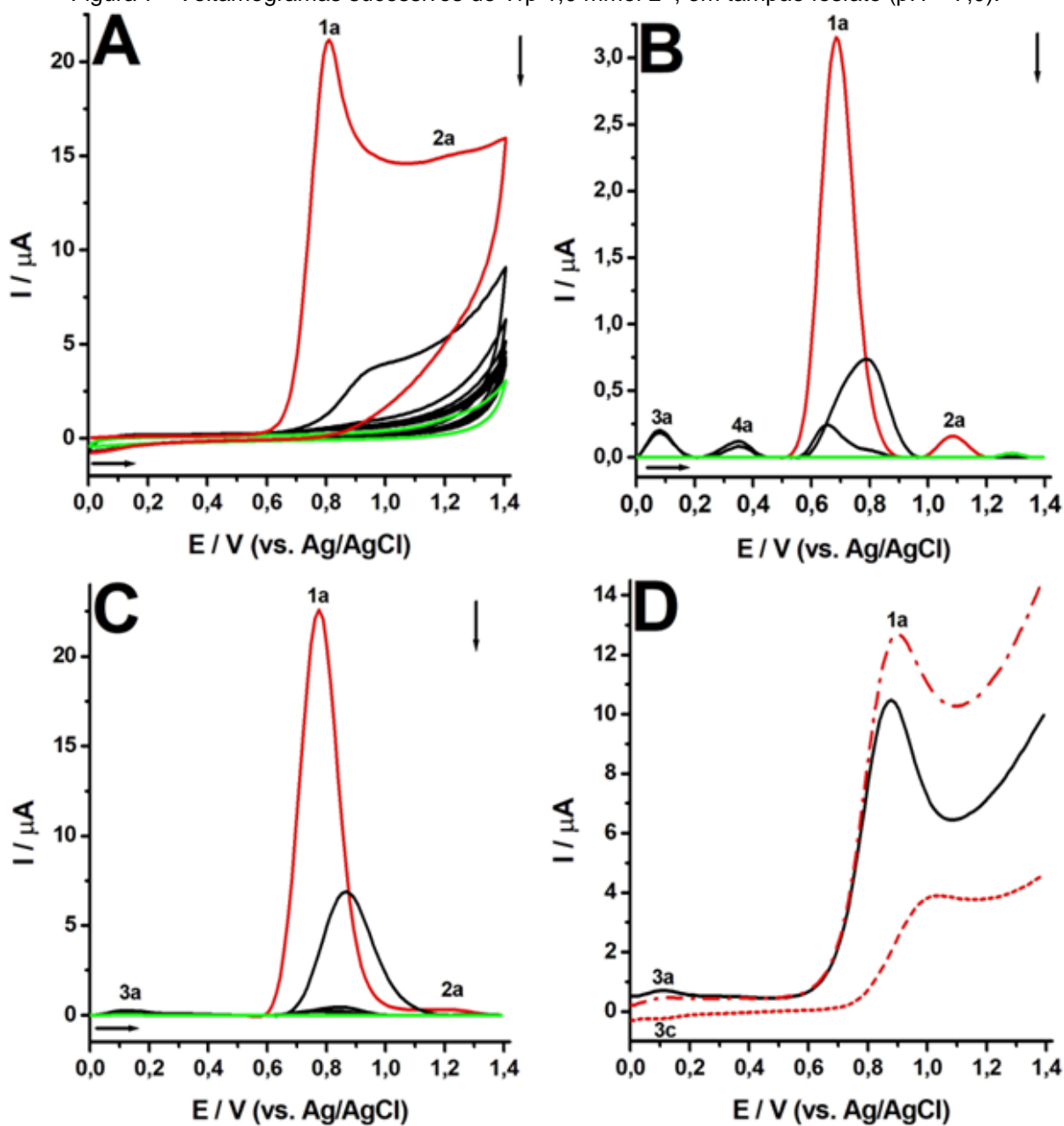
Os resultados eletroquímicos obtidos foram comparados com dados anteriores da literatura.

4.1.1 Estudo redox do Triptofano

4.1.1.1 Resultados voltamétricos

Voltamogramas sucessivos cíclicos, de DP e SW foram realizados em uma solução aquosa Trp 1,0 mmol L⁻¹ (pH = 7,0). Os voltamogramas cíclicos do Trp, **Figura 7A**, registraram dois picos anódicos irreversíveis, o pico 1a em $E_{p1a} = + 0,81$ V e corrente $I_{p1a} = 21,10$ μ A e o pico 2a em $E_{p2a} = + 1,22$ V e corrente $I_{p2a} = 15,14$ μ A. Já os voltamogramas de DP detectaram dois processos anódicos sucessivos na primeira varredura de potencial, pico 1a em $E_{p1a} = + 0,68$ V e $I_{p1a} = 3,14$ μ A e o pico 2a em $E_{p2a} = + 1,08$ V e $I_{p2a} = 0,16$ μ A, **Figura 7B** e **Tabela 2**. A partir da segunda varredura de potencial, dois novos processos foram facilmente observados, o pico 3a em $E_{p3a} = + 0,07$ V e o pico 4a em $E_{p4a} = + 0,35$ V. Utilizando a **Equação 2**, o número de elétrons para o processo anódico principal pode ser aqui estabelecido como um, pois, $W_{1/2} = 130$ mV. Além disso os dados de DP identificaram a partir da segunda varredura uma queda bem significativa da corrente do pico 1a, de $I_{p1a} = 3,14$ μ A reduz bruscamente para $I_{p1a} = 0,73$ μ A.

Figura 7 - Voltamogramas sucessivos do Trp 1,0 mmol L⁻¹, em tampão fosfato (pH = 7,0).



(A) CV, (B) DPV e (C) SWV. Primeira varredura (—) e linha de base (—). (D) Segunda varredura de SW com corrente total (—), corrente direta (—●—), corrente reversa (—○—).

Por último, os dados de SWV, como esperado, foram similares aos de DPV, detectaram na primeira varredura de potencial os picos 1a e 2a, pico 1a em $E_{p1a} = + 0,77$ V com corrente de $I_{p1a} = 22,53$ μA e o pico 2a em $E_{p2a} = + 1,22$ V com corrente de $I_{p2a} = 0,29$ μA, **Figura 7C**. Na segunda varredura apenas um processo redox reversível, o pico 3a em $E_{p3a/3c} = + 0,11$ V / 0,09 V, foi observado. Todos esses

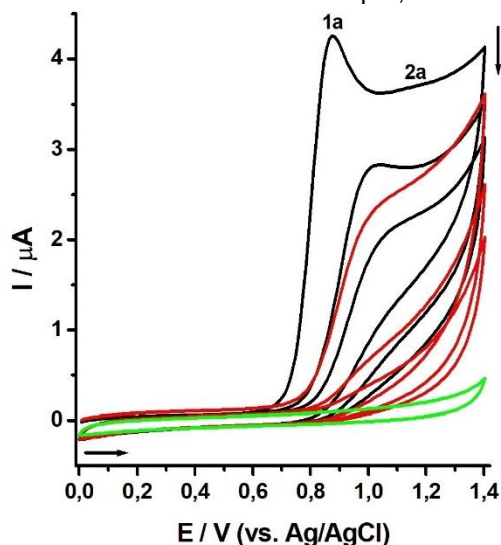
resultados estão concordantes com dados prévios da literatura (QUEIROZ et al., 2022).

Tabela 2 – Potenciais de oxidação dos aminoácidos em DPV sobre a superfície do GCE em tampão fosfato pH ~ 7.0.

Espécies	Potencial de eletro-oxidação dos aminoácidos em DPV (V vs. Ag/AgCl)			
	Pico 1a	Pico 2a	Pico 3a	Pico 4a
Trp	+ 0,68 V	+ 1,08 V	+ 0,07 V	+ 0,35 V
Tyr	+ 0,64 V	-	-	-
Cys	+ 0,50 V	+ 0,86 V	+ 1,26 V	-
His	+ 1,27 V	-	-	-
Met	+ 1,03 V	+ 1,27 V	-	-
Arg	-	-	-	-
Lys	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-

Todos os voltamogramas do Trp, **Figura 7**, demonstraram a partir da segunda varredura de potencial uma queda significativa na corrente do pico 1a e 2a, esse efeito pode estar relacionado com produtos de oxidações do Trp que ficam adsorvidos sobre o GCE (ENACHE; OLIVEIRA-BRETT, 2011a). Para confirmar este efeito de adsorção, um novo experimento foi realizado, onde primeiramente, três varreduras sucessivas foram registradas na solução de Trp 1,0 mmol L⁻¹. Posteriormente, o GCE foi removido e lavado abundantemente com água ultrapura e retornado para a mesma solução do aminoácido previamente homogeneizada, conforme descrito na **seção 3**. Por fim três novos voltamogramas cíclicos foram registrados, **Figura 8**.

Figura 8 – Varreduras sucessivas em CV do Trp 1,0 mmol L⁻¹ em pH = 7,15.



1º até 3º (—) varredura, 4º até 6º (—) varredura após lavagem da superfície do GCE e linha de base (—).

