

Universidade Estadual de Campinas

-UNICAMP-

Instituto de Química

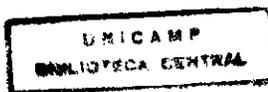
***ESTUDO ELETROQUÍMICO DE CORANTES ORGÂNICOS
COM PROPRIEDADES REDOX IMOBILIZADOS SOBRE O
FOSFATO DE ZIRCÔNIO***

Dissertação de Mestrado

Aluna: Christiana Andrade Pessôa

Orientador: Prof. Dr. Yoshitaka Gushikem

-1997-



UNIDADE	IQ	
N.º CHAMADA:	T/Unicamp	
	P439e	
V.	Ex.	
F.º	31934	
PR.º	281/97	
C	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00	
DATA	21/10/97	
N.º CPU	CM.0202044-5	

Pessoa, Christiana Andrade

Estudo eletroquímico de corantes orgânicos com propriedades redox immobilizados sobre o fosfato de zircônio
T/UNICAMP/P439e

(31934/97)

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

P439e Pessoa, Christiana Andrade
Estudo eletroquímico de corantes orgânicos com propriedades redox immobilizados sobre o fosfato de zircônio. / Christiana Andrade Pessoa. -- Campinas, [SP : s.n.], 1997.

Orientador: Yoshitaka Gushikem.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química.

I. *Voltametria cíclica. I. Gushikem, Yoshitaka. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

AGRADECIMENTOS

↪ *Ao Prof. Dr. Yoshitaka Gushikem pela orientação e grande estímulo no desenvolvimento profissional de seus alunos.*

↪ *Ao Prof. Dr. Lauro T. Kubota pela inestimável e valiosa ajuda no desenvolvimento deste trabalho.*

↪ *A todos os companheiros de laboratório que tornaram os momentos de trabalho bem mais agradáveis: Toshio, Akira, Claudia, Antônio e Rení, Élvio, Zeca, Emerson, Eduardo, César, Cícero, Gardênnia, Liliane, Luiza, Oyrton e à Neusa.*

↪ *Às minhas grandes amigas e companheiras de tantos anos: Iara, Lucila e Noemi pelas risadas e pela convivência.*

↪ *Ao CNPq pela bolsa concedida e à FAPESP pelo suporte financeiro.*

Aos meus pais

Arnaldo e Martha, que sempre me apoiaram...

e às minhas irmãs, Lourdinha e Camilla...

....as pessoas que mais amo neste mundo

dedico esta tese

RESUMO

Neste trabalho, dois tipos de corantes orgânicos com propriedades redox, o Azul de Metileno (MB) e o Azul do Nilo (NB), foram imobilizados sobre o fosfato de zircônio IV (ZP) através de uma reação de troca iônica.

Os materiais com os corantes imobilizados (ZPMB e ZPNB) foram incorporados ao eletrodo de pasta de carbono e suas propriedades eletroquímicas foram estudadas através das técnicas de voltametria cíclica e amperometria.

Os corantes redox apresentaram-se bastante estáveis na matriz. O potencial médio, E_m , para os corantes imobilizados foi de 150 mV vs SCE para o MB e 50 mV vs SCE para o NB. Comparando-se o valor de E_m obtido para os corantes imobilizados com o potencial dos mesmos quando livres em solução, observou-se um deslocamento de cerca de 300 mV para valores mais positivos de potencial para os corantes imobilizados sobre o ZP. Tal deslocamento sugere que a forma reduzida destes encontra-se mais estável sobre a matriz que a forma oxidada. Uma possível explicação para tal comportamento está na alta acidez da matriz ZP, uma vez que o E_m obtido para os tais corantes quando imobilizados é similar ao observado quando os mesmos encontram-se presentes em soluções ácidas.

A natureza e o pH da solução do eletrólito suporte não afetaram de maneira significativa o valor do potencial médio, E_m , o qual permaneceu praticamente constante para ambos os corantes. Este comportamento diferiu significativamente do observado para o MB e NB quando em solução ou adsorvidos sobre eletrodos de carbono ou prata. A pequena dependência do E_m com o pH é do ponto de vista prático de grande importância na construção de sensores químicos para amostras reais onde

o pH apresenta um importante papel e muitas vezes não é possível ajustá-lo para otimizar a resposta do eletrodo.

As propriedades eletrocatalíticas dos corantes imobilizados foram testadas na oxidação de ácido ascórbico e o NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma reduzida).

O eletrodo modificado com ZPMB foi utilizado no estudo da oxidação do ácido ascórbico. Ambos os eletrodos (modificados com ZPMB e ZPNB) apresentaram propriedades catalíticas na oxidação do cofator NADH, entretanto o eletrodo modificado com ZPNB apresentou maior eficiência catalítica e a um potencial menor que o ZPMB.

ABSTRACT

Methylene Blue (MB) and Nile Blue (NB), a phenothiazine and a phenoxazine dyes respectively, were adsorbed on zirconium (IV) phosphate (ZP) by ion exchange reaction. The dyes were strongly retained and were not leached out from the matrix.

The materials with adsorbed dyes (ZPMB e ZPNB) were incorporated into a carbon paste electrode and the electrochemical properties were investigated by cyclic voltammetry and amperometry techniques.

The immobilized dyes presented very stable redox properties. The midpoint potentials (E_m) were 150 mV vs SCE for MB and 50 mV vs SCE for NB. A shift of about 300 mV towards more positive potentials of E_m , was observed compared with those obtained in aqueous solutions. These shifts suggest that the reduced forms of the dyes are more stable on the ZP matrix than the oxidised forms. A possible explanation for this behavior is the high acidity of the material, because the E_m for the immobilized dyes is similar of that observed when these dyes are present in acid solutions.

The composition and pH of the supporting electrolyte did not affect the midpoint potential, E_m , it remained practically constant, in contrast to those observed for these dyes in solution phase or adsorbed on carbon and silver electrodes. The almost constant E_m for both materials in various pHs conditions are very important from practical point of view since they can be used to prepare chemical sensors for real samples, where the pH plays an important role and can not be changed in order to optimize the electrode response.

The electrocatalytic properties of the modified electrodes were tested using ascorbic acid and the NADH cofactor .

The ZPMB - modified electrode was used to study the electrochemical oxidation of ascorbic acid. Both, ZPMB e ZPNB - modified electrodes electrocatalyse the NADH oxidation, however it was observed that ZPNB was more efficient catalyst at a lower midpoint potential than ZPMB.

ÍNDICE

1) INTRODUÇÃO	01
1.1) Eletrodos quimicamente modificados	01
1.2) Métodos de obtenção de EQMs	04
1.2.1) Adsorção ou quimissorção	04
1.2.2) Formação de ligação covalente	05
1.2.3) Deposição de filmes poliméricos	05
1.2.4) Eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados	06
1.3) Fosfato de zircônio (IV)	08
1.3.1) Fosfato de zircônio como matriz para imobilização de espécies eletroativas em eletrodos de pasta de carbono	10
1.4) Corantes orgânicos redox como mediadores de elétrons	11
1.5) Técnicas utilizadas para o estudo de EQMs	13
1.5.1) Voltametria cíclica	13
1.5.2) Cronoamperometria	17
1.6) Objetivos	19
2) PARTE EXPERIMENTAL	20
2.1) Síntese do fosfato de zircônio (ZP)	20
2.2) Imobilização dos corantes Azul de Metileno (MB) e Azul do Nilo (NB) sobre o fosfato de zircônio	20
2.3) Preparação do eletrodo de pasta de carbono	21
2.4) Medidas eletroquímicas	21
2.5) Determinação do ácido ascórbico (H ₂ AA)	22

2.5.1) Obtenção da curva de calibração para H ₂ AA por cronoamperometria	22
2.5.2) Determinação de H ₂ AA em pastilhas de vitamina C	23
2.5.3) Determinação de H ₂ AA por volumetria com KIO ₃	23
2.6) Determinação de NADH por cronoamperometria	23

3) RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1) Características do matriz de fosfato de zircônio (ZP)	25
3.2) Azul de metileno (MB)	27
3.2.1) Características do eletrodo	27
3.2.2) Estudos de voltametria cíclica	30
3.2.3) Propriedades eletrocatalíticas do ZPMB	40
- Eletrooxidação do ácido ascórbico	40
3.2.31) Estudos utilizando-se a técnica de cronoamperometria	43
- Dependência da resposta do eletrodo com o potencial	43
3.2.32) Dependência da resposta do eletrodo com o pH	45
3.2.33) Obtenção da curva de calibração para H ₂ AA por cronoamperometria	48
3.2.4) Eletrooxidação do NADH pelo ZPMB	51
3.3) Azul do Nilo	52
3.3.1) Estudos de voltametria cíclica	52
3.3.2) Propriedades eletrocatalíticas do ZPNB	59
- Eletrooxidação do NADH	59

4) CONCLUSÕES

62

5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

64

1) INTRODUÇÃO

1.1) Eletrodos Quimicamente Modificados (EQMs)

O termo eletrodo quimicamente modificado foi introduzido por Murray e colaboradores para designar eletrodos com espécies imobilizadas sobre a superfície de eletrodos convencionais tais como platina e carbono, com o objetivo de pré estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução [1].

Basicamente a modificação da superfície de eletrodo visa a imobilização de espécies eletroquimicamente ativas (geralmente aquelas cujo comportamento químico e eletroquímico são bastante conhecidos em solução), de modo que o eletrodo passe a apresentar as mesmas propriedades química, eletroquímica, óptica, dentre outras da espécie imobilizada [2]. Dessa forma é possível a construção de uma interface eletroquímica de maneira racional e obter assim a reatividade e seletividade desejadas para aplicações de interesse, tornando possível o projeto de eletrodos feitos sob medida para uma determinada aplicação [3].

Os EQMs são muito úteis em situações onde as espécies a serem analisadas requerem a aplicação de altos sobrepotenciais em eletrodos convencionais (Pt, C), havendo dessa forma um aumento do efeito de interferentes, através da oxidação ou redução de outras espécies presentes no meio e também do próprio solvente. Os EQMs oferecem a vantagem de abaixar este sobrepotencial e aumentar a velocidade de certas reações eletroquímicas, aumentando dessa forma a sua sensibilidade e seletividade [4].

As espécies químicas imobilizadas mais interessantes e mais estudadas são aquelas capazes de mediar elétrons, devido a sua importância em eletrocatalise e na construção de sensores eletroquímicos. Dentre elas, as que têm apresentado resultados mais promissores para aplicações práticas em análises biomédicas, biotecnológicas e ambientais, incluem mediadores organometálicos tais como ferroceno, ftalocianinas, óxidos de rutênio e metaloporfirinas além de vários mediadores orgânicos, tais como quinonas, fenazinas, fenoxazinas e fenotiazinas, além de vários outros [5-12].

A interface eletrodo - solução para um EQM na presença apenas da solução de eletrólito suporte pode ser demonstrada de maneira esquemática como abaixo:

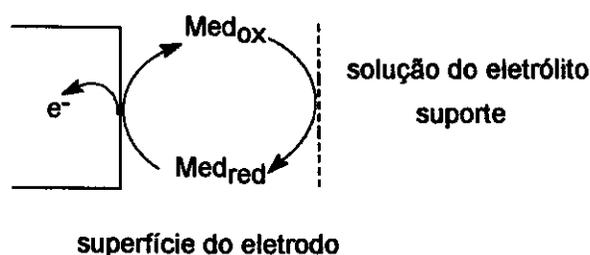


Figura 1: Interface eletrodo-solução para um EQM na presença apenas da solução do eletrólito suporte.

Realizando-se a varredura na direção de potenciais mais positivos ocorre a oxidação da espécie reduzida presente na superfície do eletrodo. Quando a varredura de potencial é invertida (na direção de potenciais mais negativos) esta pode ser então novamente reduzida.

Em um processo eletrocatalítico promovido por um EQM, a oxidação ou redução de um determinado substrato que apresenta uma reação eletroquímica lenta à superfície do eletrodo, é mediada por um sistema redox ($\text{Med}_{\text{ox}}/\text{Med}_{\text{red}}$) que pode trocar elétrons mais rapidamente com o eletrodo e o substrato. Dessa forma, há uma diminuição do sobrepotencial de ativação da reação (potencial adicional ao potencial formal E^0' do substrato, necessário para vencer a barreira da energia de ativação da eletrólise em um determinado tipo de material do eletrodo, para manter a reação a uma determinada velocidade). A redução deste sobrepotencial aumenta a seletividade da medida pois permite a aplicação de potenciais de operação mais baixos, e a especificidade é inversamente proporcional a magnitude do potencial aplicado, pois fica assim reduzida ou praticamente eliminada a possibilidade que potenciais de eletrólise de outras espécies presentes no meio sejam atingidos.

Na Figura 2, está representado o processo de transferência de carga eletrocatalítico para uma molécula do substrato sendo oxidada pelo mediador, o qual é subsequentemente re-oxidado na superfície do eletrodo. O processo inverso, a eletrorredução do substrato também pode ocorrer.

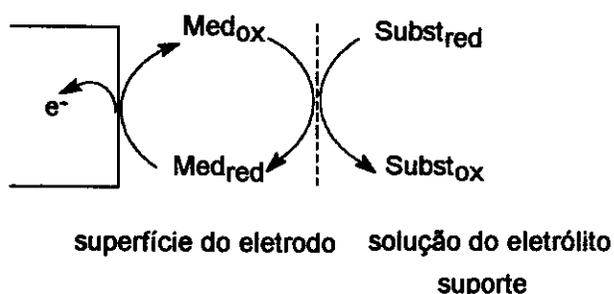


Figura 2: Oxidação eletrocatalítica de um determinado substrato pelo eletrodo quimicamente modificado.

Este esquema eletrocatalítico tem sido o objetivo e foco de inúmeros estudos envolvendo eletrodos quimicamente modificados.

1.2) Métodos de Obtenção de Eletrodos Quimicamente Modificados

A construção de EQMs constitui uma área em grande desenvolvimento e recentemente diferentes métodos de modificação da superfície de eletrodos tem sido descritos na literatura, desde imobilização química à eletropolimerização [13-16]. Aqui será feita apenas uma breve abordagem dos métodos de preparação de eletrodos mais comuns encontrados na literatura [17,18].

1.2.1) Adsorção ou quimissorção

Apesar dos primeiros estudos baseados neste método, realizados por Hubbard e Lane [19] terem sido realizados na superfície de eletrodos de platina, a maioria dos trabalhos subsequentes envolvendo este método tem sido efetuados em eletrodos de grafite pirolítica e carbono vítreo. Os eletrodos de carbono são eficazes em quimissorver espécies moleculares que apresentam sistemas estendidos de elétrons π . O plano basal do grafite, paralelo aos anéis de carbono é pouco polar, hidrófobo e muito rico em densidade eletrônica o que faz com que ele tenha forte interação com compostos insaturados.

Esta constitui a técnica mais simples de se modificar a superfície de um eletrodo, entretanto ela apresenta a desvantagem da espécie imobilizada apresentar uma baixa estabilidade na superfície do eletrodo, pois sendo a

adsorção, um fenômeno de equilíbrio, o processo de dessorção ocorrerá inevitavelmente.

1.2.2) Formação de ligação covalente

Muitas superfícies metálicas (Pt e Au) podem ser oxidadas em meio ácido e então recobertas por uma fina camada de óxido . Tais superfícies podem ser silanizadas através de uma reação com um organossilano para então reagir com outras moléculas de interesse.

Superfícies de carbono também pode ser modificadas desta maneira, pois estas contêm grupos óxidos funcionais tais como álcoois (fenóis), ácidos carboxílicos, cetonas (quinonas) e anidridos, resultantes da oxigenação de átomos de carbono. A modificação via ligação covalente, pode ser então baseada na reatividade destes grupos funcionais com reagentes tais como aminas, organossilanos, cloreto de tionila, cloreto cianúrico entre outros.

Tal método dá origem a eletrodos bem mais estáveis em relação aos obtidos através da adsorção, entretanto o método de preparação é bem mais complexo.

1.2.3) Deposição de filmes poliméricos

Mergulhando-se o eletrodo de platina ou carbono em uma solução contendo o polímero e deixando-se evaporar o solvente é possível formar uma fina camada do polímero sobre o eletrodo. Camadas de polímeros também podem ser produzidas por eletrodeposição ou através da eletropolimerização de monômeros eletroativos. Muitos tipos de polímeros

têm sido estudados. Em alguns casos, o polímero por si só apresenta propriedades eletroativas, como no caso de polímeros redox, outros contém grupos iônicos (polímeros de troca iônica) os quais possibilitam a imobilização de uma série de espécies eletroativas (como por exemplo o Nafion e a polivinilpiridina). A modificação com membranas poliméricas permite a imobilização de muitas monocamadas da espécie eletroativa na superfície do eletrodo, o que resulta na ampliação da resposta eletroquímica.

