

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PREPARAÇÃO E APLICAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS A  
BASE DO POLÍMERO ACETATO DE CELULOSE**

**Andrea Anilda Hoffmann da Rocha**

**Tese de Doutorado**

Orientador: Prof. Dr. Sílvio Luís Pereira Dias

Porto Alegre, Janeiro de 2013.

## **DECLARAÇÃO**

O presente trabalho foi desenvolvido no Instituto de Química da UFRGS entre março de 2009 e janeiro de 2013, inteiramente por mim, Andrea Anilda Hoffmann da Rocha, salvo eventuais colaborações devidamente referenciadas, sob orientação do professor Doutor Sílvio Luís Pereira Dias.

Anilda Anilda Hoffmann da Rocha

Dedico este trabalho a minha família, em especial, a meu marido Rafael e a  
minha filha Sarah, expresso minha gratidão e amor.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus.

À minha família, em especial meu marido Rafael, minha filha Sarah e a meus pais Antônio e Helena.

Ao meu orientador Sílvio Luís Pereira Dias.

Aos colegas de laboratório, em especial, Elisângela e Aline.

A todos que colaboraram para a realização dessa tese.

## LISTA DE TRABALHOS GERADOS

### Artigo Publicado

ROCHA, A. A. H., Pires E. B., Nectoux A. S., Dias S. L. P., Lima C. L., Radtke C., Kubota L. T., Preparation and electrochemical behavior of the CA/TiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> composite electrode modified with p-benzoquinone, Journal of Electroanalytical Chemistry, 2013.

### Patente

ROCHA, A. A. H.; Nectoux, A. S.; Dias, S. L. P.; Pires, E. B. *Celulose eletricamente condutora, processo de produção e eletrodo compreendendo o mesmo*. 2012, Brasil.

Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: PI1020120076551, data de depósito: 03/04/2012, título: "*Celulose eletricamente condutora, processo de produção e eletrodo compreendendo o mesmo*." , Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Instituição(ões) financiadora(s): UFRGS, CNPq, FAPERGS.

### Resumos de trabalhos em congressos

ROCHA, A. A. H. ; Nectoux, A. S. ; Bueno, E. P.; Dias, S. L. P.. *Caracterização e aplicação de um novo material compósito condutor baseado em TiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dispersos em acetato de celulose*. XX Congresso da Sociedade Ibero-americana de Eletroquímica - SIBAE 2012, 2012, Fortaleza.

ROCHA, A. A. H. ; Dias, S. L. P.; Arghello, J. ; Pires, E. B.; Kubota, L. T. *Preparação e aplicação da p-benzoquinona imobilizada em um eletrodo modificado CA/TiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para a determinação de ácido ascórbico*. XVIII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica - XVIII SIBEE, 2011, Bento Gonçalves.

## SUMÁRIO

Lista de Figuras	VIII
Lista de Tabelas	XIV
Abreviaturas	XV
Resumo	XVI
Abstract	XVII
1. Introdução	2
1.1. Objetivos	5
2. Revisão Bibliográfica	8
2.1. Acetato de celulose modificado com óxidos metálicos	8
2.2. Técnicas Eletroquímicas	10
2.2.1. Voltametria Cíclica	10
2.2.2. Voltametria de Pulso Diferencial	16
2.2.3. Cronoamperometria	16
2.2.4. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica	18
2.3. Biomoléculas Orgânicas	20
2.3.1. Ácido Ascórbico	20
2.3.2. Dopamina	22
2.3.3. Ácido Úrico	24
3. Preparação e comportamento eletroquímico do compósito CATiSb modificado com p-benzoquinona	24
3.1. Parte Experimental	24
3.1.1. Preparação do material CATiSb	24
3.1.2. Imobilização da p-benzoquinona na matriz CATiSb	24
3.1.3. Preparação do tampão Britton-Robison	25
3.1.4. Microscopia Eletrônica de Varredura	25
3.1.5. Espectroscopia fotoeletrônica de raio-X	26
3.1.6. Medições Eletroquímicas	26
3.1.7. Estudo Cinético	27

3.1.7.1. Determinação de H <sub>2</sub> AA em pastilhas de vitamina C	27
3.1.7.2. Obtenção da curva de calibração para H <sub>2</sub> AA por voltametria de pulso diferencial	28
3.1.8. Estudo de interferentes	28
3.2 Resultados e Discussão	30
3.2.1. Dispersão de TiO <sub>2</sub> e Sb <sub>2</sub> O <sub>5</sub> na superfície Ca fibra de acetato de celulose	30
3.2.2. Espectroscopia Fotoeletrônica de Raio-X	32
3.2.3. Estudos Eletroquímicos	35
3.2.4. Estudo do pH	38
3.2.5. Efeito do pH na oxidação do ácido ascórbico	39
3.2.6. Estudo da Oxidação do ácido ascórbico	40
4. Preparação de um eletrodo sólido condutor a base de acetato de celulose para a determinação simultânea de analitos de interesse biológico	57
4.1. Caracterização do material	58
4.1.1. Espectroscopia de impedância eletroquímica	58
4.1.2 Microscopia eletrônica de varredura	64
4.1.3. Voltametria Cíclica	65
4.2. Aplicação do eletrodo matriz 0,5 g C para a determinação simultânea de dopamina e ácido úrico	72
5. Conclusões	83
6. Referências	86

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Esquema de uma célula eletroquímica contendo um sistema de três eletrodos.	03
<b>Figura 2:</b> Esquema de uma célula eletroquímica contendo um sistema de três eletrodos.	11
<b>Figura 3:</b> Principais parâmetros obtidos a partir de um voltamograma cíclico.	12
<b>Figura 4:</b> Representação do gradiente de concentração na superfície do eletrodo.	14
<b>Figura 5:</b> Sinais de excitação para a voltametria de pulso diferencial.	16
<b>Figura 6:</b> (A) Aplicação do pulso de potencial e (B) resposta da corrente em relação ao tempo <sup>66</sup> .	17
<b>Figura 7:</b> Corrente alternada (i), tensão alternada (E), com a frequência em relação ao tempo.	18
<b>Figura 8:</b> Representação de um gráfico de EIE onde: (A) Diagrama de Nyquist, (B) Diagrama de Bode com representação do $\log  Z $ vs o $\log \omega$ (ou $\log$ de f) e (C) Diagrama de Bode com representação do $\log  Z $ vs ângulo $\theta$ .	19
<b>Figura 9:</b> Processo redox do ácido ascórbico.	21
<b>Figura 10:</b> Processo redox da dopamina.	22
<b>Figura 11:</b> Processo redox do ácido úrico.	22
<b>Figura 12:</b> Micrografias para o material CATi. (A) MEV, (B) EDS.	31
<b>Figura 13:</b> Espectro XPS para o material CATiSb (a) para o nível 3d do Sb e (b) para o nível 2p do Ti.	32
<b>Figura 14:</b> Representação esquemática do processo redox da p-BQ.	34
<b>Figura 15:</b> Voltamogramas cíclicos do eletrodo CATiSb (A) e do eletrodo modificado CATiSbBQ (B). Tampão Britton-Robinson 1,0 mol L <sup>-1</sup> pH 7,0 e velocidade de varredura 20 mV s <sup>-1</sup> .	36

**Figura 16:** Estabilidade química do eletrodo CATiSbBQ após 100 ciclos redox. Tampão Britto-Robinson  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0 e velocidade de varredura  $20 \text{ mV s}^{-1}$ . 37

**Figura 17:** Voltamogramas cíclicos típicos do eletrodo CATiSbBQ obtido entre  $10 - 90 \text{ mV s}^{-1}$ . Gráfico inserido: relação entre as intensidades de pico anódica e catódica *versus* a velocidade de varredura. 38

**Figura 18:** Dependência entre o  $E_m$  e o pH para o CATiSbBQ em tampão Britton-Robinson e velocidade de varredura  $20 \text{ mV s}^{-1}$ . 39

**Figura 19:** Influência do pH nas correntes de pico anódico e potencial médio para o eletrodo CATiSbBQ em tampão B-R, velocidade de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$  e concentração de  $\text{H}_2\text{AA}$  de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . 40

**Figura 20:** Voltamogramas cíclicos (A) CATiSb na ausência de  $\text{H}_2\text{AA}$ , (B) CATiSbBQ na ausência de  $\text{H}_2\text{AA}$  e (C) CATiSbBQ na presença de  $8,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{AA}$ . Tampão B-R  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0,  $20 \text{ mV s}^{-1}$ . 41

**Figura 21:** Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo CATiSbBQ na ausência de ácido ascórbico e na presença de  $\text{H}_2\text{AA}$  nas concentrações em  $\text{mol L}^{-1}$ :  $2,5 \times 10^{-5}$  a  $3,8 \times 10^{-3}$ . Tampão B-R  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0, velocidade de varredura =  $20 \text{ mV s}^{-1}$ . 42

**Figura 22:** Relação entre a intensidade de corrente de pico *versus* a concentração de  $\text{H}_2\text{AA}$ . 43

**Figura 23:** Cronoamperogramas obtidos para o eletrodo modificado CATiSbBQ na ausência e na presença de  $1,5 \times 10^{-5}$  a  $1,4 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{AA}$ . Tampão B-R  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0. 44

**Figura 24:** Gráfico da intensidade de corrente anódica ( $I_{pa}$ ) *versus* a concentração de ácido ascórbico. 44

**Figura 25:** (A) Cronoamperogramas obtidos para o eletrodo modificado CATiSbBQ na ausência (a) e na presença de ácido ascórbico em tampão B-R  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0 (b) 0,015, (c) 0,030, (d) 0,050 e (e) 0,060  $\text{mmol L}^{-1}$ . (B) Gráficos das intensidades de corrente,  $I$ , *versus*

a derivada da raiz quadrada do tempo,  $t^{1/2}$  obtidos no cronoamperograma. (C) Gráfico do slope obtido no gráfico B versus a concentração de  $H_2AA$  e (D) dependência da  $I_{cat}/I_L$  versus  $t^{1/2}$  obtidos dos cronoamperogramas de (a) a (e) do gráfico A. 47

**Figura 26:** Voltametria de pulso diferencial (VPD) para o eletrodo modificado CATiSbBQ na ausência de  $H_2AA$  e na presença de  $2,0 \times 10^{-7}$  a  $9,0 \times 10^{-7}$  mol  $L^{-1}$ . Tampão B-R  $1,0$  mol  $L^{-1}$  pH  $7,0$ . Velocidade de varredura  $10$  mV  $s^{-1}$  e amplitude de  $50$  mV. 49

**Figura 27:** Relação linear entre  $I$  versus  $[H_2AA]$  obtidos através dos voltamogramas de pulso diferencial para o eletrodo modificado CATiSbBQ, em uma faixa de concentração de  $2,0 \times 10^{-7}$  a  $9,0 \times 10^{-7}$  mol  $L^{-1}$ . Tampão B-R  $1,0$  mol  $L^{-1}$  pH  $7,0$ . 49

**Figura 28:** Voltametria cíclica em tampão B-R  $1,0$  mol  $L^{-1}$  pH  $7,0$  para o eletrodo CATiSbBQ (1) e na presença de  $5,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  de ácido ascórbico,  $5,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  de ácido úrico e  $1,1 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de dopamina (2). 52

**Figura 29:** Voltametria de pulso diferencial de ácido ascórbico  $5,0 \times 10^{-4}$  mmol  $L^{-1}$  na presença de  $1,1 \times 10^{-4}$  a  $1,5 \times 10^{-4}$  mmol  $L^{-1}$  de ácido úrico em tampão Britton-Robinson  $1,0$  mol  $L^{-1}$  pH  $7,0$ . 53

**Figura 30:** Voltametria de pulso diferencial para ácido ascórbico  $5,0 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  na presença de  $4,7 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  a  $1,9 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de dopamina. Tampão fosfato  $1,0$  mol  $L^{-1}$ . 54

**Figura 31:** Voltametria de pulso diferencial para CATiSbBQ ( a ), CATiSb ( b ), CATi ( c ) na presença de  $5,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  de  $H_2AA$ ,  $5,0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  de ácido úrico e  $1,1 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de dopamina em tampão B-R pH  $7,0$ . 55

**Figura 32:** Imagens do material sólido obtido através da mistura de celulose/grafite em diferentes concentrações de grafite. 58

**Figura 33:** Relação entre  $\log |Z|$  vs  $\log f$  para acetato de celulose puro e com diferentes concentrações de grafite. 59

**Figura 34:** Relação entre  $\log |Z|$  vs  $\log f$  para a matriz sólida contendo 0,5 g de grafite, material lixado e não lixado. 60

**Figura 35:** (A) Variação do ângulo vs  $\log f$  e (B) variação do  $\log |Z|$  vs  $\log f$ , para a matriz 0,5 g grafite e matriz 2 g grafite, em potenciais de 0,26 V e 0,29 V, respectivamente, 25 mL de KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> na presença de  $2,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. Faixa de frequência: 500 kHz – 0,1 mHz. Amplitude de 25 mV. 61

**Figura 36:** Diagrama de Nyquist para eletrodo 2 g de C e 0,5 g C em potenciais de 0,26 V e 0,29 V, respectivamente, 25 mL de KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> na presença de  $2,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. Faixa de frequência: 500 kHz – 0,1 mHz. Amplitude de 25 mV. 62

**Figura 37:** Circuito equivalente obtido através da simulação do diagrama de Bode na Figura 34, A. 63

**Figura 38:** Eletrodos produzidos a partir da matriz 0,5 g de C com rendimento ao redor de 15 eletrodos. 64

**Figura 39:** Micrografias para a celulose condutora sólida (A) sem lixar, (B) após lixar. 65

**Figura 40:** VC para os eletrodos modificados com diferentes quantidades de grafite. Eletrólito: 25 mL de KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> na presença de  $2,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. Velocidade de Varredura 20 mV s<sup>-1</sup>. 66

**Figura 41:** Estabilidade do eletrodo matriz 0,5 g C lixada em relação às intensidades de pico anódico e catódico vs o número de ciclos. Velocidade de varredura 20 mV s<sup>-1</sup>, eletrólito KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> na presença de 1,0 mmol de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. 67

**Figura 42:** Estabilidade do eletrodo matriz 0,5 g C lixada em relação às intensidades de pico anódico e catódico vs o número de ciclos. Velocidade de varredura 100 mV s<sup>-1</sup>, eletrólito KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> na presença de 1,0 mmol de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. 68

- Figura 43:** VC para eletrodo matriz 0,5 g C em diferentes velocidades de varredura, 2 – 500 mV s<sup>-1</sup>. Tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 contendo 1,0 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> ferricianeto/ferrocianeto de potássio. 69
- Figura 44:** Dependência de I<sub>pa</sub> e I<sub>pc</sub> com a raiz quadrada de varredura. 69
- Figura 45:** Estudo do pH na presença de 5,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de dopamina e 1,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico dissolvidos em tampão fosfato em diferentes pH's. (A) curvas sobrepostas e (B) curvas relacionadas ao potencial, E. 71
- Figura 46:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo sólido na presença de 2,5 x 10<sup>-6</sup> a 1,1 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico em tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. 72
- Figura 47:** Intensidade de corrente *versus* a concentração de ácido úrico para o eletrodo sólido na presença de 2,5 x 10<sup>-6</sup> a 1,1 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico em tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. 73
- Figura 48:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo sólido na presença de 9,9 x 10<sup>-6</sup> a 1,2 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de dopamina em tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. 73
- Figura 49:** Relação entre a I<sub>pa</sub> *versus* [DP]. 74
- Figura 50:** Voltametria de pulso diferencial para o sensor modificado na ausência e na presença de 9,9 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico e 9,9 x 10<sup>-6</sup> a 5,4 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de dopamina. Tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. 76
- Figura 51:** Relação entre a concentração de dopamina *versus* a intensidade de corrente, I<sub>pa</sub>, na presença de 9,9 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico. 76
- Figura 52:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo modificado na ausência e na presença de 1,2 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de dopamina e 2,5 x 10<sup>-5</sup> a 1,0 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico. Tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. 77
- Figura 53:** Dependência entre a concentração de ácido úrico *versus* a intensidade de corrente. 77

**Figura 54:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo modificado na ausência e na presença de  $9,9 \times 10^{-6}$  a  $4,9 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de dopamina e  $9,9 \times 10^{-5}$  a  $4,9 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico. 80

**Figura 55:** Relação linear obtida por sucessivas adições de dopamina *versus* a intensidade de corrente. 80

**Figura 56:** Relação linear obtida por sucessivas adições de ácido úrico *versus* a intensidade de corrente. 81

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela I:</b> Parâmetros obtidos pela técnica de voltametria cíclica.	12
<b>Tabela II:</b> Parâmetros analíticos para determinação de ácido ascórbico para vários eletrodos.	50
<b>Tabela III:</b> Parâmetros obtidos por simulação do circuito equivalente proposto.	64
<b>Tabela IV:</b> Dados obtidos através das curvas de calibração para dopamina e ácido úrico por voltametria de pulso diferencial.	75
<b>Tabela V:</b> Dados obtidos através das curvas analíticas para a variação da concentração de dopamina na presença de uma quantidade fixa de ácido úrico e para variação da quantidade de ácido úrico na presença de uma quantidade fixa de dopamina.	78
<b>Tabela VI:</b> Dados obtidos através das curvas analíticas para a determinação simultânea de dopamina e ácido úrico.	79

## ABREVIATURAS

H<sub>2</sub>AA – Ácido Ascórbico

DP – Dopamina

AU – Ácido Úrico

VC – Voltametria Cíclica

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

EIS – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

$\Delta E_p$  – Diferença entre os potenciais de pico

E – Potencial Aplicado

$E_m$  – Potencial Médio

$E_p$  – Potencial de pico

$E_{pa}$  – Potencial de pico anódico

$E_{pc}$  – Potencial de pico catódico

I – Corrente

$I_p$  – Corrente de pico

$I_{pa}$  – Corrente de pico anódica

$I_{pc}$  – Corrente de pico catódica

$I_{pa}/I_{pc}$  – Razão das correntes anódica e catódica

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

BQ – p-benzoquinona

ACTiSb – Acetato de celulose modificado com óxido de titânio e antimônio

ACTiSbBQ – Acetato de celulose modificado com óxido de titânio e antimônio com p-benzoquinona

SEM – Microscopia Eletrônica de Varredura

XPS – Espectroscopia fotoeletrônica de raio-X

AC – Acetato de celulose

EQM – Eletrodos quimicamente modificados

B-R – Tampão Britton- Robinson

$R_s$  – Resistência da solução

$R_{tc}$  – Resistência à transferência de carga

CPE – Elemento constante de fase

Z – Impedância

$\omega$  - Frequência

## RESUMO

Nesse primeiro estudo, um novo material desenvolvido a partir da imobilização da p-benzoquinona imobilizada em um novo material híbrido (CATiSb) de acetato de celulose e óxidos mistos foi aplicado para a oxidação eletrocatalítica de ácido ascórbico ( $H_2AA$ ). O material foi preparado pelo processo de inversão de fase e caracterizado por várias técnicas incluindo microscopia eletrônica de varredura acoplada com espectroscopia de energia dispersa (SEM-EDS), espectroscopia fotoeletrônica de raio-X (XPS), fluorescência de raio-X. Ti e Sb foram mapeados na superfície e observou-se uma distribuição homogênea na matriz. A presença de  $Ti_{2p}$  e  $Sb_{3d}$  indica a formação de  $TiO_2$  e  $Sb_2O_5$  sendo esses os responsáveis pela rigidez da matriz polimérica. Um eletrodo de pasta de carbono desse material foi usado para estudar a oxidação eletrocatalítica do ácido ascórbico pelas técnicas de voltametria cíclica, cronoamperometria e voltametria de pulso diferencial. O eletrodo apresentou uma rápida resposta, possuindo grande potencial para ser utilizado como sensor eletroquímico para determinação de ácido ascórbico em amostras comerciais. No segundo estudo, foi desenvolvido um novo sensor modificado baseado em compósito condutor feito a partir de acetato de celulose e grafite. O eletrodo foi caracterizado e aplicado para determinação simultânea de dopamina e ácido úrico.

## Abstract

In this first study, a novel material made up of p-benzoquinone (BQ) immobilized on a new hybrid of cellulose acetate and mixed metal oxides (CA/TiO<sub>2</sub>/Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) was applied to the electrocatalytic oxidation of ascorbic acid (H<sub>2</sub>AA). The material was prepared by a phase inversion process and characterized by several techniques including scanning electronic microscopy coupled with energy dispersive spectroscopy (SEM-EDS), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and X-ray fluorescence. Ti and Sb mapping profiles on the surface showed a homogeneous distribution of the matrices. Ti<sub>2p</sub> and Sb<sub>3d</sub> doublet indicate that the formation of TiO<sub>2</sub> and Sb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> is the presumed responsible for the good rigidity of the polymeric matrix. A carbon paste electrode of this material was used to study the electrocatalytic oxidation of ascorbic acid by cyclic voltammetric, chronoamperometric and differential pulse techniques. The electrode had a quick response time, showing great potential to be utilized as an electrochemical sensor for the determination of ascorbic acid in commercial samples. In the second study, a new sensor modified based in cellulose acetate/graphite conduct composite has been developed Modified electrode was characterized and utilized for the simultaneous detection of dopamine and uric acid.

---

*Introdução*

# 1. INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios do século XXI é o de administrar o desenvolvimento industrial diante das várias questões que envolvem a sustentabilidade e a ética ambiental. Nesse sentido um dos caminhos mais interessantes do ponto de vista da sociedade contemporânea é a utilização de fontes de energia limpas e renováveis.

O surgimento de novos processos metodológicos que visam não apenas aperfeiçoamento tecnológico bem como a aplicabilidade e sustentabilidade tem sido destaque nos últimos anos. Fatores envolvendo a produção de resíduos, biocompatibilidade e risco de contaminação ambiental estão intimamente relacionados quando consideramos o meio ambiente.

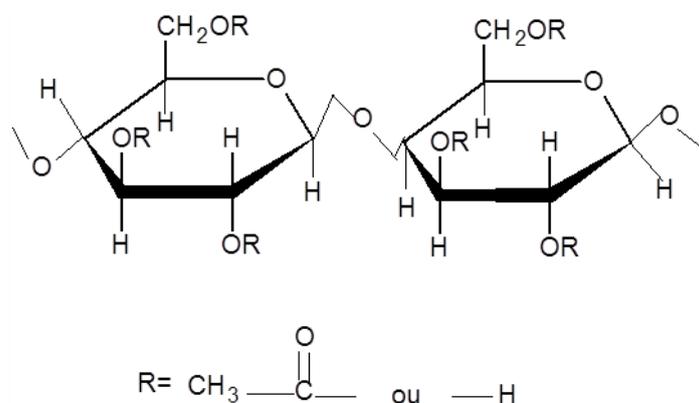
Recentemente, os biopolímeros têm atraído a atenção de muitos pesquisadores em diversas áreas, em especial da área farmacêutica para a liberação de fármacos, por serem biocompatíveis e biodegradáveis. Esses biopolímeros podem ser usados para criar uma nova classe de materiais denominados “eco-friendly”, podendo contribuir para diversas aplicações inovadoras. Os biopolímeros mais estudados atualmente são: poli(ácido láctico), poli(hidroxibutirato), poli(succinato de butileno), policaprolactona, amido termoplástico, poliésteres, celulose, gelatina, quitosana, entre outros<sup>1</sup>.

Dentre os derivados de celulose, os ésteres têm importância industrial significativa, em especial os acetatos, que são utilizados na fabricação de plásticos, fibras e filmes. Os ésteres de celulose são importantes derivados utilizados como espessantes em cosméticos e produtos alimentícios, aditivos para adesivos, estabilizantes coloidais, membranas para controle de liberação de drogas, etc<sup>2</sup>.

A celulose é convertida em ésteres de celulose com o objetivo de controlar suas propriedades físicas, principalmente parâmetros de solubilidade. A conversão da

celulose em ésteres de celulose permite obter materiais que são processados em várias formas de uso, tais como objetos tridimensionais, fibras e soluções que podem ser usadas em recobrimento, ou por *casting* no caso de filmes ou membranas<sup>3</sup>.

