Universidade Estadual de Campinas Instituto de Química Laboratório de Química de Superfícies - *LabQS* 

# ÓXIDO MISTO SIO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: ESTUDO DA TÉCNICA DE PREPARAÇÃO, CARACTERÍSTICAS, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES DO MATERIAL OBTIDO

## **EMERSON SCHWINGEL RIBEIRO**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Química, da Universidade Estadual de Campinas, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Yoshitaka Gushikem

Campinas, outubro de 2003.

### FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA UNICAMP

Ribeiro, Emerson Schwingel. Óxido misto SiO <sub>2</sub> /Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub> : estudo da técnica de preparação, características, propriedades e aplicações do material obtido/ Emerson Schwingel Ribeiro Campinas, SP: [s.n], 2003.
Orientador: Yoshitaka Gushiken
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.
<ol> <li>Óxido misto silica-antimônia. 2. Processo sol-gel. 3. Propriedades eletroquímicas.</li> <li>Eletrodos químicamente modificados.</li> <li>Gushiken, Yoshitaka. II. Universidade Estadual de Campinas. III. Título.</li> </ol>

Dedico esta tese a minha mãe Enilda e aos meus irmãos Anderson e Vamerson.

#### AGRADECIMENTOS

**#**1 DEUS;

À minha mãe Enilda Schwingel Ribeiro, pelo carinho, apoio, incentivo em todos os momentos e ao meu pai Valdemar Pereira Ribeiro (in memorian);

Aos meus irmãos Vamerson Schwingel Ribeiro (Varm) e Anderson Schwingel Ribeiro (Arn), que me apoiarem e sempre estiveram presentes;

À minha namorada Miria, pelo carinho, apoio e incentivo constante, e pela paciência e compreensão nos dias em que eu estava ausente;

À minha avó Marinta Rosa Schwingel (in memorian), minha avó Estefânia Ternovisk Ribeiro (in memorian) e demais parentes pelo incentivo;

Ao Prof. Dr. Yoshitaka Gushikem, pelo tempo despendido na orientação desta tese, confiança, incentivo, respeito e amizade, o que, contribuiu e muito no meu crescimento pessoal e profissional que sem dúvida, serei eternamente grato;

Em especial agradeço ao grande amigo Prof. Dr. Sílvio L. P. Dias, pela grande amizade, ótimo convívio e respeito, e pelas contribuições em diversos trabalhos, que foi de grande importância no desenvolvimento desta tese.

Ao Prof. Dr. Lauro T. Kubota e Prof. Dr. Roy E. Bruns pela amizade, conhecimentos transmitidos e pelas contribuições, que foram muito importantes.

Aos amigos (as) do laboratório: Prof. Dr. Aécio, Aécio, Alexandre, Almir, Alzira, Ana, Anderson, André, Angélica, Prof. Dr. "Cajá", César, Claudemir, Prof. Dr. Cláudio, Chris, Fábio, Flávio, Gesley, Gilberto, Gislene, Ilauro, Lincoln, Marco, Margarete, Mauro, Neusa, Thaís, Toshio, Suzana, William e Zéca, pela amizade e agradável convivência durante todos estes anos.

Aos servidores do Instituto de Química por todo suporte e amizade.

À FAPESP pelo suporte financeiro.

E a todos que de alguma forma contribuíram na realização desta tese.

vii

### SUMULA CURRICULAR

### 1. FORMAÇÃO ACADÊMICA / TITULAÇÃO

### **1.1. DOUTORADO EM QUÍMICA**, 1999 - 2003.

Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas - SP. Título: Óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: Estudo da técnica de preparação, características, propriedades e aplicações do material obtido. Orientador: Yoshitaka Gushikem. Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP.

### **1.2. MESTRADO EM QUÍMICA,** 1997 - 1999.

Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, Campinas - SP. Título: Estudos das atividades eletrocatalíticas das ftalocianinas de Co(II) e Fe(II) tetrassulfonadas suportadas sobre sílica gel quimicamente modificada com íon piridínio.

Orientador: Yoshitaka Gushikem.

Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP.

### **1.3. GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BACHARELADO,** 1993 - 1996.

Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá - PR. Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq.

### 2. PATENTE

2.1. Y. GUSHIKEM, E.S. RIBEIRO, E.V. BENVENUTTI, Composto de sílica-titaniagrafite (SiO₂/TiO₂/Grafite) como material cerâmico eletricamente condutor e processo sol-gel de obtenção do mesmo, Relatório protocolizado no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) sob n<sup>2</sup> 3611 (Patente Requerida), 01 de Agosto de 2003 (depósito).

### 3. ARTIGOS COMPLETOS

- **3.1. E.S. RIBEIRO**, S.L.P. DIAS, Y. GUSHIKEM, L.T. KUBOTA, *Cobalt (II) porphyrin complex immobilized on the binary oxide SiO*<sub>2</sub>/*Sb*<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: *electrochemical properties and dissolved oxygen reduction study*, Electrochimica Acta, (2003) "in press".
- 3.2. E.S. RIBEIRO, S.L.P. DIAS, S.T. FUJIWARA, Y. GUSHIKEM, R.E. BRUNS, Electrochemical study and complete factorial design of toluidine blue immobilized on the binary oxide SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Journal of Applied Electrochemistry, 33 (2003) 1069-1075.

- **3.3. E.S. RIBEIRO**, S.S. ROSATTO, Y. GUSHIKEM, L.T. KUBOTA, *Electrochemical study of meldola's blue, methylene blue and toluidine blue immobilized on a*  $SiO_2/Sb_2O_3$  *binary oxide matrix obtained by the sol-gel processing method*, Journal of Solid State Electrochemistry, **7** (2003) 665-670.
- **3.4. E.S. RIBEIRO**, M.S.P. FRANCISCO, Y. GUSHIKEM, J.E. GONÇALVES, *Princípios Básicos de XAS e XPS*, Chemkeys, (2003) 1-37. Edição de texto para o site www.ChemKeys.com.
- **3.5.** S.L.P. DIAS, Y. GUSHIKEM, **E.S. RIBEIRO**, E.V. BENVENUTTI, *Cobalt(II)* hematoporphyrin IX and protoporphyrin IX complexes immobilized on highly dispersed titanium(IV) oxide on a cellulose microfiber surface: electrochemical properties and dissolved oxygen reduction study, Journal of Electroanalytical Chemistry, **523** (2002) 64-69.
- **3.6. E.S. RIBEIRO**, Y. GUSHIKEM, J.C. BIAZZOTTO, O.A. SERRA, *Electrochemical* properties and dissolved oxygen reduction study on an iron(III)-tetra(oureaphenyl)porphyrinosilica matrix surface, Journal of Porphyrins and Phthalocyanines, **6** (2002) 527-532.
- **3.7.** G. ZAITSEVA, Y. GUSHIKEM, **E.S. RIBEIRO**, S.S. ROSATTO, *Electrochemical property of methylene blue redox dye immobilized on porous silica-zirconia-antimonia mixed oxide*, Electrochimica Acta, **47** (2002) 1469-1474.
- **3.8.** E.S. RIBEIRO, Y. GUSHIKEM, Cobalt(II) tetrasulfophthalocyanine complex adsorbed on a silica gel surface chemically modified with 3-N-propylpyridinium chloride: Oxalic acid oxidation study, Electroanalysis, **11** (1999) 1280-1284.
- **3.9.** E.S. RIBEIRO, Y. GUSHIKEM, *Iron(II) tetrasulphophthalocyanine complex adsorbed on a silica gel surface chemically modified by 3-n-propylpyridinium chloride*, Electrochimica Acta, **44** (1999) 3589-3592.

### 4. PUBLICAÇÕES EM ANAIS DE EVENTOS

- 4.1. E.S. RIBEIRO, Y. GUSHIKEM, S.L.P. DIAS, L.T. KUBOTA, Electrochemical properties of the cobalt (II) porphyrin immobilized on the binary oxide SiO2/Sb2O3: The dissolved oxygen reduction study. In: 54th ANNUAL MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF ELECTROCHEMISTRY ISE 2003, São Pedro SP, (2003) p.76 (Resumido).
- **4.2. E.S. RIBEIRO**, S.L.P. DIAS, S.T. FUJIWARA, Y. GUSHIKEM, R.E. BRUNS, *Planejamento fatorial e otimização das propriedades redox do azul de toluidina imobilizado sobre SiO*<sub>2</sub>/*Sb*<sub>2</sub>*O*<sub>3</sub>. In: XV CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS - CBECIMAT, Natal – RN, (2002) (Resumido).
- **4.3. E.S. RIBEIRO**, S.S. ROSATTO, Y. GUSHIKEM, L.T. KUBOTA, *Eletroxidação de NADH pelos corantes azul de meldola, de metileno e de toluidina adsorvidos sobre SiO*<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. In: XV CONGRESSO DA SOCIEDADE IBERO-AMERICANA DE ELECTROQUÍMICA, Évora Portugal, (2002) p. 5285-P1-D (Resumido).

- 4.4. S.L.P. DIAS, Y. GUSHIKEM, E.S. RIBEIRO, E.V. BENVENUTTI, Electrorredução de oxigénio pela protoporfirina IX de cobalto (II) imobilizada sobre o compósito celulose/TiO2. In: XV CONGRESSO DA SOCIEDADE IBERO-AMERICANA DE ELECTROQUÍMICA, Évora Portugal, (2002) p. 5285-P2-C (Resumido).
- **4.5.** S.L.P. DIAS, **E.S. RIBEIRO**, Y. GUSHIKEM, *Eletrorredução de oxigênio pela hematoporfirina IX de cobalto (II) imobilizada sobre celulose/TiO*<sub>2</sub>. In: 11 ENQA ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, Campinas SP, (2001) p. EQ-17 (Resumido).
- 4.6. E.S. RIBEIRO, Y. GUSHIKEM, Estudos eletroquímicos dos corantes azul de meldola, de metileno e de toluidina adsorvidos sobre o óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. In: XL CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, Recife PE, (2000) p. 238-238 (Resumido).
- **4.7. E.S. RIBEIRO**, Y. GUSHIKEM, *Eletrorredução de oxigênio pela ftalocianina de ferro (II) tetrassulfonada imobilizada sobre sílica gel quimicamente modificada com íon piridínio.* In: XI SIBEE SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ELETROQUÍMICA E ELETROANALÍTICA, Maragogi AL, (1999) p. 294-296 (Expandido).
- 4.8. C.M.M. COSTA, R.T. FERRARI, E.S. RIBEIRO, A.A.S. ALFAYA, Anion selectivity of quaternary ammonium salts immobilized on silica gel in sensor membranes. In: SILICA 98 INTERNATIONAL CONFERENCE: AN INTERNATIONAL CONFERENCE ON SILICA SCIENCE AND TECHNOLOGY, Mulhouse França, 2 (1998) 809-812 (Completo).
- **4.9. E.S. RIBEIRO**, Y. GUSHIKEM, *Eletroxidação do ácido oxálico pela ftalocianina de cobalto (II) tetrassulfonada imobilizada sobre sílica gel quimicamente modificada com íon piridínio.* In: 21<sup>ª</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Poços de Caldas MG, (1998) p. QI-67 (Resumido).
- 4.10. C.M.M. COSTA, E.S. RIBEIRO, A.A.S. ALFAYA, Estudo do efeito de íons interferentes na resposta dos eletrodos SFQA-I e SFQA-II, sensíveis para íons perclorato, pelo método de interferência fixa. In: 19<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Poços de Caldas MG, (1996) p. QI141 (Resumido).
- 4.11. E.S. RIBEIRO, C.M.M. COSTA, Sais de amônio quaternários imobilizados sobre sílica gel, SFQA-I e SFQA-II: utilização como sensores para íons perclorato. In: IV EVENTO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EVINCI/96 DA UFPR, Curitiba PR, (1996) p. 309 (Resumido).
- 4.12. E.S. RIBEIRO, C.M.M. COSTA, A.A.S. ALFAYA, Sal de amônio quaternário imobilizado sobre sílica gel, SFQA-II: um novo sensor para íons perclorato. In: V ENCONTRO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Londrina – PR, (1996) p. 80-80 (Resumido).

#### RESUMO

O presente trabalho descreve o desenvolvimento e a aplicação de novos eletrodos quimicamente modificados como mediadores na eletroxidação de NADH (B-nicotinamida adenina dinucleotídeo) e na eletrorredução de oxigênio dissolvido. Na ordem de melhorar as caracterísiticas de reversibilidade de eletrodos, um planejamento fatorial foi aplicado. O óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (SiSb) obtido pelo processo sol-gel apresentou ser estável termicamente e quimicamente com uma alta área específica superficial. O Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> apresentou-se altamente disperso na matriz. Devido essas características e pela presenca de sítios ácidos de Lewis e de Brønsted na superfície do óxido misto, espécies eletroativas tais como azul de meldola (AMe), azul de metileno (AM), azul de toluidina (AT), hematoporfirina IX de Co (II) (CoHMP), protoporfirina IX de Co (II) (CoPP) e o complexo porfirínico de Co (II) (CoTmPyP) foram imobilizadas fortemente nos poros da matriz. Os eletrodos de pasta de carbono feitos com os materiais SiSb/AMe, SiSb/AM e SiSb/AT, eletrocatalisaram de maneira eficiente à oxidação de NADH. A mudança no potencial formal dos corantes imobilizados na direção de valores mais positivos e a invariância com pH da solução fazem do eletrodo SiSb/AMe um material interessante para o desenvolvimento de biossensor para enzimas dehidrogenase. O eletrodo SiSb/CoTmPyP mostrou ser mais eficiente na eletrorredução de oxigênio dissolvido do que os eletrodos SiSb/CoHMP e SiSb/CoPP. Verificou-se que a eletrorredução de O<sub>2</sub>, na superfície do eletrodo SiSb/CoTmPyP, ocorre em um potencial mais positivo se comparado com a redução na superfície do grafite em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> e 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Estudos de mecanismo de reação demonstraram que oxigênio dissolvido é reduzido à molécula de H<sub>2</sub>O na interface eletrodo-solução por um mecanismo envolvendo quatro elétrons. O planejamento fatorial permitiu uma investigação simultânea dos quatro fatores selecionados e que podem afetar a otimização de reversibilidade do azul de toluidina adsorvido na superfície da SiSb. No estudo do planejamento fatorial o fator pH da solução aquosa demonstrou não influenciar as respostas da separação de pico,  $\Delta E$ , e nem na razão de corrente  $|i_{pa}/i_{pc}|$ . As melhores condições para  $\Delta E \in |i_{pa}/i_{pc}|$  do estudo fatorial são - - + (20 mV s<sup>-1</sup>, KCl, 1.0 mol L<sup>-1</sup>).

#### ABSTRACT

The present work describes the development and the application of new chemically modified electrodes as mediators in the electrooxidation of NADH (Bnicotinamide adenine dinucleotide) and in the electroreduction of dissolved oxygen. In order to improve the electrodes reversibility characteristics a factorial design was applied. The mixed oxide SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (SiSb) obtained by the sol-gel processing method showed termally and chemically stable with a high specific surface area. The Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> particles were highly dispersed in the matrix. Due to these characteristics and the presence of Lewis and of Brønsted acid sities on mixed oxide surface, electroatives species such as Meldola's Blue (AMe), Methylene Blue (AM), Toluidine Blue (AT), Co(II) hematoporphyrin IX (CoHMP), Co(II) protoporphyrin IX (CoPP) and the Co (II) complex porfhyrinic (CoTmPyP; Co (II) 5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridyl)-21H,23H-porphine, tetra-p-tosylate *salt*) were strongly immobilized in the matrix pores. The carbon paste electrodes prepared with the materials SiSb/AMe, SiSb/AM and SiSb/AT, electrocatalyzed efficiently the NADH oxidation. The shift in the formal potential of the immobilized organic dyes (AMe, AM and AT) toward more positive values and its invariance with solution pH, make SiSb/AMe an interesting material for biosensor development. belguoo to а dehydrogenase enzyme. The electrode SiSb/CoTmPyP showed to be more efficient in the electroreduction of dissolved oxygen than the electrodes SiSb/CoHMP and SiSb/CoPP. It was verified that the electroreduction of O<sub>2</sub> on the electrode surface of the SiSb/CoTmPyP occured in a more positive potential, compared with the electroreduction on the graphite surface, in KCI 0.5 mol L<sup>-1</sup> and 1.0 mol L<sup>-1</sup>. Studies of reaction mechanism demonstrated that dissolved  $O_2$  is reduced to  $H_2O$  molecule, on the electrodesolution interface by four electrons mechanism. The factorial design allowed a simultaneous investigation of four selected factors that could affect the optimization of reversibility of the AT immobilized on the SiSb surface. In the factorial design study the pH of the aqueous phase did not influence the response peak separation,  $\Delta E$ , or the response current ratio,  $|i_{pa}/i_{pc}|$ . The best set of conditions for  $\Delta E$  and  $|i_{pa}/i_{pc}|$  from factorial study are - - + (20 mV s<sup>-1</sup>, KCl, 1.0 mol  $L^{-1}$ ).