Tomando apenas o pico 1a como referência, na primeira varredura sua corrente tinha um valor de $i_{p1a} = 4,25 \mu\text{A}$, enquanto já segunda varredura uma queda significativa foi identificada, $i_{p1a} = 2,82 \mu\text{A}$, e o efeito continua já que na terceira varredura o valor da corrente de pico foi $i_{p1a} = 2,11 \mu\text{A}$, **Figura 8**. Quando o processo de limpeza do eletrodo e homogeneização da solução, é realizado registramos a quarta varredura e observa-se que a corrente de pico retoma a um valor mais elevado em relação a terceira varredura, $i_{p1a} = 2,38 \mu\text{A}$, **Figura 8**, porém, não suficiente para atingir o patamar inicial de corrente da primeira varredura registrada, os valores das correntes estão detalhados no **Tabela 3**. Esses resultados indicam claramente que produtos de oxidações do Trp de fato adsorvem fortemente sobre a superfície do substrato eletroquímico utilizado, e estão concordantes com os resultados de EIS que serão demonstrados e discutidos na próxima seção, bem como com a literatura, que indicam formação de polímeros que adsorvem a superfície do GCE (QUEIROZ et al., 2022).

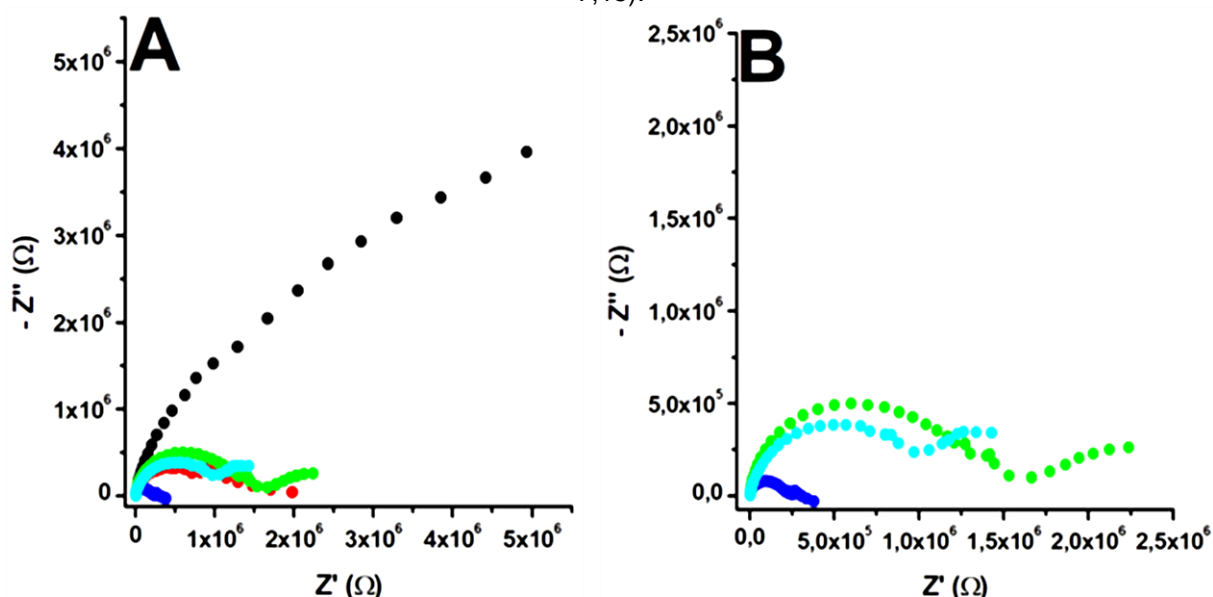
Tabela 3 - Valores das correntes do pico 1a referentes aos voltamogramas registrados em uma solução do Trp 1,0 mmol L⁻¹ em pH = 7,15, **Fig. 5**.

Triptofano	Varredura 1	Varredura 2	Varredura 3	Varredura 4 - após limpeza	Varredura 5 - após limpeza	Varredura 6 - após limpeza
Corrente (I / μA)	4,25	2,82	2,11	2,38	0,8	0,47

4.1.1.2 Impedância eletroquímica do Trp

A eletro-oxidação do Trp forma produtos que adsorvem à superfície do GCE como já indicado pelos resultados anteriores, **Figuras 7 e 8**, e pela literatura (QUEIROZ et al., 2022). Para um maior aprofundamento e detalhes deste fenômeno de adsorção, novos experimentos foram aqui efetuados utilizando EIS. Primeiramente, diferentes potenciais (de + 0,5 até + 0,8 V) foram aplicados sobre a superfície do GCE, com o mesmo inserido em uma solução de Trp $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,15$) e espectros de impedância foram registrados, **Figura 9**, a cada leitura feita, o eletrodo passou por uma limpeza mecânica e eletroquímica, **seção 3**.

Figura 9 – Representação do diagrama de Nyquist de espectros de EI do Trp $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7,15$).



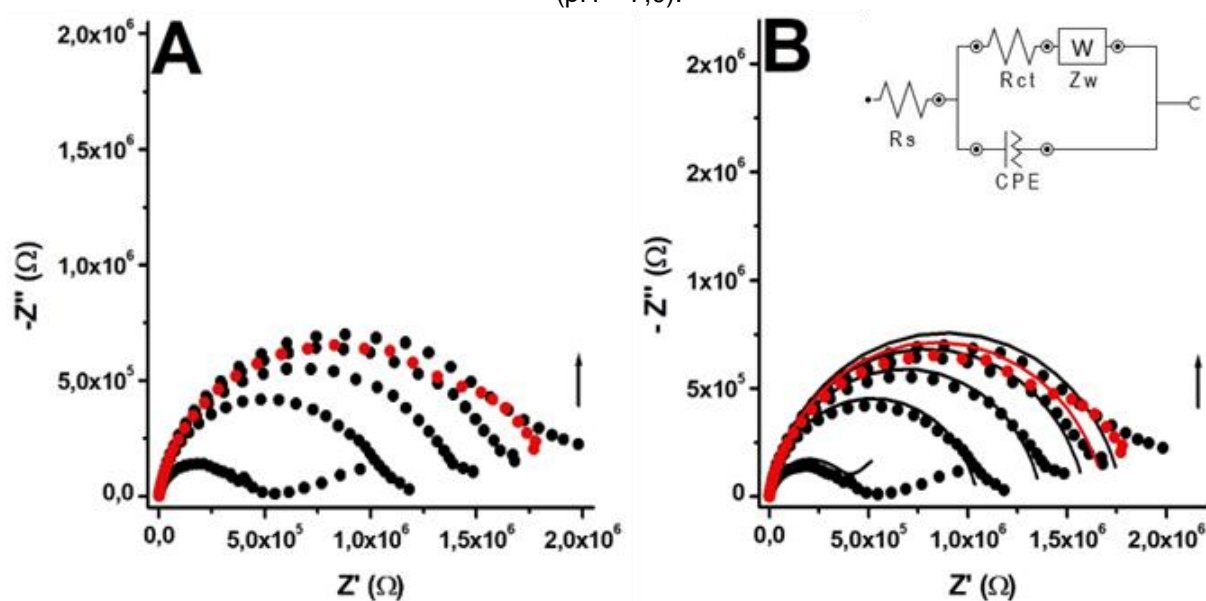
(A) 0,5 até 0,8 V e (B) 0,65 V até 0,8 V.
0,5 V (●), 0,6 V (●), 0,65 V (●), 0,7 V (●), 0,8 V (●)

O espectro registrado no potencial + 0,5 V (●), **Figura 9A**, apresentou apenas uma linha reta, indicando apenas um processo capacitivo, onde não há transferência de carga (RETTTER; LOHSE, 2010). Já a aplicação dos potenciais de + 0,65 (●) até + 0,8 V (●), **Figura 9B**, apresentaram um semicírculo em altas frequências, sendo referentes a um processo faradaico, onde há uma transferência de carga, seguidos de uma reta em baixas frequências que indica que o transporte de massa é controlado essencialmente por difusão (RETTTER; LOHSE, 2010). Como esperado, o valor do potencial aplicado influencia diretamente na eletro-oxidação do Trp, estabelecendo o

potencial de + 0,65 V como o mais adequado para a realização do próximo experimento.

A partir dos resultados anteriores e com o potencial de oxidação estabelecido, realizamos cinco leituras sucessivas de EI (●) em uma solução de Trp 1,0 mmol L⁻¹ em meio neutro, **Figura 10**. Similar ao experimento de adsorção em CV, **Figura 8**, após a quinta leitura, o eletrodo foi removido, lavado com água ultrapura e reinserido novamente na solução já homogeneizada e um novo espectro foi registrado (●).

Figura 10 - Representação do diagrama de Nyquist de espectros sucessivos de EI do Trp 1,0 mmol L⁻¹ (pH = 7,0).



1^o-5^o (●) e 6^o (●) leitura após lavagem do GCE. (A) Sucessivos e (B) Sucessivos com modelagem a partir do circuito elétrico de Randles.

Como esperado, com as leituras sucessivas, **Figura 10A**, nota-se um aumento no raio do semicírculo indicando um aumento na resistência do material substrato eletroquímico utilizado. Além disso após limpeza do eletrodo e homogeneização da solução, sexto espectro (●), o semicírculo obtido demonstrou um alto valor de impedância, **Tabela 4**.

Todos os dados de EIS foram modelados a partir do circuito equivalente de Randles, **inserido na Figura 10B**, que inclui, a resistência ôhmica do eletrólito suporte, R_s , a capacitância da dupla camada, CPE, a resistência ôhmica da transferência de cargas, R_{ct} , e a resistência de Warburg, Z_w , que representa a difusão iônica na superfície do GCE. No espectro de impedância o diâmetro do semicírculo

está relacionado ao valor do R_{ct} da espécie investigada (MENDES et al., 2020; MENDES; SILVA; OLIVEIRA, 2021; RETTER; LOHSE, 2010).

Tabela 4 - Valor das R_{ct} dos espectros de impedância da Trp 1,0 mmol L⁻¹ pH = 7,15.