O acetato de celulose foi sintetizado inicialmente em 1865 por P. Schutzenberg<sup>4,5</sup>, através do aquecimento da celulose com ácido acético sob pressão. Em 1879, A. P. N. Franchimont adicionou ácido sulfúrico como catalisador para promover a sua esterificação, sendo este processo utilizado até os dias atuais<sup>5</sup>.



**Figura 1:** Estrutura do acetato de celulose.

A solubilidade limitada do acetato de celulose constituiu um obstáculo considerável para o uso industrial. O problema foi resolvido em 1904 quando, F. D. Miler e A. Eichengüin simultaneamente sintetizaram um acetato secundário solúvel em acetona, a partir da hidrólise parcial de um triacetato primário<sup>6</sup>.

O acetato de celulose tem sido muito utilizado na construção de sensores e biossensores eletroquímicos na forma de membranas contendo outras biomoléculas, como também na forma de membranas semi-seletivas ou membranas de exclusão por tamanho<sup>7</sup>.

Considerando que o acetato de celulose possui uma baixa reatividade química, uma das alternativas para aumentar sua reatividade é modificar sua superfície com óxidos metálicos e dessa forma possibilitar a imobilização de espécies eletroativas sobre sua superfície. Nesse sentido, a preparação de materiais híbridos orgânicos-inorgânicos tem sido realizada através da mistura do polímero orgânico com soluções de óxidos metálicos<sup>8</sup>.

A adsorção de óxidos metálicos ou não-metálicos tem sido uma área de grande interesse para posterior imobilização de mediadores de transferência de elétrons, possibilitando o desenvolvimento de um material com propriedades variadas.

Os óxidos de antimônio apresentam propriedades anfóteras, podendo atuar como ácidos ou bases dependendo da condição. O  $Sb_2O_5$  que ocorre na forma hidratada ( $Sb_2O_5 \cdot nH_2O$ ) também é denominado ácido antimônico devido a acidez de seus prótons. Essa propriedade lhe confere propriedades úteis de troca iônica. A forma hidratada do óxido de titânio (IV) tem atraído considerável atenção como trocador iônico em função de sua elevada capacidade em adsorver seletivamente certos íons metálicos<sup>9</sup>.

A presença desses óxidos é extremamente importante para garantir a capacidade de troca iônica da matriz de acetato de celulose e melhorar as propriedades condutoras da matriz resultando em substrato estável para a imobilização de mediadores eletroquímicos.

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento de sensores eletroquímicos utilizando como matriz o biopolímero acetato de celulose. No primeiro estudo, a espécie eletroativa p-benzoquinona foi imobilizada na superfície do acetato de celulose modificado com óxido de titânio e óxido de antimônio (CATiSbBQ) e o material resultante foi aplicado como sensor modificado de pasta de carbono para a detecção de um importante antioxidante, o ácido ascórbico. Também foram estudados possíveis

interferentes existentes em meios biológicos na reação redox do ácido ascórbico tais como dopamina e ácido úrico.

O segundo estudo visou à preparação e aplicação de um novo material condutor baseado em acetato de celulose como sensor eletroquímico. A possibilidade de obter um híbrido condutor preparado a partir de um precursor biocompatível, de fácil manipulação, flexível, apresentando superfície facilmente renovável e com alto rendimento em relação à confecção de eletrodos foi investigada objetivando aprimorar as propriedades eletroquímicas do material e sua aplicabilidade como sensor modificado. A combinação de uma matriz polimérica, como o acetato de celulose, com grafite pode propiciar o desenvolvimento de um material condutor que apresenta flexibilidade para a moldagem de eletrodos. Sendo assim, a preparação dos eletrodos é simplificada e otimizada. Os eletrodos obtidos através desse método possuem uma superfície renovável, similar aos eletrodos de pasta de carbono, porém são mais estáveis e robustos.

A proporção entre o acetato de celulose e grafite, na presença de solventes, pode influenciar diretamente as propriedades do material final. Assim, o método de preparação foi estudado com o intuito de obter um material de baixo custo, de fácil manipulação, condutivo, com boas perspectivas para determinações analíticas e possíveis modificações na superfície do eletrodo. As características eletroquímicas do material foram exploradas utilizando as técnicas de voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD) e espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). A combinação do acetato de celulose, na forma de xarope, com grafite, em pó, resultou em um material sólido que foi utilizado na preparação de um eletrodo sólido. A potencialidade eletrocatalítica do sensor foi verificada para determinação simultânea de dopamina, DP, (2-(3,4-dihidroxi-fenil)-etilamina) e ácido úrico, AU, (2,6,8-troxipurina).

## 1.1. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral desenvolver sensores eletroquímicos utilizando o biopolímero acetato de celulose como matriz para a preparação de eletrodos modificados.

Especificamente procurou-se num primeiro estudo modificar a superfície do acetato de celulose com o óxido de titânio e antimônio com posterior imobilização da espécie eletroativa p-benzoquinona na superfície da fibra do acetato de celulose. Após, foi verificada a potencialidade do material híbrido como sensor eletroquímico para determinação de ácido ascórbico bem como foram estudadas possíveis interferentes existentes no meio biológico na determinação do ácido ascórbico.

O segundo estudo consistiu no desenvolvimento de um novo método de preparação de um material sólido condutor a partir do polímero acetato de celulose e grafite em pó. O novo material compósito foi caracterizado física e quimicamente e foi avaliado como sensor eletroquímico na determinação simultânea de espécies de importância biológica.

---

*Revisão Bibliográfica*

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. ACETATO DE CELULOSE MODIFICADO COM ÓXIDOS METÁLICOS

A mistura de óxidos metálicos com biomateriais pode ser considerada como um método alternativo para a imobilização de espécies eletroativas, combinando as vantagens dos óxidos metálicos com a dos biopolímeros naturais que são biocompatíveis com meio ambiente<sup>10</sup>.

Em particular, a combinação de óxidos metálicos com um biopolímero natural pode oferecer várias vantagens como boas propriedades mecânicas, alta estabilidade química e térmica, alta condutividade e uma superfície altamente ácida devido à presença dos óxidos metálicos originando um material biodegradável, biocompatível, de baixo custo e de fácil manipulação<sup>11-20</sup>.

Entretanto, um avanço adicional se refere ao método de preparação que permite obter um material com componentes altamente dispersos e homogêneos na matriz biopolimérica que pode ser facilmente moldada em diferentes formas, tais como membranas, fibras e esferas. Esses materiais modificados são normalmente preparados através da mistura de acetato de celulose (AC) com soluções de óxidos metálicos seguido do processo de inversão de fase<sup>21,22</sup>.

Assim, vários estudos têm sido encontrados na literatura envolvendo compósitos ou híbridos de acetato de celulose com óxidos metálicos<sup>23-50</sup>. Materiais híbridos como CA/M<sub>x</sub>O<sub>y</sub> estão sendo usados em relevantes aplicações, incluindo várias combinações de acetato de celulose com óxidos metálicos como, por exemplo, as ZnO, Cu<sub>2</sub>O, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub>, Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, em processos de troca iônica<sup>22-24</sup>, processos de adsorção<sup>25-29</sup>, estudos cinéticos<sup>30</sup>, fotocatalise<sup>31-35</sup>, substratos para imobilização de enzimas<sup>36-40</sup>,

membranas semi-permeáveis<sup>41</sup>, processos de ultrafiltração<sup>42,43</sup>, processos biológicos<sup>44</sup>, baterias condutoras de próton<sup>45</sup>, e na imobilização de espécies eletroativas para a preparação de eletrodos modificados<sup>46-51</sup>.

Entretanto, no contexto da eletroanálise, o uso desses eletrodos quimicamente modificados (EQM) a partir de materiais híbridos de acetato de celulose e óxidos metálicos tem recebido pouca atenção quando comparado com outros materiais inorgânicos, como por exemplo, sílica gel, sol-gel e zeólitas<sup>52-59</sup>. Isso pode ser atribuído as inerentes desvantagens dos biomateriais tais como alta resistência, hidrofobicidade, baixa resistência térmica e baixa solubilidade em solventes comuns, que limitam suas aplicações<sup>60-62</sup>.

Essas desvantagens podem ser superadas através de uma modificação química ou física na estrutura do acetato de celulose. Nesse sentido, materiais poliméricos inorgânicos com estabilidade química e térmica podem ser substituídos por híbridos mais versáteis baseados na combinação de óxidos metálicos com acetato de celulose.

A combinação de partículas de óxidos metálicos dispersas internamente e sobre a superfície de um biopolímero inerte possibilita a preparação de eletrodos quimicamente modificados devido as suas excelentes propriedades de transferência de elétrons. O processo de inversão de fase do xarope de acetato de celulose pode promover uma mistura de poros amorfos combinados com óxidos metálicos tais como  $\text{TiO}_2/\text{Sb}_2\text{O}_5$ , na qual o  $\text{TiO}_2$  é disperso internamente e superficialmente sobre a fibra e o  $\text{Sb}_2\text{O}_5$  forma uma monocamada sobre as fibras preparada através do método de “grafting”<sup>63</sup>.

A estrutura resultante da combinação de óxidos metálicos pode ser muito diferente da estrutura desses óxidos puros. A alta densidade de sítios ácidos de Brønsted e Lewis na superfície desses óxidos binários propicia a preparação de uma série de

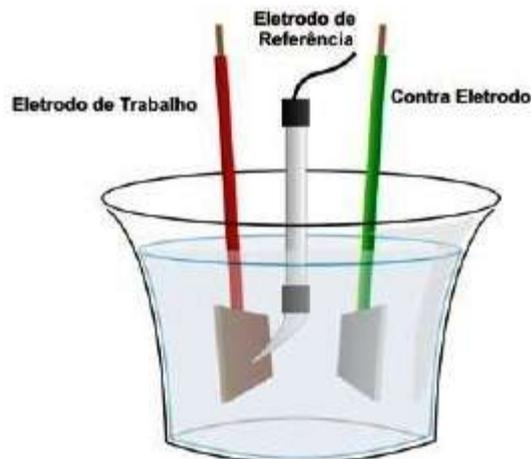
sensores eletroquímicos e biossensores que podem apresentar alta sensibilidade e seletividade<sup>64</sup>.

## **2.2. TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS**

Atualmente a eletroquímica vem se destacando como uma área de pesquisa promissora e em pleno desenvolvimento, atuando em diversas áreas, como biotecnologia, medicina, meio ambiente e ciência dos materiais. A aplicação de diferentes técnicas eletroquímicas possibilita a obtenção de informações sobre reações químicas de maneira rápida e simples.

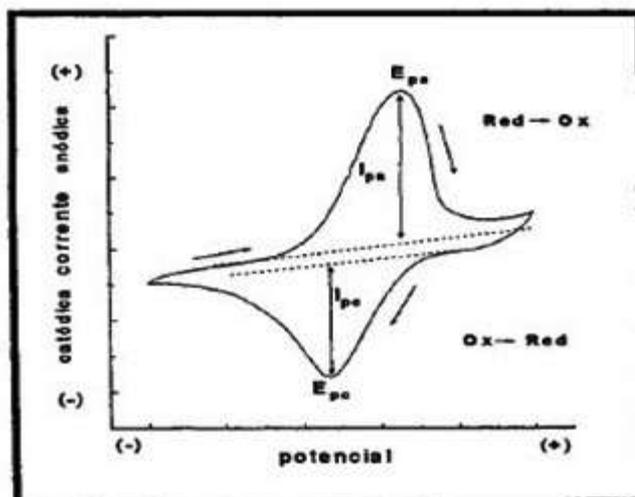
### **2.2.1. Voltametria Cíclica**

Dentre as técnicas eletroquímicas utilizadas a voltametria cíclica ganha destaque em diferentes áreas de pesquisa. A voltametria cíclica é uma ferramenta versátil e eficaz no estudo de sistemas redox, apresentando um grande destaque em eletroanálise. Esse método consiste na aplicação de um potencial variando constantemente com o tempo a um eletrodo de trabalho o que ocasiona reações de oxidação e redução<sup>65</sup>. O eletrodo de trabalho pode ser composto de diferentes materiais como carbono, ouro, prata, cobre, platina, bem como eletrodos quimicamente modificados (EQM).



**Figura 2:** Esquema de uma célula eletroquímica contendo um sistema de três eletrodos.

O voltamograma cíclico é obtido através da medida de corrente no eletrodo de trabalho durante a varredura de potencial. A corrente pode ser considerada a resposta à aplicação desse potencial, medido em relação a um eletrodo de referência, no qual não há fluxo significativo de corrente (corrente baixa), sendo que isso é evitado através do uso de potenciostatos modernos que condicionam ao eletrodo de referência uma grande impedância faradaica e dessa forma o potencial se mantém constante. Assim, o circuito é completado por um eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo, normalmente um fio de platina (Figura 3)<sup>65</sup>.



**Figura 3:** Principais parâmetros obtidos a partir de um voltamograma cíclico.

Os principais parâmetros obtidos por voltametria cíclica são apresentados na Tabela I:

**Tabela I:** Parâmetros obtidos pela técnica de voltametria cíclica:

Parâmetros	Definição
$I_{pa}$	<i>Intensidade de corrente de pico anódica</i>
$I_{pc}$	<i>Intensidade de corrente de pico catódica</i>
$E_{pa}$	<i>Potencial de pico anódico</i>
$E_{pc}$	<i>Potencial de pico catódico</i>
$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$	<i>Diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico</i>
$E_m = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2}$	<i>Potencial de pico médio</i>

Através dessa técnica é possível estudar a eletroatividade de compostos químicos e investigar o mecanismo envolvido na reação. Informações sobre a reversibilidade do sistema podem ser avaliados, como  $I_{pa}/I_{pc}$ , sendo igual a 1 quando o sistema é eletroquimicamente reversível e a separação entre os potenciais de pico é  $\Delta E_p = 59/n$  mV ( $n$  é o número de elétrons envolvidos) que se mantém constante com o aumento da velocidade de varredura.

A resposta, em intensidade de corrente, obtida durante a voltametria cíclica é decorrente do transporte de carga (na superfície do eletrodo) e do transporte de massa (na solução). Pode ocorrer ou não processo de adsorção de espécies na superfície do eletrodo.

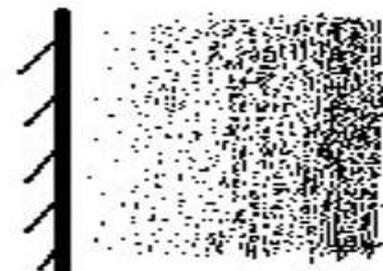
O transporte de massa corresponde aos efeitos de difusão, migração e convecção. Em uma reação eletroquímica o foco central está na difusão do analito da solução até a superfície do eletrodo.

O transporte de massa por migração é produzido pelo efeito de atração e repulsão de espécies carregadas existentes na solução que o eletrodo de trabalho exerce imerso no eletrólito (efeito de um campo elétrico). O efeito da migração pode ser controlado através da presença de um eletrólito suporte inerte e com concentração 100 vezes maior que a espécie eletroativa.

A convecção é o movimento forçado das espécies em solução causado por uma perturbação mecânica e pode ser controlado simplesmente através do término da agitação.

Controlando-se a migração e a convecção através do ajuste das condições experimentais a resposta do eletrodo é condicionada à difusão. A difusão é produzida pelo movimento natural de partículas carregadas e neutras à superfície do eletrodo sem

o efeito de um campo elétrico. A velocidade dessa difusão depende do gradiente de concentração na unidade de tempo.



**Figura 4:** Representação do gradiente de concentração na superfície do eletrodo.

Esse fenômeno pode ser descrito pela primeira Lei de Fick:

$$J = -D \frac{\partial c}{\partial x} \quad (1)$$

onde  $J$  é o fluxo de espécies,  $\partial c/\partial x$  é o gradiente de concentração na direção  $x$  e  $D$  é a constante de proporcionalidade conhecida por coeficiente de difusão. Em soluções aquosas os valores típicos esperados variam entre  $10^{-5}$  e  $10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ .

A segunda Lei de Fick engloba a difusão em relação ao tempo:

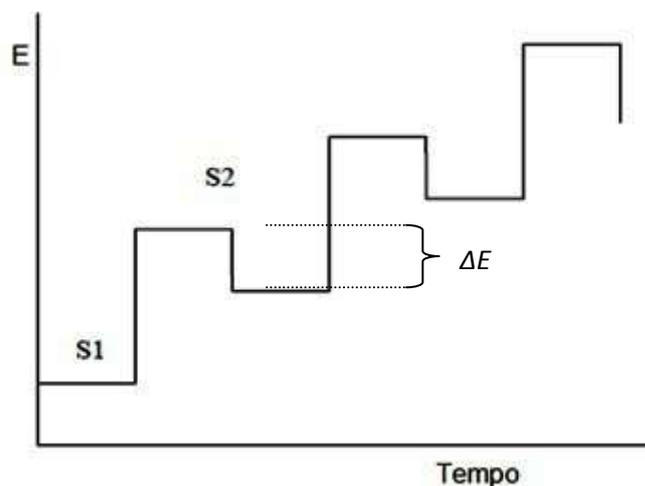
$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (2)$$

Simultaneamente a esse processo, ocorre a formação da dupla camada elétrica que resulta em uma corrente capacitiva observada no voltamograma<sup>65</sup>. Assim, o uso da voltametria cíclica para a quantificação de espécies analíticas em baixas concentrações

se torna injustificável, pois a corrente faradaica sofre uma grande contribuição da corrente capacitiva.

### 2.2.2. Voltametria de Pulso Diferencial

A voltametria de pulso diferencial consiste na aplicação de pulsos de amplitude constantes sendo que o potencial é aumentado durante esses impulsos. A corrente é medida antes da aplicação do impulso, S1, e no fim do impulso, S2, onde a corrente registrada é a diferença entre essas duas correntes (Figura 4)<sup>65</sup>. Assim, a VPD apresenta uma alta sensibilidade e seletividade devido ao fato da corrente capacitiva ser praticamente desprezível. O voltamograma resultante consiste de correntes de pico de forma gaussiana.



**Figura 5:** Sinais de excitação para a voltametria de pulso diferencial.

### 2.2.3. Cronoamperometria

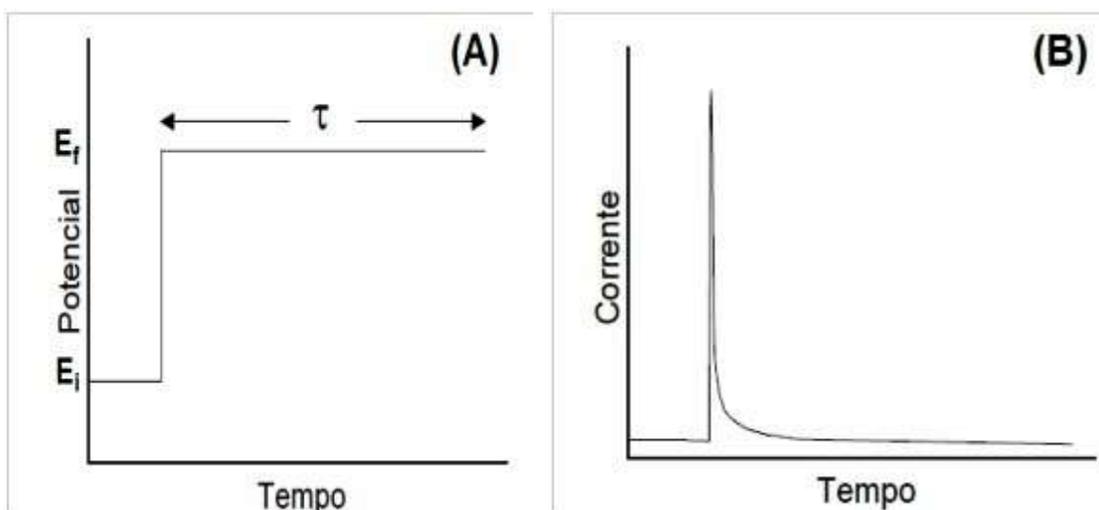
A cronoamperometria consiste na aplicação de um potencial constante ao eletrodo de trabalho e a corrente que flui através do eletrodo é monitorada com o tempo. Esse fluxo de corrente pode ser relacionado ao gradiente de concentração das espécies em solução à superfície do eletrodo por meio da equação de Cottrell<sup>65</sup>:

$$I = n F A D^{1/2} C_s \pi^{-1/2} t^{-1/2} \quad (3)$$

onde  $I$  é a corrente medida com o tempo, em um eletrodo de trabalho de área  $A$ , que é diretamente proporcional a concentração de espécies no eletrólito,  $C_s$ ,  $F$  é a constante de Faraday,  $D$  é o coeficiente de difusão e  $n$  o número de elétrons envolvidos na reação redox.

A cronoamperometria é uma técnica muito utilizada em eletroanálise devido ao fato de produzir uma corrente capacitiva muito baixa. Nesse caso, a resposta é obtida pela aplicação de um único degrau de potencial produzindo uma corrente que decai rapidamente com o tempo, Figura 6. A diferença entre a corrente produzida pelo analito e a corrente produzida pelo eletrólito deve ser proporcional à concentração da espécie de interesse. Através das técnicas voltamétricas é possível determinar o potencial de oxidação ou redução a ser usado para a análise cronoamperométrica.

Nesse sentido a técnica apresenta uma maior sensibilidade do que as técnicas voltamétricas propiciando a análise em baixas concentrações<sup>66</sup>.

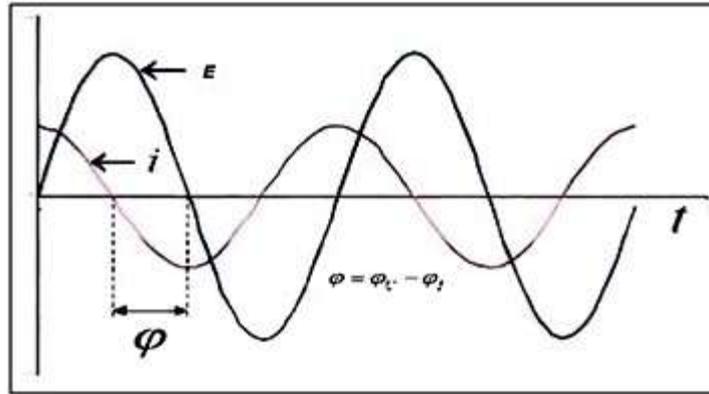


**Figura 6:** (A) Aplicação do pulso de potencial e (B) resposta da corrente em relação ao tempo<sup>66</sup>.

#### 2.2.4. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)

A técnica de EIE proporciona informações sobre as diferentes constantes de tempo associadas aos processos eletroquímicos que ocorrem na interface eletrodo/solução. A técnica consiste em aplicar um potencial de corrente alternada com diferentes valores de frequência, Figura 7.