1.2.4) Eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados (EPCQMs)

Os chamados eletrodos de pasta de carbono (EPC) foram introduzidos por Adams em 1958, consistindo na mistura do grafite em pó com um líquido orgânico de baixa volatilidade [20]. O objetivo inicial era a construção de eletrodos com superfície facilmente renovável e com possibilidade de aplicação em potenciais positivos onde os eletrodos de mercúrio não podiam ser utilizados devido à oxidação do material do eletrodo.

Posteriormente, em 1964, Kuwana e colaboradores [21,22] foram os primeiros a introduzirem o conceito de eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados, os EPCQMs, ao misturarem à pasta substâncias eletroativas e constataram que estas apresentavam propriedades catalíticas neste tipo de eletrodo. Desde então, a construção dos EPCQMs tem sido extensivamente desenvolvida [23-25], principalmente devido a grande facilidade na sua preparação, facilidade de renovação da superfície, baixa corrente de fundo e faixa de potencial relativamente extensa. Entretanto, este apresenta algumas desvantagens tais como baixa reprodutibilidade

(dificuldade na reprodutibilidade na preparação da pasta) e baixa resistência do eletrodo quando utilizado em solventes orgânicos.

Recentemente, tais tipos de eletrodos têm sido também bastante atrativos para modificações com enzimas, particularmente devido ao fato de que a pasta de carbono pode ser facilmente modificada sem a necessidade de rigorosos métodos químicos, além da retenção da atividade catalítica das enzimas quando estas encontram-se incorporadas à pasta de carbono [10, 26-30].

Atualmente, vários tipos de EPCQMs têm sido amplamente empregados em todas as áreas da eletroanálise e ainda continuam a ser assunto de crescente interesse.

1.3) Fosfato de zircônio (IV)

O fosfato de zircônio vem sendo estudado desde a década de 50 como trocador iônico e também como catalisador. Os primeiros estudos baseados neste sal ácido foram realizados com o material amorfo. O interesse entretanto, nos últimos anos tem sido nas formas cristalinas e semi-cristalinas do fosfato de zircônio. Devido a sua estrutura definida, interpretações mais exatas de sua estrutura e fenômenos de adsorção podem ser feitas. No entanto as aplicações do material amorfo continuam a ser de grande interesse [36-38].

A preparação do fosfato de zircônio amorfo é realizada através da mistura de uma solução do sal de zircônio com o ácido fosfórico, a temperatura ambiente. De acordo com as condições de preparação, materiais com a razão P/Zr na faixa de 0,5 a 2,1 são geralmente formados. Dependendo então da razão P/Zr encontrada, podem ser obtidos compostos com as seguintes fórmulas hipotéticas: $Zr(OH)PO_4$, $ZrO(HPO_4)$, $Zr_3(PO_4)_4$, $Zr(HPO_4).xH_2O$ e $Zr(HPO_4)-(H_2PO_4)(OH)$.

Refluxando-se o material amorfo com ácido fosfórico concentrado ou através da co-precipitação com HF é possível obter facilmente uma das formas cristalinas do fosfato de zircônio, a forma α ($Zr(HPO_4)H_2O$), uma das mais estudadas (representada na figura 3).

O α - fosfato de zircônio apresenta uma estrutura formada por lamelas, onde os átomos de Zr ficam situados em um mesmo plano, num arranjo pseudo-hexagonal. Cada átomo de Zr está ligado a grupos fosfato situados alternadamente acima e abaixo do plano. Os três oxigênios de um mesmo grupo fosfato estão ligados a três átomos de Zr diferentes e cada Zr está

coordenado octaetricamente pelos oxigênios. O quarto átomo de oxigênio do grupo fosfato, apresenta o próton trocável.

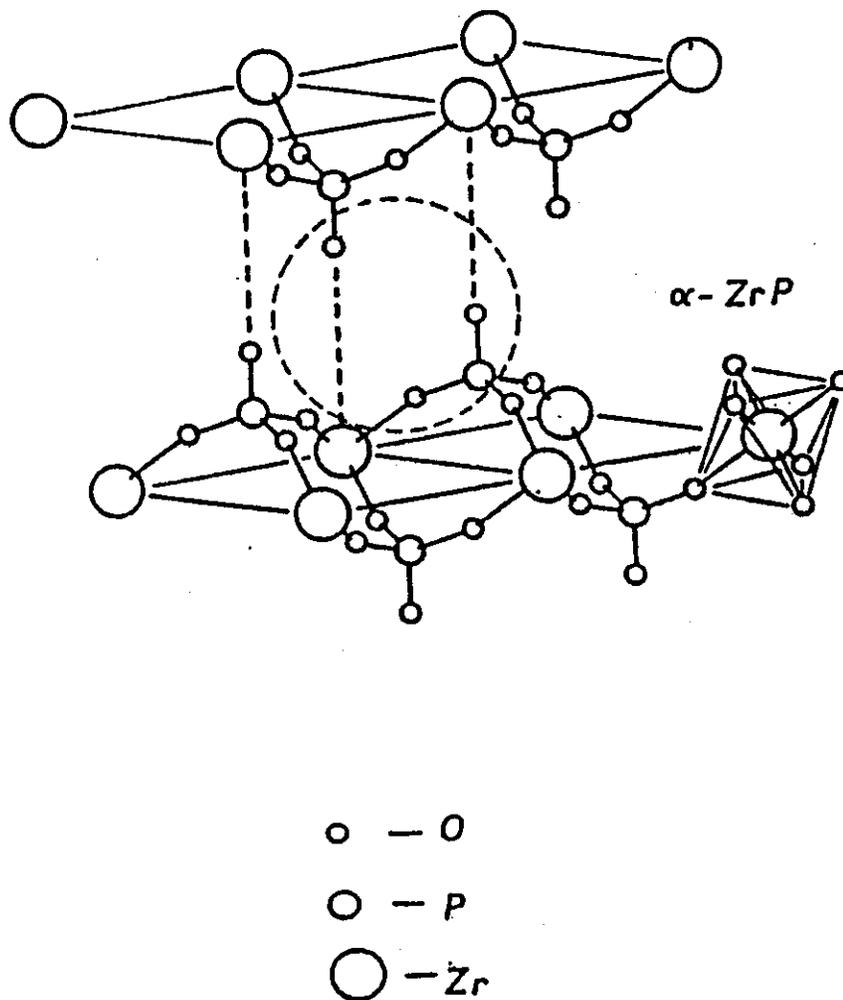


Figura 3: Estrutura do fosfato de zircônio na forma α [36].

1.3.1) Fosfato de Zircônio como matriz para imobilização de espécies eletroativas em eletrodos de pasta de carbono

Embora a construção dos eletrodos de pasta de carbono seja bastante simples, muitas vezes a estabilidade da espécie mediadora de elétrons na pasta é consideravelmente limitada, principalmente se a mesma for solúvel em meio aquoso [9]. Neste caso tem sido demonstrado na literatura que a utilização de matrizes inertes pode melhorar de maneira significativa a estabilidade das espécies no EPC.

Com este propósito, alguns materiais tais como sílicas gel quimicamente modificadas [31-33] e zeólitas [34,35] têm sido extensivamente utilizados como superfícies para imobilização de espécies redox em eletrodos de pasta de carbono.

O fosfato de zircônio é bastante conhecido devido a sua propriedade como trocador iônico [36,37]. A alta acidez dos grupos fosfato o torna um bom trocador catiônico, além de apresentar propriedades condutoras [38]. Tais características o tornam uma alternativa para sua utilização como matriz para imobilização de espécies eletroativas e seu uso como material para modificação de eletrodos de pasta de carbono.

A grande capacidade de troca do fosfato de zircônio possibilita a adsorção de uma grande quantidade da espécie, de modo que a resposta de corrente pode ser significativamente ampliada além de manter a espécie eletroativa fortemente aderida ao eletrodo.

1.4) Corantes orgânicos redox como mediadores de elétrons

Uma série de corantes orgânicos redox, dentre eles principalmente os da família das fenazinas, fenotiazinas e fenoxazinas [9,39,40], tem sido extensivamente utilizados como mediadores de elétrons, com sucesso na construção de biosensores.

Alguns exemplos de tais tipos de corantes estão mostrados abaixo:

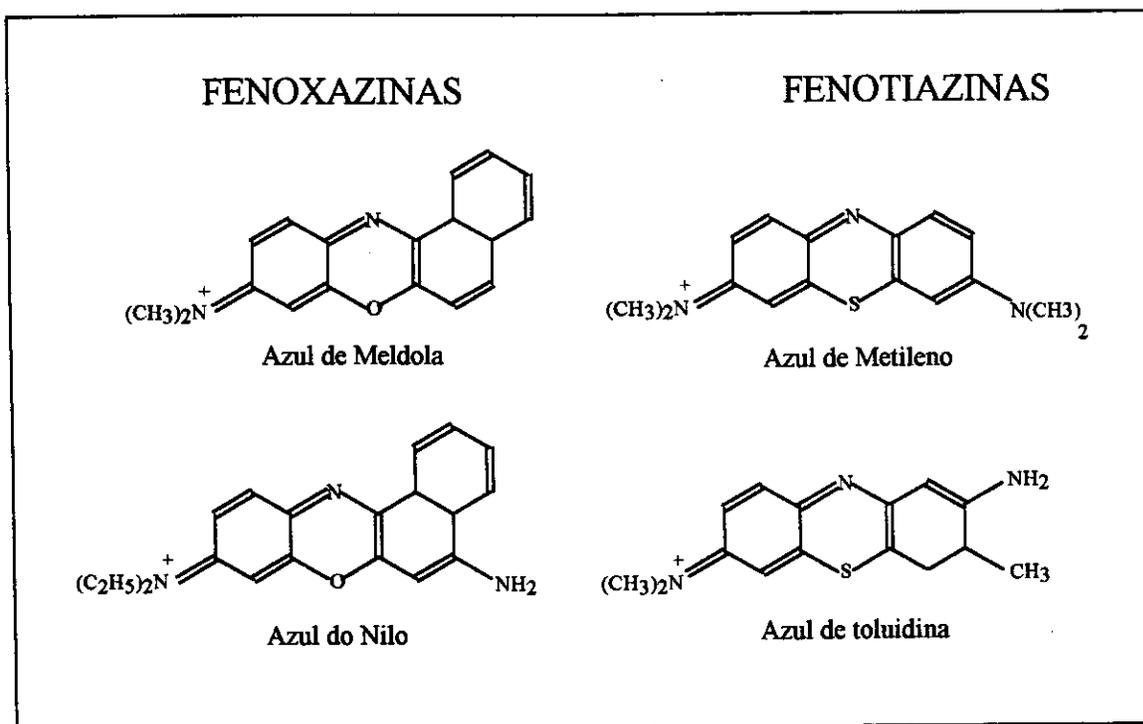


Figura 4: Corantes orgânicos com propriedades redox utilizados como mediadores de elétrons.

A reação redox em solução aquosa para os derivados das fenazinas, fenotiazinas e fenoxazinas ocorrem com a participação de dois elétrons. O número total de prótons que também participam do processo redox, assim como potencial formal, E° , de um determinado corante varia de acordo com os grupos funcionais do esqueleto aromático e com o pH do meio [41].

L. Gorton e colaboradores estudaram extensivamente o comportamento dessas classes de corantes, verificando a relação entre a estrutura e o comportamento eletroquímico destes quando adsorvidos [42-45]. Foi verificado que tais tipos de corantes são especialmente eficazes na oxidação catalítica do cofator NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma reduzida). A oxidação eletroquímica do NADH é de grande importância no desenvolvimento de biossensores amperométricos, pelo fato de que mais de 450 enzimas redox são NAD^+ - dependentes. Para esta classe de enzimas a maneira usual de se detectar a quantidade do substrato correspondente é indiretamente através da quantidade de NADH gerado no meio reacional.

1.5) *Técnicas eletroquímicas utilizadas para o estudo de eletrodos quimicamente modificados*

1.5.1) *Voltametria cíclica*

A voltametria cíclica é provavelmente uma das técnicas eletroanalíticas mais versáteis para o estudo de espécies eletroativas em solução ou imobilizadas sobre eletrodos, fornecendo informações tanto quantitativas quanto qualitativas sobre sistema. Esta versatilidade combinada com a facilidade na medida tem resultado num extensivo uso da voltametria cíclica nos campos da eletroquímica, química inorgânica e bioquímica. O voltamograma resultante é análogo a um espectro convencional, o qual fornece informações de uma determinada espécie como função de uma varredura de potencial [2,46,47].

Esta técnica consiste em submeter um eletrodo, denominado eletrodo de trabalho, a um potencial de forma de onda triangular (sinal de excitação). O voltamograma cíclico é obtido através da medida de corrente neste eletrodo durante a varredura de potencial. A corrente pode ser considerada o sinal de resposta a aplicação deste potencial.

Geralmente em um experimento de voltametria cíclica, são utilizados três eletrodos: o *eletrodo de trabalho*, no qual a reação de interesse está localizada num potencial aplicado, medido relativamente a um *eletrodo de referência* (os mais utilizados são o eletrodo de calomelano saturado e Ag/AgCl) no qual não há fluxo de corrente, sendo o circuito completo por um *eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo*, normalmente um fio de platina.

Em um voltamograma cíclico típico os principais parâmetros de interesse medidos são os valores dos potenciais de pico anódico e catódico, E_{pa} e E_{pc} respectivamente, as correntes de pico, I_{pa} e I_{pc} e a diferença entre os potenciais de pico $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$. O potencial de pico médio pode ser obtido através da média entre os potenciais de pico ($E_m = (E_{pa} + E_{pc})/2$). Um voltamograma cíclico típico para espécies redox em solução, que apresentam comportamento controlado por difusão, está demonstrado na Figura 4.

Observa-se que quando o potencial torna-se positivo o suficiente para que ocorra a oxidação da espécie em solução, E_{pa} (que depende da espécie), há um aumento da corrente anódica, I_{pa} (proporcional à concentração da espécie) até atingir um máximo. Como a concentração da espécie reduzida na interface eletrodo-solução nesta etapa torna-se muito pequena, observa-se um decréscimo significativo da corrente após ter sido atingido o máximo, pois o passo determinante vem a ser agora a difusão da espécie eletroativa ao eletrodo. Quando invertida a varredura de potencial, no sentido catódico (para potenciais mais negativos) a espécie é então reduzida observando-se novamente um aumento de corrente, I_{pc} , a um determinado potencial, E_{pc} .

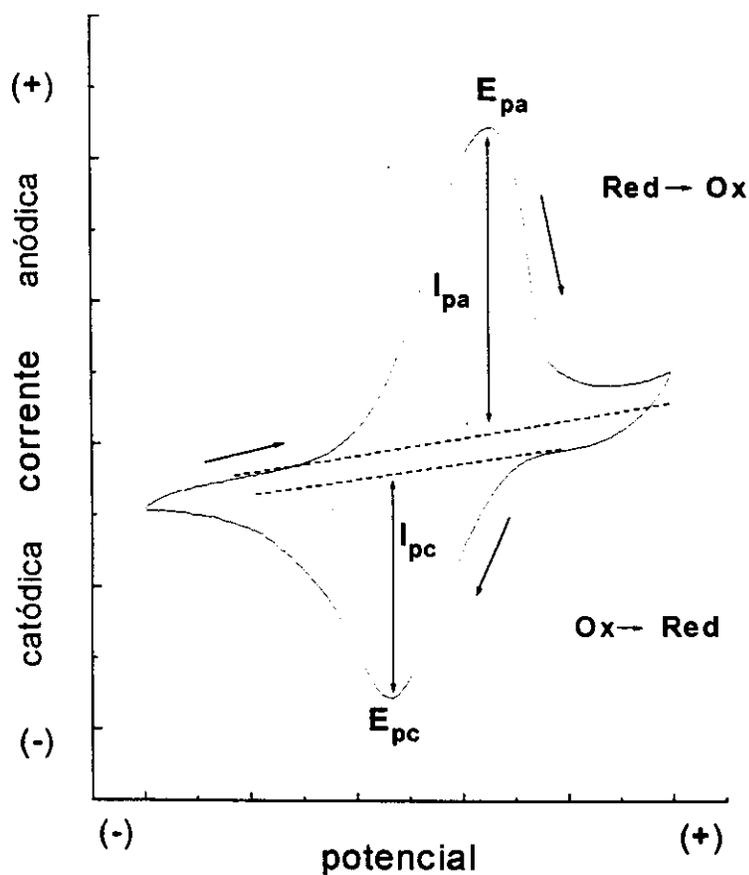


Figura 5: Voltamograma cíclico típico de espécies redox em solução e os principais parâmetros obtidos a partir deste.