Triptofano	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3	Leitura 4	Leitura 5	Leitura 6 – após homogeneização
R_{ct} (MΩ cm ⁻¹)	0,37	1,03	1,36	1,58	1,78	1,67

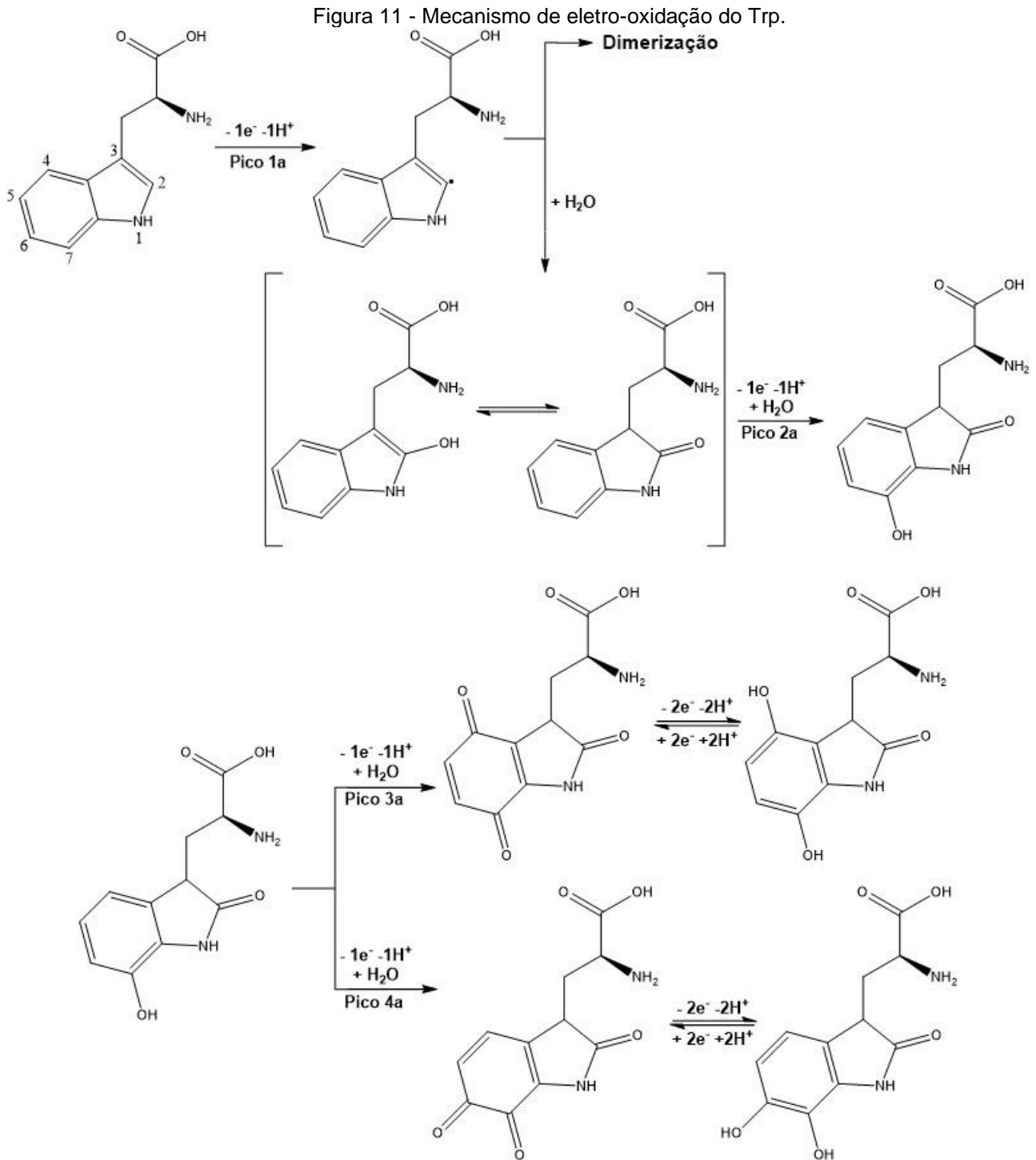
Na **Tabela 4** o valor do $R_{ct} = 0,37 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ da primeira leitura apresenta uma baixa resistência quando comparado com os valores das leituras de EI subsequentes, a quinta leitura por exemplo o valor de $R_{ct} = 1,78 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. Esses resultados já indicam que produtos da eletrólise do Trp a partir do potencial fixo aplicado, estão adsorvendo fortemente sobre o GCE e dificultado a transferência de carga dos processos subsequentes. O valor de $R_{ct} = 1,67 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ para o espectro registrado após lavagem, confirmam a forte e estável adsorção desses produtos. Esses resultados aqui demonstrados, são os primeiros na literatura e são concordantes com os resultados obtidos aqui por CV.

Todos os resultados de EIS aqui também indicam que a eletro-oxidação do Trp sobre o GCE é complexa e envolvendo um transporte de massa difusional, e com uma rota de reação com formação de produtos que adsorvem fortemente sobre a superfície apolar do carbono vítreo.

4.1.1.3 Mecanismo de oxidação do Triptofano sobre o GCE

Baseado em todos os resultados aqui apresentados, **Figuras 7, 8, 9 e 10**, e anteriores (ENACHE; OLIVEIRA-BRETT, 2011a; QUEIROZ et al., 2022), o mecanismo de oxidação do Trp sobre o GCE é aqui descrito, **Figura 11**, onde o pico anódico principal 1a, está associado a oxidação do carbono C2 do grupo pirrol, **Figura 11**, com a retirada de um elétron e um próton, formando um radical intermediário, o qual poderá seguir duas vias de reação, uma de dimerização e/ou com a água para formação 2-hidroxi-Trp/2-oxindolalanina (QUEIROZ et al., 2022). A elevada faixa de potencial utilizada até + 1,4 V, também oxida o C7 da molécula formando um grupo fenólico, sendo este na sequencia eletro-oxidado para quinonas, que adsorvem fortemente sobre o GCE. As quinonas eletrogeradas em elevados valores de

potenciais são derivados de *para*-quinona (pico 3a) e *orto*-quinona (pico 4a), que se reduzem reversivelmente *para*-quinona/hidroquinona e *orto*-quinona/catecol respectivamente (ENACHE; OLIVEIRA-BRETT, 2011a; QUEIROZ et al., 2022).



Fonte: (ENACHE; OLIVEIRA-BRETT, 2011a; QUEIROZ et al., 2022) Adaptado.