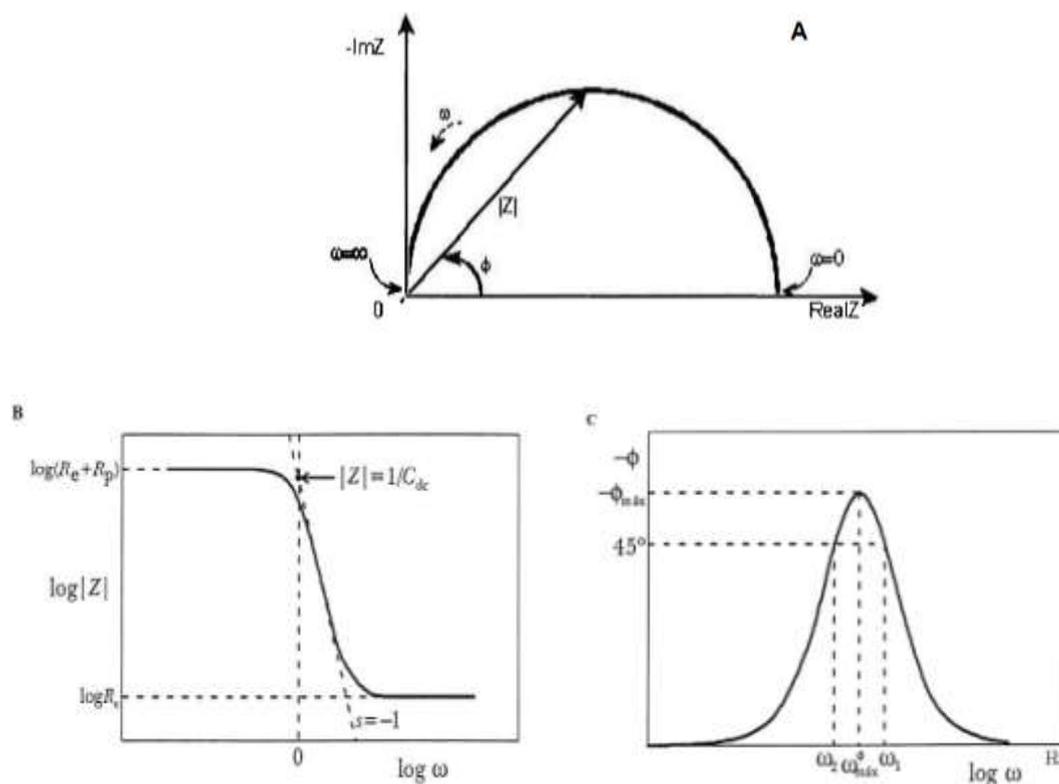
Informações sobre a resistência à transferência de carga que o eletrodo de trabalho apresenta imerso na solução e sobre processos de transferência de carga que ocorrem na interface metal/solução podem ser avaliados.



**Figura 7:** Corrente alternada ( $i$ ), tensão alternada ( $E$ ), com a frequência em relação ao tempo.

Na Figura 8, é apresentado um gráfico genérico de uma medida de espectroscopia de impedância eletroquímica, onde (A) Diagrama de Nyquist, (B) Diagrama de Bode com representação do  $\log |Z|$  vs o  $\log f$  e (C) Diagrama de Bode com representação  $\log |Z|$  vs  $\log f$  e ângulo de fase vs  $\log f$ . Onde  $Z = \sqrt{(Z_{real})^2 + (Z_{im})^2}$

67.



**Figura 8:** Representação de um gráfico de EIE onde: (A) Diagrama de Nyquist, (B) Diagrama de Bode com representação do  $\log |Z|$  vs o  $\log \omega$  (ou  $\log$  de  $f$ ) e (C) Diagrama de Bode com representação ângulo  $\theta$  vs  $\log \omega$ .

## 2.3. BIOMOLÉCULAS ORGÂNICAS

### 2.3.1. Ácido Ascórbico

O desenvolvimento de análises efetivas de biomoléculas que proporcionem seletividade, sensibilidade e rapidez são importantes no diagnóstico e tratamento de várias doenças<sup>68</sup>.

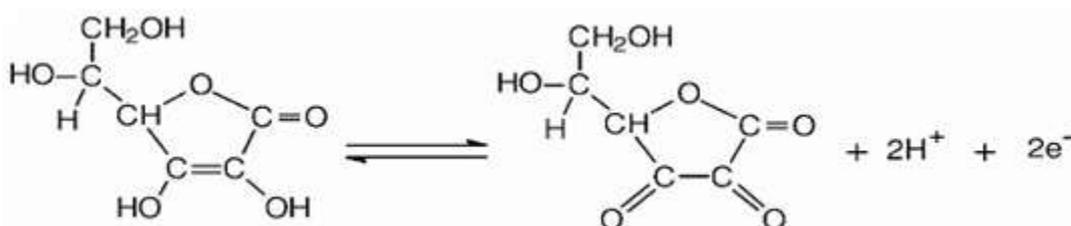
A biomolécula, ácido ascórbico,  $H_2AA$ , é conhecida como vitamina C, possuindo importância vital no funcionamento do corpo humano. Sua deficiência pode

desencadear vários tipos de doenças e infecções. A dose diária recomendada é aproximadamente de 70 a 90 mg para adultos<sup>69</sup>.

Essa biomolécula, H<sub>2</sub>AA, participa de algumas reações biológicas. Estudos clínicos tem demonstrado que a quantidade de ácido ascórbico presente em fluídos celulares pode ser usada para se avaliar o estresse de oxidação no metabolismo humano, sendo que o excesso de estresse oxidativo pode levar ao câncer, diabetes e doenças hepáticas<sup>70</sup>.

O ácido ascórbico participa do desenvolvimento celular, na cicatrização de ferimentos e queimaduras, na síntese de colágeno, vasos sanguíneos, ossos e tendões. Sua ação é fundamental em processos terapêuticos que desaceleram e previnem o envelhecimento, doenças mentais, infertilidade, câncer e AIDS. É consumido em grande escala como agente antioxidante em alimentos, sucos, vegetais e frutas<sup>71</sup>.

Os métodos eletroquímicos possuem um grande potencial para a determinação de ácido ascórbico principalmente por apresentarem alta sensibilidade, simplicidade e baixo custo. Entretanto, a oxidação direta sobre eletrodos convencionais é irreversível e produz ácido 2,3-diquetoglucônico que pode ser absorvido na superfície do eletrodo resultando em um alto sobrepotencial para oxidação de H<sub>2</sub>AA. Além disso, a oxidação eletroquímica de H<sub>2</sub>AA pode ocorrer no mesmo potencial que outras espécies como ácido úrico (AU) e dopamina (DP) resultando em uma sobreposição de picos.

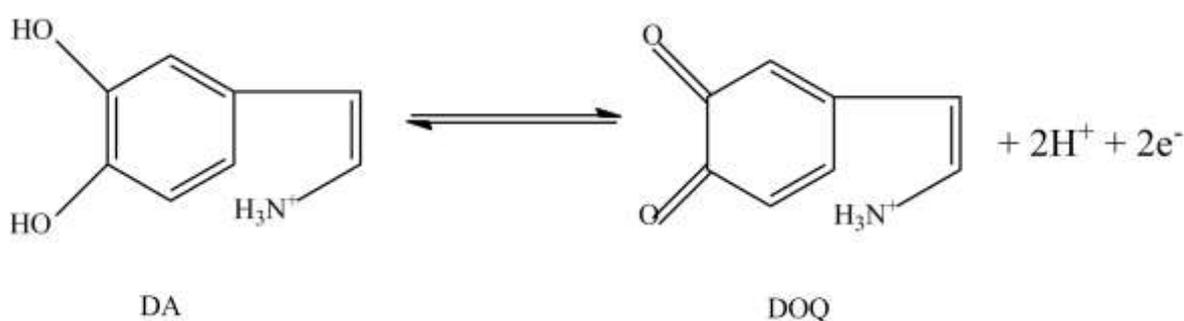


**Figura 9:** Processo redox do ácido ascórbico.

### 2.3.2. Dopamina

A dopamina (DP) é uma importante catecolamina que está envolvida na neurotransmissão no sistema nervoso central e possui uma importante função no metabolismo humano, cardiovascular, renal e sistema hormonal. Em um humano saudável a DP é encontrada no cérebro ( $\sim 50 \text{ nmol g}^{-1}$ ) e em fluídos extracelulares ( $0,01 - 1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Níveis anormais são associados com a doença de Parkinson, Alzheimer, distorção na atenção e hiperatividade e esquizofrenia. Devido a sua importância clínica um grande número de métodos têm sido estudados para detecção de DP buscando promover rapidez, sensibilidade e seletividade, como, por exemplo, eletroforese capilar, espectrofluorometria, quimiluminescência e espectroscopia de massas. Esses métodos geralmente são demorados e requerem um alto grau de instrumentação<sup>72,73</sup>.

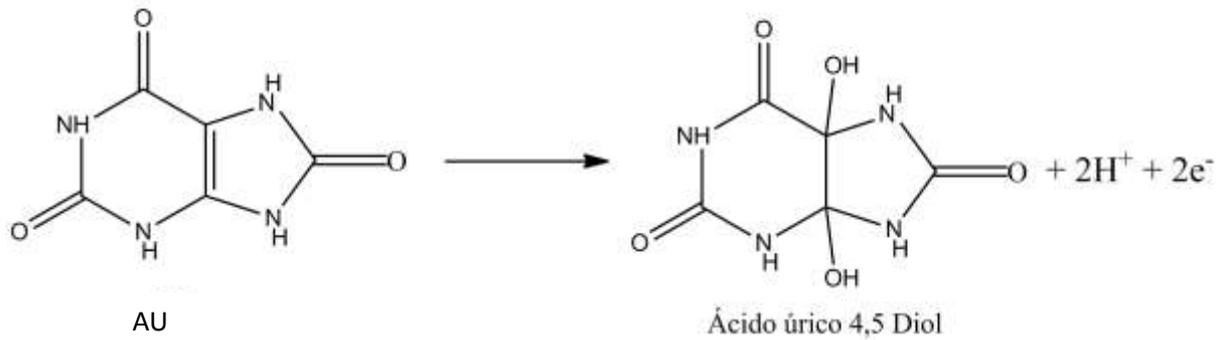
Nesse sentido, métodos simples e rápidos para quantificar dopamina em análises rotineiras para diagnóstico neurológico e aplicações farmacêuticas, vem sendo desenvolvidos<sup>74</sup>.



**Figura 10:** Processo redox da dopamina.

### 2.3.2. Ácido Úrico

Ácido úrico, AU, é um produto primário produzido no metabolismo do corpo humano. Concentrações anormais podem levar a diversas doenças tais como gota, doenças cardiovasculares e esclerose múltipla<sup>75</sup>.



**Figura 11:** Processo redox do ácido úrico.

---

*Preparação e comportamento eletroquímico do  
compósito CATiSb modificado com p-benzoquinona*

### **3. PREPARAÇÃO E COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO MATERIAL HÍBRIDO CATiSb MODIFICADO COM p-BENZOQUINONA**

#### **3.1. PARTE EXPERIMENTAL**

##### **3.1.1. Preparação do material CATiSb:**

O material híbrido acetato de celulose modificado com óxido de titânio (CATi) foi preparado de acordo com o método de inversão de fase descrito na literatura<sup>76</sup>. Foram dissolvidos 10 g de acetato de celulose em 50,0 mL de acetona e 40,0 mL de ácido acético ocorrendo à formação de um xarope. A esse xarope foram adicionados 7,0 mL de butóxido de titânio IV durante o processo de inversão de fase, processo no qual o xarope é adicionado a uma grande quantidade de água, sob agitação ocorrendo a formação do material CATi. Esse material foi adicionado a 300 mL de uma solução ácida contendo 1 g de pentacloreto de antimônio ocorrendo a formação do material CATiSb com característica fibrosa. O material obtido foi lavado com ácido nítrico 1,0 mol L<sup>-1</sup> e água deionizada após foi filtrado, seco à 60 °C por 3 h.

### **3.1.2. Imobilização da p-benzoquinona na matriz CATiSb:**

Foi dissolvido  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de p-benzoquinona em 10 mL de isopropanol. À solução foi adicionado 0,5 g de CATiSb e a mistura foi agitada por 30 minutos. O solvente foi evaporado em temperatura ambiente por três dias e o sólido final obteve uma coloração amarelada clara e fibrosa.

### **3.1.3. Preparação do tampão Britton-Robinson (B-R):**

Foi preparada uma solução contendo  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ),  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ),  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido acético e  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de cloreto de potássio (KCl). A faixa de pH pode ser compreendida entre 2 -12, sendo considerado um tampão universal.

### **3.1.4. Microscopia eletrônica de varredura – MEV**

O material CATiSb foi depositado sobre uma fita de carbono condutora de dupla face aderida a um suporte de alumínio. As amostras foram recobertas com um filme condutor de ouro em um Baltec SCD 050 Sputter Coater. As micrografias por microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram feitas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL, modelo JSM 5800, equipado com microssonda de energia dispersa de elétrons (EDS).

### **3.1.5. Espectroscopia fotoeletrônica de raios-X**

A espectroscopia fotoeletrônica de raios-X foi realizada em um equipamento Station Omicron-SHERA usando Al K $\alpha$  radiação (1486.6 eV). O ânodo foi operado em 225 W (15 kV, 15 mA). O espectro foi obtido com uma energia acima de 50 eV. As regiões 3d e 2p do Ti foram registradas com alta resolução (energia acima de 20 eV). A detecção do ângulo de fotoelétrons ( $\Theta$ ) na superfície da amostra foi fixado em 53° para todas as medições. O sinal do C 1s para os prováveis carbonos foi usada com uma energia interna de referência de 285 eV. Todos os espectros foram filtrados assumindo a base Shirley. As linhas correspondem ao ajuste das funções de 70 % Gaussiana e + 30 % Lorentziana com um conjunto de valores de toda amplitude e o meio máximo de cada linha.

### **3.1.6. Medições eletroquímicas:**

Os eletrodos de pasta de carbono dos materiais CATiSb e CATiSbBQ foram preparados pela mistura de grafite de grau analítico (Fluka, grau 99,9%) na proporção 1:1 (m/m) utilizando uma gota de óleo mineral (Nujol), resultando em uma pasta homogênea com massa de aproximadamente 20 mg. O material CATiSbBQ foi macerado e após o grafite foi apenas misturado com uma espátula de metal com o óleo mineral. A pasta foi colocada dentro de uma cavidade na extremidade de um tubo de vidro cuja profundidade é de 0,2 cm e que possui internamente um disco de platina, selado para contato elétrico, com 3 mm de diâmetro interno.

A pasta de carbono contendo o material preparado foi utilizada como eletrodo de trabalho, um fio de platina como contra-eletrodo e eletrodo de calomelano saturado

(ECS) como eletrodo de referência. Os estudos voltamétricos e amperométricos foram realizados em um potenciostato-galvanostato da Iviumstat interfaciado a um microcomputador para controle de potencial, aquisição e tratamento de dados.

A célula eletroquímica de trabalho continha 20 mL de solução de tampão Britton-Robinson. O pH do tampão foi ajustado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) e ácido clorídrico (HCl) de acordo com a faixa de pH desejada. Os experimentos foram realizados na presença de argônio e sob agitação.

As propriedades eletrocatalíticas do eletrodo modificado de pasta de carbono CATiSbBQ foram testadas utilizando-se ácido ascórbico como analito. Tal solução foi preparada no mesmo dia em que foi utilizada e lacrada com plástico preto para evitar a oxidação do ácido ascórbico.

A célula eletroquímica foi revestida com um plástico preto para evitar a oxidação do analito não permitindo a entrada de luz.

### **3.1.7. Determinação de ácido ascórbico (H<sub>2</sub>AA):**

#### **3.1.7.1. Obtenção da curva de calibração para H<sub>2</sub>AA por voltametria de pulso diferencial**

A resposta do eletrodo modificado CATiSbBQ para ácido ascórbico foi testada utilizando-se a técnica de voltametria de pulso diferencial. Para a obtenção da curva de calibração foi preparada uma solução-mãe de ácido ascórbico  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Na célula eletroquímica, contendo 20 mL de tampão B-R pH 7,0 em atmosfera de argônio, foram adicionadas sucessivas alíquotas de 2  $\mu\text{L}$  da solução-mãe, com uma amplitude de 50 mV e uma velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ . A curva de calibração obtida foi

utilizada para a determinação de ácido ascórbico em pastilhas de vitamina C (1g/tablete). As soluções foram preparadas na mesma hora do experimento, acondicionadas em um frasco escuro para evitar contato com a luz e o ar.

### **3.1.7.2. Determinação de H<sub>2</sub>AA em pastilhas de Vitamina C (1g/tablete)**

Uma pastilha (~1g) foi dissolvida em água destilada e completou-se o volume a 500 mL (solução A). Dessa solução A retirou-se uma alíquota de 10 mL e completou-se o volume a 100 mL (solução B). A resposta do eletrodo foi obtida por voltametria de pulso diferencial adicionando-se 10 µL da solução B na célula contendo 20 mL de tampão B-R pH 7,0, em atmosfera de argônio com uma amplitude de 50 mV e uma velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>. As soluções foram preparadas na mesma hora do experimento.

### **3.1.8. Estudo cinético**

Estudamos a cinética da reação envolvendo a oxidação do ácido ascórbico através da técnica de detecção amperométrica. Foram adicionados sucessivas alíquotas de 30 µL de ácido ascórbico 1,0 x 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>, sob agitação e atmosfera de argônio.

### **3.1.9. Estudo de Interferentes**

Os interferentes na reação de oxidação do ácido ascórbico foram estudados por voltametria de pulso diferencial. Na célula eletroquímica foi adicionado 20 mL de tampão Britton-Robinson (B-R) 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. Na solução foi borbulhado argônio

por 5 minutos e a cela foi tampada para evitar o contato com a luz. As soluções foram preparadas na mesma hora do experimento, acondicionadas em um frasco escuro e tampadas para evitar o contato com a luz e o ar.

Ácido ascórbico e ácido úrico: na célula eletroquímica foram adicionados 1,0 mL de ácido ascórbico  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e após sucessivas adições de 10  $\mu\text{L}$  de ácido úrico  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ .

Ácido ascórbico e dopamina: na célula eletroquímica contendo 20 mL de tampão B-R pH 5,0 foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de ácido ascórbico e após sucessivas adições 20  $\mu\text{L}$  de dopamina  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  sob agitação e atmosfera de argônio. Na solução foi borbulhado argônio por 5 minutos e a cela foi tampada para evitar o contato com a luz.

Ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico: na cela eletroquímica contendo 20 mL de tampão B-R pH 5,0 foram adicionados 1 mL de ácido ascórbico  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , 400  $\mu\text{L}$  de dopamina  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e 180  $\mu\text{L}$  de ácido úrico sob agitação

Ácido ascórbico e glicose: na cela eletroquímica contendo 20 mL de tampão B-R pH 7,0 foram adicionados 1,0 mL de ácido ascórbico  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e após 7 adições de 20  $\mu\text{L}$  de glicose  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e uma adição de 60  $\mu\text{L}$  de glicose  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  sob agitação e atmosfera de argônio.

Ácido ascórbico e NADH: Na cela eletroquímica contendo 20 mL de tampão B-R pH 7,0 foram adicionados 1,0 mL de ácido ascórbico  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e após 6 adições de 50  $\mu\text{L}$  de NaDH  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  sob agitação e atmosfera de argônio.

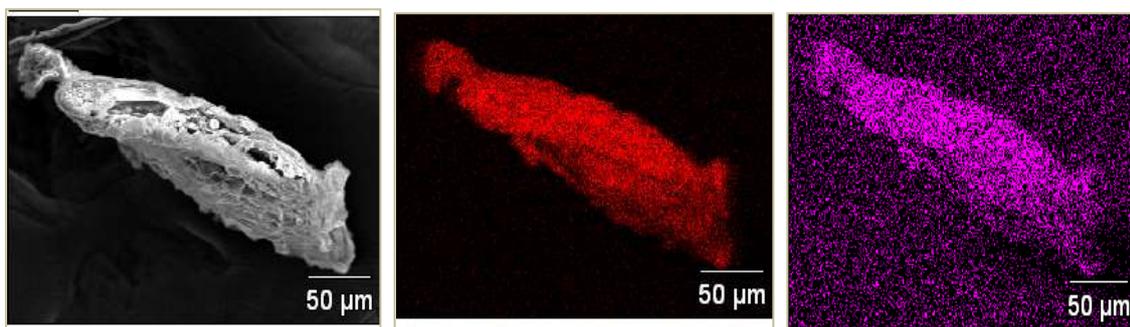
## **3.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **3.2.1. Dispersão de $\text{TiO}_2$ e $\text{Sb}_2\text{O}_5$ na superfície da fibra de acetato de celulose**

A morfologia do material CATiSb foi avaliada através da microscopia eletrônica de varredura. A dispersão dos óxidos de titânio e antimônio pode ser observada na Figura 12(A). Podemos observar que nessa magnitude os óxidos estão dispersos em toda a superfície da fibra de acetato de celulose. Entretanto, o material apresenta cavidades na superfície da fibra que provavelmente são decorrentes de um forte ataque ácido. Após a incorporação do  $\text{Sb}_2\text{Cl}_5$  no material CATi ocorreu a formação de densas camadas de óxido hidratado formado por hidrólise. Por análise EDS apresentada na Figura 12(B) foi observado uma grande quantidade de titânio e antimônio na superfície do acetato de celulose. A composição percentual de  $\text{TiO}_2$  e  $\text{Sb}_2\text{O}_5$  foi de 15,6 % e 3,0 % respectivamente.

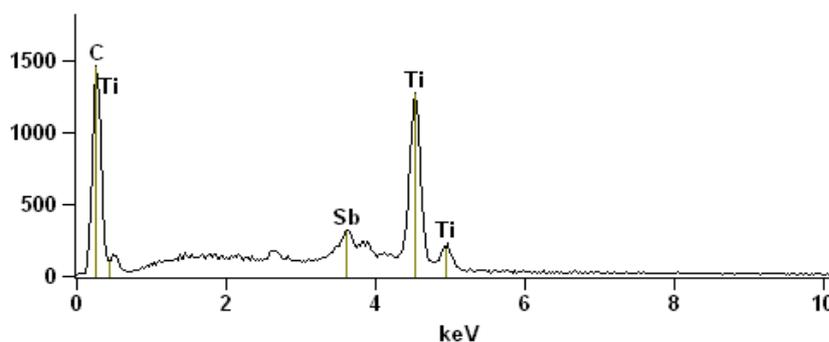
(A) SEM

(B) EDS



15,6 % de  $\text{TiO}_2$

3,0 %  $\text{Sb}_2\text{O}_5$

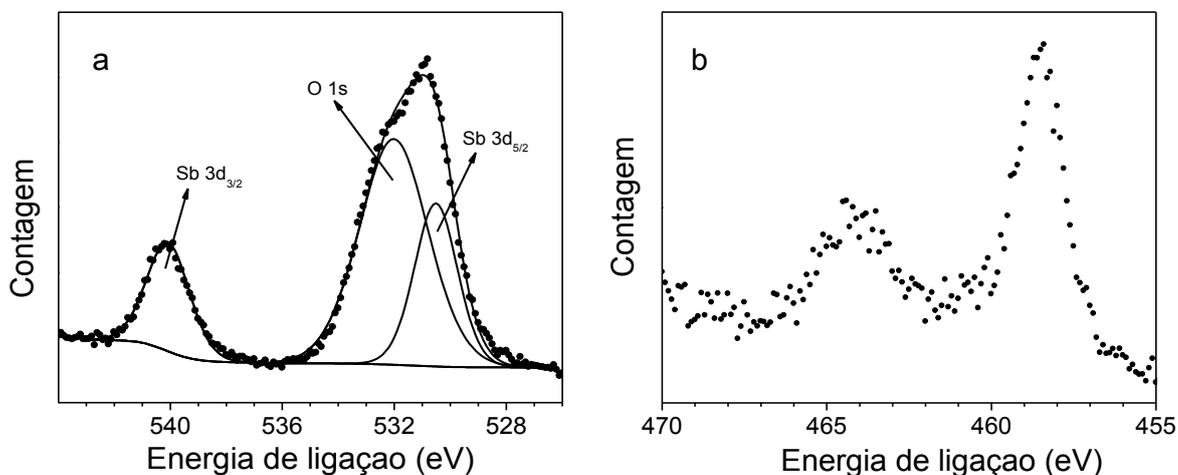


**Figura 12:** Micrografias para o material CATi. (A) MEV, (B) EDS.

### 3.2.2. Espectroscopia fotoeletrônica de raios-X

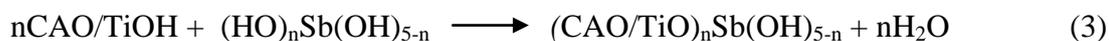
A Figura 13(a) mostra o espectro XPS do para o antimônio, Sb região 3d obtida para o material CATiSb. Podemos observar que as energias de ligação encontradas para o antimônio  $\text{Sb}_{3/2}$  e para o  $\text{Sb}_{5/2}$  correspondem a 540,07 e 530,55 eV, respectivamente. Essas energias foram comparadas as energias de ligação do antimônio ligado ao oxigênio do óxido de antimônio,  $\text{Sb}_2\text{O}_5$  sendo a mesma energia encontrada na literatura. Na Figura 13(b) podemos observar a energia de ligação para o Ti  $2p_{3/2}$  que corresponde

a 458,5 eV, sendo um valor igual ao encontrado na literatura para a energia de ligação do titânio ligado ao oxigênio do óxido de titânio,  $\text{TiO}_2$ <sup>76,77</sup>.