Em sistemas eletroquimicamente reversíveis, a relação I_{pa}/I_{pc} é igual a 1 e a separação entre os potenciais de pico é de $\Delta E_p = 59/n$ (onde n é o número de elétrons envolvidos na semi reação) e esta separação mantém-se constante com a velocidade de varredura. Valores maiores que este e um aumento do ΔE_p com a velocidade de varredura indicam que o processo de

transferência de elétrons no eletrodo é lento. A corrente de pico em ampères para espécies em solução é dada pela equação:

$$I_p = (2,69 \times 10^5) \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2}$$

onde n é o número de elétrons transferidos; A é a área do eletrodo em cm^2 ; D é o coeficiente de difusão em cm^2/s , C é a concentração da espécie eletroativa no seio da solução em mol/cm^3 e v a velocidade de varredura em $(\text{V} \cdot \text{s}^{-1})$.

Para sistemas onde a espécie redox encontra-se imobilizada sobre o eletrodo a análise do voltamograma é análoga a anterior porém neste caso não há difusão da espécie eletroativa para o eletrodo. A corrente de pico, I_p , é então dada pela seguinte equação:

$$I_p = n^2 \cdot F^2 \cdot \Gamma \cdot v / 4RT$$

onde Γ ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2}$) é denominado rugosidade eletroquímica, expressa em carga por unidade de área, e constitui o número de espécies imobilizadas na superfície do eletrodo que realmente participam do processo redox, obtido pela seguinte equação:

$$\Gamma = Q / nFA$$

onde Q é a carga e F a constante de Faraday.

Além disso, não existe diferença entre os potenciais de pico, $\Delta E_p = 0$. Este comportamento não foi observado para os eletrodos modificados à base de sílica gel e com o fosfato de zircônio. Os voltamogramas apresentaram um aspecto semelhante aos obtidos para os sistemas controlados por difusão ($\Delta E_p > 0$). Tal fenômeno ocorre provavelmente devido a resistência causada pela própria matriz quando presente na pasta de carbono, dificultando assim o processo de transferência eletrônica ou mesmo devido a dificuldade de difusão do eletrólito suporte através da interface eletrodo-solução para compensação da carga.

1.5.2) Cronoamperometria

Os cronométricos são métodos eletroanalíticos nos quais a dependência de um sinal elétrico é medida em função do tempo. Os parâmetros elétricos medidos podem ser: corrente (como no caso da cronoamperometria) no qual o processo é iniciado por um pulso de potencial; ou pode ser o potencial (cronopotenciometria), no qual o processo por sua vez é iniciado por um fluxo de corrente [48].

A cronoamperometria a potencial constante é a classe das medidas eletroanalíticas nas quais a medida de corrente que flui através do eletrodo de trabalho é monitorada em função do tempo, a um potencial fixo onde ocorre a reação redox do substrato de interesse. Em sistemas onde a espécie eletroativa encontra-se adsorvida sobre a superfície do eletrodo como no caso dos eletrodos quimicamente modificados, quando aplicado um potencial fixo, ocorre a redução ou oxidação total do mediador, a corrente então estabiliza-

eletroquímica a espécie (substrato) a qual deseja-se determinar, observa-se uma variação de corrente devido ao processo catalítico (demonstrado na Figura 2). Se a corrente observada apresentar uma correlação linear com a concentração do substrato, tal eletrodo modificado pode ser utilizado como sensor amperométrico.

A equação fundamental da cronoamperometria é dada pela equação de Cottrel:

$$I_d = n \cdot F \cdot A \cdot C \cdot D^{1/2} \cdot \pi^{-1/2} \cdot t^{-1/2}$$

para um controle de difusão linear de corrente em um eletrodo estacionário, onde t constitui o tempo de medida.

A técnica de cronoamperometria, além de ser uma importante ferramenta analítica, é também uma técnica bastante útil para medidas de coeficientes de difusão, velocidades de processos de eletrodos, parâmetros de adsorção e velocidades de reações acopladas.

1.6) Objetivos

Este trabalho tem como objetivo a utilização do fosfato de zircônio, um trocador iônico, como matriz para imobilização de corantes orgânicos eletroativos solúveis em meio aquoso, no desenvolvimento de novos eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados.

Para tanto, dois tipos de corantes, o Azul do Nilo e o Azul de Metileno serão imobilizados sobre o fosfato de zircônio através de uma reação de troca iônica, entre os prótons dos grupos fosfato e os corantes catiônicos. Serão então estudadas as características eletroquímicas dos corantes sobre a superfície através da técnica de voltametria cíclica utilizando-se eletrodo de pasta de carbono modificado com o respectivo material.

Posteriormente, serão verificadas as potencialidades eletrocatalíticas dos corantes imobilizados, para o desenvolvimento de sensores amperométricos, utilizando-se substratos tais como o ácido ascórbico e o cofator NADH.

2) PARTE EXPERIMENTAL

2.1) Síntese do Fosfato de Zircônio (ZP)

O fosfato de Zircônio foi preparado segundo método descrito na literatura [49], através da adição de 1 M do ácido fosfórico (1L) a uma solução 0,1 M do oxicloreto de zircônio (500 mL) lentamente e sob agitação, a temperatura ambiente. O precipitado gelatinoso formado foi filtrado, lavado com água bidestilada e seco em estufa a 330 K por 4 horas.

2.2) Imobilização dos corantes Azul de metileno (MB) e Azul do Nilo (NB) sobre o fosfato de zircônio (ZP)

Cerca de 0,150 g do fosfato de zircônio foram imersos em 50 mL de uma solução aquosa $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ dos corantes (a solução do Azul do Nilo foi preparada em 1:1 etanol/água). Esta mistura foi agitada por 30 minutos e após este período, o sólido resultante foi então filtrado e lavado diversas vezes com água bidestilada (para retirar o excesso do corante não imobilizado) e seco em estufa a 330 K por 30 minutos. A quantidade de MB e NB imobilizados foi respectivamente cerca de 0,33 e 0,41 mmol g^{-1} .

2.3) Preparação do eletrodo de pasta de carbono

A pasta de carbono foi preparada através da mistura de 50 mg do grafite (Fluka) e 50 mg dos corantes imobilizados sobre o ZP e adição de 2 gotas de óleo mineral (Nujol). Esta proporção foi utilizada pois apresentou, em testes preliminares, melhor resposta de corrente.

A pasta foi então depositada na extremidade do eletrodo de trabalho, esquematizado abaixo:

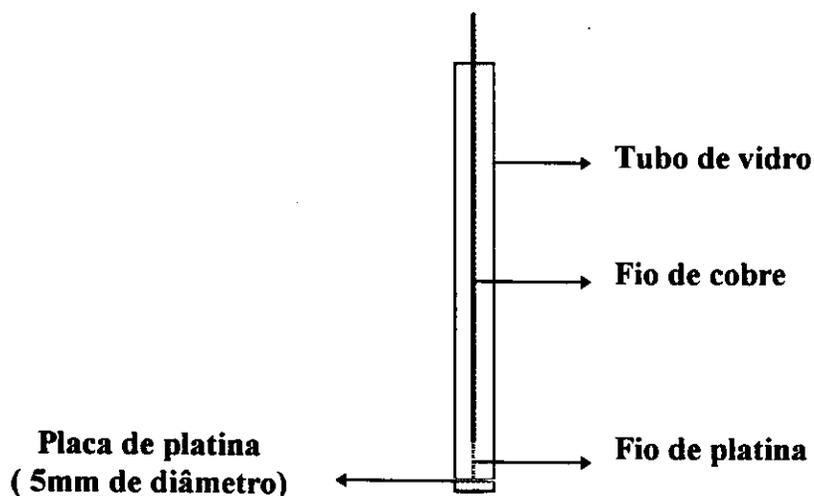


Figura 6: Eletrodo de pasta de carbono

2.4) Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato / galvanostato Modelo 273A / PAR, conectado a um microcomputador para aquisição de dados via software da PAR versão 4.11.

Em uma cela de três eletrodos, foram utilizados eletrodo de calomelano saturado como eletrodo de referência, contra eletrodo de platina e eletrodo

pasta de carbono como eletrodo de trabalho. Todas as medidas foram realizadas em atmosfera de argônio puro e temperatura ambiente.

As propriedades eletroquímicas dos corantes imobilizados sobre o fosfato de zircônio foram investigadas através das técnicas de voltametria cíclica e cronoamperometria. Foram realizados experimentos em solução de KCl 0,5 M a diferentes pHs (ajustados com soluções de KOH ou HCl) e em diferentes soluções e concentrações do eletrólito suporte. Em todas as medidas o volume destas soluções, adicionado à cela eletroquímica, foi de 20 mL.

As propriedades eletrocatalíticas dos respectivos eletrodos modificados foram testadas utilizando-se ácido ascórbico (Merck) e NADH (Sigma 98% de pureza) como substratos. Tais soluções foram preparadas no mesmo dia em que foram utilizadas.

2.5) Determinação de ácido ascórbico (H_2AA)

2.5.1) Obtenção da curva de calibração para H_2AA por cronoamperometria

A resposta do eletrodo modificado com ZPMB para ácido ascórbico foi testada utilizando-se a técnica de cronoamperometria. Para obtenção da curva de calibração, foi preparada uma solução padrão de ácido ascórbico de 0,01 M. Na cela eletroquímica, contendo 20 mL de solução de KCl 0,1 M a pH 6, foram adicionadas sucessivas alíquotas de 200 μ L da solução padrão até completar 1 mL, aplicando-se um potencial fixo de 250 mV vs SCE. A curva de calibração obtida foi utilizada para determinação de ácido ascórbico

curva de calibração obtida foi utilizada para determinação de ácido ascórbico em pastilhas de Vitamina C (1g/tablete).

2.5.2) Determinação de H₂AA em pastilhas de Vitamina C (1g/tablete)

Dissolveu-se cada pastilha (~ 4 g) em água bidestilada e completou-se o volume a 50 mL (solução A). A resposta cronoamperométrica foi obtida adicionando-se 200 µL da solução A na cela contendo 20 mL da solução de KCl 0,1 M a pH 6, em atmosfera de argônio, aplicando-se um potencial fixo de 250 mV vs SCE.

2.5.3) Determinação de H₂AA por volumetria com KIO₃

Para efeito de comparação dos resultados obtidos por cronoamperometria utilizando-se o eletrodo modificado com ZPMB, realizou-se a determinação do ácido ascórbico em pastilhas de vitamina C pelo método de volumetria [50]. Para tanto, dissolveu-se a pastilha (~ 4 g) com água bidestilada e completou-se o volume a 500 mL. Desta solução, transferiu-se 50 mL para outro balão volumétrico e adicionou-se 50 mL HCl 1M, 1mL de hidroxiquinolina a 5% e completou-se com H₂O bidestilada a 250 mL. Transferiu-se 5 mL desta solução para um béquer de 50 mL ao qual adicionou-se 1,0 mL de KI 10% e 2,0 mL de amido 1%. Titulou-se a solução resultante com KIO₃ 1,667 x 10⁻³ M.

2.6) Determinações de NADH por cronoamperometria

Para a construção da curva de calibração do NADH, foi preparada uma solução padrão de concentração 0,01M do mesmo. Foram então adicionadas alíquotas de 100 μ L desta solução na cela eletroquímica, contendo 10 mL da solução do eletrólito suporte KCl 0,1 M, pH ajustado em 7. As correntes apresentadas foram então medidas para cada adição do NADH.

3) RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1) Características da matriz de fosfato de zircônio (ZP)

O fosfato de zircônio foi preparado segundo método descrito na literatura [49].

A análise química do material indicou que a composição do mesmo (em % massa) é de: $ZrO_2 = 33,7$, $P_2O_5 = 18,87$ e $H_2O = 46$, correspondente a seguinte relação estequiométrica :



O material apresentou uma área superficial $S_{BET} = 326 \pm 2 \text{ m}^2 / \text{g}$ e tamanho médio de poros de $0,0115 \text{ }\mu\text{m}$. De acordo com o difratograma de raio X, obtido pelo método de pó, o ZP preparado apresenta-se na sua forma amorfa.

O fosfato de zircônio é um trocador iônico que apresenta forte caráter ácido, com grande poder de adsorção de íons com carga positiva [36-38]. Os corantes Azul de Metileno e Azul do Nilo, por sua vez, quando em solução, apresentam-se na sua forma oxidada e possuem carga positiva [41].

Dessa forma, a adsorção dos presentes corantes sobre o ZP, ocorre portanto, através de uma reação de troca iônica entre os indicadores redox catiônicos e próton dos grupos fosfato.

A reação pode ser descrita de maneira simplificada como abaixo:



onde ZPH corresponde ao material na sua forma ácida, M^+ o corante na forma catiônica e ZPM o fosfato de zircônio com o corante imobilizado.

A quantidade de MB e NB imobilizados sobre o ZP foi de 0,33 e 0,41 mmol g^{-1} respectivamente, obtida através da análise elementar.

Este material, ZPM, foi incorporado à pasta de carbono e foram então realizados estudos eletroquímicos através das técnicas de voltametria cíclica e amperometria.

3.2) Azul de Metileno (MB)

3.2.1) Características do eletrodo

A Figura 7 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodos modificados ZP e ZPMB em KCl 0,5 M, pH 6 e velocidade de varredura de 10 mVs^{-1} . Realizando-se a varredura de potencial entre -100 a 400 mV vs SCE utilizando-se apenas ZP incorporado à pasta, não observou-se definição de correntes de pico. Um pequeno sinal de corrente observado pode ser atribuído a difusão dos íons do eletrólito na matriz, devido as suas propriedades condutoras [38]. Entretanto, utilizando-se o eletrodo modificado com ZPMB e realizando-se a varredura na mesma faixa de potencial anterior (-100 a 400 mV vs SCE), o voltamograma apresentou um par de picos bem definidos correspondentes ao processo de transferência de elétrons do mediador sobre a matriz, com um $E_m = 150 \pm 10 \text{ mV vs SCE}$ e uma separação entre os potenciais de pico de $\Delta E_p = 100 \text{ mV}$.

Comparando-se este valor de potencial com o potencial formal $E^{0'}$ do mesmo quando livre em solução, o qual varia entre -100 a - 400 mV vs SCE entre pHs 4-11 [51], observou-se um significativo deslocamento do potencial na direção positiva para o MB imobilizado. Um deslocamento do potencial do composto redox em solução comparado com o mesmo adsorvido ou imobilizado sobre um suporte, evidencia que as forças de interação com o suporte diferem entre as formas oxidada e reduzida [52]. Tal comportamento é uma indicação que determinados grupos funcionais da molécula apresentam interações específicas com o material do eletrodo.

De acordo com a literatura [53], têm sido demonstrado que corantes do tipo fenoxazinas e fenotiazinas, tais como o MB, quando adsorvidos sobre eletrodos de grafite, um deslocamento de cerca de -50 a -100 mV é geralmente observado, indicando que a forma oxidada interage mais fortemente com a matriz de grafite que a forma reduzida.

Em contraste, no presente caso, quando o MB encontra-se imobilizado sobre o ZP, um deslocamento de cerca de 300 mV na direção positiva é observado. Tal deslocamento sugere que a forma reduzida do corante interage mais fortemente com a matriz que a forma oxidada. Uma possível explicação para este comportamento está na alta acidez da matriz ZP, uma vez que foi constatado que o E_m obtido para o MB sobre o ZP é similar ao observado quando o mesmo encontra-se presente em soluções ácidas.

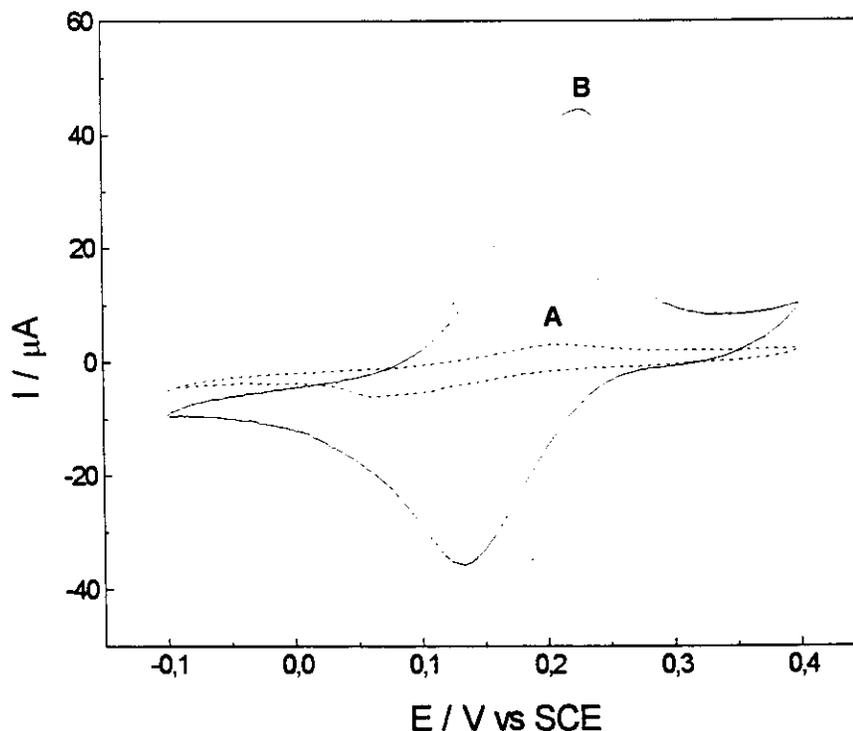


Figura 7: Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se eletrodo de pasta de carbono modificado com (A) ZP e (B) ZPMB em KCl 0,5 M , pH 6, a uma velocidade de varredura de 10 mVs^{-1} .

