

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA**

TATIANE SKEIKA

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DE ELETRODOS
A BASE DE CARBONO CERÂMICO APLICADOS NA DETERMINAÇÃO DE
DOPAMINA**

PONTA GROSSA

2010

TATIANE SKEIKA

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DE ELETRODOS
A BASE DE CARBONO CERÂMICO APLICADOS NA DETERMINAÇÃO DE
DOPAMINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da UEPG como requisito para à obtenção do título de Mestre em Química Aplicada.

Orientadora: *Profa. Dra. Christiana Andrade Pessoa*

Co-orientadora: *Profa. Dra. Noemi Nagata*

PONTA GROSSA

2010

Ficha Catalográfica Elaborada pelo Setor de Processos Técnicos BICEN/UEPG

S627p Skeika, Tatiane
Preparação, caracterização e estudos eletroquímicos de eletrodos a base de carbono cerâmico aplicados na determinação de dopamina. / Tatiane Skeika. Ponta Grossa, 2010.
106f.
Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade Estadual de Ponta Grossa .
Orientadora: Profa. Dra. Christiana Andrade Pessôa
Co-orientadora : Profa. Dra. Noemi Nagata

1. Eletrodo de carbono cerâmico. 2. Planejamento fatorial.
3. Ácido ferrocenocarboxílico. 4. Dopamina. 5. Ácido ascórbico.
I. Pessôa, Christiana Andrade. II. Nagata, Noemi. III. T

CDD: 547

TERMO DE APROVAÇÃO

TATIANE SKEIKA

“PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS ELETROQUÍMICOS DE ELETRODOS A BASE DE CARBONO CERÂMICO APLICADOS NA DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

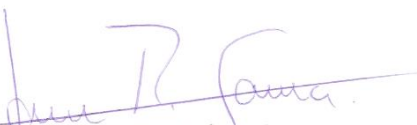
Orientadora:



Prof^a. Dr^a. Christiana Andrade Pessoa
Departamento de Química/UEPG/PR



Prof. Dr. Yoshitaka Gushikem
Departamento de Química Inorgânica/UNICAMP/SP



Prof. Dr. Jarem Raul Garcia
Departamento de Química/UEPG/PR

Ponta Grossa, 12 de março de 2010.

“A ousadia do fazer é que abre o campo do possível. E é o fazer – com seus erros e acertos – que nos possibilita a construção de algo consistente.”

Pedro Benjamin Garcia

Dedico aos meus queridos pais
Paulo e Silmara.

AGRADECIMENTOS

- ★ Agradeço principalmente a Deus por permanecer cada dia ao meu lado me capacitando e guiando para o melhor caminho.
- ★ Aos meus familiares, em especial meus pais, por todo apoio, carinho e incentivo para o meu crescimento pessoal e profissional.
- ★ Ao Marcos pelo carinho, e compreensão me acompanhando diretamente na realização do trabalho.
- ★ À minha orientadora Prof^a. Dra. Christiana Andrade Pessoa pela orientação e incentivo na realização desse trabalho, e pela confiança em mim depositada desde a época da graduação.
- ★ A Prof^a. Dra. Noemi Nagata, pela co-orientação, ensinamentos e sugestões.
- ★ Ao Prof. Dr. Sérgio Toshio Fujiwara, pelas dicas e pelo auxílio na preparação dos eletrodos.
- ★ Ao Prof. Dr. Jarem Raul Garcia, pelas sugestões no exame de qualificação.
- ★ Ao Prof Adilson e ao Milton do departamento de Engenharia de Materiais pelas medidas de MEV e EDS.
- ★ Aos professores e colegas da pós graduação em Química da UEPG.
- ★ Aos colegas do GDEM pela troca de conhecimento e pela amizade, em especial a Cristiane Zuconelli que me ajudou constantemente na realização das medidas e no tratamento dos dados.
- ★ À todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O estudo de eletrodos a base de carbono cerâmico (ECC), tem aumentado significativamente devido às vantagens sobre os demais eletrodos. Os ECC apresentam grande área superficial, alta condutividade elétrica, além de uma maior resistência mecânica, o que aumenta a estabilidade e durabilidade desses eletrodos. Os diferentes parâmetros utilizados na preparação dos ECC, tais como, tipo de precursor, material de carbono, quantidade de catalisador, entre outros, influenciam significativamente nas propriedades morfológicas e consequentemente nas respostas eletroquímicas dos mesmos. Baseando-se nisto, esse trabalho apresenta um planejamento fatorial 2^3 (2 níveis e 3 fatores) onde os fatores analisados foram a quantidade de catalisador ($\text{HCl } 12 \text{ mol L}^{-1}$), proporção grafite/precursor, e o tipo de precursor (TEOS - tetraetoxisilano e MTMOS - metiltrimetoxisilano). Tais variáveis foram otimizadas analisando-se as respostas eletroquímicas obtidas na presença de ferrocianeto de potássio (na concentração fixa de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). O planejamento resultou numa interação significativa de terceira ordem para os valores de corrente de pico anódico (I_{pa}) e também para a diferença de potencial (ΔE), entre os fatores estudados o que não poderia ser observado utilizando-se um estudo univariado. O eletrodo otimizado foi modificado com ácido ferrocenocarboxílico (denominado ECC/Ferroceno) visando principalmente o aumento da sensibilidade em relação ao eletrodo não modificado. As imagens de MEV indicaram que os componentes do eletrodo estão homoganeamente dispersos na amostra, mas com pequena aglomeração de partículas segregadas do ferroceno. Através dos estudos de voltametria cíclica (VC), observou-se que o ECC/Ferroceno apresentou um par redox em $E_{pa} = 390,3 \text{ mV}$ e $E_{pc} = 298,7 \text{ mV}$ ($\Delta E = 91,7 \text{ mV}$), relacionados ao processo ferroceno / íon ferroceno já que o ECC sem modificação não apresentou picos redox. O estudo do eletrodo modificado em diferentes velocidades de varredura (v) resultou em uma relação linear entre os valores de corrente de pico anódica e v , sendo esse um comportamento típico de espécies confinadas na superfície do eletrodo. Para verificar a possibilidade da aplicação do ECC/Ferroceno como sensor eletroquímico foram realizados estudos na presença de dopamina (DA). Neste caso, foi observado que após a adição de DA na solução eletrolítica, um considerável aumento nas correntes redox foram observados no mesmo potencial de oxidação do ferroceno ($E_{pa} = 408,0 \text{ mV vs Ag / AgCl}$), diferente do que foi observado para o ECC. Nesse último caso, a corrente de pico anódica foi consideravelmente mais baixa além do potencial de pico anódico ligeiramente deslocado para regiões mais positivas ($E_{pa} = 446,1 \text{ V vs Ag / AgCl}$). A técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ) foi aplicada para a determinação de DA, com os parâmetros otimizados. Nessas condições, os sensores propostos apresentaram uma faixa de resposta linear de $0,2$ a $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o ECC e $0,43 \mu\text{mol L}^{-1}$ para o ECC/Ferroceno. A partir dos estudos de VOQ, foi observado ainda que a oxidação de ácido ascórbico (AA) no ECC/Ferroceno ocorreu em um potencial diferente da oxidação de DA, com separação de pico de aproximadamente $170,5 \text{ mV}$. Além disso, o ECC/Ferroceno não apresentou aumento da corrente de pico com a variação da concentração de AA, indicando uma possível aplicação deste eletrodo na determinação de DA sem a interferência do AA.

Palavras-chave: Eletrodo de carbono cerâmico, planejamento fatorial, ácido ferrocenocarboxílico, dopamina, ácido ascórbico.

ABSTRACT

The study of carbon-based ceramic electrodes (CCE) has been significantly increased due to advantages over other electrodes. The CCE features as large surface area, high electrical conductivity and higher mechanical strength, increases their stability and durability. Different parameters of CCE preparation, such as type of precursor, carbon material, catalyst amount, among others, significantly influence the morphological properties and consequently their electrochemical responses. Based on these factors this work presents a 2^3 factorial design (2 levels and 3 factors) which the factors analyzed were catalyst amount ($\text{HCl } 12 \text{ mol L}^{-1}$), graphite / precursor ratio, and precursor type (TEOS - tetraethoxysilane and MTMOS - methyltrimetoxysilane). These variables were optimized by analyzing the electrochemical responses obtained in presence of potassium ferrocyanide (at fixed concentration of $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). The design resulted in a significant third order interaction for anodic peak current values (I_{pa}), and also to the potential difference (ΔE) between the factors studied which could not be observed using an univariate study. The optimized electrode was modified with ferrocenecarboxylic acid (designated as CCE/Ferrocene) mainly aiming at the increase the sensitivity to the unmodified one. SEM images indicated that the components are homogeneously dispersed in the sample but with some little agglomeration of segregated ferrocene particles. From cyclic voltammetric experiments, it was observed that the CCE/Ferrocene presented a redox pair at $E_{pa} = 390.3 \text{ mV}$ and $E_{pc} = 298.7 \text{ mV}$ ($\Delta E = 91.7 \text{ mV}$), related to the ferrocene/ferrocenium process, since the non- modified CCE did not presented any redox peaks. Studies of the modified electrode in different scan rates resulted in a linear relationship between the anodic peak current values and the scan rate, a characteristic behavior for confined species in the surface electrode. In order to verify the possibility of using the CCE/Ferrocene as an electrochemical sensor, studies in presence of dopamine (DA) were carried out. In this case, it was observed that after DA addition in the electrolyte solution, a considerably increase in the redox currents were observed at same oxidation potential of ferrocene ($E_{pa} = 408.0 \text{ mV}$ vs Ag/AgCl), different from the observed when using only CCE as electrode material, which the increase in the anodic peak was considerably lower and slightly dislocated to higher positive potential ($E_{pa} = 446.1 \text{ mV}$ vs Ag/AgCl). Square wave voltammetry (SWV) experiments were evaluated in presence of DA, with optimized parameters. In these conditions, the proposed sensor has shown a linear response range from 0.2 to $1.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ with a detection limit of $1.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ to CCE and $0.43 \mu\text{mol L}^{-1}$ for CCE/Ferrocene. From SWV experiments, it was observed that the AA oxidation at CCE/Ferrocene occurred in a different potential of DA oxidation, with a peak separation of approximately 170.5 mV . Moreover, CCE/Ferrocene did not respond to different AA concentrations indicating that is possible with this electrode determine DA without the interference of AA.

Keywords: Carbon ceramic electrodes, factorial design, ferrocenecarboxylic acid sensors, dopamine, ascorbic acid.

CURRICULUM VITAE

1. Formação Superior

- Licenciatura em Química – Universidade Estadual de Ponta Grossa (2004 a 2007)

2. Trabalhos Publicados

- SKEIKA, T.; MARCOVICZ, C.; NAKAGAKI, S.; FUJIWARA, S. T.; WOHNRAH, K.; NAGATA, N.; PESSOA, C. A. Electrochemical Studies of an Iron Porphyrin Immobilized on Nb₂O₅/SiO₂ and its Application for Simultaneous Determination of Dopamine and Ascorbic Acid using Multivariate Calibration Methodology. *Electroanalysis*, New York, v. 19, p. 2543-2550, 2007.

- SKEIKA, T.; FARIA, M. F.; NAGATA, N.; PESSOA, C. A. Simultaneous voltammetric determination of dypirone and paracetamol with carbon paste electrode and multivariate calibration methodology. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 19, p. 4, 2008.

3. Artigos aceitos para publicação

- SKEIKA, T.; FUJIWARA, S. T.; NAGATA, N., PESSOA, C. A. Otimização das Condições de Preparação de Eletrodos a Base de Carbono Cerâmico Utilizando-se Planejamento Fatorial. *Química Nova*, 2010.

- SKEIKA, T.; ZUCONELLI, C. R.; FUJIWARA, S. T.; PESSOA, C. A. Eletrodos de carbono cerâmico: parâmetros de preparação, propriedades e aplicações como sensores eletroquímicos. *Semina: Ciências exatas e tecnológicas*, 2010.

4. Trabalhos apresentados em congressos e simpósios durante o mestrado

- SKEIKA, T.; MOREIRA, F.; ZUCONELLI, C. R.; NAGATA, N.; PESSOA, C. A. Optimization of the carbon ceramic electrodes using a complete factorial design. XIV

Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry - BMIC, Foz do Iguaçu – PR (agosto/2008).

- SKEIKA, T.; NAGATA, N.; FUJIWARA, S. T.; PESSOA, C. A. Comparação do processo de preparação de eletrodos a base de carbono cerâmico com diferentes precursores. XVII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica - SIBEE, Fortaleza - CE (abril/2009).

- SKEIKA, T.; MOREIRA, F.; ZUCONELLI, C. R.; N.; PESSOA, C. A. Preparation of carbon ceramic electrodes using different carbon materials. XI International Conference on Advanced Materials - ICAM, Rio de Janeiro - RJ (Setembro/2009).

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO	20
1.1	APRESENTAÇÃO.....	20
1.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
1.2.1	O Método Sol Gel.....	21
1.2.2	Preparação de Eletrodos Compósitos a Base de Carbono Cerâmico	23
1.2.2.1	Fatores que influenciam nas propriedades do ECC	25
1.2.2.1.1	Características do precursor	26
1.2.2.1.2	Tipo de material de carbono	26
1.2.2.1.3	Proporção entre material de carbono, precursor e catalisador do processo sol-gel	27
1.2.3	Aplicações como Sensores Eletroquímicos	29
1.2.3.1	Ecc modificado	30
1.2.3.1.1	Modificadores inorgânicos e óxidos metálicos	30
1.2.3.1.2	Modificadores orgânicos	33
1.2.3.1.3	Enzimas	34
1.2.4	Métodos de Caracterização	37
1.2.4.1	Caracterização eletroquímica	37
1.2.4.1.1	Voltametria cíclica	37
1.2.4.1.2	Voltametria de onda quadrada	42
1.2.4.2	Caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura	45
1.2.5	Planejamento Fatorial	48
2.	OBJETIVOS	50
3.	PARTE EXPERIMENTAL	51

3.1	REAGENTES UTILIZADOS	51
3.2	SÍNTESE DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO E PLANEJAMENTO FATORIAL	51
3.3	SÍNTESE DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO MODIFICADO COM O ÁCIDO FERROCENOCARBOXÍLICO (ECC/FERROCENO)	54
3.4	ESTUDOS ELETROQUÍMICOS	54
3.5	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANÁLISE QUÍMICA	55
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1	SÍNTESE DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO	57
4.2	PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO	58
4.2.1	Planejamento Fatorial	58
4.2.2	Caracterização Morfológica	64
4.2.3	Caracterização Eletroquímica do ECC Otimizado	65
4.3	ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO MODIFICADO COM ÁCIDO FERROCENOCARBOXÍLICO (ECC/Ferroceno)	67
4.3.1	Caracterização Morfológica do ECC/Ferroceno	68
4.3.2	Caracterização Eletroquímica do ECC/Ferroceno	70
4.4.	ESTUDOS ELETROQUÍMICOS PARA APLICAÇÃO DO ECC/Ferroceno COMO SENSOR	72
4.4.1	Detecção de Dopamina	73
4.4.1.1	Estudos de voltametria cíclica	73
4.4.1.2	Estudos de voltametria de onda quadrada	79
4.4.2	Detecção de Ácido Ascórbico	84
4.4.2.1	Estudos de voltametria cíclica de onda quadrada	84
4.4.3	Testes Eletroquímicos para a Determinação Simultânea de Dopamina e Ácido Ascórbico	88

5.	CONCLUSÕES	93
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS	95
7.	REFERÊNCIAS	96

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Transição sol-gel: (a) formação de gel particulado e (b) formação de gel polimérico.....	22
Figura 2-	Esquema da transição sol-gel: formação de gel particulado e posterior dopagem com as partículas de grafite	25
Figura 3-	Voltamogramas Cíclicos em meio a $K_3Fe(CN)_6$ e tampão fosfato ($0,1 \text{ molL}^{-1}$) dos CCNEs preparados nas proporções MWNT/mistura hidrolisada (A) 2,0 (B) 0,08 mg/mL	29
Figura 4-	Variação do potencial aplicado com o tempo em voltametria cíclica, mostrando o potencial inicial, E_i , o potencial final, E_f , os potenciais máximo, $E_{m\acute{a}x}$, e mínimo, $E_{m\acute{i}n}$	38
Figura 5-	Voltamograma cíclico típico de espécies redox em solução e os principais parâmetros obtidos a partir do mesmo.....	39
Figura 6-	Voltamogramas cíclicos do ECC modificado com níquel em solução de $0,1 \text{ molL}^{-1}$ de NaOH (pH 13), em diferentes velocidades de varredura: 10 a 100 mVs^{-1} . Gráfico Inserido: Relação entre a corrente e a velocidade de varredura	41
Figura 7-	Voltamogramas cíclicos do BiHCF/ECC em diferentes concentrações de hidrazina. Figuras inseridas (A) Voltamogramas do eletrodo não modificado na ausência da hidrazina [a], e na presença de $0,4 \text{ mmolL}^{-1}$ [b]. (B) Curva analítica entre I_p e diferentes concentrações de hidrazina	42
Figura 8-	Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada	43
Figura 9-	Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo EPC/TiO ₂ na presença de uma concentração fixa de DA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) em meio a tampão fosfato (pH 7.0) contendo $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e diferentes concentrações de cisteína ($10 - 2000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$).....	44
Figura 10-	Imagens de MEV (a) do eletrodo de nanotubo de carbono cerâmico e (b) eletrodo de carbono cerâmico com grafite (aumento de 30000X, escala= $10 \mu\text{m}$).....	46

Figura 11-	Imagens de MEV do (A) ECC (B) Pt ECC (após a deposição de platina	47
Figura 12-	Eletrodo de carbono cerâmico (ECC).....	52
Figura 13-	Esquema da cela eletroquímica utilizada (A) Eletrodo de referência Ag/AgCl (B) Eletrodo de trabalho [ECC] (C) Contra eletrodo de platina.....	54
Figura 14-	Estrutura molecular dos precursores (A) MTMOS (B) TEOS	58
Figura 15-	Interpretação geométrica dos efeitos do planejamento fatorial 2^3 considerando os valores de I_{pa}	61
Figura 16-	Interpretação geométrica dos efeitos do planejamento fatorial 2^3 considerando os valores de ΔE	62
Figura 17-	Voltamogramas cíclicos dos ECC obtidos nas melhores condições (15 μ L de HCl, e proporção 60/40 m/m) de preparação em meio a ferrocianeto de potássio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (A) MTMOS (B) TEOS. Eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 6,5$, $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$	63
Figura 18-	Imagens de MEV para os ECC (A) MTMOS (B) TEOS preparados com 15 μ L de HCl, e proporção 60/40 m/m (grafite/precursor) (C) MTMOS (1,8 g de grafite e 15 μ L de HCl) (D) TEOS (1,8 g de grafite e 35 μ L de HCl) (aumento de 1500X, escala= 10 μ m)	64
Figura 19-	Voltamogramas cíclicos do ECC obtido nas melhores condições de preparação [15 μ L de HCl, e proporção 60/40 m/m (grafite/MTMOS)] em meio a ferrocianeto de potássio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura: 10 a 100 mVs^{-1} Gráfico inserido: relação entre I_{pa} versus $v^{1/2}$. Eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 6,5$	66
Figura 20-	Estudo da repetibilidade do ECC em meio a $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Condições: eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. Variação em função do número de ciclos (A) I_{pa} (B) E_{pa}	66

Figura 21-	Estabilidade do ECC em função dos dias de uso na presença de $K_4[Fe(CN)_6] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (A) Correlação entre I_{pa} versus dias (B) E_{pa} versus dias de uso	67
Figura 22-	Imagens de MEV do ECC/Ferroceno em (A) 500X e (C) 1500 X (B) 500X e (D) 1500X (A e C elétrons secundários, B e D retroespalhados). Destaque em vermelho para a provável partícula contendo ferro.....	68
Figura 23-	Espectro de energia dispersiva (A) Análise química da região mostrada na Figura 7 B (B) Análise química da região destacada na Figura 22 D	69
Figura 24-	Voltamogramas cíclicos do ECC/Ferroceno preparados com diferentes quantidades de ferroceno ($v = 50 \text{ mVs}^{-1}$, Eletrólito suporte: $[NaCl] = 0,5 \text{ molL}^{-1}$).....	70
Figura 25-	Voltamogramas cíclicos do ECC/Ferroceno em diferentes velocidades de varredura: 10 a 100 mVs^{-1} Gráfico inserido: relação entre I_{pa} versus v . Eletrólito suporte: $[NaCl] = 0,5 \text{ molL}^{-1}$	71
Figura 26-	(A) Estudo de estabilidade (B) Correlação entre corrente de pico anódica e o número de ciclos. ($v = 50 \text{ mVs}^{-1}$, Eletrólito suporte: $[NaCl] = 0,5 \text{ molL}^{-1}$).....	71
Figura 27-	Estabilidade do ECC/ferroceno em função dos dias de uso (A) Correlação entre I_{pa} versus dias (B) E_{pa} versus dias de uso.....	72
Figura 28-	Voltamogramas cíclicos obtidos em 10 mL de $[NaCl] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. (A) ECC (B) ECC/ Ferroceno (C) ECC na presença de $[DA] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (D) ECC na presença de $[DA] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	73
Figura 29-	Representação esquemática da oxidação da dopamina para dopaminaquinona	74
Figura 30-	Relação entre I_{pa} versus $v^{1/2}$ do ECC (A) e do ECC/Ferroceno (B) na presença de $[DA] = 1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Condições: $[NaCl] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$	75
Figura 31-	Relação entre E_{pa} versus v do ECC (A) e do ECC/Ferroceno (B) na presença de $[DA] = 1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Condições: $[NaCl] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$	75

Figura 32-	Gráficos de $I_{pa}/v^{1/2}$ em função da velocidade de varredura do ECC/Ferroceno. Dados obtidos dos voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura (10 a 100 mVs^{-1}) em solução de NaCl 0,5 mol L ⁻¹ (pH = 6,5) contendo 1,0 mmolL ⁻¹ de dopamina.....	76
Figura 33-	Efeito de pH para o ECC sobre os valores de: [I _{pa} (A) e E _{pa} (B)] e para o ECC/Ferroceno [I _{pa} (C) e E _{pa} (D)] em presença de [DA]=1,0 x10 ⁻³ molL ⁻¹ . Eletrólito suporte: [NaCl] 0,5 mol L ⁻¹ (pH= 6,5).....	77
Figura 34-	(A) Voltamogramas cíclicos na presença de DA em diferentes concentrações (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (C) Comparação entre as curvas analíticas ($v= 50 mV s^{-1}$, Tampão fosfato pH=7,0)	78
Figura 35-	Estudo dos parâmetros de voltametria de onda quadrada em meio a [DA]=1,0 mmol L ⁻¹ : Variação de frequência (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (Tampão fosfato pH=7,0)	80
Figura 36-	Variação do incremento para o estudo dos parâmetros de voltametria de onda quadrada em meio a [DA]=1,0 mmol L ⁻¹ : (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (Tampão fosfato pH=7,0)	80
Figura 37-	Variação de amplitude para o estudo dos parâmetros de voltametria de onda quadrada em meio a [DA]=1,0 mmol L ⁻¹ : (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (Tampão fosfato pH=7,0)	81
Figura 38-	Voltamograma de onda quadrada em meio a DA em diferentes concentrações (A) ECC (amplitude= 50 mV, frequência= 100s ⁻¹ , $\Delta E= 2,0 mV$) (B) ECC/Ferroceno (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s ⁻¹ , $\Delta E= 2,0 mV$). Tampão fosfato pH=7,0.....	82
Figura 39-	(A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o ECC e ECC/Ferroceno na ausência e na presença de [DA]= 2,5 $\mu mol L^{-1}$: [I] ECC [II] ECC/Ferroceno [III] ECC em meio a DA [IV] ECC/Ferroceno em meio a DA. (B) Curva analítica obtida em diferentes concentrações de DA.....	82

Figura 40-	Correlação entre a corrente de pico anódica e o número de ciclos em [DA]= 2,5 μmolL^{-1} (A) ECC (amplitude= 50 mV, frequência= 100 s^{-1} , $\Delta E= 2,0$ mV) (B) ECC/Ferroceno (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s^{-1} , $\Delta E= 2,0$ mV). Tampão fosfato pH=7,0.....	84
Figura 41-	Voltamogramas cíclicos na presença de AA em diferentes concentrações (A) ECC (B) ECC/Ferroceno ($v= 50$ mV s^{-1} , Tampão fosfato pH=7,0)	85
Figura 42-	Efeito de pH sobre o ECC (A) e ECC/Ferroceno(B) em presença de [AA]= $1,0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} . Eletrólito suporte: NaCl 0,5 mol L^{-1} . ($v= 50$ mV s^{-1})	86
Figura 43-	Representação esquemática da oxidação do ácido ascórbico para desidroascórbico	86
Figura 44-	Voltamogramas de onda quadrada na presença de AA (A) ECC (amplitude= 50 mV, frequência= 100 s^{-1} , $\Delta E= 2,0$ mV) (B) ECC/Ferroceno (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s^{-1} , $\Delta E= 2,0$ mV). Tampão fosfato pH=7,0.....	87
Figura 45-	Voltamogramas de onda quadrada do ECC/Ferroceno em diferentes concentrações de AA (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s^{-1} , $\Delta E= 2,0$ mV). Tampão fosfato pH=7,0.....	88
Figura 46-	Voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de [AA] e [DA] na concentração de 1,0 mmol L^{-1} (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (em 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato, pH= 7,0 $v= 50$ mV s^{-1}). onde [AA]=[DA] adição simultânea das duas espécies na mesma concentração.....	89
Figura 47-	Voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de [AA] e [DA] na concentração de 1,0 mmol L^{-1} (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (em 0,1 mol L^{-1} de tampão fosfato, pH= 7,0 $v= 50$ mV s^{-1}). Onde [AA]=[DA] adição simultânea das duas espécies na mesma concentração.....	90

Figura 48- (A) Voltamogramas de onda quadrada na presença de uma concentração fixa de $[AA]= 0,1 \text{ mmolL}^{-1}$ em meio DA em diferentes concentrações para o ECC/ferroceno (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s^{-1} , $\Delta E= 2,0 \text{ mV}$). Tampão fosfato pH=7,0.
(B) Curva analítica obtida em diferentes concentrações de DA.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Exemplos de sensores modificados com compostos inorgânicos.	32
Tabela 2 -	Exemplos de sensores modificados com compostos orgânicos e biossensores a base de carbono cerâmico	36
Tabela 3 -	Proporções de grafite/precursor referentes ao nível determinado pelos ensaios realizados no processo de otimização de experimentos	51
Tabela 4 -	Fatores estudados no planejamento fatorial 2^3 com replicata do ponto central.....	52
Tabela 5 -	Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2^3	53
Tabela 6 -	Respostas eletroquímicas para o planejamento fatorial 2^3	59
Tabela 7 -	Efeitos calculados para um planejamento fatorial 2^3	60
Tabela 8 -	Resultados eletroquímicos obtidos para os eletrodos em meio a $[DA] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	74
Tabela 9 -	Equações de calibração, e parâmetros eletroquímicos obtidos para o ECC pela técnica de voltametria cíclica em meio a DA na faixa de concentração de 0,2 a $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$	79
Tabela 10-	Equações de calibração, e parâmetros analíticos obtidos para o ECC pela técnica de voltametria de onda quadrada na presença de DA na faixa de concentração de 1,0 a $2,5 \mu\text{molL}^{-1}$	83
Tabela 11-	Equações de calibração, coeficientes de correlação (R), sensibilidade e limite de detecção (LOD) obtidos para o ECC/Ferroceno pela técnica de VOQ em meio a DA na faixa de concentração de 0,2 a $1,0 \mu\text{molL}^{-1}$ na presença e na ausência de AA.	91
Tabela 12-	Parâmetros analíticos na detecção de DA e AA utilizando-se eletrodos compósitos.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS

AA - Ácido ascórbico

CCNNE – eletrodo de carbono vítreo contendo suspensão de eletrodo de nanotubo de carbono cerâmico

CoTMMP – Porfirina de cobalto

DA - Dopamina

ECC - Eletrodo de carbono cerâmico

ECC/Ferroceno - Eletrodo de carbono cerâmico modificado com ácido ferrocenocarboxílico

ECCV - Eletrodo de carbono cerâmico vítreo

EDS - Espectroscopia por energia dispersiva

ENC – Eletrodo de carbono nanotubo cerâmico

Epa - Potencial de pico anódico

Epc - Potencial de pico catódico

EPC – Eletrodo de pasta de carbono

ERE - Elétrons retroespalhados

ES - Elétrons secundários

HRP - *Horseradish peroxidase*

Ipc – Corrente de pico catódico

Ipa - Corrente de pico anódico

MET - Microscopia eletrônica de transmissão

MEV- Microscopia eletrônica de varredura

MTMOS – Metiltrimetoxisilano

MPTMOS – (3-mercaptopropil) trimetoxisilano

MW – Irradiação de microondas

MWNT - nanotubo de carbono de parede múltipla

NTCC - Eletrodo de nanotubo de carbono cerâmico

LOD – Limite de detecção

R – Fator de correlação

τ - Período

TEOS - Tetraetoxisilano

VC - Voltametria cíclica

VOQ - Voltametria de onda quadrada

VP – Violeta de pirocatecol

VPD – Voltametria de pulso diferencial

v – Velocidade de varredura

v^{1/2} – Raiz quadrada da velocidade de varredura

1. INTRODUÇÃO

1.1 APRESENTAÇÃO

A construção de eletrodos utilizando-se materiais porosos, tais como sílica, teve um grande desenvolvimento a partir do início da última década, e tem se expandido até os dias de hoje.^[1-3] Esses materiais porosos apresentam áreas superficiais elevadas possibilitando um grande aumento na superfície ativa e conseqüentemente na sensibilidade e velocidade das reações eletroquímicas, além de relativa seletividade. No entanto, uma grande desvantagem é que estes não são condutores da eletricidade, o que a princípio não os credencia para utilização em processos eletroquímicos, diferentemente de quando incorporados em eletrodos de pasta de carbono ou dispersos em superfícies metálicas.^[4,5]