## ÍNDICE GERAL

ÍNDIO	CE DE ESQUEMA, FIGURAS E FLUXOGRAMAS	xix
ÍNDIO	CE DE TABELAS	xxiii
PRIN	CIPAIS SIGLAS E ABREVIATURAS UTILIZADAS	.xxv
1.	INTRODUÇÃO	1
2.	OBJETIVOS	11
3.	PARTE EXPERIMENTAL	13
3.1	. PREPARAÇÃO DO ÓXIDO MISTO SiO <sub>2</sub> /Sb <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	13
3.2	2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	14
3.3	3. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	15
3.4	AREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA, DIÂMETRO MÉDIO DE PORO E	
	ANÁLISE QUÍMICA DA SISb	15
3.5	5. PROPRIEDADES ÁCIDAS DA SISb	15
3.6	<ol> <li>IMOBILIZAÇÃO DOS CORANTES SOBRE A SUPERFÍCIE DA SISb</li> </ol>	16
3.7	7. CONCENTRAÇÕES DOS CORANTES SOBRE A SUPERFÍCIE DA	
	SISb DETERMINADAS POR ISOTERMAS DE ADSORÇÃO	17
3.8	<ol> <li>IMOBILIZAÇÃO DAS PORFIRINAS SOBRE A SUPERFÍCIE DA SISb.</li> </ol>	19
3.9	ANÁLISE ELEMENTAR DAS PORFIRINAS SOBRE SISb	22
3.1	0. ESPECTROS ELETRÔNICOS DAS ESPÉCIES ELETROATIVAS	
	SOBRE SiSb	22
3.1	1. ELETRODO DE PASTA DE CARBONO E EQUIPAMENTOS	23
3.1	2. PLANEJAMENTO FATORIAL DO AT IMOBILIZADO SOBRE SISb	25
4.		30
4.1	MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA (MEV)	30
4.2	2. DIFRAÇAO DE RAIOS-X	31
4.3	3. ÁREA ESPECÍFICA SUPERFICIAL, DIÀMETRO MÉDIO DE PORO E	
		33
4.4	PROPRIEDADES ACIDAS DA SISb	33
4.5	5. CONCENTRAÇÕES DOS CORANTES SOBRE A SISb	35
4.6	5. CONCENTRAÇÕES DAS PORFIRINAS SOBRE A SISb	36

xviii

6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS8	2
5.	CONCLUSÕES7	9
4.11	1. PLANEJAMENTO FATORIAL DO AT IMOBILIZADO SOBRE SiSb <b>6</b>	8
dis	ssolvido6	3
4.1	.10.3. Aplicação do material SiSb/CoTmPyP como sensor para oxigênio	)
4.1	10.2. Estudos do mecanismo de reação por voltametria linear6	0
4.1	10.1. Experimentos de eletrodo de disco rotatório5	9
4.10	). ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DAS PORFIRINAS SOBRE SISb <b>5</b>	4
4.9	.9.1. ELETROXIDAÇÃO DE NADH PELOS CORANTES SOBRE SISb5	1
4.9.	ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DOS CORANTES SOBRE SISb4	2
	SOBRE SiSb	;9
4.8.	ESPECTROS ELETRÔNICOS E IMOBILIZAÇÃO DAS PORFIRINAS	
	MOLECULAR DOS CORANTES SOBRE SiSb	6
4.7.	ESPECTROS ELETRÔNICOS E ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO	

### ÍNDICE DE ESQUEMA, FIGURAS E FLUXOGRAMAS

Esquema 1 – Reações do processo sol-gel5		
Figura 1 - Porfina9		
Figura 2 – Corantes: (A) azul de meldola, (B) azul de metileno e (C) azul de		
toluidina17		
Figura 3 - Representação esquemática da hematoporfirina IX e protoporfirina IX		
protonadas e metaladas, imobilizadas na superfície do óxido misto SiSb <b>21</b>		
Figura 4 – Representação esquemática da porfirina de Co (II) (CoTmPyP)		
imobilizada nos poros da matriz SiSb <b>21</b>		
Figura 5 – Eletrodo de pasta de carbono (1) e cela eletroquímica (2)		
Figura 6 – Micrografia eletrônica de varredura do material SiSb (1) e		
mapeamento de antimônio por EDS (2). (—) 10 μm30		
Figura 7 – Difratogramas de raios-X da SiSb calcinadas a várias temperaturas		
( <sup>0</sup> C): ( <b>a</b> ) 500, ( <b>b</b> ) 1000 e ( <b>c</b> ) 1100 <b>31</b>		
Figura 8 - Espectro infravermelho da piridina adsorvida sobre SiSb e aquecida a		
várias temperaturas ( <sup>0</sup> C) sob vácuo (10 <sup>-3</sup> torr): ( <b>a</b> ) 100, ( <b>b</b> ) 170 e ( <b>c</b> ) 400		
e sobre <b>SiO</b> <sub>2</sub> (25 <sup>0</sup> C) <b>34</b>		
Figura 9 – Espectros eletrônicos para o corante AM em solução aquosa		
( <b>1</b> = 2,0 x 10 <sup>-4</sup> ; <b>2</b> = 5,0 x 10 <sup>-5</sup> e <b>3</b> = 1,25 x 10 <sup>-5</sup> mol L <sup>-1</sup> ) e adsorvido com		
diferentes concentrações, SiSb/AM ( <b>4</b> = 35,2; <b>5</b> = 14,3 e <b>6</b> = 3,6 $\mu$ mol g <sup>-1</sup> ).		
<b>Figura 10</b> – Espectros eletrônicos dos materiais: ( <b>a</b> ) SiSb/H <sub>2</sub> TmPyP e ( <b>b</b> )		
SiSb/CoTmPyP <b>40</b>		
Figura 11 – Voltamogramas cíclicos obtidos para o material SiSb (a) e para o		
AM em diferentes concentrações sobre a matriz, SiSb/AM: (b) 3,6 ; (c) 35,1		
e ( <b>d</b> ) 14,3 $\mu$ mol g <sup>-1</sup> . Medidas em KCl 0,5 mol L <sup>-1</sup> e v = 20 mV s <sup>-1</sup> <b>44</b>		
<b>Figura 12</b> – Dependência do potencial médio, $E_m$ , versus pH da solução para o		
corante azul de metileno em solução (●) e adsorvido na superfície de		
eletrodo de grafite (■). Figura baseada na referência [41]46		

xix

- Figura 13 Dependência do potencial médio, E<sub>m</sub>, versus pH da solução: SiSb/AMe (■),SiSb/AM (●) e SiSb/AT (▲). SiSb/corante: 12,5; 14,3 e 22,8 µmol g<sup>-1</sup>, respectivamente). Medidas em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> e v = 20 mV s<sup>-1</sup>....47
- Figura 14 Dependência da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, obtida para SiSb/AMe (■), SiSb/AM (●) e SiSb/AT (▲). Medidas em KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 6......50
- Figura 15 Voltamogramas cíclicos para SiSb/AM: (A) na ausência de NADH e
  (B) na presença de 10 mmol L<sup>-1</sup> de NADH. Medidas em solução tampão fosfato 0,06 mol L<sup>-1</sup> em KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7, v = 20 mV s<sup>-1</sup>......52
- Figura 16 Dependência da i<sub>a</sub> e [NADH] para os eletrodos: SiSb/AMe (■), SiSb/AM (●) e SiSb/AT (▲). Medidas em solução tampão fosfato 0,06 mol L<sup>-1</sup> em KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7 e potencial aplicado de 0 mV vs SCE......53
- Figura 17 Voltamogramas lineares para: [1] (a) SiSb, (b) grafite, (c) SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP, (d) SiSb/CoTmPyP, medidas em: KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, pH 7, v =  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , T =  $20 \ ^{0}$ C, [O<sub>2</sub>] =  $10.0 \text{ mg L}^{-1}$ . [2] (a) SiSb/CoHMP, (b) SiSb/CoPP, medidas em: KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup>, pH 7, v =  $20 \text{ mV s}^{-1}$ ,
- **Figura 19** Gráfico de Levich,  $i_{L} vs \omega^{1/2}$ . Medidas em: KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C e pH 5,5.....**60**
- **Figura 20** In  $i_{pc}$  versus  $E_{pc}$ . Medidas em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 2 mV s<sup>-1</sup>, .....62
- Figura 21 Voltamogramas cíclicos para SiSb/CoTmPyP em várias concentrações de oxigênio dissolvido. Figura inserida: Dependência da i<sub>pc</sub> em relação à variação da concentração de oxigênio dissolvido. Medidas em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C e pH 5,5......64

**Figura 22** - Dependência da  $i_c$  em relação ao  $E_{apl}$ . Medidas em KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C,  $[O_2]$  = 10,0 mg L<sup>-1</sup> e pH 5,5.....66

- Figura 24 Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodos de pasta de carbono modificado com SiSb (a) e SiSb/AT (b). Medidas em KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, pH 7.0 e V = 20 mV s<sup>-1</sup>.
  Figura 25 Dependência de corrente de pico anódico em relação ao número de ciclos redox para o eletrodo SiSb/AT. Medidas em KCl 1.0 mol L<sup>-1</sup>, pH 7.0, V = 20mV s<sup>-1</sup>.
  Figura 26 Gráfico de probabilidade cumulativa para os valores dos efeitos, Δ*E* (a) e | *i*<sub>pa</sub>/*i*<sub>pc</sub> | (b), da Tabela 2 correspondente ao planejamento fatorial 2<sup>4</sup>. 73
- Figura 27 Diagrama do planejamento fatorial 2<sup>4</sup> para as reposta de separação de pico (tipo arial) e razão da corrente (tipo itálico)......**77**
- Fluxograma 1 Preparação do óxido misto SiSb.....14
- Fluxograma 3 Imobilização das porfirinas sobre a superfície do óxido misto SiSb....20

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Fatores, níveis, valores para $\Delta E$ e $ i_{pa}/i_{pc} $ para o planejamento
fatorial 2 <sup>4</sup> <b>28</b>
<b>Tabela 2</b> - Principais efeitos e interações para o planejamento fatorial 2 <sup>4</sup> . <b>29</b>
Tabela 3 – Dados de difração de raios-X da fase cristalina sílica cristobalita com
as respectivas distâncias interplanares (d) e atribuições de picos $(I/I_0)$ $32$
<b>Tabela 4</b> – Concentrações dos corantes imobilizados (N <sub>f</sub> ) na superfície da SiSb.
Tabela 5 – Razão dímero/monômero dos corantes na matriz SiSb e Nf
Tabela 6         - Dados da espectroscopia e letrônica (UV/vis) para as porfirinas sobre
SiSb41
Tabela 7 – Razão d/m dos corantes sobre a matriz SiSb e Em.43
Tabela 8         - Dependência da corrente de pico anódica versus o número de ciclos
redox
Tabela 9 – Parâmetros dos corantes imobilizados sobre SiSb obtidos por
experimentos de cronoamperometria, para eletroxidação de NADH. Medidas
em solução tampão fosfato 0,06 mol L <sup>-1</sup> em KCI 0,2 mol L <sup>-1</sup> , pH 7 <b>54</b>
Tabela 10 - Dependência da intensidade da corrente catódica versus número de
ciclos

### PRINCIPAIS SIGLAS E ABREVIATURAS UTILIZADAS

- $\Delta \boldsymbol{E}$  separação de potencial de pico;
- $|i_{pa}/i_{pc}|$  razão da corrente de pico anódica e corrente de pico catódica;
- AM azul de metileno;
- AMe azul de meldola;
- AT azul de toluidina;
- d/m razão dímero/monômero;
- **E**<sub>apl</sub> potencial aplicado;
- *E*<sub>m</sub> potencial médio;
- **E**<sub>p</sub> potencial de pico;
- *E*<sub>pa</sub> potencial de pico anódico;
- *E*<sub>pc</sub> potencial de pico catódico;
- EPC eletrodo de pasta de carbono;
- EQM eletrodos quimicamente modificados;
- H<sub>2</sub>HMP hematoporfirina IX;
- H<sub>2</sub>PP protoporfirina IX;
- H<sub>2</sub>TmPyP<sup>4+</sup> ligante porfirínico protonado;
- *i*<sub>p</sub> corrente de pico;
- *i*<sub>pa</sub> corrente de pico anódica;
- *i*<sub>pc</sub> corrente de pico catódica;
- **MP** metaloporfirina;
- **NADH -** β-nicotinamida adenina dinucleotídeo, forma reduzida;
- **NAD<sup>+</sup>** β-nicotinamida adenina dinucleotídeo, forma oxidada;

**P** - porfirina;

**SiSb** - óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>;

SiSb/AM - azul de metileno imobilizado sobre SiSb;

SiSb/AMe - azul de meldola imobilizado sobre SiSb;

**SiSb/AT -** azul de toluidina imobilizado sobre SiSb;

SiSb/CoHMP - hematoporfirina IX metalada com Co (II) imobilizada sobre SiSb;

SiSb/CoPP - protoporfirina IX metalada com Co (II) imobilizada sobre SiSb;

**P** - Porfirina;

**SiSb** - óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>;

SiSb/AM - azul de metileno imobilizado sobre SiSb;

SiSb/AMe - azul de meldola imobilizado sobre SiSb;

**SiSb/AT -** azul de toluidina imobilizado sobre SiSb;

SiSb/CoHMP - hematoporfirina IX metalada com Co (II) imobilizada sobre SiSb;

SiSb/CoPP – protoporfirina IX metalada com Co (II) imobilizada sobre SiSb;

SiSb/CoTmPyP - complexo porfirínico metalado com Co (II) imobilizado sobre SiSb;

**SiSb**/**H**<sub>2</sub>**HMP** - hematoporfirina IX protonada imobilizada sobre SiSb;

SiSb/H<sub>2</sub>PP - protoporfirina IX protonada imobilizada sobre SiSb;

SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP - ligante porfirínico protonado imobilizado sobre SiSb;

 $v^{1/2}$  - raiz quadrada de velocidade de varredura.

## 1. INTRODUÇÃO

Com o intuito de obter sensores apresentando características importantes como alta sensibilidade, seletividade e estabilidade; o estudo do seu desenvolvimento é uma área de grande crescimento e interesse dentro da química analítica [1-11]. Tal interesse estaria na aplicabilidade dos mesmos na análise dos mais diversos tipos de amostras como ambiental, clínica e industrial.

Os eletrodos quimicamente modificados (EQMs) são uma classe de sensores que têm recebido muita atenção [1-11]. O termo EQMs foi introduzido por Murray e colaboradores em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, imobilizadas em suas superfícies com o objetivo de préestabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução [12].

As espécies que são analisadas em eletrodos convencionais (Pt, Au, C), requerem normalmente altos sobrepotenciais para sofrerem o processo redox, sofrendo dessa forma um aumento do efeito de interferentes, por oxidação ou redução de outras espécies presentes no meio e também do próprio solvente. Os EQMs oferecem a vantagem de diminuir o sobrepotencial e aumentar a velocidade de certas reações eletroquímicas, aumentando dessa forma a sua sensibilidade e seletividade [13].

Existem diferentes tipos de eletrodos quimicamente modificados, como os eletrodos de carbono, carbono pirolítico e carbono vítreo [14-17], bem como os eletrodos metálicos de platina e ouro [18,19]. Estes têm sido modificados das

mais diversas maneiras em que as espécies eletroativas podem ser incorporadas ou imobilizadas nas superfícies destes eletrodos, através de simples adsorção (quimissorção) ou ligações covalentes. O uso de polímeros também é muito utilizado na modificação dos eletrodos de carbono e eletrodos metálicos, onde, estes polímeros podem apresentar o centro redox (responsável pela atividade eletrocatílica) como parte da sua estrutura (polímero redox), ou serem usados como adsorventes de espécies eletroativas, através da adsorção por troca iônica ou ligações covalentes [19-21].

Os eletrodos de pasta de carbono (EPC) são também, uma classe de eletrodos quimicamente modificados muito importante [22-26]. Estes eletrodos foram desenvolvidos na década de 50 por Adams [27], cuja finalidade era obter eletrodos com superfície facilmente renovável e com a possibilidade de aplicação em potenciais positivos, onde, os eletrodos de mercúrio não podiam ser usados, devido à oxidação do material do eletrodo.

Estes eletrodos são obtidos por uma mistura de grafite em pó e um agente aglutinante para a formação da pasta. O agente aglutinante normalmente é parafina líquida que deve ser imiscível em água, quimicamente inerte, eletroinativa, pouco volátil, livre de impurezas eletroativas, e cuja função é manter a pasta de carbono consistente, preencher as cavidades entre as partículas de grafite e "isolar" o grafite do contato com soluções aquosas [28,29].

Dentre as principais vantagens dos EPC, podemos citar a versatilidade no preparo, baixa corrente de fundo, baixo custo, ampla faixa de potencial de

trabalho, superfície facilmente renovável, possibilidade de miniaturização e modificação conveniente. Devido a essas propriedades, os EPC apresentam um extensivo uso em eletroanálise [2,3,7,22,23,28-32].

No entanto, algumas desvantagens podem ser encontradas quando são utilizados eletrodos de pasta de carbono, tais como, instabilidade estrutural do "bulk" e da superfície, que é verificada quando o eletrodo é submetido a um longo período de uso, na presença de solventes orgânicos na solução, ou quando utilizados em condições hidrodinâmicas. Um outro aspecto negativo que deve ser considerado, é a falta de reprodutibilidade na preparação dos eletrodos de pasta de carbono, devido a variações na composição da pasta, já que o grafite e o agente aglutinante são misturados manualmente, fornecendo muitas vezes um material não homogêneo [28].

O uso de sílica gel quimicamente modificada e óxidos mistos obtidos pelo processo sol-gel têm sido muito utilizados na imobilização de espécies eletroativas e posterior obtenção de eletrodos de pasta de carbono [2,7,10,22,32-41].

Devido a algumas vantagens apresentadas pelos materiais obtidos pelo processo sol-gel, cujas características são, fácil preparação, versatilidade, sínteses a baixas temperaturas, alta porosidade, alta estabilidade mecânica, capacidade de modificação química e a possibilidade de imobilização de várias espécies eletroativas [34], estes têm sido muito empregados no desenvolvimento de novos eletrodos quimicamente modificados [2,7,22,32,33,35-38].

Os primeiros estudos envolvendo o processo sol-gel são atribuídos a Ebelman [42,43] e Graham [44] por volta de 1850, com o interesse de se obter materiais cerâmicos e vidros. Ebelman e Graham observaram que a hidrólise de tetraetil ortosilicato [TEOS – Si(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>] em condições ácidas, produzia SiO<sub>2</sub> na forma de um material semelhante ao vidro [45,46]. O processo sol-gel basicamente consiste de três etapas: i) hidrólise, ii) condensação e iii) policondensação (Esquema 1, ver reações a seguir).

A hidrólise do monômero de um alcóxido precursor, como Si(OR)<sub>4</sub>,  $RSi(OR)_3$ ,  $AI(OR)_3$ ,  $Ti(OR)_4$  (onde R é  $CH_3$ ,  $C_2H_5$  ou  $C_3H_7$ ), ocorre na presença de água, empregando um ácido (e.g., HCI) ou uma base (e.g., NH<sub>3</sub>), como catalisador da reação. A reação de hidrólise dos grupos alcóxido (OR) presentes dá origem aos grupos hidroxilas (OH) com a liberação do respectivo álcool. Subseqüentes reações de condensação entre os grupos hidroxilas com a liberação de H<sub>2</sub>O levam à formação de um *sol*, por exemplo, a hidrólise e posterior condensação de um alcoxisilano [tetrametil ortosilicato TMOS -Si(OCH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] produzem as ligações siloxanos (=Si-O-Si=). A continuação deste processo origina o *gel*, que pode, ser definido como um sistema formado de uma estrutura rígida que imobiliza a fase líquida nos seus poros. A transformação de sol para gel é definida como transição sol-gel, que constitui um fenômeno no qual uma dispersão coloidal transforma-se em *gel* pelo estabelecimento de ligações entre as partículas, o que leva a formação de uma rede sólida tridimensional (poli-condensação) [45-47].

Sol: dispersão de partículas coloidais em um líquido; partículas coloidais: são partículas com diâmetro de 1-100 nm.



**Esquema 1** – Reações do processo sol-gel.

Quando o gel é seco, ocorre a expulsão do líquido presente nos poros com a posterior redução de volume devido à formação de novas ligações por policondensação, e conseqüentemente, a resistência do gel aumenta e o tamanho dos poros se tornam menores. A etapa de secagem leva a formação de um estado de "gel seco" que também é chamado de *xerogel*, e este processo de redução do gel pela expulsão do líquido presente nos poros, é chamado de *sinerese*. O *xerogel* é um sólido que apresenta alta porosidade e uma grande área superficial específica [45-47].