A estabilidade química do corante sobre a matriz foi verificada medindo-se os valores das correntes anódica e catódica em função do número de ciclos realizados, na faixa de potencial de -100 a 400 mV vs SCE, a uma velocidade de 20 mVs^{-1} em KCl 1 M (Figura 8).

As intensidades das correntes de pico apresentaram um decréscimo de apenas 3% da corrente inicial, indicando que o MB não é lixiviado ou decomposto durante as condições experimentais. A alta estabilidade do eletrodo modificado ZPMB possibilita o seu futuro uso como sensor eletroquímico.

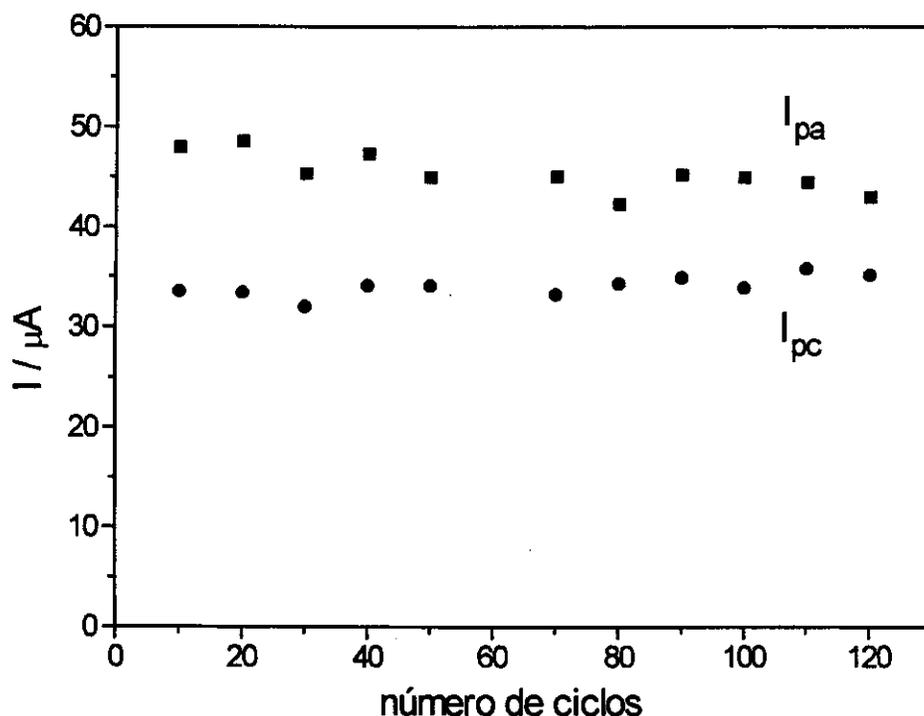


Figura 8: Estabilidade do eletrodo (eletrólito suporte = KCl 1M e velocidade de varredura $v = 20 \text{ mVs}^{-1}$)

3.2.2) Estudos de voltametria cíclica

Os voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura indicaram que a separação entre os potenciais de pico, ΔE_p , aumenta a medida que aumenta a velocidade de varredura, como pode ser observado através da Figura 9 e dados da Tabela I. Tal comportamento é uma indicação de que a cinética de transferência de elétrons na superfície do eletrodo não é suficientemente rápida. Isto pode ser consequência da dificuldade de difusão das espécies do eletrólito através da interface eletrodo-solução para o balanceamento de cargas [2]

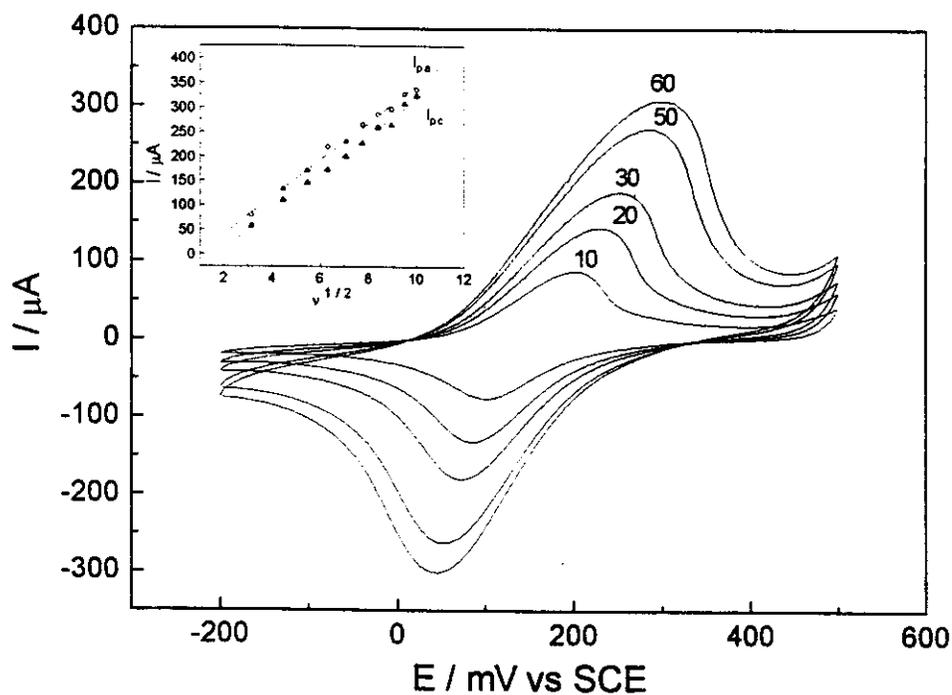


Figura 9: Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se EPC modificado com ZPMB em KCl 0,5 M em diferentes velocidades de varredura. Gráfico inserido mostra a dependência entre as correntes I_{pa} e I_{pc} com $v^{1/2}$.

Tabela I: Parâmetros ciclovoltagemétricos do MB imobilizado em diferentes velocidades de varredura.

v/mVs^{-1}	E_{pa}/mV	E_{pc}/mV	E_m/mV	$\Delta E_p/mV$	$I_{pa}/\mu A$	$I_{pc}/\mu A$
10	200	100	150	100	97,5	- 60,9
20	228	84	156	144	153,7	-110,8
30	248	74	161	174	203,9	-143,7
40	266	62	164	204	245,5	-180,4
50	284	50	167	234	283,9	-205,8
60	300	46	173	254	319,2	-229,6

Eletrólito suporte: KCl 0,5 M, pH = 6 e v = velocidade de varredura

A correlação linear entre as correntes de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura (I_p vs $v^{1/2}$), mostrada na Figura 9 inserida, indica que o sistema apresenta comportamento similar aqueles onde o processo é controlado pela difusão das espécies eletroativas à superfície do eletrodo [46]. Este resultado pode sugerir que as espécies são desorvidas do eletrodo durante o processo redox. No entanto, deve ser lembrado que estas encontram-se fortemente aderidas a matriz (como demonstrado anteriormente), não sendo observado lixiviação, mesmo quando o eletrodo permaneceu por longo período de tempo imerso na solução do eletrólito suporte, em circuito aberto. Tal comportamento pode ser decorrente do transporte dos íons do eletrólito suporte através da interface eletrodo - solução para compensação de carga [31]. Por exemplo, aumentando-se a concentração do eletrólito suporte KCl, observou-se uma significativa diminuição da separação entre os potenciais de pico (Figura 10) e um aumento das correntes de pico, resultado típico de sistemas onde o processo de transporte de carga é realizado pelas espécies iônicas do eletrólito suporte. Dessa forma, quanto maior a concentração do eletrólito suporte, mais eficiente o processo de transferência eletrônica e portanto maior a resposta de corrente e menor a separação entre os potenciais de pico. Resultados similares a estes foram observados para a ftalocianina de ferro e o corante Meldola's Blue, ambos imobilizados sobre sílica modificada [31,54].

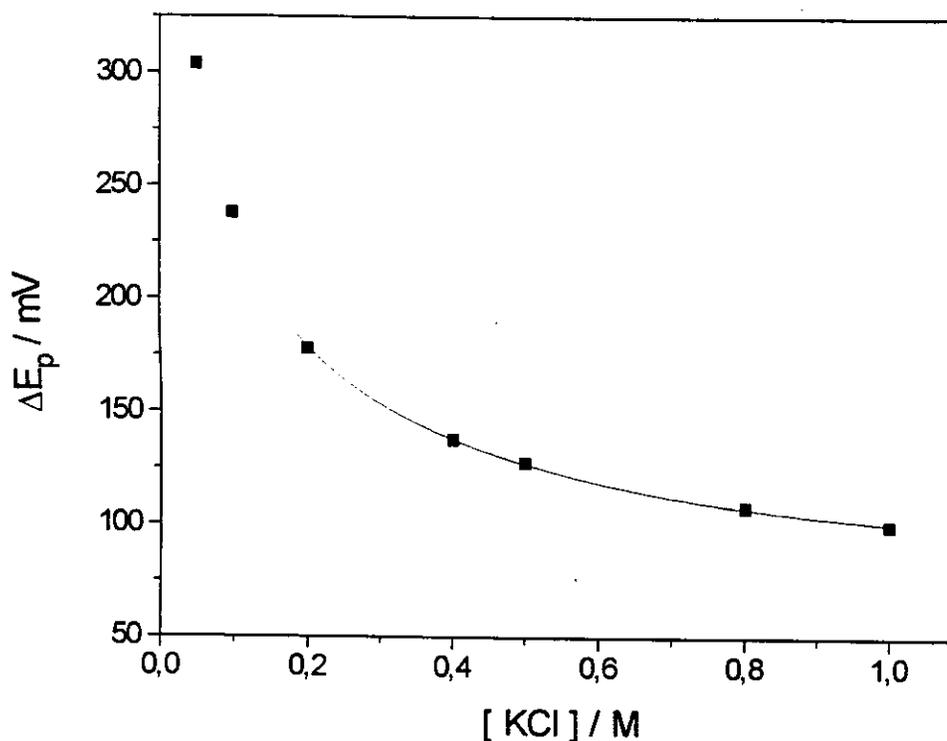


Figura 10: Dependência entre o ΔE_p e a concentração do eletrólito suporte.

A natureza dos íons do eletrólito suporte, principalmente dos cátions do eletrólito, são parâmetros de considerável importância neste sistema, uma vez que estes podem ser envolvidos no processo de troca iônica com a matriz. Entretanto, estudos em diferentes cátions do eletrólito (mantendo-se o ânion fixo) não demonstraram uma influência significativa no E_m , cujos valores variaram entre 130 e 150 mV vs SCE. Também a natureza do ânion do eletrólito não afetou os potenciais médios E_m e a forma dos voltamogramas. Neste caso, a alta densidade de carga negativa na superfície da matriz fosfato de zircônio, pode estar provocando uma repulsão dos ânions do eletrólito e tal repulsão é maior que o poder de interação entre os ânions e a espécie eletroativa, no caso o MB, não permitindo dessa forma a

aproximação destes a superfície do eletrodo. Na Tabela II estão listados os potenciais médios, E_m , para alguns eletrólitos.

Tabela II: Potenciais médios do ZPMB em diferentes eletrólitos suporte, de concentração 0,5 M, a uma velocidade de varredura de 10 mVs⁻¹.

eletrólitos	E_m / mV vs SCE
LiCl	130±10
NaCl	130±10
KCl	150±10
NH ₄ Cl	140±10
NaAc	130±10
NaNO ₃	130±10
NaHSO ₄	150±10

Para estudos posteriores, escolheu-se KCl com eletrólito suporte.

Como a reação do azul de metileno envolve a participação de prótons, esta apresenta-se bastante sensível a mudanças no pH do meio. Neste caso, a influência do pH no valor do potencial E_m apresenta grande importância no estudo do comportamento do presente eletrodo modificado.

Um aspecto interessante observado durante o estudo de pH, foi a não dependência do E_m com o pH do meio. Verificou-se que realizando-se medidas na faixa de pH 1 a 9, não houve um deslocamento significativo do potencial médio E_m , nem mudança na forma dos voltamogramas. Este resultado difere significativamente do observado para o MB em solução [55] e adsorvido em eletrodos de grafite [51] ou imobilizado sobre matrizes poliméricas [56,57], tais como o Nafion, sistemas nos quais existe uma extrema dependência entre o E_m e o pH. Em tais sistemas observa-se deslocamentos de cerca de 30, 60 ou 90 mV por unidade de pH, dependendo do número de H^+ participantes da reação redox. A Figura 11 mostra uma comparação entre o comportamento do corante em solução, adsorvido sobre o eletrodo de grafite e imobilizado sobre o fosfato de zircônio em diferentes pHs da solução do eletrólito suporte. Observa-se pela Figura 11, que para o MB imobilizado sobre o ZP o E_m apresenta apenas uma pequena dependência com o pH, enquanto que para o MB em solução e adsorvido esta dependência é bastante significativa, apresentando uma descontinuidade na reta em torno de pH 6. Nestes casos, em pHs < 6, o deslocamento do E_m com o pH é em torno de 90 mV, indicando que $3H^+$ estão envolvidos no processo redox nestas condições de pH, enquanto que em pH > 6 este deslocamento é de apenas 30 mV ($1H^+$ envolvido no processo redox).

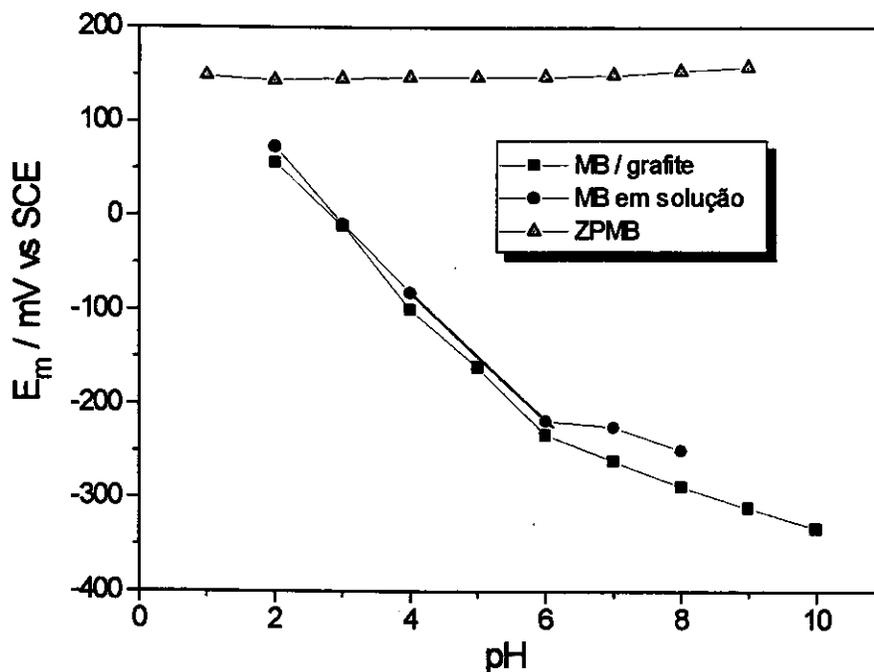


Figura 11: Dependência entre o E_m e o pH para o azul de metileno em solução, imobilizado sobre o eletrodo de grafite e sobre o fosfato de zircônio.

Em meios mais básicos, a forma oxidada do MB apresenta-se mais estável e o deslocamento de potencial ocorre na direção negativa, enquanto que em meios mais ácidos a forma reduzida encontra-se mais estabilizada sobre o eletrodo e este deslocamento ocorre na direção positiva de potencial.

As reações redox que ocorrem na molécula de MB em diferentes pHs, quando em solução ou imobilizada sobre eletrodos de grafite estão demonstradas Figura 12.