Este trabalho apresenta o estudo das condições de preparação dos chamados eletrodos de carbono cerâmico (ECC), que constituem uma nova geração de materiais que apresentam alta condutividade elétrica quando comparados aos demais eletrodos modificados tais como os de pasta de carbono. Os ECC são basicamente obtidos através da dopagem da matriz de sílica obtida pelo método sol-gel com materiais derivados de carbono, tais como, grafite, nanotubos de carbono e carbono vítreo.^[2,6,7] Os primeiros eletrodos obtidos por esta técnica foram propostos por Lev e colaboradores⁸ e desde então estes têm sido aplicados na determinação de diversas espécies de interesse.^[9- 11]

A versatilidade dos ECC os torna cada vez mais promissores devido as suas características estruturais em particular a maior resistência mecânica quando comparada a de eletrodos de pasta de carbono, o que favorece a aplicação destes como sensores, possibilitando o desenvolvimento de novas configurações de eletrodos, além de miniaturização. Estes podem ser preparados de diversas maneiras, dependendo das características analíticas desejadas e de suas aplicações.^[12]

As variáveis utilizadas na preparação desses materiais, tais como quantidade de catalisador, tipo de precursor e material de carbono podem influenciar nas propriedades do material. Estruturalmente isso pode favorecer um controle da porosidade do compósito, que está totalmente relacionada com a resposta eletroquímica das espécies analisadas no caso da aplicação como sensor. Além

disso, tais fatores podem ser manipulados no sentido de favorecer a estabilidade do eletrodo modificado com enzimas.^[8]

O carbono cerâmico proporciona um aumento da superfície ativa com relação a outros sensores a base de carbono. Como consequência há um incremento na sensibilidade, o que favorece uma ampla aplicação como sensor eletroquímico. Além disso, há ainda a possibilidade de modificação do *bulk* aumentando a quantidade de espécies ativas presentes no mesmo, o que facilita o processo de transferência de elétrons. Essa modificação pode ser fundamental na análise simultânea de espécies já que a atuação do mediador de elétrons pode deslocar os potenciais de pico, muitas vezes separando o sinal de espécies cujos picos voltamétricos encontram-se em regiões muito próximas, de modo a aumentar a seletividade da determinação.^[13]

O estudo das diferentes formas de preparação do carbono cerâmico abre grandes possibilidades para esse campo. Apesar disso poucos são os trabalhos na literatura a cerca da otimização das condições de preparação dos mesmos, abrindo assim a oportunidade da análise da variação dos diferentes parâmetros de síntese visando a melhoria das propriedades apresentadas por esse material. Esses estudos juntamente com a aplicação dos mesmos como biossensores e modificação com óxidos metálicos ilustram a grande versatilidade dos eletrodos a base de carbono cerâmico, que conseqüentemente resulta numa ampla área de pesquisa e de desenvolvimento crescente.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 O Método Sol Gel

O termo "sol gel" é usado para descrever uma ampla classe de processos em que uma fase sólida é formada pela gelificação de uma suspensão coloidal (sol).^[14] A secagem do gel pode então resultar em um gel seco (xerogel) e o tratamento térmico pode ser usado para remover resíduos orgânicos, estabilizar o gel, densificá-lo.^[15,16] A terminologia, foi inicialmente reservada para a produção de metais e óxidos de semimetais, no entanto esta foi progressivamente estendida à preparação de híbridos orgânico-inorgânicos,^[17] e ainda pode ser utilizado para descrever a produção de cadeia orgânica pura.^[18,19]

O sol é constituído de uma suspensão de partículas coloidais (dimensão entre 1 e 1000 nm) em um líquido e o gel é formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou por cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobilizam a fase líquida nos seus interstícios.^[17] Os géis coloidais resultam da agregação linear de partículas primárias (Figura 1a) que ocorre com a alteração apropriada das condições físico-químicas da suspensão. Entretanto, quando o gel obtido é proveniente de reações de polimerização, este é denominado gel polimérico (Figura 1b). Nesse caso, a gelificação ocorre pela interação entre as longas cadeias poliméricas lineares.²⁰

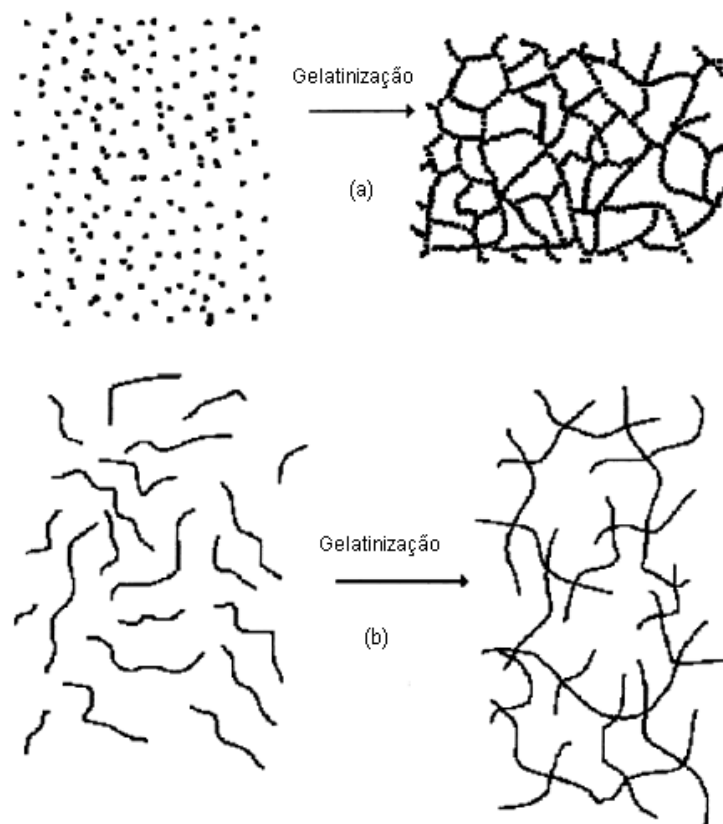


Figura 1 - Transição sol-gel: (a) formação de gel particulado e (b) formação de gel polimérico.^[12]

A química do processo sol-gel é baseada em reações de polimerização inorgânica envolvendo um precursor, geralmente um alcóxido ou sal inorgânico que, após reações de hidrólise e condensação, conduz à formação de partículas coloidais ou cadeias poliméricas lineares.^[12] O método consiste de uma rota sintética à baixa temperatura, em que a partir um precursor químico, pode-se obter cerâmicas e vidros com melhor pureza e homogeneidade quando comparados com os obtidos através de processos químicos convencionais, nos quais se utilizam altas

temperaturas. Este método tem possibilitado a produção de materiais de grande interesse, principalmente pela possibilidade de variação nas suas composições.

1.2.2 Preparação de Eletrodos Compósitos a Base de Carbono Cerâmico

O processo sol-gel difere-se de outros métodos de preparação de eletrodos principalmente pela simplicidade e versatilidade, possibilitando a obtenção de diversas configurações tais como: pastilhas, discos, incorporação em tubos de vidro, microeletrodos, entre outras.^[21]

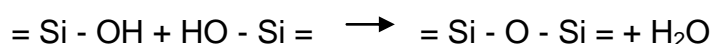
O carbono cerâmico é preparado pela mistura de uma quantidade apropriada de carbono em pó com precursores sol-gel. Após a gelatinização e posterior processo de secagem (tratamento térmico) obtêm-se um compósito poroso e quebradiço, que combina as propriedades mecânicas e térmicas do esqueleto de sílica e a boa condutividade elétrica fornecida pelo material de carbono. A eficiência dos materiais cerâmicos carbono-grafite depende do grau de dispersão das espécies que devem ter dimensões nanométricas, garantindo assim uma boa condução elétrica.^[22]

A preparação do ECC envolve primeiramente a reação de polimerização sol-gel a qual pode ser subdividida em duas etapas. A primeira delas, denominada reação de hidrólise do grupo alcóxido, onde ocorre a formação de grupos reativos do tipo silanol, a qual pode ser catalisada por ácido ou base,¹² de acordo com a reação geral:

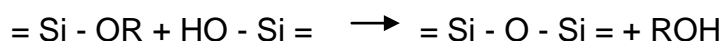


A segunda etapa consiste na condensação do grupo silanol. Sob condições de catálise ácida, a condensação ocorre preferencialmente entre os grupos silanóis localizados em monômeros ou no final de cadeias poliméricas, levando a formação de géis compostos de cadeias poliméricas lineares entrelaçadas, as quais, após secagem formam uma matriz de baixo volume de poro. Sob condições básicas, a condensação ocorre preferencialmente entre oligômeros altamente ramificados, os quais levam à formação de géis particulados que, após secagem, produzem materiais com alta porosidade:

Condensação em meio ácido:



Condensação em meio básico:



Dentre as principais diferenças estruturais apresentadas, sugere-se que se a reação de gelificação for realizada em meio ácido obtém-se uma matriz compacta com baixo volume de poros (menor que 2 nm de diâmetro), chamados de microporos. O ataque ácido se dará ao oxigênio do alcóxido, que é mais abundante nas extremidades dos oligômeros, resultando em cadeias que se unem para formar géis poliméricos (Figura 1b). Na reação em meio básico, o gel tende a crescer mais esfericamente formando partículas primárias esféricas (Figura 1a). Esse processo caracteriza-se devido ao ataque nucleofílico ao silício por HO^- para hidrólise ou Si-O^- no caso da condensação, o ataque dar-se-á no silício mais ácido que é o mais reticulado. O gel referente às partículas primárias é chamado de gel coloidal que após a secagem resultará em matriz com maior porosidade que o gel polimérico (obtido utilizando-se catalisador ácido), com largas frações de poros entre 2 e 50 nm de diâmetro (mesoporos).^[12,14,23,24]

Na Figura 2, está mostrado o esquema da formação do gel particulado e a incorporação das partículas de carbono no esqueleto de sílica. Observa-se que primeiramente ocorre a gelatinização, formando o gel particulado proveniente da mistura hidrolisada contendo o precursor de silano, o solvente e o catalisador da polimerização. A dopagem ocorre na etapa posterior da síntese, onde o material de carbono é adicionado sobre a mistura hidrolisada, arranjan-do-se entre os esqueletos da matriz de sílica.^[14]

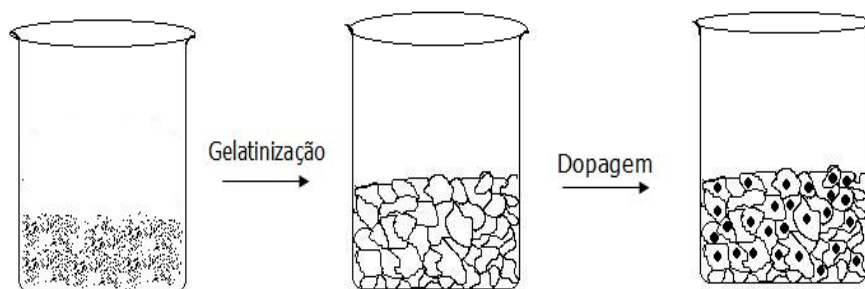


Figura 2 - Esquema da transição sol-gel: formação de gel particulado e posterior dopagem com as partículas de grafite.

Após a dopagem, o gel resultante é geralmente incorporado em tubos de vidro ou teflon de aproximadamente 0,5 cm de diâmetro, deixando-se secar em temperatura ambiente por 48h. ^[25 - 27] Os ECC também podem ser submetidos ao empacotamento após o processo de secagem. ^[9,28] Segundo Maroneze et al. ¹¹ antes da preparação do eletrodo é feita primeiramente a trituração do xerogel obtido após a condensação e posterior lavagem do pó obtido com água bidestilada e etanol em um extrator Soxhlet por 12 h. Em seguida o material resultante é submetido a um tratamento térmico a 323 K, para evaporar todo solvente residual seguido da compactação sob alta pressão ($2,5 \times 10^3 \text{ kg cm}^{-2}$) em formato de disco. O disco pressionado (com aproximadamente 8 mm de diâmetro) é colado na extremidade de um tubo de vidro com o mesmo diâmetro externo inserindo-se um fio de cobre para o contato elétrico.

1.2.2.1 Fatores que influenciam nas propriedades do ECC

As condições de preparação do eletrodo de carbono cerâmico influenciam diretamente nas suas propriedades. Fatores como a quantidade de catalisador, proporção grafite/precursor, tipo de precursor e o material de carbono utilizado conferem mudanças na característica do material obtido, sendo estas refletidas na resposta eletroquímica do eletrodo. Alguns dos principais parâmetros estão discutidos na sequência.

1.2.2.1.1 Características do precursor

As características dos eletrodos de carbono cerâmico estão diretamente relacionadas à estrutura do precursor utilizado na obtenção do compósito. A escolha entre um precursor hidrofílico ou hidrofóbico, deve ser feita considerando-se as características da análise e suas possíveis aplicações.

A maior parte das diferentes configurações de eletrodos de carbono cerâmico descritas na literatura utiliza precursores hidrofóbicos, em particular o metiltrimetoxisilano, para a construção de sensores eletroquímicos. [7,29,30] Tal característica pode ser explicada devido ao aumento da hidrofobicidade da interfase eletrodo-solução, possibilitando que somente poucas partículas de carbono na superfície do eletrodo fiquem em contato com o eletrólito. Esta configuração minimiza a corrente de fundo, a qual é proporcional à superfície condutora do eletrodo, aumentando a sensibilidade do mesmo. [22]

Por outro lado, a obtenção de um eletrodo compósito hidrofílico é menos empregada, sendo observado um pequeno número de publicações do gênero. Tem-se como um dos principais exemplos, o trabalho proposto por Macdonald *et. al.*³¹ que utilizaram nanopartículas de carbono para a obtenção do eletrodo com o precursor tetrametoxiortosilicato, resultando em um material com boa condutividade. A propriedade hidrofílica proporcionou características eletroquímicas peculiares ao eletrodo, sendo a principal delas a adsorção eletroquimicamente reversível do sistema redox de 1,1'-ferrocenodimetanol, favorecendo a modificação do eletrodo com espécies redox, tais como líquidos iônicos. [31]

1.2.2.1.2 Tipo de material de carbono

O tipo de material de carbono é considerado outro fator que influencia na resposta dos eletrodos de carbono cerâmico, em particular na sua condutividade. Eletrodos de carbono cerâmico têm sido recentemente preparados com nanotubos de carbono [7,32] carbono vítreo, [27] além da grafite e derivados. [33]

A utilização de carbono vítreo na preparação do eletrodo compósito (ECCV), desenvolvida por Sun *et. al.*²⁷ resultou em pequena separação de potenciais de pico

em meio a ferrocianeto de potássio ($\Delta E_p = 66$ mV), similar ao do ECC preparado com grafite ($\Delta E_p = 60$ mV). Porém, devido à estrutura particulada do carbono vítreo, o ECCV mostrou-se mais versátil no caso da modificação com fenantrenoquinona, com uma ampla faixa de potencial.

O emprego de nanotubos de carbono em eletrodos compósitos tem resultado em eletrodos de carbono cerâmico com propriedades elétricas e mecânicas aprimoradas, que favorecem sua aplicação como sensores. Um eletrodo de nanotubo de carbono cerâmico (NTCC) foi desenvolvido por Zhu *et. al.*⁷ Na análise comparativa entre o compósito preparado com nanotubo de carbono e grafite (ECC), foi observada na presença do ferrocianeto uma menor separação de potenciais pico ($\Delta E_p = 59$ mV) para o NTCC além de maiores valores de corrente de pico. Os resultados evidenciaram que a reação redox do ferrocianeto para o NTCC é controlada pela difusão das espécies à superfície do eletrodo, já que uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura foi observada. Tais características favoreceram a aplicação do sensor para a determinação de diversas moléculas biológicas, tais como: ácido ascórbico, dopamina, ácido úrico e cisteína. Os resultados com o NTCC também demonstraram maiores valores de sensibilidade de corrente e menor separação entre os potenciais de picos para as moléculas analisadas, quando comparadas aos valores obtidos para o compósito preparado com grafite.^[7]

1.2.2.1.3 Proporção entre material de carbono, precursor e catalisador do processo sol-gel

Além dos fatores anteriormente citados, existem outros com menor abordagem na literatura, mas que também podem influenciar nas propriedades dos ECC, dentre os quais se podem citar: a proporção entre material de carbono e precursor, além do tipo e quantidade de catalisador do processo sol-gel.

O tipo e a quantidade de catalisador são fatores determinantes na estrutura do material compósito, sendo diretamente ligados às reações de polimerização e condensação dos grupos silanóis. Em geral, preparações com baixo valor de pH e baixo teor de água produzem materiais densos com tamanho médio de poros

pequeno, enquanto preparações com valores altos de pH e altos teores de água produzem materiais mais porosos.^[12]

Zhu *et. al.* (2007) propuseram uma melhor relação de proporção entre o material de carbono e o precursor (metiltrimetoxisilano) analisando-se as respostas eletroquímicas para os eletrodos preparados com diferentes proporções. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se a proporção intermediária de quantidade de grafite e da mistura hidrolisada (50/50% m/m), na qual foi observada uma melhor reversibilidade do sistema eletroquímico (menor resistividade), além de maior sensibilidade em meio a ferrocianeto de potássio.^[7]

Em um outro trabalho, Gong *et. al.* constataram que ECC a base de nanotubos de carbono (MWNT - nanotubo de carbono de parede múltipla) exibiam características que iam desde um eletrodo convencional a um ultramicroeletrodo, as quais variavam conforme a quantidade de MWNT disperso na matriz de sílica. O eletrodo foi preparado pelo processo sol-gel, utilizando-se o precursor metiltrietoxisilano no preparo da mistura hidrolisada (composta por 0,5 mL do precursor, 0,6 mL de água destilada 1,2 mL de etanol além de 10 μL de HCl concentrado). As quantidades de nanotubo de carbono de parede múltipla (MWNT) foram variadas, nas seguintes proporções MWNT/mistura hidrolisada: 2,0; 0,5; e 0,08 mg/mL. Uma alíquota de 0,5 μL da suspensão foi inserida sobre um eletrodo de carbono vítreo, finalizando a obtenção do eletrodo (simbolizado pela sigla CCNNE). Os voltamogramas cíclicos em meio a 1,0 mmolL^{-1} de ferrocianeto de potássio dos três eletrodos apresentaram grandes diferenças. O CCNNE com maior quantidade de MWNT apresentou um par de picos redox muito mais definido, além de pequena separação de potenciais ($\Delta E_p = 60 \text{ mV}$), e $I_{p_a}/I_{p_c} = 0,99$ sugerindo que o processo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ é facilitado pelo eletrodo nessa proporção (Figura 3A). A resposta eletroquímica do CCNNE preparado na menor proporção mudou consideravelmente, resultando numa resposta voltamétrica sigmoidal de baixa corrente, indicando que pequenas quantidades de MWNT são favoráveis para a construção de ultramicroeletrodos na configuração estudada (Figura 3B) ^[32]

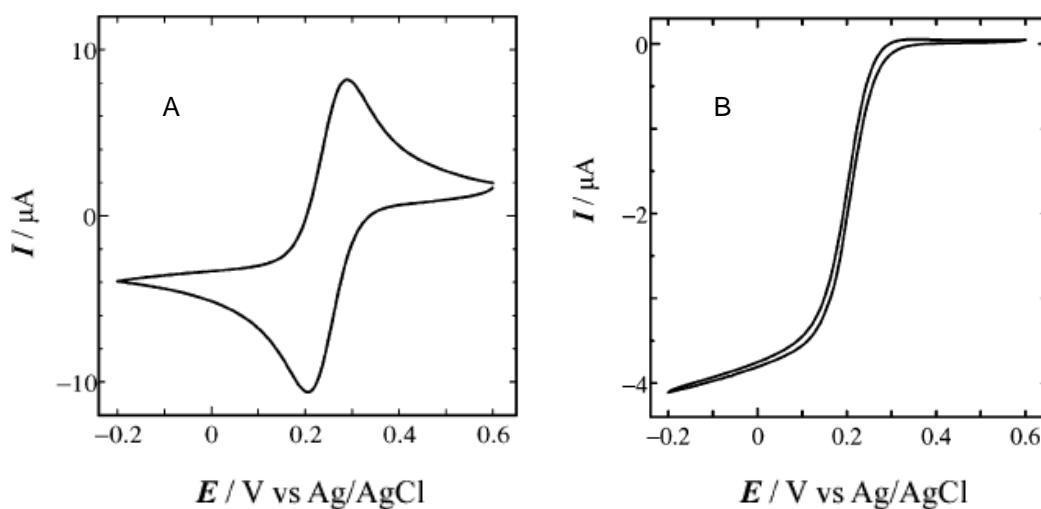


Figura 3 - Voltamogramas Cíclicos em meio a $K_3Fe(CN)_6$ e tampão fosfato ($0,1 \text{ molL}^{-1}$) dos CCNEs preparados nas proporções MWNT/mistura hidrolisada (A) 2,0 (B) 0,08 mg/mL.^[32]

1.2.3 Aplicações como Sensores Eletroquímicos

As propriedades dos eletrodos de carbono cerâmico, tais como área superficial elevada e resistência mecânica, têm sido exploradas para a obtenção de sensores eletroquímicos, já que há o aumento da superfície ativa e conseqüentemente na sensibilidade e velocidade das reações. A possibilidade de modificação do *bulk* do eletrodo pode propiciar ainda o aumento da quantidade de espécies ativas presentes no mesmo.^[34 - 36]

As vantagens apresentadas pelos ECC tem sido extensivamente exploradas principalmente na utilização desses materiais para a construção de sensores eletroquímicos. Essa aplicação tem sido ampliada cada vez mais com as novas possibilidades de modificação dos eletrodos com espécies mediadoras de elétrons.

Salimi, Mamkhezri e Hallaj (2007) utilizaram o eletrodo de carbono cerâmico preparado com metiltrimetoxisilano como sensor amperométrico para a determinação do ácido úrico, além dos neurotransmissores entre eles a dopamina na presença de ácido ascórbico ($0,1 \text{ mmolL}^{-1}$). Estudos eletroquímicos do sensor proposto levaram a conclusão de que este pode ser utilizado para análise em amostras reais e na detecção de neurotransmissores, sendo considerado sensível, e estável na análise de biomoléculas. Além disso, o sistema proporcionou a análise

simultânea das espécies acima citadas, sem a necessidade de separação prévia da amostra, resultando em voltamogramas cíclicos com três picos bem definidos em 100, 300 e 450 mV, correspondentes respectivamente à oxidação de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico.^[4]

1.2.3.1 ECC modificado

Existem possibilidades de aumentar a gama de aplicações dos eletrodos de carbono cerâmico como sensores eletroquímicos. Uma dessas estratégias está na modificação desses materiais utilizando-se espécies mediadoras de elétrons tais como enzimas, complexos inorgânicos e orgânicos, óxidos metálicos, entre outros.^[11, 25, 30] Estes mediadores agem como eletrocatalisadores facilitando o processo de transferência de elétrons, diminuindo os valores de potenciais aplicados. Conseqüentemente a modificação pode proporcionar ao eletrodo características que favorecem um aumento na sua sensibilidade e a seletividade em relação aos não modificados.^[37- 41]

A modificação de eletrodos compósitos consiste na maioria das vezes na mistura do carbono em pó a uma solução adequada do agente modificador. Após a evaporação do solvente as partículas de carbono ficam recobertas pelo modificador, numa distribuição homogênea deste último.

A abordagem a seguir destaca os agentes modificadores mais utilizados na construção de eletrodos compósitos sendo estes os complexos inorgânicos, complexos orgânicos, óxidos metálicos e enzimas.

1.2.3.1.1 Modificadores inorgânicos e óxidos metálicos

Eletrodos compósitos modificados com complexos inorgânicos têm sido aplicados principalmente na determinação de espécies de interesse farmacológico e ambiental.

Por exemplo, o ECC modificado com um complexo de rutênio [Ru(bpy)(tpy)Cl]PF₆ foi aplicado com êxito na detecção amperométrica de insulina

em pH fisiológico (Tabela 1). A incorporação do modificador na matriz sol-gel proporcionou uma excelente atividade eletrocatalítica para oxidação da insulina apresentando um potencial de pico anódico em 700 mV. Os resultados foram comparados aos do ECC não modificado, o qual não apresentou resposta voltamétrica para o analito em questão.^[25]

Salimi e Abdi (2007) construíram um sensor amperométrico para a detecção de hidrazina e hidroxilamina, baseado na modificação do ECC com pó de níquel e posterior deposição de um filme de hexacianoferrato de níquel. Os parâmetros analíticos obtidos pelo ECC modificado (conforme a Tabela 1) demonstraram-se melhores do que os obtidos para o não modificado, justificando a vantagem da modificação para aplicação em espécies de interesse ambiental.^[26]

Os ECC também têm sido extensivamente aplicados na determinação eletroanalítica de gases, devido a sua estrutura porosa, a qual permite uma alta permeabilidade para gases.^[25] Tsionsky e Lev aplicaram o ECC modificado com porfirina de cobalto (CoTMMP), na detecção de oxigênio, além de estudar o comportamento deste sensor em meio a dióxido de carbono e dióxido de enxofre.^[22]

Uma das novas alternativas de modificação consiste na incorporação de óxidos metálicos (tais como o óxido de estanho, titânio, dentre outros) no carbono cerâmico visando o aumento da condutividade do ECC, reduzindo dessa forma a resistência interna apresentada pela matriz de sílica. Neste sentido, Maroneze *et. al.* desenvolveram um ECC modificado com azul de meldola imobilizado sobre o compósito SiO₂/TiO₂/grafite, preparado com o precursor tetraortossilicato, o qual foi utilizado na detecção do cofator NADH.^[11] O sensor proposto resultou em uma faixa de resposta linear de 18,00 μmol L⁻¹ a 7,29 mmol L⁻¹ e um limite de detecção de 8,00 μmol L⁻¹ demonstrando que o material de SiO₂/TiO₂/grafite é promissor para ser utilizado como suporte de espécies mediadoras de elétrons para a construção de possíveis sensores eletroquímicos. Em outro trabalho similar, o ECC preparado com SnO₂ foi modificado com ftalocianina de cobalto, resultando em um material com boa dispersão e homogêneo, o qual foi aplicado na determinação de ácido oxálico.^[9] Eletrodos compósitos também tem sido preparados com óxidos de zircônio, aumentando as possibilidades de aplicação destes materiais.^[28]

Tabela 1 - Exemplos de sensores modificados com compostos inorgânicos.

<i>Analito</i>	<i>Tipo de modificador</i>	<i>Faixa de resposta linear</i>	<i>Sensibilidade</i>	<i>Limite de detecção</i>	<i>Ref</i>
Modificadores inorgânicos					
Insulina em pH fisiológico	[Ru(bpy)(tpy)Cl]PF ₆	0,50 nmol L ⁻¹ - 0,85 μmol L ⁻¹	7,60 A/ molL ⁻¹	0,40 nmolL ⁻¹	25
Ácido ascórbico	Hexacianoferrato de térbio	0,50 μmol L ⁻¹ - 0,10 mmol L ⁻¹	0,14 μA/mmolL ⁻¹	0,20 μmolL ⁻¹	2
L-cysteína e Glutaciona	[Ru(bpy)(tpy)Cl]PF ₆	5,00 μmol L ⁻¹ - 0,67 mmol L ⁻¹ e 5,00 μmol L ⁻¹ - 0,70 μmol L ⁻¹	5,00 nA/μmolL ⁻¹ e 7,80 nA/μmolL ⁻¹	Ambos = 1,00 μmolL ⁻¹	40
Tiosulfato	Hexacianoferrato de níquel (II)	5,00 μmolL ⁻¹ - 20,00 mmolL ⁻¹	1,33 μA/mmolL ⁻¹	0,36 μmolL ⁻¹	42
Hidrazina E Hidroxilamina	Pó de Ni e hexacianoferrato de níquel	1,00 μmolL ⁻¹ - 50,00 mmolL ⁻¹ e 1,00 μmolL ⁻¹ - 50,00 mmolL ⁻¹	0,46 μA/μmolL ⁻¹ E 0,26 μA/μmolL ⁻¹	0,24 μmolL ⁻¹ e 0,28 μmolL ⁻¹	26
Ácido oxálico	Ftalocianina de cobalto	0,16 μmolL ⁻¹ - 20,00 mmolL ⁻¹	-	7,10 μmolL ⁻¹	10

Outra proposta consistiu na eletrodeposição de filmes de PbO_2 , sobre a superfície dos eletrodos de carbono cerâmico (ECC| PbO_2 preparado com MTMOS e grafite) e aplicado como sensor de pH em amostras de suco comerciais. Duas diferentes estruturas cristalinas de α e β PbO_2 , foram utilizadas resultando em respostas similares. Estudos comparativos em amostras de suco de laranja e maçã, com eletrodos de vidro convencionais demonstraram respostas similares com as do ECC| PbO_2 , o que indica que estes podem ser utilizados no monitoramento de pH.^[43]

Recentemente alguns trabalhos têm utilizado nanopartículas de platina na modificação de eletrodos compósitos.^[44,45] Razmi *et. al.* prepararam um filme de poli (o-fenilenodiamina) eletropolimerizado em um eletrodo de carbono cerâmico, incorporando nanopartículas de Pt (sendo denominado Pt|PoPD|CC) visando a investigação do eletrodo resultante para a oxidação eletrocatalítica de metanol. O estudo resultou em uma maiores valores de corrente do eletrodo proposto quando comparado aos resultados do mesmo processo de modificação substituindo o carbono cerâmico por carbono vítreo e Pt. Além disso o Pt|PoPD|CC apresentou estabilidade e reprodutibilidade durante as duas semanas de estudo.^[46]

1.2.3.1.2 Modificadores orgânicos

Mediadores redox orgânicos também têm sido explorados na modificação dos eletrodos de carbono cerâmico. Sheng, Yu e Zheng utilizaram o composto violeta de pirocatecol para a modificação de um ECC preparado com grafite e o precursor metiltrimetoxisilano, na detecção amperométrica de peróxido de hidrogênio, resultando em um eletrodo com sensibilidade considerável, conforme os dados da tabela (Tabela 2).^[5]

A adsorção de azul de metileno no ECC obtido pelo processo sol-gel contendo partículas de sílica e óxido de zircônio, resultou em uma importante aplicação para os eletrodos compósitos. Nesse sentido, Arguello *et. al.* aplicaram o eletrodo compósito resultante na determinação de ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico com considerável separação de picos, 74, 94, 181 mV respectivamente, possibilitando a análise simultânea de dopamina e ácido úrico, sem a interferência do ácido ascórbico.^[9] Esse trabalho ilustra a importância do aumento da

potencialidade do eletrodo com a incorporação de óxido metálico conforme discutido anteriormente, associado à propriedade de mediador de elétrons do azul de metileno (Tabela 2).