Mudanças em parâmetros, como, relação molar água/precursor, tipo de precursor, tipo de catalisador, pH, solvente, temperatura de secagem, causam alterações nas velocidades relativas de hidrólise e condensação. Conseqüentemente, elas levam a formação de sólidos com diferentes morfologias, como, diferentes tamanho de poros, área superficial específica, ramificações na rede e densidades [45,47].

Os óxidos mistos SiO<sub>2</sub>/M<sub>x</sub>O<sub>y</sub> obtidos pela reação de enxerto do metal sobre substrato SiO<sub>2</sub>, têm tido suas aplicações bastante ampliadas nos anos recentes [48-54], onde, podemos destacar o uso desses materiais na imobilização de espécies mediadoras de elétrons na superfície da matriz, possibilitando o desenvolvimento de sensores químicos [40,50-52]. A utilização do processo sol-gel para a obtenção de óxidos mistos também tem recebido um grande destaque [7,33,35,37,38,55-61].

Na equação geral abaixo descrevemos a reação química envolvida na preparação do óxido misto pelo processo sol-gel, onde, M(OR')<sub>y</sub> são os alcóxidos metálicos dos reagentes precursores:

$$Si(OR)_4 + xM(OR')_y \xrightarrow{solv+acido} SiO_2/M_xO_y + 4ROH + xyR'OH$$
 Eq. 1

Os sólidos assim obtidos, designados de compósitos, normalmente aliam as propriedades mecânicas e químicas da sílica gel com as propriedades químicas do óxido metálico livre. Os compósitos no estágio de xerogel apresentam, normalmente, uma elevada porosidade e a natureza das partículas de óxidos aprisionados nos poros da matriz constitui um fator bastante importante, já que, estes podem se apresentar altamente dispersos por toda a matriz (SiO<sub>2</sub>) [37]. O grande interesse em usar esse tipo de material como substrato poroso, é a possibilidade de imobilizar espécies eletroativas para preparar novos sensores eletroquímicos (eletrodos quimicamente modificados) [7,34,38,56,62,63].

O óxido de antimônio (III) tem sido usado em diversas aplicações, como, retardante de chama [64-67], principal componente para formação de vidro [68], catalisador [69-72] e trocador iônico [73,74]. Dentre estas aplicações, o uso como trocador iônico é de particular interesse, já que espécies eletroativas podem ser imobilizadas em sua superfície. Contudo, o óxido de antimônio (III) puro como substrato base para imobilizar espécies eletroativas apresenta limitações, porque, o pó obtido exibe uma baixa resistência mecânica. Para aumentar tal resistência mecânica, o óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> foi obtido através do método sol-gel. O material obtido é muito interessante, já que, se obtêm o mesmo de característica altamente poroso, com óxidos metálicos altamente dispersos por toda a matriz (SiO<sub>2</sub>). Devido às características ácidas do óxido de antimônio (III), a presença de sítios ácidos de Lewis e de Brønsted, tornase possível imobilizar espécies eletroativas na superfície da matriz.

Oxido misto obtido pelo processo sol-gel pode ser utilizado para a imobilização de espécies eletroativas para a oxidação de NADH (β-nicotinamida adenina dinucleotídeo). NADH têm um importante papel em muitas reações bioquímicas, como, coenzima de uma série de enzimas dehidrogenases que dependem do processo redox (NAD<sup>+</sup>/NADH) deste cofator, e transportador de elétrons em células vivas [75,76]. Cerca de 250 enzimas dependem do NADH e aproximadamente 150 do NADPH [76]. Devido a essas características, a eletroxidação desta coenzima tem sido muito investigada, já que, a eletroxidação direta de NADH, na superfície do eletrodo de carbono, platina e ouro, ocorrem normalmente em potenciais altos [77,78], por volta de 0,4; 0,7 e 1,0 V *vs* SCE, respectivamente [79-81].

Assim, é necessário o uso de um mediador de elétrons entre NADH e o eletrodo, capaz de diminuir este potencial [76,82]. Muitos mediadores têm sido usados para eletrocatalisar NADH, tais como, quinonas, fenoxazinas (azul de meldola e azul do nilo) e fenotiazinas (azul de metileno e azul de toluidina), complexos de ósmio e ferroceno [83-87]. Por tais motivos, o desenvolvimento de novos sensores, sensíveis ao NADH mostra-se interessante.

Óxido misto também pode ser utilizado para a imobilização de espécies eletroativas para a redução de Q dissolvido, onde podemos destacar a utilização de metaloporfirinas. As porfirinas (P) e metaloporfirinas (MP) são uma classe de macrocíclicos comuns na natureza, onde, exercem um papel importante nas funções essenciais da vida [88,89]. Podem ser citadas, a oxidação de substratos orgânicos pelo citocromo P-450, redução do oxigênio pelo citocromo-C oxidase desproporcionamento do peróxido de hidrogênio pelas catalases e е peroxidases [90]. As porfirinas são constituídas por quatro anéis pirrólicos unidos por carbonos meso derivado da porfina (Figura 1), pela substituição dos átomos de H nas posições periféricas do anel macrocíclico por cadeias laterais (etil, metil, vinil, etc.). O núcleo das porfirinas é um ligante tetradentado, em que, o espaço disponível para a coordenação com metal tem um diâmetro máximo de aproximadamente 3,7 Å. Quando ocorre coordenação com metal, dois prótons são removidos dos átomos de nitrogênio pirrólicos, ficando com duas cargas negativas [91]. Quase todos os metais presentes na tabela periódica formam complexos com as porfirinas, resultando nas respectivas metaloporfirinas, sendo que, as mais estudadas são as porfirinas de magnésio, manganês, ferro, cobalto, cobre e zinco [92,93].

Esses compostos macrocíclicos estão presentes na vitamina B-12 (complexo de cobalto), no grupo heme da hemoglobina e mioglobina (complexo de ferro, cuja função é o transporte e armazenamento de oxigênio), como também na clorofila (complexo de magnésio, utilizada na conversão de energia), etc. Devido a inúmeras propriedades (fotofísicas, fotoquímicas e catalíticas) desses complexos macrocíclicos, eles tem tido um papel importante em vários campos da ciência, desde medicina a ciência de materiais [94].



Figura 1 - Porfina.

Lembrando que, devido ao sistema  $\pi$  altamente conjugado do anel macrocíclico, as metaloporfirinas exibem uma variedade de fenômenos interessantes, relativos as suas propriedades. Dentre tais propriedades, podemos citar a atividade eletrocatalítica das FeP e CoP na redução de oxigênio molecular, onde, elas tem sido extensivamente estudadas nos últimos anos [35-37,95]. O interesse de se estudar tal atividade, estaria nas suas aplicações em modelos biológicos, bem como sensor específico [22,35,36,40,95,96]. As metaloporfirinas adsorvidas nos poros de substratos sólidos tem recebido especial atenção, como materiais promissores para a fabricação de sensores [34,62]. Os derivados de CoP podem interagir, através dos substituintes nas posições periféricas do anel porfirínico com os sítios ácidos de Lewis e de Brønsted, presentes no óxido metálico disperso na superfície da matriz de sílica, SiO<sub>2</sub>/M<sub>x</sub>O<sub>y</sub>, por ligações covalentes ou interações eletrostáticas [33,97]. Os materiais obtidos tem apresentado grande potencial no desenvolvimento de uma nova classe de sensores para oxigênio dissolvido [22,33,34,35,36,37,40].

Eletrodo tipo Clark é o principal sensor eletroquímico para oxigênio disponível comercialmente, o qual, é constituído de uma membrana de PTFE semipermeável, através da qual, somente o oxigênio se difunde, sendo reduzido num cátodo de platina. A utilização da membrana semipermeável é para se evitar a interferência de outras espécies presentes no meio, principalmente os grupos orgânicos, pois, o potencial aplicado para a redução do O<sub>2</sub> no eletrodo de Clark (- 0,55 V vs SCE) é suficiente para reduzi-los. Alterações na permeabilidade da membrana ou na área superficial do cátodo, podem diminuir significativamente a resposta do sensor [98-100]. Tal problema poderia ser contornado com o emprego de um eletrodo sólido, já que o O2 estaria em contato direto com a espécie eletroativa (CoP), sem a utilização de uma membrana semipermeável, e o  $O_2$  pode ser reduzido em potencial menos negativo, minimizando o efeito dos interferentes. Por tais razões, o desenvolvimento de um novo sensor quimicamente modificado, para oxigênio molecular, e que apresente uma maior seletividade, mostra-se interessante.

### 2. OBJETIVOS

O presente trabalho descreve o desenvolvimento e a aplicação de novos eletrodos quimicamente modificados como mediadores na eletroxidação de NADH (ß-nicotinamida adenina dinucleotídeo) e na eletrorredução de oxigênio dissolvido, e na ordem de melhorar as caracterísiticas de reversibilidade de eletrodos, um planejamento fatorial foi aplicado.

Os principais objetivos deste trabalho são:

Preparar o óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (SiSb) através de processo sol-gel e caracterizar através de: i) análise química; ii) determinação da área superficial específica e tamanho médio de poro; iii) microscopia eletrônica de varredura; iv) difração de raios-X e v) mapeamento dos sítios ácidos de Lewis e de Brønsted usando piridina como molécula sonda através da técnica de infravermelho.

Posteriormente, imobilizar o corante azul de meldola (**AMe**), azul de metileno (**AM**) e azul de toluidina (**AT**) na matriz, resultando nos materiais **SiSb/AMe**, **SiSb/AM** e **SiSb/AT**, respectivamente, e estudar as propriedades eletroquímicas dos corantes adsorvidos na matriz, com o intuito de: i) verificar a influência do pH da solução no processo redox e na lixiviação do material; ii) determinar a estabilidade dos materiais quando submetido a vários ciclos redox; iii) verificar o estado de agregação dos corantes na superfície da matriz e iv) aplicar os materiais como mediadores na transferência eletrônica para eletroxidação de NADH (ß-nicotinamida adenina dinucleotídeo), com o intuito de desenvolver novos eletrodos quimicamente modificados.

Imobilizar a hematoporfirina IX protonada, H2HMP [8,13-bis(1-hidroxietil)-3,7,12,17-tetrametil-21H-23H-porfina-2,18-ácido dipropiônico], a protoporfirina IX protonada, H<sub>2</sub>PP [8,13-divinil-3,7,12,17-tetrametil-21H-23H-porfina-2,18-ácido dipropiônico] e o ligante porfirínico protonado H<sub>2</sub>TmPyP<sup>4+</sup> [5,10,15,20-tetrakis(1metil-4-piridil)-21H,23H-porfina, sal tetra-p-tosilato] (Aldrich) não metalado, sobre a superfície da matriz. Metalar as porfirinas imobilizadas com cobalto (II), resultando espécies SiSb/CoHMP, SiSb/CoPP SiSb/CoTmPyP, nas е respectivamente. Posteriormente, i) estudar a atividade eletrocatalítica dos materiais na redução de oxigênio molecular; ii) verificar a influência do pH da solução no processo redox e na lixiviação do material; iii) determinar a estabilidade dos materiais guando submetido a vários ciclos redox; iv) verificar o estado de agregação das porfirinas na superfície da matriz, v) estudar o mecanismo de redução do oxigênio dissolvido na interface eletrodo-solução e vi) verificar a potencialidade desses materiais no desenvolvimento de novos sensores para oxigênio dissolvido.

Pretende-se fazer um planejamento fatorial com o objetivo de otimizar o sistema através das características de reversibilidade para o azul de toluidina (AT) imobilizado sobre a matriz SiSb. Esses estudos serão realizados através de um planejamento fatorial de dois níveis e quatro variáveis.

### **3. PARTE EXPERIMENTAL**

### 3.1. PREPARAÇÃO DO ÓXIDO MISTO SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

O óxido misto SiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (denominado de SiSb) foi preparado de acordo com o seguinte procedimento: Em 210 mL de uma solução 50% (v/v) de etanol/tetraetil ortosilicato [TEOS – Si(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>], adicionou-se 12 mL de HCI 3,5 mol L<sup>-1</sup>. A mistura foi agitada por 3 h a 60 °C. Após a etapa de pré-hidrólise, 22,0 g de SbCl<sub>3</sub> previamente dissolvido em etanol (50 ml) foi adicionado na mistura reacional e agitou-se por 3 h, à temperatura ambiente. Numa segunda etapa de hidrólise adicionou-se 6,0 mL de HCI 3,5 mol L<sup>-1</sup> e agitou-se a mistura por 2 h, à temperatura ambiente. O solvente (etanol) foi evaporado lentamente a 60 °C até a formação do xerogel. O material obtido foi triturado e peneirado entre 0,075 e 0,25 mm, lavado com etanol em um extrator de Soxhlet por 8 h. Lavou-se o material com 250 mL de HNO<sub>3</sub> 0,1 mol L<sup>-1</sup>, água deionizada e etanol. Finalmente, o sólido resultante foi seco a vácuo (10<sup>-3</sup> torr) por 2 h à temperatura ambiente. O Fluxograma 1 mostra esquematicamente o procedimento adotado para a preparação do óxido misto SiSb.



Fluxograma 1 - Preparação do óxido misto SiSb.

### **3.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)**

O equipamento JEOL JSM-T300 Scanning Microscope, equipado com microssonda de energia dispersiva (EDS) da NORAN Instruments Model Series 2, foi empregado na obtenção de micrografias do material SiSb com uma aceleração de voltagem de 20 kV. Inicialmente a amostra foi dispersa sobre uma fita condutora de dupla face e coberta com uma camada condutora de ouro com o auxílio de um metalizador BALZER MED 020.

### 3.3. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

O equipamento Shimadzu XRD-6000 foi utilizado na obtenção dos difratogramas de raios-X do material SiSb. Utilizou-se a radiação K $\alpha$  do cobre (Cu K $\alpha$ ,  $\lambda$  = 0,154 nm), com uma voltagem de aceleração do tubo de emissão de cobre de 40 kV (corrente de 30 mA) e a faixa de análise em 20 min<sup>-1</sup> utilizada foi de 5-50<sup>0</sup>.

# 3.4. ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA, DIÂMETRO MÉDIO DE PORO E ANÁLISE QUÍMICA DA SISb

A área superficial específica,  $S_{BET}$ , e o tamanho médio de poro foi medido utilizando-se o método Horvath-Kawazoe com um equipamento da MICROMERITICS ASAP 2010. A quantidade de antimônio presente no óxido misto SiSb foi analisada por fluorescência de raios-X em um espectrômetro equipado com uma janela de berílio da TRACOR X-ray 5000.

### 3.5. PROPRIEDADES ÁCIDAS DA SISb

Os ensaios foram realizados utilizando-se piridina como molécula sonda para detectar a presença dos sítios ácidos de Lewis e de Brønsted na amostra SiSb.

Os íons Sb coordenativamente insaturados são os responsáveis pela presença dos sítios ácidos de Lewis e os sítios ácidos de Brønsted devem-se principalmente aos grupos SbOH presentes na superfície da matriz.

Adicionou-se 2 gotas de piridina seca sobre 100 mg da amostra SiSb seco e após 30 min, o excesso de piridina foi eliminado sob vácuo (10<sup>-4</sup> torr) a 100 <sup>0</sup>C, sendo que, a amostra foi submetida imediatamente à análise espectroscópica. Repetiu-se o procedimento para tratamentos térmicos a 170 e 400 <sup>0</sup>C. Os espectros da piridina adsorvida nos sítios ácidos superficiais foram obtidos através da pastilha pura autosuportada (10 mg da amostra). O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro BOMEM Hartmann & Braun MBseries, com uma resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 100 varreduras.

### 3.6. IMOBILIZAÇÃO DOS CORANTES SOBRE A SUPERFÍCIE DA SISb

O corante azul de meldola (AMe), azul de metileno (AM) e azul de toluidina (AT) (Figura 2), foram imobilizados sobre a superfície da SiSb conforme o seguinte procedimento: 0,5 g do material SiSb foi imerso em 50,0 mL de soluções aquosas 1,0 x  $10^{-3}$ , 2,0 x  $10^{-4}$  e 4,0 x  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> dos corantes. As misturas foram agitadas por 30 min, filtradas e lavadas várias vezes com água deionizada e etanol (Fluxograma 2). Os materiais obtidos foram denominados de SiSb/AMe, SiSb/AM e SiSb/AT referente o corante azul de meldola, azul de metileno e azul de toluidina, respectivamente, imobilizados sobre a superfície da SiSb.



Figura 2 – Corantes: (A) azul de meldola, (B) azul de metileno e (C) azul de toluidina.

# 3.7. CONCENTRAÇÕES DOS CORANTES SOBRE A SUPERFÍCIE DA SISb DETERMINADAS POR ISOTERMAS DE ADSORÇÃO

As concentrações dos corantes imobilizados na superfície da matriz foram determinadas através de isotermas de adsorção, onde, as concentrações na fase aquosa, antes e após o equilíbrio, foram medidas por espectroscopia

eletrônica e as quantidades dos corantes imobilizados, Nr, foram determinadas pela equação:

$$N_f = (N_a - N_s)/m$$
 Eq. 2

onde:  $N_a$  é o número de mol inicial do corante,  $N_s$  é o número de mol do corante em equilíbrio com a fase sólida e m é a massa do material, SiSb.



Fluxograma 2 - Imobilização dos corantes sobre a superfície do óxido misto SiSb.

### 3.8. IMOBILIZAÇÃO DAS PORFIRINAS SOBRE A SUPERFÍCIE DA SISb

A hematoporfirina IX (H<sub>2</sub>HMP) e protoporfirina IX (H<sub>2</sub>PP) foram imobilizadas sobre a superfície da SiSb conforme o seguinte procedimento: 1,0 g do material SiSb foi imerso em 50,0 mL de soluções etanólicas 5,0 x  $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> das porfirinas. As misturas foram agitadas por 8 h, filtradas e lavadas com etanol. Os materiais obtidos foram denominados de SiSb/H<sub>2</sub>HMP e SiSb/H<sub>2</sub>PP (Figura 3). Posteriormente, elas foram metaladas segundo o procedimento: 0,5 g dos materiais SiSb/H<sub>2</sub>HMP e SiSb/H<sub>2</sub>PP foram imersos em 25,0 mL de soluções etanólicas 8,0 x  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de CoCl<sub>2</sub>. As misturas foram agitadas por 4 h, filtradas e lavadas com etanol, água e finalmente com etanol (Fluxograma 3). Os materiais obtidos foram denominados de SiSb/CoHMP e SiSb/CoPP referente às porfirinas metaladas com Co (II) imobilizadas sobre a superfície da SiSb, respectivamente (Figura 3).