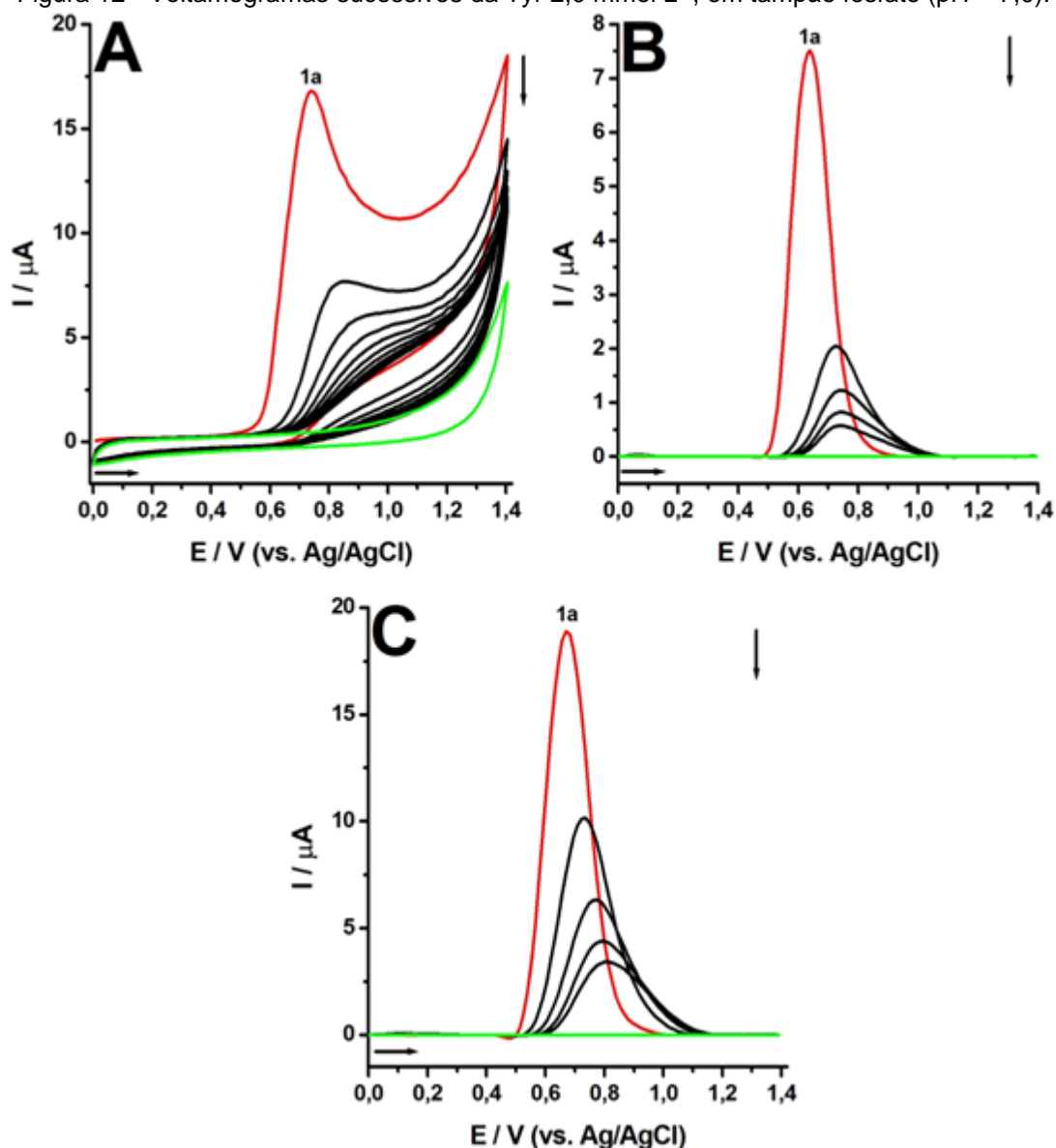
4.1.2 Estudo redox da Tirosina

4.1.2.1 Resultados voltamétricos

Para o estudo da Tyr, foi utilizada sempre uma solução na concentração de 2,0 mmol L⁻¹. Os voltamogramas cíclicos sucessivos foram registrados, **Figura 12A**, e identificaram um único pico irreversível, 1a em $E_{p1a} = + 0,74$ V com corrente de $I_{p1a} = 16,78$ μ A. Os voltamogramas de DP da Tyr, **Figura 12B** e **Tabela 2**, todos identificaram apenas um único pico anódico com o seu valor de potencial em $E_{p1a} = + 0,64$ V e $I_{p1a} = 7,52$ μ A. A primeira varredura de DP nos permitiu determinar o número de elétrons envolvidos no processo de eletro-oxidação da Tyr, obtivemos o $W_{1/2} = 140$ mV e por meio da Eq. 2, o número de elétrons envolvidos nesse processo é de um.

Os voltamogramas de SWV da Tyr, **Figura 12C**, registraram igualmente a CV e DPV um único pico irreversível 1a, em $E_{p1a} = + 0,67$ V e com $I_{p1a} = 18,87$ μ A. Além disso todas as técnicas voltamétricas registraram uma queda substancial da corrente do pico 1a, a partir da segunda varredura de potencial, **Figura 12**. Por exemplo, no voltamograma de DP o pico anódico 1a possui uma corrente de $I_{p1a} = 7,49$ μ A na primeira varredura, é de $I_{p1a} = 2,07$ μ A e $I_{p1a} = 1,26$ μ A, na segunda e na terceira varredura de potencial respectivamente. Esses resultados aqui estão similares a anteriores relatados na literatura (NASCIMENTO et al., 2022; NASCIMENTO et al., 2019).

Figura 12 - Voltamogramas sucessivos da Tyr 2,0 mmol L⁻¹, em tampão fosfato (pH = 7,0).

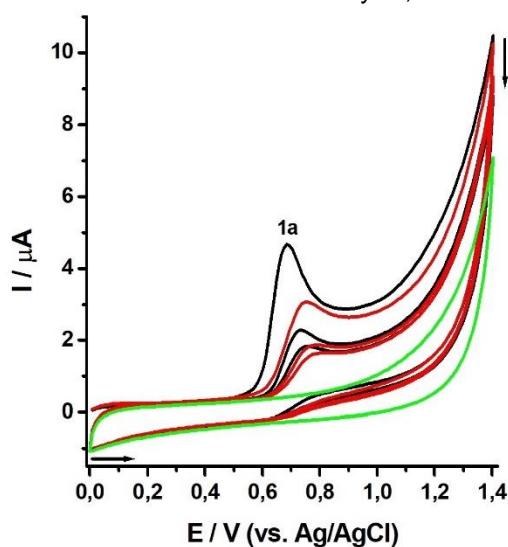


(A) CV, (B) DPV e (C) SWV. Primeira varredura (—) e linha de base (—).

Para o estudo da adsorção da Tyr e seus produtos sobre o GCE, foram realizados três voltamogramas cíclicos sucessivas (—), com posteriormente retirada e lavagem do GCE, nova homogeneização da solução, reinserção do eletrodo e três novas varreduras registradas (—), **Figura 13**. Os resultados são concordantes com os dados de DP da **Figura 12**, e demonstram queda significativa da corrente do pico 1a referente a eletro-oxidação do aminoácido a partir das varreduras sucessivas, antes ou após a lavagem da superfície do eletrodo com água ultrapura, indicando de fato que existe formação de produto(s) que adsorvem no eletrodo de trabalho

passivando sua superfície, como já explanado nos experimentos anteriores utilizando o Trp, **Figura 8**.

Figura 13 - Varreduras sucessivas em CV da Tyr 1,0 mmol L⁻¹ em pH = 7,15.



1^o a 3^o Varredura (—), 4^o a 6^o (—) varredura após lavagem do GCE e linha de base (—).

Após o processo de limpeza do eletrodo e homogeneização da solução, descritos detalhadamente na **seção 3**, a quarta varredura registra uma corrente do pico anódico no valor de $i_{p1a} = 3,06 \mu A$, retornando a um valor mais alto, porém, não o suficiente para atingir o valor da primeira varredura, sendo um indício da forte adsorção de produtos formados a partir da eletro-oxidação da Tyr, já que a limpeza e homogeneização realizadas, não foi o suficiente para restabelecer o padrão de corrente do pico anódico da espécie observado na primeira varredura, os valores numéricos das correntes do pico anódico estão detalhados na **Tabela 5**.

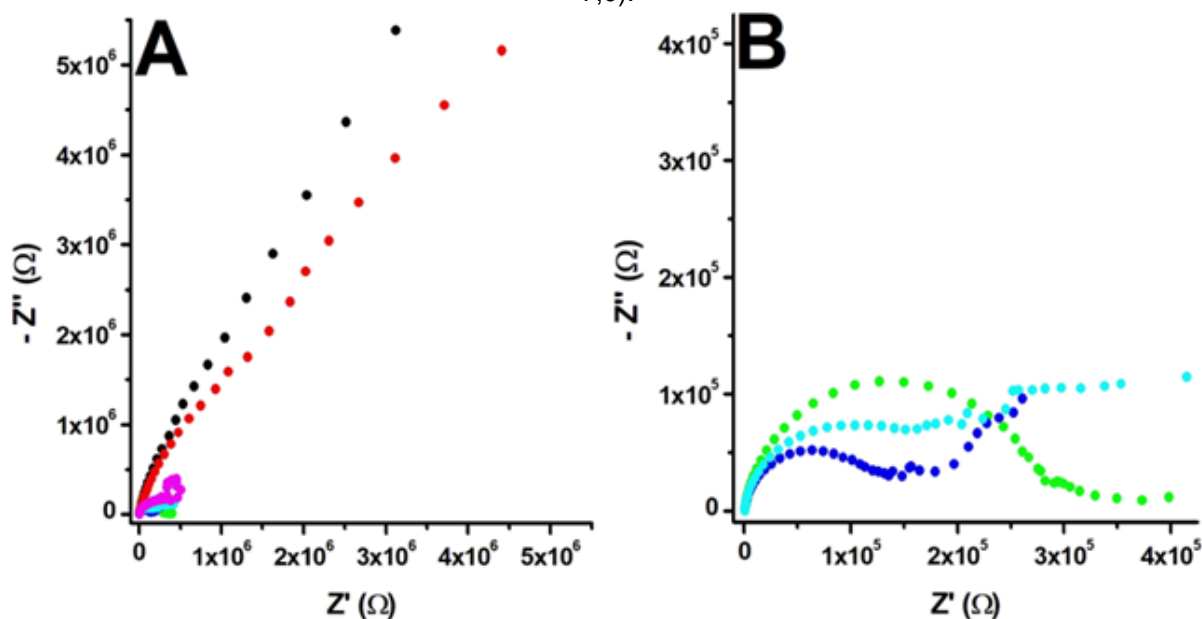
Tabela 5 - Valores das correntes do pico 1a referentes aos voltamogramas registrados em uma solução de Tyr 1,0 mmol L⁻¹ na **Fig. 9**.

Tirosina	Varredura 1	Varredura 2	Varredura 3	Varredura 4 - pós limpeza	Varredura 5 - pós limpeza	Varredura 6 - pós limpeza
Corrente (I / μA)	4,67	2,28	1,82	3,06	1,85	1,61

4.1.2.2 Impedância eletroquímica da Tyr

Os produtos da eletro-oxidação da Tyr, **Figura 12**, assim como no Trp, **Figura 7**, adsorvem fortemente sobre o GCE. Para um maior aprofundamento deste fenômeno, foi utilizada uma solução de Tyr $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em meio neutro, e a ela foram aplicados vários potenciais fixos de eletro-oxidação (+ 0,4 a + 0,8 V) e espectros de EI foram registrados nos parâmetros experimentais descritos na **seção 3**, limpando o GCE mecanicamente entre as leituras, **Figura 14**.

Figura 14 – Representação do diagrama de Nyquist dos espectros de EI do Tyr $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (pH = 7,0).