**Figura 13:** Espectro XPS para o material CATiSb (a) para o nível 3d do Sb e (b) para o nível 2p do Ti.

A dispersão do  $\text{TiO}_2$  na superfície do acetato de celulose e a incorporação do  $\text{Sb}_2\text{O}_5$  na superfície da matriz pode ser descrita de acordo com a seguinte equação baseada na formação da fase antimonato de titânio:

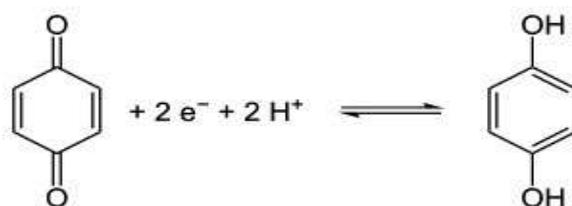


A quantidade de  $\text{TiO}_2$  e  $\text{Sb}_2\text{O}_5$  incorporadas na matriz de acetato de celulose foi determinada por fluorescência de raios-X sendo 10,1 wt. % ( $1,3 \text{ mmol g}^{-1}$ ) e 3,0 wt. % ( $0,3 \text{ mmol g}^{-1}$ )  $\text{Sb}_2\text{O}_5$ .

Na superfície dessa matriz, CATiSb, foi imobilizada a p-benzoquinona (p-BQ). A reação de imobilização da p-BQ na superfície da fibra pode ocorrer por reação de troca iônica, representada pela seguinte reação:



A molécula de p-BQ é um ciclo com seis carbonos, não-aromático, correspondendo a forma não oxidada da hidroquinona que apresenta propriedades redox, sendo que na reação estão envolvidos dois elétrons e dois prótons, o que é representado na Figura 14:



**Figura 14:** Representação esquemática do processo redox da p-BQ.

A quantidade do mediador imobilizado na superfície do CATiSb foi calculada aplicando-se a equação:

$$q = \frac{(C_0 - C_e)}{m} \cdot V \quad (5)$$

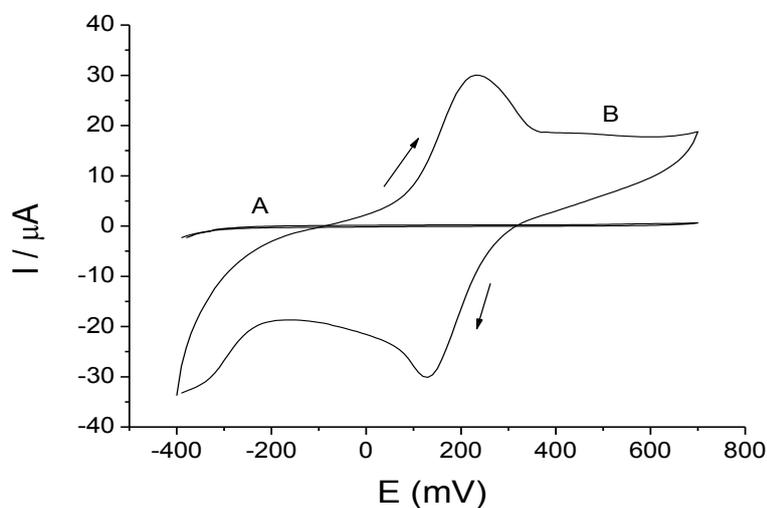
onde q é a quantidade de p-benzoquinona imobilizada na superfície do CATiSb ( $\text{mg g}^{-1}$ );  $C_0$  é a concentração inicial de BQ contida no material CATiSb ( $\text{mg L}^{-1}$ ),  $C_e$  é a concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de BQ na solução após o processo de agitação do material em

solução de BQ,  $m$  é a massa do material CATiSb (g) e  $V$  é o volume da solução de p-benzoquinona que foi colocada em contato com o material CATiSb. A quantidade de BQ adsorvida pelo material foi determinada por espectroscopia ultravioleta, resultando em  $21,6 \pm 0,4 \text{ mg g}^{-1}$ .

### 3.2.3. Estudos eletroquímicos

A Figura 15 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos usando um eletrodo modificado de eletrodo de pasta de carbono em tampão B-R (pH 7,0) em uma velocidade de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , curva A é o branco e, curva B, para p-benzoquinona adsorvida na superfície. Os voltamogramas resultantes do eletrodo não modificado revelam uma baixa corrente e nenhum pico na janela de potencial estudada (-0,4 e 0,7 V versus SCE) foi observado, indicando que não ocorre processo redox na superfície do eletrodo. Entretanto usando o eletrodo modificado com CATiSbBQ ocorre um aumento de corrente e são observados picos anódico e catódico bem definidos. O potencial médio  $E_m$ ,  $E_m = (E_{pa} + E_{pc})/2$ , onde  $E_{pa}$  é o potencial de pico anódico, 234 mV, e  $E_{pc}$  é o potencial de pico catódico, 128 mV, foi de 180,5 mV para CATiSbBQ. Esse comportamento sugere uma forte interação entre a p-benzoquinona e a matriz CATiBb na forma reduzida. Uma possível explicação para esse comportamento pode ser atribuído a forte atração eletrostática envolvendo os átomos de oxigênio presentes nas moléculas da p-benzoquinona com os óxidos metálicos dispersos em toda a superfície do acetato de celulose. Os experimentos mostraram uma separação entre os potenciais de picos,  $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 98 \text{ mV}$ , maior que o valor  $59/n \text{ mV}$  esperado para um sistema reversível. Esse resultado pode estar relacionado ao potencial redox de 2 elétrons, com limitação cinética. Foi observado uma corrente de pico anódico ( $I_{pa}$ ) de

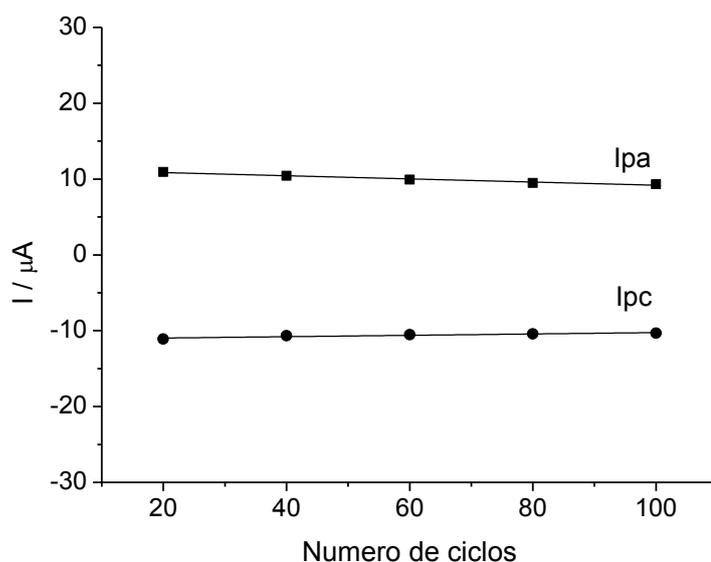
30,3  $\mu\text{A}$  e uma corrente de pico catódica de 30,0  $\mu\text{A}$ , sendo assim, para  $[I_{pa}/I_{pc}]$  foi obtido 1,08, descrevendo um sistema eletroquímico com um comportamento quase-reversível. Através da integração dos picos voltamétricos e considerando que a área geométrica do eletrodo é 0,28  $\text{cm}^2$  e assumindo que dois elétrons estão envolvidos no processo redox a superfície a quantidade de espécies eletroativas, BQ,  $\Gamma$ , na superfície do eletrodo foi de  $7,95 \times 10^{-9} \text{ mol cm}^{-2}$ . Sendo que  $\Gamma = Q/nFA$ , onde  $n = 2$  elétrons envolvidos na reação.



**Figura 15:** Voltamogramas cíclicos do eletrodo CATiSb (A) e do eletrodo modificado CATiSbBQ (B). Tampão Britton-Robinson 1,0  $\text{mol L}^{-1}$  pH 7,0 e velocidade de varredura 20  $\text{mV s}^{-1}$ .

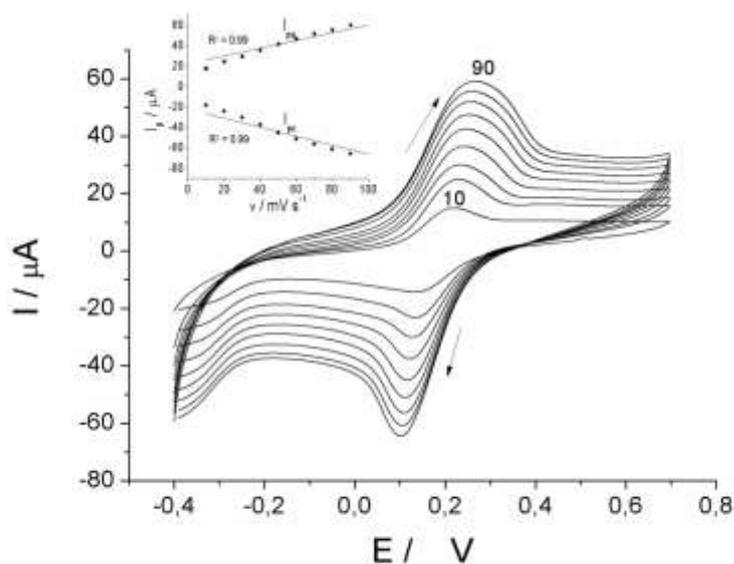
A estabilidade do eletrodo de trabalho foi testada medindo-se os valores das correntes anódica e catódica em função do número de ciclos. Os resultados mostram que nenhuma variação significativa após 100 ciclos redox (Figura 16). As intensidades de corrente de pico permaneceram praticamente constantes. Isso indica que a p-benzoquinona está fortemente adsorvida a superfície do eletrodo não ocorrendo

lixiviação ou decomposição durante o experimento conforme o comportamento descrito na Equação (4). A estabilidade observada para o eletrodo modificado CATiSbBQ indica que podemos utilizá-lo como sensor eletroquímico.



**Figura 16:** Estabilidade química do eletrodo CATiSbBQ após 100 ciclos redox. Tampão Britton-Robinson 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 e velocidade de varredura 20 mV s<sup>-1</sup>.

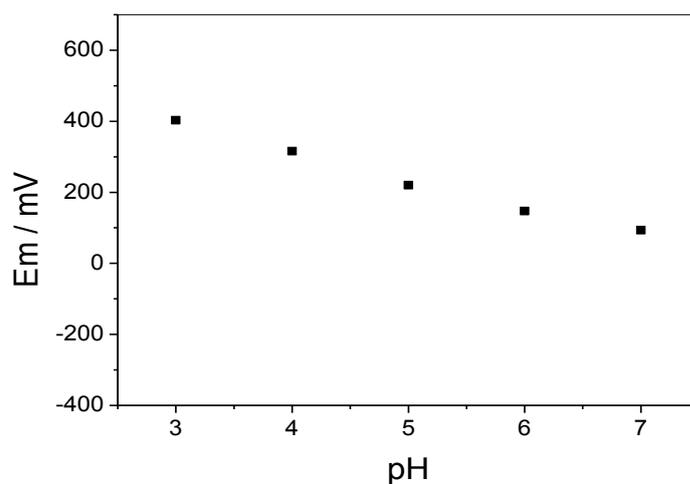
A Figura 17 apresenta o estudo de velocidade de varredura para o eletrodo modificado CATiSbBQ. O gráfico inserido apresenta a relação entre as intensidades de corrente de pico anódica e catódica relacionadas *versus* a velocidade de varredura, onde obtemos uma correlação linear ( $r = 0,99$  e  $0,99$ ) que é esperada para espécies redox confinadas na superfície do eletrodo<sup>78</sup>. Entretanto a separação entre os potenciais de picos,  $\Delta E_p$ , foi aproximadamente 135 mV o que consiste em uma cinética de transferência eletrônica quase-reversível.



**Figura 17:** Voltamogramas cíclicos típicos do eletrodo CATiSbBQ obtido entre 10 – 90  $\text{mV s}^{-1}$ . Gráfico inserido: relação entre as intensidades de pico anódica e catódica *versus* a velocidade de varredura.

### 3.2.4. Estudo do pH

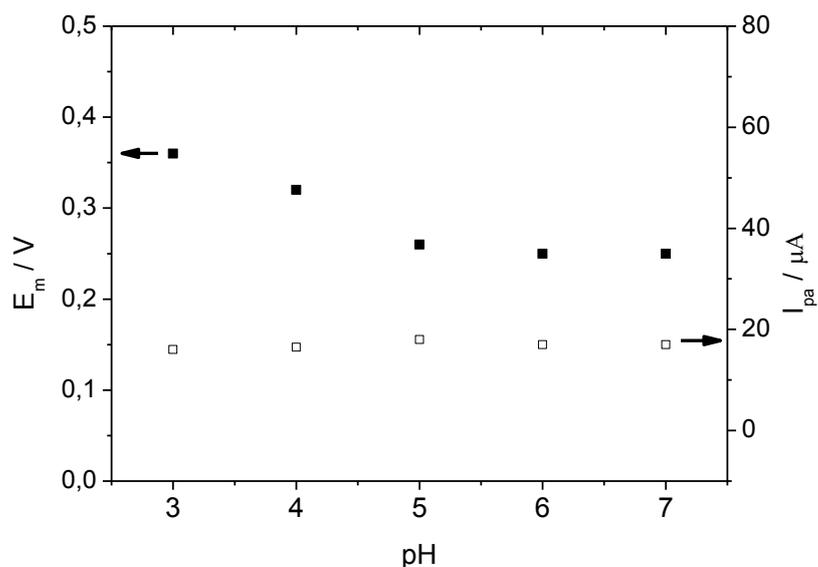
O efeito do pH na resposta do eletrodo foi investigado para o sensor CATiSbBQ. A resposta do eletrodo modificado foi investigada na faixa de pH entre 3,0 a 7,0, usando o tampão B-R como eletrólito suporte, sendo que o potencial médio,  $E_m = (E_{pa} + E_{pc})/2$ , apresentou um comportamento independente entre os pH's 7,0 e 6,0. Entre os pH's 5 a 3 há um deslocamento para valores mais positivos. Isso pode ser atribuído à acidez que a matriz apresenta. O estudo do pH se concentra na faixa de 3 – 7 para prevenir uma possível degradação do acetato de celulose.



**Figura 18:** Dependência entre o  $E_m$  e o pH para o CATiSbBQ em tampão Britton-Robinson e velocidade de varredura  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

### 3.2.5. Efeito do pH na oxidação do ácido ascórbico

O efeito do pH na oxidação do ácido ascórbico foi investigado em uma faixa de pH de 3,0 a 7,0 na presença de  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{AA}$ . Podemos observar na Figura 19 que a intensidade de pico anódica,  $I_{pa}$ , bem como o potencial médio,  $E_m$ , se mantiveram praticamente constantes entre os pH's 5,0 a 7,0. Então, as medições experimentais foram realizadas em pH 7,0.



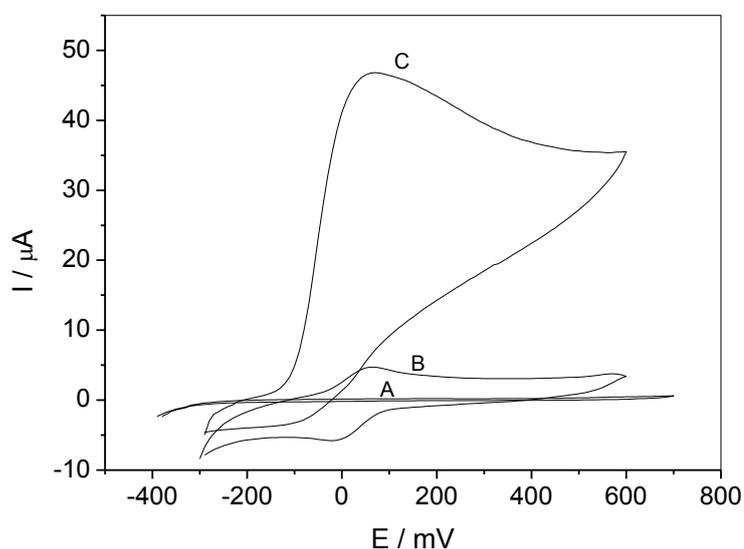
**Figura 19:** Influência do pH nas correntes de pico anódico e potencial médio para o eletrodo CATiSbBQ em tampão B-R, velocidade de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$  e concentração de  $\text{H}_2\text{AA}$  de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .

### 3.2.6. Estudo da oxidação do ácido ascórbico

#### 3.3.6.1. Voltametria cíclica (VC)

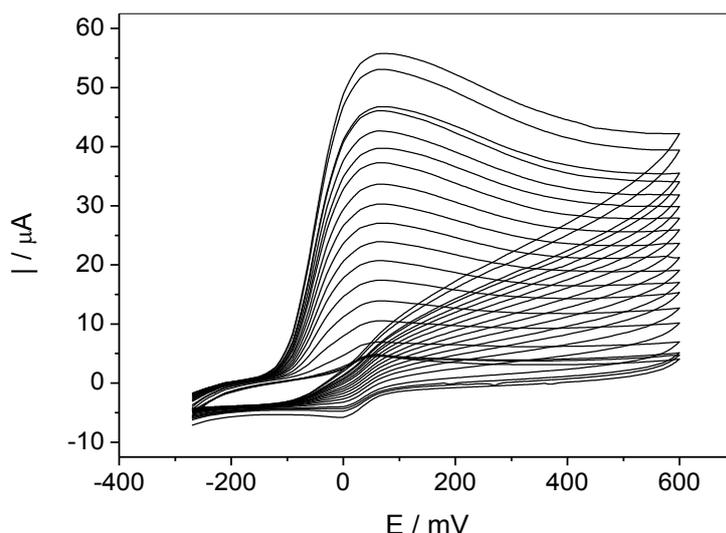
Com o objetivo de estudar a atividade eletroanalítica do eletrodo modificado CATiSbBQ, foram realizados estudos utilizando ácido ascórbico  $\text{H}_2\text{AA}$  como analito. O ácido ascórbico apresenta um potencial redox  $E^\circ = 54 \text{ mV}$ , entretanto sua oxidação eletroquímica ocorre em altos sobrepotenciais, sofrendo, dessa forma, a interferência de outras espécies oxidáveis existentes em amostras biológicas. Nesse trabalho, verificamos a potencialidade do sensor modificado na eletrooxidação do ácido ascórbico por voltametria cíclica, cronoamperometria e voltametria de pulso diferencial.

A Figura 20, curva A, não apresenta picos de oxidação e redução relevantes para o eletrodo CATiSb. A curva B apresenta o voltamograma obtido para o eletrodo modificado CATiSbBQ na ausência de ácido ascórbico. Entretanto, na presença de ácido ascórbico, o eletrodo CATiSbBQ apresentou um aumento de corrente significativo e uma diminuição do sobrepotencial de cerca de 400 mV, sendo que na literatura o potencial de oxidação do ácido ascórbico em eletrodo de grafite ocorre em 400 mV<sup>79</sup>. Isso ocorre devido a atividade eletrocatalítica da p-benzoquinona imobilizada na superfície do material composto CATiSb.



**Figura 20:** Voltamogramas cíclicos (A) CATiSb na ausência de H<sub>2</sub>AA, (B) CATiSbBQ na ausência de H<sub>2</sub>AA e (C) CATiSbBQ na presença de 8,0 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> de H<sub>2</sub>AA. Tampão B-R 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0, 20 mV s<sup>-1</sup>.

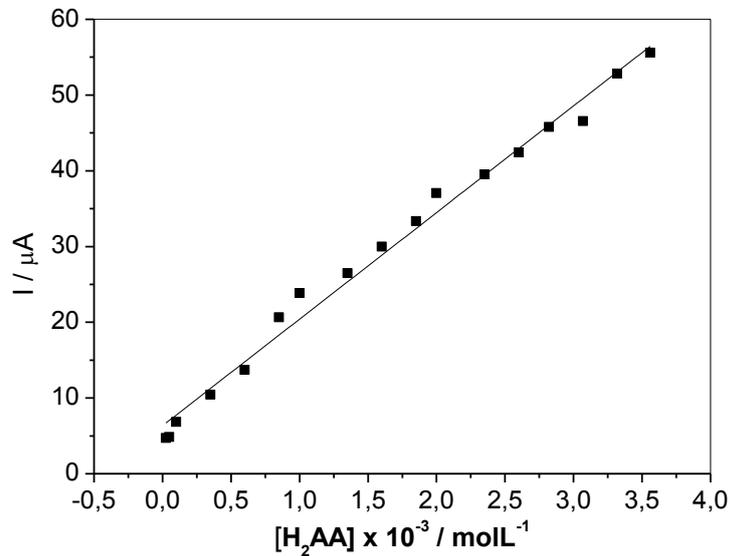
A Figura 21 apresenta os voltamogramas cíclicos obtidos como eletrodo CATiSbBQ em tampão B-R 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 na ausência de ácido ascórbico e na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico de 2,5 x 10<sup>-5</sup> a 3,8 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>.



**Figura 21:** Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo CATiSbBQ na ausência de ácido ascórbico e na presença de H<sub>2</sub>AA nas concentrações em mol L<sup>-1</sup>: 2,5 x 10<sup>-5</sup> a 3,8 x 10<sup>-3</sup>. Tampão B-R 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0, velocidade de varredura = 20 mV s<sup>-1</sup>.

Pode-se observar na Figura 22 uma correlação linear entre o aumento na intensidade de corrente e a concentração de ácido ascórbico contido na célula eletroquímica. Na faixa de concentração compreendida entre 2,5 x 10<sup>-5</sup> a 3,8 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> foi demonstrado uma correlação linear representada pela equação  $I / \mu\text{A} = (6,33 \pm 0,75) + (14072,78 \pm 376,90) [\text{H}_2\text{AA}] / \text{mmol L}^{-1}$ , com um coeficiente de correlação linear  $R = 0,988$ . O limite de detecção (considerando a relação sinal / ruído = 3) foi de

$2,8 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1}$  e o limite de quantificação encontrado foi  $9,2 \times 10^{-3} \text{ mmol L}^{-1}$ . A sensibilidade foi de  $14,0 \mu\text{A L mmol}^{-1}$ .