O ligante porfirínico protonado  $H_2TmPyP^{4+}$  (comumente chamado de tetrakis), foi imobilizado sobre a superfície da SiSb conforme o seguinte procedimento: 3,0 g do material SiSb foi imerso em 25,0 mL de solução 1,0 x  $10^{-3}$  mol l<sup>-1</sup> da porfirina. A mistura foi agitada por 8 h, filtrada e lavada com água deionizada e etanol. O material resultante foi denominado de SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP (Figura 4). Posteriormente, foi metalado da seguinte maneira: 1 g do material SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP foi imerso em 25,0 mL de solução 1,0 x  $10^{-1}$  mol L<sup>-1</sup> de CoCl<sub>2</sub>. A mistura foi agitada por 8 h, filtrada, lavada com água
deionizada e finalmente com etanol (Fluxograma 3). O material obtido foi denominado de SiSb/CoTmPyP referente ao complexo porfirínico metalado com Co (II) imobilizado sobre a superfície da SiSb (Figura 4).







Figura 3 - Representação esquemática da hematoporfirina IX e protoporfirina IX protonadas e metaladas, imobilizadas na superfície do óxido misto SiSb.



Figura 4 – Representação esquemática da porfirina de Co (II) (CoTmPyP) imobilizada nos poros da matriz SiSb.

#### 3.9. ANÁLISE ELEMENTAR DAS PORFIRINAS SOBRE SISD

As quantidades de porfirinas metaladas e não metaladas imobilizadas na superfície da matriz foram determinadas através de análise elementar, utilizando-se um equipamento da PERKIN ELMER, modelo Series II CHS/O Analyser 2400.

# 3.10. ESPECTROS ELETRÔNICOS DAS ESPÉCIES ELETROATIVAS SOBRE SiSb

Os espectros eletrônicos dos materiais SiSb/AMe, SiSb/AM, SiSb/AT, SiSb/CoHMP e SiSb/CoPP foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro UV-Vis BECKMAN DU 640, através da dispersão em óleo mineral (nujol), em uma cela de quartzo com 0,1 mm de caminho ótico. Para o material SiSb/CoTmPyP, os espectros eletrônicos foram obtidos através da técnica de espectrofotometria de reflectância difusa no equipamento CARY 5G Spectrophotometer.

A deconvolução das bandas referente aos espectros eletrônicos dos materiais SiSb/AMe, SiSb/AM e SiSb/AT foi realizada através do programa Peak Fitting Module ORIGIN 3.73.

#### **3.11. ELETRODO DE PASTA DE CARBONO E EQUIPAMENTOS**

Os estudos eletroquímicos dos materiais modificados foram realizados através de um eletrodo de pasta de carbono. A pasta de carbono foi preparada misturando-se 30 mg de grafite, 30 mg do material modificado (SiSb/AMe, SiSb/AM, SiSb/AT, SiSb/CoHMP, SiSb/CoPP ou SiSb/CoTmPyP) e uma gota de óleo de parafina (nujol) para dar consistência de pasta. Esta pasta foi colocada na extremidade de um tubo de vidro de aproximadamente 0,1 cm<sup>2</sup> de área superficial e 0,1 cm de profundidade, e o contato elétrico realizado através de um disco de platina (Figura 5.1).

Um potenciostato/galvanostato AUTOLAB PGSTAT 20, conectado a um microcomputador para a coleta de dados foi utilizado para as medidas eletroquímicas. A cela voltamétrica consistia de três eletrodos: eletrodo de trabalho (eletrodo de pasta de carbono), eletrodo de referência (eletrodo de calomelano saturado-SCE) e um contra eletrodo (eletrodo de platina) (Figura 5.2).

A atividade eletrocatalítica dos materiais SiSb/AMe, SiSb/AM, SiSb/AT na eletroxidação de NADH foram investigada por voltametria cíclica e amperometria, usando adições sucessivas de NADH a cela eletroquímica que continha tampão fosfato 0,06 mol L<sup>-1</sup> e KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>.

O estudo da atividade eletrocatalítica dos materiais SiSb/CoHMP, SiSb/CoPP e SiSb/CoTmPyP na eletrorredução de oxigênio dissolvido foi feito aerando-se uma solução contendo 20 mL do eletrólito suporte com O<sub>2</sub> gasoso. Adicionou-se a cela voltamétrica já citada, um eletrodo de Clark acoplado a um oxímetro Digimed DM-4. Para os estudos de eletrodo de disco rotatório (edr), a pasta de carbono contendo o material SiSb/CoTmPyP foi colocada na extremidade do eletrodo que continha 0,1 cm de profundidade e 0,28 cm<sup>2</sup> de área superficial em contato com a superfície de grafite do eletrodo. Os experimentos de edr foram realizados com o equipamento PARC model 616 (EG&G) conectado ao potenciostato/galvanostato.



Figura 5 – Eletrodo de pasta de carbono (1) e cela eletroquímica (2).

#### 3.12. PLANEJAMENTO FATORIAL DO AT IMOBILIZADO SOBRE SISb

Planejamentos estatísticos de experimentos ou planejamentos fatoriais são ferramentas muito importantes para otimização de processos ou sistemas, pois, fornecem com uma menor quantidade de experimentos, uma maior quantidade de informações e indicações sobre a influência das variáveis estudadas [101]. Diferentemente, a metodologia clássica que é normalmente empregada, se baseia no estudo separado de cada variável experimental, mas, pode ser ineficiente na determinação das condições ótimas de um dado sistema, pois, as interações entre as variáveis são negligenciadas [102,103].

O planejamento estatístico consiste no estudo de um menor número de experimentos, em que, todos os fatores importantes são variados sistematicamente. A análise dos dados experimentais assim obtidos identificará as condições ótimas, os fatores de maior influência nos resultados e as interações entre os mesmos para um dado processo. Com isso, um planejamento estatístico torna-se importante, pois, com um menor número de experimentos pode-se obter informações relevantes do sistema investigado, possibilitando economia de tempo, material e recursos quando comparada com a metodologia clássica (tentativa e erro) [104,105,106].

Neste estudo, um planejamento fatorial completo 2<sup>4</sup> foi usado com o objetivo de determinar a importância de um fator qualitativo (tipo de eletrólito suporte) e três fatores quantitativos (velocidade de varredura, pH da solução de eletrólito suporte e concentração de eletrólito suporte) na otimização do

25

processo eletroquímico de azul de toluidina adsorvido na superfície do óxido misto SiSb. Os fatores escolhidos para o estudo de otimização, são aqueles que podem afetar a reversibilidade de transferência de elétrons quando o mediador é imobilizado na superfície da matriz SiSb. Os fatores, seus níveis e os dezesseis experimentos do planejamento fatorial completo 2<sup>4</sup> são apresentados na Tabela 1.

Os experimentos apresentados na Tabela 1, foram realizados em ordem aleatória com o intuito de evitar um possível erro sistemático que possa ser interpretado com os valores dos efeitos significantes. Os efeitos de resposta foram determinados para a separação do potencial de pico,  $\Delta E$ , [ $\Delta E = E_{pa} - E_{pc}$ , onde  $E_{pa}$  é o potencial de pico anódico e  $E_{pc}$  é potencial de pico catódico] e para a razão da corrente de pico anódica e corrente de pico catódica,  $|i_{pa}/i_{pc}|$ . Os valores dos efeitos foram calculados usando a equação [101]:

$$Ef_i = \overline{R_i}^{(+)} - \overline{R_i}^{(-)}$$
 Eq. 3

onde  $\overline{R_i}^{(+)}$  *e*  $\overline{R_i}^{(-)}$  são as médias dos resultados quando *l*<sup>ésimo</sup> fatores está no seu nível alto (+) ou baixo (-), independente dos sinais dos outros efeitos. Oito valores experimentais estão acima de cada média, porque, cada coluna na Tabela 1 tem oito sinais positivos e oito negativos. Os valores dos efeitos calculados com os dados da Tabela 1 são apresentados na Tabela 2. O significado estatístico de todos estes efeitos foram determinados traçando os valores do efeito em um gráfico da probabilidade cumulativa [101,106]. Os valores dos efeitos são representados graficamente na abscissa, ao passo que os valores da probabilidade cumulativa para uma distribuição normal são representados graficamente na ordenada. Pontos que correspondem a uma distribuição normal se localizem em uma linha centrada sobre a origem. Os efeitos representados por estes pontos não são significativos e somente correspondem à estimativa do erro dos efeitos. Esses valores podem ser usados para calcular uma estimativa deste erro, bem como o erro experimental observado. Os valores dos efeitos foram calculados e os gráficos da probabilidade cumulativa foram traçados usando o programa FACTORIAL [107].

Experimentos	Ordem dos		Fatores				
Experimentos	Experimentos	1	2	3	4		<i>1</i> pa//pc
1	9	-	-	-	-	83	0,969
2	1	+	-	-	-	152	0,889
3	13	-	+	-	-	156	0,773
4	5	+	+	-	-	267	0,650
5	11	-	-	+	-	51	1,004
6	3	+	-	+	-	84	0,954
7	15	-	+	+	-	80	0,997
8	7	+	+	+	-	134	0,883
9	10	-	-	-	+	77	0,975
10	2	+	-	-	+	142	0,903
11	14	-	+	-	+	169	0,797
12	6	+	+	-	+	279	0,684
13	12	-	-	+	+	51	0,994
14	4	+	-	+	+	84	0,940
15	16	-	+	+	+	85	0,989
16	8	+	+	+	+	141	0,921
						(-)	(+)
Fatores:	1 – Velocidade d	e varı	redura	a / mV	<b>s</b> <sup>-1</sup>	20	60
	2 – Tipo de eletrólito				KCI C	CH₃COONa	
3 – [Eletrólito] / mol L <sup>-1</sup>				0,2	1,0		
4 – pH				4,0	7,0		

**Tabela 1** - Fatores, níveis, valores para  $\Delta E \in |i_{pa}/i_{pc}|$  para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup>.

Média	∆ <i>E</i> / mV	<i>i</i> pa/ <i>i</i> pc	
inouru	127,2 ± 1,7	0,950 ± 0,005	
Efeitos principais			
1	$66,40\pm3,3^{a}$	$-0,08 \pm 0,01^{b}$	
2	$73,40\pm3,3$	$-0,12 \pm 0,01$	
3	$-76,90 \pm 3,3$	$0,13 \pm 0,01$	
4	2,60 ± 3,3	0,01 ± 0,01	
Interação de dois fatores			
12	$16,\!40\pm3,\!3$	$-0,020 \pm 0,01$	
13	$-22,40 \pm 3,3$	$0,010 \pm 0,01$	
14	$-0,38 \pm 3,3$	$0,008\pm0,01$	
23	$-30,90 \pm 3,3$	$0,\!090\pm0,\!01$	
24	$6{,}60\pm3{,}3$	$0,010 \pm 0,01$	
34	$0,\!38\pm3,\!3$	$-0,009 \pm 0,01$	
Interação de três fatores			
123	$-5,40 \pm 3,3$	$0,008 \pm 0,01$	
124	$0,63 \pm 3,3$	$0,007 \pm 0,01$	
134	$0,88\pm3,3$	$0,003\pm0,01$	
234	$-3,63 \pm 3,3$	$0,002\pm0,01$	
Interação de quatro fatores			
1234	$-0,13 \pm 3,3$	$0,006 \pm 0,01$	

**Tabela 2** - Principais efeitos e interações para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup>.

 $\mathbf{a}$  – 95% intervalo de confiança de ± 7,5

 $\bm{b}-95\%$  intervalo de confiança de  $\pm\,0,02$ 

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

## 4.1. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A Figura 6.1 exibe a micrografia do óxido misto SiSb obtido através de microscopia eletrônica de varredura, e a respectiva imagem obtida por espectroscopia de raios-X de energia dispersiva (EDS) dos átomos de Sb (Figura 6.2), que aparecem como pontos brancos, referente a energia de Sb L $\alpha$  = 3,6 keV [108,109]. Como pode ser observado pela análise de EDS, considerando a resolução utilizada, o Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> apresenta-se uniformemente distribuído por todo o material, sem separação visível de fase das partículas do óxido. Essa dispersão homogênea do óxido metálico na matriz é uma importante característica para aplicações do material.



Figura 6 – Micrografia eletrônica de varredura do material SiSb (1) e mapeamento de antimônio por EDS (2). (---) 10 μm.

# 4.2. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A Figura 7 exibe os difratogramas de raios-X para amostras de SiSb calcinadas por 3 h, a várias temperaturas. O material é amorfo, não apresentando nenhuma mudança na sua cristalinidade com o aumento da temperatura de calcinação até 1000 <sup>0</sup>C.



Figura 7 – Difratogramas de raios-X da SiSb calcinadas a várias temperaturas (<sup>0</sup>C): (**a**) 500, (**b**) 1000 e (**c**) 1100.

Nenhuma mudança de fase referente ao óxido de antimônio foi observada, provavelmente, devido à concentração do óxido de antimônio não ser muito alta (item 4.3) e ser pouco móvel, mostrando que a matriz é termicamente bastante estável. Acima dessa temperatura, observamos a transformação de fase da sílica amorfa para forma sílica cristobalita (Figura 7.c) [110]. Os picos de difração para a fase cristalina sílica cristobalita são apresentados na Tabela 3. Lembrando que, o Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> quando precipitado de uma solução aquosa de SbCl<sub>3</sub> é cristalino [111].

Tabela 3 – Dados de difração de raios-X da fase cristalina sílica cristobalita com as respectivas distâncias interplanares (d) e atribuições de picos (1/l<sub>0</sub>).

	<b>2</b> θ	d (Å)	l/l <sub>o</sub>	
1	21,9 (22,0)	4,06 (4,04)	100,0	
2	28,4 (28,5)	3,15 (3,13)	10,7	
3	31,3 (31,4)	2,86 (2,85)	13,2	
4	36,1 (36,1)	2,49 (2,49)	19,5	
5	42,5 (42,7)	2,13 (2,12)	3,8	
6	44,6 (44,8)	2,03 (2,02)	3,7	
7	46,7 (47,1)	1,94 (1,93)	5,5	
8	48,3 (48,6)	1,88 (1,87)	6,3	
	1			

**Obs:** Os dados em parênteses correspondem os da literatura [110].

# 4.3. ÁREA ESPECÍFICA SUPERFICIAL, DIÂMETRO MÉDIO DE PORO E ANÁLISE QUÍMICA DA SISb

O óxido misto SiSb preparado pelo método sol-gel resulta num material altamente poroso, com uma área específica superficial,  $S_{BET}$ , de 788 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> e diâmetro médio de poro de 1,9 nm, sendo, essa uma característica muito importante para as aplicações que se pretende dar ao material, já que as espécies eletroativas podem ser imobilizadas nos poros da matriz, como será visto a seguir. A quantidade de Sb incorporado no óxido misto é de 4,7% (m/m), correspondendo a 0,39 mmol g<sup>-1</sup>.

#### 4.4. PROPRIEDADES ÁCIDAS DA SISb

A Figura 8 mostra os espectros de FT-IR do material SiSb contendo piridina adsorvida na superfície da matriz tratada a várias temperaturas. Eles são comparados com o espectro da SiO<sub>2</sub> contendo piridina adsorvida na superfície. Os espectros são limitados numa faixa de número de ondas de 1650 e 1400 cm<sup>-1</sup>, onde, normalmente os modos vibracionais de interesse da piridina são observados.

No material submetido a uma pressão de 10<sup>-3</sup> torr à temperatura de 100 <sup>0</sup>C (Figura 8.a) observam-se as bandas em 1598 e 1446 cm<sup>-1</sup>, as quais, são atribuídas aos modos 8a e 19b, respectivamente, da piridina ligada a grupos

silanóis livres =SiOH da SiO<sub>2</sub> por pontes de hidrogênio [112-114]. Estas bandas também são observadas para a sílica pura tratada à temperatura ambiente. No material aquecido a 170  $^{\circ}$ C elas diminuem de intensidade (Figura 8.b) e desaparecem totalmente quando é aquecido a 400  $^{\circ}$ C (Figura 8.c).



Figura 8 - Espectro infravermelho da piridina adsorvida sobre SiSb e aquecida a várias temperaturas (°C) sob vácuo (10<sup>-3</sup> torr): (a) 100, (b) 170 e (c) 400 e sobre SiO<sub>2</sub> (25 °C).

O ombro, pouco visível em 1579 cm<sup>-1</sup> (Figura 8.a), é devido ao modo vibracional 8a da piridina líquida fisicamente adsorvida por forças de van der

Waals [114-116], e por apresentar pouca interação com a matriz, a mesma desaparece sob tratamento a 170 <sup>0</sup>C. Esta banda também é observada para a sílica pura. A banda em 1491 cm<sup>-1</sup> corresponde ao modo vibracional 19a e sempre está presente para todo tipo de piridina adsorvida.

Uma banda larga em 1547 cm<sup>-1</sup> foi atribuída ao modo vibracional 19b do íon piridínio, referente à molécula de piridina ligada a sítios ácidos de Brønsted [114,117,118]. Esses sítios ácidos são devidos aos grupos OH do SbOH, por isso, essa banda não é observada para a SiO<sub>2</sub> pura. O modo 19b da piridina ligada a sítios ácidos de Lewis, átomos de Sb coordenativamente insaturados, é observado como um pequeno ombro em aproximadamente 1458 cm<sup>-1</sup> e somente é possível observar após o tratamento térmico a 170 <sup>0</sup>C.

A presença dos sítios ácidos de Lewis e de Brønsted na superfície do óxido misto possibilita-nos uma fácil adsorção das espécies eletroativas.

## 4.5. CONCENTRAÇÕES DOS CORANTES SOBRE A SISb

As concentrações dos corantes imobilizados (N<sub>f</sub>) na superfície da matriz, determinadas através de isotermas de adsorção, são apresentadas na Tabela 4. Observa-se que para uma maior concentração dos corantes em soluções, uma maior imobilização na matriz SiSb ocorre.

Corante	[corante] <sub>solução</sub> / mol l <sup>-1</sup>	$N_{f}$ / $\mu$ mol g <sup>-1</sup>
	1,0 x 10 <sup>-3</sup>	33,4
AMe	2,0 x 10 <sup>-4</sup>	12,5
	4,0 x 10 <sup>-5</sup>	3,6
	1,0 x 10 <sup>-3</sup>	35,1
AM	2,0 x 10 <sup>-4</sup>	14,3
	4,0 x 10 <sup>-5</sup>	3,6
	1,0 x 10 <sup>-3</sup>	22,8
AT	2,0 x 10 <sup>-4</sup>	13,7
	4,0 x 10 <sup>-5</sup>	3,5

**Tabela 4** – Concentrações dos corantes imobilizados (N<sub>f</sub>) na superfície da SiSb.

### 4.6. CONCENTRAÇÕES DAS PORFIRINAS SOBRE A SISb

Os resultados obtidos para as quantidades de porfirinas imobilizadas pela análise elementar foram: SiSb/H<sub>2</sub>HMP = 24,0; SiSb/CoHMP = 23,2; SiSb/H2PP = 23,6; SiSb/CoPP = 22,3; SiSb/H2TmPyP = 61,1 e SiSb/CoTmPyP = 59,4  $\mu$ mol g<sup>-1</sup>.