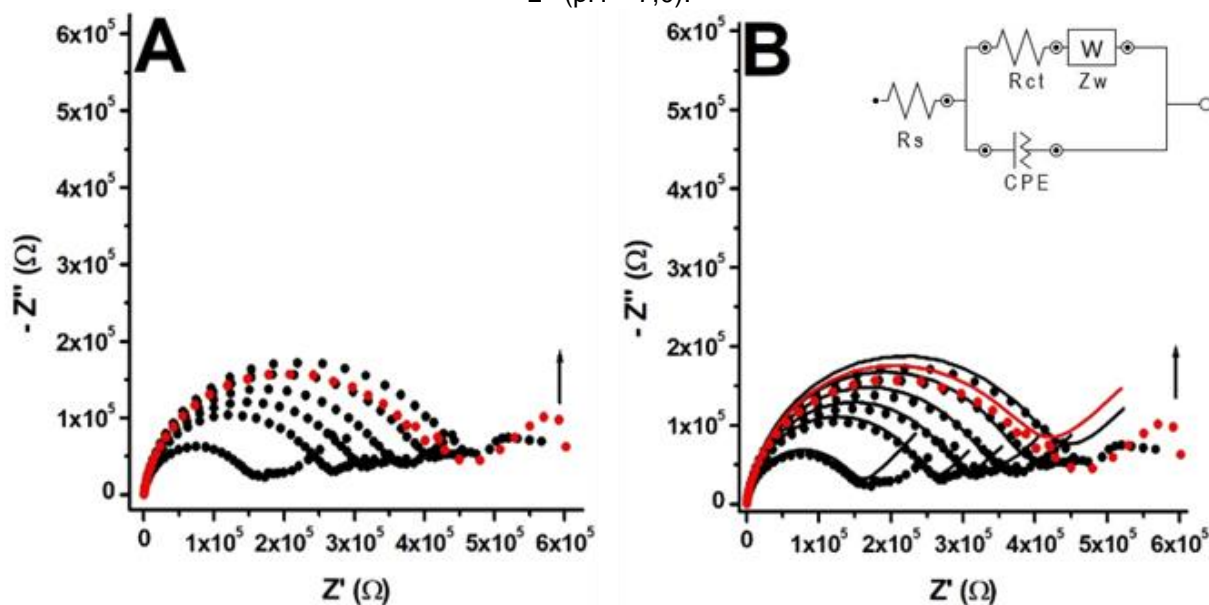


(A) 0,4 até 0,8 V e (B) 0,6 V, até 0,7 V.
 0,4 V (●), 0,5 V (●), 0,6 V (●), 0,65 V (●), 0,7 V (●), 0,8 V (●)

Pela **Figura 14A**, é possível identificar que em potenciais mais baixos + 0,4 e + 0,5 V, não há nenhum processo de eletro-oxidação para a Tyr, pois, observamos apenas uma linha reta. A partir de um recorte, **Figura 14B**, temos uma melhor visualização, e identificamos que no valor de potencial de + 0,65 V é iniciado o processo de eletro-oxidação da Tyr, uma vez que um semicírculo em altas frequências foi claramente identificado, justificando a ocorrência de um processo faradaico (RETTNER; LOHSE, 2010).

Seis leituras sucessivas de EIS foram então registradas aplicando um potencial fixo de + 0,65 V, **Figura 15A**.

Figura 15 – Representação do diagrama de Nyquist dos espectros sucessivos de EI do Tyr 1,0 mmol L⁻¹ (pH = 7,0).



1^o-6^o (●) e 7^o (●) leitura após lavagem do GCE. (A) Sucessivos e (B) Sucessivos com modelagem a partir do circuito elétrico de Randles.

É nítido o aumento do raio do semicírculo dos espectros da Tyr apresentados na **Figura 15**, indicando uma maior resistência da superfície do substrato eletroquímica a partir das reações redox que ocorrem sobre sua superfície, concordando com os resultados dos voltamogramas, **Figuras 12 e 13** e com dados prévios da literatura (NASCIMENTO et al., 2019). Antes da sétima leitura, também foi feita uma lavagem no GCE e homogeneização da solução, o espectro registrado demonstra uma redução do raio do semicírculo que se assimila a quinta leitura. Os resultados aqui obtidos juntamente com os resultados dos experimentos anteriores, **Figuras 12 e 13**, demonstram claramente que os produtos da eletro-oxidação da Tyr de fato formam um filme, que fica fortemente adsorvido sobre o eletrodo, sendo necessária uma limpeza mecânica para a remoção do mesmo.

Um circuito elétrico foi utilizado para realizar a modelagem dos espectros EI registrados e assim obter os valores numéricos das R_{cts} envolvidas nos processos redox de cada leitura, **Figura 15B**, e esses valores estão detalhados no **Tabela 6**.

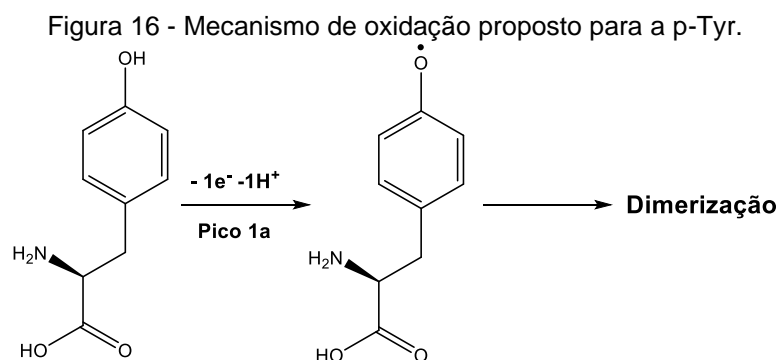
Tabela 6 - Valor das R_{ct} dos espectros de impedância da Tyr 1,0 mmol L⁻¹ pH 7,0.

Tirosina	Leitura 1	Leitura 2	Leitura 3	Leitura 4	Leitura 5	Leitura 6	Leitura 7 – pós homogeneização
----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------	--------------------------------

R_{ct} ($M\Omega$ cm^{-1})	147	244	285	326	371	413	385
-------------------------------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

4.1.2.3 Mecanismo de oxidação da Tyr

A partir dos resultados voltamétricos, **Figuras 12 e 13**, e os espectros de EI, **Figuras 14 e 15**, e com base na literatura consultada (NASCIMENTO et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2022; OLIVEIRA-BRETT et al., 2019), o mecanismo de eletro-oxidação da Tyr, **Figura 16**, ocorre por meio da retirada de um elétron e um próton do grupo fenol, esse processo gera um radical fenóxi. Esses radicais fenóxi formados, reagem entre si, formando um dímero de tirosina. Esses dímeros de tirosina ficam fortemente adsorvidos à superfície do GCE, sendo possivelmente a principal causa da queda no valor da corrente, observada nos experimentos aqui explanados, **Figuras 12, 13 e 15**.



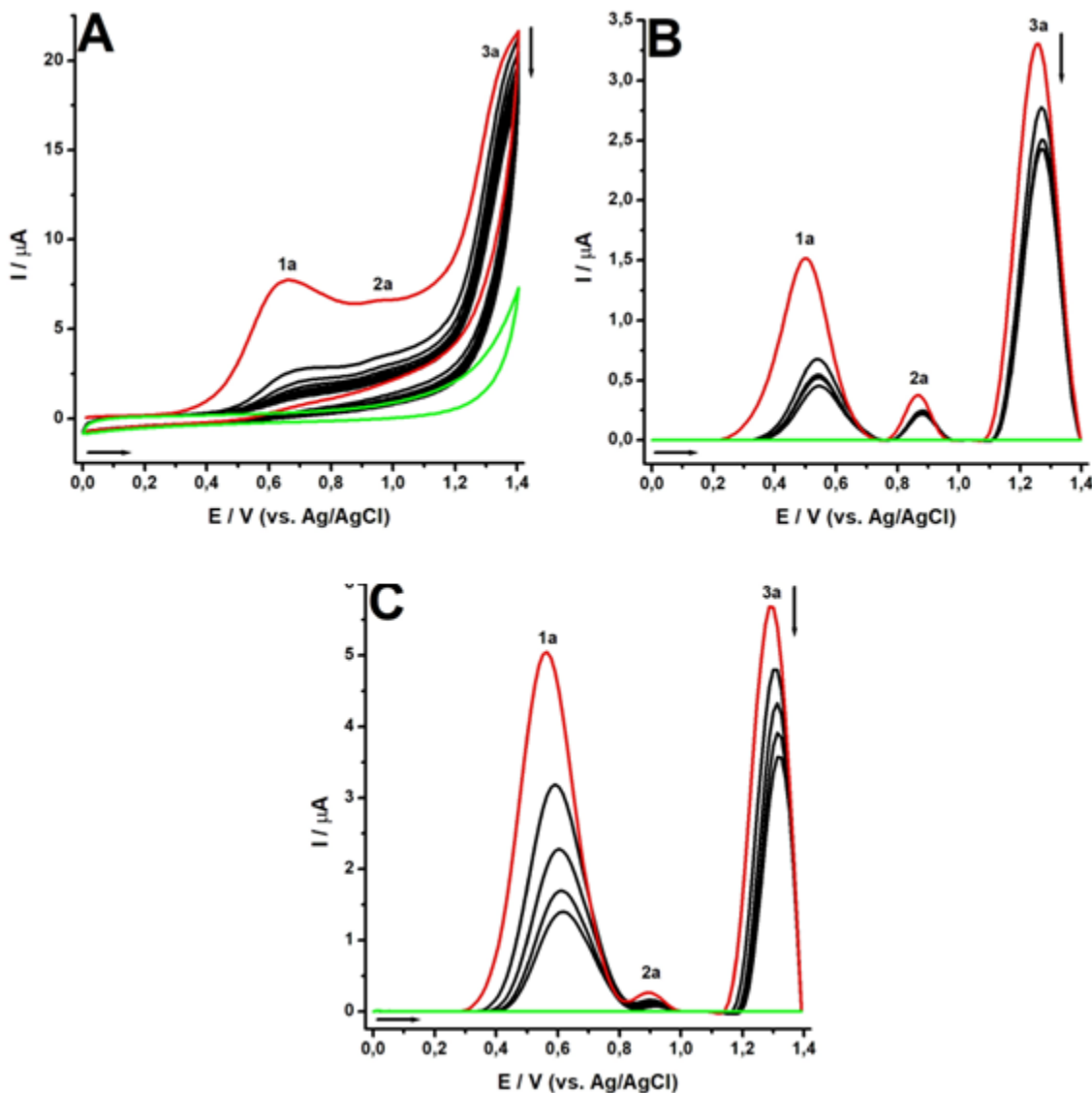
Fonte: (NASCIMENTO et al., 2022) Adaptado.