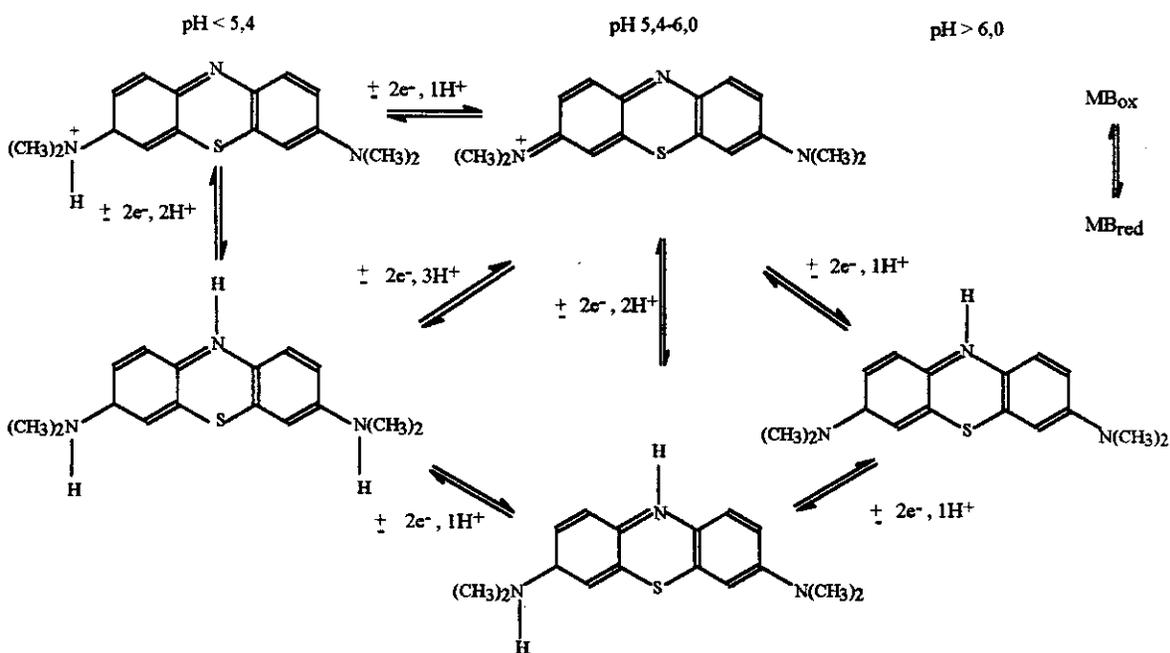


Figura 12: Comportamento redox do azul de metileno em diferentes pHs [55].

A pouca dependência do E_m com o pH para o MB imobilizado sobre o ZP sugere que a molécula de MB encontra-se fortemente envolvida por ligações eletrostáticas, presa entre as lamelas da matriz hospedeira, tornando-a pouco sensível a mudanças no pH do meio. Além disso, provavelmente os grupos amina nas posições 3 e 7 assim como o nitrogênio heterocíclico da molécula devem estar envolvidos na ligação ao fosfato de zircônio, uma vez que a dependência do E_m com o pH quando o corante encontra-se em solução ou adsorvido sobre o eletrodo de grafite é descrita como sendo devido ao processo de protonação e desprotonação destes grupos funcionais, na conversão entre as formas oxidada e reduzida.

Tal comportamento pode ainda indicar que quando adsorvido sobre o ZP o MB encontra-se totalmente protonado. Como pode ser observado, ainda através da Figura 11, o MB sobre o ZP apresenta um E_m próximo ao observado para o mesmo em solução e sobre eletrodo de grafite, quando em pHs baixos.

Claramente, os íons H^+ não estão envolvidos no processo redox, entretanto o mecanismo no qual se apoia esta observação ainda não está totalmente esclarecido.

É importante enfatizar que o valor praticamente constante do E_m em diferentes pHs para o eletrodo modificado com ZPMB, é do ponto de vista prático, de grande importância pois permite a sua utilização na construção de sensores químicos para amostras reais, onde o pH apresenta um importante papel e muitas vezes não pode ser modificado para otimizar a resposta do eletrodo. Além disso, uma grande desvantagem ao se trabalhar com corantes do tipo quinóides (como no caso das fenoxazinas e fenotiazinas) como mediadores, para os quais a reação redox envolve a participação de prótons, está na extrema dependência do potencial com o pH. Isto não ocorre, com mediadores não protônicos (onde o processo redox não envolve a participação de prótons), como por exemplo o ferroceno e complexos de $Os^{3+/2+}$ [58] extensivamente utilizados como mediadores de elétrons na construção de eletrodos modificados. Em tais sistemas o E_m permanece independente do pH, enquanto que para um mediador do tipo quinóide, o potencial aplicado precisa ser ajustado de acordo com o pH do meio.

Outra característica também de grande importância na construção de sensores para amostras reais consiste na estabilidade das correntes de pico

com o pH. Neste caso, foi também observado que os valores das correntes de pico, tanto anódica quanto catódica, mantiveram-se praticamente constantes em soluções de diferentes pHs, como pode ser observado através da Figura 13.

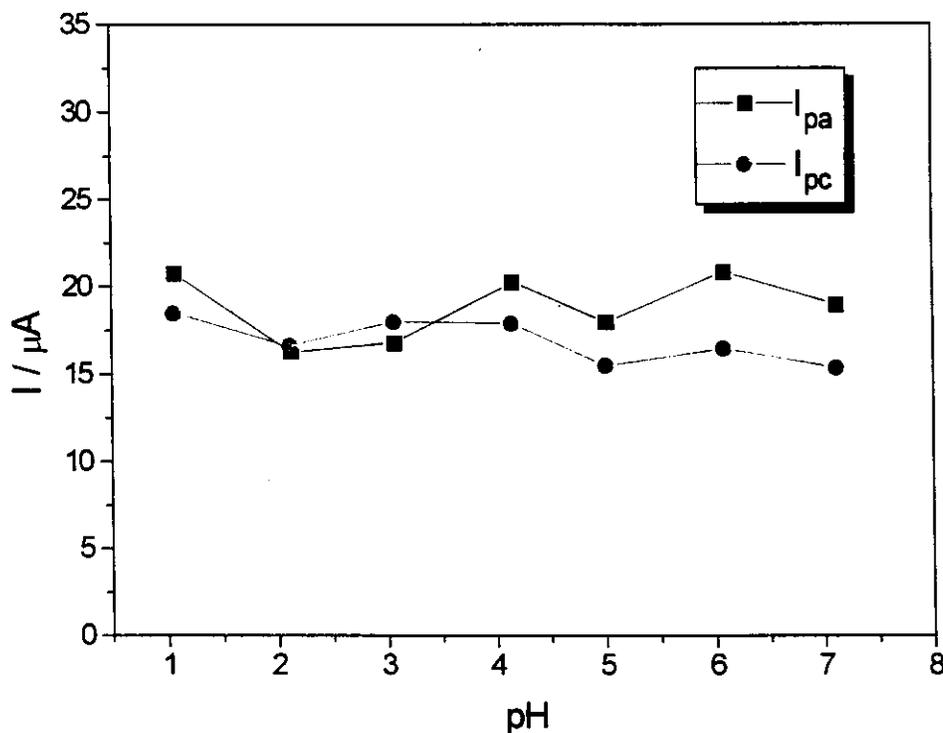


Figura 13: Dependência das correntes de pico, I_{pa} e I_{pc} com o pH da solução do eletrólito suporte KCl 0,5 M, para o eletrodo modificado com ZPMB.

Como a reação redox de tais corantes envolve a participação de prótons, com a diminuição do pH, maior o número de prótons presentes no meio e portanto mais eficiente o processo de transferência de elétrons e consequentemente maior a corrente observada. Entretanto observa-se, que neste caso, tal fenômeno não ocorre, a corrente permanece constante com o pH. Este resultado reforça a hipótese de que quando imobilizado sobre o

fosfato de zircônio, o corante encontra-se totalmente protonado. A matriz ZP parece estar funcionando como uma espécie de proteção para a molécula contra os efeitos do pH da solução do eletrólito suporte.

3.2.3) Propriedades eletrocatalíticas do ZPMB - Eletrooxidação do ácido ascórbico

Com o intuito de se verificar as propriedades eletrocatalíticas do presente eletrodo, realizou-se estudos utilizando-se o ácido ascórbico, H₂AA, como substrato. A oxidação eletroquímica do H₂AA tem sido utilizada extensivamente como sistema modelo no estudo do efeito da modificação do eletrodo na sua atividade catalítica. Embora o ácido ascórbico apresente um potencial relativamente baixo ($E^{0'} = 54 \text{ mV}$), a sua oxidação eletroquímica em eletrodos metálicos e de carbono ocorre em altos sobrepotenciais e portanto sofrem a interferência de outras espécies oxidáveis, existentes em amostras biológicas [59]. A utilização dos chamados EQMs tem possibilitado eletrooxidar o ácido ascórbico em potenciais consideravelmente mais baixos em relação aos eletrodos não modificados [60-62].

A reação de oxidação do H₂AA ocorre segundo um processo eletroquímico - químico (uma reação de transferência de elétrons seguida de um processo de hidratação), no qual o ácido é oxidado irreversivelmente a ácido dehidroascórbico seguido de uma reação de hidratação, levando a formação do ácido dehidroascórbico hidratado [63,64].

Observa-se pela Figura 14A, que o voltamograma obtido com o ZP incorporado a pasta não apresenta picos de oxidação ou redução definidos. A oxidação do H_2AA neste eletrodo ocorre em 400 mV vs SCE (Fig. 14B). Entretanto, utilizando-se o eletrodo modificado com ZPMB, nota-se um aumento de corrente, após a adição do ácido, na mesma região do potencial de oxidação do corante redox (200 mV vs SCE), portanto cerca de 200 mV abaixo do potencial observado na sua ausência, comprovando dessa forma a atividade catalítica do MB immobilizado (Figuras 14C e 14D).

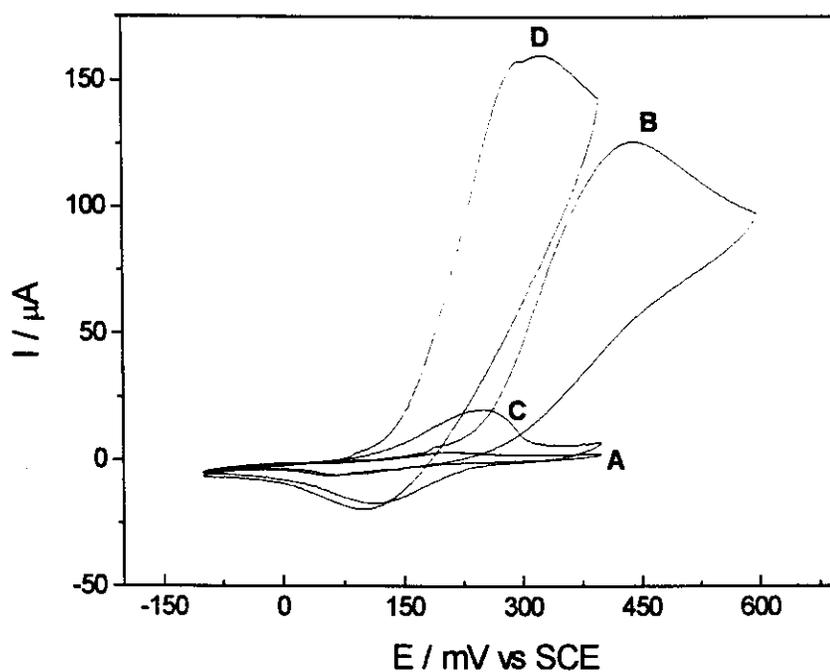


Figura 14: Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se eletrodo de pasta de carbono em 20 mL do eletrólito suporte KCl 0,5 M pH 6 a uma velocidade de varredura de 20 mVs^{-1} : (A) ZP na ausência de H_2AA e (B) ZP na presença de 5 mM de H_2AA , (C) ZPMB na ausência de H_2AA e (D) ZPMB na presença de H_2AA .

A reação catalítica ocorrida na interface eletrodo - solução pode ser descrita de maneira simplificada como abaixo:

na interface eletrodo - solução:



no eletrodo:



onde ZPMB_{ox} e ZPMB_{red} correspondem às formas oxidada e reduzida do MB sobre o fosfato de zircônio, respectivamente, H_2AA o ácido ascórbico e DHAA a forma oxidada do ácido (o ácido dehidroascórbico). A Figura 15 mostra a dependência entre a corrente anódica e a concentração de H_2AA na cela eletroquímica. Observa-se pela figura inserida que a corrente é proporcional a concentração do ácido.

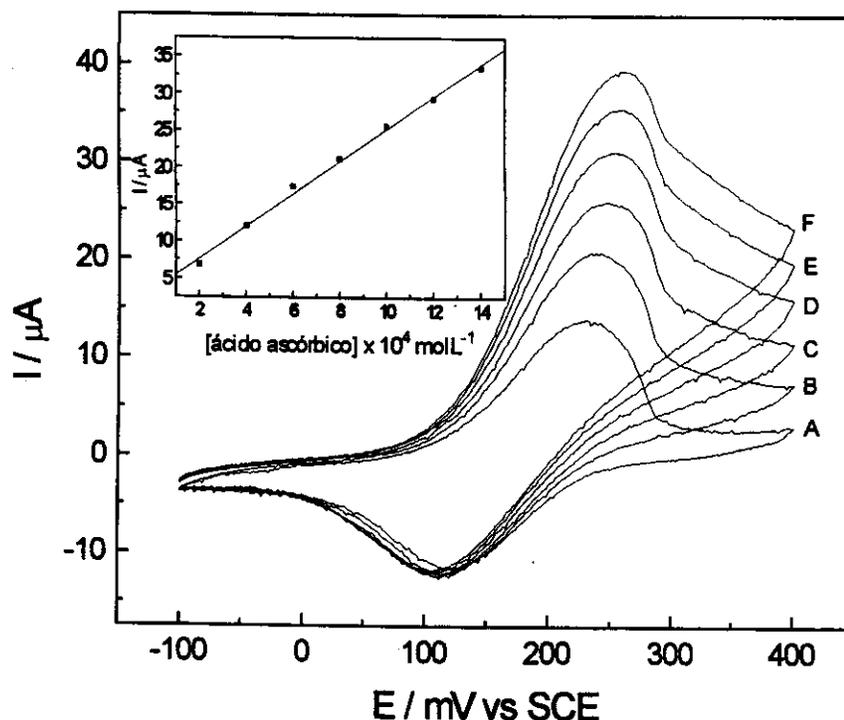


Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se eletrodo de pasta de carbono modificado com ZPMB em KCl 0,5M a uma velocidade de 20 mVs^{-1} (A) na ausência de H_2AA e na presença do ácido em concentrações: (B) 2×10^{-4} , (C) 4×10^{-4} , (D) 6×10^{-4} , (E) 8×10^{-4} e (F) $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$.

3.2.31) Estudos utilizando-se a técnica de cronoamperometria- Dependência da resposta do eletrodo em função do potencial aplicado

Primeiramente foi realizado um estudo para se determinar o potencial a ser aplicado de modo a se obter uma melhor resposta de corrente de oxidação do ácido. Para tanto, foram aplicados diferentes potenciais e então medidas as correntes catalíticas apresentadas para adições de uma quantidade fixa do ácido (as adições foram realizadas de modo que a concentração final do ácido fosse de $[\text{H}_2\text{AA}] = 1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$). É possível observar, através da

16, que a oxidação do ácido inicia-se em 100 mV vs SCE, atingindo entretanto uma máxima variação $\Delta I/\Delta E$ em 250 mV vs SCE. A partir deste potencial o aumento corrente passa a ser menos pronunciado, atingindo um patamar. Entretanto pode ser observado que o máximo de corrente ocorre em torno de 350 mV, diferentemente do obtido anteriormente pela técnica de voltametria cíclica (máximo em 250 mV). Esta diferença pode ser atribuída a adsorção dos produtos de oxidação do ácido ascórbico na superfície do eletrodo, necessitando que um potencial maior seja aplicado para que o ácido oxide. Na técnica de voltametria cíclica tal fenômeno não ocorre, pois através da varredura é possível “limpar” o eletrodo.

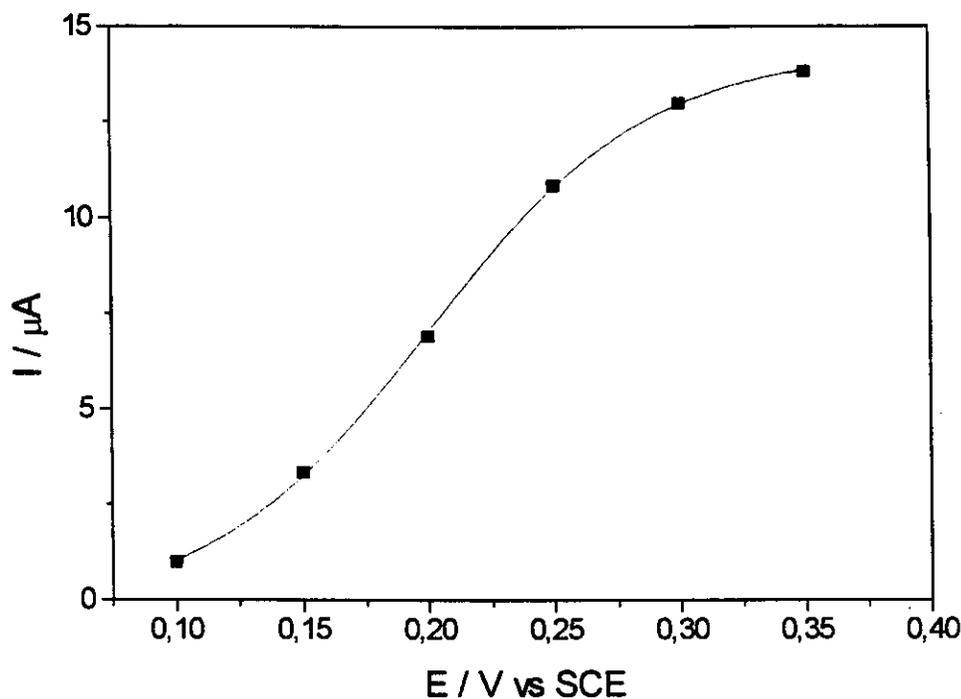


Figura 16: Dependência da resposta do eletrodo com o potencial aplicado em KCl 0,5 M pH 6 na presença de 1×10^{-3} M de H_2AA .