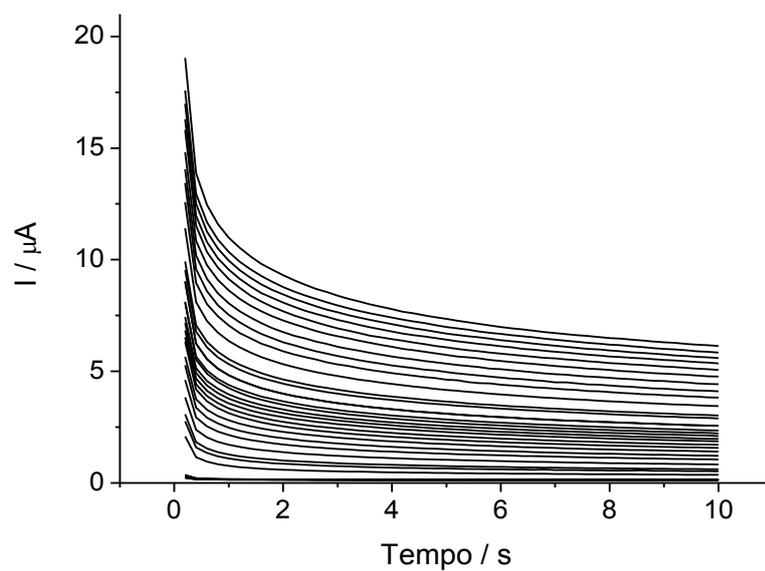


**Figura 22:** Relação entre a intensidade de corrente de pico *versus* a concentração de H<sub>2</sub>AA.

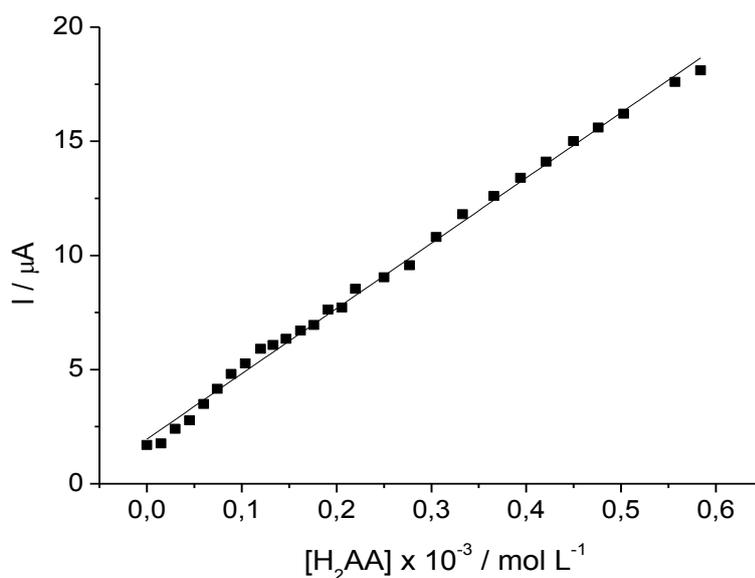
### 3.3.6.2. Detecção amperométrica (DA)

Estudos cronoamperométricos foram realizados para verificar a potencialidade do eletrodo CATiSbBQ como sensor eletroquímico para ácido ascórbico. Inicialmente estudos cronoamperométricos foram utilizados para se determinar o melhor potencial a ser aplicado. O potencial foi escolhido através das medidas de intensidade de corrente para uma solução contendo  $[\text{H}_2\text{AA}] = 3,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em tampão B-R pH 7,0. Para os futuros experimentos o potencial foi fixado em 300 mV, garantindo assim uma maior intensidade de corrente, pois o ácido ascórbico é certamente oxidado nesse potencial.

Foi estudado o comportamento do ácido ascórbico por detecção amperométrica adicionando-se ácido ascórbico na faixa de concentração de  $1,5 \times 10^{-5}$  a  $1,4 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$ .



**Figura 23:** Cronoamperogramas obtidos para o eletrodo modificado CATiSbBQ na ausência e na presença de  $1,5 \times 10^{-5}$  a  $1,4 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de  $H_2AA$ . Tampão B-R  $1,0$  mol  $L^{-1}$  pH 7,0.



**Figura 24:** Gráfico da intensidade de corrente anódica ( $I_{pa}$ ) *versus* a concentração de ácido ascórbico.

A Figura 24 apresenta a correlação linear entre o aumento na intensidade de corrente e a concentração de ácido ascórbico em uma faixa de concentração compreendida entre  $1,5 \times 10^{-5}$  a  $1,4 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> foi demonstrado uma correlação linear demonstrada pela equação  $I / \mu A = (1,12 \pm 0,07) + (40,1 \pm 0,95) [H_2AA] / \text{mmol L}^{-1}$ , com um coeficiente de correlação linear  $R = 0,996$ ,  $n=28$ . O limite de detecção (considerando a relação sinal / ruído = 3) foi de  $26 \mu\text{mol L}^{-1}$  e o limite de quantificação encontrado foi  $87 \mu\text{mol L}^{-1}$ . A sensibilidade foi de  $40,1 \mu A \text{ L mmol}^{-1}$ .

Objetivando obter mais informações sobre à eletro-oxidação os cronoamperogramas foram utilizados para estimar o coeficiente de difusão do ácido ascórbico na solução. Para isso, a resposta em corrente que o material eletroativo apresenta, com coeficiente de difusão,  $D$ , correspondente ao processo eletroquímico controlado por difusão é descrita pela equação de Cottrell<sup>65, 78</sup>:

$$j = nFD^{1/2}C_s\pi^{-1/2}t^{-1/2} \quad (3)$$

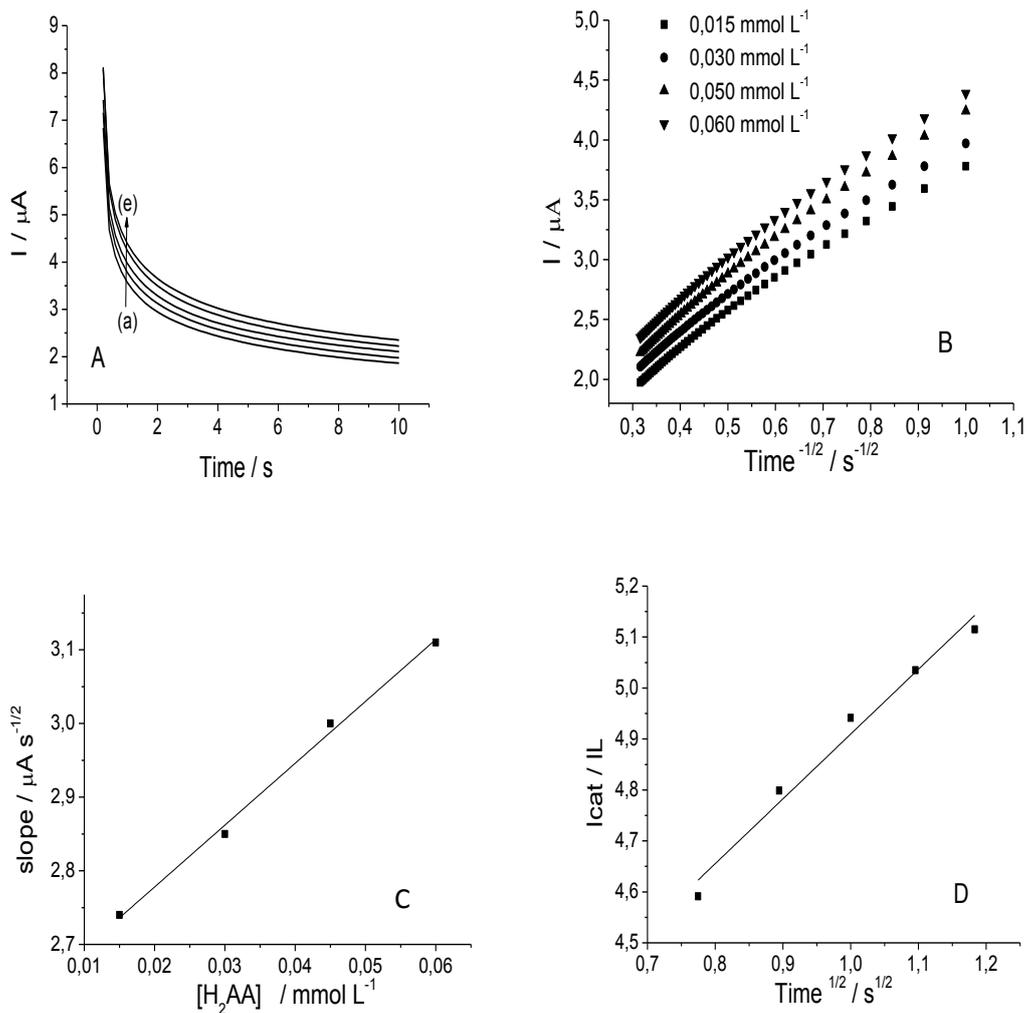
onde D é o coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ) e  $C_s$  é a concentração da solução eletrolítica ( $\text{mol cm}^{-3}$ ).

A Figura 25(A) apresenta os cronoamperogramas obtidos na ausência de ácido ascórbico e na presença de diferentes concentrações de ácido ascórbico: 0,015; 0,030; 0,050 e 0,060  $\text{mmol L}^{-1}$ . Na Figura 25(B) temos a intensidade de corrente, I, relacionada à raiz quadrada do tempo,  $t^{-1/2}$ , onde observa-se um indicativo de que a corrente observada é controlada pela difusão do ácido ascórbico na solução. A inclinação da reta obtida nesse gráfico foi relacionada à concentração de ácido ascórbico estudada, Figura 25(C). Utilizando o valor do coeficiente angular encontrado anteriormente (Figura 25 B) e aplicando-se a equação (3) foi calculado o coeficiente de difusão, sendo que foi encontrado  $D = 2,8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ . Esse valor está de acordo com valores descritos na literatura<sup>80,81</sup>.

Para calcular a constante de velocidade catalítica, k, para a reação do ácido ascórbico e os sítios redox confinados na superfície do eletrodo foi utilizado os cronoamperogramas aplicando-se o método descrito na literatura<sup>81</sup>:

$$I_{\text{cat}}/I_L = \pi^{1/2}(kC_s t)^{1/2} \quad (4)$$

onde  $I_{\text{cat}}$  é a corrente do eletrodo modificado na presença de ácido ascórbico e  $I_L$  é a corrente limite obtida na ausência de ácido ascórbico, k é a constante de velocidade da reação catalítica,  $C_s$  é a concentração de ácido ascórbico e t é o tempo do experimento.

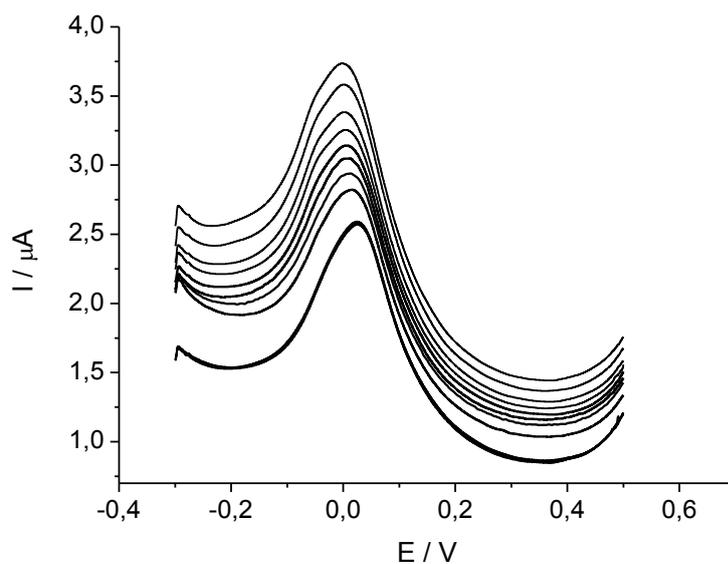


**Figura 25:** (A) Cronoamperogramas obtidos para o eletrodo modificado CATiSbBQ na ausência (a) e na presença de ácido ascórbico em tampão B-R 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 (b) 0,015, (c) 0,030, (d) 0,050 e (e) 0,060 mmol L<sup>-1</sup>. (B) Gráficos das intensidades de corrente,  $I$ , *versus* a derivada da raiz quadrada do tempo,  $t^{-1/2}$  obtidos no cronoamperograma. (C) Gráfico do slope obtido no gráfico B *versus* a concentração de H<sub>2</sub>AA e (D) dependência da  $I_{\text{cat}}/I_{\text{L}}$  *versus*  $t^{1/2}$  obtidos dos cronoamperogramas de (a) a (e) do gráfico A.

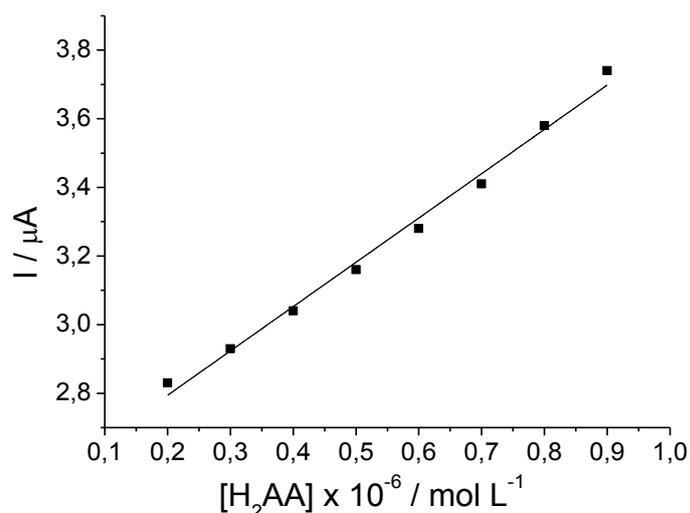
O gráfico apresentado na Figura 25(D) fornece o coeficiente angular da relação  $I_{\text{cat}}/I_L$  versus  $t^{1/2}$ . Dessa forma, pode-se calcular o valor da constante  $k$  para as diferentes concentrações do analito estudado. O valor de  $k$  encontrado foi de  $2,0 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  sendo o valor médio em uma faixa de concentração compreendida entre 0,015 a 0,060  $\text{mmol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{AA}$ .

### 3.3.6.3. Voltametria de pulso diferencial (VPD)

A técnica de voltametria de pulso diferencial permite utilizar o eletrodo modificado CATiSbBQ em amostras com baixas concentrações de  $\text{H}_2\text{AA}$ . Nesse sentido, testamos o comportamento do eletrodo em uma faixa de concentração de  $2,0 \times 10^{-7}$  a  $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  em solução tampão B-R pH 7,0. A velocidade de varredura do experimento foi de  $10 \text{ mV s}^{-1}$  e a amplitude foi de 50 mV. Na Figura 26 foi observado um aumento na intensidade de corrente correspondendo às sucessivas adições do analito a célula eletroquímica.



**Figura 26:** Voltametria de pulso diferencial (VPD) para o eletrodo modificado CATiSbBQ na ausência de  $\text{H}_2\text{AA}$  e na presença de  $2,0 \times 10^{-7}$  a  $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ . Tampão B-R  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0. Velocidade de varredura  $10 \text{ mV s}^{-1}$  e amplitude de 50 mV.



**Figura 27:** Relação linear entre  $I$  versus  $[H_2AA]$  obtidos através dos voltamogramas de pulso diferencial para o eletrodo modificado CATiSbBQ, em uma faixa de concentração de  $2,0 \times 10^{-7}$  a  $9,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Tampão B-R 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0.

A Figura 27 apresenta a correlação linear entre o aumento na intensidade de corrente e a concentração de ácido ascórbico em uma faixa de concentração compreendida entre  $2,0 \times 10^{-7}$  a  $9,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>.

A correlação linear foi demonstrada pela equação  $I / \mu A = (2,53 \pm 0,028) + (1291,7 \pm 47,38) [H_2AA] / \text{mmol L}^{-1}$ , com um coeficiente de correlação linear  $R = 0,99$ . O limite de detecção (considerando a relação sinal / ruído = 3) foi de  $1,9 \times 10^{-5}$  mmol L<sup>-1</sup> e o limite de quantificação encontrado foi  $6,3 \times 10^{-5}$  mmol L<sup>-1</sup>. A sensibilidade foi de  $1291,7 \mu A \text{ L mmol}^{-1}$ . Esses valores são extremamente satisfatórios se comparados a outros sensores para ácido ascórbico encontrados na literatura mostrados na Tabela II.

**Tabela II:** Parâmetros analíticos para determinação de ácido ascórbico para vários eletrodos:

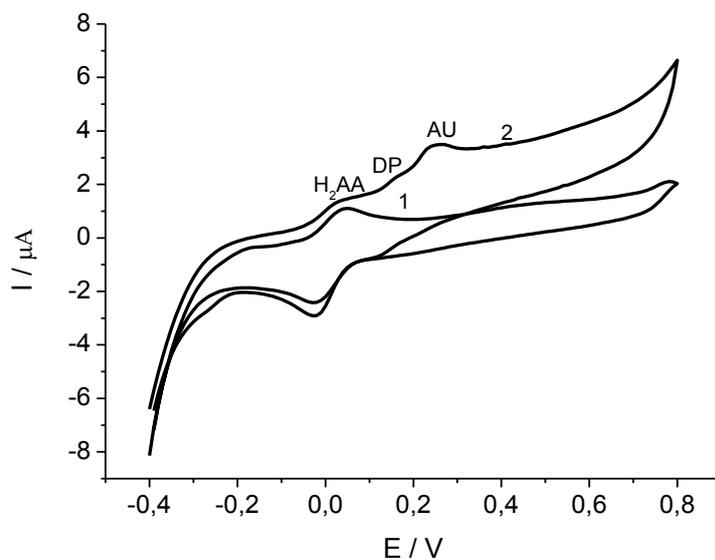
Referências	Modificação	Método	LD $\mu\text{mol L}^{-1}$	Faixa Linear $\mu\text{mol L}^{-1}$	Sensibilidade
82	$\text{Bi}_2\text{S}_3$	Amperometria	83	1 - 1000	-
83	T(DBHP)P-Cu/L-cys	VPD	0,541	10,2 - 1000	-
84	Grafeno	Amperometria	0,1 – 106	0,07	-3,31571 ( $\text{A mmolL}^{-1}$ )
85	NP Ouro	Amperometria	0,1	1 - 4000	46,8 ( $\mu\text{A mmol L}^{-1}$ $\text{cm}^{-2}$ )
86	Plu/ZnO-NPs	Amperometria	1	1 - 360	-
87	$\text{SiO}_2/\text{SnO}_2/\text{phosphate}/\text{MeIB}$	Amperometria	0,4	0,4 - 2000	-
88	Filme $\text{Nb}_2\text{O}_5$	VPD	25,03	99 - 2380	23,76 ( $\mu\text{A mmol L}^{-1}$ )
Nesse trabalho		VPD	0,019	0,2 – 0,9	1291,7 ( $\mu\text{A L mmol}^{-1}$ )
		Amperometria	26	15 – 120	40,1 ( $\mu\text{A L mmol}^{-1}$ )
		VC	2,8	25 - 3800	14,0 ( $\mu\text{A L mmol}^{-1}$ )

Com o objetivo de testar o eletrodo foi realizado um experimento para determinar a concentração de ácido ascórbico em uma amostra comercial. Foi utilizado um tablete de vitamina C comercial, comprado em drogaria local. Um comprimido contendo 1 g de vitamina C foi dissolvido em 500 mL de água destilada (solução A). Dessa solução (A) foi retirada uma alíquota de 10 mL que foi diluída em 100 mL de água destilada (solução B). A resposta por voltametria de pulso diferencial foi obtida adicionando-se 10  $\mu\text{L}$  da solução B na célula eletroquímica contendo 20 mL de tampão B-R pH 1,0 mol  $\text{L}^{-1}$  7,0. A quantidade de ácido ascórbico nos tabletes foi calculada a partir da curva de calibração. O resultado obtido na determinação de  $\text{H}_2\text{AA}$  em amostras de vitamina C utilizando-se o eletrodo modificado CATiSbBQ foi de 0,995 g.

#### 3.3.6.4. Estudos de Interferentes

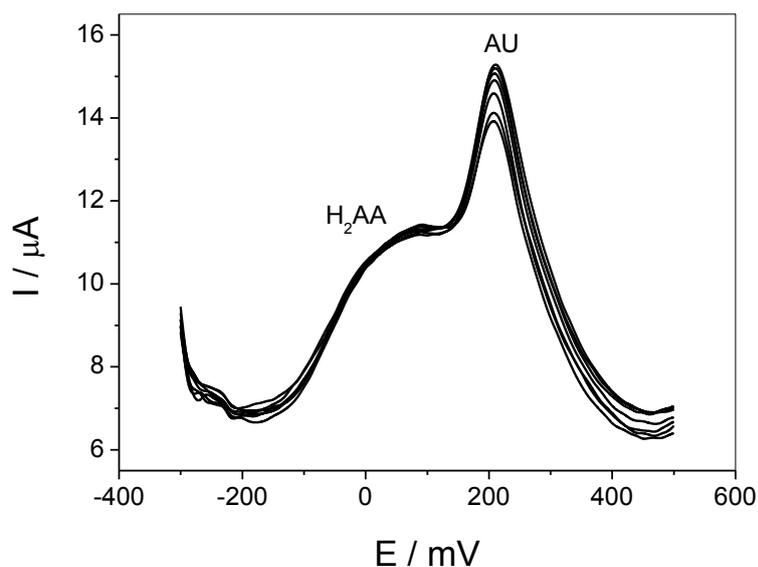
Foi estudado por voltametria de pulso diferencial o comportamento da oxidação do ácido ascórbico na superfície do eletrodo CATiSbBQ na presença de ácido úrico (AU), dopamina (DP), glicose e NADH. Esses substratos possuem importância biológica e podem interferir na oxidação do H<sub>2</sub>AA. A Figura 28 apresenta a resposta do eletrodo modificado na ausência de ácido ascórbico, ácido úrico e dopamina, curva 1, e na presença de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido ascórbico,  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico e  $1,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina, curva 2, em uma janela de potencial compreendida entre -0,4 V a 0,8 V. O potencial de oxidação  $E_{pa}$  do ácido ascórbico foi de 36 mV, dopamina 160 mV e ácido úrico 243 mV em tampão B-R  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0.

Através do estudo por voltametria cíclica pode-se perceber que o eletrodo apresenta uma separação entre os potenciais de pico dos três analitos. Nesse sentido, a técnica de voltametria de pulso diferencial foi utilizada para estudar os interferentes na oxidação do ácido ascórbico frente ao sensor modificado.



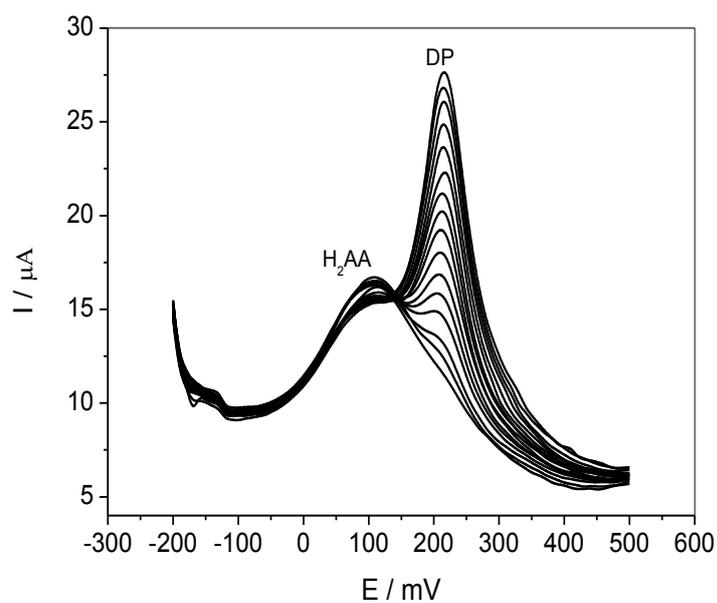
**Figura 28:** Voltametria cíclica em tampão B-R  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0 para o eletrodo CATiSbBQ (1) e na presença de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido ascórbico,  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico e  $1,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina (2).

Na Figura 29 temos a resposta do sensor por voltametria de pulso diferencial na presença de ácido ascórbico  $5,0 \times 10^{-4} \text{ mmol L}^{-1}$  e na presença de  $1,1 \times 10^{-4}$  a  $1,5 \times 10^{-4} \text{ mmol L}^{-1}$  de ácido úrico em tampão Britton-Robinson  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0. Pode-se perceber que na faixa de concentração estudada o ácido úrico não interfere na resposta do ácido ascórbico.



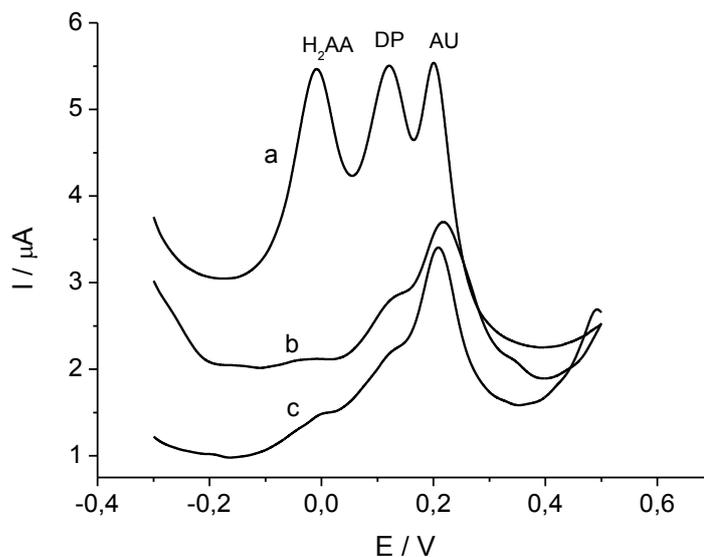
**Figura 29:** Voltametria de pulso diferencial de ácido ascórbico  $5,0 \times 10^{-4}$  mmol  $L^{-1}$  na presença de  $1,1 \times 10^{-4}$  a  $1,5 \times 10^{-4}$  mmol  $L^{-1}$  de ácido úrico em tampão Britton-Robinson  $1,0 \text{ mol } L^{-1}$  pH 7,0.