4.1.3 Estudo redox da Cisteína

O comportamento eletroquímico da espécie foi investigado através das técnicas voltamétricas, CV, DPV e SWV, em uma solução de Cys $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em meio fisiológico. Os voltamogramas cíclicos sucessivos registrados podem ser observados na **Figura 17A**, onde três picos anódicos irreversíveis foram identificados, o pico 1a é localizado em $E_{p1a} = + 0,66 \text{ V}$ e $I_{p1a} = 7,80 \mu\text{A}$, pico 2a em $E_{p2a} = + 0,96 \text{ V}$ e o pico 3a em $E_{p3a} = + 1,35 \text{ V}$. Já nos voltamogramas sucessivos de DP, **Figura 17B**, os três picos anódicos foram detectados, mas em valores de potenciais mais negativos e com valores de corrente respectivamente de, pico 1a em $E_{p1a} = + 0,50 \text{ V}$ e com corrente de $I_{p1a} = 1,52 \mu\text{A}$, pico 2a em $E_{p2a} = + 0,86 \text{ V}$ e pico 3a em $E_{p3a} = + 1,26 \text{ V}$. Nos

voltamogramas sucessivos de SW, **Figura 17C**, os picos anódicos 1, 2 e 3a estão localizados em $E_{p1a} = + 0,56$ V com corrente de $I_{p1a} = 5,04$ μ A, $E_{p2a} = + 0,89$ V e $I_{p2a} = 0,27$ μ A e $E_{p3a} = + 1,28$ V com $I_{p3a} = 5,70$ μ A.

Figura 17 - Voltamogramas sucessivos da Cys 1,0 mmol L⁻¹, em tampão fosfato (pH = 7,0).



(A) CV, (B) DPV e (C) SWV. Primeira varredura (—) e linha de base (—).

Podemos observar que também há uma diminuição considerável na corrente do pico 1a, a partir da segunda varredura, indicando que os produtos formados a partir da eletro-oxidação da Cys, adsorvem sobre a superfície do GCE, dificultando as reações subsequentes. Considerando a **Equação 2** da DPV e o valor $W_{1/2} = 119$ mV

para o pico 1a do primeiro voltamograma da **Figura 17B** e **Tabela 2**, o número de elétrons transferido nesta primeira etapa de eletro-oxidação da Cys é um.

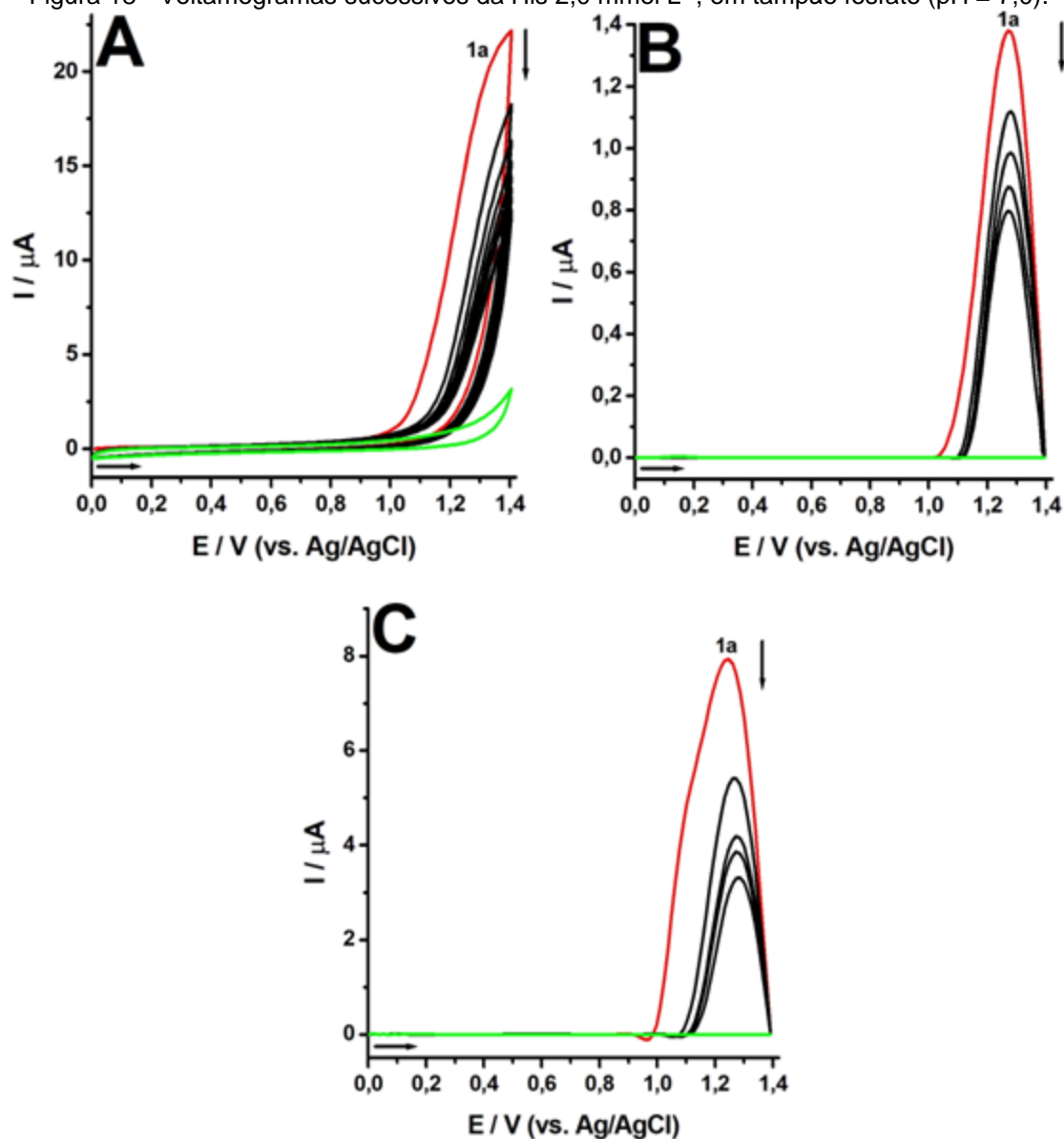
Sendo assim, a partir de todos os dados da **Figura 17** e com base na literatura (ENACHE; OLIVEIRA-BRETT, 2011b), o mecanismo de eletro-oxidação da cisteína ocorre no grupo sulfidríla, com a retirada de um elétron e um próton formando um radical, pico 1a, esse radical segue duas vias em meio aquoso, uma com formação da cistina e outra com água com formação de um intermediário (ENACHE; OLIVEIRA-BRETT, 2011b).

4.1.4 Estudo redox da Histidina

A partir de uma solução de His 2,0 mmol L⁻¹ e das técnicas voltamétricas CV, DP e SW, o comportamento eletroquímico da espécie foi investigado. Os voltamogramas cíclicos, **Figura 18A**, detectaram um único pico anódico irreversível em um valor de potencial elevado, em $E_{p1a} = + 1,32$ V e corrente de $I_{p1a} = 20,38$ μ A, já próximo a eletro-oxidação do eletrólito suporte aquoso. Os voltamogramas de DP, **Figura 18B** e **Tabela 2**, também identificaram um único pico de oxidação localizado em $E_{p1a} = + 1,27$ V com corrente $I_{p1a} = 1,38$ μ A. Considerando a **Equação 2** da DPV e o valor $W_{1/2} = 179$ mV para o pico 1a do primeiro voltamograma da **Figura 18B**, o número de elétrons transferido nesta primeira etapa de eletro-oxidação da His é um.

Os voltamogramas de SWV, **Figura 18C**, registraram o pico da His em $E_{p1a} = + 1,24$ V e com corrente $I_{p1a} = 7,94$ μ A.

Figura 18 - Voltamogramas sucessivos da His 2,0 mmol L⁻¹, em tampão fosfato (pH = 7,0).



(A) CV, (B) DPV e (C) SWV. Primeira varredura (—) e linha de base (—).

O mecanismo de eletro-oxidação da His ainda não é bem estabelecido na literatura, sendo necessário um maior aprofundamento e estudos afins de elucidar esse mecanismo.