Para estudos de amperometria foi então possível fixar o potencial em 250 mV vs SCE. Este potencial, apesar de ser ainda relativamente alto e ainda sujeito à oxidação de outras espécies interferentes, é menor que o encontrado para alguns eletrodos utilizados na determinação do ácido ascórbico [65,66].

3.2.32) Dependência da resposta do eletrodo com o pH

O pH da solução do eletrólito apresenta considerável influência na reação de oxidação do ácido ascórbico [59]. Dessa forma, foram então realizados estudos da resposta do eletrodo em diferentes pHs. Para tanto, foram medidas as correntes catalíticas apresentadas para adições de uma quantidade fixa do ácido (de modo que a concentração final na cela eletroquímica fosse de $[H_2AA] = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$) em diferentes pHs da solução de KCl 0,5 M. Os resultados obtidos estão demonstrados na Figura 17.

Na faixa de pH entre 2,5 e 6, a corrente catalítica correspondente a oxidação do ácido no eletrodo modificado, permanece praticamente constante enquanto que em pHs abaixo de 2,5, um considerável decréscimo na resposta do eletrodo foi observado. Tal comportamento pode ser explicado com base no mecanismo de oxidação do ácido ascórbico. De acordo com a literatura, estudos realizados utilizando-se eletrodo de disco rotatório de grafite pirolítica, demonstraram que a oxidação do H_2AA é extremamente influenciada pelo pH da solução. Foi observado que a oxidação do ácido é mais favorecida em pH 7 que em pH 1. Este efeito de pH, é uma indicação de que a forma aniônica HAA^- (predominante em pHs mais altos) e não a forma neutra H_2AA , constitui a espécie eletroquimicamente ativa, diretamente

envolvida no processo de transferência de elétrons, sendo dessa maneira a oxidação do ácido mais favorecida em pHs mais altos neste tipo de eletrodo.

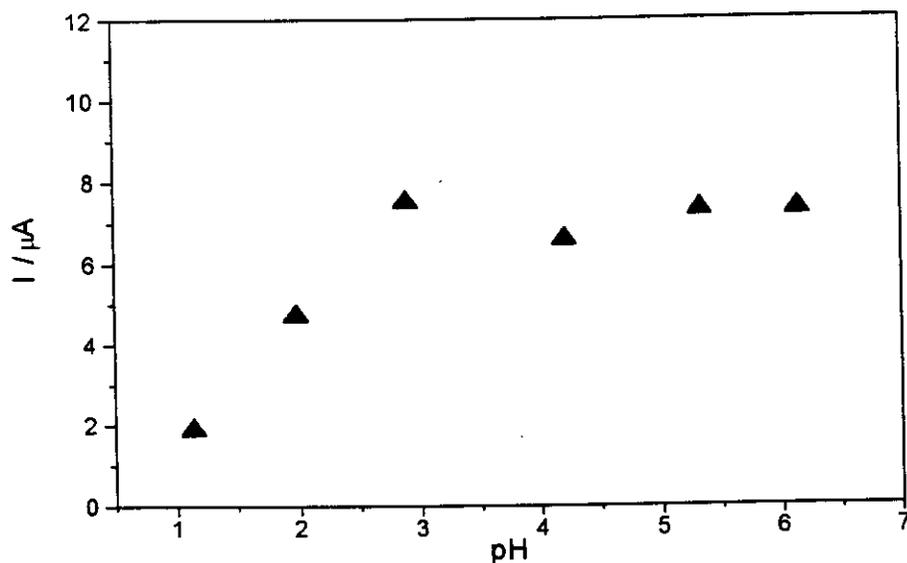
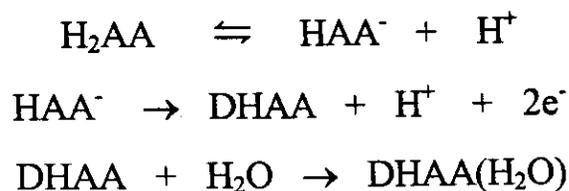


Figura 17: Influência do pH da solução do eletrólito suporte na resposta do eletrodo modificado com ZPMB, em presença do ácido ascórbico $1 \times 10^{-3} M$.

Resultados semelhantes foram obtidos por Aldaz e colaboradores em eletrodos de mercúrio e ouro [67,68]. Mecanismo semelhante pode estar ocorrendo no presente eletrodo. O mecanismo proposto está descrito abaixo:



onde H_2AA , HAA^- , DHAA e $\text{DHAA}(\text{H}_2\text{O})$ correspondem ao ácido L-ascórbico, a forma aniônica do ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico e o ácido dehidroascórbico hidratado, respectivamente. Em meios extremamente

ácidos, como pH 1, há uma predominância da forma neutra H_2AA , a qual é mais dificilmente oxidada no eletrodo, havendo dessa maneira um decréscimo significativo da corrente catalítica nestas condições.

3.2.33) Obtenção da curva de calibração para H₂AA por cronoamperometria

Fixando-se então o potencial em 250 mV vs SCE, foi obtida a curva de calibração por amperometria para H₂AA, através de adições sucessivas alíquotas de 200 µL de uma solução padrão do ácido de concentração [H₂AA] = 1x10⁻² molL⁻¹ em 10 mL da solução em KCl 0,1 M pH 6, demonstrada na Figura 18.

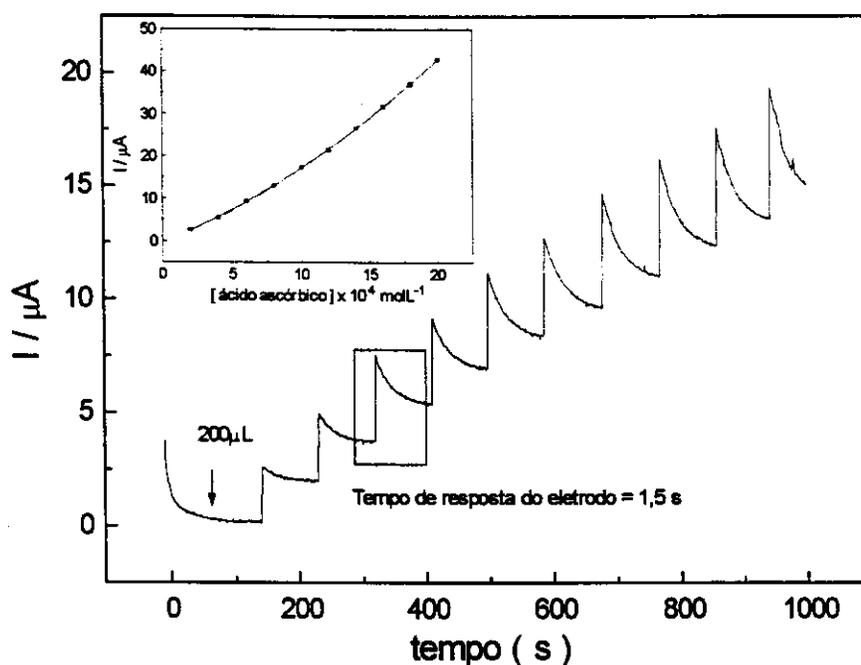


Figura 18: Cronoamperograma obtido após sucessivas adições de 200 µL do ácido ascórbico 0,01 M em 10 mL do eletrólito suporte KCl 0,1M pH6, fixando-se o potencial em 250 mV vs SCE (faixa de concentração: 2x10⁻⁴ a 1,8x10⁻³ molL⁻¹). Figura inserida: Dependência entre a corrente e a concentração do ácido.

A Figura 18 inserida mostra a curva típica obtida para a relação I vs $[H_2AA]$. A curva experimental acima foi ajustada utilizando-se uma equação quadrática $I = -0,499 + 1,383x + 0,0391x^2$, com um coeficiente de correlação linear $R = 0,999$ (onde I corresponde à variação de corrente em μA e x a concentração do ácido em mM).

O limite de detecção (considerando a relação sinal / ruído = 3) foi de $1,0 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. A reprodutibilidade com o mesmo eletrodo foi razoável, apresentando um desvio padrão relativo de 5,6% para $n = 7$. A média do tempo de resposta do eletrodo (tempo após a adição do substrato que é necessário para se atingir o máximo de corrente), medido após várias adições do substrato na cela eletroquímica, foi de cerca de 1,5 s. A rápida resposta do eletrodo, torna-o bastante atrativo para a sua utilização em sistemas de injeção em fluxo, FIA.

Pode ser observado através do amperograma que um decréscimo significativo do sinal é observado logo após ter sido atingido o máximo de corrente. Esse comportamento pode ser atribuído à lenta velocidade de difusão do produto de oxidação do ácido ascórbico, o ácido dehidroascórbico, impedindo que o H_2AA não oxidado chegue à superfície do eletrodo para manutenção do patamar de corrente.

O eletrodo apresentou-se bastante estável, permitindo o seu uso por pelo menos 2 meses utilizando-se diariamente, sem significativas mudanças na sua resposta.

Finalmente, apenas para testar o eletrodo, foi determinada a quantidade de H_2AA em tabletes de vitamina C, vendidos comercialmente. Os tabletes foram dissolvidos em H_2O bidestilada e tais soluções foram

convenientemente diluídas. Esta solução foi adicionada à cela eletroquímica e então realizada a medida de corrente utilizando-se o eletrodo modificado com ZPMB, aplicando-se um potencial de 250 mV vs SCE. A quantidade de ácido ascórbico nos tabletes de Vitamina C foi calculada a partir da equação da curva de calibração. Os resultados obtidos com o sensor foram comparados com os obtidos através do método padrão de determinação do ácido ascórbico pela técnica de volumetria. Os dados obtidos estão apresentados na Tabela III.

Tabela III: Resultados obtidos na determinação de ácido ascórbico em amostras de Vitamina C utilizando-se o eletrodo modificado ZPMB¹ e através da técnica de volumetria².

AMOSTRA	Quantidade declarada	m / g ⁽¹⁾	m / g ⁽²⁾
A	1g / tablete	1,004±0,003	1,000±0,004
B	1g / tablete	1,085±0,070	1,005±0,004

A - Amostra de Cebion®

B - Amostra de Redoxon®

Os valores encontrados empregando-se o presente eletrodo e pelo método padrão apresentaram-se relativamente concordantes, indicando que o mesmo é bastante promissor na construção de um sensor para ácido ascórbico. Neste caso, observa-se que utilizando-se o respectivo eletrodo modificado ZPMB, perde-se um pouco da sensibilidade da medida, entretanto ganha-se bastante na facilidade e rapidez de obtenção de resultados.

3.2.4) Eletrooxidação do NADH

O eletrodo modificado com ZPMB também eletrocatalisou a reação oxidação do cofator NADH, como pode ser observado através da figura 19. Verifica-se um aumento da corrente anódica após a adição do NADH em 250 mV vs SCE. Entretanto neste caso já é possível observar vestígios da oxidação direta do cofator no próprio grafite (aumento de corrente em 400 mV).

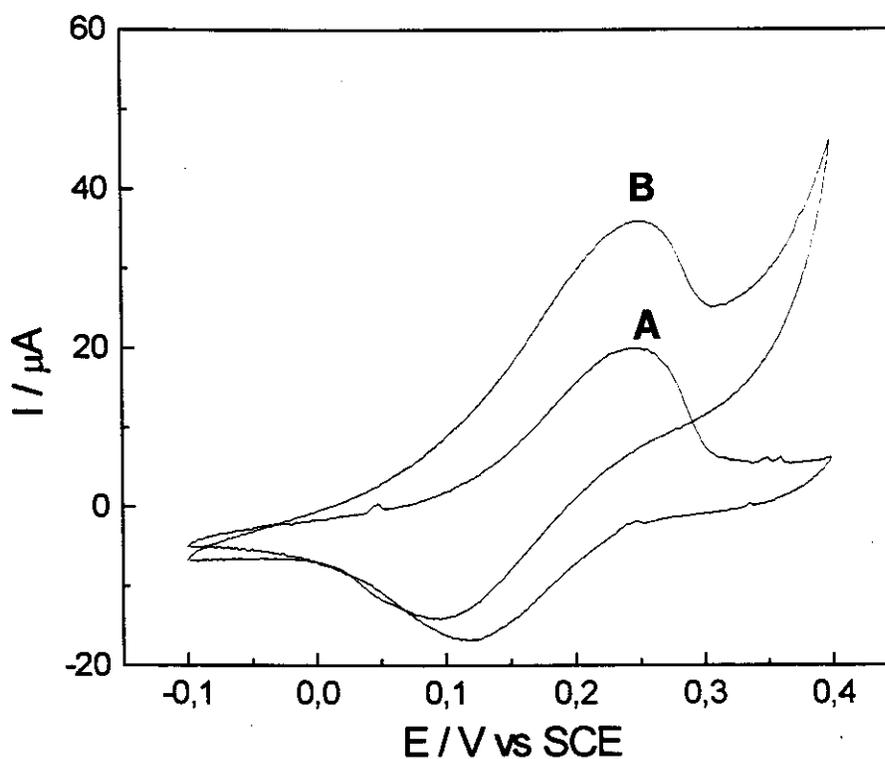


Figura 19: Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodo de pasta de carbono modificado com ZPMB (A) na ausência de NADH e (B) e após a adição de $50 \mu\text{molL}^{-1}$ de NADH, em solução do eletrólito KCl 0,5 M, pH 7 e $\nu = 20 \text{ mVs}^{-1}$.

Novamente por amperometria, fixando-se o potencial em 250 mV vs SCE foi possível obter uma faixa de resposta linear entre $1,0 \times 10^{-4}$ a $2,0 \times 10^{-3}$ molL⁻¹, com uma curva ajustada pela equação $I = 2,26(\pm 0,04)[\text{NADH}] + 0,7(\pm 0,4)$ e um coeficiente de correlação de $R=0,999$ para $n=11$.

3.3) Azul do Nilo

Prosseguindo-se os estudos com o fosfato de zircônio (ZP) e aproveitando-se a sua capacidade em adsorver corantes redox catiônicos, realizou-se então estudos eletroquímicos com o Azul do Nilo, um corante catiônico da família das fenoxazinas, imobilizado sobre o ZP (ZPNB). Os resultados obtidos com o ZPNB foram comparados com os obtidos anteriormente com o MB.

3.3.1) Estudos de voltametria cíclica

Os voltamogramas obtidos utilizando-se o eletrodo modificado ZPNB em diferentes velocidades de varredura e seus parâmetros ciclovolamétricos estão demonstrados respectivamente na Figura 20 e Tabela IV.

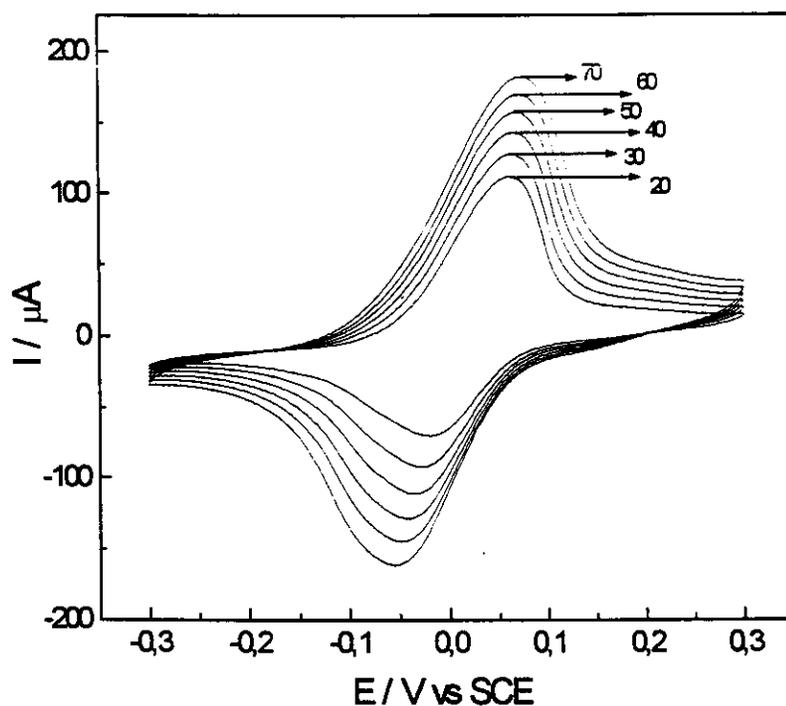


Figura 20: Voltamogramas obtidos em diferentes velocidades de varredura para o eletrodo modificado com ZPNB em KCl 0,5 M (pH 6).