A Figura 30 expõe o comportamento do ácido ascórbico por voltametria de pulso diferencial na presença de  $5,0 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de ácido ascórbico e na presença de  $4,7 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  a  $1,9 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de dopamina. Na faixa de concentração estudada foi demonstrado que a corrente de oxidação do ácido ascórbico não é afetada pelas adições sucessivas de dopamina.



**Figura 30:** Voltametria de pulso diferencial para ácido ascórbico  $5,0 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  na presença de  $4,7 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  a  $1,9 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de dopamina. Tampão fosfato  $1,0$  mol  $L^{-1}$ .

A glicose não apresentou interferência na reação do  $H_2AA$  em uma faixa de concentração de  $0,001$  a  $0,010$   $\mu\text{mol } L^{-1}$ . O cofator enzimático NADH não interferiu na oxidação do  $H_2AA$  em uma faixa de concentração de  $0,024 - 0,140$   $\mu\text{mol } L^{-1}$ .



**Figura 31:** Voltametria de pulso diferencial para CATiSbBQ ( a ), CATiSb ( b ), CATi ( c ) na presença de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{H}_2\text{AA}$ ,  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico e  $1,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina em tampão B-R pH 7,0.

O comportamento de três analitos: ácido ascórbico, ácido úrico e dopamina foi estudado por voltametria de pulso diferencial. Foram observados picos de oxidação definidos em -9,3 mV, 120,7 mV e 199,7 mV correspondendo respectivamente a ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico. O eletrodo modificado CATiSbBQ apresentou uma boa definição e separação entre os picos de oxidação dos três substratos principalmente se comparados aos valores típicos para o potencial de oxidação do  $\text{H}_2\text{AA}$  270 mV, DP 230 mV e AU 340 mV encontrados na literatura<sup>89</sup>. A eletrocatalise do  $\text{H}_2\text{AA}$  é favorecida com uma diminuição do sobrepotencial de aproximadamente 280 mV.

---

*Preparação de um eletrodo sólido condutor a  
base de acetato de celulose para a determinação  
simultânea de analitos de interesse biológico*

#### **4. PREPARAÇÃO DE UM ELETRODO SÓLIDO CONDUTOR A BASE DE ACETATO DE CELULOSE PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE ANALITOS DE INTERESSE BIOLÓGICO**

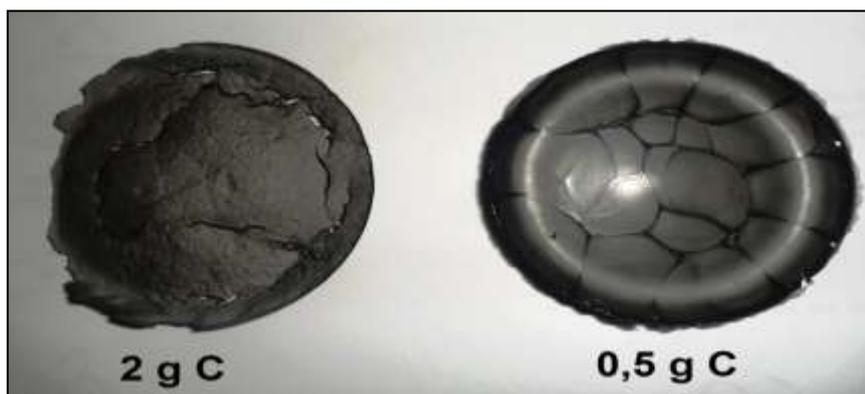
A aplicabilidade de materiais cerâmicos na confecção de eletrodos quimicamente modificados permite um maior controle sobre as propriedades eletroquímicas do sensor, como por exemplo, resposta de corrente e potencial como também na resposta analítica do material. Uma desvantagem que esse tipo de material pode apresentar é a alta resistência elétrica.

No sentido de estudar a potencialidade de um novo material condutor baseado em acetato de celulose como sensor para espécies com importância biológica foi realizado no segundo estudo o desenvolvimento de um sensor modificado sólido a base de acetato de celulose com propriedades condutoras e que possibilita ter a superfície renovável.

## 4.1. Caracterização do material

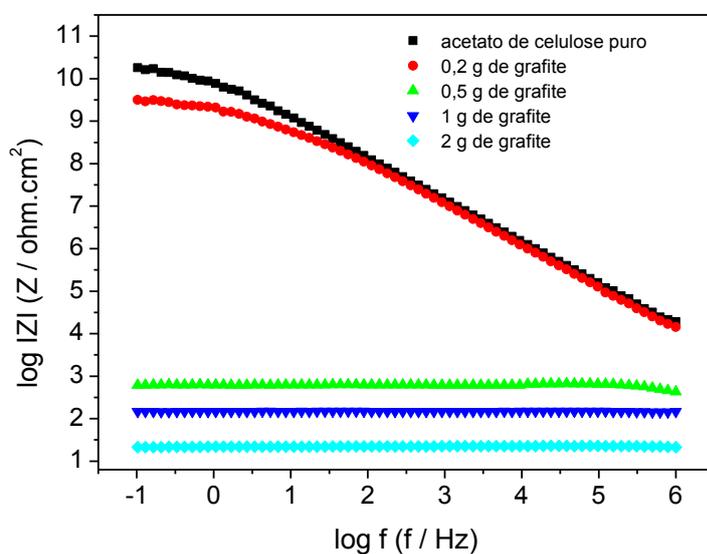
### 4.1.1. Espectroscopia de impedância Eletroquímica

Objetivando obter um material condutor com boas características mecânicas e eletroquímicas a quantidade de grafite em relação a uma quantidade fixa de acetato de celulose foi estudada entre 2 – 0,5 g de grafite. Na Figura 32 observamos imagens dos materiais sintetizados contendo 2 g e 0,5 g de grafite em relação a uma quantidade fixa de acetato de celulose, correspondendo a aproximadamente 66 e 33 % m/m de grafite, respectivamente. Podemos observar dois sólidos de aparência superficial distinta, sendo o sólido contendo 2 g de grafite quebradiço e com uma superfície irregular e o sólido com 0,5 g de grafite apresentando uma superfície homogênea. As diferenças entre características mecânicas são bem evidentes nos dois materiais apresentados. O material sintetizado a partir de 2 g de grafite se mostrou mais quebradiço que o material contendo 0,5 g. A imagem da matriz 0,5 g de C sugere um material com características poliméricas.



**Figura 32:** Imagens do material sólido obtido através da mistura de celulose/grafite em diferentes concentrações de grafite.

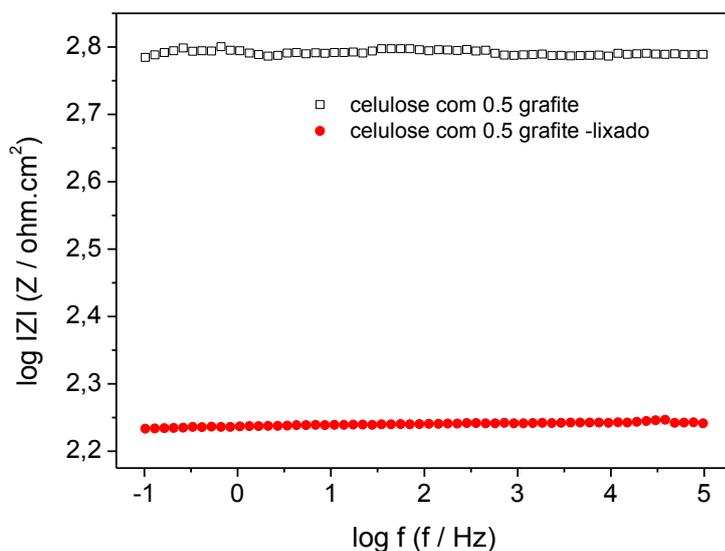
Esses dois materiais foram investigados por espectroscopia de impedância eletroquímica a fim de podermos avaliar seu comportamento condutivo e a resistência do material através da utilização de uma pastilha sanduichada entre dois discos de aço. As pastilhas foram preparadas utilizando os materiais sólidos obtidos contendo diferentes quantidades de grafite. Na Figura 33 temos a relação do  $\log |Z|$ , ( $Z$ ,  $\text{ohm.cm}^2$ ) versus o  $\log f$ , ( $f$ , Hz) para um material sólido composto apenas por de acetato de celulose e para sólidos obtidos a partir de diferentes concentrações de grafite em relação a uma quantidade fixa de acetato de celulose. O resultado demonstra que aumentando a quantidade de grafite ocorre uma diminuição dos valores de impedância na faixa de frequência estudada. As quantidades de 2 g, 1g e 0,5 g apresentam uma condutividade muito próxima. Já o sólido contendo 0,2 g de grafite tem um comportamento muito próximo ao sólido composto por acetato de celulose pura.



**Figura 33:** Relação entre  $\log |Z|$  vs  $\log f$  para acetato de celulose puro e com diferentes concentrações de grafite.

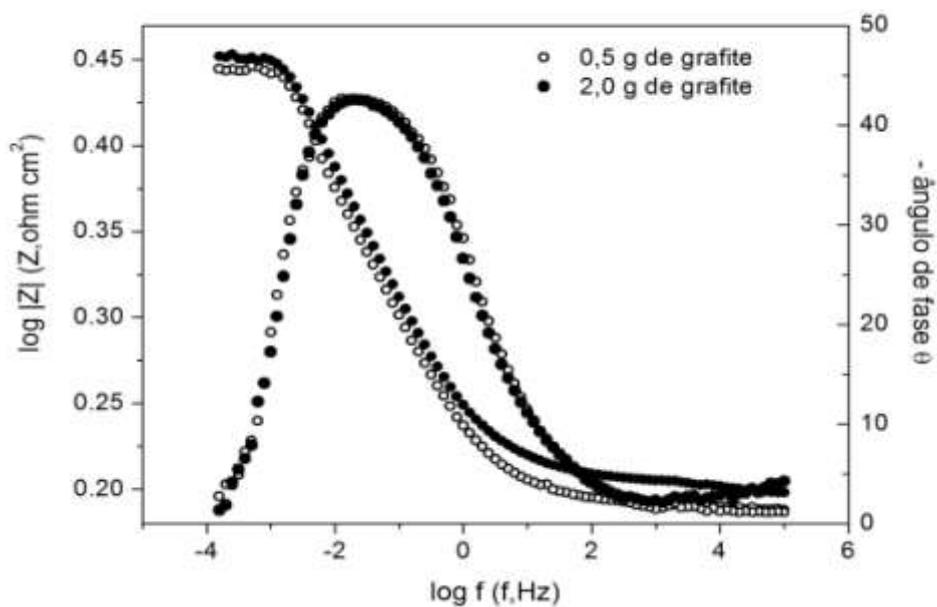
O comportamento condutivo do material contendo 0,5 g de grafite foi investigado a partir da pastilha sanduichada lixada com o auxílio de uma lixa 1200. O resultado é apresentado na Figura 34, onde podemos observar que após o material ter sido lixado, o  $\log |Z|$  diminuiu significativamente.

Dessa forma, os eletrodos preparados a partir desses materiais foram lixados antes de sua utilização como eletrodo de trabalho.

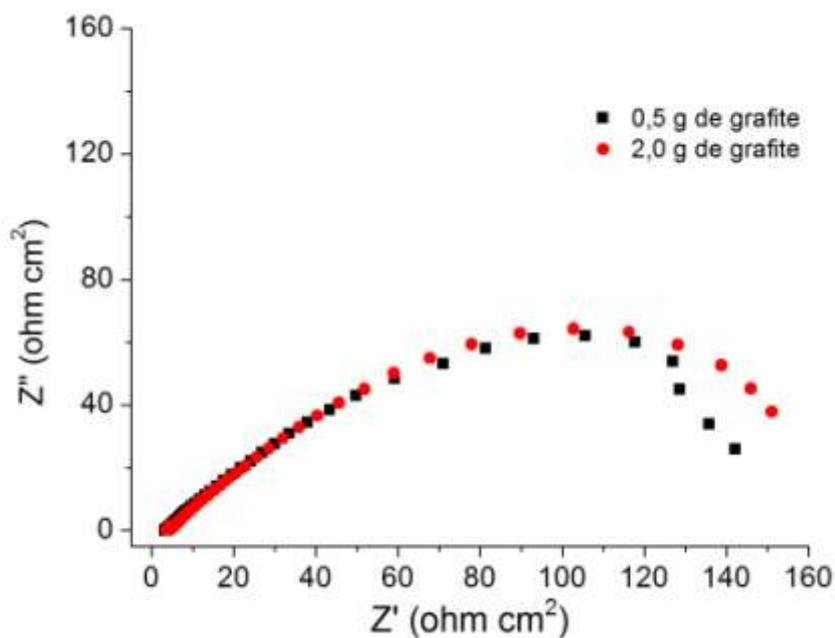


**Figura 34:** Relação entre  $\log |Z|$  vs  $\log f$  para a matriz sólida contendo 0,5 g de grafite, material lixado e não lixado.

A EIE também foi utilizada para avaliar o comportamento de dois materiais distintos, matriz 0,5 g C e matriz 2 g C na presença de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. Na Figura 35 observa-se o ângulo  $\theta$  vs  $\log f$  e na Figura 36 é apresentado o diagrama de Nyquist para ambos materiais.



**Figura 35:** (A) Variação do ângulo vs log f e (B) variação do log |Z| vs log f, para a matriz 0,5 g grafite e matriz 2 g grafite, em potenciais de 0,26 V e 0,29 V, respectivamente, em 25 mL de KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> na presença de 2,0 x 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. Faixa de frequência: 500 kHz – 0,1 mHz. Amplitude de 25 mV.



**Figura 36:** Diagrama de Nyquist para eletrodo 2 g de C e 0,5 g C em potenciais de 0,26 V e 0,29 V, respectivamente, em 25 mL de KCl 0,5 mol L<sup>-1</sup> na presença de 2,0 x 10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup> de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. Faixa de frequência: 500 kHz – 0,1 mHz. Amplitude de 25 mV.

Os resultados da EIE mostraram um comportamento similar para os dois materiais mostrados nos diagramas de Bode e Nyquist e que a condutividade de ambos materiais esta muito próxima. Nesse sentido, tendo em vista rentabilidade e baixo custo, o material com 0,5 g de grafite foi usado como sensor modificado para analitos de interesse biológico. Além dessas vantagens apresentadas pela matriz contendo 0,5 g de grafite, o material contendo 2 g de grafite se apresentou muito quebradiço e o seu rendimento na confecção de eletrodos foi muito baixa se comparado a matriz 0,5 g C.

A Figura 37 ilustra a quantidade aproximada de eletrodos produzidos a partir da matriz 0,5 g de C.



**Figura 37:** Eletrodos produzidos a partir da matriz 0,5 g de C com rendimento ao redor de 15 eletrodos.

O sistema foi analisado usando um circuito equivalente, CE. O CE proposto pode ser descrito por  $R_s(CPE.R_{tc})$ , onde  $R_s$  é a resistência da solução, CPE é a impedância relacionada a um elemento constante de fase usado para substituir a capacitância, visto que  $\theta \neq 90$  e  $R_{tc}$  é a resistência a transferência de carga. A impedância CPE esta relacionada à rugosidade, a heterogeneidade da superfície como também a processos de difusão. Essas observações nos dão informações sobre a porosidade do material. A impedância CPE é dada por:

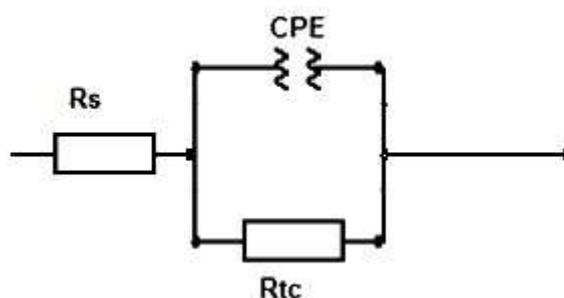
$$Z_{CPE} = [Q (j\omega)^n]^{-1} \quad (5)$$

Onde CPE representa um capacitor ideal para  $n = 1$ , um resistor para  $n = 0$ , um indutor para  $n = -1$  e no caso de processos difusionais,  $n = 0,5$ .

Os dados obtidos pela simulação do circuito equivalente são apresentados na Tabela III, desprezando os pontos indutivos na faixa devido à alta dispersão.

**Tabela III:** Parâmetros obtidos por simulação do circuito equivalente proposto:

Eletrodo	$R_s$ ( $\Omega \text{ cm}^2$ )	$R_{tc}$ ( $\Omega \text{ cm}^2$ )	CPE ( $\mu\text{F cm}^{-2}$ )	n
Eletrodo modificado 0,5 g C	4,3	162,9	7,5	0,63
Eletrodo modificado 2,0 g C	4,2	171,7	6,9	0,61

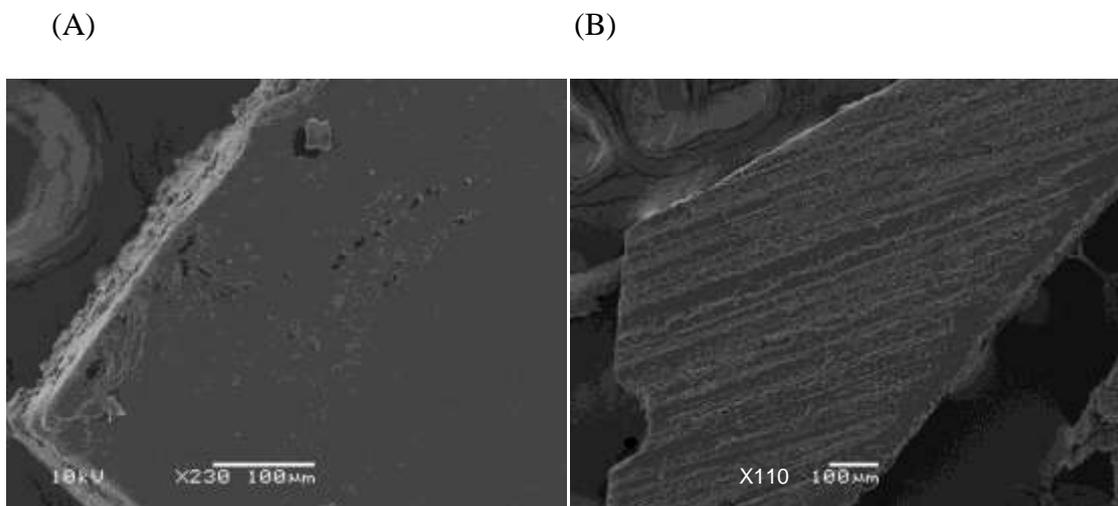


**Figura 38:** Circuito equivalente obtido através da simulação do diagrama de Bode na Figura 35, A e B.

#### 4.1.2. Microscopia eletrônica de Varredura

O material modificado foi caracterizado através da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Na Figura 39 (A) temos o material sólido à base de acetato de celulose com grafite. Pode-se observar uma dispersão homogênea das partículas de grafite nessa magnitude e a formação de cavidades na superfície. A Figura 39 (B) apresenta a superfície do material após ser lixado promovendo a formação de

ranhuras longitudinais que provavelmente aumentam área superficial e a rugosidade e consequentemente a área eletroativa do material.



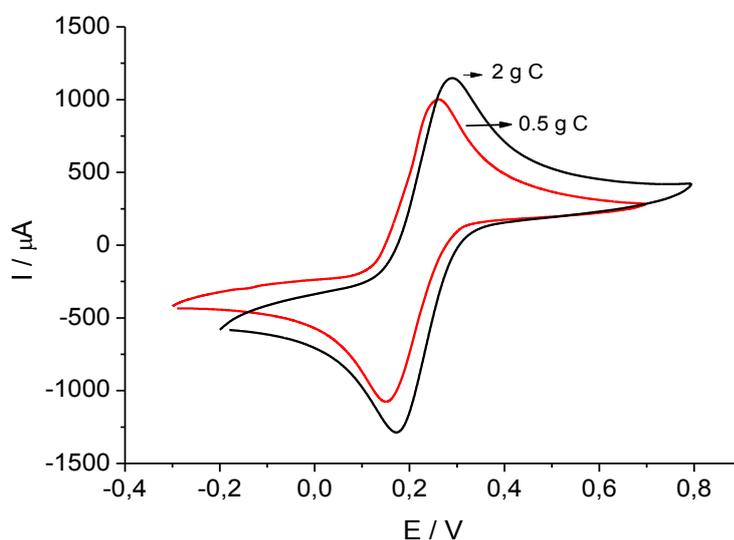
**Figura 39:** Micrografias para a celulose condutora sólida (A) sem lixar, (B) após lixar.

#### 4.1.3. Voltametria Cíclica

Na Figura 40 observa-se o comportamento voltamétrico para os dois materiais estudados na presença de  $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ferricianeto/ferrocianeto de potássio em eletrólito suporte  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  de KCl a uma velocidade de varredura de  $20 \text{ mV s}^{-1}$ . O eletrodo matriz  $0,5 \text{ g}$  de grafite apresenta um potencial médio  $E_m$ ,  $E_m = (E_{pa} + E_{pc})/2$ , onde  $E_{pa}$  é o potencial de pico anódico e  $E_{pc}$  é o potencial de pico catódico de  $205,5 \text{ mV}$ . Os resultados obtidos mostraram uma separação entre os potenciais de picos,  $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 111 \text{ mV}$ , maior que o valor  $59/n \text{ mV}$  esperado para um sistema reversível. Esse resultado pode estar relacionado ao potencial redox de 2 elétrons, com limitação cinética. Foi observado uma corrente de pico anódico ( $I_{pa}$ ) de  $999,0 \mu\text{A}$  e uma

corrente de pico catódico de  $-1074,0 \mu\text{A}$ , com uma razão de  $I_{pa}/I_{pc}$  igual a 0,93. Esse resultado descreve um sistema eletroquímico com um comportamento quase-reversível.

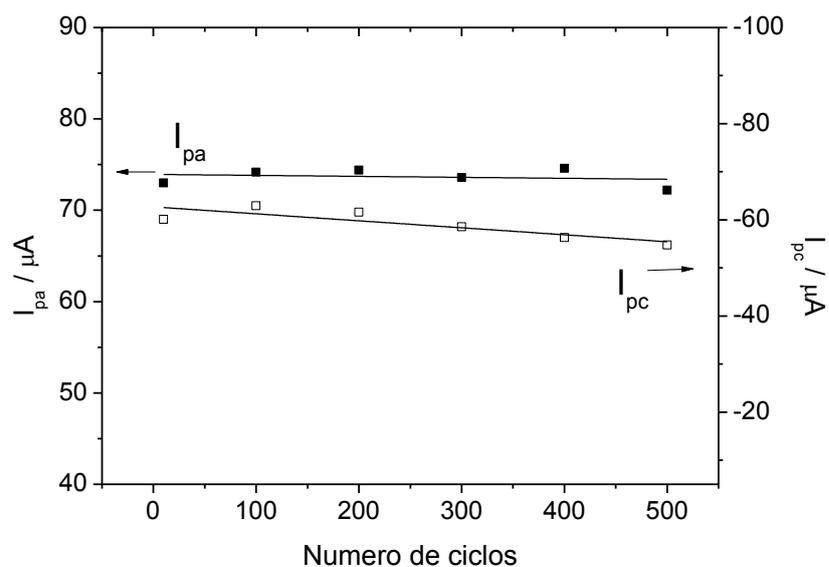
Para o eletrodo composto pela matriz de 2 g de grafite o potencial médio,  $E_m$ , foi de 229 mV, a corrente de pico anódico ( $I_{pa}$ ) de  $1147,0 \mu\text{A}$ , a corrente de pico catódico de  $-1286,0 \mu\text{A}$ , com uma razão de  $I_{pa}/I_{pc}$  igual a 0,89. Os experimentos mostraram uma separação entre os potenciais de picos,  $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 118 \text{ mV}$ , comportamento eletroquímico compatível como processo quase-reversível.