# 4.7. ESPECTROS ELETRÔNICOS E ESTUDO DA ASSOCIAÇÃO MOLECULAR DOS CORANTES SOBRE SISb

Os corantes podem formar moléculas associadas como dímeros ou mais altas ordem de agregados, em solução aquosa [119,120]. Esse comportamento

observado para as interações soluto-soluto que aparecem preferencialmente em solução aquosa, pode persistir quando os corantes são adsorvidos na superfície do óxido misto SiSb. O comportamento de associação molecular foi estudado através de espectrofotometria eletrônica e voltametria cíclica (que será mostrado a seguir), para os corantes adsorvidos sobre o óxido misto SiSb em várias concentrações, na fase sólida. A razão de tal estudo se deve às propriedades eletroquímicas dos corantes sobre SiSb, as quais, podem ser afetadas pela forma de agregação dos corantes.

A Figura 9 exibe os espectros eletrônicos na fase sólida para o material SiSb/AM, com diferentes concentrações do azul de metileno sobre a matriz. Os espectros eletrônicos foram comparados para o corante em solução aquosa. O pico em menor comprimento de onda, ~ 610 nm, é devido às espécies diméricas e em maior comprimento de onda, ~ 660 nm, é devido às espécies monoméricas [119,120].

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos. As estimativas das quantidades relativas de ambas espécies (diméricas e monoméricas), foram determinadas através da área de cada pico após a deconvolução das bandas (Figura 9). Como pode ser observado, há uma menor associação do corante (predominância da espécie monomérica) em soluções ou na fase sólida, para uma menor quantidade do corante. A Tabela 5 também exibe os resultados para os materiais SiSb/AMe e SiSb/AT, obtidos seguindo procedimentos similares. Os espectros eletrônicos destes materiais não são mostrados, já que, apresentam comportamentos similares ao material SiSb/AM.

37



Figura 9 - Espectros eletrônicos para o corante AM em solução aquosa  $(1 = 2.0 \times 10^{-4}; 2 = 5.0 \times 10^{-5} e 3 = 1.25 \times 10^{-5} mol L^{-1}) e$ adsorvido com diferentes concentrações, SiSb/AM (4 = 35,2;  $5 = 14.3 e 6 = 3.6 \mu mol g^{-1}$ ).

SiSb/Corante	$N_{f}$ / $\mu$ mol g <sup>-1</sup>	d/m
	33,4	2,0
SiSb/AMe	12,5	1,3
	3,6	0,9
SiSb/AM	35,1	1,3
	14,3	0,8
	3,6	0,5
	22,8	2,3
SiSb/AT	13,7	1,2
	3,5	0,6

Tabela 5 – Razão dímero/monômero dos corantes na matriz SiSb e N<sub>f</sub>.

**d**/**m** = razão dímero/monômero.

# 4.8. ESPECTROS ELETRÔNICOS E IMOBILIZAÇÃO DAS PORFIRINAS SOBRE SiSb

Uma das técnicas mais utilizadas na caracterização de porfirinas e metaloporfirinas é a espectroscopia eletrônica. Devido ao sistema altamente conjugado das porfirinas e metaloporfirinas, elas exibem espectros eletrônicos característicos com uma banda muito intensa entre  $\lambda = 380$  e 430 nm, denominada de banda Soret ou Banda B. O coeficiente de absortividade molar desta banda, geralmente, é da ordem de  $10^5$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, e por este motivo se utiliza a banda Soret em determinações espectrofotométricas quantitativas de

porfirinas e metaloporfirinas. Acima de  $\lambda = 450$  nm são observadas quatro bandas de absorção para as porfirinas e duas bandas para as metaloporfirinas, denominadas de bandas Q, sendo o coeficiente de absortividade molar da banda menos intensa da ordem de 10<sup>4</sup> L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> [88,89,93,94].



Figura 10 - Espectros eletrônicos dos materiais: (a) SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP e (b) SiSb/CoTmPyP.

A Figura 10 exibe os espectros eletrônicos dos materiais SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP e SiSb/CoTmPyP. Para a porfirina não metalada, quatro bandas são observadas em 522, 561, 585 e 642 nm (Tabela 6), referente às bandas Q devido às transições de  $a_{2u} \rightarrow e_g$ . Após a metalação com Co<sup>2+</sup> no anel porfirínico, um decréscimo no número de bandas é observado apresentando duas bandas em 554 e 594 nm (Figura 10). Este decréscimo no número de bandas é consistente com o efeito da metalação, indicando que a simetria local do sistema porfirínico aumenta de D<sub>2h</sub> para D<sub>4h</sub> [97,121,122]. A Tabela 6 exibe os valores das bandas Q, referentes os materiais estudados. Os espectros eletrônicos dos materiais SiSb/CoHMP e SiSb/CoPP não são mostrados, já que apresentam comportamentos similares ao material SiSb/CoTmPyP.

Tabela 6 - Dados da espectroscopia eletrônica (UV/vis) para as porfirinas sobreSiSb.

Material	Bandas Q ( λ / nm)		
SiSb/H <sub>2</sub> HMP	526 552 572 602		
SiSb/CoHMP	528 560		
SiSb/H <sub>2</sub> PP	535 560 591 644		
SiSb/CoPP	531 565		
SiSb/H <sub>2</sub> TmPyP	522 561 585 642		
SiSb/CoTmPyP	554 594(ombro)		

Lembrando que a imobilização da hematoporfirina IX e protoporfirina IX sobre a matriz (Figura 3, página 21), é devido à interação dos grupos carboxilas com a coordenação insaturada do Sb (III), formando presumivelmente uma ligação química do tipo Sb-OOC- [97]. A imobilização do ligante porfirínico protonado  $H_2$ TmPyP<sup>4+</sup> sobre a matriz (Figura 4, página 21), se deve a propriedade de troca iônica do material pelos sítios ácidos de Brønsted presentes na superfície da SiSb, que pode ser representado por SbOH. Esses sítios ácidos de Brønsted podem reagir com H<sub>2</sub>TmPyP<sup>4+</sup> em solução aquosa:

$$4 \text{ SbOH}_{(s)} + \text{H}_2\text{TmPyP}^{4+}_{(sol)} \rightarrow (\text{SbO})_4\text{H}_2\text{TmPyP}_{(s)} + 4 \text{ H}^+_{(sol)} \qquad \text{Eq. 4}$$

A reação de metalação pode ser representada pela seguinte reação:

$$(SbO)_4H_2TmPyP_{(s)} + Co^{2+}_{(sol)} \rightarrow (SbO)_4CoTmPyP_{(s)} + 2 H^+_{(sol)}$$
 Eq. 5

onde: (s) e (sol) são a fase sólida e fase aquosa, respectivamente.

### 4.9. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DOS CORANTES SOBRE SISb

Como foi discutido anteriormente, os corantes adsorvidos sobre a matriz SiSb exibem uma tendência de associarem-se como dímeros ou agregados maiores, como observado em soluções aquosas. Como conseqüência, o potencial médio  $E_m [E_m = (E_{pa} + E_{pc})/2, \text{ onde } E_{pa} e E_{pc} são os potenciais de pico anódico e$ catódico, respectivamente] também é afetado por esta tendência de associação. $A Tabela 7 mostra claramente que em todos os casos, os valores de <math>E_m$  ficam mais negativos quando as razões dímero/monômero (d/m) aumentam. Este comportamento pode afetar a atividade eletrocatalítica, já que a transferência eletrônica da reação pode ser diminuída quando a concentração do dímero aumenta.

SiSb/Corante	d/m	<i>E</i> <sub>m</sub> / mV <i>vs</i> SCE
	2,0	-80
SiSb/AMe	1,3	-59
	0,9	-53
SiSb/AM	1,3	-185
	0,8	-172
	0,5	-102
SiSb/AT	2,3	-189
	1,2	-184
	0,6	-138
SiSb/AT	2,3 1,2 0,6	-189 -184 -138

**Tabela 7** – Razão d/m dos corantes sobre a matriz SiSb e  $E_m$ .

 $E_{\rm m}$  = potencial médio.

A Figura 11 exibe os voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se eletrodo de pasta de carbono do material SiSb/AM, para várias concentrações do corante imobilizado na matriz, obtidos em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito suporte e uma velocidade de varrredura de 20 mV s<sup>-1</sup>. Varrendo o potencial entre – 400 e 300 mV *vs* SCE, nenhuma corrente de pico para o eletrodo de pasta de carbono do material SiSb é observada (Figura 11.a). Para os eletrodos de pasta de

carbono do corante azul de metileno em várias concentrações sobre a matriz SiSb, picos anódicos e catódicos bem definidos são observados (Figura 11.b-d).



Figura 11 - Voltamogramas cíclicos obtidos para o material SiSb (a) e para o AM em diferentes concentrações sobre a matriz, SiSb/AM: (b) 3,6 ; (c) 35,1 e (d) 14,3 μmol g<sup>-1</sup>. Medidas em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> e v = 20 mV s<sup>-1</sup>.

As intensidades das correntes de pico para os eletrodos usados dependem da quantidade de corantes adsorvidos na matriz. Para o eletrodo SiSb/AM uma maior intensidade de corrente e melhor definição de pico foram obtidos para o corante adsorvido com uma concentração de 14,3 µmol g<sup>-1</sup>

(d/m = 0.8) (Figura 11.d). Para os eletrodos preparados contendo o AM imobilizado com 35,1 µmol g<sup>-1</sup> (d/m = 1,3) e 3,6 µmol g<sup>-1</sup> (d/m 0,5), um decréscimo significativo nas intensidades de corrente de pico é observado (Figura 11.b-c).

Para uma menor quantidade de espécies eletroativas imobilizadas é esperada uma menor intensidade da corrente de pico, como é verificado na Figura 11.b. Contudo, o mesmo comportamento para uma maior concentração de espécies eletroativas, uma maior intensidade da corrente de pico não é observada (Figura 11.c). Este comportamento observado provavelmente é devido a algum bloqueio das espécies eletroativas presentes nos poros da matriz, já que parte dela pode não estar acessível para sofrer o processo redox, diminuindo o sinal. Por esta razão, o eletrodo com uma concentração de azul de metileno de 14,3 µmol g<sup>-1</sup> (d/m = 0,8) na superfície do óxido misto SiSb foi usado nos estudos eletroquímicos. Similarmente, para os eletrodos SiSb/AMe e SiSb/AT contendo 12,5 µmol g<sup>-1</sup> (d/m = 1,3) e 22,8 µmol g<sup>-1</sup> (d/m = 2,3), foram também usados.

Os potenciais médios dos corantes imobilizados na superfície de eletrodos de grafite em pH 7 são: i) AMe, -170 [123], ii) AM, -270 [41], e AT, -300 mV *vs* SCE [23]. Esses potenciais são influenciados pela mudança do pH da solução e normalmente deslocam para valores mais positivos quando o pH do meio é diminuído, como pode ser visto para o azul de metileno em solução ou adsorvido na superfície de eletrodo de grafite, Figura 12. Para os corantes imobilizados sobre SiSb tal comportamento não foi observado e os potenciais médios dos

corantes imobilizados foram deslocados para valores mais positivos, e permanecem praticamente constantes entre pH 3 e 7, *i.e.* -59, -170 e -180 mV *vs* SCE para o AMe, AM e AT, respectivamente (Figura 13).



Figura 12 – Dependência do potencial médio, E<sub>m</sub>, versus pH da solução para o corante azul de metileno em solução (●) e adsorvido na superfície de eletrodo de grafite (■). Figura baseada na referência [41].

Os valores obtidos de  $E_m$  para os corantes imobilizados sobre SiSb estão muito próximos para o azul de metileno imobilizado na superfície do material SiO<sub>2</sub>/ZrO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>,  $E_m = -100 \text{ mV } vs$  SCE [7]. O pequeno deslocamento do  $E_m$ para potencial mais negativo do material SiSb/AM em relação ao material SiO<sub>2</sub>/ZrO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/AM se deve provavelmente a diferença entre eles; como exemplo, o material SiO<sub>2</sub>/ZrO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/AM apresenta uma área superficial específica de 590 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>, podendo dessa forma se apresentar com poros maiores, o que facilitaria a difusão dos íons do eletrólito suporte, diminuindo a resistência interna, conseqüentemente, facilitando o processo redox do corante imobilizado.



Figura 13 – Dependência do potencial médio, E<sub>m</sub>, versus pH da solução: SiSb/AMe (■),SiSb/AM (●) e SiSb/AT (▲). SiSb/corante: 12,5; 14,3 e 22,8 µmol g<sup>-1</sup>, respectivamente). Medidas em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> e v = 20 mV s<sup>-1</sup>.

Presumivelmente a forma reduzida dos corantes imobilizados é mais estabilizada dentro dos poros da matriz [124]. Desde que estes corantes estão fortemente imobilizados dentro dos poros da matriz (pois não são lixiviados da superfície da matriz pelo menos em pH 3 em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito suporte), eles não são afetados pela mudança externa de pH do meio, provavelmente devido o efeito de proteção da matriz, minimizando o efeito do próton sobre os corantes imobilizados.

Considerando o equilíbrio na interface eletrodo-solução:

 $SiSb^{-}H^{+} + AM^{+}CI^{-} \Rightarrow SiSbAM + HCI Eq. 6$ 

A afinidade do corante pela matriz pode ser definida pelo coeficiente:

 $D = [SiSb^{-}AM^{+}]_{solido} / [AM^{+}]_{solução}$ 

Quanto maior o valor de D (coeficiente de distribuição), maior vai ser a partição do corante na fase sólida, ou seja, maior será a afinidade do mesmo pela matriz. Para um elevado valor de D, dois comportamentos do material podem ocorrer: (a) o potencial médio deverá ser deslocado para região mais positiva do que para os corantes em solução e o pH da solução externa não teria nenhum efeito significativo e (b) no processo redox, para manter a eletroneutralidade, os íons do eletrólito suporte deveriam se difundir na interface sólido-solução. Entretanto, como o material é microporoso, o processo de difusão não é facilitado.

Um experimento que exibe claramente que os corantes são fortemente imobilizados dentro dos poros da matriz é o experimento onde as intensidades de corrente de pico anódica (*i*<sub>pa</sub>) foram avaliadas após vários ciclos de oxidaçãoredução. A Tabela 8 mostra que mesmo após 300 ciclos, as intensidades de corrente de pico permaneceram praticamente constante para os eletrodos, indicando que os corantes não são lixiviados da superfície da matriz, durante vários ciclos de oxidação-redução. Este é um aspecto importante, já que é uma condição desejável para usar os materiais SiSb/AMe, SiSb/AM e SiSb/AT como sensores eletroquímicos.

Tabela 8 - Dependência da corrente de pico anódica versus o número de ciclosredox.

Material	Número de ciclos	<i>i</i> <sub>pa</sub> / μΑ
SiSh/AMe	20	37,9
0100/Ame	300	37,0
SiSb/AM	20	23,5
	300	23,3
Sich/AT	20	78,7
0100/A1	300	80,1

Medidas em KCl 0,2 mol  $L^{-1}$ , pH 6 e v = 20 mV s<sup>-1</sup>.

O gráfico  $i_{pa}$  contra a raiz quadrada das velocidades de varredura (Figura 14), uma correlação linear foi obtida em todos os casos (r = 0,999), resultados que são muito similares para aqueles observados para processos controlados

por difusão [125]. Mas o material SiSb tem uma resistência interna consideravelmente alta, devido ao caráter isolante da sílica e também, como a matriz apresenta uma área específica superficial, S<sub>BET</sub>, de 788 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> e diâmetro médio de poro de 1,9 nm, os íons do eletrólito suporte não podem difundir facilmente para manter a eletroneutralidade da superfície do eletrodo. Uma alternativa para o processo de transferência de elétrons pode ser explicada pelo mecanismo *electron hopping*, isto é, a eletroxidação do corante nos poros da matriz deve ocorrer pelo processo de uma molécula de corante eletroxidada oxidando uma molécula adjacente ou vizinha.



Figura 14 - Dependência da corrente de pico anódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura, obtida para SiSb/AMe (■), SiSb/AM (●) e SiSb/AT (▲). Medidas em KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 6.

## 4.9.1. ELETROXIDAÇÃO DE NADH PELOS CORANTES SOBRE SISb

A habilidade dos eletrodos SiSb/AMe, SiSb/AM e SiSb/AT na eletroxidação de NADH foi testada. Experimentos preliminares foram realizados com experimentos de voltametria cíclica. A Figura 15 exibe o comportamento eletroquímico do eletrodo de pasta de carbono do material SiSb/AM na presença de NADH em pH 7 da solução. A curva obtida na presença de NADH (Figura 15.B) mostrou que onda anódica do mediador aumenta enquanto que a onda catódica diminui, em comparação com a observada sem a coenzima (Figura 15.A), exibindo mesmo comportamento de acordo com dados da literatura para a oxidação eletrocatalítica de NADH para esse tipo de mediador [126]. O efeito catalítico tem sido explicado assumindo que o NADH se difunde na superfície do eletrodo onde o mediador oxidado se reduz para formar NAD<sup>+</sup>, e a forma reduzida do mediador na volta é eletroquimicamente reoxidado [127,128]. Resultados similares foram obtidos para os eletrodos modificados com AMe e AT e, assim, esses voltamogramas cíclicos não são apresentados.

A Figura 16 mostra a resposta dos eletrodos de pasta de carbono modificados (SiSb/corante) em função da concentração de NADH. Os dados foram obtidos de experimentos de cronoamperometria (Figuras não exibidas), onde o potencial foi fixado em 0 mV *vs* SCE, para eletrocatalisar todo NADH presente na interface eletrodo-solução.

51



Figura 15 – Voltamogramas cíclicos para SiSb/AM: (A) na ausência de NADH e (B) na presença de 10 mmol L<sup>-1</sup> de NADH. Medidas em solução tampão fosfato 0,06 mol L<sup>-1</sup> em KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7, v = 20 mV s<sup>-1</sup>.

Dentre os mediadores estudados, o AMe, que apresenta o valor de  $E_m$ menos negativo, exibiu uma melhor atividade eletrocatalítica em termos de corrente para a oxidação de NADH. Para os mediadores anteriormente estudados [76], a reação mais rápida também se procedeu com azul de meldola adsorvido. A região de resposta linear foi à mesma para SiSb/AMe e SiSb/AM, mas, o eletrodo SiSb/AMe apresentou uma maior sensibilidade e menor limite de detecção. O limite de detecção foi determinado considerando a razão sinal/ruído igual a três. Os parâmetros para cada corante imobilizado na superfície da SiSb para a eletroxidação de NADH são apresentados na Tabela 9.