Outro exemplo de modificadores orgânicos foi descrito por Zhu et al. (2007) que construíram um eletrodo de carbono vítreo cerâmico (ECCV) modificado com fenantroquina, para a determinação amperométrica de iodeto. A modificação do ECCV, possibilitou o estudo do iodeto através de cronoamperometria fixando-se o potencial em 50 mV relativo ao eletrodo de Ag/AgCl. A faixa de resposta linear para o analito foi de $6,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ à $2,00 \text{mmol L}^{-1}$, com alta sensibilidade e um limite de detecção de $1,60 \mu\text{mol L}^{-1}$, sendo portanto segundo estes parâmetros analíticos um ótimo sensor para íons iodeto.^[7]

1.2.3.1.3 Enzimas

Uma interessante aplicação para os compósitos de carbono cerâmico está relacionada com a construção de biossensores. O processo sol-gel tem se mostrado um ótimo método para imobilização de enzimas, uma vez que possibilita o encapsulamento das mesmas no interior da matriz inorgânica em temperatura ambiente, minimizando assim a sua desativação. O esqueleto de sílica do compósito confere rigidez ao biossensor enquanto que a superfície organicamente modificada garante que a água não irá penetrar no seu interior. Por outro lado, o material de carbono contribui para a condutividade elétrica além de proteger a enzima durante o processo sol-gel. Mediadores redox também podem ser incorporados juntamente com a enzima na matriz, de modo a facilitar o processo de transferência de carga.^[6,47]

Dentro deste contexto, a enzima HRP, foi incorporada ao ECC preparado com grafite e o precursor (3-mercaptopropil) trimetoxisilano (MPTMOS), através da interação da enzima com o grupo tiol presente na superfície do ECC. Sobre o material resultante adicionou-se uma monocamada de nanopartículas de Au (nano-Au) que agiu como um mediador ativo. O biossensor obtido foi utilizado na detecção de H_2O_2 em meio à hidroquinona a qual foi empregada como mediadora de elétrons. Os resultados mostraram que a HRP imobilizada em conjunto com as nano-Au sobre

o ECC facilitou o processo electrocatalítico de redução do H_2O_2 , com boa sensibilidade, uma grande faixa linear ($0,12 \mu\text{mol L}^{-1}$ - $1,10 \text{mmol L}^{-1}$), além de um baixo limite de detecção ($6,1 \mu\text{mol L}^{-1}$).^[47]

Um biossensor para glicose foi construído pela deposição electroquímica do Polipirrol (ppy) em presença de glicose oxidase sobre a superfície de um electrodo de carbono cerâmico com HRP incorporada durante o processo sol-gel. A detecção de glicose foi realizada em $0,16 \text{V}$ (versus electrodo de calomelano saturado) em meio a solução de tampão fosfato (pH 6,9). O biossensor apresentou uma faixa de resposta linear entre $0,80$ e $0,13 \mu\text{mol L}^{-1}$, mantendo a sensibilidade inicial para o analito com uma estabilidade de detecção 92% após a primeira semana, e 62 % após 3 semanas.^[30] Na Tabela 2 estão resumidas as características de alguns sensores modificados com compostos orgânicos e biossensores electroquímicos a base de carbono cerâmico, descritos na literatura.

Tabela 2 - Exemplos de sensores modificados com compostos orgânicos e biossensores a base de carbono cerâmico.

<i>Analito</i>	<i>Tipo de modificador</i>	<i>Faixa de resposta linear</i>	<i>Sensibilidade</i>	<i>Limite de detecção</i>	<i>Ref</i>
Modificadores orgânicos					
H ₂ O ₂	Azul de toluidina	5,37 µmolL ⁻¹ - 6,15 mmolL ⁻¹	–	2,15 µmolL ⁻¹	48
H ₂ O ₂	Violeta de pirocatecol (VP)	7,80 µmolL ⁻¹ - 0,16 mmolL ⁻¹	11,20 nA/µmolL ⁻¹	4,00 µmolL ⁻¹	5
Iodeto	Fenantroquinona	6,00 µmolL ⁻¹ - 2,00 mmolL ⁻¹	6,95 µA/mmolL ⁻¹	1,60 µmolL ⁻¹	27
Ácido ascórbico, dopamina E ácido úrico	Azul de metileno	10,00 µmolL ⁻¹ - 1,60 mmolL ⁻¹ / 6,00 µmolL ⁻¹ - 0,10 mmolL ⁻¹ / 22,00 µmolL ⁻¹ - 0,35 mmolL ⁻¹	21,90 µA/mmolL ⁻¹ 482,80 µA/mmolL ⁻¹ 120,15 µA/mmolL ⁻¹	8,30 µmolL ⁻¹ 1,70 µmolL ⁻¹ 1,70 µmolL ⁻¹	9
Biossensores					
H ₂ O ₂	Horseradish peroxidase	0,12 µmolL ⁻¹ - 1,10 mmolL ⁻¹	–	6,10 µmolL ⁻¹	47
Glicose	Glicose oxidase/ Horseradish peroxidase	0,80 - 0,13 µmolL ⁻¹	1,11 µAmmolL ⁻¹	–	30
NADH	Ácido clorogênico	1,00 µmolL ⁻¹ - 0,12 mmolL ⁻¹	25,00 nA molL ⁻¹	0,20 µmolL ⁻¹	49

1.2.4. Métodos de Caracterização

1.2.4.1 Caracterização eletroquímica

Os métodos voltamétricos baseiam-se na medida da corrente em função do potencial aplicado a um eletrodo, sob condições de completa polarização de concentração. As informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química são obtidas a partir do registro de curvas corrente-potencial, feitas durante as reações de oxidação e redução dessa espécie.^[50] Para a realização de um estudo de voltametria cíclica são utilizados um eletrodo de trabalho (estacionário e pequeno), juntamente com um eletrodo de referência e um contra-eletrodo (ou eletrodo auxiliar) constituindo o sistema convencional de três eletrodos.^[51,52] O trabalho de Heyrovsky e Kuceras em 1922 foi o pioneiro utilizando-se a técnica, inicialmente chamada de polarografia. Atualmente, existem diversas técnicas de voltametria que são utilizadas pelos químicos inorgânicos, físico-químicos e bioquímicos para fins analíticos. Entre os exemplos de técnicas voltamétricas, pode-se citar a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada, entre outras.^[51]

1.2.4.1.1 Voltametria cíclica

Das diferentes técnicas eletroquímicas a voltametria cíclica (VC) é a técnica mais comumente usada para análises qualitativas sobre os processos redox de eletrodos em geral. A técnica consiste na realização da varredura do potencial direto e inverso em vários ciclos sucessivos em função do tempo sobre o eletrodo de trabalho, observando-se os picos catódicos e anódicos da espécie eletroativa. Gera-se então um voltamograma que consiste num gráfico de corrente em função do potencial, fornecendo informações qualitativas e quantitativas.^[52]

Nesse sistema, analisa-se a resposta da corrente do eletrodo de trabalho, em solução aplicando-se um potencial de onda triangular, representado na Figura 4. O potencial aplicado no eletrodo de trabalho, utilizando-se um potenciostato é medido relativamente a um eletrodo de referência (onde o Ag/AgCl e o eletrodo de

calomelano saturado são os mais utilizados), no qual não há fluxo de corrente, e o circuito é completo pelo contra eletrodo (geralmente um fio de platina).^[52]

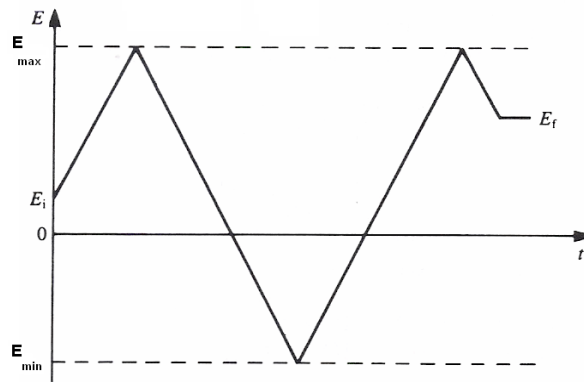


Figura 4 - Variação do potencial aplicado com o tempo em voltametria cíclica, mostrando o potencial inicial, E_i , o potencial final, E_f , os potenciais máximo, $E_{máx}$, e mínimo, $E_{mín}$.^[52]

O potencial no início da varredura varia linearmente de um valor no qual nenhuma redução ocorre. Com o aumento do potencial para regiões mais negativas (catódica) ocorre a redução do composto em solução, gerando um pico de corrente proporcional à concentração deste composto, quando o potencial já tiver atingido um valor no qual nenhuma reação de redução ocorre, o potencial é varrido no sentido inverso. O gráfico da corrente versus potencial é chamado de voltamograma.^[53]

Os principais parâmetros analisados nos voltamogramas cíclicos são os potenciais de oxidação e redução (E_{pa} e E_{pc} , respectivamente), as correntes de picos anódicas e catódicas (I_{pa} e I_{pc} , respectivamente). A corrente total é dada pela soma da corrente capacitiva com a corrente faradaica. A corrente faradaica ocorre devido à reação no eletrodo e a corrente capacitiva devido a contribuição da carga da dupla camada elétrica. Quando as velocidades de varredura são elevadas, a corrente capacitiva deve ser subtraída de modo a obter valores exatos das constantes de velocidade.^[52] A Figura 5 ilustra um voltamograma cíclico com os principais parâmetros de análise.

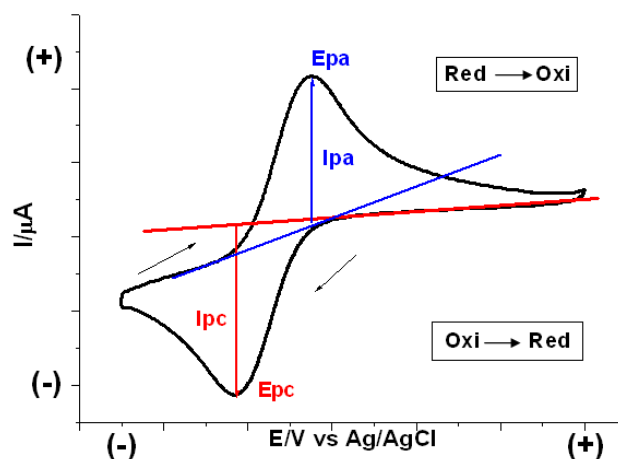


Figura 5 - Voltamograma cíclico típico de espécies redox em solução e os principais parâmetros obtidos a partir do mesmo.

Os picos catódicos e anódicos crescem a cada varredura quando há adsorção no eletrodo. O crescimento dos picos é interrompido quando ocorre saturação na superfície do eletrodo. Se o sistema for reversível, isto é, se a quantidade de cargas envolvidas nas varreduras catódicas e anódicas forem iguais, o crescimento irá ocorrer no mesmo potencial. A técnica possibilita a avaliação dos processos de oxidação, redução, reversibilidade, mecanismos de reações redox, formação de intermediários e adsorção sobre eletrodos. A desvantagem desta técnica está no fato de não conseguir determinar espécies com concentrações abaixo de 10^{-4} a 10^{-5} mol L⁻¹.^[54]

A partir da análise dos parâmetros eletroquímicos é possível determinar se o sistema é reversível, irreversível ou quase-reversível. Sistemas reversíveis são caracterizados por uma separação de potenciais de pico de $E_{pa} - E_{pc} = 59 \text{ mV}/n$ (onde n é o número de elétrons envolvidos na semi-reação), sendo este valor independente da velocidade de varredura e uma relação I_{pa}/I_{pc} igual a 1, com valores de I_{pa} e I_{pc} linearmente dependentes da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) (Equação 1). Para uma reação reversível em eletrodo planar, a cinética da reação de transferência de carga é rápida, ou seja, $K_s > 10^{-1} \text{ cm s}^{-1}$ (onde K_s é velocidade de transferência de carga), neste caso apenas a etapa de transferência de massa será responsável pelo processo. A corrente do pico (em amperes) neste caso é dada por:

$$I_{pc} = (2,69 \cdot 10^5) n^{2/3} A D_0^{1/2} v^{1/2} C_0$$

Equação 1

sendo n o número de elétrons envolvidos no processo, A área do eletrodo (cm^2), D_0 é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), C_0 é a concentração da espécie em solução (mol cm^{-3}), e v a velocidade de varredura (Vs^{-1}).^[52]

Numa reação reversível onde a reação ocorre com velocidade suficientemente alta para estabelecer um equilíbrio dinâmico na interface, a equação de Butler-Volmer se reduz na equação de Nernst (Equação 2) :

$$E = E^0 - \frac{0,059}{n} \log A$$

Equação 2

onde E é o potencial, E^0 é o potencial padrão, A é a razão entre as atividades dos produtos e reagentes, cada uma delas elevadas aos respectivos coeficientes estequiométricos e n é o número de elétrons envolvidos na reação global da célula.^[52,54]

Em sistemas quase-reversíveis, a diferença de potencial ΔE aumenta com o aumento da velocidade de varredura, verificando-se ao mesmo tempo, uma diminuição das correntes de pico quando comparadas à sistemas reversíveis. Na reação quase-reversível ($10^{-1} > K_s > 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$), a corrente é controlada pela etapa de transferência de massa e pela etapa de transferência de carga e a equação de Nernst é aproximadamente satisfeita.

No caso de sistemas irreversíveis os valores de ΔE geralmente são muito elevados.^[52] Nessa caso a velocidade de transferência de carga é lenta quando comparada com a velocidade de varredura ($K_s < 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$), as concentrações das espécies oxidadas e reduzidas não serão mais função apenas do potencial, possuindo um comportamento não nernstiano. Portanto os termos α (coeficiente de transferência) e K_s devem ser considerados. Nestas circunstâncias, a equação que descreve a corrente de pico (I_{pc}) é dada por:

$$I_{pc} = (2,99 \cdot 10^5) n (\alpha n)^{1/2} A C_0 D_0^{1/2} v^{1/2}$$

Equação 3

Desta forma, o voltamograma costuma apresentar apenas pico anódico, que irá deslocar-se com o aumento da velocidade de varredura. Além disso, este pico varia também com α e K_s .^[52]

Baseando-se nos parâmetros apresentados, a técnica de voltametria cíclica tem sido amplamente utilizada para caracterização de eletrodos. Um exemplo de aplicação da VC na caracterização de eletrodos compósitos foi apresentado no trabalho de Salimi *et. al.* que desenvolveram um eletrodo de carbono cerâmico modificado com pó de níquel para a detecção de derivados sulfúricos tais como SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$. O estudo em diferentes velocidades de varredura em meio ao eletrólito NaOH não demonstrou variação entre os potenciais de pico sob diferentes velocidades de varredura (Figura 6), sugerindo a estabilidade do sistema em estudo. A razão das correntes I_{pa}/I_{pc} encontrada foi aproximadamente igual a um e estas foram diretamente proporcionais à velocidade de varredura apresentando um comportamento típico de espécies confinadas. Além disso, não houve deslocamento de potenciais de pico com o aumento da velocidade, sugerindo que a transferência de elétrons é facilitada nessa faixa de velocidade.^[39]

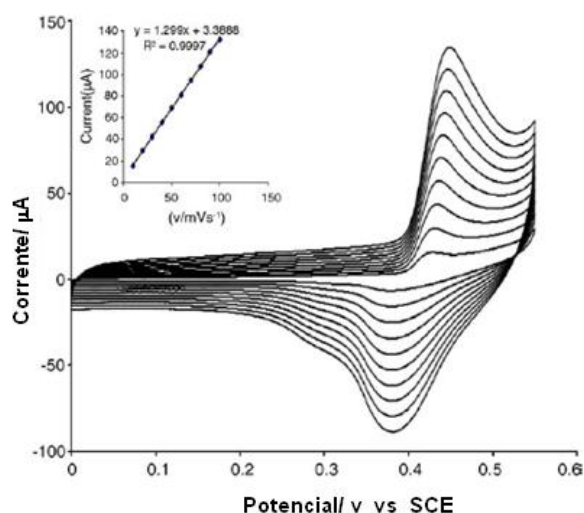


Figura 6 - Voltamogramas cíclicos do ECC modificado com níquel em solução de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH (pH 13), em diferentes velocidades de varredura: 10 a 100 mVs^{-1} . Gráfico Inserido: Relação entre a corrente e a velocidade de varredura.^[39]

Zheng *et. al.* aplicaram a técnica de voltametria cíclica para quantificação de hidrazina. Para tanto foi utilizado um ECC modificado com hexacianoferrato de bismuto, variando-se a concentração do analito de $0,4$ a $10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (Figura 7). O

estudo resultou em uma relação linear entre a corrente de pico e a concentração da espécie analisada indicando uma possível aplicação deste eletrodo como sensor para hidrazina.^[41]

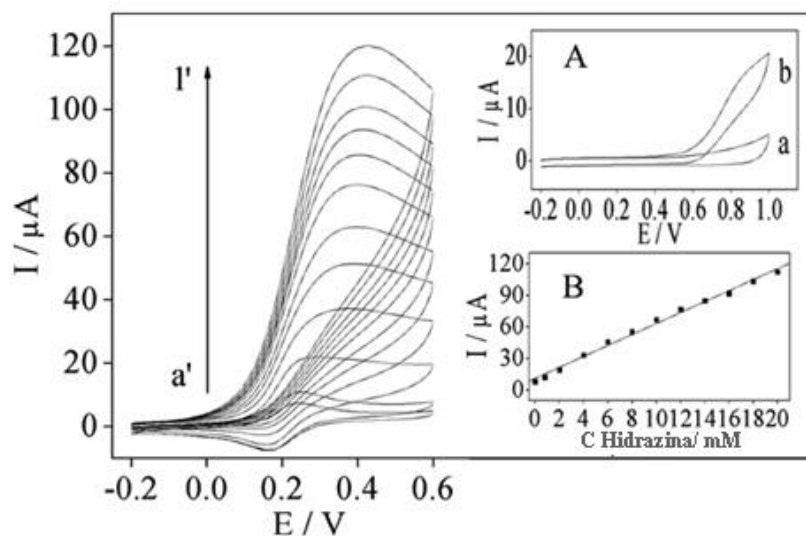


Figura 7 - Voltamogramas cíclicos do BiHCF/ECC em diferentes concentrações de hidrazina. Figuras inseridas (A) Voltamogramas do eletrodo não modificado na ausência da hidrazina [a], e na presença de 0,4 mmol L⁻¹ [b]. (B) Curva analítica entre I_p e diferentes concentrações de hidrazina.^[41]

1.2.4.1.2 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (VOQ) é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas e sensíveis. Os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas cromatográficas e espectroscópicas. Inicialmente foi definida como polarografia de onda quadrada por Geoffery Barker *et. al.* em 1953 quando estudavam uma maneira de compensar a corrente capacitiva residual obtida nas análises polarográficas.^[55] Em 1969, Ramaley e Krause⁵⁶ utilizaram eletrodos estacionários, eliminando assim a influência dos ruídos intensificados pelo uso do capilar de mercúrio. Eles substituíram a rampa linear de potencial por uma variação na forma de escada, surgindo então a voltametria de onda quadrada que utilizava uma variação de potencial na forma de onda, aliada a uma rampa de potencial na forma de escada, gerando um pico simétrico que poderia ser utilizado para determinações analíticas.^[57]

A forma da curva de corrente-potencial é proveniente da aplicação de potenciais de altura ΔE_s (incremento de varredura de potenciais), que variam de acordo com uma escada de potencial com largura a (amplitude do pulso de potencial) e duração τ (período). Na curva de potencial-tempo, a largura do pulso ($\tau/2$) é chamada t e a frequência de aplicação dos pulsos é chamada de f e é dada por $(1/t)$. As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos e reversos e o sinal é obtido como uma intensidade da corrente resultante (ΔI) de forma diferencial, e apresenta excelente sensibilidade e grande diminuição das correntes capacitivas. Esta medida precede um tempo inicial (t_i) onde o eletrodo de trabalho é polarizado a um potencial onde a reação redox não ocorre. A Figura 8 apresenta a forma de aplicação do potencial da VOQ. O pico voltamétrico resultante apresenta posição, largura e altura características do tipo de sistema redox avaliado.^[58]

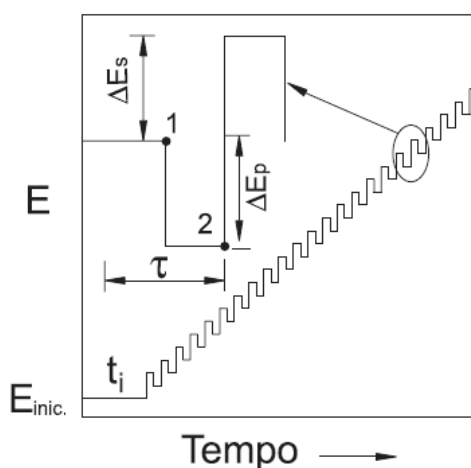


Figura 8 - Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.^[58]

A VOQ tornou-se uma das técnicas de pulso mais empregadas na determinação analítica, por fornecer resultados tão sensíveis quanto aqueles obtidos nas técnicas cromatográficas ou espectroscópicas, com a vantagem da amostra não necessitar de nenhum tratamento ou separação prévia, o que minimiza o tempo e o custo das análises.^[58]

As vantagens da VOQ ampliam a aplicação da mesma em determinações eletroanalíticas. Nesse sentido, Adarkani *et. al.* utilizaram medidas VOQ no estudo da determinação simultânea de dopamina em meio a ácido úrico e cisteína utilizando-se um eletrodo de pasta de carbono modificado com nanopartículas de TiO_2 (EPC/ TiO_2). A oxidação da DA foi estudada na faixa de $8,0\text{-}1400 \mu\text{mol L}^{-1}$,

obtendo-se um limite de detecção de $8,4 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7,0). A análise simultânea resultou em dois picos redox sendo um referente a DA (em 155 mV) e em regiões mais positivas (574 mV) o pico resultante da cisteína (Figura 9).⁵⁹

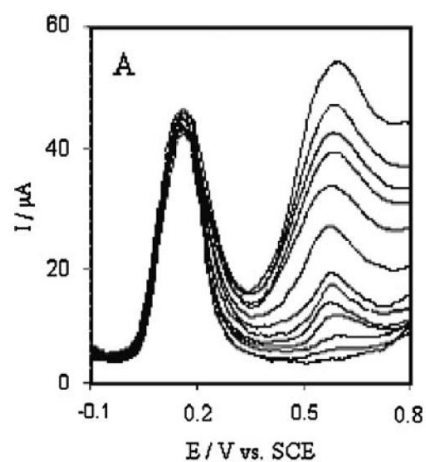


Figura 9 - Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo EPC/TiO₂ na presença de uma concentração fixa de DA ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) em meio a tampão fosfato (pH 7.0) contendo e diferentes concentrações de cisteína ($10 - 2000 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$).^[59]

1.2.4.2 Caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura

Atualmente, informações de alta resolução sobre superfícies são obtidas por três técnicas: a microscopia eletrônica de transmissão (MET), a microscopia de força atômica (AFM), e a microscopia eletrônica de varredura (MEV), sendo esta última apresentada na sequência com maiores detalhes por ter sido utilizada no desenvolvimento do trabalho.^[53,60]

Na microscopia eletrônica de varredura os sinais de maior interesse para a formação da imagem são os elétrons secundários e os retroespalhados. A medida que o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra estes sinais vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície. Os elétrons secundários fornecem imagem de topografia da superfície da amostra e são os responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução, já os retroespalhados fornecem imagem característica de variação de composição.^[60]

A Microscopia eletrônica de Varredura fornece informações morfológicas e topográficas sobre as superfícies de sólidos, fatores fundamentais para entender o comportamento das mesmas. O aumento máximo conseguido pelo MEV fica entre o microscópio ótico e o Microscópio Eletrônico de Transmissão. A grande vantagem do MEV em relação ao microscópio ótico é sua alta resolução, na ordem de 2 a 5 nm (20 - 50 Å) - atualmente existem instrumentos com até 1 nm (10 Å) - enquanto que no ótico é de 0,5 µm. Comparado com o MET, a grande vantagem do MEV está na facilidade de preparação das amostras. A elevada profundidade de foco (imagem com aparência tridimensional) e a possibilidade de combinar a análise microestrutural com a microanálise química também são fatores que contribuem para o amplo uso desta técnica.^[61]

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) se tornou um instrumento imprescindível nas mais diversas áreas: eletrônica, geologia, ciência e engenharia dos materiais, ciências da vida, etc. Em particular, o desenvolvimento de novos materiais tem demandado um número de informações bastante detalhado a cerca das características microestruturais destes, só possível de ser observado no MEV.^[60,61]

O MEV tem seu potencial ainda mais desenvolvido com a adaptação na câmara da amostra de detectores de raios-X permitindo a realização de análise química na amostra em observação. Através da captação pelos detectores e da

análise dos raios-X característicos emitidos pela amostra, resultado da interação dos elétrons primários com a superfície, é possível obter informações qualitativas e quantitativas da composição da amostra na região submicrométrica de incidência do feixe de elétrons. Este procedimento facilita a identificação de precipitados e mesmo de variações de composição química dentro de um grão. Atualmente quase todos os MEV são equipados com detectores de raios-X, sendo que devido a confiabilidade e principalmente devido a facilidade de operação, a grande maioria faz uso do detector de energia dispersiva (EDS).^[60]

O uso da caracterização morfológica explicou a melhor reatividade e performance do eletrodo de carbono cerâmico preparado com nanotubo de carbono (ENC) sobre o ECC preparado com grafite nos estudos de voltametria cíclica em meio a ferrocianeto de potássio foi justificada através das imagens de MEV (Figura 10). Os resultados indicaram que a estrutura tubular do nanotubo, favorece o envolvimento de suas partículas pela estrutura de sílica formada no processo sol-gel, sendo esta configuração um dos fatores que determinam a maior sensibilidade de corrente para o ENC. Além disso, as imagens também indicaram uma estrutura porosa distribuída pela superfície (Figura 10a). Ao contrário, a estrutura tubular está ausente no compósito preparado com grafite, já que as estruturas lamelares desse material de carbono apresentaram-se agregadas (Figura 10b).^[7]

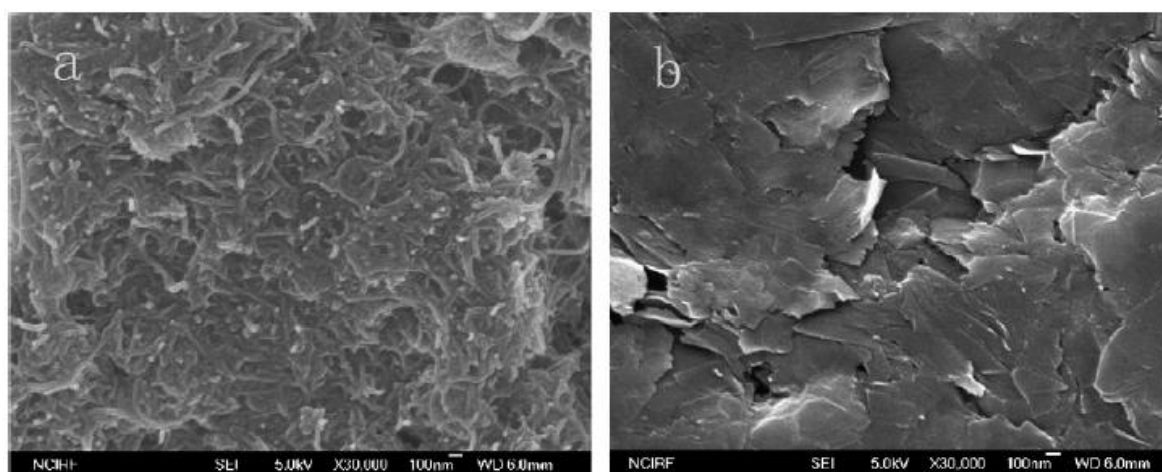


Figura 10 - Imagens de MEV (a) do eletrodo de nanotubo de carbono cerâmico e (b) eletrodo de carbono cerâmico com grafite (aumento de 30000X, escala= 10 μ m).^[7]

A modificação de eletrodos compósitos também pode ser monitorada através das imagens de MEV. Heidari *et. al.* incorporaram nanopartículas de platina no ECC (preparado com o precursor hidrofílico metiltrimetoxisilano (MTMOS e grafite) através da deposição eletroquímica, visando a aplicação como sensor para metanol. A caracterização do ECC modificado (Figura 11) demonstrou através das imagens uma alta densidade globular de partículas de Pt com diferentes tamanhos agregadas ao carbono cerâmico.^[38]

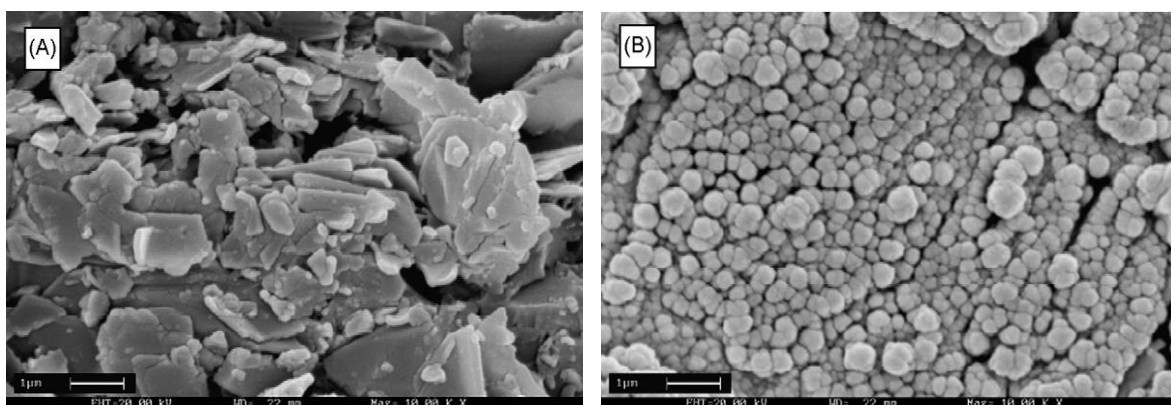


Figura 11 - Imagens de MEV do (A) ECC (B) Pt | ECC (após a deposição de platina).^[38]

1.2.5 Planejamento Fatorial

O procedimento mais utilizado para a otimização de experimentos com mais de uma variável consiste em investigar uma variável de cada vez. Procedendo desta forma, acredita-se que as variáveis são mais facilmente controladas e que os resultados sejam conseqüentemente, melhor interpretados. Entretanto, as variáveis (ou fatores) podem interagir fortemente e, neste caso, a utilização do procedimento tradicional não permite a observação de tais interações.^[62,63]

O planejamento fatorial é uma metodologia utilizada para a otimização de experimentos onde as diferentes variáveis de interesse estudadas, são avaliadas simultaneamente. Dessa forma existe a possibilidade de analisar as influências significativas que cada variável exerce sobre a resposta de interesse, assim como o efeito de interação entre variáveis. Para a realização de um planejamento fatorial, deve-se primeiramente determinar os fatores e as respostas de interesse para o sistema estudado. Em seguida define-se o objetivo que se pretende alcançar com os experimentos visando determinar o tipo de planejamento que deve ser utilizado.^[62]

Dentre os planejamentos fatoriais os do tipo 2^α são os mais comuns. Segundo a representação 2^α , tem-se que " α " é o número de fatores e 2 é o número de níveis escolhidos, os quais permitem otimizar o sistema, com um pequeno número de experimentos, e principalmente tornam possível a verificação dos efeitos entre os fatores nos diferentes níveis estudados. Um número reduzido de níveis não possibilita explorar de maneira completa uma grande região no espaço das variáveis, entretanto é possível observar tendências importantes para a continuação de um determinado estudo, como por exemplo a otimização de um eletrodo, que pode futuramente ser aplicado como sensor eletroquímico.^[64 - 66]

Em função dos diferentes parâmetros que influenciam as características de eletrodos, e principalmente dos efeitos de interação já observados por outros autores utilizando-se métodos quimiométricos, este método é de grande importância para otimização da preparação e obtenção das respostas analíticas dos eletrodos com o objetivo de aplicá-los como sensores eletroquímicos.