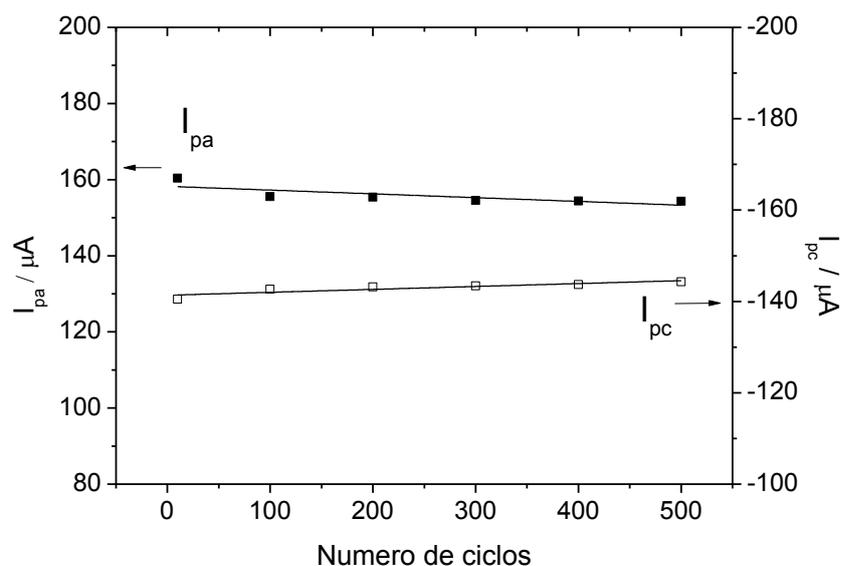
**Figura 40:** VC para os eletrodos modificados com diferentes quantidades de grafite. Eletrólito: 25 mL de KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  na presença de  $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de ferricianeto/ferrocianeto de potássio. Velocidade de Varredura  $20 \text{ mV s}^{-1}$ .

A estabilidade do eletrodo modificado matriz 0,5 g C foi estudada em relação à intensidade de corrente anódica,  $I_{pa}$ , e corrente catódica,  $I_{pc}$ , em duas velocidades de varredura, 20 e  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , durante 500 ciclos redox. O eletrodo se apresentou praticamente estável em baixas velocidades, com decréscimo de 1,36 % para  $I_{pa}$  e 4,34

% para  $I_{pc}$ , conforme a Figura 41. A intensidade de corrente para altas velocidades apresentou um comportamento estável, Figura 42, correspondendo a um decréscimo de 3,75 % para  $I_{pa}$  e um aumento de 3 % para  $I_{pc}$ . Dessa forma o eletrodo possui alta potencialidade para ser usado como sensor analítico.

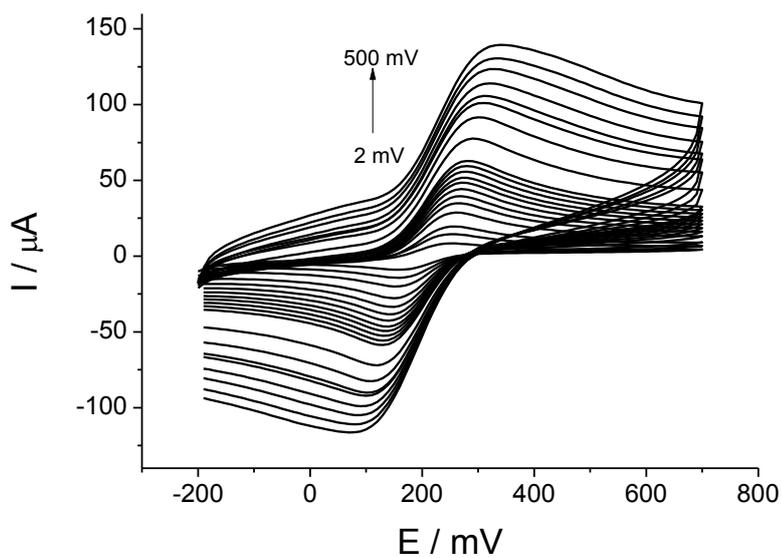


**Figura 41:** Estabilidade do eletrodo matriz 0,5 g C lixada em relação às intensidades de pico anódico e catódico vs número de ciclos. Velocidade de varredura  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , eletrólito  $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$  na presença de  $1,0 \text{ mmol}$  de ferricianeto/ferrocianeto de potássio.

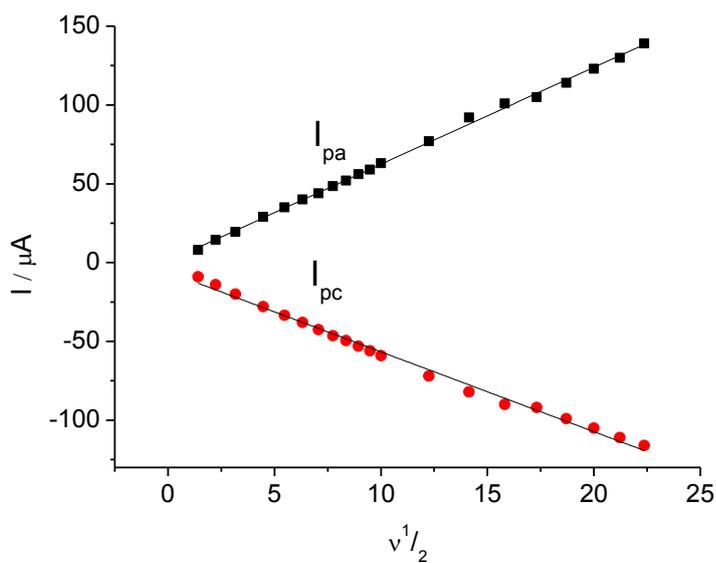


**Figura 42:** Estabilidade do eletrodo matriz 2,0 g C lixada em relação às intensidades de pico anódico e catódico vs número de ciclos. Velocidade de varredura  $100 \text{ mV s}^{-1}$ , eletrólito  $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$  na presença de 1,0 mmol de ferricianeto/ferrocianeto de potássio.

Na Figura 43 é apresentada a resposta do eletrodo matriz 0,5 g C em diferentes velocidades de varredura,  $2 - 500 \text{ mV s}^{-1}$ . Pode-se perceber picos anódicos e catódicos bem definidos, cujas intensidades de pico catódica e anódica relacionadas com a raiz quadrada da velocidade de varredura permite obter uma correlação linear com  $r = 0,998$  para  $I_{pa}$  e  $r = 0,993$  para  $I_{pc}$ , indicativo do comportamento eletroquímico do eletrodo ser controlado por difusão.

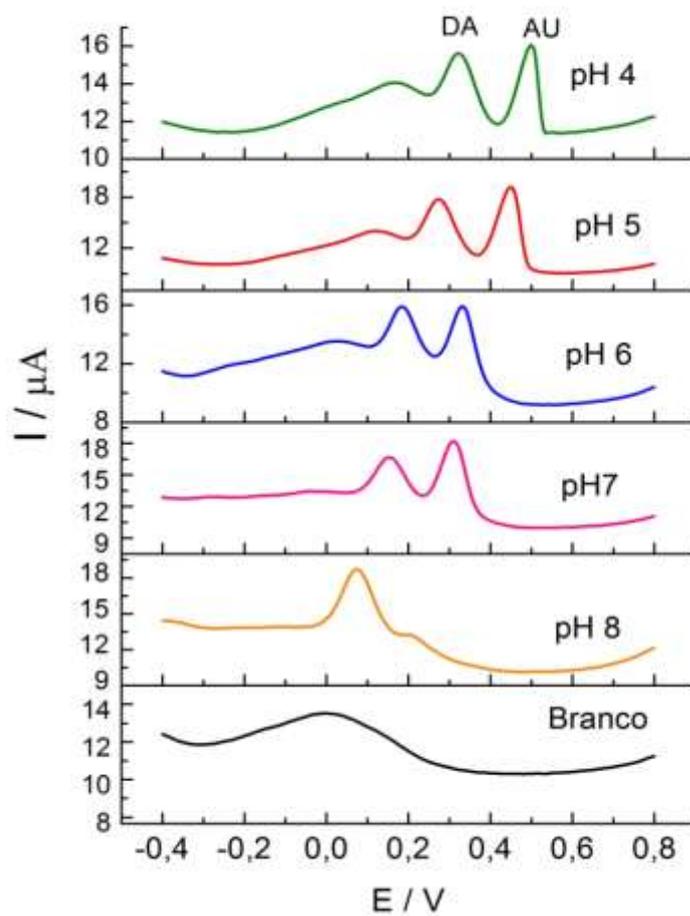


**Figura 43:** VC para eletrodo matriz 0,5 g C em diferentes velocidades de varredura, 2 – 500 mV s<sup>-1</sup>. Tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0 contendo 1,0 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> ferricianeto/ferrocianeto de potássio.



**Figura 44:** Dependência de  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  com a raiz quadrada de varredura.

A resposta do eletrodo matriz 0,5 g C foi avaliada por voltametria de pulso diferencial na presença de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina e  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico dissolvidos em tampão fosfato em diferentes pH's 3,0 – 8,0. Na Figura 45 são apresentadas as respostas voltamétricas obtidas em diferentes pHs, onde pode-se observar uma boa resposta em intensidade de corrente anódica para o pH 7,0, correspondendo a uma boa sensibilidade se comparado as outras faixas de pHs estudadas. Foi avaliado de forma clara a separação entre os potenciais de pico anódico para a dopamina e ácido úrico em diferentes pHs, resultando em uma melhor separação correspondendo a 162 mV e definição dos picos dos analitos em pH 7,0. Em pH 5,0 temos uma boa sensibilidade, mas foi observado um deslocamento dos potenciais de oxidação das espécies estudadas para potenciais mais positivos. Dessa forma, os estudos analíticos foram realizados em tampão fosfato  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  e pH 7,0.

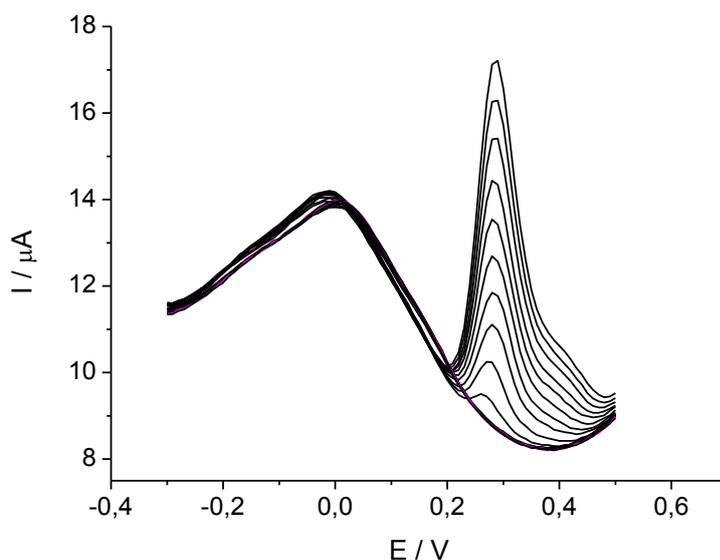


**Figura 45:** Estudo do pH na presença de  $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina e  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico dissolvidos em tampão fosfato em diferentes pH's para o eletrodo modificado matriz 0,5 g de grafite.

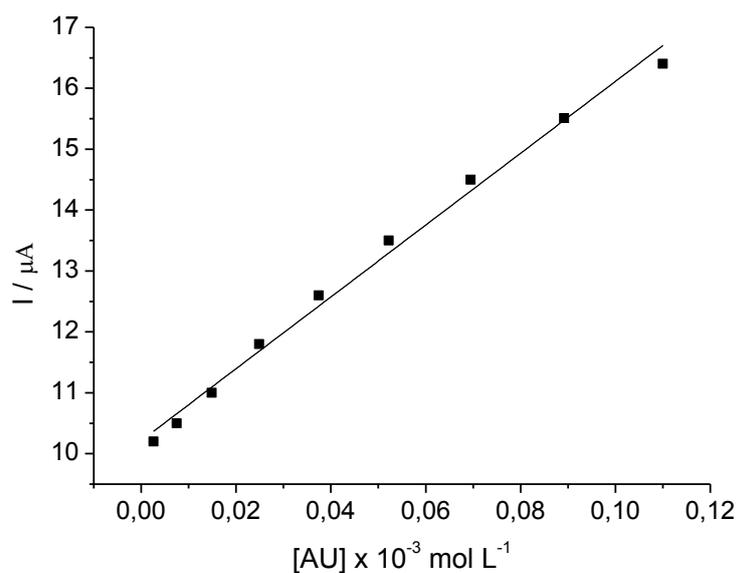
## 4.2. APLICAÇÃO DO ELETRODO MATRIZ 0,5 G C PARA DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE DOPAMINA E ÁCIDO ÚRICO

O material foi testado para determinação simultânea de duas biomoléculas: ácido úrico e dopamina utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial em tampão fosfato pH 7,0.

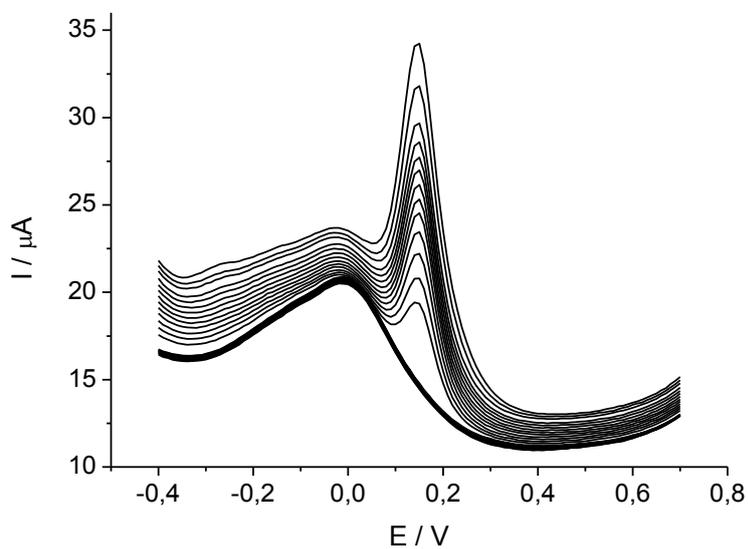
Na Figura 46 é mostrado a voltametria de pulso diferencial para eletrodo sólido na presença de  $2,5 \times 10^{-6}$  a  $1,1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico em tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0. O potencial de oxidação,  $E_{pa}$ , do ácido úrico foi de 260 mV. A relação entre a intensidade de corrente *versus* concentração de ácido úrico é apresentada na Figura 47.



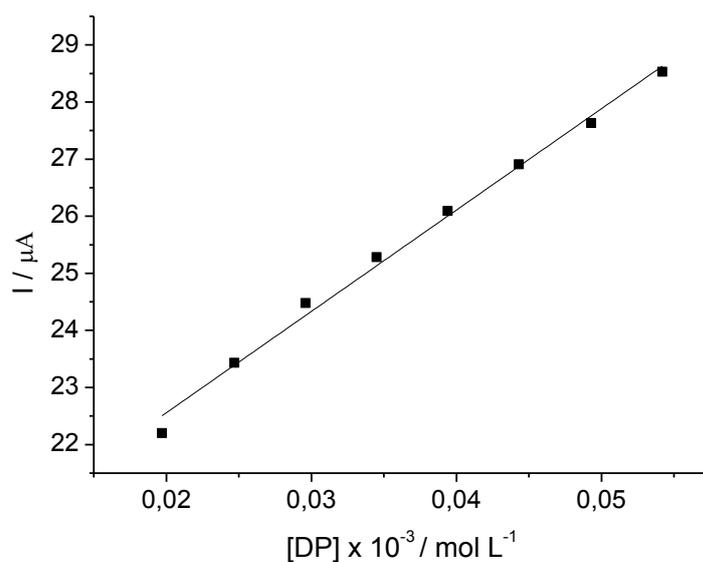
**Figura 46:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo sólido na presença de  $2,5 \times 10^{-6}$  a  $1,1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico em tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0.



**Figura 47:** Intensidade de corrente *versus* a concentração de ácido úrico para o eletrodo sólido na presença de  $2,5 \times 10^{-6}$  a  $1,1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico em tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0.



**Figura 48:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo sólido na presença de  $9,9 \times 10^{-6}$  a  $1,2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de dopamina em tampão fosfato 1,0 mol L<sup>-1</sup> pH 7,0.



**Figura 49:** Relação entre a  $I_{pa}$  versus [DP].

Na Figura 48 é apresentado o comportamento do sensor por voltametria de pulso diferencial na presença de  $9,9 \times 10^{-6}$  a  $1,2 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de dopamina em tampão fosfato pH 7,0. O potencial de oxidação,  $E_{pa}$ , da dopamina foi de 142 mV. A relação linear entre a concentração de dopamina e a intensidade de corrente é observada na Figura 49.

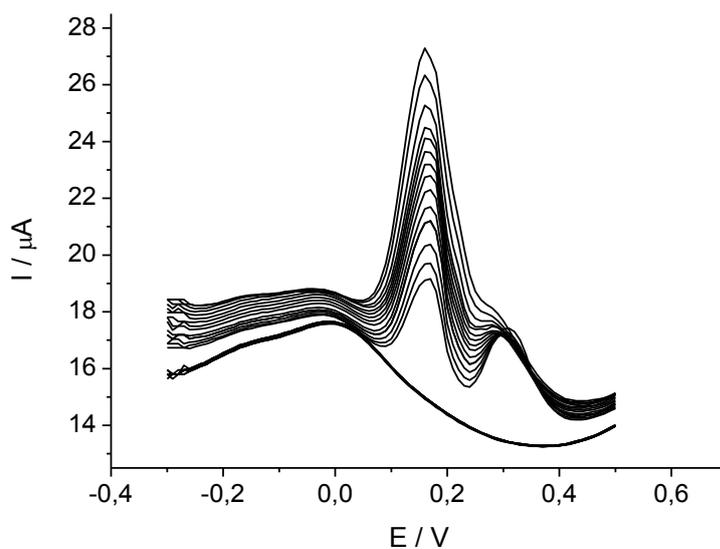
A Tabela IV apresenta os dados obtidos através da curva analítica para a determinação individual de dopamina e ácido úrico. Pode-se observar uma maior sensibilidade do sensor em relação à detecção de dopamina comparado ao ácido úrico.

**Tabela IV:** Dados obtidos através das curvas de calibração para dopamina e ácido úrico por voltametria de pulso diferencial:

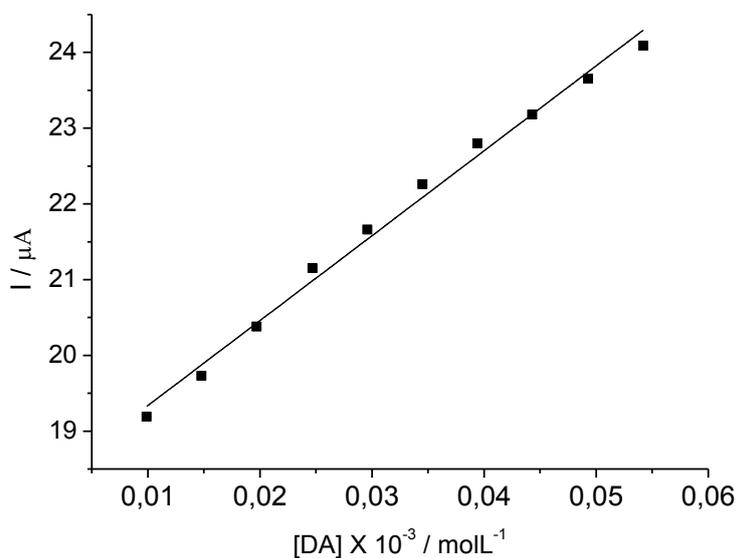
<i>Analito</i>	<i>Equação</i>	<i>R</i>	<i>Sensibilidade</i> ( $\mu\text{A mmol L}^{-1}$ )	<i>LD</i> ( $\text{mmol L}^{-1}$ )	<i>LQ</i> ( $\text{mmol L}^{-1}$ )
DP	$I(\mu\text{A}) = (19,0 \pm 0,2) + (177,54 \pm 5,71) [\text{DP}]$ ( $\text{mmol L}^{-1}$ )	0,993	177,5	$1,9 \times 10^{-3}$	$6,2 \times 10^{-3}$
AU	$I(\mu\text{A}) = (10,21 \pm 0,1) + (58,97 \pm 1,86) [\text{AU}]$ ( $\text{mmol L}^{-1}$ )	0,992	59	$9,0 \times 10^{-4}$	$2,9 \times 10^{-3}$

Em amostras biológicas a dopamina pode coexistir com o ácido úrico, tornando importante o estudo da quantificação de dopamina na presença de uma quantidade fixa de ácido úrico bem como o estudo da quantificação de ácido úrico na presença de uma quantidade fixa de dopamina.

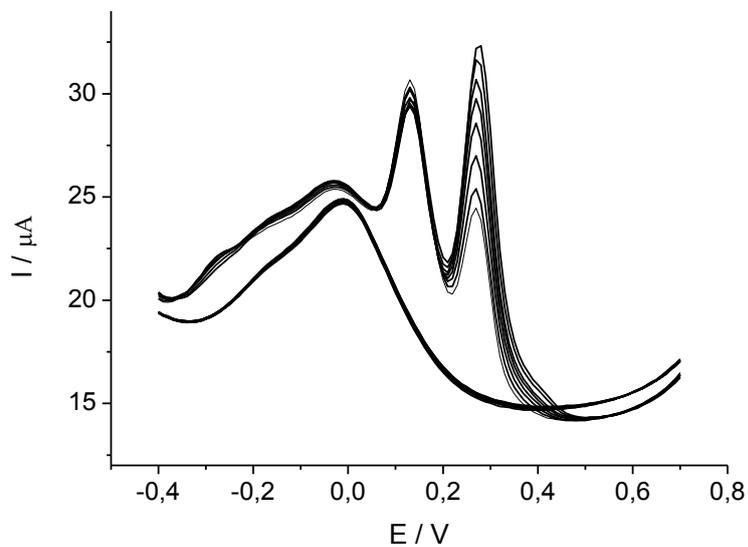
No caso da dopamina (Figura 48) a concentração foi variada de  $9,9 \times 10^{-6}$  a  $5,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  na presença de  $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico em tampão fosfato pH 7,0. Foi observado que a corrente de dopamina aumenta linearmente com o aumento da concentração de dopamina (Figura 49) e a intensidade de corrente do ácido úrico permanece praticamente constante.



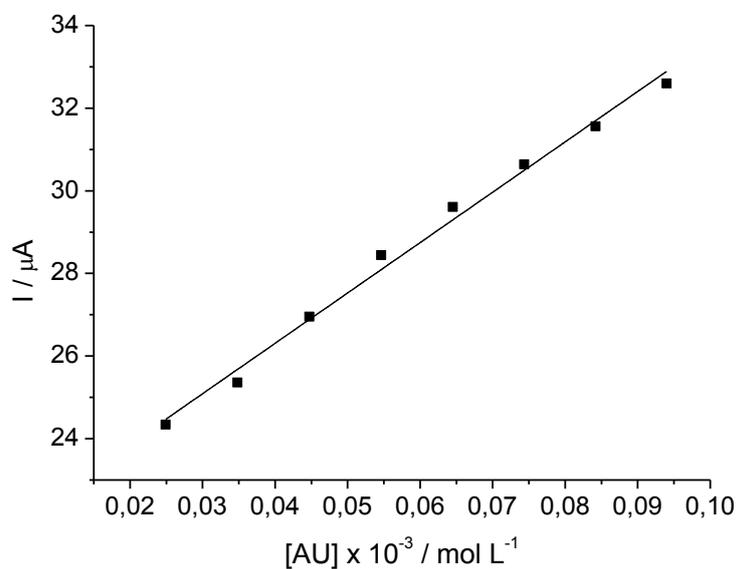
**Figura 50:** Voltametria de pulso diferencial para o sensor modificado na ausência e na presença de  $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico e  $9,9 \times 10^{-6}$  a  $5,4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina. Tampão fosfato  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0.