Figura 16 – Dependência da i<sub>a</sub> e [NADH] para os eletrodos: SiSb/AMe (■), SiSb/AM (●) e SiSb/AT (▲). Medidas em solução tampão fosfato 0,06 mol L<sup>-1</sup> em KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7 e potencial aplicado de 0 mV vs SCE.

Comparando-se os resultados obtidos na eletroxidação de NADH pelo material **SiSb/AMe**, com os materiais SiSb/AM, SiSb/AT, SiO<sub>2</sub>/ZrO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/AM ( $E_m = -100 \text{ mV } vs \text{ SCE}, \text{ L.D.} = 36 \mu \text{mol } \Gamma^1$ ) [7] e riboflavina (espécie eletroativa que apresenta estrutura similar aos corantes estudados) imobilizada na superfície de  $SNP_{sol-gel}$  (material sol-gel modificado com óxido de nióbio e enxertado com fosfato) ( $E_m = -165 \text{ mV } vs \text{ SCE}$ , L.D. = autor não comenta) [129]; os resultados demonstram que o eletrodo SiSb/AMe é um material interessante para o desenvolvimento de biossensor para enzimas dehidrogenase.

Tabela 9 – Parâmetros dos corantes imobilizados sobre SiSb obtidos por experimentos de cronoamperometria, para eletroxidação de NADH. Medidas em solução tampão fosfato 0,06 mol L<sup>-1</sup> em KCI 0,2 mol L<sup>-1</sup>, pH 7.

SiSb/Corante	<i>E</i> <sub>m</sub> / mV	F.L./ mmol L <sup>-1</sup>	S/ mA L mol <sup>-1</sup>	L.D./ $\mu$ mol L <sup>-1</sup>
SiSb/AMe	-76	0,1-0,6	4,6	7
SiSb/AM	-124	0,1-0,6	1,8	25
SiSb/AT	-141	0,4-1,0	0,5	42

F.L. = faixa linear, S = sensibilidade e L.D. = limite de detecção.

## 4.10. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DAS PORFIRINAS SOBRE SISb

A Figura 17 exibe os voltamogramas lineares obtidos na presença de oxigênio dissolvido, utilizando-se eletrodo de pasta de carbono preparado com vários materiais: [1] (a) SiSb, (b) grafite, (c) SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP, (d) SiSb/CoTmPyP e [2] (a) SiSb/CoHMP, (b) SiSb/CoPP.



Figura 17 – Voltamogramas lineares para: [1] (a) SiSb, (b) grafite,
(c) SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP, (d) SiSb/CoTmPyP, medidas em: KCI
1,0 mol L<sup>-1</sup>, pH 7, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C, [O<sub>2</sub>] = 10,0 mg L<sup>-1</sup>. [2] (a) SiSb/CoHMP, (b) SiSb/CoPP, medidas em: KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup>, pH 7, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, T = 25 <sup>0</sup>C, [O<sub>2</sub>] = 10,0 mg L<sup>-1</sup>.

Normalmente o oxigênio dissolvido é eletrorreduzido na superfície do grafite por volta de - 500 mV *vs* SCE em KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> e pH 5 [39]. Como pode
ser observado na Figura 17.1b, o oxigênio dissolvido é eletrorreduzido na superfície do grafite por volta de - 475 mV *vs* SCE em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Para os eletrodos SiSb e SiSb/H<sub>2</sub>TmPyP (Figura 17.1a e Figura 17.1c), a eletrorredução de oxigênio dissolvido ocorre por volta de - 468 e - 449 mV *vs* SCE em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. Esses valores encontrados deve-se provavelmente a eletrorredução do oxigênio dissolvido na superfície do grafite [39].

Diferentemente, o oxigênio dissolvido foi eletrorreduzido na superfície dos eletrodos SiSb/CoHMP, SiSb/CoPP em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> (Figura 17.2a e Figura 17.2b) e SiSb/CoTmPyP em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup> (Figura 17.1d) na região de potencial menos negativo, por volta de - 417, - 424 e - 249 mV *vs* SCE, respectivamente, indicando que os eletrodos eletrocatalisam a redução de oxigênio dissolvido. No entanto, o eletrodo SiSb/CoTmPyP mostrou ser muito mais eficiente na eletrorredução do oxigênio dissolvido do que os eletrodos SiSb/CoHMP e SiSb/CoPP, talvez por apresentar uma maior concentração do complexo porfirínico de Co (II) imobilizado sobre SiSb. Por tal razão, o eletrodo SiSb/CoTmPyP foi utilizado nos estudos a seguir, para avaliar o seu potencial como sensor para oxigênio dissolvido.

A eletrorredução de oxigênio dissolvido pode ser afetada pela mudança do pH da solução de eletrólito suporte. A Figura 18 exibe a dependência do potencial de pico catódico ( $E_{pc}$ ) contra o pH da solução para SiSb/CoTmPyP entre pH 2 e 7, para uma concentração de oxigênio dissolvido fixado em  $[O_2] = 10 \text{ mg L}^{-1}$ . O pH da solução de eletrólito suporte foi corrigido utilizando-se soluções de KOH e HCI. Como é mostrada, nenhuma mudança foi observada nos potenciais de pico catódicos entre pH 3 e 7. Este comportamento é muito

diferente do observado para a eletrorredução de oxigênio dissolvido por metaloporfirinas imobilizadas na superfície de carbono vítreo, os quais são fortemente afetadas pela mudança de pH do meio [130,131]. Este comportamento pode ser explicado pelo efeito de proteção da matriz minimizando o efeito do próton do meio, como foi comentado anteriormente.

Abaixo de pH 3, é observada uma leve mudança para valor de potencial de pico catódico menos negativo e pequeno decréscimo da intensidade da corrente de pico (Figura não exibida). Esse fenômeno observado, provavelmente, se deve a protonação dos grupos silanóis da matriz, gerando as espécies =SiOH<sub>2</sub><sup>+</sup>, já que, o ponto isoelétrico da sílica está entre pH 2 e 3 [132], seguido de uma pequena fração da porfirina que pode ser lixiviada da superfície da matriz para a solução.



Figura 18 - Dependência do potencial de pico catódico contra o pH da solução. Medidas em: KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, [O<sub>2</sub>] = 10,0 mg L<sup>-1</sup> e T = 20 <sup>0</sup>C.

A estabilidade do eletrodo na eletrorredução de oxigênio dissolvido foi verificada através de vários ciclos redox. Como comentado anteriormente, a espécie eletroativa pode ser lixiviada da superfície do eletrodo durante vários ciclos de oxidação e redução. As medidas foram realizadas em pH 5,5, com uma temperatura constante de 20  $^{0}$ C para uma concentração fixada de  $[O_{2}] = 15,0$  mg L<sup>-1</sup> em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Acima de pH = 3, o eletrodo é quimicamente muito estável, como pode ser visto na Tabela 10, mostrando, que mesmo após 70 ciclos de oxidação-redução, as intensidades de corrente de pico catódico permaneceram praticamente constantes. Este resultado, mais o observado na Figura 18 demonstram claramente que a porfirina de Co (II) esta fortemente imobilizada dentro dos poros da matriz (Figura 4 ,página 21) e exibe também que a espécie eletroativa não é facilmente lixiviada da superfície da matriz. Sobre tais condições isto explica porque o pH da solução externa, entre 3 e 7, não afeta o  $E_{pc}$ .

Número de ciclos	- <i>i</i> pc / μ <b>A</b>
10	43,3
30	44,3
50	43,1
70	43,8

Tabela 10 - Dependência da intensidade da corrente catódica versus número deciclos.

Condições: KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, T = 20  $^{0}$ C, [O<sub>2</sub>] = 15,0 mg L<sup>-1</sup> e pH 5,5.

#### 4.10.1. Experimentos de eletrodo de disco rotatório

A técnica de eletrodo de disco rotatório (edr) é muito usada para estudos de mecanismo de reação. Experimentos de voltametria linear utilizando eletrodo de disco rotatório do material SiSb/CoTmPyP para várias velocidades de rotação entre 16 e 3600 rpm, mostraram que ocorre um aumento da intensidade da corrente de pico catódico com o aumento da velocidade de rotação do eletrodo. A Figura 19 exibe o gráfico de Levich,  $i_L vs \omega^{1/2}$  ( $\omega = é$  a velocidade de rotação do eletrodo). Uma boa resposta linear é observada entre 16 e 121 rpm, enquanto, que para valores maiores de rotação do eletrodo, um desvio da linearidade é verificado, sugerindo que uma etapa cinética é envolvida na reação de transferência de elétrons [125]. Tal comportamento é indicativo de um processo químico limitante antes da transferência de elétrons, que pode ocorrer pela formação de um aduto entre O<sub>2</sub> e o centro metálico da porfirina e subsegüente redução.

Tal redução pode ocorrer através de dois possíveis mecanismos: um envolvendo dois elétrons, levando a formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como um intermediário; e outro envolvendo quatro elétrons, levando a formação de moléculas de H<sub>2</sub>O [133,134]. Com o intuito de se determinar o número de elétrons envolvidos, e para se obter um melhor entendimento do mecanismo de redução de oxigênio dissolvido nos poros do eletrodo SiSb/CoTmPyP na interface eletrodo-solução, experimentos de voltametria linear foram realizados.



Figura 19 – Gráfico de Levich,  $i_{L} vs \omega^{1/2}$ . Medidas em: KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C e pH 5,5.

#### 4.10.2. Estudos do mecanismo de reação por voltametria linear

Para sistemas irreversíveis, a relação entre a corrente de pico (p) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ( $v^{1/2}$ ) é descrita pela seguinte equação [125]

$$i_p = (2.99 \times 10^5) n(an_a)^{1/2} A C_o^* D_o^{1/2} v^{1/2}$$
 Eq. 7

onde:  $i_p$  = corrente de pico em ampere, n = número de elétrons transferidos,  $\alpha$  = coeficiente de transferência,  $n_a$  = número de elétrons aparente envolvidos na etapa determinante, A = área superficial do eletrodo em cm<sup>2</sup>,  $C_o^*$  = concentração do oxigênio dissolvido inicial presente na solução em mol cm<sup>-3</sup>,  $D_o$  = coeficiente de difusão do oxigênio dissolvido na solução em cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> e v = velocidade de varredura em V s<sup>-1</sup>.

A relação entre o potencial de redução ( $E_p$ ) e a corrente de pico é descrito pela seguinte equação [125]

$$i_p = 0.227 n FAC_o^* k^0 exp[-(an_a F/RT)(E_p - E^{0'})]$$
 Eq. 8

onde: F = constante de Faraday,  $k^0$  = constante de velocidade de troca em cm s<sup>-1</sup>, T = temperatura em K e  $E^{0'}$  = potencial formal em V.

A Figura 20 exibe o gráfico de ln  $i_{pc}$  versus  $E_{pc}$ . As medidas foram realizadas em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C, pH 5,5 e v = 2 mV s<sup>-1</sup> para uma concentração de oxigênio dissolvido de 12,6 mg L<sup>-1</sup> e A = 0,10 cm<sup>2</sup>. O valor de  $an_a$  é calculado através da inclinação na Figura 20, e  $k^0$  é obtido do intercepto. Recolocando o valor obtido para  $an_a$  (1,74) na Equação 7, o número de elétrons envolvidos no processo de eletrorredução, para um coeficiente de difusão do  $O_2$  dissolvido em solução de 1,8 x 10<sup>-5</sup> cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>, pode ser calculado. O valor calculado de *n* foi 3,99, indicando que o oxigênio é eletrorreduzido a H<sub>2</sub>O na superfície do eletrodo, num processo que envolve quatro elétrons.

O processo de redução de  $O_2$  a  $H_2O$  ocorre entre duas porfirinas suficientemente próximas, onde a molécula de oxigênio forma uma ponte entre os dois anéis através da ligação com os centros metálicos [135,136], como pode ser descrito pelas equações a seguir:

$$2 [Co(II)] + O_2 \leftrightarrows [Co(II)] - O - O - [Co(II)] \qquad \text{Eq. 9}$$
$$[Co(II)] - O - O - [Co(II)] + 2 e^{-} \leftrightarrows [Co(I)]^{-} - O - O - [Co(I)]^{-} \qquad \text{Eq. 10}$$
$$[Co(I)]^{-} - O - O - [Co(I)]^{-} + 4 H^{+} \leftrightarrows 2 [Co(III)]^{+} + 2 H_2O \qquad \text{Eq. 11}$$

Primeiramente, ocorre a formação de um aduto entre Q<sub>2</sub> e dois centros metálicos (Equação 9), onde, [Co(II)] representa o centro metálico ligado ao anel imínico da porfirina, conforme os estudos de eletrodo de disco rotatório descritos anteriormente (Figura 19). Posteriormente, a redução dos dois centros metálicos ocorre, formando complexos oxigenados de Co(I), que se decompõem via 4 elétrons. Por último, o Co(III) é reduzido a Co(II), reiniciando o ciclo catalítico (Equação 11).



Figura 20 - In  $i_{pc}$  versus  $E_{pc}$ . Medidas em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 2 mV s<sup>-1</sup>, [O<sub>2</sub>] = 12,6 mg L<sup>-1</sup>, pH 5,5 e T = 20 <sup>0</sup>C.

A reação global pode ser representada pela seguinte equação:

$$O_2 \xrightarrow{\text{Dímero de CoTmPyP}} 2 \text{ H}_2\text{O}$$

$$4 \text{ H}^+, 4 \text{ e}^- \text{Eq. 12}$$

O material SiSb, como descrito anteriormente, apresenta uma área superficial específica de 788 m<sup>2</sup> g<sup>-</sup>1 e diâmetro médio de poro de 1,9 nm, apresentando-se como um material microporoso ( $\emptyset < 2$  nm) [137]. A distância média entre duas porfirinas é de 4,7 nm, que pode facilitar o processo de redução de O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O via quatro elétrons.

# 4.10.3. Aplicação do material SiSb/CoTmPyP como sensor para oxigênio dissolvido

Com o intuito de verificar a potencialidade do eletrodo SiSb/CoTmPyP como sensor para O<sub>2</sub> dissolvido, experimentos de voltametria linear e cronoamperometria foram realizados. Inicialmente, a solução de eletrólito suporte foi desaerada com argônio puro para total remoção de oxigênio dissolvido presente na solução e posteriormente, a solução foi aerada com borbulhamento controlado de oxigênio, e as medidas eram realizadas. A Figura 21 exibe os voltamogramas lineares para o eletrodo SiSb/CoTmPyP na presença de várias concentrações de oxigênio dissolvido (entre 0 a 14,4 mg L<sup>-1</sup>). As áreas dos voltamogramas cíclicos aumentam mostrando uma dependência da  $i_{pc}$  em relação à variação da concentração de oxigênio dissolvido (figura inserida na Figura 21), e uma boa correlação linear é verificada pela equação:

 $i_{pc}/\mu A = 0.49 \ (\pm 0.34) + 2.62 \ (\pm 0.04) \ [O_2]/mg \ l^{-1} \ (R = 0.999, n = 7)$  Eq. 13



Figura 21 – Voltamogramas cíclicos para SiSb/CoTmPyP em várias concentrações de oxigênio dissolvido. Figura inserida: Dependência da i<sub>pc</sub> em relação à variação da concentração de oxigênio dissolvido. Medidas em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, v = 20 mV s<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C e pH 5,5.

Também é verificado um deslocamento do potencial de pico catódico,  $E_{pc}$ , de - 217 para -254 mV, quando a concentração de oxigênio dissolvido na solução é aumentada de 2,05 para 14,4 mg L<sup>-1</sup>. Este deslocamento sugere uma interação entre o centro metálico da porfirina com O<sub>2</sub>, estando de acordo com os estudos de eletrodo de disco rotatório, discutido anteriormente. Outro fato a ser considerado, devido às características da matriz, como já discutido anteriormente para os corantes imobilizados, os íons do eletrólito suporte não se difundem facilmente dentro dos poros da matriz, o que dificultaria a transferência de elétrons, dessa forma, uma contribuição no deslocamento do  $E_{pc}$  também deve ocorrer.

Para os experimentos envolvendo cronoamperometria, inicialmente estudou-se a dependência da  $i_c$  em relação ao potencial aplicado ( $E_{apl}$ ) (Figura 22). O  $E_{apl}$  foi escolhido pelas medidas de intensidade da  $i_c$  para  $[O_2] = 10,0 \text{ mg L}^{-1}$  a 20  $^{0}$ C, em KCl 1,0 mol L  $^{-1}$  e pH 5,5. A Figura 22 exibe que a maior intensidade de  $i_c$  foi obtida em - 260 mV *vs* SCE e, para potenciais mais negativos, uma diminuição da intensidade da  $i_c$  é observado. Em potencial mais negativo a reoxidação do Co do complexo pelo oxigênio é mais dificultado, minimizando o efeito catalítico. Então para a realização das medidas de cronoamperometria, o potencial foi fixado em - 260 mV vs SCE, já que nesta condição de potencial todo oxigênio presente na interface eletrodo-solução é completamente eletrorreduzido, aumentando desta forma, a sensibilidade do sensor.



Figura 22 - Dependência da  $i_c$  em relação ao  $E_{apl}$ . Medidas em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, T = 20 <sup>0</sup>C, [O<sub>2</sub>] = 10,0 mg L<sup>-1</sup> e pH 5,5.

A Figura 23 exibe a correlação da corrente de pico catódico com a variação da concentração de oxigênio dissolvido (entre 1,0 a 12,8 mg L<sup>-1</sup>), obtida para o sensor SiSb/CoTmPyP por cronoamperometria. Uma boa correlação linear é obtida, como mostra a seguinte equação:

$$i_{pc}/\mu A = -0.07 (\pm 0.19) + 1.03 (\pm 0.03) [O_2]/mg L^{-1} (r = 0.998, n = 8)$$
 Eq. 14

O tempo de resposta para o eletrodo foi muito rápido, por volta de 1 s, e o sinal é muito estável (figura inserida na Figura 23).



Figura 23 – Correlação da corrente catódica com a variação da concentração de oxigênio dissolvido. Medidas: KCl 1 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,5 e T = 20 <sup>0</sup>C.

Com o intuito de verificar a potencialidade do eletrodo SiSb/CoTmPyP como sensor para oxigênio dissolvido em amostras reais, foi realizado um experimento utilizando amostra de água de mar. A concentração de sais na água de mar é de aproximadamente 0,5 mol L<sup>-1</sup> [138], sendo que, a maior concentração de íons presentes corresponde a Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>, e alguns outros íons exibem as seguintes concentrações:  $Mg^{2+} \sim 0.05$  mol L<sup>-1</sup>,  $Ca^{2+} \sim 0.01$  mol L<sup>-1</sup> e S<sup>2-</sup> ~0.03 mol L<sup>-1</sup>.