Kubota *et. al.* empregaram essa metodologia para a otimização da preparação de um eletrodo de pasta de carbono modificado com riboflavina imobilizada em suporte inorgânico, utilizando-se um planejamento fatorial do tipo 2^3 (2 níveis e 3 fatores), no qual foram analisados os seguintes fatores: a relação

entre as quantidades de grafite e sílica modificada (fator 1), a forma de preparação (fator 2) e a concentração de eletrólito suporte (fator 3).^[66]

Um planejamento fatorial 2^3 também foi empregado para otimizar parâmetros experimentais, na obtenção de um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanotubo de carbono, nafion e um complexo de níquel (Ni/Ciclan) para a detecção de estradiol. Os três fatores analisados foram a proporção nanotubo dissolvida em nafion (fator 1) a concentração desse último (fator 2) e o número de ciclos para a eletropolimerização do complexo de Ni (Fator 3). Observou-se uma interação de segunda ordem significativa entre os fatores 1 e 3, verificando-se a resposta otimizada na preparação do eletrodo com 15 μL de solução nanotubo em nafion (1% m/V), utilizando-se 20 ciclos para a eletropolimerização. O eletrodo foi posteriormente aplicado na detecção de estradiol em proteínas livres de amostras de soro humano.^[67]

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo geral o estudo das condições na preparação de eletrodos a base de carbono cerâmico (ECC) além da modificação com uma espécie mediadora de elétrons visando à aplicação dos eletrodos desenvolvidos como sensores eletroquímicos.

Para que este objetivo geral fosse alcançado foram cumpridas as seguintes etapas definidas abaixo:

- ✓ Preparação dos eletrodos a base de carbono cerâmico.
- ✓ Utilização de um planejamento fatorial 2^3 para avaliar a resposta eletroquímica a partir de dados obtidos pela técnica de voltametria cíclica (correntes de pico (i_p) e separação entre os potenciais de pico (ΔE_p) dos eletrodos de carbono cerâmico obtidos a partir de diferentes condições de síntese (parâmetros estudados: quantidade de HCl, proporção grafite/precursor e tipo de precursor).
- ✓ Modificação do ECC com ácido ferrocenocarboxílico (ECC/Ferroceno).
- ✓ Caracterização morfológica utilizando-se a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia dispersiva (EDS).
- ✓ Caracterização eletroquímica pelas técnicas de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada.
- ✓ Aplicação dos eletrodos preparados sob condições otimizadas na detecção simultânea de dopamina e ácido ascórbico.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 REAGENTES UTILIZADOS

Os reagentes utilizados na preparação dos eletrodos foram: os precursores trimetilmetoxissilano (Aldrich) tetraetoxissilano (Sigma-Aldrich), além da grafite (Fluka), metanol (Aldrich) e HCl.(Synth) Como eletrólito suporte utilizou-se NaCl (Vetec) e tampão fosfato (preparado com fosfato de sódio monobásico e dibásico ambos da fabricante Vetec). Para avaliar a aplicação dos eletrodos como sensores utilizaram-se dopamina (Sigma) e ácido ascórbico (Vetec).

3.2 SÍNTESE DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO E PLANEJAMENTO FATORIAL

Primeiramente preparou-se a mistura hidrolisada (onde grupos alcóxidos do precursor são convertidos em grupos do tipo silanol),¹¹ contendo 1,5 mL de metanol, que atua como o solvente da reação, além de três quantidades distintas de ácido clorídrico 12 mol L^{-1} [15 μL referente ao nível (-), 25 μL para o nível (0), e 35 μL ao nível (+)]. Adicionou-se ainda, quantidades variadas (conforme a Tabela 3) dos precursores (MTMOS ou TEOS), mantendo-se o sistema sob agitação durante cinco minutos, sendo realizado um planejamento fatorial para cada um dos precursores.

Tabela 3 - Proporções de grafite/precursor referentes ao nível determinado pelos ensaios realizados no processo de otimização de experimentos.

(% m/m) Quantidades	(-)	(0)	(+)
Grafite	50/50 1,5 g	55/45 1,65 g	60/40 1,8 g
Precursor *	1,5 mL	1,35 mL	1,20 mL

* MTMOS: $d= 0,955 \text{ g/mL}$; TEOS: $d= 0,934 \text{ g /mL}$

A mistura obtida foi então adicionada em quantidades variadas de grafite (Tabela 3), que também seguiram a proporção referente ao nível do planejamento. Após esta etapa, introduziu-se o sol resultante em um tubo de vidro (área exposta de aproximadamente $0,2 \text{ cm}^2$), inserindo-se um fio condutor de níquel-crômio (Ni-Cr), para o contato elétrico. Os eletrodos obtidos foram submetidos ao processo de secagem à temperatura ambiente em um dessecador, durante o período de uma semana. Na Figura 12 está mostrado um esquema do eletrodo preparado.

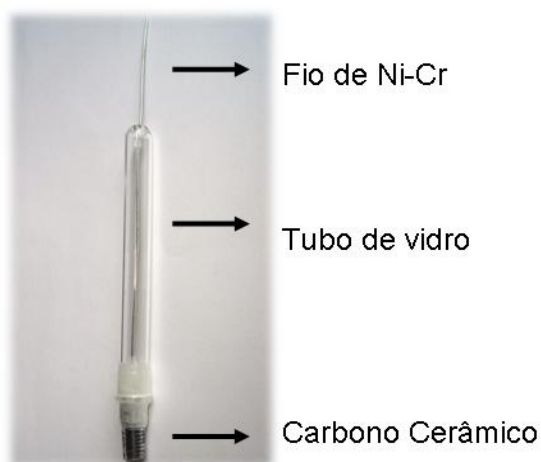


Figura 12 - Eletrodo de carbono cerâmico (ECC).

Foi realizado um planejamento fatorial, 2^3 analisando a interação entre as diferentes condições de preparação e as propriedades eletroquímicas dos ECC na presença de 10 mL de solução do ferrocianeto de potássio ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) em meio ao eletrólito suporte ($\text{NaCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 6,5$). Os fatores estudados foram a proporção grafite/precursor, a quantidade de HCl, e o tipo de precursor, onde os valores utilizados foram variados de acordo com os intervalos apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Fatores estudados no planejamento fatorial 2^3 com replicata do ponto central.

FATORES	(-)	(0)	(+)
1) HCl (μL)	15	25	35
2) Grafite/precursor (% m/m)	50/50	55/45	60/40
3) Tipo de Precursor	MTMOS	-	TEOS

Após as diferentes sínteses variando-se os fatores nos diferentes níveis (Tabela 5), as respostas eletroquímicas dos ECC foram analisadas com relação às correntes de pico anódica (I_p) e a variação dos potenciais de pico (ΔE_p) dos respectivos voltamogramas cíclicos referentes ao $K_4[Fe(CN)_6]$. Foram calculados com o auxílio do programa *Statistica* 8.0 os efeitos principais e os efeitos de interação (segunda e terceira ordem) referentes às respostas estudadas. Observou-se a presença ou não de efeitos significativos comparando-se os valores de efeito com a estimativa do desvio padrão calculado com os valores das replicatas do ponto central.

Tabela 5 - Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2^3 .

ENSAIO	HCl	Proporção	Tipo
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
9	0	0	-
10	0	0	-
11	0	0	-
12	0	0	+
13	0	0	+
14	0	0	+

3.3 SÍNTESE DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO MODIFICADO COM O ÁCIDO FERROCENOCARBOXÍLICO (ECC/FERROCENO)

O ECC/Ferroceno foi preparado de acordo com o procedimento otimizado usando o planejamento fatorial descrito no item anterior. Três diferentes quantidades de ácido ferrocenocarboxílico foram adicionadas (2,5; 5,0 e 10 mg) sobre a mistura hidrolisada e 1,8 g de grafite. Após esta etapa, o sol resultante foi introduzido em um tubo de vidro (área exposta de aproximadamente $0,2 \text{ cm}^2$), inserindo-se um fio de níquel-cromo (Ni-Cr) para contato elétrico. Os eletrodos foram submetidos ao processo de secagem em temperatura ambiente por um período de uma semana.

3.4 ESTUDOS ELETROQUÍMICOS

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato PalmSens[®] (*Palm Instrument BV*) conectado a um microcomputador para a aquisição dos dados. As respostas eletroquímicas de potenciais e correntes de pico foram obtidas pelas técnicas de voltametria cíclica (VC), e voltametria de onda quadrada (VOQ) utilizando-se uma cela com capacidade de 10 mL e um sistema convencional de três eletrodos: contra eletrodo de platina, eletrodo de referência (Ag/AgCl) e o ECC, como eletrodo de trabalho (Figura 13).

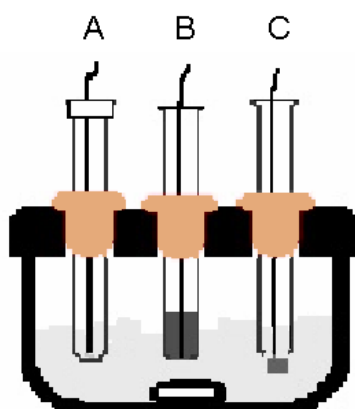


Figura 13 - Esquema da cela eletroquímica (A) Eletrodo de referência Ag/AgCl (B) Eletrodo de trabalho [ECC] (C) Contra eletrodo de platina.

O eletrólito suporte utilizado foi o NaCl na concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 6,5$) e nos estudos em diferentes pH este foi ajustado adicionando-se soluções de HCl e NaOH ($1,0$ e $0,5 \text{ mol L}^{-1}$). Os estudos de caracterização por voltametria cíclica do ECC foram realizados na presença de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$). Todos os ensaios por voltametria cíclica foram realizados a uma velocidade de varredura de 50 mVs^{-1} , exceto o estudo em diferentes velocidades onde esta variável foi avaliada na faixa de 10 a 100 mVs^{-1} . Os parâmetros de VOQ em presença de DA foram avaliados individualmente mantendo as demais condições fixas em: frequência = 100 s^{-1} , amplitude = 50 mV e incremento = $2,0 \text{ mV}$.

Para os testes da aplicação dos eletrodos como sensores eletroquímicos foram preparadas soluções estoque de dopamina e ácido ascórbico ($10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), em meio a tampão fosfato pH $7,0$ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$). A faixa das concentrações dos dois analitos na cela eletroquímica variou entre $0,2$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (com intervalo de $0,1 \text{ mL}$ entre as medidas) no estudo de VC e $1,0$ a $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ na VOQ, sendo estas resultantes da adição sucessiva da solução estoque.

No estudo da adição simultânea de dopamina e ácido ascórbico utilizou-se a técnica de voltametria de onda quadrada. Realizaram-se as medidas eletroquímicas em diferentes concentrações de dopamina na faixa de $1,0$ a $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e concentração de fixa de ácido ascórbico de $0,1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, de modo a obter uma relação de ácido ascórbico cem vezes mais concentrado que a dopamina na cela eletroquímica.

3.5 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ANÁLISE QUÍMICA

A caracterização morfológica dos ECC foi realizada a partir de micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para a análise do ECC/Ferroceno foram obtidas imagens por dois modos: elétrons secundários (ES) e por elétrons retroespalhados (ERE). As medidas foram realizadas no equipamento marca Shimadzu modelo SSX-550, no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Engenharia de materiais - UEPG. A análise química qualitativa e quantitativa foi obtida pela microanálise de energia dispersiva (EDS), com o espectrofotômetro acoplado no próprio microscópio eletrônico de varredura. As

amostras foram fixadas no porta-amostra utilizando-se uma fita condutora. As micrografias dos ECC preparados foram obtidas com um aumento de 1500 vezes, na escala de 10 μm e as imagens do ECC/Ferroceno foram obtidas com aumentos de 500 e 1500 vezes na faixa de 20 e 10 μm .

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

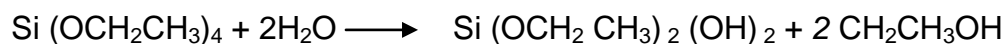
4.1 SÍNTESE DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO

O processo sol-gel de obtenção dos eletrodos de carbono cerâmico pode ser explicado pela de hidrólise em meio ácido do grupo alcóxido com a formação de grupos reativos do tipo silanol, seguida da etapa da condensação dos grupos silanol, ambas ocorridas via substituição nucleofílica bimolecular no átomo de silício.^[12] Abaixo estão mostradas as reações de hidrólise dos diferentes precursores com subsequente condensação dos grupos silanóis em meio ácido:

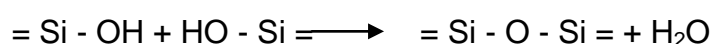
Reação de hidrólise do MTMOS



Reação de hidrólise do TEOS



Condensação dos grupos silanóis em meio ácido:



A dopagem do esqueleto de sílica formado pela condensação dos grupos silanóis, ocorre na etapa posterior a síntese. Quando o material de carbono é adicionado sobre a mistura hidrolisada, as partículas de grafite arranjam-se entre os interstícios da matriz de sílica, e após a evaporação do solvente o carbono cerâmico é obtido.^[12]

As características dos eletrodos de carbono cerâmico estão diretamente relacionadas à estrutura do precursor utilizado na obtenção do compósito. Um exemplo dessa influência se reflete na diminuição das correntes de fundo de eletrodos compósitos, devido ao aumento da hidrofobicidade do precursor.^[8] Em função disto, a escolha dos precursores MTMOS e TEOS (Figura 14) para a

obtenção dos ECC foi baseada na diferença estrutural destes, permitindo dessa forma verificar a influência dos diferentes precursores nas propriedades do ECC.

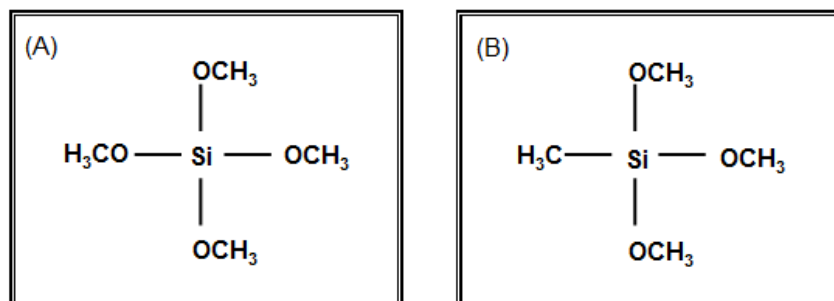


Figura 14 - Estrutura molecular dos precursores (A) MTMOS (B) TEOS

Além disso, as propriedades físicas (tais como, área superficial específica, tamanho médio dos poros) de um gel seco (o xerogel) dependem fortemente dos parâmetros utilizados na obtenção do processo de sol-gel, fato esse que motivou primeiramente a utilização do planejamento fatorial para otimização das condições de preparação do ECC.

4.2 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO

4.2.1 Planejamento Fatorial

A maior parte dos trabalhos recentemente publicados na área de eletrodos de carbono cerâmico avalia individualmente a influência dos parâmetros de preparação desses eletrodos levando-se em consideração as propriedades eletroquímicas dos mesmos.^[1-11] Dessa forma, um estudo para a análise do comportamento eletroquímico de ECC obtidos a partir de dois tipos de precursores, TEOS e MTMOS foi realizado empregando-se a metodologia de planejamento fatorial. Neste caso, além de avaliar a influência de cada variável sobre as respostas dos eletrodos, foi possível verificar a interação entre as mesmas. As variáveis estudadas foram: a quantidade de HCl concentrado do processo sol-gel, proporção grafite/precursor e o tipo de precursor. Como esta última variável estudada é qualitativa, o planejamento

fatorial completo com ponto central foi construído realizando-se uma triplicata com o precursor MTMOS e outra utilizando-se o TEOS.

As respostas dos ECC foram analisadas por voltametria cíclica na presença de ferrocianeto de potássio (utilizado como molécula sonda). As respostas eletroquímicas dos ECC foram analisadas com relação às correntes de pico anódica (i_{pa}) para avaliar a sensibilidade do eletrodo e a variação de potenciais (ΔE) dos respectivos voltamogramas cíclicos para verificar a reversibilidade do sistema. Os resultados obtidos para os eletrodos preparados nas diferentes condições mostradas na Tabela 6. A determinação da estimativa do desvio padrão foi realizada a partir das replicatas do ponto central, a fim de verificar os efeitos significativos de cada variável sobre as respostas dos eletrodos.

Tabela 6 - Respostas eletroquímicas para o planejamento fatorial 2^3 .

ENSAIO	HCl	Proporção	Tipo	i_{pa} (μA)	ΔE (mV)
1	-	-	-	5,83	198,8
2	+	-	-	9,61	234,6
3	-	+	-	10,34	165,7
4	+	+	-	0,22	389,6
5	-	-	+	0,33	447,5
6	+	-	+	0,25	447,2
7	-	+	+	1,13	370,7
8	+	+	+	0,32	408,0
9	0	0	-	6,22	96,7
10	0	0	-	3,73	88,1
11	0	0	-	6,93	71,7
12	0	0	+	0,44	475,7
13	0	0	+	0,29	408,1
14	0	0	+	0,33	415,2

Analisando-se os resultados obtidos, uma maior sensibilidade de corrente ($i_{pa}=10,34 \mu A$) e reversibilidade ($\Delta E=165,7$ mV) na resposta eletroquímica foi obtida para o ECC preparado com precursor MTMOS, 15 μL de HCl e proporção 60/40% m/m (grafite/precursor). No entanto, pode ser constatado que os dados

eletroquímicos referentes ao ponto central preparado com o precursor MTMOS, quando comparados ao ensaio 3, resultaram em menores valores de ΔE . Por outro lado, essa mesma triplicata apresentou uma menor sensibilidade além do deslocamento de potenciais de pico para regiões mais positivas (E_{pa} = 476,5 mV, E_{pc} = 404,8 mV) em relação ao ensaio 3 (E_{pa} =334,6 mV, E_{pc} = 168,9 mV). Como a construção desse eletrodo visa a sua aplicação como sensor eletroquímico, características voltamétricas mais favoráveis foram obtidas para o eletrodo construído a partir do ensaio 3.

O tratamento estatístico evidenciou que os fatores que obtiveram efeito significativo (com 95% de confiança) para os valores de I_{pa} , foram o tipo de precursor, a interação entre quantidade de catalisador e a proporção grafite/precursor, assim como a interação entre os três fatores analisados (Tabela 7). Essa interação de terceira ordem indica que para a obtenção de uma melhor sensibilidade de corrente os três fatores estudados devem ser levados em consideração.

Tabela 7 - Efeitos calculados para um planejamento fatorial 2^3 .

I_{pa} (μA)		ΔE (mV)	
Média: 3,28 μA \pm 0,32		Média: 301,2 mV \pm 7,42	
Efeitos Principais		Efeitos Principais	
1) HCl	- 1,81 \pm 0,84	1) HCl	74,2 \pm 19,6
2) Grafite/precursor	- 1,00 \pm 0,84	2) grafite/precursor	1,47 \pm 19,6
3) Tipo de precursor	- 5,68 \pm 0,64	3) Tipo de precursor	246,7 \pm 14,8
Interação de 2ª ordem		Interação de 2ª ordem	
1 x 2	-3,66 \pm 0,84	1 x 2	56,4 \pm 19,6
1 x 3	1,36 \pm 0,84	1 x 3	-55,7 \pm 19,6
2 x 3	1,44 \pm 0,84	2 x 3	- 59,5 \pm 19,6
Interação de 3ª ordem		Interação de 3ª ordem	
1 x 2 x 3	3,29 \pm 0,84	1 x 2 x 3	- 37,6 \pm 19,6

(valores em negrito) Efeitos estatisticamente significativos com 95% de confiança.

Todos esses efeitos podem ser melhor visualizados através da interpretação geométrica dos dados mostrada na Figura 15. O efeito principal 3 (tipo de precursor) para os valores de I_{pa} , pode ser visualizado na face correspondente ao precursor MTMOS (nível -), três dos quatro vértices possuem valores de sensibilidade de corrente maiores quando comparadas aos valores da face referente ao TEOS (apenas o vértice +++ é mais sensível comparados à face do MTMOS). Já o efeito de interação entre os fatores 1 x 2 (face do cubo em destaque), pode ser observado fixando-se a quantidade de HCl e o tipo precursor (níveis - -), um acréscimo de 4,51 μA na sensibilidade de I_{pa} ocorre quando varia-se a proporção do menor para o maior nível. Porém fixando-se o tipo de precursor (nível -), na quantidade de HCl no nível (+) a tendência de acréscimo de corrente não foi observada, pelo contrário houve um decréscimo de 9,39 μA , evidenciando que o efeito da quantidade de HCl depende da proporção grafite/precursor utilizada. Finalmente, o efeito de interação 1x2x3 pode ser observado através da comparação entre os vértices opostos (- + -, ensaio 3) e o (+ - +, ensaio 5). Verifica-se que com a variação dos três fatores ao mesmo tempo, houve uma grande variação nos valores de I_{pa} (10,09 μA). Nenhuma outra comparação entre vértices opostos gera um valor dessa magnitude, confirmando que a interação entre os três fatores influencia diretamente sobre a resposta de corrente do ECC.

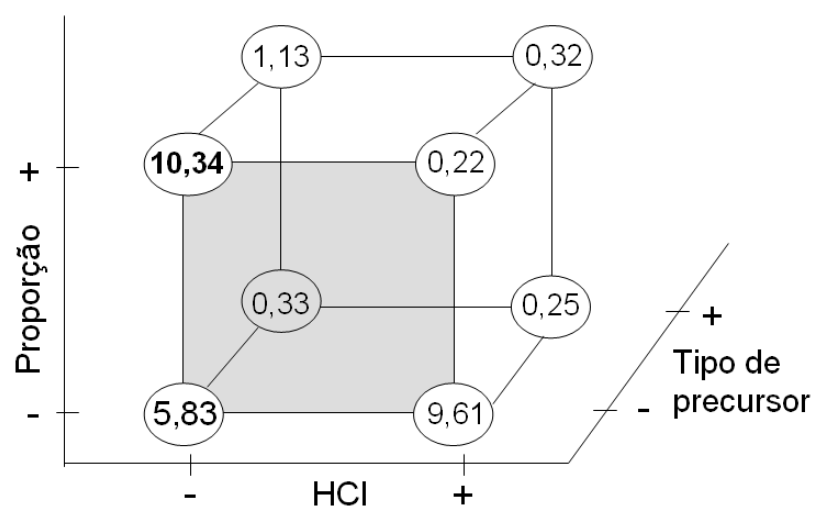


Figura 15 - Interpretação geométrica dos efeitos do planejamento fatorial 2^3 considerando os valores de I_{pa} .

A partir do cálculo dos efeitos observou-se que para os valores de ΔE , todas as interações de segunda ordem são significativas, bem como a presença da interação de terceira ordem, o que pode ser melhor visualizado pela interpretação geométrica para os dados de variação de potencial (Figura 16). Neste caso, é possível visualizar a face correspondente ao precursor MTMOS (nível -), que os quatro vértices possuem menores valores de ΔE quando comparados aos da face referente ao TEOS. Analisando-se a face com melhor resultado foi possível observar o efeito de interação 1x2, cuja interpretação indica um aumento na reversibilidade (diminuição do ΔE) analisando-se o fator HCl fixo no nível (-), e variando-se o fator proporção. Ao contrário, uma diminuição de reversibilidade (representada pelo aumento de 155,0 mV) foi observado quando se fixa o fator HCl no nível (+).

É importante salientar que uma baixa reprodutibilidade foi observada nas triplicatas dos pontos centrais (estimativa de desvio padrão - I_{pa} : 1,68 μA e ΔE : 12,7 mV), provavelmente em função de dificuldades no controle de algumas variáveis associadas à construção do eletrodo (por exemplo: empacotamento da matriz de carbono cerâmico). Entretanto, é necessário esclarecer que a realização de múltiplas medidas com um único eletrodo fornece uma excelente repetibilidade (ver resultados no item 4.2.3 Caracterização Eletroquímica do ECC Otimizado), o que, pelo menos em princípio, sugere uma boa potencialidade analítica.

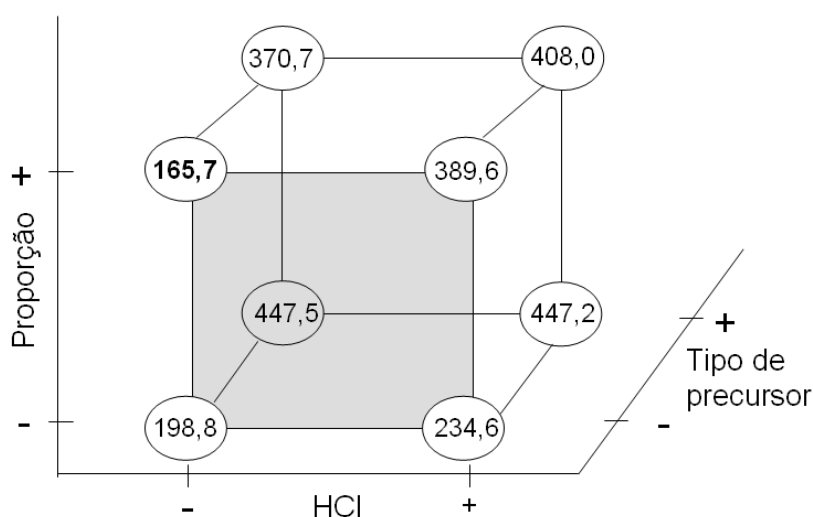


Figura 16 - Interpretação geométrica dos efeitos do planejamento fatorial 2^3 considerando os valores de ΔE .

Comparando-se os valores de I_{pa} e ΔE obtidos através do planejamento fatorial conclui-se que as melhores condições para obtenção dos ECC, seriam referentes ao ensaio 3 [15 μL de HCl, proporção 60/40 m/m (grafite/precursor) e precursor MTMOS]. A maioria dos trabalhos publicados sobre carbono cerâmico sem a utilização do planejamento fatorial utilizam 50 μL de HCl e a proporção 50/50 m/m e o MTMOS como precursor.^[5,30,35,42,48] Porém a diminuição da quantidade de HCl,^[7,21] e a variação da proporção^[14,16] pode conferir ao ECC propriedades eletroquímicas diferenciadas.^[12] A utilização de uma menor quantidade de HCl pode resultar em um material cerâmico mais poroso, o que favorece a difusão das espécies do eletrólito.^[68] Por outro lado, a maior proporção de grafite em relação ao precursor pode proporcionar um aumento na condutividade do ECC. Analisando-se os voltamogramas dos eletrodos nestas condições observa-se uma maior sensibilidade de corrente para o ECC sintetizado com MTMOS, além de uma maior reversibilidade do sistema (Figura 17A), em relação ao obtido com TEOS nas mesmas condições (Figura 17B). Essa maior reversibilidade (165,7 mV) é uma indicação que o processo de transferência de elétrons ocorre de maneira mais efetiva para o eletrodo preparado com precursor MTMOS.