**Figura 51:** Relação entre a concentração de dopamina *versus* a intensidade de corrente,  $I_{pa}$ , na presença de  $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico.



**Figura 52:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo modificado na ausência e na presença de  $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina e  $2,5 \times 10^{-5}$  a  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de ácido úrico. Tampão fosfato  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7,0.



**Figura 53:** Dependência entre a concentração de ácido úrico *versus* a intensidade de corrente.

No caso do ácido úrico (Figura 52) a concentração foi variada de  $2,5 \times 10^{-5}$  a  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  na presença de  $1,2 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de dopamina em tampão fosfato pH 7,0. A intensidade de corrente da dopamina sofreu uma alteração muito pequena frente às adições sucessivas de ácido úrico que apresentam uma linearidade demonstrada na Figura 53. A Tabela V apresenta os dados obtidos através das curvas analíticas para a variação da concentração de dopamina na presença de uma quantidade fixa de ácido úrico e para variação da quantidade de ácido úrico na presença de uma quantidade fixa de dopamina.

**Tabela V:** Dados obtidos através das curvas analíticas para a variação da concentração de dopamina na presença de uma quantidade fixa de ácido úrico e para variação da quantidade de ácido úrico na presença de uma quantidade fixa de dopamina.

<i>Analito</i>	<i>Equação</i>	<i>R</i>	<i>Sensibilidade</i> ( $\mu\text{A mmol L}^{-1}$ )	<i>LD</i> ( $\text{mmol L}^{-1}$ )	<i>LQ</i> ( $\text{mmol L}^{-1}$ )
DP	$I(\mu\text{A}) = (18,21 \pm 0,12) + (112,14 \pm 5,71) [\text{DP}] (\text{mmol L}^{-1})$	0,991	112,1	$5,5 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-3}$
AU	$I(\mu\text{A}) = (10,21 \pm 0,107) + (58,97 \pm 1,86) [\text{AU}] (\text{mmol L}^{-1})$	0,991	122	$2,2 \times 10^{-4}$	$7,5 \times 10^{-3}$

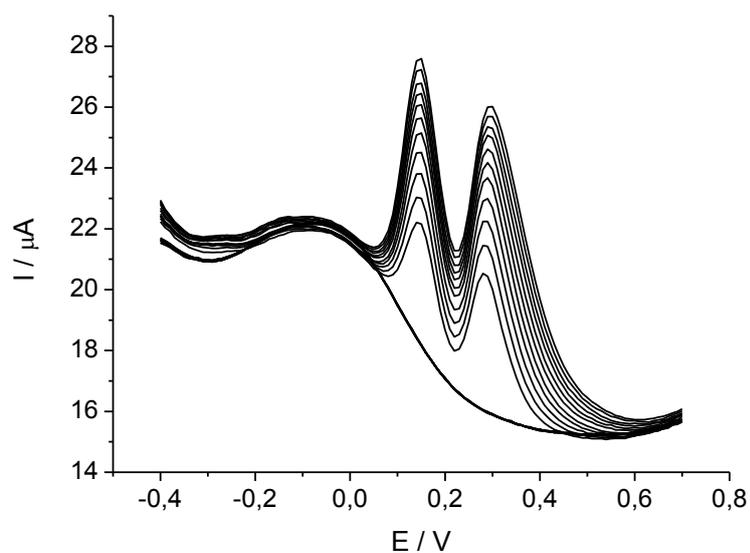
A determinação simultânea por voltametria de pulso diferencial para os dois analitos é apresentada na Figura 54. A faixa estudada foi de  $9,9 \times 10^{-6}$  a  $4,9 \times 10^{-5} \text{ mol}$

$L^{-1}$  de dopamina e  $9,9 \times 10^{-5}$  a  $4,9 \times 10^{-4}$  mol  $L^{-1}$  de ácido úrico. A curva analítica para dopamina é apresentada na Figura 55 e para o ácido úrico na Figura 56. Os dados obtidos são apresentados na Tabela VI.

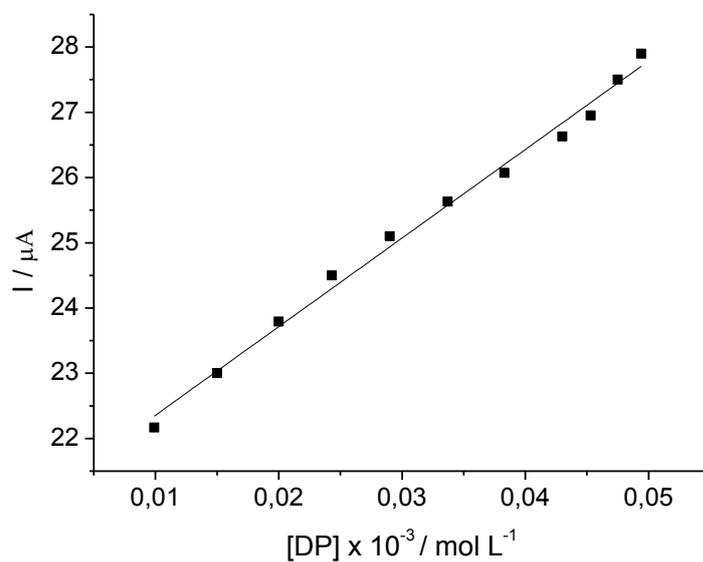
**Tabela VI:** Dados obtidos através das curvas analíticas para a determinação simultânea de dopamina e ácido úrico:

<i>Analito</i>	<i>Equação</i>	<i>R</i>	<i>Sensibilidade</i> ( $\mu A \text{ mmol } L^{-1}$ )	<i>LD</i> ( $\text{mmol } L^{-1}$ )	<i>LQ</i> ( $\text{mmol } L^{-1}$ )
DP	$I(\mu A) = (20,99 \pm 0,13) +$ $(135,75 \pm 3,82) [DP]$ ( $\text{mmol } L^{-1}$ )	0,992	135,8	$3,7 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-3}$
AU	$I(\mu A) = (19,59 \pm 0,10) +$ $(13,14 \pm 0,30) [AU]$ ( $\text{mmol } L^{-1}$ )	0,995	13,1	$3,8 \times 10^{-3}$	0,0126

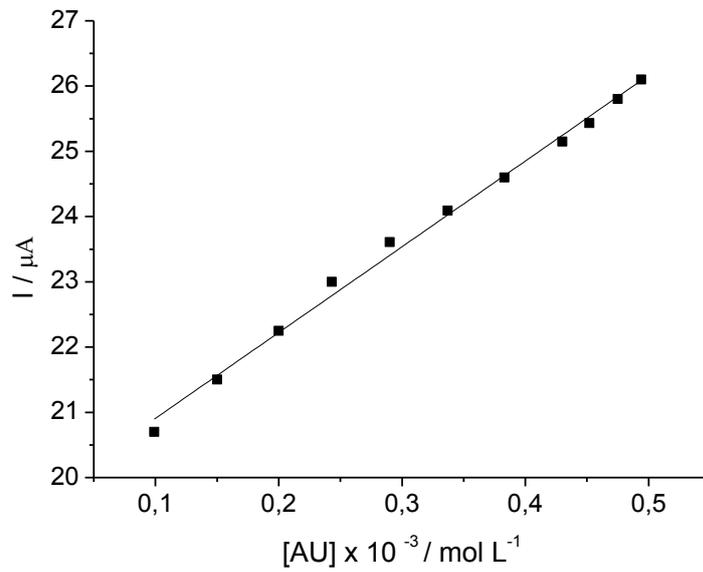
O limite de detecção para a dopamina se mostrou muito satisfatório se comparado a outros sensores apresentados na literatura sendo que a dopamina é encontrada nos fluídos extracelulares em níveis de concentração micromolar<sup>20,21</sup>.



**Figura 54:** Voltametria de pulso diferencial para o eletrodo modificado na ausência e na presença de  $9,9 \times 10^{-6}$  a  $4,9 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de dopamina e  $9,9 \times 10^{-5}$  a  $4,9 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de ácido úrico.



**Figura 55:** Relação obtida por sucessivas adições de dopamina *versus* a intensidade de corrente.



**Figura 56:** Relação obtida por sucessivas adições de ácido úrico *versus* a intensidade de corrente.

---

*Conclusões*

## 5. CONCLUSÕES

O biopolímero acetato de celulose se mostrou eficiente no desenvolvimento de novos materiais aplicados na fabricação de sensores eletroquímicos.

No primeiro estudo foi possível observar que a presença dos óxidos metálicos na superfície do acetato de celulose ocorreu de forma uniforme e eficiente. A matriz CATiSb apresentou-se como eficiente suporte para a imobilização da p-benzoquinona. O eletrodo modificado CATiSbBQ possibilitou a separação e definição dos picos de oxidação do ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico o que é indicativo que o CATiSbBQ pode ser utilizado como um eletrodo seletivo para esses analitos. Não foi observado separação e definição dos picos de oxidação para ácido ascórbico, dopamina e ácido úrico para os materiais CATiSb e CATi. A sensibilidade de 1291,7  $\mu\text{A L mmol}^{-1}$  que o eletrodo modificado apresentou para o ácido ascórbico utilizando a técnica de voltametria de pulso diferencial, demonstrou-se muito satisfatória.

No segundo estudo, o material matriz 0,5 g C mostrou-se eficiente para a fabricação de um sensor sólido condutor a partir do biopolímero acetato de celulose. A matriz 0,5 g C apresentou uma condutividade muito próxima da matriz 2 g C, entretanto suas propriedades mecânicas superaram a matriz 2 g C que se apresentou muito quebradiça, levando a um baixo rendimento na fabricação de eletrodos. A matriz 0,5 g apresentou características poliméricas e uma boa distribuição das partículas de grafite na superfície do material o que foi comprovado através da microscopia eletrônica de varredura e pela técnica de EIE. A quantidade de eletrodos obtidos a partir da síntese da matriz 0,5 g C foi aproximadamente 15 eletrodos, sendo considerado um bom rendimento com pouca perda de material.

No estudo analítico, o eletrodo sólido condutor a base de acetato de celulose se mostrou eficiente para a determinação simultânea de dois importantes bioanalitos:

dopamina e ácido úrico. O eletrodo apresentou uma ótima sensibilidade de  $135,8 \mu\text{A mmol L}^{-1}$  para dopamina.

---

*Referências Bibliográficas*

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Romero, R. B.; “Nanocompósitos de acetato de celulose/montmorillonita”. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, 2009.
2. Almeida, E. V. R.; “Valorização da celulose de sisal: uso na preparação de acetatos e de filmes de acetatos de celulose/celulose e quitosana/celulose”. Tese de Doutorado, Instituto de Química, USP, 2009.
3. Silva, C. A.; “Híbridos de acetato de celulose e polissiloxanos: preparação, propriedades e morfologia”. Dissertação de mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 2005.
4. Hoffmann, A. A.; “Imobilização de Corantes no material híbrido acetato de celulose-óxido de titânio: algumas aplicações eletroanalíticas”. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UFRGS, 2006.
5. Oliveira, A. R. J.; “*Obtenção e caracterização de acetato de celulose modificado com organosilano*”. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 2002.
6. Silva, G. A.; “*Compatibilização de blendas de acetato de celulose e poliestireno com viniltriacetoxissilano: comportamento morfológico e biodegradação*”. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, 2002.
7. Barsan, M. M.; Brett, C. M. A.; *Bioelectrochemistry*. 2009, 76, 135.
8. Dias, S. L. P.; “Utilização do material híbrido orgânico-inorgânico de celulose óxido de titânio para a imobilização de alguns catalisadores”; Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, 2003.

9. Gonçalves, J. E.; “*Estudo, Caracterização, Propriedade e Aplicações do Óxido Binário SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> e antimonatos dos óxidos binários SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>*”. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp,
10. Gushikem Y., Toledo, E. A.; in: *Polym. Inte. Emulsions*; Esumi, K., ed.; Marcel Dekker, New York, 1999, p 509.
11. Zhang, Y.; Pan, L., Gao, C.; Wang, Y.; Zhao, Y.; *J. Sol-Gel Sci. Techn.* 2010, 56, 27.
12. Mizukami, F.; *J. Japan Petrol. Inst.* 2008, 51, **332**.
13. Walcarius, A.; Mandler, D.; Cox, J. A.; Collinson, M.; Lev, O.; *J. Mater. Chem.* 2005, 15, 3663.
14. Walcarius, A., *Chem. Mater.* 2001, 13, 3351.
15. Wang, J.; Walcarius, A.; *J. Electroanal. Chem.* 1996, 407, 183.
16. Siro, I.; Plackett, D.; *Cellulose* 2010, 17, 459.
17. Richardson, S.; Gorton, L.; *Anal. Chim. Acta* 2003, 497, 27.
18. Yue, Z.; McEwen, I. J.; Cowie, J. M. G.; *Solid State Ionics* 2003, 155.
19. Miyamoto, T.; Takahashi, S.; Ito, H.; Inagaki, H.; Noishiki, Y.; *J. Biomed. Mater. Res.* 1989, 23 125.
20. Wara, N. M.; Francis, L. F.; Velamakanni, B. V.; *J. Membrane. Sci.* 1995, 104 43.
21. Sourirajan, S.; Matsura, T.; *ACS Symposium Series No. 281, American Chemical Society*, Washington, DC, 1985.
22. Borgo, C. A.; Lazzarin, A. M.; Kholin, Y. V.; Landers, R.; Gushikem, Y.; *J. Brazil. Chem. Soc.* 2004, 15, 50.
23. Lazzarin, A. M.; Borgo, C. A.; Gushikem, Y., Kholin, Y. V.; *Anal. Chim. Acta* 2003, 477, 305.

24. Nabi, S. A.; Naushad, M.; *Colloid. Surface. A*, 316 2008, 316, 217.
25. Splendore, G.; Benvenuti, E. V.; Kholin, Y. V.; *J. Brazil. Chem. Soc.* 2005, 16 147.
26. Lazarin, A. M.; Landers, R.; Kholin, Y. V.; Gushikem, Y.; *J. Colloid Interf. Sci.* 2002, 254, 31.
27. Lazarin, A. M.; Gushikem, Y.; *J. Brazil. Chem. Soc.* 2002, 13, 88.
28. Ali, M.; Zafar, M.; Jamil, T.; Butt, M. T. Z.; *Desalination* 2011, 270, 98.
29. Adachi, K.; Mita, T.; Tanaka, S.; Honda, K.; Yamazaki, S.; Nakayama, M.; Goto, T.; Watarai, H.; *RSC Adv.* 2012, 2, 2128.
30. Faria, E. A.; Prado, A. G. S.; *React. Funct. Polym.* 2007, 67, 655.
31. Prado, A. G. S.; Faria, E. A.; Souza De, J. R.; Torres, J. D.; *J. Mol. Catal. A-Chem.* 2005, 237, 115.
32. Chatterjee, S.; Sarkar, S.; Bhattacharyya, S. N.; *Polymer* 1993, 34, 1979.
33. Shim, I. W.; Noh, W. T.; Kwon, J.; Cho, J. Y.; Kim, K. S.; Kang, D. H.; *Bulletin of the Korean Chemical Society* 2002, 23, 563.
34. Portela, R.; Sánchez, B.; Coronado, J. M.; Candal, R.; Suárez, S.; *Catal. Today* 2007, 129, 223.
35. Liu, R.; Ye, H.; Xiong, X.; Liu, H.; *Mater. Chem. Phys.* 2010, 121, 432.
36. Ikeda, Y.; Kurokawa, Y.; Nakane, K.; Ogata, N.; *Cellulose* 2002, 9, 369.
37. Ikeda, Y.; Kurokawa, Y.; *J. Biosci. Bioeng.* 2002, 93, 98.
38. Ikeda, Y.; Kurokawa, Y.; *J. Sol-Gel Sci. Techn.* 2001, 21, 221.
39. Ohmori, Y.; Kurokawa, Y.; *J. Biotechnol.* 1994, 33, 205.
40. Hatayama, H.; T. Swabe, Kurokawa, Y.; *J. Sol-Gel Sci. Techn.* 1996, 7, 13.
41. Kelley, S. S.; Filley, J.; Greenberg, A. R., Peterson, R.; Krantz, W. B.; *Int. J. Polym. Anal.* 2002, 7, 162.

42. Campos, E. A.; Gushikem, Y.; *J. Colloid Interf. Sci.* 1997, 193, 121.
43. Arthanareeswaran, G.; Thanikaivelan, P.; *Sep. Purif. Technol.* 2010, 74, 230.
44. Arthanareeswaran, G.; Devi, T. K. S.; Raajenthiren, M.; *Sep. Purif. Technol.* 2008, 64, 38.
45. Hyde, G. K.; Stewart, S. M.; Scarel, G.; Parsons, G. N.; Shih, C-C.; Shih, C-M.; Lin, S-J; Su, Y-Y, Monteiro-Riviere, N. A., R.J. Narayan, R. J.; *Biotechnol. J.* 2011, 6, 213.
46. Johari, N. A.; Kudin, T. I. T; Ali, A. M. M.; Winie, T.; M.Z.A. Yahya, M. Z. A.; *Mater. Res. Innov.* 2009, 13, 232.
47. Hoffmann, A. A.; Dias, S. L. P.; Rodrigues, J. R.; Pavan, F. A.; Benvenuti, E. V.; Lima, E. C.; *J. Brazil. Chem. Soc.* 2008, 19, 943.
48. Hoffmann, A. A.; Dias, S. L. P.; Rodrigues, J. R.; Pavan, F. A.; Benvenuti, E. V.; Lima, E. C.; Scotti, R.; Ribeiro, E. S.; Gushikem, Y.; *J. Brazil. Chem. Soc.* 2007, 18, 1462.
49. Lazarin, A. M.; Borgo, C. A.; Gushikem, Y.; *J. Membrane Sci.* 2003, 221, 175-184.
50. Borgo, C. A.; Lazarin, A. M.; Gushikem, Y.; *Sensor. Actuat. B-Chem.* 2002, 87, 498.
51. Walcarius, A.; *Electroanal.* 2001, 13, 701.
52. Tess, M. E.; Cox, J. A.; *J. Pharmaceut. Biomed.* 1999, 19, 55.
53. Ojani, R.; Raof, J-B; Fathi, S.; Alami-Valikchali, S.; *J Solid State Electr.* 2011, 15, 1935.
54. Walcarius, A.; Ganesan, V., *Langmuir* 2006, 22, 469.
55. Manea, F.; Remes, A.; Radovan, C.; Pode, R.; Picken, S.; Schoonman, J.; *Talanta* 2010, 83, 66.

56. Walcarius, A.; *Electroanal.* 2008, 20, 711.
57. Wang, J., *Anal. Chim. Acta* 1999, 399, 21.
58. Lev, O.; Wu, Z.; Bharathi, S.; Glezer, V.; Modestov, A.; Gun, J.; Rabinovich, L.; Sampath, S.; *Chem. Mater.* 1997, 9, 2354.
59. Vázquez, M. I.; Romero, V.; Hierrezuelo, J.; Rico, López-Romero, R. J. M.; López-Ramírez, M. R.; Benavente J.; *J. Membrane Sci.* 2011, 370, 70.
60. M.H. Gabr, M. H.; Elrahman, M. A.; Okubo, K.; Fujii, T.; *Compos. Struct.* 2010, 92, 1999.
61. Ma, H.; Burger, C.; Hsiao, B. S.; Chu, B.; *Biomacromolecules* 2011, 12, 970.
62. Kubota, L. T.; Gushikem, Y.; DeCastro, S.; J.C. Moreira, J. C.; *Colloids Surf.* 1991, 57, 11.
63. Zaitseva, G.; Gushikem, Y.; Ribeiro, E. S.; Rosatto, S. S. *Electrochim. Acta* 2002, 47 1469.
64. Quintino, M. S.; “*Desenvolvimento de um sensor eletroquímico Associado a Batch Injection Analysis (BIA) para Aplicações Analíticas*”. Tese de Doutorado. Instituto de Química, USP, 2003.
65. Brett, A. M. O., Brett, C. M. A.; “*Electroquímica – Princípios, Métodos e Aplicações*”. Almeida, Coimbra, 1996.
66. Wolyneec, S.; *Técnicas Eletroquímicas de Corrosão*; EdUSP, 2003, p. 115.
67. Niu, X.; Yang, W.; Guo, H.; Ren, J.; Gao, J., *Biosen. Bioelectron.* 2013, 41, 225.
68. Jirimali, H. D.; Nagarale, R. K.; Saravanakumar, D.; Lee, J. M., Shin, W., *Carbohydr. Polym.* 2013, 92, 641.
69. Shankar, S. S.; Swamy, B. E. K.; Chandrashekar, B. N.; Gururaj K. J.; *J. Mol. Liq.* 2013, 177, 32.

70. Wu, G.; Wu Y., Liu, X. Rong, M.; Chen, X.; Chen, X.; *Anal. Chim. Acta.* 2012, 745, 33.
71. Rattanarat, P.; Dungchai, W; Siangproh; Chailapakul, O.; Henry, C. S.. *Anal. Chim. Acta.* 2001, 744, 1.
72. Rand E.; Periyakaruppan, A.; Tanaka, Z.; b, Zhang D. A., Michael P.Marsh, P. M.; Andrews R. J.; Lee, K. H.; Chen, B.; Meyyappan, M.; Koehne, *Biosens. Bioelectron.* 2013, 42, 434.
73. Thomas, T.; Mascarenhas R. J.; Swamy, B. E. K.. *J. Mol. Liq.* 2012, 174, 70.
74. Zhou, S.; Shi, H.; Feng, X.; Xue, K.; Sonh, W.; *Biosens. Bioelectron.* 2013, 42, 163.
75. Lima P. R., Miranda P. R. B., Oliveira A. B.; *Electroanalysis* 2009, 21, 2311.
76. Toledo, E. A.; “*Preparação e caracterização de compósitos de celulose e óxidos de antimônio*”. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, 1998.
77. Maroneze, C. M.; “*SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>/Grafite preparados pelo método sol-gel: um novo material carbono cerâmico eletricamente condutor*”. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Unicamp, 2008.
78. Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2<sup>nd</sup> ed. Wiley, New York, 2001.
79. Pessoa, C. A. “*Estudo eletroquímico de corantes orgânicos com propriedades redox imobilizados sobre o fosfato de zircônio*”. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Unicamp, 1997.
80. Moreno, G., Pariente, F., Lorenzo, E., *Anal. Chim. Acta.* 2000, 420, 29.
81. Dong, Y. P., Huang, L.; Zhang, J.; Chu, X. F.; Zhang, Q. F.; *Electrochim. Acta.* 2012, 74, 189.

82. Dai, Y.; Zhang, N.; Wu, D.; Yang, J.; Zhao, J.; Chen, G.; Zhao, W.; Feng, R.; Du, B.; Wei, Q.; *J Inorg Organomet Polym.* 2011, 21, 871.
83. Li, F.; Li, J.; Feng, Y.; Yang, L.; Du, Z.; *Sens. Actuators, B: Chemical.* 2011, 157, 110.
84. Badu, T. G. S.; Suneesh, P. V.; Ramachandran, T.; Nair, B.; *Ana. Lett.* 2010, 43 2809.
85. Kumar, S. A.; Cheng, H.; Chen S.; *React. Function. Polym.* 2009, 69, 364.
86. Castilho, R. F.; Souza, E. B. R.; Alfaya, R. V. S.; Alfaya, A. A. S.; *Electroanalysis* 2008, 20, 157.
87. Arenas, L. T.; Villis, P. C. M.; Arguello, J.; Landers, R.; Benvenuti E. V.; Gushikem, Y.; *Talanta* 2010, 83,241.
88. Leidens, V. L.; “*Preparação do SiO<sub>2</sub>/fosfato de zircônio (IV) pelo método de processo sol-gel: caracterização e propriedades*”. Tese de Doutorado. Instituto de Química, Unicamp, 2008.