Amostras de água de mar foram coletadas na praia Ponta do Lessa (Florianópolis, SC), e foram usadas sem nenhum tratamento prévio antes das medidas. Uma curva analítica usando o eletrodo SiSb/CoTmPyP em NaCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> foi usada. O eletrodo então foi usado para medir a concentração de oxigênio dissolvido nas amostras de água de mar. O valor encontrado pelo

eletrodo SiSb/CoTmPyP para medidas em triplicata foi de 4,37  $\pm$  0,2 mg L<sup>-1</sup>, mostrando ser concordante com o encontrado pelo eletrodo de Clark, 4,2  $\pm$ 0,2 mg L<sup>-1</sup>. A presença do outros íons citados acima e outras espécies que podem estar presentes na água de mar, não afetam os resultados, mostrando que o sensor SiSb/CoTmPyP é seletivo para O<sub>2</sub> dissolvido.

### 4.11. PLANEJAMENTO FATORIAL DO AT IMOBILIZADO SOBRE SISb

A Figura 24 exibe os voltamogramas cíclicos para os eletrodos de pasta de carbono para os materiais SiSb e SiSb/AT com uma concentração de corante imobilizado de 13,7 μmol g<sup>-1</sup>, respectivamente. Para o material SiSb, nenhuma corrente de pico é observado na região de - 400 e 100 mV *vs* SCE. Diferentemente, para o eletrodo de pasta de carbono feito com o material SiSb/AT, densidade de corrente de pico anódico e catódico bem definidos são observados.

Como um dos fatores escolhidos para o planejamento factorial era a concentração de eletrólito suporte, em dois diferentes níveis (KCI 0,2 e 1,0 mol L<sup>-1</sup>), estudou-se a estabilidade do eletrodo através de vários ciclos redox, em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup> como eletrólito suporte, com o intuito de verificar a estabilidade do material em concentração mais alta do eletrólito suporte. Como pode ser visto na Figura 25, mesmo após 80 ciclos para o eletrodo SiSb/AT, a intensidade de corrente de pico anódica permanece praticamente constante em alta concentração de eletrólito suporte (KCI 1

mol L<sup>-1</sup>), exibindo que o corante não é lixiviado da superfície da matriz. O mesmo comportamento foi verificado para a intensidade de corrente de pico catódico.



Figura 24 - Voltamogramas cíclicos obtidos para eletrodos de pasta de carbono modificado com SiSb (a) e SiSb/AT (b). Medidas em KCI 1,0 mol L<sup>-1</sup>, pH 7.0 e V = 20 mV s<sup>-1</sup>.

A Tabela 1 (página 28) exibe os resultados para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup> para este sistema. Os fatores escolhidos para o procedimento de otimização são aqueles que podem afetar a reversibilidade na transferência de elétrons: velocidade de varredura, tipo de eletrólito suporte, concentração de eletrólito suporte e pH da solução aquosa. Os efeitos desses fatores são apresentados na Tabela 2 (página 29).



Figura 25 - Dependência de corrente de pico anódico em relação ao número de ciclos redox para o eletrodo SiSb/AT. Medidas em KCl 1.0 mol L<sup>-1</sup>, pH 7.0, V = 20mV s<sup>-1</sup>.

Para a resposta da separação de pico,  $\Delta E$ , os efeitos principais são velocidade de varredura (1), tipo de eletrólito (2) e concentração de eletrólito (3), bem como as interações binárias, velocidade de varredura-tipo de eletrólito (12), velocidade de varredura-concentração de eletrólito (13) e tipo de eletrólito-concentração de eletrólito (23) tendo apresentado os maiores valores absolutos. Para a resposta da separação de pico,  $\Delta E$ , o pH não apresenta um valor de efeito importante. A significância estatística desses três efeitos pode ser determinada traçando os valores dos efeitos em um gráfico da probabilidade cumulativa [101,106] (Figura 26). O gráfico mostra que todos os valores de efeitos envolvendo o fator pH não são estatisticamente importantes.

Desde que o pH é uma variável inerte no planejamento fatorial  $2^4$  para a resposta da separação de pico,  $\Delta E$ , o planejamento pode ser tratado como um planejamento fatorial  $2^3$  em duplicata para a velocidade de varredura, tipo de eletrólito e concentração de eletrólito.

Uma estimativa do erro padrão nos valores dos efeitos pode ser obtido, pelo agrupamento dos valores dos efeitos correspondentes aos pontos linearmente distribuídos sobre a origem do gráfico da probabilidade cumulativa (Figura 26). Resultando em um erro padrão dos efeitos de ± 3,3 mV estimado com nove graus de liberdade.

Desde que o pH não afeta  $\Delta E$ , os experimentos 1 e 9, 2 e 10...8 e 16 na Tabela 1 podem ser tratados como experimentos em duplicata. Cada par de resultados, como exemplo 83 e 77 mV para  $\Delta E$  nos experimentos 1 e 9, podem ser usados como uma estimativa do erro experimental para essas duas respostas, já que, esses dois experimentos tem condições idênticas de velocidade de varredura, tipo de eletrólito e concentração de eletrólito. A inspeção dos valores na Tabela 1 confirma esta observação.

A comparação dos valores dos efeitos com seus erros e o intervalo de confiança, confirmam que para a separação de pico,  $\Delta E$ , os efeitos principais velocidade de varredura, tipo de eletrólito e concentração de eletrólito, bem como os efeitos das interações binárias (12), (13) e (23) são muito maiores e significativos.

Para a resposta da razão da corrente,  $|i_{pa}/i_{pc}|$ , os efeitos principais envolvidos são: velocidade de varredura (**1**), tipo de eletrólito (**2**) e concentração de eletrólito (**3**), bem como a interação binária tipo de eletrólito-concentração de eletrólito (**23**) e seus valores absolutos são aproximadamente quatro a seis vezes maiores que os valores para todos os outros efeitos. Um erro experimental estimado de  $\pm$  0,01 foi obtido para a resposta da razão de corrente,  $|i_{pa}/i_{pc}|$ , como mostrado anteriormente para  $\Delta E$ .

Os erros do efeito padrão e as incertezas do intervalo de confiança com 95% nos valores dos efeitos propagados a partir dos erros experimentais estão incluídos na Tabela 2. A comparação dos valores dos efeitos com seus erros e as incertezas do intervalo de confiança confirmam que para a razão de corrente,  $|i_{pa}/i_{pc}|$ , os efeitos principais da velocidade de varredura, tipo de eletrólito e de concentração do eletrólito, bem como o efeito de interação binário (23) são significativos.

A inspeção dos valores obtidos na Tabela 2 revela que ambos a dependência da resposta da separação de pico,  $\Delta E$ , e da resposta da razão de corrente,  $|i_{pa}/i_{pc}|$ ? são muito mais complicados e não podem ser descritos apenas pelos três valores dos efeitos principais sozinhos. Conseqüentemente, é mais apropriado investigar estes sistemas usando métodos multivariados que são capazes de medir estes efeitos de interações binárias [101].

Na Tabela 1 algumas tendências importantes podem ser observadas. Comparando pares de experimentos que diferem somente no sinal do fator 1, como, por exemplo, experimento 1 com 2, 3 com 4 etc., é possível ver que, para todos os pares os maiores resultados de  $\Delta E$  ocorrem quando o fator 1 está em seu nível alto, isto é, este fator tem um efeito positivo.



**Figura 26** - Gráfico de probabilidade cumulativa para os valores dos efeitos,  $\Delta E$  (**a**) e  $|i_{pa}/i_{pc}|$  (**b**), da Tabela 2 correspondente ao planejamento fatorial 2<sup>4</sup>.

Os valores da separação de pico,  $\Delta E$ , aumentam com uma mudança na velocidade de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup> para 60 mV s<sup>-1</sup>. Isto é consistente com o valor do efeito principal positivo na Tabela 2 para a velocidade de varredura. Ou seja, a resposta da separação de pico,  $\Delta E$ , é dependente da velocidade de varredura. O valor absoluto da separação de pico aumenta aproximadamente 44,0 mV quando a velocidade de varredura muda de 20 mV s<sup>-1</sup> para 60 mV s<sup>-1</sup> e a concentração de eletrólito suporte é 1,0 mol L<sup>-1</sup>, e isso, é independente do pH

da fase aquosa. Comportamento similar também é observado quando a concentração do eletrólito é 0,2 mol L<sup>-1</sup>, exceto, que um grande aumento de aproximadamente de 88,75 mV ocorre na separação de pico. Esta diferença de aproximadamente 44,75 mV (maior do que qualquer um dos valores absolutos dos efeitos de interação), é independente do pH da fase aquosa e pode ser atribuído provavelmente ao fato de que o processo de transferência dos elétrons do mediador é lento, favorecendo um sistema mais reversível em baixa velocidade de varredura.

Comparando os pares de experimentos que diferem somente no sinal do fator 2, como, por exemplo, experimento 1 com 3, 2 com 4 etc., é possível ver que para todos os pares, os maiores resultados de  $\Delta E$  ocorrem quando fator 2 está no nível mais alto, isto é, este fator tem um efeito positivo. Os valores da separação de pico,  $\Delta E$ , aumentam quando se muda do eletrólito inorgânico KCI para o eletrólito orgânico CH<sub>3</sub>COONa. Isto corresponde a um efeito principal positivo na Tabela 2 para o fator tipo de eletrólito. Isto é atribuído a menor mobilidade iônica em água a 25 <sup>o</sup>C para os íons CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup> (4,24 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> V<sup>-1</sup>) e Na<sup>+</sup> (5,19 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> V<sup>-1</sup>) com relação ao Cl<sup>-</sup> (7,91 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> V<sup>-1</sup>) e K<sup>+</sup> (7,62 x 10<sup>-8</sup> m<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> V<sup>-1</sup>) [139].

Uma tendência oposta é vista para a concentração de eletrólito. Comparando pares de experimentos que diferem somente no sinal de fator 3, experimentos 1 e 5, 2 e 6, etc., independente dos níveis dos outros fatores, os valores da separação do pico,  $\Delta E$ , são sempre menores quando a concentração de eletrólito 1,0 mol L<sup>-1</sup> é usada em vez de 0,2 mol L<sup>-1</sup>, isto é, este fator tem um

74

efeito negativo correspondente ao efeito principal negativo na Tabela 2 para o fator concentração de eletrólito. Esta é uma característica importante de sistemas reversíveis. Este comportamento pode ser atribuído ao transporte de massa desde que em mais altas concentrações do eletrólito, maior eficiência no processo de transferência de elétrons é esperado, favorecendo o aumento de corrente e uma menor separação entre os potenciais de pico.

Tais tendências não são possíveis de se observar para o pH das soluções aquosas. A comparação entre os resultados que diferem somente no sinal de fator 4, experimentos 1 e 9, 2 e 10, etc., mostra, que a resposta de separação de pico,  $\Delta E$  diminui para dois pares, aumenta para quatro pares e é igual para dois pares, indicando a ausência de um efeito principal importante para este fator.

O efeito de interação binária (12) envolvendo o efeito principal da velocidade de varredura e o tipo de eletrólito é sinérgico, isto é, a separação de pico torna-se maior quando ambos os fatores, velocidade de varredura e tipo de eletrólito são variados em seus níveis mais altos simultaneamente relativo à soma dos aumentos na separação de pico para as mudanças isoladas nestes fatores. Deste modo, com uma mudança simultânea na velocidade de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup> para 60 mV s<sup>-1</sup> e uma mudança no tipo de eletrólito de KCI para CH<sub>3</sub>COONa, é observado aumento da separação de pico um de aproximadamente 16 mV acima do que o valor observado devido aos efeitos principais, 66,4 + 73,4 = 139,8 mV.

75

Outros dois efeitos de interação, ambos antagônicos, um envolvendo a velocidade de varredura e a concentração de eletrólito e o outro envolvendo o tipo de eletrólito e concentração de eletrólito, são também grandes e significativos [101]. A dependência relativamente complexa dos fatores estudados nos valores da separação do pico,  $\Delta E$ , pode também ser analisada utilizando o diagrama da Figura 27. Somente os procedimentos multivariados podem detectar efeitos de interação. Como tal, estas técnicas são recomendadas para o estudo e a otimização dos eletrodos quimicamente modificados.



Figura 27 - Diagrama do planejamento fatorial 2<sup>4</sup> para as reposta de separação de pico (tipo arial) e razão da corrente (tipo itálico).

A verificação do diagrama do planejamento fatorial na Figura 27 confirma o comportamento simples para os valores de  $\Delta E$ . Um valor de - 76.9 mV para os valores dos efeitos aparece desde de que todos os valores de  $\Delta E$  para a concentração do eletrólito em 1,0 mol L<sup>-1</sup> (face do lado direito do cubo) são de 29,0 a 135,5 mV menores do que os valores correspondentes em 0,2 mol L<sup>-1</sup> (face do lado esquerdo).

Analogamente na Figura 27, o valor positivo de  $|i_{pa}/i_{pc}|$  para o efeito da concentração de eletrólito é 0,13, e é uma conseqüência do fato que os valores na face do cubo em 1,0 mol L<sup>-1</sup> são todos maiores ao redor de 0,027 a 0,235 do que os valores correspondentes na face em 0,2 mol L<sup>-1</sup>. Argumentos similares, utilizando as outras faces do cubo permitem analisar os outros efeitos de ambas separações de pico,  $\Delta E$ , e razão da corrente  $|i_{pa}/i_{pc}|$ , e são úteis para obter uma interpretação física dos efeitos principais do tipo de eletrólito e velocidade de varredura para  $\Delta E$  e  $|i_{pa}/i_{pc}|$ .

O diagrama do planejamento fatorial mostrado na Figura 27 também é útil para escolher as condições experimentais otimizadas. Se somente a separação de pico for considerada, as melhores condições para o estudo fatorial são - - + (20 mV s<sup>-1</sup>, KCI, 1,0 mol L<sup>-1</sup>), indicando que pH não afeta  $\Delta E$ . Os valores de  $|i_{pa}/i_{pc}|$  próximos da unidade são encontrados para as seguintes séries de condições - - + (20 mV s<sup>-1</sup>, KCI, 1,0 mol L<sup>-1</sup>) e - + + (20 mV s<sup>-1</sup>, CH<sub>3</sub>COONa, 1,0 mol L<sup>-1</sup>), mostrando que o pH da fase aquosa também não é relevante para  $|i_{pa}/i_{pc}|$ . Portanto, estas condições são recomendadas para serem utilizadas na obtenção de comportamentos mais reversíveis para estes eletrodos.

## 5. CONCLUSÕES

O óxido misto SiSb obtido pelo processo sol-gel apresenta uma elevada área superficial sendo muito poroso, termicamente e quimicamente muito estável e o Sb<sub>2</sub>O<sub>3</sub> apresenta-se altamente disperso na matriz. Devido a essas características do material e pela presença de sítios ácidos de Lewis e de Brønsted na superfície do óxido misto, as espécies eletroativas **AMe, AM, AT, CoHMP, CoPP** e **CoTmPyP** foram imobilizadas fortemente nos poros da matriz.

Os materiais obtidos (SiSb/AMe, SiSb/AM, SiSb/AT, SiSb/CoHMP, SiSb/CoPP e SiSb/CoTmPyP) são estáveis, não ocorrendo o lixiviamento das espécies eletroativas após vários ciclos redox para os eletrodos de pasta de carbono. A alta estabilidade química das espécies eletroativas adsorvidas e o grau de aderência com a superfície da matriz são características importantes dos materiais. O estudo da influência do pH da solução de eletrólito suporte no processo redox, nas faixas estudadas, mostrou nenhuma dependência, já que, as espécies eletroativas são fortemente imobilizadas nos poros da matriz, o efeito do próton é minimizado por um efeito de proteção pela mesma.

Os eletrodos de pasta de carbono dos materiais SiSb/AMe, SiSb/AM e SiSb/AT, eletrocatalisaram de maneira eficiente à oxidação de NADH. A mudança no potencial formal dos corantes imobilizados na direção de valores mais positivos e a invariância com pH da solução, fazem do eletrodo SiSb/AMe um material interessante para o desenvolvimento de biossensor para enzimas dehidrogenase.

O eletrodo SiSb/CoTmPyP mostrou ser mais eficiente na eletrorredução de oxigênio dissolvido do que os eletrodos SiSb/CoHMP e SiSb/CoPP. Estudos envolvendo voltametria cíclica e cronoamperometria para eletrodo 0 SiSb/CoTmPyP, exibiram uma correlação linear entre a *i*<sub>c</sub> versus a variação da concentração de O<sub>2</sub> na solução de eletrólito suporte, mostrando, a potencialidade desse material no desenvolvimento de um sensor específico para oxigênio dissolvido. Verificou-se, que a eletrorredução de O<sub>2</sub>, na superfície do eletrodo SiSb/CoTmPyP, ocorre em um potencial mais positivo se comparado com a redução na superfície do grafite em KCI 0,5 mol L<sup>-1</sup> e 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Por último, os estudos de mecanismo de reação, demonstraram que o oxigênio dissolvido é reduzido a molécula de H<sub>2</sub>O na interface eletrodo-solução, em um processo que envolve quatro elétrons. O eletrodo SiSb/CoTmPyP mostrou que pode ser aplicado com sensor específico para a determinação de O<sub>2</sub> dissolvido em água de mar.

O planejamento fatorial completo utilizado, permitiu uma investigação simultânea dos quatro fatores selecionados e que podem afetar a otimização das características de reversibilidade do azul de toluidina adsorvido na superfície da SiSb. No estudo do planejamento fatorial o fator pH da solução aquosa demonstrou não influenciar as respostas da separação de pico,  $\Delta E$ , e nem na razão de corrente  $|i_{pa}/i_{pc}|$ . Se, somente a separação de pico for considerada, as melhores condições para o estudo fatorial são - - + (20 mV s<sup>-1</sup>, KCl, 1.0 mol L<sup>-1</sup>) indicando que pH não afeta  $\Delta E$ . Os valores de  $|i_{pa}/i_{pc}|$ próximos da unidade são encontrados para as seguintes séries de condições -+ (20 mV s<sup>-1</sup>, KCl, 1.0 mol L<sup>-1</sup>) e - + + (20 mV s<sup>-1</sup>, CH<sub>3</sub>COONa, 1.0 mol l<sup>-1</sup>), mostrando que o pH da fase aquosa também não é relevante para  $|i_{pa}/i_{pc}|$ . Considerando, tanto  $\Delta E$ , como  $|i_{pa}/i_{pc}|$ , as melhores condições para o estudo fatorial são - - + (20 mV s<sup>-1</sup>, KCI, 1.0 mol L<sup>-1</sup>).