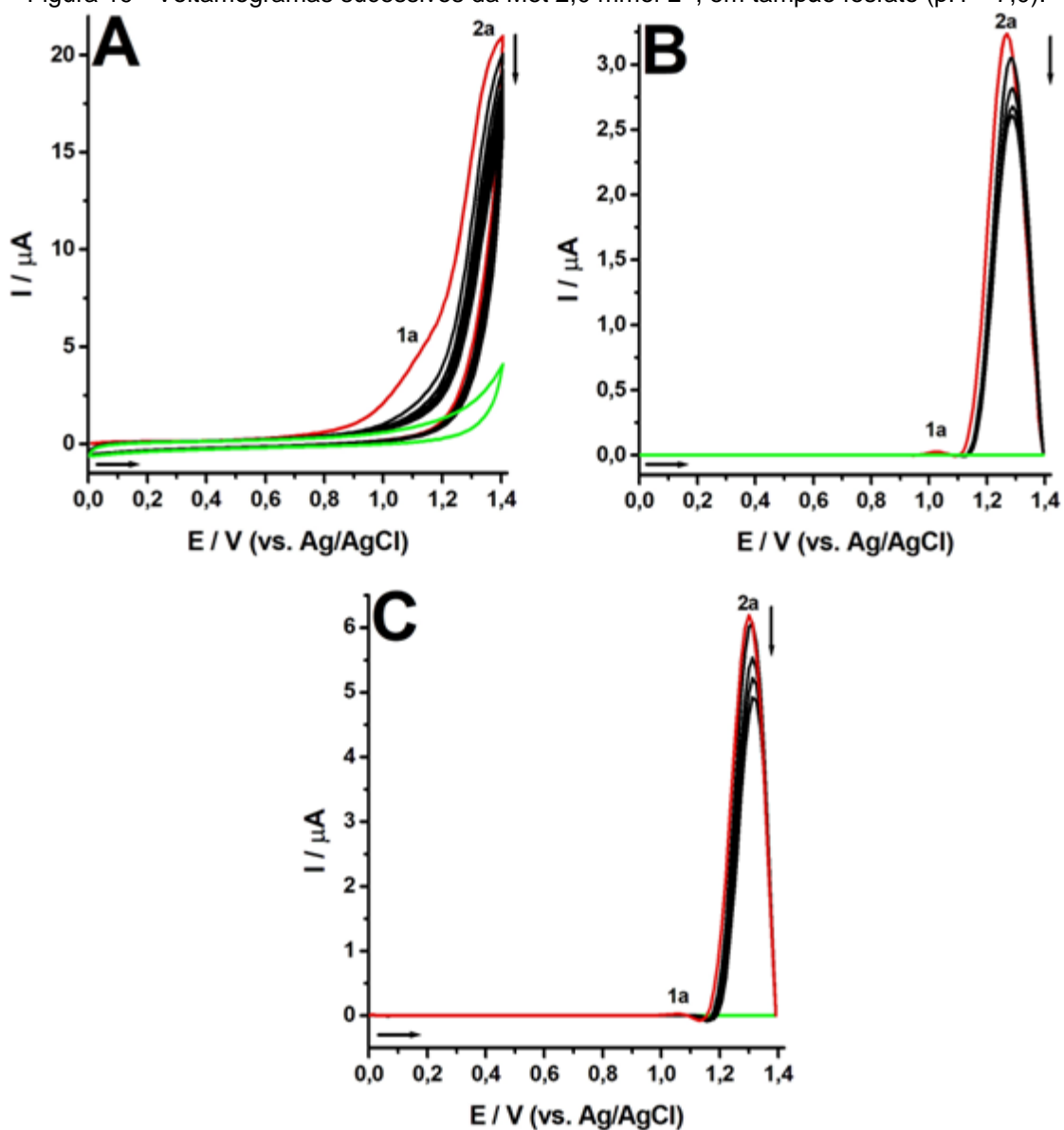
4.1.5 Estudo redox da Metionina

Para o estudo eletroquímico da espécie, foi utilizada uma solução de Met 2,0 mmol L⁻¹ em meio neutro, utilizando as técnicas voltamétricas CV, DPV e SWV.

Voltamogramas cíclico sucessivos, **Figura 19A**, foram registrados sendo possível observar a formação de dois picos anódicos irreversíveis, o pico 1a está localizado em $E_{p1a} = + 1,12$ V e o pico 2a em $E_{p2a} = + 1,35$ V e correntes $I_{p1a} = 4,76$ μ A e $I_{p2a} = 20,0$ μ A respectivamente. Nos voltamogramas sucessivos de DP, **Figura 19B** e **Tabela 2**, os valores dos potenciais são mais negativos, onde o pico 1a ocorre em $E_{p1a} = + 1,03$ V e $I_{p1a} = 0,03$ μ A, e o 2a em $E_{p2a} = + 1,27$ V e $I_{p2a} = 3,21$ μ A. A partir do primeiro voltamograma de DP, **Figura 19B**, e da **Equação 2**, é possível determinar o número de elétrons transferidos no processo do pico 2a, com um $W_{1/2} = 132$ mV o número de elétrons é de um.

Para os voltamogramas sucessivos de SWV, **Figura 19C**, os picos anódicos possuem uma variação de + 0,03 V em ambos os processos em comparação com os voltamogramas de DP, as correntes dos picos 1a e 2a são de $I_{p1a} = 0,07$ μ A e $I_{p2a} = 6,19$ μ A respectivamente.

Figura 19 - Voltamogramas sucessivos da Met 2,0 mmol L⁻¹, em tampão fosfato (pH = 7,0).



(A) CV, (B) DPV e (C) SWV. Primeira varredura (—) e linha de base (—).

A eletro-oxidação da Met, como visto anteriormente, **Figura 19**, ocorre em duas etapas. A espécie é eletro-oxidada formando a metionina sulfóxido, pico 1a. Em valores mais elevados de potencial, a metionina sulfóxido será oxidada à metionina sulfona, pico 2a (ENACHE; OLIVEIRA-BRETT, 2011b). Na literatura, o mecanismo de eletro-oxidação da Met ainda não é bem elucidado, sendo necessário estudos futuros afim de esclarecer completamente todas as etapas envolvidas, e produtos formados a partir da eletro-oxidação da espécie.

4.1.6 Estudo redox da Arginina, Lisina e Fenilalanina

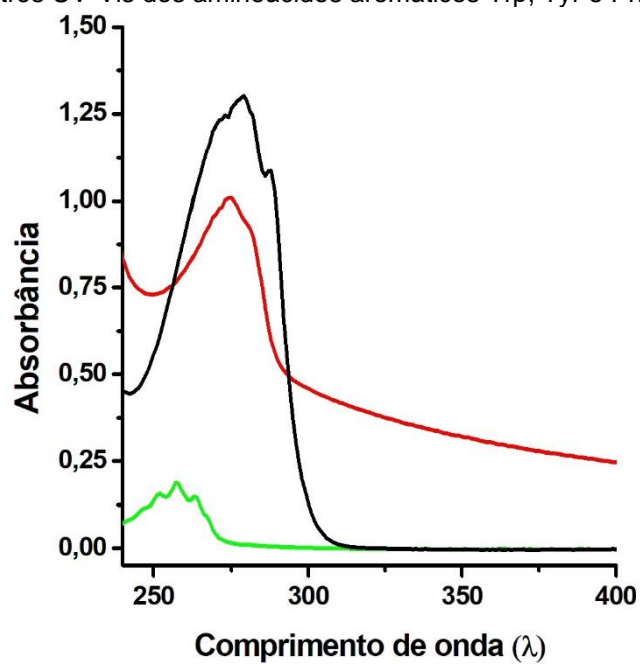
Para o estudo do comportamento redox dos aminoácidos Arg, Lys e Phe, foram utilizadas soluções na concentração de 2,0 mmol L⁻¹, em meio neutro, utilizando as técnicas voltamétricas CV, DPV e SWV na faixa anódica de potencial 0,0 até + 1,4 V. Porém, nenhum resultado foi obtido durante os testes, confirmando que esses aminoácidos não são eletroativos sobre a superfície do GCE, nas condições experimentais aqui utilizadas.

4.2 ESTUDO DA ESPECTROSCOPIA UV-VIS

Para complementar os resultados eletroquímicos, espectros UV-Vis dos aminoácidos aromáticos, Trp, Tyr e Phe, aqui investigados, foram registrados na região de 200 – 750 nm, em tampão fosfato pH 7,0, **Figura 20**.

O espectro do Trp apresentou duas bandas com absorção máxima em 279 e 288 nm, **Figura 20**, (RUSSEL, 2017; TANIGUCHI; LINDSEY, 2018). O da Tyr duas bandas com absorção máxima em 274 e 281 nm referentes ao grupo fenólico presente em sua estrutura (ANTOSIEWICZ; SHUGAR, 2016; TANIGUCHI; LINDSEY, 2018). Os espectros registrados da Phe apresentaram três bandas com absorção máxima em 251, 257 e 262 nm, características do benzeno que faz parte da sua cadeia lateral (TANIGUCHI; LINDSEY, 2018) Entre os três aminoácidos além da diferença clara das bandas e absorção máxima das mesmas, podemos observar também a diferença na absorbância, onde a Phe possui a menor absorbância mesmo com uma concentração equivalente a Tyr. Já o Trp por sua vez apresenta a maior absorbância dos três aminoácidos, mesmo em uma concentração mais baixa.

Figura 20 – Espectros UV-Vis dos aminoácidos aromáticos Trp, Tyr e Phe, em meio neutro.



Trp 0,5 mmol L⁻¹ (●), Tyr 1,0 mmol L⁻¹ (●), Phe 1,0 mmol L⁻¹ (●).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O comportamento eletroquímico dos aminoácidos Arg, Cys, His, Lis, Met, Phe, Trp e Tyr, foram aqui investigados por meio das técnicas voltamétricas CV, DPV e SWV, demonstrando que cinco desses são eletroativos na superfície do GCE nas condições experimentais utilizadas.

O comportamento redox do Trp foi investigado e os voltamogramas registrados, apresentaram dois picos anódicos principais irreversíveis na primeira varredura de potencial, com formação de produtos eletroativos, os quais foram identificados a partir da segunda varredura de potencial. Os resultados voltamétricos e conjuntamente com os de EIS indicaram que a oxidação do Trp era controlada pelo seu transporte de massa do seio da solução para a superfície do eletrodo por difusão, bem como, uma intensa adsorção dos produtos de sua oxidação na GCE, com formação de um filme, passivando sua superfície.