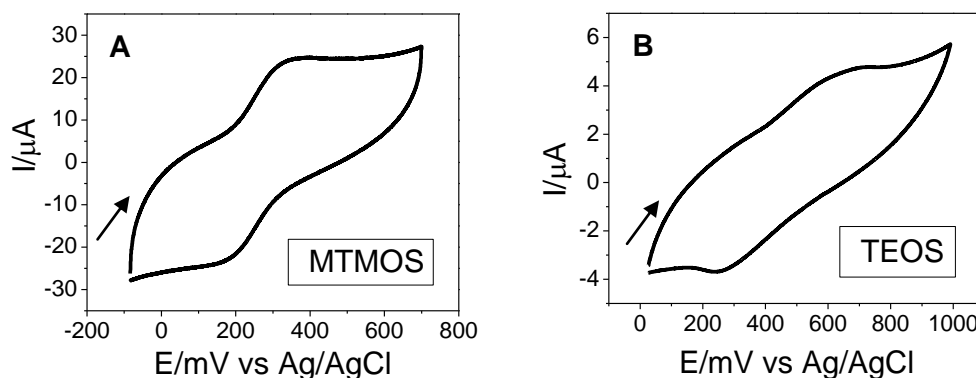


Figura 17 - Voltamogramas cíclicos dos ECC obtidos nas melhores condições (15 μL de HCl, e proporção 60/40 m/m) de preparação em meio a ferrocianeto de potássio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, (A) MTMOS (B) TEOS. Eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 6,5$, $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$.

4.2.2 Caracterização Morfológica

A caracterização morfológica dos ECC foi realizada pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para facilitar as comparações e gerar indícios que possibilitassem explicar as diferentes respostas voltamétricas com os precursores MTMOS e TEOS, as microscopias para os melhores e piores resultados eletroquímicos foram obtidas. A imagem da amostra referente ao ensaio 3 do planejamento fatorial [15 μ L de HCl, proporção 60/40 m/m (grafite/MTMOS)], indicou uma menor compactação dos materiais compósitos obtidos, quando comparadas ao ECC do ensaio 7 [15 μ L de HCl, proporção 60/40 m/m (grafite/ TEOS)]. (Figuras 18A e 18B respectivamente).

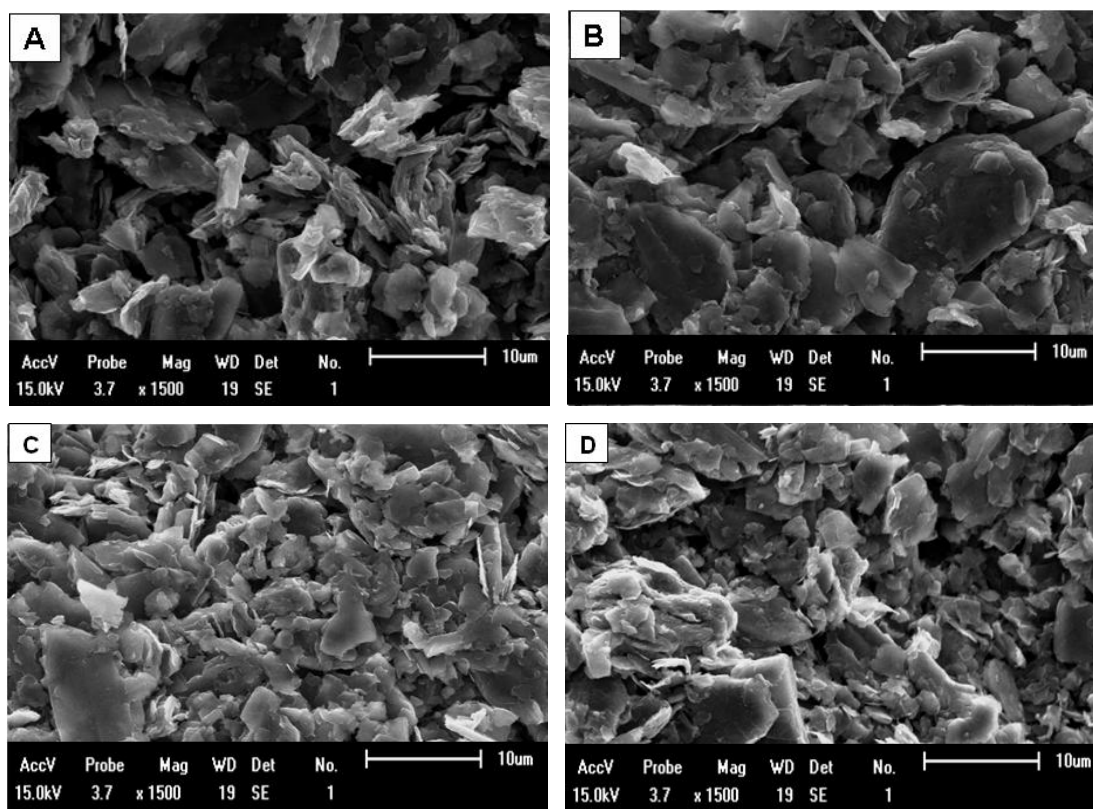


Figura 18 - Imagens de MEV para os ECC (A) MTMOS (B) TEOS preparados com 15 μ L de HCl, e proporção 60/40 m/m (grafite/precursor) (C) MTMOS (1,8 g de grafite e 15 μ L de HCl) (D) TEOS (1,8 g de grafite e 35 μ L de HCl) (aumento de 1500X, escala= 10 μ m).

Os mesmos estudos foram realizados com as amostras dos materiais referentes às piores sensibilidades de corrente e reversibilidade observados pelo

planejamento fatorial, ou seja, o ECC preparado com MTMOS (Figura 18 C) na proporção 60/40 m/m (grafite/precursor) e 15 μL de HCl, e o ECC obtido com TEOS (Figura 18 D), na mesma proporção de grafite/precursor, porém com 35 μL de HCl. As imagens obtidas nas Figuras 18 C e 18 D indicaram uma maior compactação do carbono cerâmico, quando comparadas com as análises referentes aos ECC preparados nas melhores condições (Figuras 18 A e 18 B).

Relacionando-se as imagens de MEV obtidas, com a resposta eletroquímica dos mesmos (Figura 17), sugere-se que uma estrutura morfológica menos compactada do ECC, provavelmente facilita o processo de transferência de elétrons na interfase eletrodo-solução, proporcionando uma maior reversibilidade e melhor definição dos picos voltamétricos.

4.2.3 Caracterização Eletroquímica do ECC Otimizado

Estipuladas as melhores condições de preparação do ECC foram realizados os estudos de voltametria cíclica para caracterização do comportamento eletroquímico do eletrodo otimizado verificando-se um par de pico redox em $E_{pa} = 355,7 \text{ mV}$ $E_{pc} = 156,3 \text{ mV}$ ($\Delta E = 188,4 \text{ mV}$) atribuído ao processo redox apresentado pelo ferrocianeto de potássio ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$). Estudos em diferentes velocidades de varredura foram realizados, resultando em uma relação linear entre os valores de corrente de pico anódico e a raiz quadrada da velocidade (inserida na Figura 19). Esse resultado indica que o processo de transferência de elétrons na interfase eletrodo-solução é controlado apenas pela difusão das espécies, o que possibilita a sua aplicação como sensor eletroquímico.^[54]

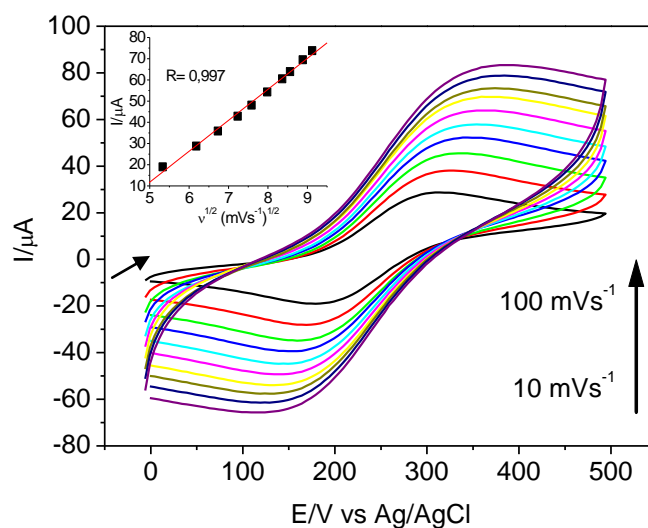


Figura 19 - Voltamogramas cíclicos do ECC obtido nas melhores condições de preparação [15 μL de HCl, e proporção 60/40 m/m (grafite/MTMOS)] em meio a ferrocianeto de potássio $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura: 10 a 100 mVs^{-1} Gráfico inserido: relação entre I_{pa} versus $v^{1/2}$. Eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ molL}^{-1}$, $\text{pH} = 6,5$.

Para verificar a repetibilidade da resposta eletroquímica do ECC otimizado, foram obtidos consecutivos voltamogramas cíclicos do eletrodo na presença de uma concentração fixa de $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, numa velocidade de 50 mVs^{-1} . O perfil voltamétrico obtido foi avaliado em função dos valores de corrente de pico anódica e do potencial de pico anódico (Figura 20).

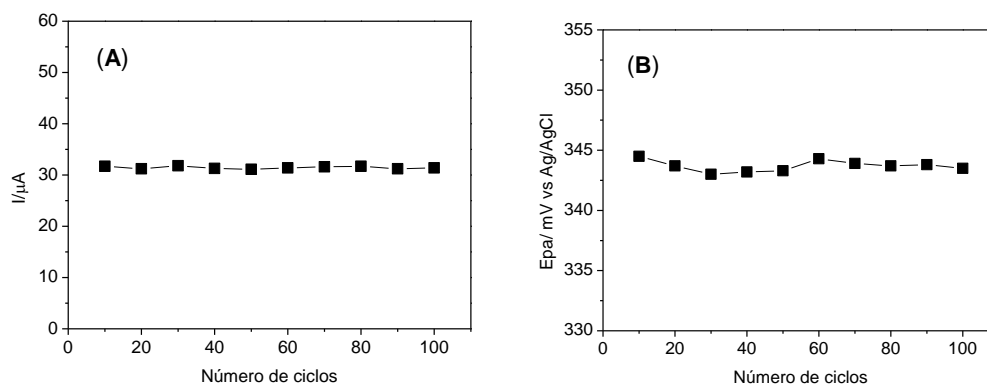


Figura 20 - Estudo da repetibilidade do ECC em meio a $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Condições: eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. Variação em função do número de ciclos (A) I_{pa} (B) E_{pa}

Os resultados indicaram que mesmo após a aquisição de 100 ciclos de varredura, não ocorreram variações significativas tanto de E_{pa} (variação de 0,14 %), quanto de I_{pa} (variação de 0,76 %), como pode ser visualizada nas Figuras 20 A e 20 B respectivamente, quando comparados aos voltamogramas inicialmente obtidos. A resposta do ECC na presença $K_4[Fe(CN)_6]$ também foi verificada em função dos dias (Figuras 21 A e 21 B). Os resultados apresentaram pequenas variações tanto de I_{pa} (de 0,97 %) quanto de E_{pa} (0,32 %). O resultado indica que os dias de uso não alteram a resposta do eletrodo. Essa estabilidade constitui outro fator preponderante que favorece a aplicação do ECC como sensor eletroquímico.

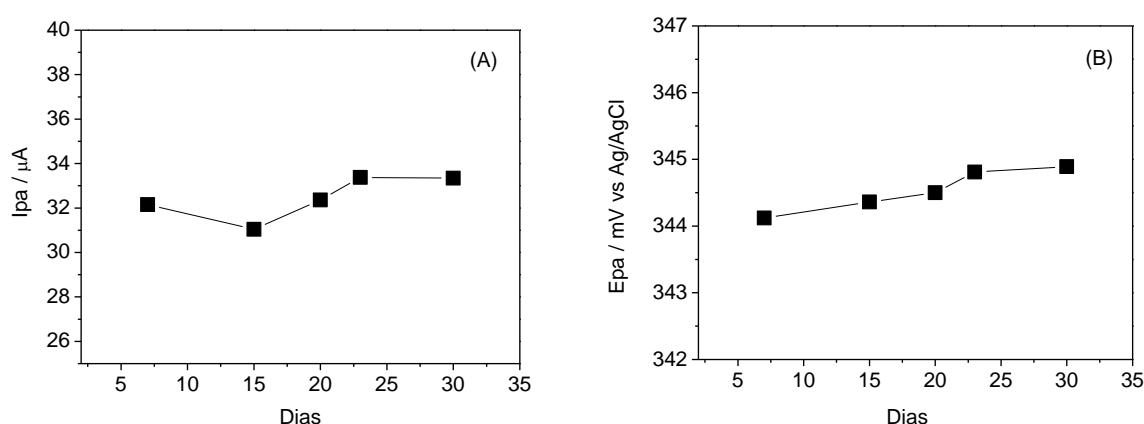


Figura 21 – Estabilidade do ECC em função dos dias de uso na presença de $K_4[Fe(CN)_6]=1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (A) Correlação entre I_{pa} versus dias (B) E_{pa} versus dias de uso.

4.3 ELETRODO DE CARBONO CERÂMICO MODIFICADO COM ÁCIDO FERROCENOCARBOXÍLICO (ECC/Ferroceno)

Uma alternativa para aumentar as aplicações dos eletrodos de carbono cerâmico como sensores eletroquímicos consiste na modificação destes materiais utilizando espécies mediadoras de elétrons, tais como complexos orgânicos ou inorgânicos, bem como enzimas.^[27,34,69] Estes mediadores podem fornecer as características interessantes ao eletrodo, tais como a diminuição da separação entre os potenciais de pico e aumento da sensibilidade do eletrodo.^[5,47,70] Ferroceno e compostos derivados são exemplos de mediadores de elétrons em sistemas eletroquímicos, tais como em reações enzimáticas,^[71,72] determinação de ascorbato,^[73] dopamina,^[74] além de sensor para pH e oxigênio.^[75]

4.3.1 Caracterização Morfológica do ECC/Ferroceno

A morfologia do ECC/Ferroceno foi estudada pela técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a análise química realizada por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) (Figura 22). Na etapa de gelatinização do processo sol-gel, o ferrocenocarboxílico foi adicionado a fim de modificar o eletrodo de carbono cerâmico. Pode ser observado a partir das imagens obtidas por elétrons secundários do ECC/Ferroceno (Figuras 22 A e 22 C), que o material obtido não apresentou fases distintas. No entanto, as micrografias com emissão de elétrons retroespalhados indicam que os componentes estão homogeneamente dispersos na amostra, mas com alguma pequena aglomeração de partículas segregadas do ferroceno (Figuras 7 B e 7 D).

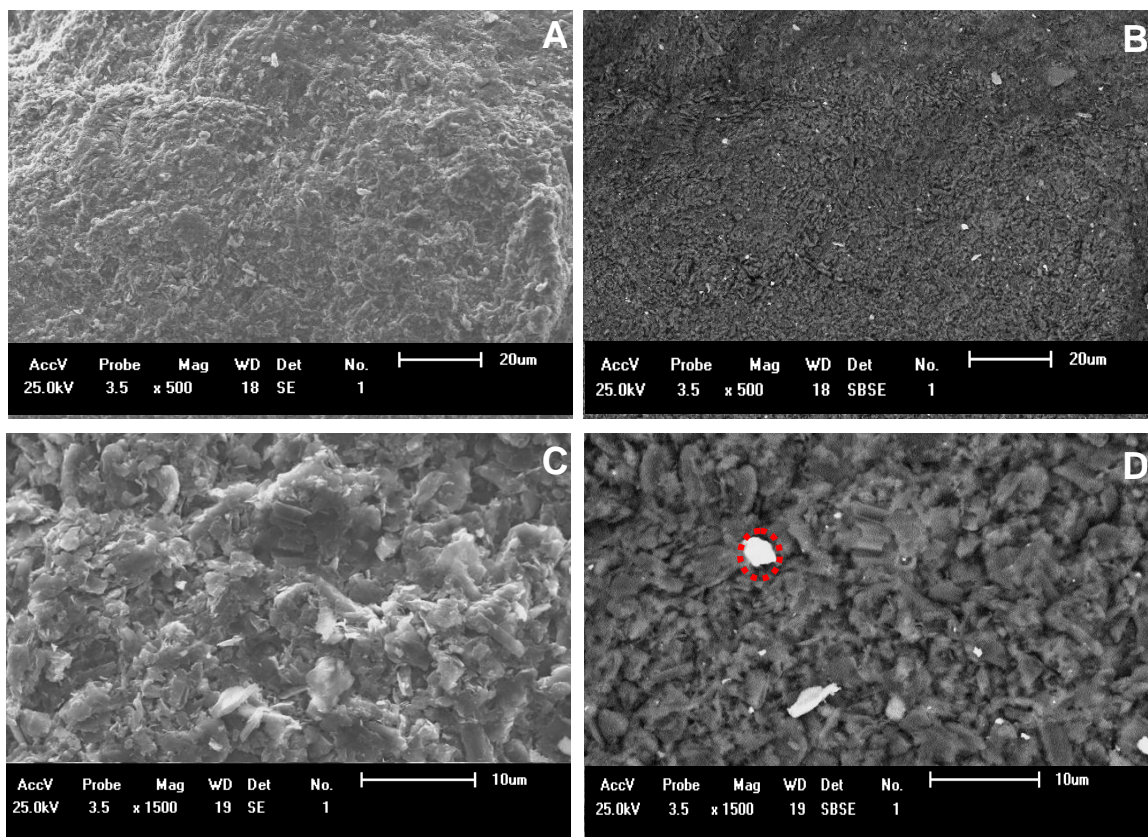


Figura 22 - Imagens de MEV do ECC/Ferroceno em (A) 500X e (C) 1500 X (B) 500X e (D) 1500 X (A e C elétrons secundários, B e D retroespalhados). Destaque em vermelho para a provável partícula contendo ferro.

A partir das informações contidas no espectro de EDS referentes às imagens de MEV é possível obter informações qualitativas e quantitativas acerca da composição da amostra.^[61,60] A análise quantitativa de uma ampla região da amostra (referente a Figura 22 A) indicou uma porcentagem de 1,83 % em peso e 0,46% em massa atômica para as partículas de ferro, conforme o observado no espectro da Figura 23 A, onde pode-se verificar também a os sinais referentes ao Si e ao C presentes na amostra. Para confirmar que as regiões mais claras das imagens obtidas por elétrons retroespalhados, realmente tratavam-se de partículas de ferroceno aglomeradas realizou-se a microanálise quantitativa da região destacada na Figura 22 D O espectro resultante indicou uma porcentagem de 72,38 % em peso de ferro na amostra (Figura 23 B).

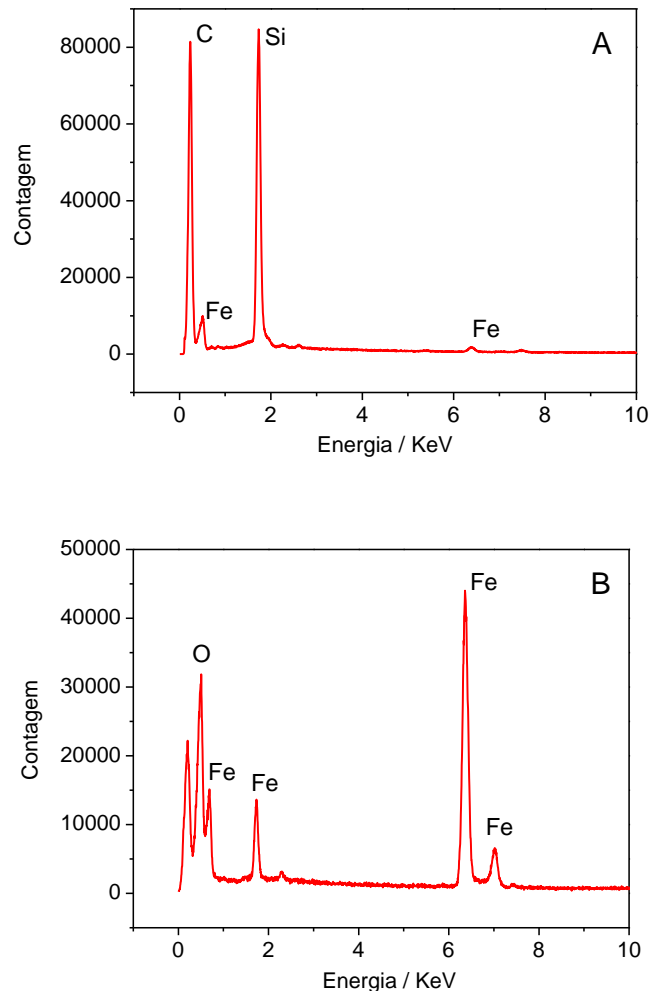


Figura 23 - Espectro de energia dispersiva (A) Análise química da região mostrada na Figura 7 B (B) Análise química da região destacada na Figura 22 D.

A análise qualitativa do espectro 23 B mostra ainda a diminuição dos sinais no espectro referentes ao carbono e ao silício indicando, portanto que a região analisada é referente ao ferrocenocarboxílico presente na amostra do ECC/Ferroceno.

4.3.2 Caracterização Eletroquímica do ECC/Ferroceno

O eletrodo de carbono cerâmico foi modificado com três diferentes quantidades de ferroceno (2,5 mg; 5,0 mg e 10,0 mg), sendo denominado ECC/Ferroceno. Como a modificação com o ferroceno afeta apenas uma variável na preparação do ECC e devido à ausência de resposta voltamétrica em duas das três proporções estudadas não foi realizado o planejamento fatorial para o eletrodo modificado. A partir dos estudos de voltametria cíclica, verificou-se que somente o ECC modificado com a maior quantidade de ferroceno apresentou picos redox, em $E_{pa} = 390,3 \text{ mV}$ e $E_{pc} = 298,7 \text{ mV}$ ($\Delta E = 91,7 \text{ mV}$), como pode ser observado na Figura 24. Os picos voltamétricos estão provavelmente relacionados com o processo redox do ferroceno para o íon ferroceno ($\text{Fc} \leftrightarrow \text{Fc}^+ + 1\text{e}^-$),⁷⁶ uma vez que o ECC não modificado não apresentou nenhum pico redox.

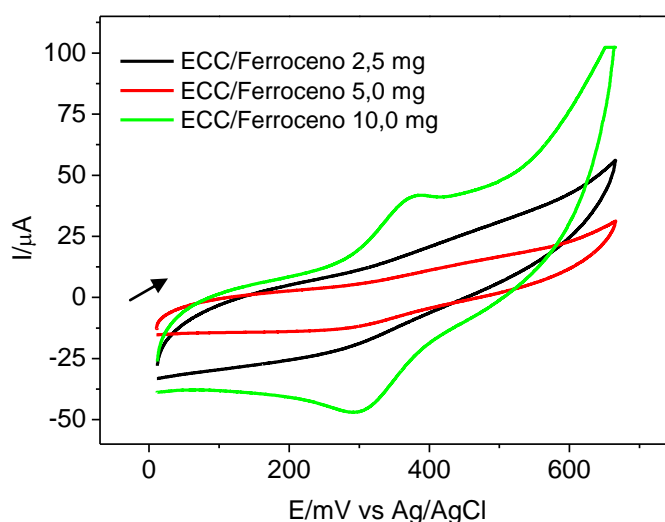


Figura 24 - Voltamogramas cíclicos do ECC/Ferroceno preparados com diferentes quantidades de ferroceno ($v = 50 \text{ mVs}^{-1}$, Eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ molL}^{-1}$).

Estudos voltamétricos em diferentes velocidades de varredura resultaram em uma relação linear entre os valores de corrente de pico anódico e a velocidade de

varredura (dado inserido na Figura 25), indicando que o ECC/Ferroceno apresenta um comportamento típico de espécies confinadas na superfície do eletrodo.^[54]

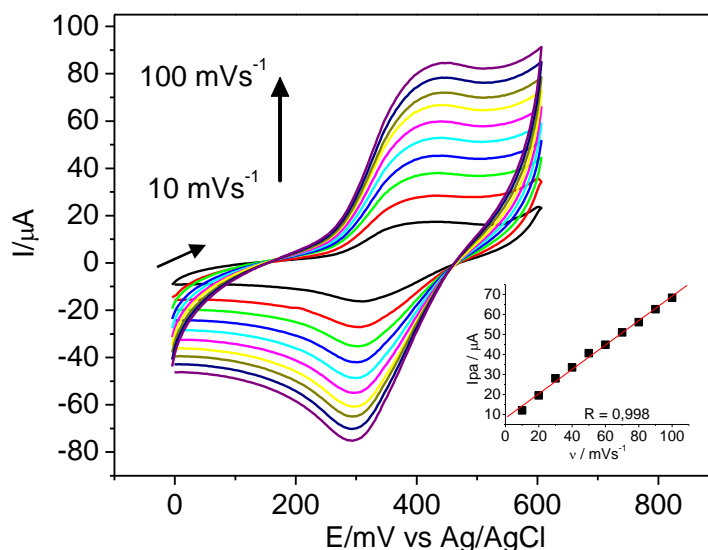


Figura 25 - Voltamogramas cíclicos do ECC/Ferroceno em diferentes velocidades de varredura: 10 a 100 mVs^{-1} Gráfico inserido: relação entre I_{pa} versus v . Eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ molL}^{-1}$.

A estabilidade do eletrodo modificado foi verificada através de consecutivos voltamogramas obtidos em presença do eletrólito (Figura 26 A). O perfil voltamétrico foi analisado em função dos valores de corrente de pico anódico observando-se que mesmo após a repetição de 100 ciclos de varredura, as respostas de corrente de pico não apresentaram variações significativas (Figura 26 B), indicando que o ECC/Ferroceno é consideravelmente estável o que favorece a aplicação como sensor eletroquímico.

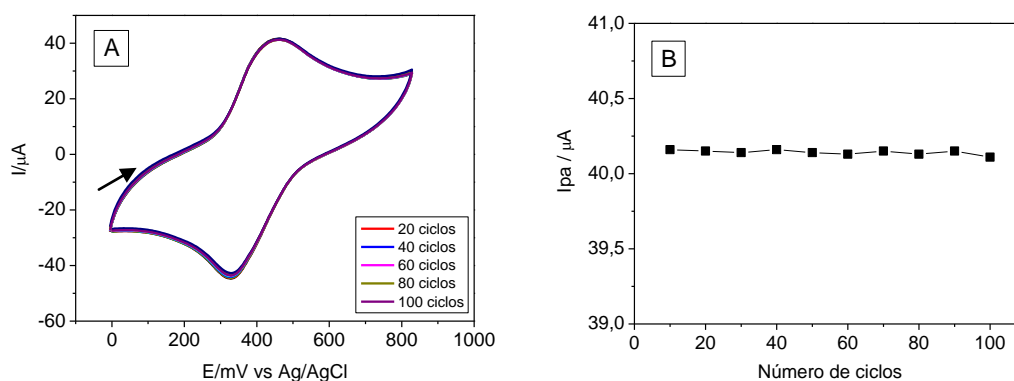


Figura 26 – (A) Estudo de estabilidade (B) Correlação entre corrente de pico anódica e o número de ciclos. ($v = 50 \text{ mVs}^{-1}$, Eletrólito suporte: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ molL}^{-1}$).

O estudo da reprodutibilidade do ECC/Ferroceno em função dos dias em meio ao eletrólito indicou um pequeno aumento de I_{pa} com variação de 1,42 % e uma pequena variação de E_{pa} (0,18 %) como pode ser visualizada nas Figuras 27A e 27B respectivamente. O resultado indica que os dias de uso não alteram a resposta do modificador, o que matem a eficiência do eletrodo.

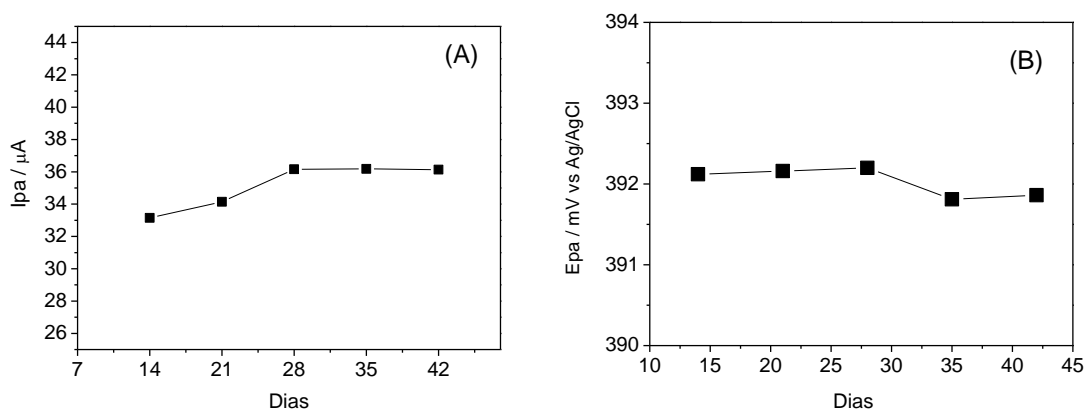


Figura 27 – Estabilidade do ECC/Ferroceno em função dos dias de uso (A) Correlação entre I_{pa} versus dias (B) E_{pa} versus dias de uso.