Tabela IV: Parâmetros ciclovoltagemétricos do ZPNB em diferentes velocidades de varredura.

v/mVs^{-1}	E_{pa}/mV	E_{pc}/mV	$\Delta E_p/mV$	E_m/mV	$I_{pa}/\mu A$	$I_{pc}/\mu A$
20	60	-18	78	39	112,5	-57,8
30	62	-28	90	45	123,0	-73,32
40	66	-36	102	51	134,3	-89,11
50	68	-40	108	54	144,7	-100,1
60	70	-48	118	59	149,6	-112,8
70	72	-54	126	63	163,3	-123,5

Eletrólito suporte KCl 0,5M, pH 6.

Pode ser observado que os ciclovoltamogramas apresentam-se bem definidos e que a separação entre os potenciais de pico não é tão influenciada pela velocidade de varredura quanto o observado anteriormente para o ZPMB. Tal comportamento é uma indicação de que o processo redox do NB sobre o ZP é menos resistivo do que para o MB. Na Figura 21 é demonstrada a relação entre ΔE_p e v tanto para o ZPMB quanto para o ZPNB.

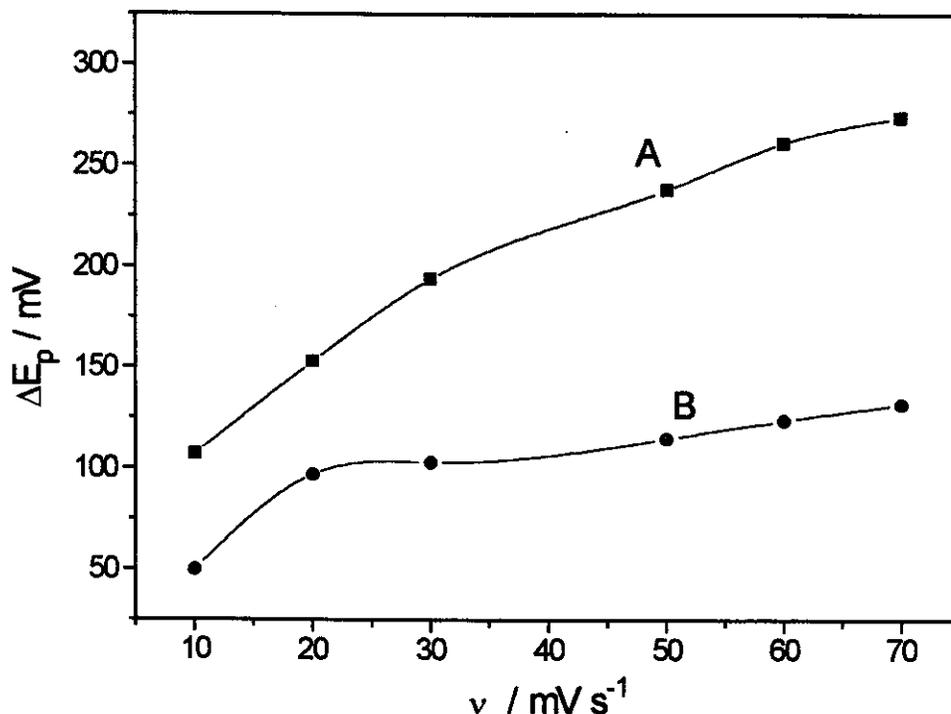


Figura 21: A dependência da separação entre os potenciais de pico ΔE_p com a velocidade de varredura v , para o (A) ZPMB e (B) ZPNB em KCl 0,5 molL⁻¹.

Similar ao ZPMB, as correntes apresentaram uma correlação linear com a raiz quadrada da velocidade de varredura (I_p vs $v^{1/2}$). Este comportamento é semelhante ao de sistemas onde o processo redox é

controlado pela difusão das espécies eletroativas à superfície do eletrodo. Entretanto, para o NB imobilizado sobre o ZP a inclinação da reta I_p vs $v^{1/2}$ apresentou-se mais acentuada que em relação ao ZPMB (Figura 22), indicando diferenças na velocidade de transferência de elétrons, sendo esta mais eficiente para o ZPNB que para o ZPMB.

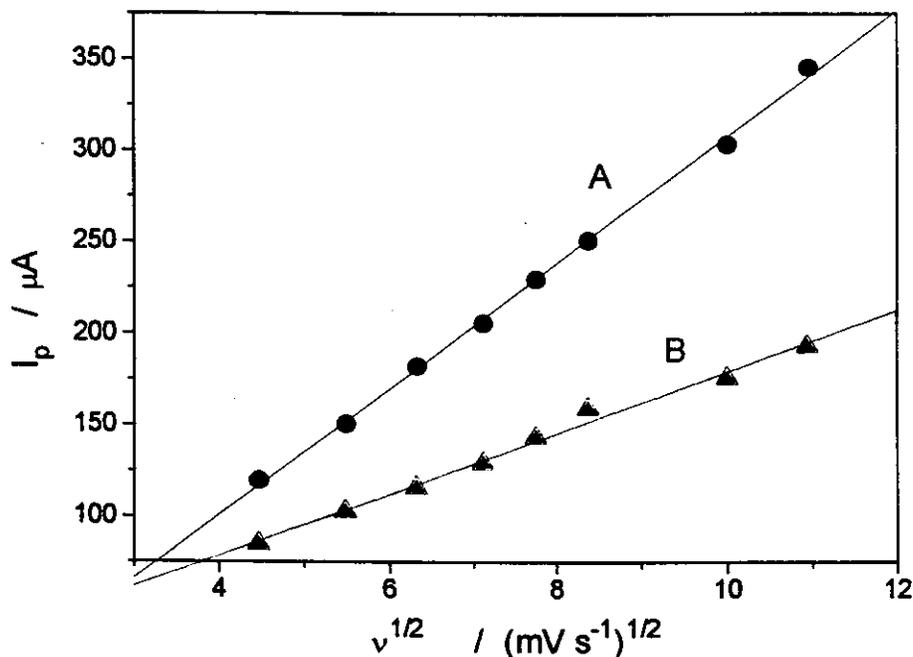


Figura 22: Dependência da correntes de pico I_p com a raiz quadrada da velocidade de varredura $v^{1/2}$ para (A) ZPNB e (B) ZPMB em $0,5 \text{ molL}^{-1}$ do eletrólito suporte KCl $0,5 \text{ M}$.

Quanto à estabilidade, o eletrodo modificado com ZPNB apresentou-se menos estável em relação ao ZPMB. Após 100 ciclos ininterruptos, observou-se um decréscimo da corrente anódica de cerca de 28% do seu valor inicial enquanto que para o ZPMB este decréscimo foi de apenas 3%. Provavelmente por esta razão, o processo redox do ZPNB apresentou-se menos resistivo.

Neste caso também foi observado um significativo deslocamento do potencial na direção positiva para o NB imobilizado sobre o ZP comparado com o mesmo obtido para o NB quando em solução ou imobilizado sobre o grafite, como pode ser observado através dos dados da Tabela V:

Tabela V: Comparação entre o potencial para o NB em solução e imobilizado sobre o grafite e a matriz ZP.

Azul do Nilo	E_m / mV vs SCE (pH 7)
em solução	-360 ^[41]
em eletrodo de grafite	-430 ^[69]
imobilizado sobre o ZP	50

Um deslocamento significativo no potencial do NB, de mais de 300 mV na direção positiva é observado, quando este encontra-se imobilizado sobre a matriz ZP indicando que a forma reduzida do corante apresenta-se mais estável sobre a matriz que a sua forma oxidada.

O pH da solução do eletrólito não apresentou uma influência significativa no E_m do ZPNB, também diferentemente do observado para o NB em solução e imobilizado sobre eletrodos de grafite e prata [70] , como pode ser observado através do gráfico da Figura 23.

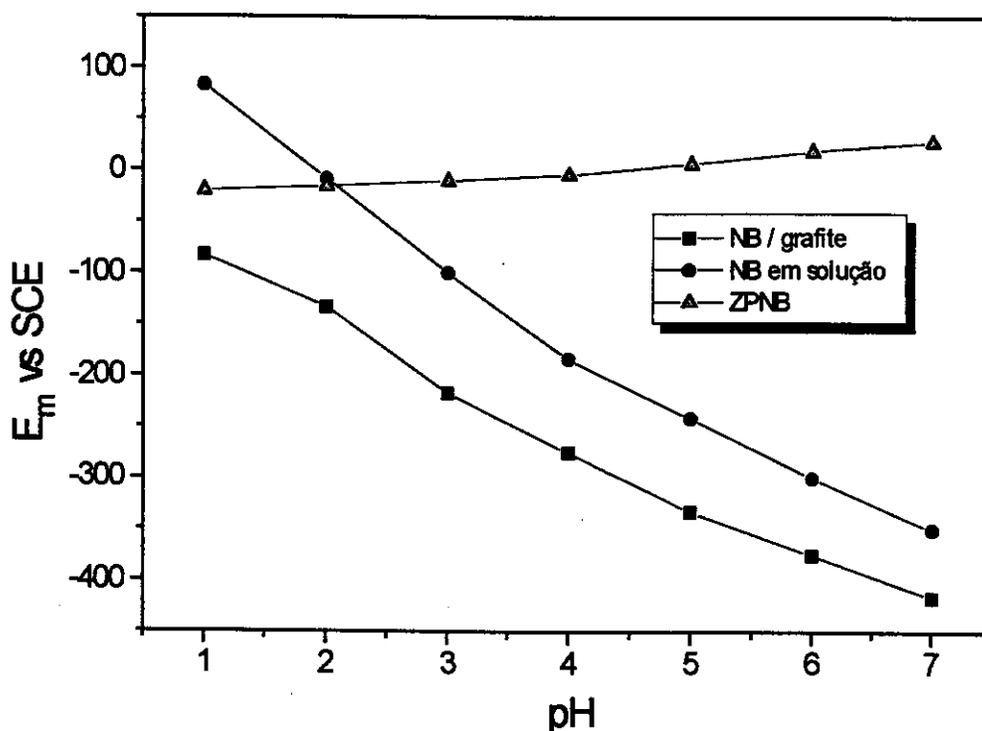


Figura 23: Influência do pH no potencial médio E_m para o Azul do Nilo (NB).

Tal comportamento vem novamente reforçar a hipótese de que os íons H^+ não participam do processo quando o corante encontra-se imobilizado sobre a matriz ZP e que tal propriedade pode ser provavelmente estendida a outros corantes redox de estrutura similar.

As correntes de pico apresentaram um pequeno decréscimo à medida que o pH da solução do eletrólito diminuiu (Figura 24), ao contrário do obtido anteriormente para o ZPMB. Indicando que devido a menor estabilidade do NB sobre o ZP, este apresenta-se um pouco mais susceptível a mudanças no pH do meio.

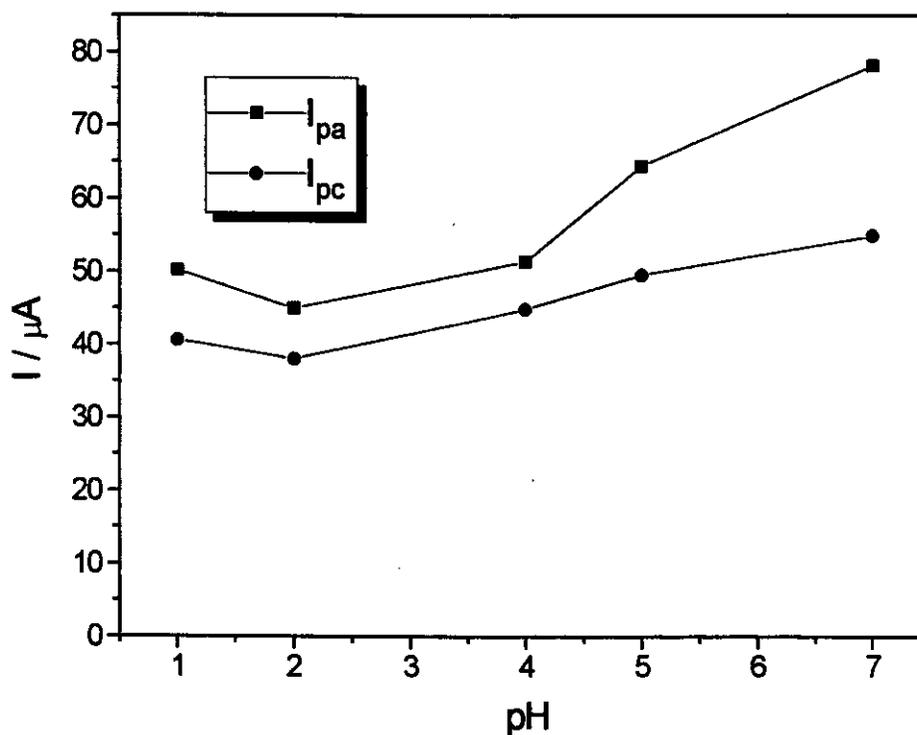


Figura 24: Dependência das correntes de pico, I_{pa} e I_{pc} com o pH da solução do eletrólito suporte KCl 0,5 M, para o eletrodo modificado com ZPNB.

3.3.2) Propriedades electrocatalíticas do ZPNB

As propriedades electrocatalíticas do NB sobre a matriz ZP foram investigadas para a oxidação do NADH, uma vez que é conhecido na literatura que eletrodos modificados com derivados de fenoxazinas que apresentam valores de E_m nesta mesma faixa de potencial do ZPNB, apresentam alta eficiência catalítica na oxidação deste cofator [71-73].

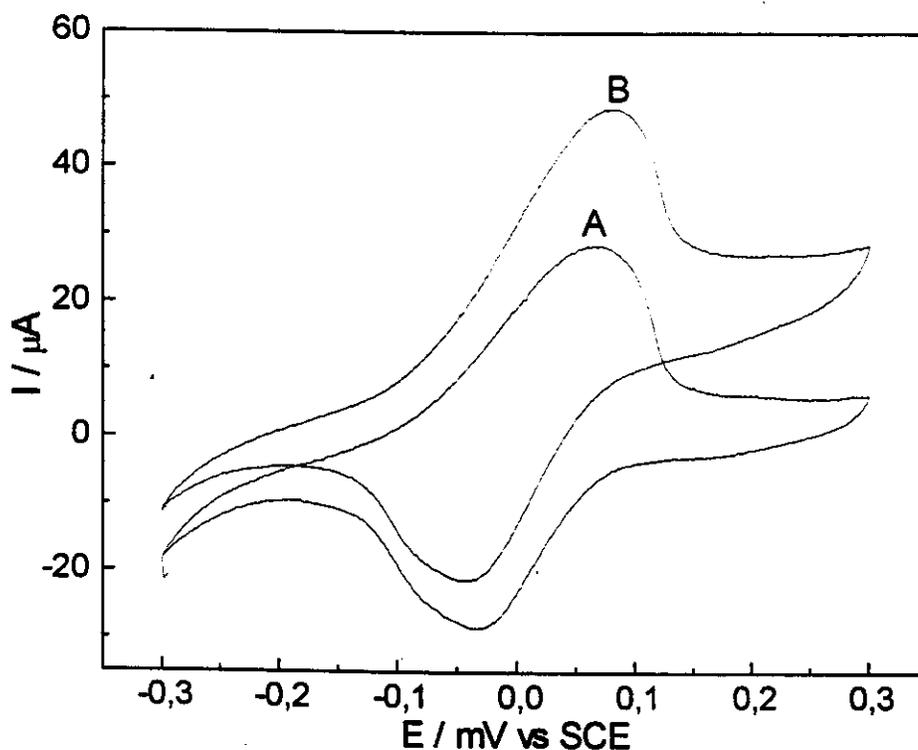


Figura 25: Voltamogramas cíclicos obtidos com eletrodo de pasta de carbono modificado com ZPNB na ausência (A) e na presença de $50 \mu\text{molL}^{-1}$ de NADH (B) em solução do eletrólito suporte KCl pH 7 e $v=20 \text{ mVs}^{-1}$.