Os voltamogramas registrados da Tyr apresentaram apenas um único pico anódico claramente irreversível em $E_{p1a} = + 0,65$ V, esse processo está relacionado com a eletro-oxidação da hidroxila da Tyr formando um radical fenóxi. Há uma queda substancial na corrente do pico anódico, possivelmente causado por produtos eletrogerados a partir da eletro-oxidação da Tyr, que adsorvem fortemente sobre a superfície do GCE.

O comportamento de oxidação Cys foi investigado e os voltamogramas registrados apresentaram a formação de três picos anódicos subsequentes e irreversíveis, foi observado uma queda na corrente do pico anódico principal 1a, que pode estar relacionado com a forte adsorção de produtos da eletro-oxidação da Cys sobre a superfície do GCE, causando uma passivação.

Os voltamogramas sucessivos da His apresentaram apenas um único pico anódico irreversível localizado em $E_{p1a} = + 1,27$ V, esse processo é relacionado a eletro-oxidação da His.

Foram registrados voltamogramas sucessivos da Met, identificando dois picos anódicos irreversíveis, o pico 1a localizado em $E_{p1a} = + 1,03$ V, e o pico 2a em $E_{p2a} = + 1,27$ V.

O estudo espectroscópico UV-Vis foi realizado em todos os aminoácidos aqui investigados, e os espectros registrados demonstraram que apenas os aminoácidos aromáticos Trp, Tyr e Phe, apresentaram bandas nos espectros, devido a presença

de grupos cromóforos em suas estruturas, esses grupos cromóforos são responsáveis pela absorção da radiação UV. Os demais aminoácidos não apresentaram nenhuma banda nos espectros registrados.

Este trabalho de monografia será também utilizado como apoio didático para alunos de graduação e pós-graduação, em diferentes disciplinas de eletroanalítica e bioeletroquímica, ofertadas pelo Departamento de Química da UFRPE.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A.; ARAÚJO, W; MARQUEZ U.; NAKANO, E., Table of Phenylalanine Content of Foods: Comparative Analysis of Data Compiled in Food Composition Tables, **JIMD Reports**, v. 34, p. 87-96, 2017.

BERTHIAS, F. et al, Identification and quantification of amino acids and related compounds based on Differential Mobility Spectrometry, **Analyst**, v. 145 (14), 4889-4900, 2020.

BRANDALIZE, S.; CZERESNIA, D., Avaliação do programa de prevenção e promoção da saúde de fenilcetonúricos, **Rev. Saúde pública**, v. 38 (2), p. 300-306, 2004.

BRASIL. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO 4**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

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

CAMPBELL, M.; FARRELL, S., **Bioquímica**. 6^a ed. São Paulo, 2008.

DAMBACHER, S.; HAHN, M.; SCHOTTA, G., Epigenetic regulation of development by histone lysine methylation, **Heredity**, v. 105, p. 24-37, 2010.

ENACHE, T.; OLIVEIRA-BRETT, A., Pathways of Electrochemical Oxidation of Indolic Compounds, **Electroanalysis**, v. 23 (6), p. 1337-1344, 2011a.

ENACHE, T.; OLIVEIRA-BRETT, A., Boron doped diamond and glassy carbon electrodes comparative study of the oxidation behavior of cysteine and methionine, **Bioelectrochemistry**, v. 81 (1), p. 46-52, 2011b.

GO. Y, JONES, D., Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease, **Free Radic. Biol. Med.**, ed. 50 (4), p. 495-509, 2011.

GRIFFITH, O., Mammalian sulfur amino acid metabolism: An overview, **Methods Enzymol.**, v. 143 (C), p. 366-376, 1987.

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

LUCOTTI, P. et al, Oral l-arginine supplementation improves endothelial function and ameliorates insulin sensitivity and inflammation in cardiopathic nondiabetic patients after an aortocoronary by-pass, **Metabolism**, v. 58 (9), p. 1270-1276, 2009.

NELSON, D.; COX, M., **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 7^a ed. Porto Alegre, 2019.

MACDONALD, A. et al., PKU dietary handbook to accompany PKU guidelines, **Orphanet J Rare Dis.**, v. 15 (1), p. 171-192, 2020.

MAJNO, G.; PALADE, G., STUDIES ON INFLAMMATION: I. The Effect of Histamine and Serotonin on Vascular Permeability: An Electron Microscopic Study, **J. Biophys. Biochem. Cytol.**, v. 11 (3), p. 571-605, 1961.

MARTIN, C.; ZHANG, Y., The diverse functions of histone lysine methylation, **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 6 (11), p. 838-849, 2005.

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

MENDES, C.; SILVA, M.; OLIVEIRA, S., Voltammetric determination of 5-methylcytosine at glassy carbon electrode, **J. Electroanal. Chem.**, v. 895, p. 115437, 2021.

MOTTA, V., Ciclo do ácido cítrico. In: MOTTA, V., **Bioquímica**, 2011. Rio de Janeiro: MedBook, p. 2015-228.

NASCIMENTO, M. et al., Electrochemical behavior of protein oxidation biomarkers meta-, ortho- and 3-chloro-tyrosine on carbon electrodes: A comparative study with para-tyrosine and phenylalanine, **Carbon Trends**, v. 8, p. 100182, 2022.

NASCIMENTO, M., **Detecção eletroquímica dos biomarcadores de doenças humanas 3-cloro-, 3-nitro-, orto- e meta-tirosina utilizando eletrodos de carbono.**, 2021, 112 p. Dissertação (Mestrado em química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

NASCIMENTO R. et al., Redox reactions of ortho-tyrosine and 3-nitro-tyrosine: A comparative study with para-tyrosine, **J. Electroanal. Chem.**, v. 854, p. 113535, 2019.

OLIVEIRA-BRETT, A. et al., Bioelectrochemistry for sensing amino acids, peptides, proteins and DNA interactions, **Curr. Opin. Electrochem.**, v. 14, p. 173-179, 2019.

OLIVEIRA, S., **Biossensores electroquímicos com DNA: Desenvolvimento e aplicações para detecção in-situ de danos oxidativos causados ao DNA.** 2010. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra.

OLIVEIRA, S. et al., Electrochemical Biosensors for DNA–Drug Interactions, **Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Surface Science and Electrochemistry**, Elsevier ed., Amsterdam, p. 124-139, 2018.

PIZZINO, G. et al., Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health, **Oxid. Med. Cell. Longev.**, v. 2017, 2017.

QUEIROZ, N. et al., Oxidation Mechanism of 1-methyl-tryptophan and Tryptophan on Glassy Carbon Electrode: a Comparative Study, **Electroanalysis**, v. 34, p. 1-12, 2022.

RETTNER, U.; LOHSE, H., Electrochemical Impedance Spectroscopy In: **Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications**. SCHOLZ F. (editor) **Electroanalytical Methods: Guide to Experiments and Applications**, Berlin: Springer, 2010. p. 159-177.

REYNAUD, J.; MALFOY, B.; CANESSON, P., Electrochemical investigations of amino acids at solid electrodes: Part I. Sulfur components: Cystine, cysteine, methionine, **J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.**, v. 114 (2), p. 195-211, 1980.

RIBEIRO, D.; SOUZA, C.; ABRANTES, J., Use of Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) to monitoring the corrosion of reinforced concrete, **Rev. IBRACON Estrut.**, v. 8 (4), p. 529-546, 2015.

RUSSEL, B., **Protein Encapsulated Gold Nanoclusters for Biological Applications.**, 2017, 188 p. Tese (Ph.D.) - University of Strathclyde, Glasgow.

SELLIES, L., Parahydrogen Hyperpolarization Allows Direct NMR Detection of α -Amino Acids in Complex (Bio)mixtures, **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 60 (52), 26954-26959, 2021.

SKOOG, D. et al., **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 8ª Edição norte-americana, Editora Thomson, São Paulo - SP, 2006. 1026 p.

SOUSA JÚNIOR, D.; VERDE, T.; LANDIM, L., Alimentos ricos em triptofano e seu efeito na liberação da serotonina e possíveis benefícios no transtorno de ansiedade, **Res., Soc. Dev.**, v.10 (14), p. e471101422190, 2021.

SPACKMAN, D.; STEIN, W.; MOORE, S., Automatic Recording Apparatus for Use in Chromatography of Amino Acids, **Anal. Chem.**, v. 30 (7), 1190-1206, 1958.

STADTMAN, E.; LEVINE, R., Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. **Amino Acids**, [s. l.], v. 25, p. 207-218, 2003.

SWAIN, G., Solid electrode materials: Pretreatment and activation. In: ZOSKI, C. (editora) **Handbook of Electrochemistry**, Amsterdã: Elsevier, 2007. p. 111-153.

TANIGUCHI, M.; LINDSEY, J., Database of Absorption and Fluorescence Spectra of >300 Common Compounds for use in PhotochemCAD, **Photochem. Photobiol.**, v. 94 (2), o. 290-327, 2018.

VALLANCE, P.; LEIPER, J., Cardiovascular Biology of the Asymmetric Dimethylarginine: Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase Pathway, **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 24 (6), p. 1023-1030, 2004.

VICKERY, H.; LEAVENWORTH, C., On the separation of histidine and arginine: iv. The preparation of histidine, **J. Biol. Chem.**, v. 78 (3), p. 627-635, 1928.

WANG, S. et al., Electrochemical impedance spectroscopy, **Nat. Rev. Methods Primers**, v. 1 (1), p. 41, 2021.

WISE, R.; ROBBLE, M., Dopamine, and Addiction, **Annu. Rev. Psychol.**, v. 71 (1), p. 79-106, 2020.

WU, G., 21 - Arginine and immune function. **Diet, Immunity and Inflammation**, Woodhead Publishing, p. 523-543, 2013.