4.4. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS PARA APLICAÇÃO DO ECC/Ferroceno COMO SENSOR

A dopamina (DA) é um importante neurotransmissor pertencente a classe das catecolaminas e encontrado no sistema nervoso central de mamíferos. A variação da quantidade desse neurotransmissor no organismo tem sido relacionada a várias doenças, tais como esquizofrenia e parkinsonismo.^[77,78] A principal dificuldade em detectar DA *in vivo* a partir de medidas eletroanalíticas é devido a interferência causada pelo ácido ascórbico (AA), o qual geralmente é oxidado em potencial muito próximo ao da DA.^[79] Outro problema desta determinação está associado à relação entre as concentrações da dopamina e ácido ascórbico no fluido extracelular. O primeiro varia na faixa de 1×10^{-7} a 1×10^{-3} mol L⁻¹, enquanto o AA varia numa concentração de 100 a 1000 vezes maior que o da DA. Como estas espécies oxidam em potenciais muito próximos em eletrodos sólidos convencionais dificilmente consegue-se uma determinação seletiva de DA por métodos eletroquímicos em tais condições.^[80] Por estes motivos, o desenvolvimento de

métodos para quantificação de dopamina e ácido ascórbico no sangue e fluidos biológicos é objeto de intensa investigação.^[4,81,82] Compostos derivados de ferroceno têm sido utilizados como mediadores de elétrons na modificação de eletrodos de pasta de carbono⁸³ e carbono vítreo⁸⁴ para determinação de DA, e também na preparação de filmes sobre superfícies de ouro⁸⁵ e carbono vítreo para a detecção de AA.^[84]

4.4.1 Detecção de Dopamina

4.4.1.1 Estudos de voltametria cíclica

Para verificar a possibilidade de utilizar o ECC e o ECC/Ferroceno como sensores eletroquímicos, estudos em presença de dopamina foram realizados pela técnica de voltametria cíclica a fim de caracterizar o comportamento dos ECC frente a este analito (Figura 28).

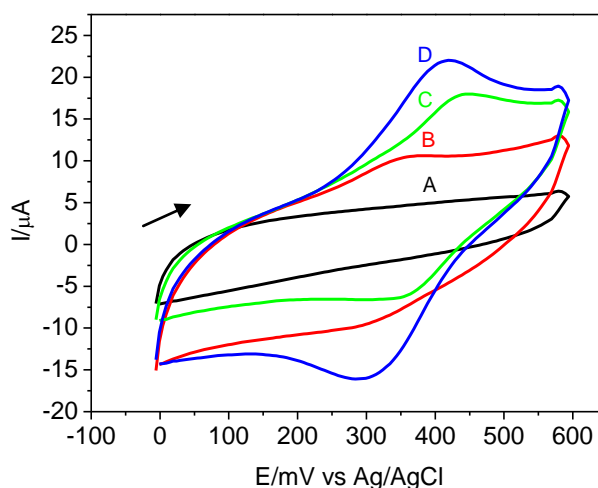


Figura 28 - Voltamogramas cíclicos obtidos em 10 mL de $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$. (A) ECC (B) ECC/ Ferroceno (C) ECC na presença de $[\text{DA}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (D) ECC/Ferroceno na presença de $[\text{DA}] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

O ECC sem modificação apresentou apenas a resposta de corrente capacitiva em meio ao eletrólito de suporte (Figura 28A). Com a adição de 1,0 mmol L⁻¹ de DA (Figura 28 C) o ECC apresentou a resposta de sensibilidade de $I_{pa} = 4,8 \mu\text{A}$. Observou-se o processo de oxidação da espécie em 446,1 mV e de redução em 346,0 mV ($\Delta E = 100,0 \text{ mV}$). Para uma melhor visualização dos parâmetros obtidos pelos voltamogramas, os resultados foram incluídos na Tabela 8. Comparando-se com os voltamogramas do ECC/Ferroceno (Figura 28B), nota-se que na ausência de DA, este eletrodo apresentou um par de picos atribuído ao processo redox do ácido ferrocenocarboxílico em $E_{pa} = 391,1 \text{ mV}$ e $E_{pc} = 298,0 \text{ mV}$ ($\Delta E = 93,1 \text{ mV}$) e uma sensibilidade de $I_{pa} = 3,5 \mu\text{A}$. Após a adição de DA (Figura 28 D), um considerável aumento na corrente ($I_{pa} = 14,5 \mu\text{A}$) foi observado nas mesmas regiões de potenciais obtidos para o ECC/Ferroceno ou seja, $E_{pa} = 408,0 \text{ mV}$ e $E_{pc} = 312,1 \text{ mV}$ ($\Delta E = 96,1 \text{ mV}$), portanto com valores de E_{pa} cerca de 38,0 mV menores do que observado para o ECC sem modificação além de maior sensibilidade de corrente comprovando a atividade catalítica do ferroceno.

Tabela 8 - Resultados eletroquímicos obtidos para os eletrodos em meio a $[DA] = 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

Respostas	ECC		ECC/Ferroceno	
	Ausência de DA	Presença de DA	Ausência de DA	Presença de DA
I_{pa}	0 μA	4,8 μA	3,5 μA	14,1 μA
E_{pa}	-	446,1 mV	391,1 mV	408,0 mV
E_{pc}	-	346,0 mV	298,0 mV	312,1 mV
ΔE	-	100,1 mV	93,1 mV	96,1 mV

As respostas dos eletrodos ECC e ECC/Ferroceno em presença da espécie de interesse foram atribuídas à oxidação da dopamina para dopaminaquinona. Este processo redox é conhecido na literatura sendo caracterizado por apresentar dois elétrons e dois prótons envolvidos na reação^[86,87], como representado na Figura 29.

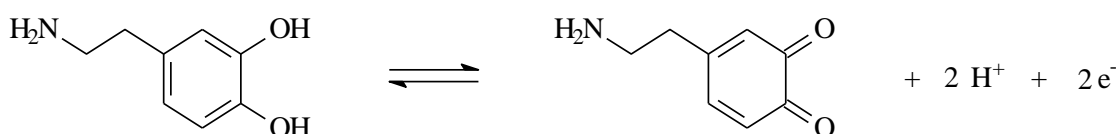


Figura 29 - Representação esquemática da oxidação da dopamina para dopaminaquinona.

Estudos no intervalo de 10 - 100 mVs^{-1} apresentaram uma relação linear entre a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura (Figura 30) tanto para o ECC ($R = 0,999$), quanto para o ECC/Ferroceno ($R = 0,996$) indicando um processo de transporte controlado por difusão, o que é esperado para os sistemas catalíticos e vantajoso para medições quantitativas.

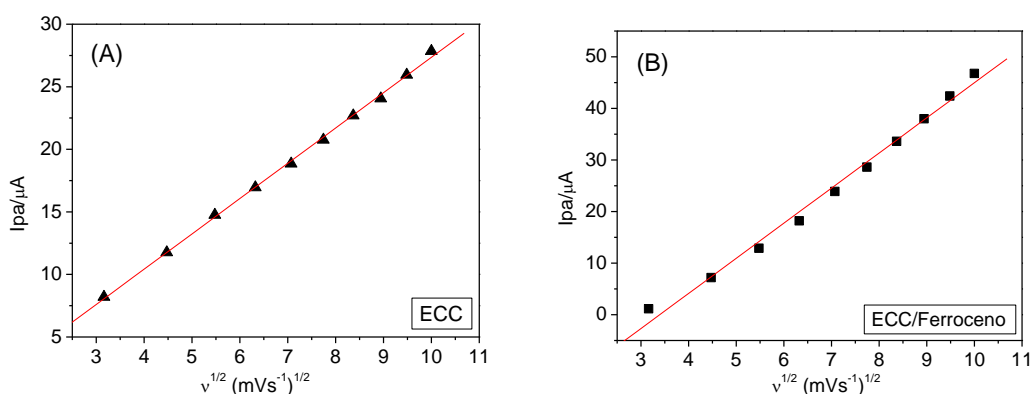


Figura 30 - Relação entre I_{pa} versus $v^{1/2}$ do ECC (A) e do ECC/Ferroceno (B) na presença de $[\text{DA}] = 1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Condições: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

Analisando-se também a relação E_{pa} em função da velocidade de varredura na presença de DA observa-se um pequeno deslocamento do potencial (variação de 0,67 %) para regiões mais positivas utilizando-se o ECC (Figura 31A). Entretanto o ECC/Ferroceno demonstrou uma maior estabilidade com menor variação de E_{pa} (0,58 %) nas diferentes velocidades estudadas (Figura 31B).

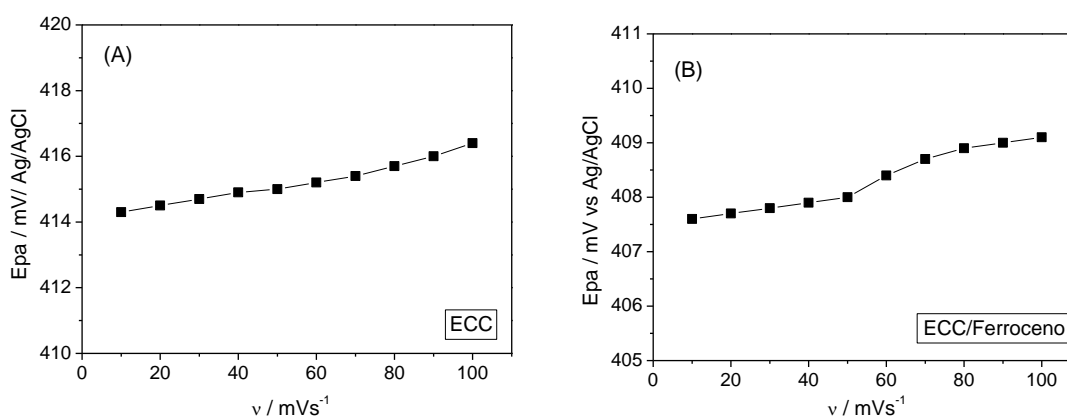


Figura 31 – Relação entre E_{pa} versus v do ECC (A) e do ECC/Ferroceno (B) na presença de $[\text{DA}] = 1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. Condições: $[\text{NaCl}] = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v = 50 \text{ mVs}^{-1}$.

Para confirmar que o efeito eletrocatalítico do ECC/Ferroceno na oxidação de DA, os resultados obtidos dos voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades foram registrados no gráfico de $I_{pa}/v^{1/2}$ vs v , apresentados na Figura 32, baseado no estudo de Nicholson e Shain.^[88]

A adequação dos dados experimentais à correlação proposta sugere que quando o gráfico plotado $I_{pa}/v^{1/2}$ vs v promove uma curva exponencial, o processo de transferência de elétrons é favorecido pelo ferroceno, estando estes resultados semelhantes aos obtidos para outros sistemas eletrocatalíticos para oxidação DA e hidrazina.^[89]

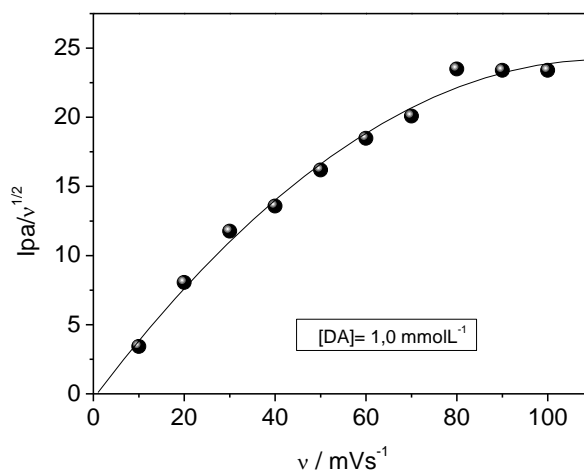


Figura 32 - Gráficos de $I_{pa}/v^{1/2}$ em função da velocidade de varredura do ECC/Ferroceno. Dados obtidos dos voltamogramas cíclicos registrados em diferentes velocidades de varredura (10 a 100 mVs^{-1}) em solução de NaCl 0,5 mol L^{-1} (pH = 6,5) contendo 1,0 mmolL^{-1} de dopamina.

No entanto, o processo redox da dopamina envolve prótons, conforme visto na Figura 29, conferindo ao pH do eletrólito um importante parâmetro que influencia a sua oxidação.^[90] Dessa forma, foram realizados estudos da resposta dos eletrodos em diferentes pHs, analisando-se as medidas de corrente e potenciais de pico em uma quantidade fixa de DA (1,0 mmolL^{-1}). Os resultados obtidos para o ECC indicaram um pequeno acréscimo de I_{pa} com o aumento do pH (Figura 33A) e pequena variação de potencial de pico (1,2 %) (Figura 33 B). Já para o ECC/Ferroceno verifica-se que os valores de I_{pa} não foram influenciados pelas diferenças de pH (Figura 33 C), entretanto o potencial de pico é consideravelmente deslocado para regiões mais positivas com a diminuição do pH (Figura 33 D). O pKa

da molécula de DA é 8,9 indicando que na faixa de pH estudada a forma reduzida de dopamina (forma catiônica) é predominante.^[91] Portanto quando o pH diminui a reação de oxidação de DA ocorre com maior dificuldade resultando no deslocamento de E_p para potenciais mais positivos, como pode ser observado na Figura 33D. Este resultado é parecido com outros trabalhos encontrados na literatura. Um exemplo é o trabalho desenvolvido por Salimi *et. al.* onde um eletrodo de carbono cerâmico similar demonstrou uma diminuição de E_p , com o aumento dos valores de pH, além do aumento da resposta de corrente para a oxidação da dopamina na faixa de pH 4-7.^[4]

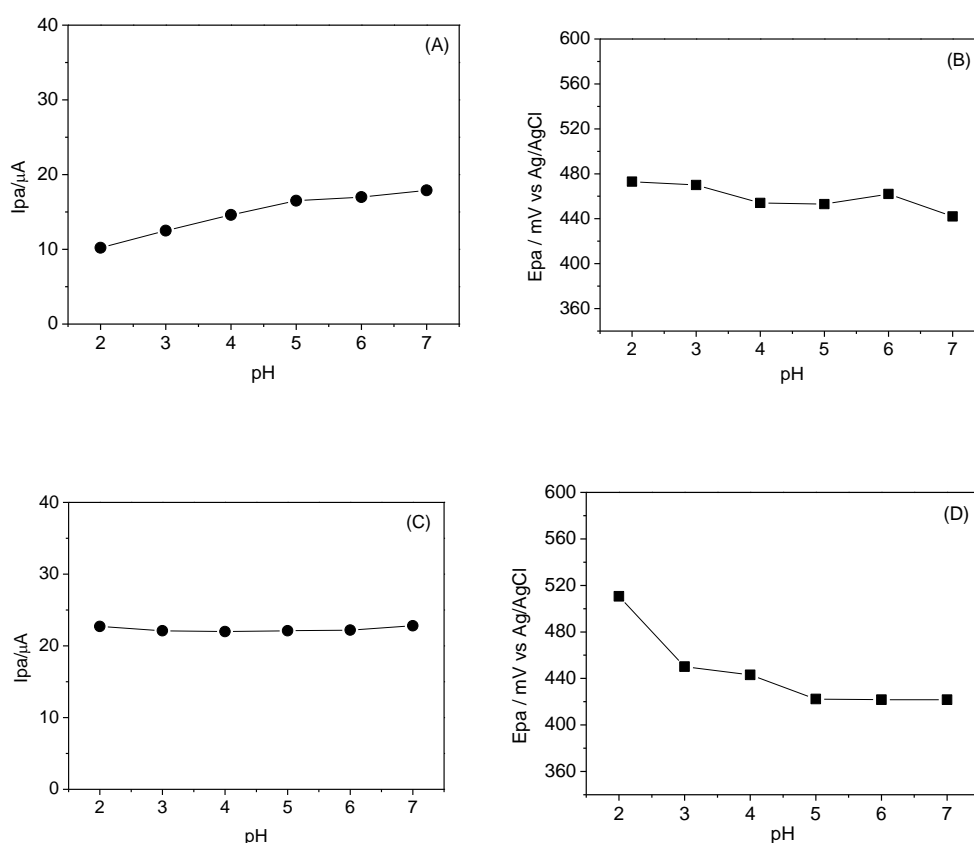


Figura 33 - Efeito de pH para o ECC sobre os valores de: [I_{pa} (A) e E_{pa} (B)] e para o ECC/Ferroceno: [I_{pa} (C) e E_{pa} (D)] em presença de $[DA]=1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte: $[NaCl] 0,5 \text{ mol L}^{-1}$

Analisando-se o comportamento dos eletrodos em diferentes concentrações de DA na faixa de $0,2$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio a tampão fosfato pH 7,0 ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) verifica-se que a variação das correntes de pico é linear com aumento da

concentração tanto para o ECC (Figura 34 A) quanto para o ECC/Ferroceno (Figura 34 B).

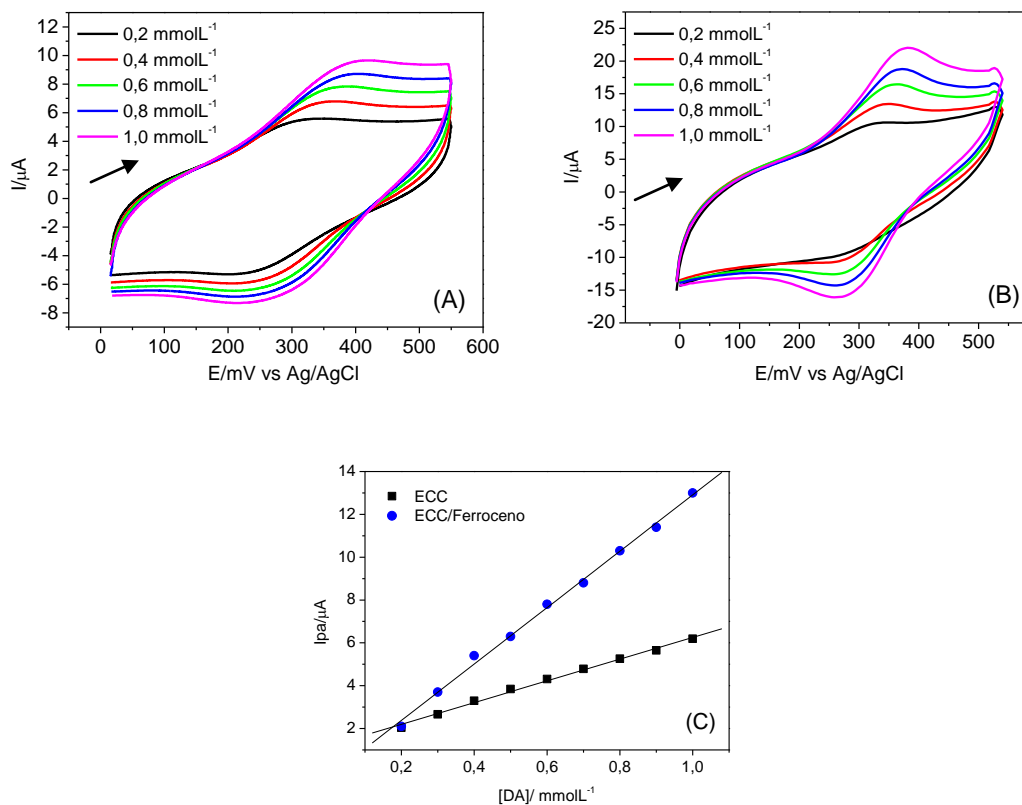


Figura 34 - (A) Voltamogramas cíclicos na presença de DA em diferentes concentrações (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (C) Comparação entre as curvas analíticas ($v= 50 \text{ mV s}^{-1}$, Tampão fosfato pH=7,0)

A Figura 34 C mostra a curva analítica obtida para a relação de I_{pa} vs $[DA]$ onde verifica-se pelas inclinações das retas uma maior sensibilidade para o ECC/Ferroceno quando comparado ao ECC. Os dados contidos na Tabela 9 mostram ainda que o eletrodo modificado demonstrou um limite de detecção menor do que o apresentado pelo ECC, sendo este eletrodo mais vantajoso para a detecção de DA pela técnica de VC.

Tabela 9 - Equações de calibração, e parâmetros analíticos obtidos pela técnica de voltametria cíclica em meio a DA na faixa de concentração de 0,2 a 1,0 mmolL⁻¹.

Eletrodo	Equação de reta	R	Sensibilidade μA/mmolL ⁻¹	LOD * mmolL ⁻¹
ECC	Y = 1,18 + 5,07 x	0,998	5,07	0,266
ECC/Ferroceno	Y = 0,25 + 13,2 x	0,998	13,2	0,078

* Desvio padrão do branco: ECC = 0,45 e ECC/Ferroceno = 0,34

4.4.1.2 Estudos de voltametria de onda quadrada

A VOQ é considerada uma das técnicas de pulso mais empregadas em determinações eletroanalíticas, devido a alta sensibilidade que pode ser comparada com resultados obtidos nas técnicas cromatográficas ou espectroscópicas, apresentando a vantagem da amostra não necessitar de tratamento, minimizando o tempo e o custo das análises.

No desenvolvimento de um método eletroanalítico faz-se necessário otimizar os parâmetros que possam influenciar a resposta voltamétrica.⁹² Portanto foi realizado um estudo preliminar da influência das principais variáveis da técnica de voltametria de onda quadrada que é considerada uma técnica mais sensível do que a voltametria cíclica, para a quantificação eletroquímica de forma geral.

A frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f) é uma das variáveis mais importantes na voltametria de onda quadrada, pois é ela que determina a intensidade dos sinais e, conseqüentemente, a sensibilidade do método. Neste estudo observou-se que à medida que se aumentava a frequência de aplicação de pulsos de potenciais ocorria também um aumento na intensidade da corrente de pico para o ECC (Figura 35A). Como foi encontrada uma relação linear entre f e corrente utilizou-se 100 s⁻¹ para as análises com o ECC que é considerada a condição padrão da técnica.⁹³ Por outro lado, o ECC/Ferroceno apresentou um acréscimo de corrente até 60 s⁻¹ (Figura 35B), sendo este valor utilizado nas medidas eletroquímicas.

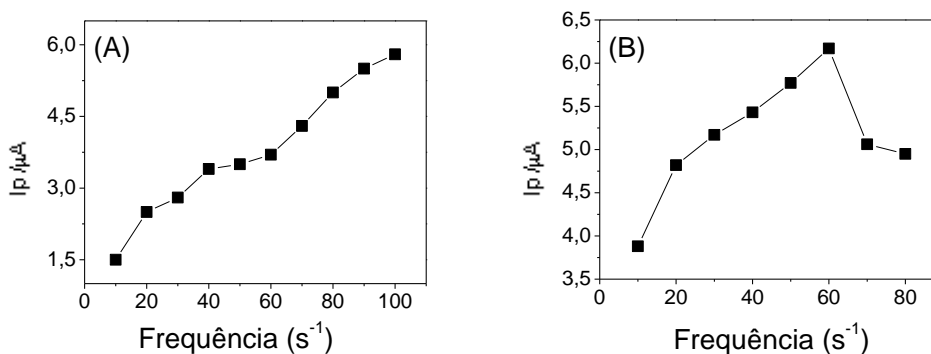


Figura 35 – Estudo dos parâmetros de voltametria de onda quadrada em meio a $[DA]=1,0 \text{ mmol L}^{-1}$: Variação de frequência (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (Tampão fosfato pH=7,0)

Na voltametria de onda quadrada a velocidade efetiva é o resultado do produto da frequência de aplicação dos pulsos de potencial (f) pelo incremento de varredura de potencial (ΔE). Deste modo, um incremento de varredura maior pode aumentar o sinal obtido e melhorar a sensibilidade do método. No entanto, com incrementos maiores podem ocorrer alargamentos nos picos obtidos e, conseqüentemente, a resolução pode ser comprometida.⁹⁴ Assim, este é um parâmetro que também deve ser analisado. Os resultados para o ECC (Figura 36A) indicaram uma pequena variação de corrente de pico apresentando um leve aumento de sensibilidade com o incremento de varredura de 2 mV, valor este utilizado também para as medidas com o ECC/Ferroceno, o qual apresentou linearidade até este valor de ΔE (Figura 36 B).

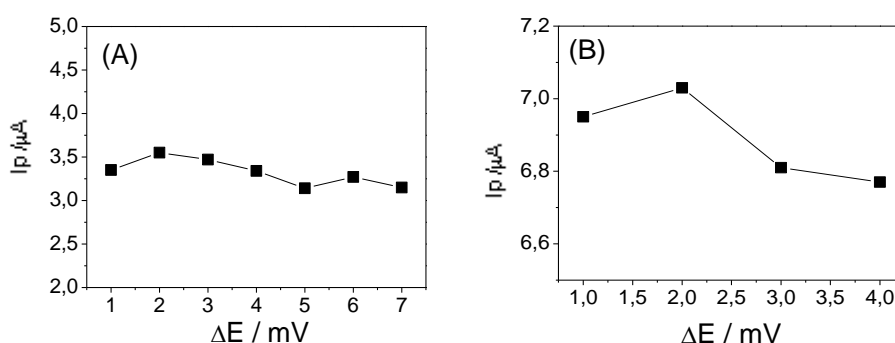


Figura 36 – Variação do incremento para o estudo dos parâmetros de voltametria de onda quadrada em meio a $[DA]=1,0 \text{ mmol L}^{-1}$: (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (Tampão fosfato pH=7,0)

Outro parâmetro estudado foi a influência da variação da amplitude de pulso (a) na corrente de pico para a oxidação da dopamina. Os resultados obtidos para o ECC/Ferroceno (Figura 37B) mostraram que, para valores de amplitude menores que 60 mV, o aumento da intensidade de corrente é linear, sendo que amplitudes maiores parecem não atuar de modo significativo na sensibilidade para propósitos analíticos. O mesmo estudo com o ECC (Figura 37A) apresentou uma relação linear na faixa estudada de (10 - 100 mV) sendo nesse caso utilizada a amplitude padrão da técnica (50 mV). Sendo assim, a amplitude selecionada para o desenvolvimento das análises foi de 60 mV para o ECC/Ferroceno e 50 mV para o ECC.

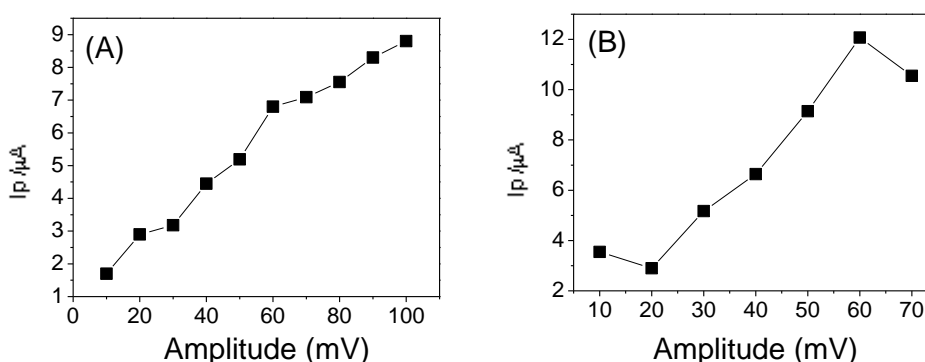


Figura 37 – Variação de amplitude para o estudo dos parâmetros de voltametria de onda quadrada em meio a $[DA]=1,0 \text{ mmol L}^{-1}$: (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (Tampão fosfato pH=7,0)

Após a análise dos três principais parâmetros da técnica de VOQ as condições otimizadas para o ECC foram: amplitude= 50 mV, frequência= 100 s^{-1} , e $\Delta E= 2,0 \text{ mV}$. E para o ECC/Ferroceno: amplitude= 60 mV, frequência= 60 s^{-1} , $\Delta E= 2,0 \text{ mV}$), sendo estas utilizadas nas medidas eletroquímicas.

Primeiramente realizou-se o estudo em diferentes concentrações de DA em uma faixa de concentração 1000 vezes menor ($1,0 - 2,5 \mu\text{molL}^{-1}$) do que a análise feita pela voltametria cíclica. (Figura 38).

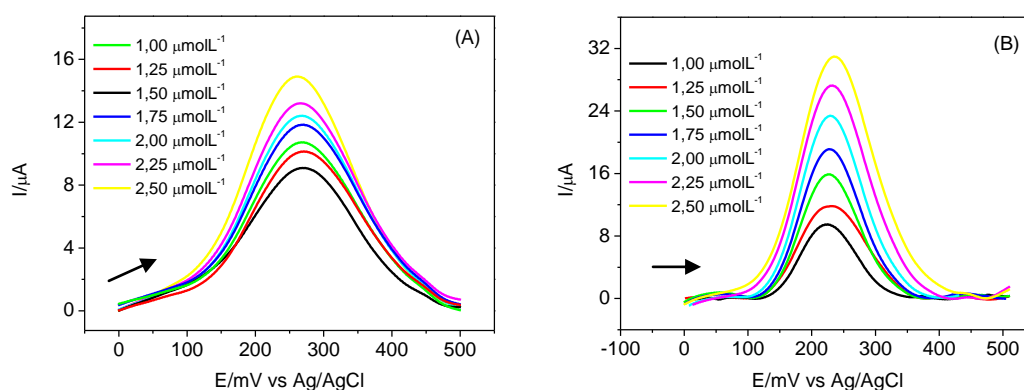


Figura 38 - Voltamograma de onda quadrada em meio a DA em diferentes concentrações (A) ECC (amplitude= 50 mV, frequência= 100 s⁻¹, ΔE= 2,0 mV) (B) ECC/Ferroceno (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s⁻¹, ΔE= 2,0 mV). Tampão fosfato pH=7,0.

Além da maior sensibilidade da técnica de VOQ verifica-se um deslocamento dos potenciais de pico de oxidação para regiões mais negativas (aproximadamente $E_p = 237$ mV) tanto para o ECC como para o ECC/Ferroceno (Figura 39A). Esse deslocamento é descrito por Souza *et. al.* como sendo resultado da influência da velocidade, ou seja, na VOQ quando altas velocidades são usadas a influência do potencial de escada (ΔE_s) aumenta e pode provocar deslocamento nos valores de potenciais de pico.⁹⁵ Observa-se também uma maior resposta de corrente de pico para o ECC modificado o que ocorre provavelmente devido às propriedades eletrocatalíticas do modificador.