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- K. Yamamoto, G. Shi, T.S. Zhou, F. Xu, J.M. Xu, T. Kato, J.Y. Jin, L. Jin, *Analyst* 128 (2003) 249.
- 2. E.S. Ribeiro, S.S. Rosatto, Y. Gushikem, L.T. Kubota, *J. Solid State Electrochem.* **7** (2003) 665.
- A.S. Santos, R.S. Freire, L.T. Kubota, *J. Electroanal. Chem.* 547 (2003) 135.
- 4. R.S. Freire, C.A. Pessoa, L.D. Mello, L.T. Kubota, *J. Brazil. Chem. Soc.* **14** (2003) 230.
- 5. D. Janasek, W. Vastarella, U. Spohn, N. Teuscher, A. Heilmann, Anal. Bioanal. Chem. 374 (2002) 1267.
- 6. J. Wang, *Talanta* **56** (2002) 223.
- G. Zaitseva, Y. Gushikem, E.S. Ribeiro, S.S. Rosatto, *Electrochim. Acta* 47 (2002) 1469.
- N.S. Lawrence, E.L. Beckett, J. Davis, R.G. Compton, Anal. Biochem. 303 (2002) 1.
- S.S. Rosatto, R.S. Freire, N. Duran, L.T. Kubota, *Quim. Nova* 24 (2001)
   77.
- 10. S.T. Fujiwara, Y. Gushikem, J. Braz. Chem. Soc. 10 (1999) 389.
- 11. E.F. Perez, L.T. Kubota, A.A. Tanaka, G.D. Neto, *Electrochim. Acta* **43** (1998) 1665.
- 12. P.R. Moses, L. Wier, R.W. Murray, Anal. Chem. 47 (1975) 1882.
- 13. A.J. Bard, J. Chem. Educ. 60 (1983) 302.

- 14. G. Dryhurst, D.L. McAllister, Anal. Chim. Acta 72 (1974) 209.
- 15. J.H. Zagal, E. Villar, S.U. Zanartu, *J. Electroanal. Chem.* **135** (1982) 343.
- 16. H. Li, T.F. Guarr, *J. Electroanal. Chem.* **317** (1991) 189.
- 17. X. Qi, R.P. Baldwin, H. Li, T.F. Guarr, *Electroanalysis* **3** (1991) 119.
- L.T. Jin, Z.L. Shi, J.N. Ye, J.G. Qian, Y.Z. Fang, Anal. Chim. Acta 244 (1991) 165.
- M. Wei, M.X. Li, N.Q. Li, Z.N. Gu, X.H. Zhou, *Electroanalysis* 14 (2002) 135.
- 20. S. Cosnier, *Biosen. Bioelectron.* **14** (1999) 443.
- 21. Y. Okawa, M. Nagano, S. Hirota, H. Kobayashi, T. Ohno, M. Watanabe, *Biosen. Bioelectron.* **14** (1999) 229.
- 22. E.S. Ribeiro, Y. Gushikem, J.C. Biazzotto, O.A. Serra, *J. Porphyr. Phthalocya.* **6** (2002) 527.
- 23. A. Malinauskas, T. Ruzgas, L. Gorton, J. Electroanal. Chem. 484 (2000)
  55.
- 24. J. Labuda, M. Hudáková, *Electroanalysis* **9** (1997) 239.
- 25. M.J. Lobo, A.J. Miranda, J.M. Lopez-Fonseca, P. Tuñon, *Anal. Chim. Acta* **325** (1996) 33.
- 26. A.M. Tolbert, R.P. Baldwin, L.M. Santos, Anal. Letters 22 (1989) 683.
- 27. R.N. Adams, Anal. Chem. 30 (1958) 1576.
- 28. L. Gorton, *Electroanalysis* **7** (1995) 23.
- 29. J. Kulys, L. Gorton, E. Dominguez, J. Emnéus, H. Jarskog, *J. Electroanal. Chem.* **372** (1994) 49.

- Y. Ballesteros, M.J.G. de la Huebra, M.C. Quintana, P. Hernandez, L. Hernandez, *Microchem. J.* 74 (2003) 193.
- 31. M. Etienne, A. Walcarius, *Talanta* **59** (2003) 1173.
- S.S. Rosatto, P.T. Sotomayor, L.T. Kubota, Y. Gushikem, *Electrochim.* Acta 47 (2002) 4451.
- A.M. Castellani, J.E. Gonçalves, Y. Gushikem, J. New Mat. Electr. Sys. 5 (2002) 169.
- 34. A. Walcarius, (2001) *Electroanalysis* **13** (2001) 701.
- A.M. Castellani, J.E. Gonçalves, Y. Gushikem, *Electroanalaysis* 13 (2001) 1165.
- 36. C.A. Pessoa, Y. Gushikem, J. Porphyr. Phthal. 5 (2001) 537.
- 37. A.M. Castellani, Y. Gushikem, J. Colloid Interface Sci. 230 (2000) 195.
- C.U. Ferreira, Y. Gushikem, L. T. Kubota (2000) *J. Solid State Electrochem.* 4 (2000) 298.
- 39. E.S. Ribeiro, Y. Gushikem, *Electrochim. Acta* 44 (1999) 3589.
- 40. C.A. Pessoa, Y. Gushikem, J. Electroanal. Chem. 477 (1999) 158.
- 41. C.A. Pessoa, Y. Gushikem, L.T. Kubota, L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.*431 (1997) 23.
- 42. M. Ebelmen, Ann. Chim. Phys. 16 (1846) 129.
- 43. M. Ebelmen, Ann. Chim. Phys. 15 (1845) 319.
- 44. T. Graham, J. Chem. Soc. 17 (1864) 318.
- 45. L.L. Hench, J.K. West, *Chem. Rev.* **90** (1990) 33.
- 46. C.J. Brinker, G.W. Scherer, In: *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press, San Diego, 1990.

- 47. J.C. Biazzotto, "Síntese e Caracteristícas Fotofísicas de Silicatos Híbridos Orgânico-Inorgânicos contendo Porfirinas e Metaloporfirinas", Tese de Doutorado – USP, Ribeirão Preto – SP (2001).
- 48. E.V. Benvenutti, Y. Gushikem, J. Braz. Chem. Soc. 9 (1998) 469.
- 49. Y. Gushikem, C.R.M. Peixoto, U.P.R. Filho, L.T. Kubota, E. Stadler, *J. Coll. Interface Sci.* **184** (1996) 236.
- 50. C.R.M. Peixoto, L.T. Kubota, Y. Gushikem, Anal. Proc. 32 (1995) 503.
- 51. G.A.P. Zaldivar, Y. Gushikem, E.V. Benvenutti, S.C. de Castro, A Vasquez, *Electrochim. Acta* **39** (1994) 33.
- 52. G.A.P Zaldivar, Y. Gushikem, J. Electroanal. Chem. 337 (1992) 165.
- 53. E.V. Benvenutti, Y. Gushikem, A. Vasquez, S.C. de Castro, G.A.P. Zaldivar, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **19** (1991) 1325.
- 54. S. Denofre, Y. Gushikem, C.U. Davanzo, *Europ. J. Sol. State Inorg. Chem.*28 (1991) 1295.
- 55. J.E. Gonçalves, Y. Gushikem, S.C. de Castro, *J. Non-Cryst. Solids* **260** (1999) 125.
- 56. A.A.S. Alfaya, Y. Gushikem, J. Coll. Interface Sci. 209 (1999) 428.
- 57. X.T. Gao, J.L.G. Fierro e I.E. Wachs, *Langmuir*, **15** (1999) 3169.
- V. Menon, V.T. Popa, C. Contescu e J.A. Schwarz, *Rev. Roum. Chim.* 43 (1998) 393.
- 59. J.M. Miller e L.J. Lakshmi, *J. Phys. Chem. B* **102** (1998) 6465.
- 60. H. Kochkar e F. Figueras, *J. Catal.* **171** (1997) 420.
- D.C.M. Dutoit, M. Schneider, P. Fabrizioli e A. Baiker, *J. Mater. Chem.* 7 (1997) 271.

- 62. A. Walcarius, Chem. Mater. 13 (2001) 3351.
- 63. A. Walcarius, *Electroanalysis* **10** (1998) 1217.
- 64. H. Galip, H. Hasipoglu, G. Gunduz, J. Appl. Polym. Sci. 74 (1999) 2906.
- H. Sato, K. Kondo, S. Tsuge, H. Ohtani, N. Sato, *Polym. Degrad. Stabil.* 62 (1998) 41.
- H.C. Jung, W.N. Kim, C.R. Lee, K.S. Suh, S.R. Kim, *J. Polym. Eng.* 18 (1998) 115.
- 67. P. Carty, S. White, *Polym. Degrad. Stabil.* **47** (1995) 305.
- M. Nalin, M. Poulain, S.J.L. Ribeiro, Y. Messaddeq, *J. Non-Cryst. Solids* 284 (2001) 110.
- 69. U.A. Schubert, F. Anderle, J. Spengler, J. Zuhlke, H.J. Eberle, R.K. Grasselli, H. Knozinger, *Top. Catal.* **15** (2001) 195.
- 70. J.H. Youk, R.P. Kambour, W.J. MacKnight, *Macromolecules* **33** (2000) 3606.
- 71. H.W. Zanthoff, W. Grünert, S. Buchholz, M. Heber, L. Stievano, F.E. Wagner, G.U. Wolf, *J. Mol. Catal. A* **162** (2000) 435.
- 72. V.P. Vislovskiy, V.Y. Bychkov, M.Y. Sinev, N.T. Shamilov, P. Ruiz, Z. Schay, *Catal. Today* **61** (2000) 325.
- 73. C. Janardanan, S.M.K. Nair, Indian J. Chem. A 31 (1992) 136.
- 74. C. Janardanan, S.M.K. Nair, Analyst 115 (1990) 85.
- L. Gorton, B. Persson, P.D. Hale, L.I. Bogulasky, H.I. Karan, H.S. Lee, T. Skotheim, H.L. Lan, Y. Okamoto, Eds. P.G. Edelman, J. Wang, *"Biosensors and Chemical Sensors"*, American Chemical Society, Washington, 1992.

- 76. L. Gorton, J. Chem. Soc. Faraday Trans. I 82 (1986) 1245.
- 77. H. Jaegfeldt, J. Electroanal. Chem. 110 (1980) 295.
- 78. J. Moiroux, P.J. Elving, Anal. Chem. 50 (1978) 1056.
- 79. Z. Samec, P.J. Elving, J. Electroanal.Chem. 144 (1983) 217.
- 80. W.J. Blaedel, R.A. Jenkins, Anal. Chem. 47 (1975) 1337.
- 81. J.N. Burnett, A.L. Underwood, *Biochemistry* **4** (1965) 2060.
- 82. A Tortensson, L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.* **130** (1981) 199.
- 83. L. T. Kubota, L.Gorton, J. Solid State Electrochem. **3** (1999) 370.
- 84. I. C. Popescu, E. Dominguez, A. Narvaez, V. Pavlov, I. Katakis, J. Electroanal. Chem. 464 (1999) 208.
- 85. I. Katakis, E. Dominguez, *Mikrochim. Acta* **126** (1997) 11.
- 86. Q.J. Chi, S.J. Dong, J. Mol. Catal. Chem. 105 (1996) 193.
- T. Matsue, M. Suda, I. Uchida, T. Kato, U. Akiba, T. Osa, *J. Electroanal. Chem.* 234 (1987) 163.
- 88. D. Dolphin (Ed.), "The Porphyrins", Vol. VI part A, Academic Press, New York, 1978.
- 89. D. Dolphin (Ed.), "The Porphyrins", Vol. VII part B, Academic Press, New York, 1978.
- 90. D. Voet, J.C. Voet, "Biochemistry", John Wilew & Sons, New York, 1990.
- 91. J.E. Falk, "Porphyrins and Metalloporphyrins", Elsevier, New York, 1975.
- 92. J.A.J. Brunink, C. Di Natale, F. Bungaro, F.A.M. Davide, A. D'Amico, R.
  Paolesse, T. Boschi, M. Faccio, G. Ferri, *Anal. Chim. Acta* 325 (1996) 53.
- 93. K.M. Smith, "Porphyrins and Metalloporphyrins", ed. K.M. Smith, Amsterdan (1975).

- 94. L.R. Milgron, "The Colours of Life", Oxford University Press, Oxford (1997).
- 95. D. Ricard, M. L'Her, P. Richard, B. Boitrel, *Chem-Eur. J.* 7 (2001) 3291.
- 96. M. Andersson, M. Holmberg, I. Lundstrom, A. Lloyd-Spetz, P. Martensson,
  R. Paolesse, C. Falconi, E. Proietti, C. Di Natale, A. D'Amico, *Sensor Actuat. B* 77 (2001) 567.
- 97. S.L.P. Dias, Y. Gushikem, E.S. Ribeiro, E.V. Benvenutti, *J. Electroanal. Chem.* **523** (2002) 64.
- 98. H.S. Yim, M.E. Meyerhoff, Anal. Chem. 64 (1992) 1777.
- A. Elhourch, S. Belcadi, P. Moisy, P. Crouigneau, J.M. Leger, C. Lamy, J. Electroanal. Chem. 339 (1992) 1.
- 100. N. Oyama, N. Oki, H. Ohno, Y. Ohnuki, H. Matsuda, E. Tsuchida, *J. Phys. Chem.* **87** (1983) 3642.
- 101. G.E.P. Box; W.G. Hunter; J.S. Hunter, "Statistics for Experimenters: An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building", New York: Wiley & Sons Inc., 1978.
- 102. G. Kateman, L. Buydens, "Quality Control in Analytical Chemistry", A Serie of Monographs on Analytical Chemistry and Its Applications, Vol. 60, John Wiley & Sons, New York, 1993.
- 103. J.L. Goupy, "Methods for Experimental Design principles and applications for physicists and chemists", Data Handling in Science and Technology, Vol. 12, Elsevier, Amsterdam, 1993.
- 104. E. Morgan, K.W. Burton, P.A. Church, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 5 (1989)
  283.

- 105. D.C. Montgomery, "Design and Analysis of Experiments", John Wiley & Sons, New York, 1991.
- 106. B. Barros Neto, I.S. Scarmínio, R.E. Bruns, "Planejamento e Otimização de Experimentos", Campinas, Ed. Unicamp, 1995.
- 107. S.V. Crowder, K.L. Jensen, W.R. Stephenson, S.B. Vardeman, J. Qual. Technol. 20 (1988) 140.
- 108. P.J. Goodhew, F.J. Humphreys, In: *Electron Microscopy and Analysis*, 2<sup>nd</sup>
   ed., Taylor and Francis, London , 1992.
- 109. J.A. Bearden, *Rev. Mod. Phys.* **39** (1967) 78.
- 110. W. Wong-Ng, H.F. McMurdie, B. Paretzkin, M.A. Kuchinski, A.L. Dragoo, *Powder Diffr.*, 3 (1988) 246.
- 111. Y. Gushikem, E.A. Toledo, "Preparation of Oxide Coated Cellulose Fiber",
   In: *Polymer, Interfaces and Emulsions,* Ed. K. Esumi, Surfactant Sciences
   Series by Marcel Dekker, USA, cap. 13, 1999.
- 112. S. Denofre, Y. Gushikem, S.C. de Castro, Y. Kawano, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **89** (1993) 1057.
- 113. E.V. Benvenutti, Y. Gushikem, C.U. Davanzo, S.C. de Castro, I.L. Torriani,*J. Chem. Soc. Faraday. Trans.* 88 (1992) 3193.
- 114. M.S.P. Francisco, R. Landers, Y. Gushikem, *Micropor. Mesopor. Mat.* (2003) submetido.
- 115. C. Morterra, G. Cerrato, *Langmuir* **6** (1990) 1810.
- 116. G. Busca, Langmuir, 2 (1986) 577.
- 117. E.A. Campos, Y. Gushikem, M.C. Gonçalves, S.C. de Castro, J. Colloid. Interface Sci. 180 (1996) 453.

- 118. M. Lefranco, G. Malbois, *J. Catal.* **20** (1971) 350.
- 119. L. Antonov, G. Gergov, V. Petrov, M. Kubista, J. Nygren, *Talanta* **49** (1999) 99.
- 120. S. Jockush, N.J. Turro, D.A. Tomalia, *Macromolecules* 28 (1995) 7416.
- 121. A.H. Corwin, A.B. Chivvis, R.W. Poor, D.G. Whitten, E.W. Baker, *J. Am. Chem. Soc.* **90** (1968) 6577.
- 122. R.H. Pottier, J.C. Kennedy, Y.F.A. Chow, F. Cheung, *Can. J. Spectrosc.*33 (1988) 57.
- 123. L. Gorton, A. Tortensson, H. Jaegfeldt, G. Johansson, J. Electroanal. Chem. 161 (1984) 103.
- 124. F.D. Munteanu, L.T. Kubota, L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.* **509** (2001)
  2.
- 125. A.J. Bard, L.R. Faulkner, "Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications", Wiley, New York, 1980.
- 126. B. Persson, L. Gorton, J. Electroanal. Chem. 292 (1990) 115.
- 127. M.J. Lobo, A.J. Miranda, P. Tuñón, *Electroanalysis* 8 (1996) 591.
- 128. L.T. Kubota, F. Munteanu, A. Roddick-Lanzilotta, A.J. McQuillan, L. Gorton, *Quim. Anal.* **19** (2000) 15.
- 129. A.C. Pereira, "Comportamento Eletroquímico de Alguns Compostos Orgânicos Eletroativos Imobilizados em Suportes Inorgânicos Visando o Desenvolvimento de Sensores para NADH", Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, SP, 2003.
- 130. C.L. Ni, I. Abdalmuhdi, C.K. Chang, F.C. Anson, *P. Phys. Chem.* 91 (1987)1158.

- R.R. Durand, C.S. Benscome, J.P. Collman, F.C. Anson, J. Am. Chem. Soc. 105 (1983) 2710.
- 132. R.K Iler, In: The Chemistry of Silica, John Wiley & Sons, New York, 1979.
- 133. K.D. Karlin, Y. Gultneh, Ed. S.J. Lippard, in: *Progress in Inorganic Chemistry*, vol. 35, John Wiley & Sons, New York, 1987.
- 134. R.R. Durand, F.C. Anson, J. Electroanal. Chem. 134 (1982) 273.
- 135. J.P. Collman, C.S. Bencosme, C.E. Barnes, B.D. Miller, *J. Am. Chem. Soc.*105 (1983) 2704.
- 136. R. Karaman, S. Jeon, O. Almarsson, T.C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 4899.
- 137. A. Corma, Chem. Rev. 97 (1997) 2373.
- 138. G.M. Fair, J.C. Geyer, D.A. Okun, *"Elements of Water Supply and Wastewater Disposal"*, 2<sup>nd</sup> ed., John Wiley & Sons, New York, 1971.
- 139. P.D. Atkins, *"Physical Chemistry"*, Oxford University Press, 6<sup>th</sup> edition, 1998.