Neste caso, observa-se um aumento da corrente anódica após a adição do cofator, indicando que o NB imobilizado eletrocatalisa a sua oxidação. Há uma significativa diminuição do sobrepotencial de oxidação do NADH, de cerca de 350 mV vs SCE (a oxidação direta do NADH em eletrodos de grafite não modificados ocorre em torno de 400 mV vs SCE) [74].

Além disto, este potencial onde ocorre a oxidação (em torno de 50 mV vs SCE) é interessante na construção de sensores amperométricos, pois nesta região de potencial, o efeito de interferentes (oxidação de outras espécies presentes no meio) é significativamente pequeno, garantindo dessa forma

que a corrente apresentada corresponda apenas a referente à oxidação do cofator.

Apenas para efeito de demonstração, obteve-se uma curva de calibração por amperometria, através da adição de alíquotas de 100 μL de uma solução de NADH $0,01 \text{ molL}^{-1}$ em 10 mL do eletrólito (pH ajustado em 7), fixando-se o potencial em 50 mV vs SCE, demonstrada na Figura 26.

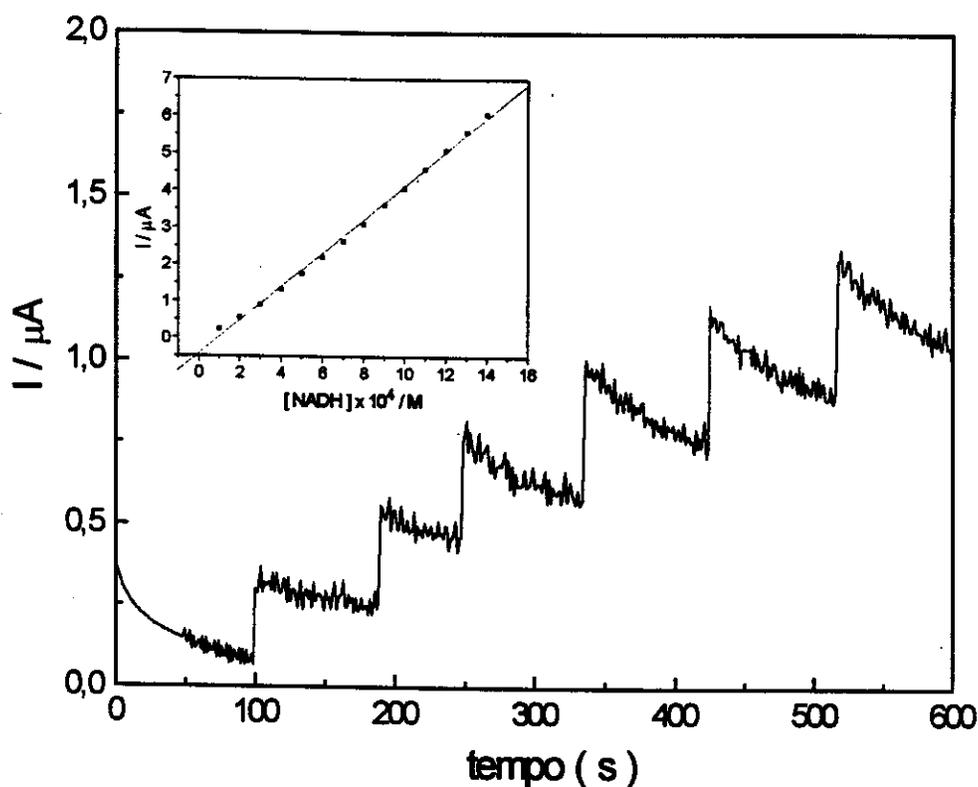


Figura 26: Cronoamperograma obtido após sucessivas adições de 100 μL de uma solução de NADH $0,01 \text{ M}$ em 10 mL da solução do eletrólito suporte (pH ajustado em 7), fixando-se o potencial em 50 mV vs SCE. Figura inserida mostra a relação entre a corrente catalítica e a concentração do cofator.

A faixa de resposta linear obtida para o ZPNB, nestas condições, foi aproximadamente entre $1,0 \times 10^{-4}$ e 2×10^{-3} M, apresentando uma curva ajustada pela equação $I = 4,57(\pm 0,07) + 4,4(\pm 0,6)$, com um coeficiente de correlação $R = 0,999$ para $n=14$.

O tempo de resposta médio, medido após várias adições do substrato na cela eletroquímica foi de aproximadamente 1,3 s, o qual é considerado bastante rápido comparado com alguns sensores para NADH encontrados na literatura [71-73]. O limite de detecção, considerando a relação sinal / ruído = 2, é de $5 \mu\text{molL}^{-1}$.

Estes resultados demonstram que o eletrodo modificado com ZPNB é promissor na construção de um sensor para NADH. Este apresentou-se mais sensível para se detectar o cofator que o ZPMB, a um potencial menor, livre da interferência de outras espécies, inclusive do ácido ascórbico.

4) CONCLUSÕES

Os corantes Azul de Metileno e Azul do Nilo apresentaram-se fortemente aderidos ao trocador catiônico, fosfato de zircônio. Não observou-se a lixiviação dos corantes mesmo quando estes permaneceram imersos em soluções concentradas do eletrólito suporte, em circuito aberto.

A natureza do eletrólito suporte não afetou de maneira significativa a resposta dos eletrodos. Entretanto a concentração do mesmo influenciou, observando-se melhores respostas eletroquímicas (maior resposta de corrente e menor separação entre os potenciais de pico) em soluções de eletrólito mais concentradas.

Os potenciais redox dos corantes imobilizados (ZPMB e ZPNB) também não foram afetados pelo pH da solução do eletrólito, na faixa de pH 1 a 9 para o ZPMB e 1 a 7 para o ZPNB, diferentemente do observado para tais tipos de corantes quando em solução aquosa ou adsorvidos sobre eletrodos de grafite. Este comportamento foi atribuído a alta acidez da matriz de fosfato de zircônio. As correntes de pico apresentaram apenas um pequeno decréscimo com o pH para o eletrodo modificado com ZPNB, e para o ZPMB esta permaneceu praticamente constante.

A propriedade eletrocatalítica do ZPMB para oxidar o ácido ascórbico foi bastante satisfatória apresentando uma alta sensibilidade. A resposta do eletrodo após a adição do substrato foi consideravelmente rápida, indicando que não há barreira difusional para o ácido, sendo este eletrodo potencialmente útil para preparar sensores eletroquímicos acoplados a sistemas dinâmicos tais como FIA ("Flow Injection Analysis") ou BIA

("Batch Injection Analysis"). Ambos os eletrodos modificados electrocatalisaram a oxidação do cofator NADH. Entretanto foi observado que o ZPNB apresentou maior eficiência catalítica e a potencial menor que o ZPMB, no qual já foi possível observar vestígios da oxidação direta do cofator no grafite. Tal propriedade do material (electrooxidação do cofator NADH) possibilita futuramente a co-imobilização de enzimas NAD⁺-dependentes (desidrogenases) na pasta de carbono para o desenvolvimento de novos biossensores.

O fosfato de zircônio apresentou, portanto, grande potencial como matriz para imobilização de corantes orgânicos catiônicos para o desenvolvimento de novos eletrodos de pasta de carbono quimicamente modificados. A alta estabilidade química observada, associada a forte aderência dos corantes sobre a matriz, justifica o nosso interesse na preparação do presente e seu uso com propostas analíticas. Além disso, a baixa sensibilidade do E_m com o pH é de grande importância, pois possibilita a utilização de tais eletrodos em amostras reais.

5) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R.P. Moses, P. Wier e R.W. Murray, *Anal. Chem.*, 47 (1975) 1882.
- [2] R.W. Murray, A . J. Bard (Ed.) em “*Electroanalytical Chemistry*”, vol.13, New York, p.191.
- [3] F.M. Matsumoto, “ *Eletrodos Quimicamente Modificados com Filmes Finos de Pentacianoferratos*”, Tese de Doutorado, Instituto de Química , USP, 1995.
- [4] A . J. Bard, *J. Chem. Educ.*, 60 (1983) 302.
- [5] A . Amine, J.M. Kauffmann e G.G. Guilbault, *Anal. Letters*, 26 (1993) 1281.
- [6] J.Hu e A . P. Turner, *Anal. Letters*, 24 (1991) 15.
- [7] N. Morris, M. Cardosi, B. Birch e A . P. Turner, *Electroanalysis*, 4 (1992) 21.
- [8] Q. Chi e S. Dong, *Electroanalysis*, 7 (1995) 147.
- [9] G. Bremle, B. Persson e L. Gorton, *Electroanalysis*, 3 (1991) 77.
- [10] H. Ju, Y. Xun e H. Chen, *J. Electroanal. Chem.*, 380 (1995) 283.
- [11] J. Zagal, M. Paez, A . A . Tanaka, J. R. Santos e C. A . Linkous, *J. Electroanal. Chem.*, 339 (1992) 13.
- [12] E. Dempsey, J. Wang, V. Wollenberger, M. Ozsoz e M. R. Smith, *Biosens. Bioelectron.*, 7 (1992) 323.
- [13] S. Ching, R.C. Dudek, E. A . Tabet, W. S. Willis e S.L. Luib, *Langmuir*, 10 (1994) 1657.
- [14] J. Kulys, H.E. Hansen, T. Buch-Rasmussen, J. Wang e M. Ozsoz, *Anal. Chim. Acta*, 288 (1994) 193.

- [15] D.D. Schlereth e H-L. Schmidt, *J. Electroanal. Chem.*, 380 (1995) 117.
- [16] B.G. Milagres, L.T. Kubota e G. Oliveira Neto, *Electroanalysis*, 8 (1996) 489.
- [17] H.D. Abruña, *Coord. Chem. Rev.*, 86 (1988) 135.
- [18] R.W. Murray, A .G. Ewing e R. A . Durst, *Anal. Chem.*, 59 (1987) 379.
- [19] R. F. Lane e A . T. Hubbard, *J. Phys. Chem.*, 77 (1973) 1401.
- [20] R.N. Adams, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1576.
- [21] T. Kuwana e W.G. French, *Anal. Chem.*, 36 (1964) 241.
- [22] T. A . Schultz e T. Kuwana, *J. Electroanal. Chem.*, 10 (1965) 95.
- [23] K. Kalcher, J.M. Kauffmann, J. Wang, I. Svancara, K. Vytras, C. Neuhold e Z. Yang, *Electroanalysis*, 1 (1995) 5.
- [24] L. Gorton, *Electroanalysis*, 7 (1995) 5.
- [25] M.A.T. Gilmartin e J.P. Hart, *Analyst*, 120 (1995) 1029.
- [26] J. Kulys, L. Wang e A. Maksimoviene, *Anal. Chim. Acta*, 274 (1993) 53.
- [27] J. Kulys, L. Wang e N. Daugvilaite, *Anal. Chim. Acta*, 265 (1992) 15.
- [28] Q. Chi e S. Dong, *Anal. Chim. Acta*, 285 (1994) 125.
- [29] M. J. Lobo, A. J. Miranda e P. Tuñon, *Electroanalysis*, 8 (6)(1996) 591.
- [30] M.J. Lobo, A. J. Miranda e P. Tuñon, *Electroanalysis*, 8(10) (1996) 932.
- [31] L.T. Kubota, Y. Gushikem, J. Perez e A. A. Tanaka, *Langmuir*, 11 (1995) 1009.
- [32] L.L. Lorencetti e Y. Gushikem, *J. Braz. Chem. Soc.*, 4 (1993) 88.
- [33] L.T. Kubota e Y. Gushikem, *Electrochim. Acta*, 37 (1992) 2477
- [34] H. Kotte, B. Grundig, K.D. Vorlop, B. Strehlitz e U. Stottmeister, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 65.

- [35] A. Walcarius, *Electroanalysis*, 11 (1996) 971.
- [36] A. Clearfield, "*Inorganic Ion Exchange Materials*", CRC Press Inc, Boca Raton, Florida, 1982.
- [37] K.A. Krauss e H.O. Phillips, *J. Am. Chem. Soc.*, 78 (1956) 644.
- [38] A. Clearfield, *Chem. Rev.*, 88 (1988) 125.
- [39] L. Gorton, G. Bremle, E. Csöregi, G. Jönsson - Pettersson e B. Persson, *Anal. Chim. Acta*, 249 (1991) 43.
- [40] H. Chen, A. Yu, J. Han e Y. Mi, *Anal. Letters*, 28 (1995) 1579.
- [41] J.M. Ottway, E. Bishop (Ed) em "*Indicators*", Pergamon Press, Oxford, 1975, p. 469-529.
- [42] L. Gorton, A. Torstensson, H. Jaegfeldt e G. Johansson, *J. Electroanal. Chem.*, 161 (1984) 103.
- [43] A. Torstensson e L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.*, 130 (1981) 199.
- [44] B. Gründig, G. Wittstock, U. Rüdell e B. Strehlitz, *J. Electroanal. Chem.*, 395 (1995) 143.
- [45] L. Gorton, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I*, 82 (1986) 1245.
- [46] P.T. Kissinger e W.R. Heineman, *J. Chem. Educ.*, 60 (1983) 702.
- [47] A.J. Bard e L.R. Faulkner, "*Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*", John Wiley & Sons, New York, 1980.
- [48] J.A. Plambeck, "*Electroanalytical Chemistry: Basic Principles and Applications*", John Wiley & Sons, New York, 1982.
- [49] E.M. Larssen e D.R. Vissers, *J. Phys. Chem.*, 64 (1960) 1732.
- [50] N. Baccan, J.C. Andrade, O.E.S. Godinho e J.S. Barone, "*Química Analítica Quantitativa Elementar*", Ed. Edgard Blucher.
- [51] Y. Ye e R. Baldwin, *Anal. Chem.*, 60 (1988) 2263.

- [52] E. Laviron, A. J. Bard (Ed.) em "*Electroanalytical Chemistry*", vol.12, Marcel Dekker, New York, 1982, p.53-157.
- [53] B. Persson e L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.*, 292 (1990) 115.
- [54] L.T. Kubota, F. Gouvea, A.N. Andrade, B.G. Milagres e G. Oliveira Neto, *Electrochim. Acta*, 41 (1996) 1465.
- [55] H. Ju, J. Khou, C. Cai e H. Chen, *Electroanalysis*, 7 (1995) 1165.
- [56] Z. Lu e S. Dong, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I*, 84 (1988) 2979.
- [57] A.R. Guadalupe, K. E. Liu e H. D. Abruña, *Electrochim. Acta*, 36 (1991) 881.
- [58] A. Heller, *J. Phys. Chem.*, 96 (1992) 3579.
- [59] X. Xing, T-C. Tan, M. Shao e C-C. Liu, *Electroanalysis*, 4 (1992) 191.
- [60] M.F. Daufartas e J.F. Evans, *J. Electroanal. Chem.*, 109 (1980) 301.
- [61] K-N. Kuo e R.W. Murray, *J. Electroanal. Chem.*, 131 (1982) 37.
- [62] E.I.S. Andreotti, Y. Gushikem e L.T. Kubota, *J. Braz. Chem. Soc.*, 31 (1992) 21.
- [63] X. Xing, I.T. Bae, M.Shao e C-C. Liu, *J. Electroanal.Chem.*, 346 (1993) 309.
- [64] F. Hartley, "*Supported Metal Complexes*", Dreider Publishing Company, Dordrecht, 1985.
- [65] J. Lindqvist, *Analyst*, 100 (1975) 339.
- [66] P. Karabinas e D. Jannakoudakis, *J. Electroanal. Chem.*, 160 (1984) 159.
- [67] J.J. Ruiz, A. Aldaz e M. Domingues, *Can. J. Chem.*, 56 (1984) 159.
- [68] M. Rueda, A. Aldaz e F. Sanchez-Burgo, *Electrochim. Acta*, 23 (1978) 419.

- [69] F. Ni, H. Feng, L. Gorton e T.M. Cotton, *Langmuir*, 6 (1990) 66-73.
- [70] L. Gorton, B. Persson, P.D. Hale, L.I. Boguslavsky, H.I. Karan, H.S. Lee, T.A. Skotheim, H.L. Lan e Y. Okamoto, "Biosensors and Chemical Sensors" (Eds: P.G. Edelman, J. Wang), ACS Symp.Ser.487, ACS, Washington, DC, 1992, 56.
- [71] L. Gorton, G. Johansson e A. Torstensson, *J. Electroanal. Chem.*, 1961 (1985) 81.
- [72] P.N. Bartlett, P. Tebbut, R.P. Whitaker, *Progr. React. Kinet.*, 16 (1991) 55-156.
- [73] A.E.G. Cass, G. Davies, G.D. Francis, H.A.O. Hill, W.J. Aston, I.J. Higgins, E.V. Plotkin, L.D.I. Scott e A.P.F. Turner, *Anal. Chem.*, 56 (1984) 667.
- [74] W.J. Blaedel e R.A. Junkins, *Anal. Chem.*, 47 (1975) 1337.