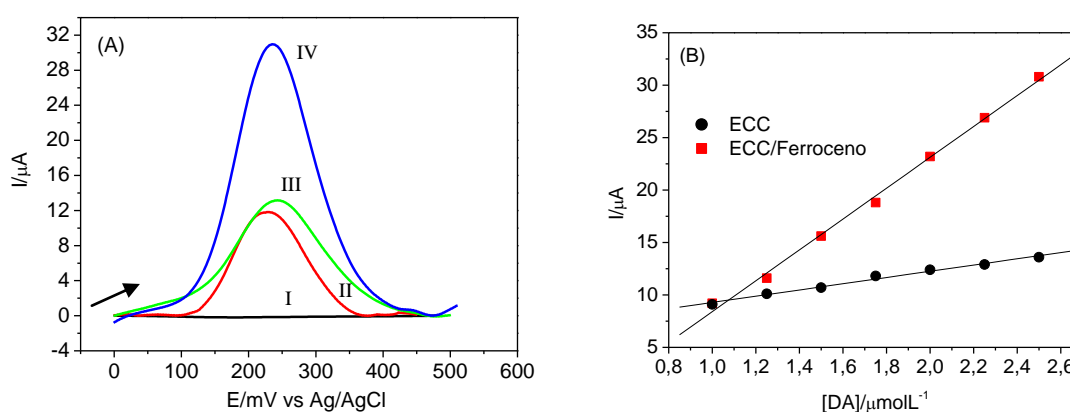


Figura 39 - (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o ECC e ECC/Ferroceno na ausência e na presença de $[DA] = 2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$: [I] ECC [II] ECC/Ferroceno [III] ECC em meio a DA [IV] ECC/Ferroceno em meio a DA. (B) Curva analítica obtida em diferentes concentrações de DA.

As curvas analíticas obtidas em diferentes concentrações (Figura 39B) demonstram com maior clareza a diferença de sensibilidade, já que o coeficiente angular da reta obtida para o ECC/Ferroceno (valores de corrente obtidos pela diferença entre o valor de i_p em meio a DA e o valor apresentado pelo eletrodo) é maior do que o encontrado para o ECC (Tabela 10).

Tabela 10 - Equações de calibração, e parâmetros analíticos obtidos para o ECC pela técnica de voltametria de onda quadrada na presença de DA na faixa de concentração de 1,0 a 2,5 μmolL^{-1} .

Eletrodo	Equação de reta	R	Sensibilidade $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	LOD * μmolL^{-1}
ECC	$Y = 6,86 + 3,15 x$	0,997	3,15	1,523
ECC/Ferroceno	$Y = 0,91 + 15,3 x$	0,998	15,2	0,431

* Desvio padrão do branco: ECC = 1,6 e ECC/Ferroceno = 2,2

O limite de detecção (LOD) de DA para os eletrodos foram calculados de acordo com a Equação 4. Para o cálculo considera-se s como sendo o desvio padrão do branco obtido pela triplicata da resposta voltamétrica do eletrodo em meio ao eletrólito. O valor de sensibilidade (S) é obtido pela inclinação da reta.

$$I_{\text{LOD}} = \frac{3s}{S} \quad \text{Equação 4}$$

O valor de LOD corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada como um valor exato. Na prática, isto significa que esta é a menor concentração do analito que pode ser diferenciada do ruído do aparelho com segurança.⁹⁶ Portanto conforme demonstrado na Tabela 10, o eletrodo modificado apresentou um limite de detecção menor quando comparado ao eletrodo sem ferroceno. Isso representa que a modificação do eletrodo proporciona melhores condições para aplicação como sensor.

Para verificar a repetibilidade da resposta eletroquímica dos eletrodos foi realizado o estudo da variação de corrente dos voltamogramas cíclicos obtidos em concentração fixa de dopamina ($2,5 \mu\text{molL}^{-1}$) em função do número de ciclos, com aquisição de até 100 ciclos de varredura. O perfil voltamétrico dos eletrodos foi avaliado em relação à estabilidade das correntes de pico anódica. Os gráficos de i_{pa} em função do número de ciclos dos eletrodos estudados são ilustrados na Figura 40.

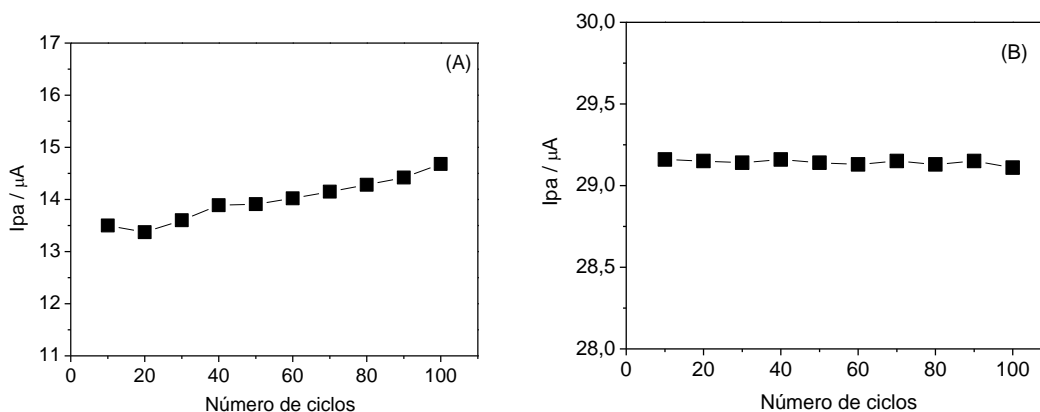


Figura 40 - Correlação entre a corrente de pico anódica e o número de ciclos em $[DA]= 2,5 \mu\text{molL}^{-1}$ (A) ECC (amplitude= 50 mV, frequência= 100 s^{-1} , $\Delta E= 2,0 \text{ mV}$) (B) ECC/Ferroceno (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s^{-1} , $\Delta E= 2,0 \text{ mV}$). Tampão fosfato pH=7,0.

De modo geral, nota-se na Figura 40 que ambos os eletrodos estudados em uma concentração fixa de DA, apresentaram respostas de corrente com pequena variação, ou seja, 4,2 % para o ECC e 1,2% para o ECC/Ferroceno o que possibilita a realização de várias medidas sem alteração nas respostas destes eletrodos.

4.4.2 Detecção de Ácido Ascórbico

4.4.2.1 Estudos de voltametria cíclica de onda quadrada

O principal problema em detectar DA *in vivo* é a interferência de ácido ascórbico (AA), o qual pode ser oxidado em potencial muito próximo ao da DA o que dificulta a determinação seletiva de DA por métodos eletroquímicos em tais condições. Portanto, a obtenção de sensores seletivos para DA na presença de AA tem sido o objeto de estudo de diversos pesquisadores.^[80]

O estudo dos eletrodos para a determinação do AA foi inicialmente realizado pela técnica de voltametria cíclica, adicionando-se de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ do analito em meio a tampão fosfato pH 7,0. (Figura 41). Observa-se que a adição de uma concentração consideravelmente alta de AA não proporcionou um aumento de corrente para ECC (Figura 41A). Comportamento similar foi observado para o ECC/Ferroceno (Figura 41B).

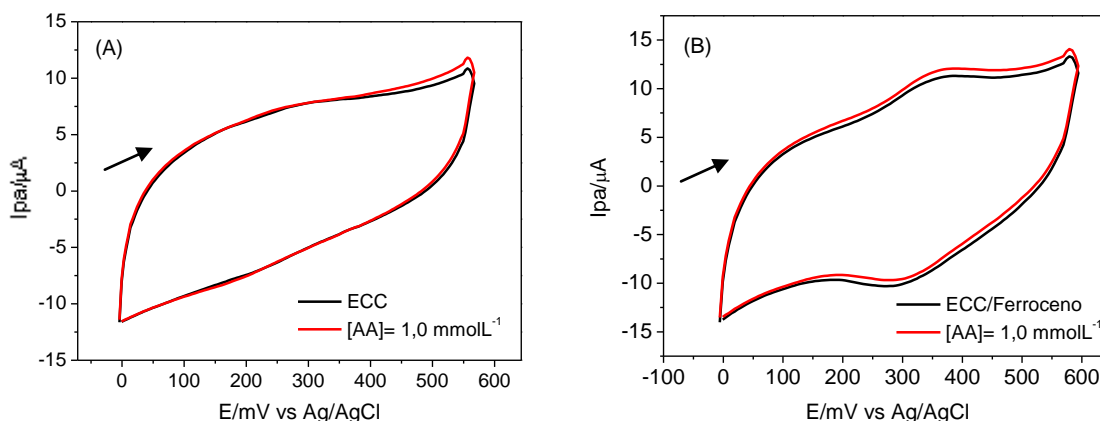


Figura 41 - Voltamogramas cíclicos na presença de AA em diferentes concentrações (A) ECC (B) ECC/Ferroceno ($v= 50 \text{ mV s}^{-1}$, Tampão fosfato $\text{pH}=7,0$)

Para verificar se realmente não há a possibilidade de detectar o processo electrocatalítico do AA pela técnica de voltametria cíclica, e se o pH poderia influenciar na resposta dos eletrodos modificados para AA foram realizados estudos em diferentes pH em meio a solução de $[\text{NaCl}]= 0,5 \text{ molL}^{-1}$ na presença da concentração fixa de $[\text{AA}]= 1,0 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$. Verifica-se pelos voltamogramas cíclicos referentes ao ECC (Figura 42A) que a variação do pH não resultou na presença de sinal significativo para o analito. No entanto verificou-se que em pHs mais ácidos ocorreu um aumento da corrente a partir de 600 mV. No caso do ECC/Ferroceno, este não apresentou alterações da resposta voltamétrica com a variação de pH (Figura 42B) sendo observado um par de picos redox na mesma região referente ao processo da reação do ferroceno.

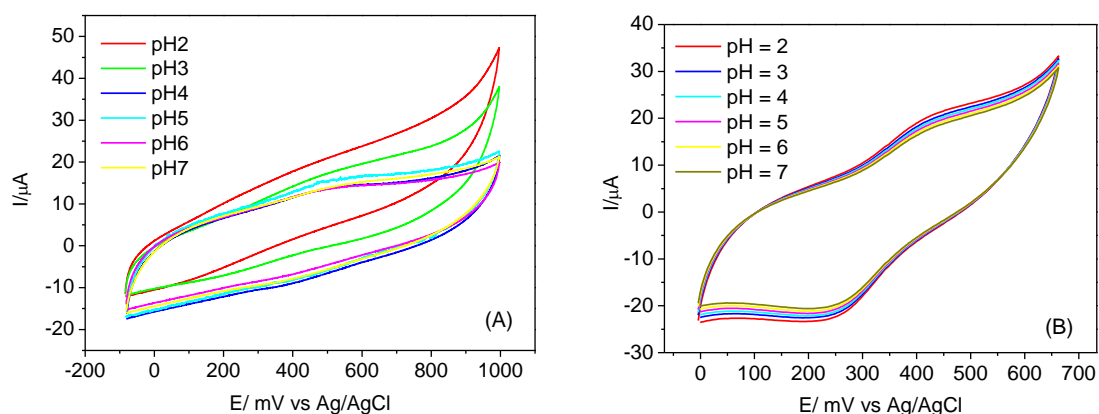


Figura 42 - Efeito de pH sobre o ECC (A) e ECC/Ferroceno(B) em presença de $[AA]=1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Eletrólito suporte: NaCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. ($v= 50 \text{ mV s}^{-1}$)

De acordo com a literatura^[97,98] a oxidação do ácido ascórbico para desidroascórbico (Figura 43)^[99] é mais favorecida em pH neutro que em meio ácido. Baseando-se nessa informação e no valor de $pK_a= 4,2$ considera-se que a forma aniônica é predominante em pH mais altos constituindo a espécie eletroquimicamente ativa envolvida no processo de transferência de elétrons.

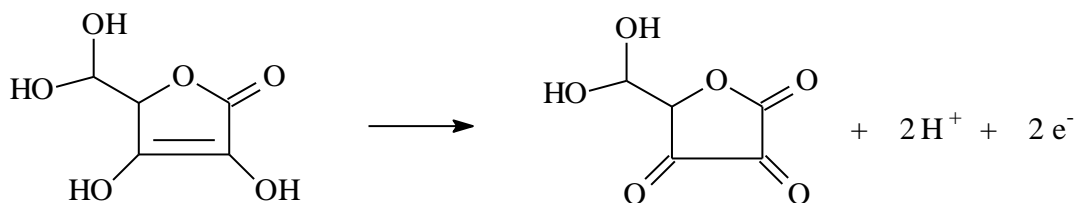


Figura 43 - Representação esquemática da oxidação do ácido ascórbico para desidroascórbico

Os testes de VOQ para o ácido ascórbico foram realizados nas mesmas condições experimentais otimizadas para dopamina, já que o interesse do trabalho seria detectar a DA em meio ao AA. O ECC na presença do AA não mostrou pico voltamétrico referente à oxidação do mesmo (Figura 44A). Diferentemente, o ECC/Ferroceno apresentou um único pico provavelmente atribuído a oxidação do AA em 68 mV vs Ag/AgCl, conforme apresentado na Figura 44B.

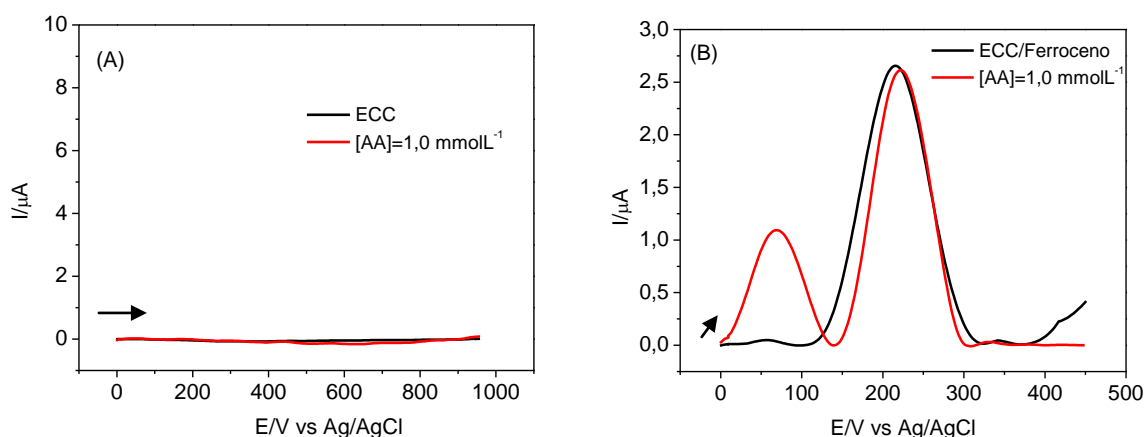


Figura 44 - Voltamogramas de onda quadrada na presença de AA (A) ECC (amplitude= 50 mV, frequência= 100 s⁻¹, $\Delta E= 2,0$ mV) (B) ECC/Ferroceno (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s⁻¹, $\Delta E= 2,0$ mV). Tampão fosfato pH=7,0.

Porém, para o ECC/Ferroceno, a variação da concentração de ácido ascórbico não proporcionou aumento da resposta de corrente de pico (Figura 45). Conforme discutido anteriormente, o pH 7 favorece a existência da forma aniônica do AA, sendo essa a responsável pela resposta eletroquímica nestas condições. O pKa do ferrocenocarboxílico em solução é 4,2 e portanto em pH 7,0, provavelmente a superfície do ECC modificado estará negativamente carregada.¹⁰⁰ Dessa forma, uma hipótese para este comportamento é que nestas condições o ECC/Ferroceno provavelmente causará a repulsão das espécies de AA, dificultando a chegada destas à superfície do eletrodo, o que acarreta em uma menor sensibilidade do eletrodo para estas espécies. Diferentemente, no caso da DA como está é uma molécula carregada positivamente a interação da mesma com a superfície do ECC/Ferroceno é maior, o que facilita o processo de transferência de elétrons.

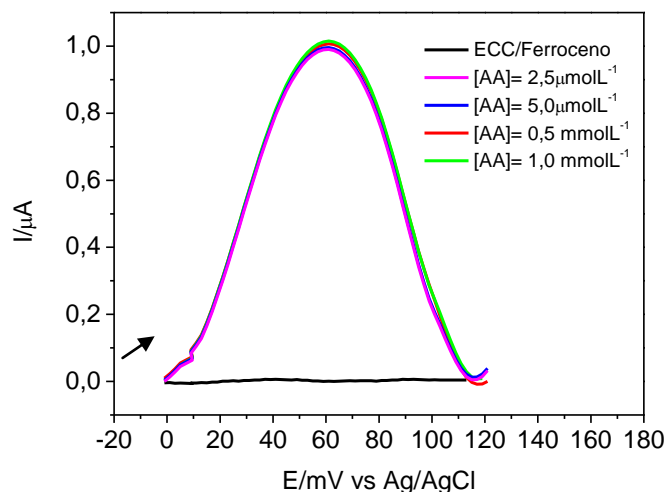


Figura 45 - Voltamogramas de onda quadrada do ECC/Ferroceno em diferentes concentrações de AA (amplitude= 60 mV, frequência= 60 s⁻¹, ΔE= 2,0 mV). Tampão fosfato pH=7,0.

4.4.3 Testes Eletroquímicos para a Determinação Simultânea de Dopamina e Ácido Ascórbico

Os resultados mostrados nos itens anteriores mostraram que os eletrodos são eficientes sensores para a detecção de DA e não apresentaram respostas relevantes para AA, o que desperta o interesse na investigação da seletividade e sensibilidade do eletrodo para a determinação simultânea de DA e AA.

Primeiramente, realizaram-se medidas de voltametria cíclica em uma concentração fixa ($1,0 \times 10^{-3}$ molL⁻¹) de DA e AA (Figura 46). Como já discutido anteriormente o ECC apresentou para a DA um par de picos redox em $E_{pa} = 446$ mV e $E_{pc} = 346$ mV ($\Delta E = 100$ mV), não sendo detectada a presença de AA nas mesmas condições. Observa-se na Figura 46A, que na detecção simultânea das duas espécies, ocorre um aumento na corrente de pico devido provavelmente ao aumento das espécies eletroativas na solução na presença do AA. A outra possibilidade consiste na influência do AA na oxidação da DA, considerando-se que de acordo com a literatura o ácido ascórbico pode atuar como um mediador na reação de transferência de elétrons da dopamina.^[80] Os voltamogramas do ECC/Ferroceno (Figura 46B), apresentaram na ausência de DA, o par de picos atribuído ao processo

redox do ácido ferrocenocarboxílico em $E_{pa} = 391$ mV e $E_{pc} = 298$ mV ($\Delta E = 93$ mV). Após a adição de DA, ocorreu um aumento da corrente de pico anódica em uma região de potencial próxima ($E_{pa} = 408$ mV). O ECC modificado assim como o ECC não apresentou variação nos voltamogramas na presença do AA. Para a adição simultânea das duas espécies verificou um pequeno deslocamento de E_{pa} para regiões mais positivas (414 mV), além do aumento da sensibilidade de corrente (Figura 46B).

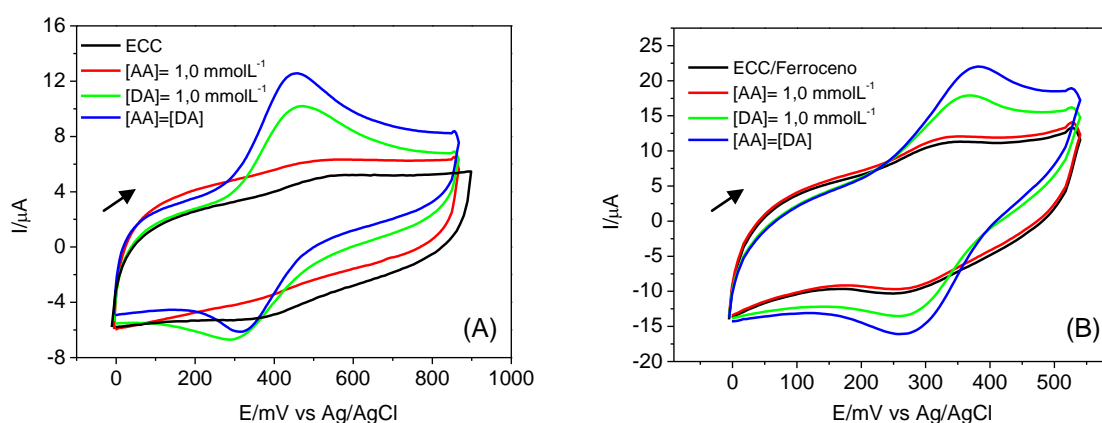


Figura 46 - Voltamogramas cíclicos na ausência e na presença de [AA] e [DA] na concentração de $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ (A) ECC (B) ECC/Ferroceno (em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão fosfato, $\text{pH} = 7,0$ $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$). Onde $[\text{AA}] = [\text{DA}]$ adição simultânea das duas espécies na mesma concentração.

O mesmo sistema foi analisado pela técnica de VOQ (Figura 47). Os voltamogramas obtidos para o ECC não demonstraram variações para a detecção de DA (Figura 49A) na presença de AA. Quando a DA e AA foram adicionados simultaneamente na célula eletroquímica para o ECC/Ferroceno, foram observados dois picos, em 50,4 mV (de menor intensidade) e 220,9 mV relacionados com as reações redox de AA e DA, respectivamente (Figura 47B). Esses resultados indicaram que a utilização do ECC/Ferroceno possibilita a detecção de DA sem interferência do AA, uma vez que oxida a um potencial diferente de DA (com uma separação de pico de aproximadamente 170,5 mV, similar à separação relatada na literatura ^[4]) e não aumenta linearmente com a variação da concentração do AA.

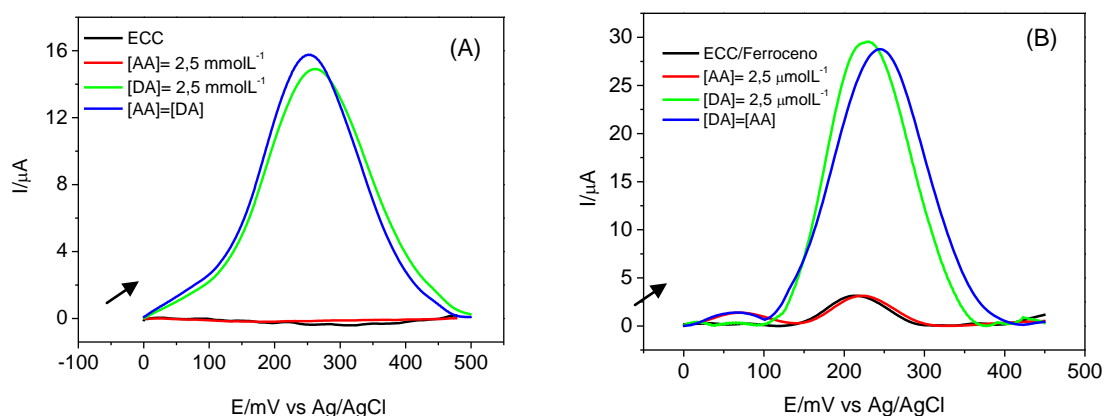


Figura 47 – Voltamogramas de onda quadrada do ECC/Ferroceno na ausência e presença de AA e DA ambos na concentração de $2,5 \mu\text{molL}^{-1}$ em $0,1 \text{ molL}^{-1}$ de tampão fosfato $\text{pH}=7,0$ (A) ECC (B) ECC/Ferroceno. ($f = 60 \text{ s}^{-1}$, $a = 60 \text{ mV}$ e $\Delta E = 2.0 \text{ mV}$), sendo $[AA]=[DA]$ adição simultânea das duas espécies na mesma concentração.

O ECC/Ferroceno foi aplicado para a determinação de DA em diferentes concentrações na faixa de $1,0$ a $2,5 \mu\text{molL}^{-1}$ numa concentração de fixa de $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$ para o AA (Figura 48A). O uso desta concentração deve-se ao fato de que o AA normalmente se encontra *in vivo* em concentrações cerca de 100 a 1000 vezes maior em relação a concentração da DA.^[86]

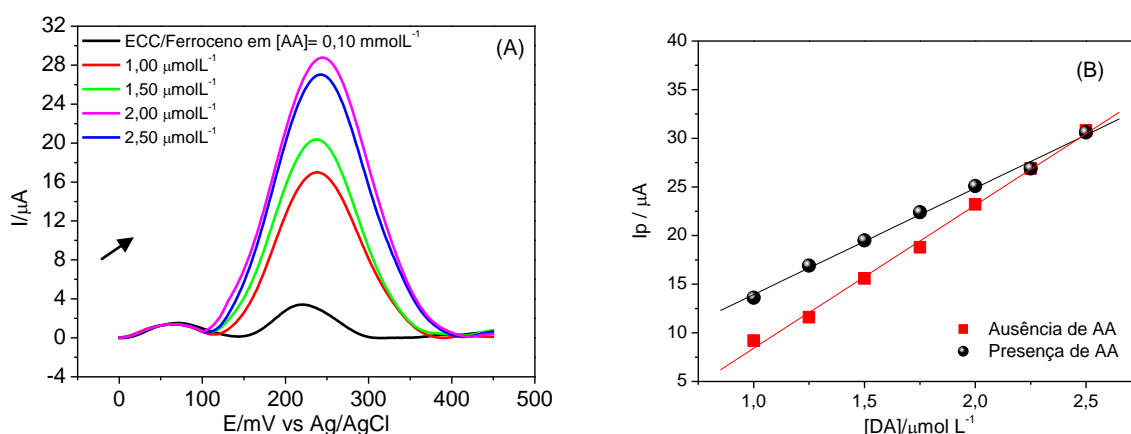


Figura 48 - (A) Voltamogramas de onda quadrada do ECC/Ferroceno na presença de uma concentração fixa de $[AA] = 0,1 \text{ mmolL}^{-1}$ em meio diferentes concentrações de DA (amplitude= 60 mV , frequência= 60 s^{-1} , $\Delta E = 2,0 \text{ mV}$). Tampão fosfato $\text{pH}=7,0$. (B) Curva analítica obtida em diferentes concentrações de DA.

Através do coeficiente angular da equação de calibração ($I_p = 2,99 + 12,94 [DA]$) pôde-se determinar a sensibilidade do eletrodo ou seja, $12,94 \mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$. A relação linear entre corrente e concentração de DA em meio ao AA foi de $R = 0,997$.

resultando em um limite de detecção igual a $0,510 \mu\text{molL}^{-1}$ (Figura 49B). Comparando-se com os dados obtidos somente na presença de [DA] (Tabela 11), verifica-se uma pequena diferença nos valores de sensibilidade indicando que o AA não influencia significativamente na resposta de DA.

Tabela 11 - Equações de calibração, coeficientes de correlação (R), sensibilidade e limite de detecção (LOD) obtidos para o ECC/Ferroceno pela técnica de VOQ em meio a DA na faixa de concentração de $0,2$ a $1,0 \mu\text{molL}^{-1}$ na presença e na ausência de AA.

Eletrodo	Equação de reta	R	Sensibilidade $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	LOD * μmolL^{-1}
DA	$Y = 0,91 + 15,3 x$	0,998	15,2	0,431
DA em AA	$Y = 2,99 + 12,9 x$	0,997	12,9	0,510

* Desvio padrão do branco: ECC/Ferroceno = 2,2

Os parâmetros analíticos obtidos são comparáveis com resultados já apresentados na literatura para a determinação de DA e AA utilizando-se diferentes eletrodos compósitos (Tabela 12). É importante destacar que o eletrodo proposto apresentou um comportamento seletivo, distinguindo os picos de oxidação para DA e AA. Tais resultados indicam que o eletrodo pode ser aplicado como um possível sensor para determinação simultânea dessas substâncias.

Tabela 12 – Parâmetros analíticos na detecção de DA e AA utilizando-se eletrodos compósitos.

Eletrodo	Método	Analito	Faixa Linear (μmolL^{-1})	LOD (μmolL^{-1})	Sensibilidade	Ref.
Compósito de carbono cerâmico	VOQ	DA	0,5 -20	0,1	0,75 $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	4
		AA		0,1	0,754 $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	
Sílica modificada com óxido - Azul de metileno-zirconia	VPD	DA na presença de AA	40–160	4,0	$4,73 \times 10^5$ $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	9
MWCCE*	VC	DA	4 - 1000	1,5	$1,29 \times 10^4$ $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	101
Ferroceno-Pd-ormosil	Amperometria	DA	1000 - 8000	50	0,13 $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	102
ECC/Ferroceno	VOQ	DA	1-2,5	0,45	14,7 $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$	**
		AA		–	–	

* ECC preparado por irradiação de microondas (MW)

* Este trabalho

5. CONCLUSÕES

As condições de preparação de eletrodos a base de carbono cerâmico foram estudadas neste trabalho com o objetivo de aprimorar as propriedades eletroquímicas do material. As características dos ECC tais como grande área superficial, alta condutividade elétrica, além de uma maior resistência mecânica (quando comparada aos eletrodos de pasta de carbono), combinadas com o aumento da sensibilidade proporcionada pela modificação foram então exploradas visando a construção de sensores eletroquímicos.

A partir da análise do planejamento fatorial na presença de ferrocianeto de potássio pode-se constatar uma maior sensibilidade e reversibilidade para o ECC preparado com 15 μL de HCl, proporção 60/40 m/m (grafite/precursor), e o MTMOS como precursor. O tratamento estatístico evidenciou uma interação de terceira ordem para os valores de correntes de pico, indicando que para a obtenção de uma melhor sensibilidade de corrente os três fatores estudados devem ser levados em consideração. Para os valores de ΔE todas as interações de segunda ordem foram significativas. É importante ressaltar que a utilização de tal metodologia para a otimização dos parâmetros experimentais apresentou-se adequada, uma vez que a realização de um estudo univariado poderia acarretar em resultados equivocados a cerca das condições mais propícias para a preparação dos ECC, já que neste caso os fatores são analisados separadamente.

As análises de MEV dos ECC obtidas utilizando-se os diferentes precursores indicaram que provavelmente uma menor compactação facilita o processo de transferência de elétrons na interfase eletrodo-solução. O ECC preparado nas condições otimizadas estipuladas a partir do planejamento fatorial, apresentou uma relação linear entre corrente de pico anódica e raiz quadrada da velocidade de varredura, além de uma considerável repetibilidade e reprodutibilidade, possibilitando sua aplicação como possível sensor eletroquímico.

O eletrodo otimizado modificado com ácido ferrocenocarboxílico (ECC/Ferroceno) apresentou uma porcentagem em peso de 1,83% e 0,46% em massa de ferro (provavelmente referente ao modificador) segundo o espectro de EDS. As micrografias obtidas com emissão de elétrons retroespalhados mostraram que os componentes do eletrodo estão homogeneamente dispersos na amostra,

mas com alguma pequena aglomeração de partículas do ferroceno. Os resultados de voltametria cíclica, mostraram que o ECC/Ferroceno apresentou um par redox em $E_{pa} = 390,3 \text{ mV}$ e $E_{pc} = 298,7 \text{ mV}$ ($\Delta E = 91,7 \text{ mV}$), relacionados ao processo ferroceno/íon ferroceno. O estudo em diferentes velocidades de varredura (v) resultou em uma relação linear entre os valores de corrente de pico anódica e v , indicando que a espécie eletroativa encontra-se confinada na superfície do eletrodo.

Os estudos dos eletrodos a partir de técnicas voltamétricas demonstraram que o ECC/Ferroceno possibilita a determinação de dopamina com boa sensibilidade e um limite de detecção de $0,43 \mu\text{mol L}^{-1}$ apresentando maior eficiência quando comparado ao ECC (limite de detecção= $1,5 \mu\text{mol L}^{-1}$). Por outro lado, o ECC modificado não foi sensível à determinação do ácido ascórbico, o que possibilita, portanto a sua aplicação como sensor na determinação de dopamina sem a interferência do ácido ascórbico, pela técnica de voltametria de onda quadrada com uma razoável separação entre os potenciais de picos, de aproximadamente $170,5 \text{ mV}$, cujo valor é similar ao relatado na literatura para outros sistemas compostos por eletrodos de carbono cerâmico.

Diante dos resultados obtidos, pode-se constatar que o ECC/Ferroceno demonstrou-se um material robusto e estável com potencial para a construção de novos sensores eletroquímicos baseados em diferentes mediadores que apresentam propriedades redox, que possam ser facilmente incorporadas na superfície da matriz de sílica.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Diante dos resultados obtidos no decorrer do trabalho realizado, alguns pontos relativos ao mesmo ainda merecem ser estudados com maior profundidade, além de vislumbrarem possibilidades para trabalhos futuros. Dessa forma, seguem-se abaixo algumas propostas para o prosseguimento do presente trabalho:

- Obtenção de dados de análise superficial e porosidade dos materiais do ECC de modo a correlacionar com o comportamento eletroquímico observado para os eletrodos obtidos em diferentes condições.
- A metodologia de planejamento fatorial pode ser empregada na análise de outros parâmetros, tais como, o tipo de material de carbono e diferentes precursores buscando otimizar ainda mais as respostas dos ECC.
- Modificação do ECC otimizado com diferentes espécies redox de interesse, tais como complexos de rutênio e nanopartículas de platina.
- Aplicação do ECC/Ferroceno em amostras reais (fármacos e plasma sanguíneo).
- Aplicação dos eletrodos de carbono cerâmico modificados como sensores amperométricos para a determinação de outros fármacos de interesse, tais como dipirona, paracetamol, dentre outros.

7. REFERÊNCIAS

-
- [1] ROZNIECKA, E.; SHUL, G.; SIRIEIX-PLENET, J.; GAILLON, L.; OPALLO, M. Electroactive ceramic carbon electrode modified with ionic liquid. *Electrochemistry Communications*, New York, v. 7, n. 3, p. 299-304, 2005.
- [2] SHENG; YU; ZHENG, J. Solid state electrochemical of the erbium hexacyanoferrate-modified carbon ceramic electrode and its electrocatalytic oxidation of L-cysteine. *Journal of Solid State Electrochemistry*, Berlím, v. 12, n. 9, p. 1077-1084, 2008.
- [3] SKEIKA, T.; MARCOVICZ, C.; NAKAGAKI, S.; FUJIWARA, S. T.; WOHNATH, K.; NAGATA, N.; PESSOA, C. A. Electrochemical studies of an iron porphyrin immobilized on Nb₂O₅/SiO₂ and its application for simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid using multivariate calibration methodology. *Electroanalysis* v. 19, p. 2543-2550, 2007.
- [4] SALIMI, A.; MAMKHEZRI, H.; HALLAJ, R. Simultaneous determination of ascorbic acid, uric acid and neurotransmitters with a carbon ceramic electrode prepared by sol-gel technique. *Talanta*, London, v. 70, n. 4, p. 823-832, 2007.
- [5] SHENG, Q.; YU, H.; ZHENG, J. Hydrogen peroxide determination by carbon ceramic electrodes modified with pyrocatechol violet. *Electrochimica Acta*, New York, v. 52, n. 25, p. 7300-7306, 2007.
- [6] TAN, X.; TIAN, Y.; CAI, P.; ZOU, X. Glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in sol-gel chitosan/silica hybrid composite film on Prussian blue modified glass carbon electrode. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Heidelberg, v. 381, n. 2, p. 500-507, 2005.
- [7] ZHU, L.; TIAN, C.; ZHAI, J.; YANG, R. Sol-gel derived carbon nanotubes ceramic composite electrodes for electrochemical sensing. *Sensors and Actuators B*, Lausanne, v. 125, n. 1, p. 254-261, 2007.
- [8] TSIONSKY, M.; GUN, G.; GIEZER, V.; LEV, O. Sol-gel-derived ceramic-carbon composite electrodes: introduction and scope of applications. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 66, n. 10, p. 1747-1753, 1994.
- [9] ARGUELLO, J.; LEIDENS, V. L.; MAGOSSO, H. A.; RAMOS, R. R.; GUSHIKEM, Y. Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid

by methylene blue adsorbed on a phosphorylated zirconia–silica composite electrode. *Electrochimica Acta*, New York, v. 54, n. 2, p. 560-565, 2008.

[10] ARGUELLO, J.; MAGOSSO, H. A.; RAMOS, R. R.; CANEVARI, T. C.; LANDERS, R.; PIMENTEL, V. L.; GUSHIKEM, Y. Structural and electrochemical characterization of a cobalt phthalocyanine bulk-modified SiO₂/SnO₂ carbon ceramic electrode. *Electrochimica Acta*, New York, v. 54, n. 7, p. 1948-1953, 2009.

[11] MARONEZE, C. M.; ARENAS, L. T.; LUZ, R. C. S.; BENVENUTTI, B. V.; LANDERS, R.; GUSHIKEM, Y. Meldola blue immobilized on a new SiO₂/TiO₂/graphite composite for electrocatalytic oxidation of NADH. *Electrochimica Acta*, New York, v. 53, n. 12, p. 4167-4175, 2008.

[12] ALFAYA, A. S.; KUBOTA, L. T. A utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores. *Química Nova*, São Paulo, v. 25, n. 5, p. 835-841, 2002.

[13] SALIMI, A.; HALLAJ, R.; GHADERMAZI, M. Modification of carbon ceramic electrode prepared with sol–gel technique by a thin film of chlorogenic acid: application to amperometric detection of NADH. *Talanta*, London, v. 65, n. 4, p. 888-894, 2005.

[14] LEV, O.; WU, Z.; BHARATHI, S.; GLEZER, V.; MODESTOV, A.; GUN, J.; RABINOVICH, L.; SAMPATH, S. Sol–gel materials in electrochemistry. *Chemistry of Materials*, Washington, v. 9, n. 11, p. 2354-2375, 1997.

[15] BRINKER; C. J.; SCHERER, G. W. Sol-Gel Science, the Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing. *Academic Press*, San Diego, 1989.

[16] KLEIN, L. C., Ed. Sol-gel optics: processing and applications; *Kluwer Academic Publishers* Boston, 1994.

[17] JOSÉ, N. M.; PRADO, L. A. S. A. Materiais Híbridos Orgânico-Inorgânicos: Preparação e Algumas Aplicações. *Química Nova*, v. 28, n. 2, p. 281-288, 2005.

[18] PEKALA, R. W.; ALVISO, C. T.; LU, X.; GROSS, J.; FRICKE, K. New Organic Aerogels Based Upon a Phenolic-Furfural Reaction. *Journal Of Non-Crystalline Solids*, v.34 p. 188, 1995.

[19] PEKALA, R. W.; KONG, F. M. Resorcinol-Formaldehyde Aerogels and Their Carbonized Derivatives. *Abstracts Of Papers Of The American Chemical Society*, v. 197, p. 113, 1989.

[20] HIRATSUKA, R.S., SANTILLI, C.V., PULCINELLI, S.H., Sol-Gel Process - Physicochemical Aspects *Química Nova*, v. 18, n.2, p. 171, 1995.

[21] ZOU, H.; WU, S.; SHEN, J. Polymer/silica nanocomposites: preparation, characterization, properties, and applications. *Chemical Reviews*, Washington, v. 108, n. 9, p. 3893-3957, 2008.

[22] TSIONSKY, M.; LEV, O. Electrochemical composite carbon - ceramic gas sensors: introduction and oxygen sensing. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 67, n. 14, p. 2409-2414, 1995.

[23] BENVENUTTI, E. V.; MORO, C. C.; COSTA, T. M. H.; GALLAS, M. R. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1926-1933, 2009.

[24] JOSÉ, N. M.; PRADO, L. A. S. A. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. *Química Nova*, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 281-288, 2005.

[25] NOGALA, W.; ROZNIECKA, E.; ROGALSKI, J.; OPALLO, M. pH-Sensitive syringaldazine modified carbon ceramic electrode for bioelectrocatalytic dioxygen reduction. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Lausanne, v. 608, n. 1, p. 31-36, 2006.

[26] SALIMI, A.; ABDI, K. Enhancement of the analytical properties and catalytic activity of a nickel hexacyanoferrate modified carbon ceramic electrode prepared by two-step sol-gel technique: application to amperometric detection of hydrazine and hydroxyl amine. *Talanta*, London, v. 63, n. 2, p. 475-483, 2007.

[27] SUN, D.; ZHU, L.; ZHU, G. Glassy carbon ceramic composite electrodes. *Analytica Chimica Acta*, New York, v. 564, n. 2, p. 243-247, 2007.

[28] MARAFON, E.; KUBOTA, L. T.; GUSHIKEM, Y. FAD-modified SiO₂/ZrO₂/C ceramic electrode for electrocatalytic reduction of bromate and iodate. *Journal of Solid State Electrochemistry*, Berlin, v. 13, n. 3, p. 377-383, 2008.

[29] STOZHKO, N. H.; MOROSANOVA, E. I.; KOLYADINA, L. I.; FOMINA, S. V. Ceramic Composite Electrode for the Determination of Selenium(IV) by Stripping Voltammetry. *Journal of Analytical Chemistry*, New York, v. 61, n. 2, p. 170-178, 2006.

[30] TIAN, F.; ZHU, G. Bionzymatic amperometric biosensor for glucose based on polypyrrole/ceramic carbon as electrode material. *Analytica Chimica Acta*, New York, v. 451, n. 2, p. 251-258, 2002.

[31] MACDONALD, S. M.; SZOT, K.; NIEDZIOLKA, J.; MARKEN, F.; OPALLO, M. Introducing hydrophilic carbon nanoparticles into hydrophilic sol-gel film electrodes. *Journal of Solid State Electrochemistry*, Berlin, v. 12, n. 3, p. 287-293, 2008.

[32] GONG, K.; ZHANG, M.; YAN, Y.; SU, L.; MAO, L.; XIONG, S.; CHEN, Y. Sol-gel-derived ceramic-carbon nanotube nanocomposite electrodes: tunable electrode dimension and potential electrochemical applications. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 76, n. 21, p. 6500-6505, 2004.

[33] CUBILLANA-AGUILERA, L. M. A.; PALACIOS-SANTANDER, J.; NARANJO-RODRIGUEZ, I.; HIDALGO-HIDALGO-DE-CISNEROS, J. L. Study of the influence of the graphite powder particle size on the structure of the sonogel-carbon materials. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, Dordrecht, v. 40, n. 1, p. 55-64, 2006.

[34] CHEN, H.; DONG, S. Direct electrochemistry and electrocatalysis of horseradish peroxidase immobilized in sol-gel-derived ceramic-carbon nanotube nanocomposite film. *Biosensors and Bioelectronics*, Essex, v. 22, n. 8, p. 1811-1815, 2007.

[35] LEI, C.; YANG, Y.; WANG, H.; SHEN, G.; YU, R. Amperometric immunosensor for probing complement III (C3) based on immobilizing C3 antibody to a nano-Au monolayer supported by sol-gel-derived carbon ceramic electrode. *Analytica Chimica Acta*, New York, v. 513, n. 2, p. 379-384, 2004.

[36] SHENG, Q.; YU, H.; ZHENG, J. Sol-gel derived terbium hexacyanoferrate modified carbon ceramic electrode: Electrochemical behavior and its electrocatalytical oxidation of ascorbic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Lausanne, v. 606, n. 1, p. 39-46, 2007.

[37] OPALLO, M.; SACZEK-MAJ, M.; SHUL, G.; HAYMAN, C. M.; BULMAN PAGE, P. C.; MARKEN, F. Microphase voltammetry of diluted and undiluted redox liquids deposited on sol-gel ceramic carbon electrodes. *Electrochimica Acta*, New York, v. 50, n. 7/8, p. 1711-1717, 2005.

[38] RAZMI, H.; HABIBI, E. S.; HEIDARI, H. Electrocatalytic oxidation of methanol and ethanol at carbon ceramic electrode modified with platinum nanoparticles. *Electrochimica Acta*, New York, v. 53, n. 28, p. 8178-8185, 2008.

[39] SALIMI, A.; ROUSHANI, M., HALLAJ, R. Micromolar determination of sulfur oxoanions and sulfide at a renewable sol-gel carbon ceramic electrode modified with nickel powder. *Electrochimica Acta*, New York, v. 51, n. 10, p. 1952-1959, 2006.

[40] SALIMI, A.; POURBEYRAM, P. Renewable sol-gel carbon ceramic electrodes modified with a Ru-complex for the amperometric detection of L-cysteine and Glutathione. *Talanta*, London, v. 60, n. 1, p. 205-214, 2003.

[41] ZHENG, J.; SHENG, Q.; LI, L.; SHEN, Y. Bismuth hexacyanoferrate-modified carbon ceramic electrodes prepared by electrochemical deposition and its electrocatalytic activity towards oxidation of hydrazine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Lausanne, v. 611, n. 1/2, p. 155-161, 2007.

[42] WANG, P.; YUAN, Y.; JING, X.; ZHU, G. Amperometric determination of thiosulfate at a surface-renewable nickel(II) hexacyanoferrate-modified carbon ceramic electrode. *Talanta*, London, v. 53, n. 4, p. 863-869, 2001.

[43] RAZMI, H.; HEIDARI, H.; HABIBI, E. pH-sensing properties of thin film electrodeposited on carbon ceramic electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry*, Berlin, v. 12, n. 12, p. 1579-1587, 2008.

[44] DU, Y.; SU, B.; ZHANG, N.; WANG, C. A novel preparation method of Sn-modified Pt nanoparticles and application for methanol oxidation *Applied Surface Science*, v. 255, n. 5, p. 2641-2645, 2008.

[45] ZHANGA, J.; LI, J.; YANGA, F.; ZHANGA, B.; YANG, X. Preparation of Prussian blue@Pt nanoparticles/carbon nanotubes composite material for efficient determination of H₂O₂. *Sensors and Actuators B*, v. 143, p. 373-380, 2009.

[46] RAZMI, H.; HABIBI, E. Electrocatalytic oxidation of methanol on carbon ceramic electrode modified by platinum nanoparticles incorporated in poly (o-phenylenediamine) film. *Journal of Solid State Electrochemistry*, Berlin, v. 13, p.1897-1904 2009.

[47] LEIA, C.; HUC, S.; GAOA, N.; SHENA, G.; YUA, R. An amperometric hydrogen peroxide biosensor based on immobilizing horseradish peroxidase to a nano-Au monolayer supported by sol-gel derived carbon ceramic electrode. *Bioelectrochemistry*, Amsterdam, v. 65, n. 1, p. 33-39, 2004.

-
- [48] THENMOZHI, K.; NARAYANAN, S. S. Amperometric hydrogen peroxide sensor based on a sol-gel-derived ceramic carbon composite electrode with toluidine blue covalently immobilized using 3-aminopropyltrimethoxysilane. *Analytical and Bioanalytical Chemistry, Heidelberg*, v. 387, n. 3, p. 1075-1082, 2007.
- [49] SALIMI, A.; ROUSHANI, M.; HAGHIGHI, B.; SOLTANIAN, S. Amperometric detection of insulin at renewable sol-gel derived carbon ceramic electrode modified with nickel powder and potassium octacyanomolybdate(IV). *Biosensors and Bioelectronics*, Essex, v. 22, n. 2, p. 220-226, 2006.
- [50] VOGEL, A. I. *Química Analítica Qualitativa* 5. ed., São Paulo: Mestre Jou, 1981. p. 665.
- [51] CANTATE, D. A. *Tipos de voltametria*. Monografia. UFSCar. São Carlos, SP, 2004.
- [52] BRETT, A.M.O.; BRETT, C.M.A. *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*. Oxford University Press, v.5, p. 236-244, 416-418, 1996.
- [53] SKOOG, D. A., HOLLER, F. J., NIEMAN, T. A., *Princípios de Análise instrumental*, 5ª Edição, Porto Alegre: Bookman, 2002, p. 487-490.
- [54] BARD, A. j.; FAUKNER, L. R. *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. New York: John Wiley & Sons, 1980.
- [55] OSTERYOUNG, J. G.; O'DEA, J.J. em *Electroanalytical Chemistry*; Bard, A. J., ed.; Marcel Dekker: New York, p. 14, 1982.
- [56] RAMALEY, L.; KRAUSE Jr., M. S.; *Analytical Chemistry*, v., 41, p. 1365, 1969.
- [57] SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de Onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos. *Química Nova*, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.
- [58] SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. Voltametria De Onda Quadrada. Segunda Parte Aplicações. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 790-797, 2004.

-
- [59] ARDAKANI, M. M.; TALEBI, A.; NAEIMI, H.; BARZOKY, M. N.; TAGHAVINIA, N. Fabrication of modified TiO₂ nanoparticle carbon paste electrode for simultaneous determination of dopamine, uric acid, and L-cysteine *Journal of Solid State Electrochemistry*, v. 13, p.1433–1440, 2009.
- [60] DURAN, N.; CAPPARELLI, M.; L. H.; MORAIS, P. C. *Nanotecnologia: Introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação*. 1 .ed. São Paulo: Artliber, 2006. p.131.
- [61] DEDAVID, B. A.; GOMES, C.I.; MACHADO, G. *Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. Porto Alegre : EDIPUCRS, 2007. p. 60.
- [62] BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E.; *Como fazer experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, Ed. da Unicamp: Campinas, 2001.
- [63] BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S.; *Statistics for experiments. An introduction to design, data analysis and model building*, Wiley: New York,1978.
- [64] RIBEIRO, E. S.; DIAS, S. L. P.; FUJIWARA, S. T.; GUSHIKEM, Y.; BRUNS, R. E. Electrochemical study and complete factorial design of Toluidine Blue immobilized on SiO₂/Sb₂O₃ binary oxide. *Journal of Applied Electrochemistry*, v. 33, p. 1069–1075, 2003.
- [65] ROCHA, R. F.; ROSATTO, S. S.; BRUNS, R. E.; KUBOTA, L. T. Factorial design optimization of redox properties of methylene blue adsorbed on a modified silica gel surface. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 433, p. 73-76, 2007.
- [66] PEREIRA, A. C.; KUBOTA, L. T. Otimização da Preparação de Eletrodo de Pasta de Carbono Contendo Riboflavina Imobilizada em Suporte Inorgânico. *Química Nova*, v. 27, n. 5, p. 725-729, 2004.
- [67] LIUA, X.; WONG, D. K. Y. Electrocatalytic detection of estradiol at a carbon nanotube|Ni(Cyclam) composite electrode fabricated based on a two-factorial design *Analytica Chimica Acta*, v. 594, n. 2, p. 184-191, 2007.
- [68] BENVENUTTI, E. V.; MORO, C. C.; COSTA, T. M. H.; GALLAS, M. R. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. *Química Nova*, São Paulo, v. 32, n. 7, p. 1926-1933, 2009.

-
- [69] ZHENG, J.; SHENG, Q.; LI, L.; SHEN, Y. Bismuth hexacyanoferrate-modified carbon ceramic electrodes prepared by electrochemical deposition and its electrocatalytic activity towards oxidation of hydrazine. *Journal Electroanalytical Chemistry*, v. 611, p.155-166, 2007.
- [70] ARGUELLO, J.; MAGOSSO, H. A.; RAMOS, R. R.; CANEVARI, T. C.; LANDERS, R.; PIMENTEL, V. L.; GUSHIKEM, Y. Structural and electrochemical characterization of a cobalt phthalocyanine bulk-modified SiO₂/SnO₂ carbon ceramic electrode. *Electrochimica Acta*, v. 54, p. 1948-1953, 2009.
- [71] PESSOA, C. A.; GUSHIKEM, Y.; KUBOTA, L. T. Ferrocenecarboxylic acid adsorbed on Nb₂O₅ film grafted on a SiO₂ surface: NADH oxidation study. *Electrochimica Acta* n. 46, p. 2499-2505, 2001.
- [72] MERCHANT, S. A.; TRAN, T. O.; MEREDITH, M. T.; CLINE, T. C.; GLATZHOFFER, D. T; SCHMIDTKE, D. W. High-Sensitivity Amperometric Biosensors Based on Ferrocene-Modified Linear Poly(ethylenimine). *Langmuir* v. 25, p. 7736-7742, 2009.
- [73] MOLINA, A.; SOTO, C. M.; GONZALEZ, J. Electrocatalytic Responses at Mediator Modified Electrodes with Several Cyclic Step and Cyclic Sweep Potential Techniques. Application to the Oxidation of Ascorbate at a Ferrocene-Monolayer Modified Gold Electrode. *Analytical Chemistry*, n. 81 p. 6830-6836, 2009.
- [74] WANG, J. G.; WU, Z. Y.; TANG, J. L.; TENG, R. R. WANG, E. K. Electrocatalytic oxidation of dopamine by ferrocene in lipid film cast on a glassy carbon electrode. *Chinese Journal Chemistry*, v. 20, p.147-152, 2002.
- [75] LAFITTE, V. G. H.; WANG, W.; YASHINA, A. S.; LAWRENCE, N. S. Anthraquinone-ferrocene film electrodes: Utility in pH and oxygen sensing. *Electrochemistry Communications* v. 10,p. 1831-1834, 2008.
- [76] FERNANDEZ, L.; CARRERO, H. Electrochemical evaluation of ferrocene carboxylic acids confined on surfactant-clay modified glassy carbon electrodes: oxidation of ascorbic acid and uric acid. *Electrochimica Acta*, v. 50, p. 1233-1240, 2005.

[77] WANG, B.; NOGUCHI, T.; ANZAI, J. Layer-by-Layer Thin Film-Coated Electrodes for Electrocatalytic Determination of Ascorbic Acid. *Talanta*. v. 72, p. 415-418, 2007.

[78] GE P, DU Y, XU J, CHEN H. Detection of dopamine based on the unique property of gold nanofilm. *Journal Electroanalytical Chemistry* v. 633, p. 182-186, 2009.

[79] ZHANG Y. PAN, Y.; SIT, S.; ZHANG, L.; LI, S.; SHAO, M. A Novel Functionalized Single-Wall Carbon Nanotube Modified Electrode and Its Application in Determination of Dopamine and Uric Acid in the Presence of High Concentrations of Ascorbic Acid. *Electroanalysis*, v.19,n.16,p.1695 -1701, 2007.

[80] SHERVEDANI R.K. Determination of dopamine in the presence of high concentration of ascorbic acid by using gold cysteamine self-assembled monolayers as a nanosensor. *Sensors and Actuators B*, v.115, p.614–621, 2006.

[81] TASHKHOURIAN, J.; NEZHAD, M. R. H.; KHODAVESI, J.; JAVADI, S. Silver nanoparticles modified carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid. *Journal of analytical Chemistry*, v. 633, p. 85-91, 2009.

[82] ENSAFI, A. A.; TAEI, M.; KHAYAMIAN, T.; A differential pulse voltammetric method for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid using poly (3-(5-chloro-2-hydroxyphenylazo)-4,5-dihydroxynaphthalene-2,7-disulfonic acid) film modified glassy carbon electrode. *Journal of analytical Chemistry*, v. 633, p. 212-220, 2009.

[83] KAMYABI, M. A.; AGHAJANLOO, F. Electrocatalytic Response of Dopamine at a Carbon Paste Electrode Modified with Ferrocene. *Croatica Chemica Acta*, v. 82, n. 3, p. 599-606, 2009.

[84] JIAO, S.; LI, M.; WANG, C.; CHEN, D.; FANG, B. Fabrication of Fc-SWNTs modified glassy carbon electrode for selective and sensitive determination of dopamine in the presence of AA and UA. *Electrochimica Acta*, v. 52, n. 19, p. 5939-5944, 2007.

[85] LIU AH, ANZAI J. Ferrocene-containing polyelectrolyte multilayer film-covered electrodes: electrocatalytic determination of ascorbic acid and use of inner blocking layers to improve the upper detection limit of the electrodes *Electrochimica Acta*, v. 50, p. 1233-1240, 2005.

[86] ZHANG, H. M.; LI, N.Q.; ZHU, Z.W. Electrocatalytic response of dopamine at a DL-homocysteine self-assembled gold electrode. *Microchemical Journal*, v.64, n.3, p. 277-282, 2000.

[87] FORZANI, E. S.; RIVAS, G. A.; SOLIS, V. M. Amperometric determination of dopamine on an enzymatically modified carbon paste electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. v. 382, p.33-40, 1995.

[88] NICHOLSON, R. S.; SHAIN, I; Theory of stationary electrode polarography: single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems. *Analytical Chemistry* n. 36, p. 706-723, 1964.

[89] Duarte, J. C.; Luz R. D. C. S.; Damos, F. S.; Oliveira, A. B.; Kubota L.T. tetracyanoquinodimethanide adsorbed on sílica gel modified with titanium oxide for eletrocatalytic oxidation of hydrazine. *Journal of solid state eletrochemitry* v.11 p.631-638, 2007.

[90] NASRI, Z. SHAMS, E. Application of silica gel as an effective modifier for the voltammetric determination of dopamine in the presence of ascorbic acid and uric acid. *Electrochimica Acta*, v. 54, p. 7416-7421, 2009.

[91] WANG H, WANG LJ, SHI ZF, GUO Y, CAO XP, ZHANG HL. Application of self-assembled 'molecular wires' monolayers for electroanalysis of dopamine. *Electrochemistry Communications* n. 8 p. 1779-1783 2006.

[92] MEDEIROS, R. A.; CARVALHO, A. E.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação Voltamétrica de Ciclamato de Sódio em Produtos Dietéticos Empregando um Eletrodo de Diamante dopado com Boro *Química. Nova*, v. 31, n. 6, p. 1405-1409, 2008.

[93] LOVRIĆ, M.;KOMORSKY-LOVRIĆ, S.; MURRAY, R. W. Adsorption effects in square-wave voltammetry of totally irreversible redox reactions *Electrochimica Acta* v. 33, n. 6, p. 739-744, 1988.

[94] CODOGNOTO, L.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; Square Wave Voltammetry on Boron-doped Diamond Electrodes for Analytical Determination. *Diamond and Related Materials*, v. 11, p. 1670, 2002.

[95] SOUZA, D.; GALLI, A.; CALEGARO, M. L.; MACHADO, S. A. S.; PIRES, R. C. Utilização da Múltipla Voltametria de Onda Quadrada na Determinação Eletroanalítica de Compostos Orgânicos e Inorgânicos, *Química. Nova*, v. 30, n. 2, p. 458-463, 2007.

[96] LANÇAS, F. M. *Validação de métodos cromatográficos de análise*. São Carlos: Editora Rima, 2004.

[97] JANNAKOUDAKIS, K. Kinetic parameters and mechanism of the electrochemical oxidation of ascorbic acid on platinum electrodes in acid solutions *Journal Electroanalytical Chemistry*, v. 160, p. 159, 1984.

[98] RUIZ, J. J.; ALDAZ, A.; DOMINGUEZ, M. Mechanism of L-Ascorbic-Acid Oxidation On A Mercury-Electrode Basic-Medium *Canadian Journal Of Chemistry*, v. 56, n. 11, p.1533-1537, 1978.

[99] LI, N. B.; NIU, L. M.; LUO, H. Q. Electrochemical behavior of uric acid and epinephrine at a meso-2,3-dimercaptosuccinic acid self-assembled gold electrode. *Microchimica Acta*. v. 2 n. 153, p. 37-44, 2006.

[100] SANTIS, G. D.; FABBRIZZI, L.; PALLAVICINI, P. Controlling the acidity of the carboxylic group by a ferrocene based redox switch *Inorganica Chimica Acta*, v. 225 p. 239-244, 1994.

[101] ABBASPOUR, A. ; GHAFFARINEJAD, A. Method for Preparation of a Sol-Gel-Derived Carbon Ceramic Electrode Using Microwave Irradiation. *Analytical Chemistry*, v. 81, p. 3660-3664, 2009.

[102] PANDEY, P. C.; UPADHYAY, S.; TIWARI, I.; SINGH, G.; TRIPATHI V. S. A novel ferrocene encapsulated palladium-linked ormosil-based electrocatalytic dopamine biosensor. *Sensors. Actuators, B*, v. 75, p. 48-55, 2001.