UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação de Química

Lucas Patricio Hernández Saravia

**Fabricação de novas superfícies
eletroativas para a fabricação de sensores
eletroquímicos para oxigênio**

Versão da tese Corrigida

São Paulo

Data do Depósito na
SPG: 18/01/2018

Lucas Patricio Hernández Saravia

**Fabricação de novas superfícies
eletroativas para a fabricação de sensores
eletroquímicos para oxigênio**

Tese apresentada ao instituto de
Química da Universidade de São
Paulo para a obtenção do título de
Doutor em Ciências (Química).

Orientador: Prof. Dr. Mauro Bertotti

São Paulo 2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

H557f	Hernández Saravia, Lucas Patricio Fabricação de novas superfícies eletroativas para a fabricação de sensores eletroquímicos para oxigênio / Lucas Patricio Hernández Saravia. - São Paulo, 2018. 111 p. Tese (doutorado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental. Orientador: Bertotti, Mauro 1. eletrodos modificados. 2. complexos de porfirina. 3. nanoestruturas de ouro. 4. redução de oxigênio. 5. técnicas eletroquímicas. I. T. II. Bertotti, Mauro, orientador.
-------	--

*“Embora não tenhamos nada,
queremos fazer tudo” - Carlos
Dittborn*

*Esta pesquisa me fez conhecer outra
cultura, língua e oportunidades, e
isso somente foi possível com o apoio
da minha mãe e da minha família.
Obrigado*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mauro Bertotti, por ter me ajudado a concluir este trabalho, pelo acolhimento no laboratório, por todos os jogos no areião e por me ensinar.

À minha família, Pamela, Renato, Diana, Benjamin, Andrea, Ignacia, Josefa e Piery, muito obrigado pelo seu amor e apoio. Sem vocês, não sou nada.

Ao Prof. Dr. Koiti Araki, pela contribuição e ensinamentos proporcionados durante o desenvolvimento deste trabalho, assim como pela permissão para o uso de seus laboratórios de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Lúcio Angnes, à Profa. Dra. Silvia Serrano e ao Prof. Dr. Thiago Paixão, por participarem do meu exame de qualificação e contribuírem para a melhoria desse trabalho.

Aos demais docentes da Área de Química Analítica (IQ-USP), pelos ensinamentos oferecidos.

A todos os funcionários da Seção de Pós-Graduação, pela forma eficaz com que realizaram seu trabalho.

Ao Dr. Anandhakumar Sukeri, pela amizade e ajuda no desenvolvimento de minha pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia (LQSN), Josué, Juan e Tiago Matias, obrigado por sua amizade.

A todos os meus amigos colombianos (especialmente a John e Julie), indianos, chilenos, peruanos, uruguaios, holandeses, bolivianos, venezuelanos, brasileiros (especialmente a Mariana), cubanos e equatorianos que conheci no Brasil.

À galera do areião, com quem joguei bola e pratiquei esporte.

À CAPES e à Pró-Reitoria de Pós-Graduação da USP, pelo suporte financeiro.

Muito Obrigado.

RESUMO

Saravia, L.P.H. **Fabricação de novos eletrodos modificados como sensores eletroquímicos para oxigênio** 2017. 111p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências (Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Durante o desenvolvimento deste projeto, foram obtidos diversos resultados relativos à construção de distintos sensores eletroquímicos para a determinação de oxigênio em meio aquoso em amostras biológicas e ambientais. Para a construção destes sensores foram usadas diferentes superfícies eletródicas, preparadas pela incorporação de porfirinas de cobalto sintetizadas e caracterizadas no laboratório do Prof. Dr. Koiti Araki, tais como a 5,10,15,20-meso-tetrafenilporfirina de cobalto (CoTPP) e a [tetrakis-bisdimetil-bipiridina cloro rutênio(II)]-5,10,15,20-Tetrapiridinaporfirina de cobalto (II) (CoTRP). Eletrodos de ouro modificados com nanoestruturas de ouro também foram empregados para a detecção de oxigênio. Em alguns casos, óxido de grafeno (GO) foi imobilizado nas superfícies eletródicas para melhorar o transporte de elétrons.

Porfirinas de CoTPP foram imobilizadas em eletrodo de carbono vítreo (GCE) e o comportamento eletroquímico desse eletrodo modificado para a redução de oxigênio em solução aquosa de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi comparado com o do GCE, observando-se diminuição do sobrepotencial. A utilidade do sensor foi demonstrada pelo monitoramento amperométrico contínuo do consumo de oxigênio mitocondrial e os resultados foram concordantes com aqueles obtidos em medições paralelas realizadas usando um eletrodo comercial ("eletrodo de Clark").

GO foi misturado com a porfirina de CoTRP para a preparação de compósitos, os quais foram posteriormente imobilizados em superfícies eletródicas. Verificou-se que as moléculas de CoTRP ficavam em forma horizontal na superfície do GO, gerando nanoestruturas mais dispersas em meios aquosos dependendo da quantidade relativa de CoTRP e GO. Esta característica foi usada para modular a atividade eletrocatalítica dos compostos na reação de redução de oxigênio (ORR) em meio neutro. O material foi caracterizado por microscopia eletrônica de transmissão, Raman, espectroscopia UV-vis e microscopia de força atômica (AFM), e os resultados confirmaram que a porfirina CoTRP é fortemente ancorada no GO

por meio de interações eletrostáticas. A ORR no eletrodo modificado CoTRP/GO foi avaliada por técnicas eletroquímicas e baixo sobrepotencial (0,05 V) foi notado no processo de quatro elétrons envolvendo a redução do oxigênio. Esse valor é dramaticamente deslocado para potenciais menos negativos (0,88V em relação ao GCE), e o excelente desempenho do eletrodo permite sua utilização como sensor efetivo para o monitoramento contínuo de oxigênio dissolvido em meio aquoso.

Filmes nanoporosos de ouro (NPGF) foram preparados em superfície de ouro pela aplicação de potencial de 2,0 V por 60 minutos em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} . A presença de nanoestruturas de ouro foi confirmada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e o eletrodo NPGF mostrou atividade eletrocatalítica superior para a ORR em comparação com a superfície polida de ouro

Superfícies de ouro mais ativas eletrocataliticamente também foram preparadas por redução eletroquímica de Au^{3+} em eletrodos de carbono vítreo. Com um tempo de deposição ótimo de 90 s, superfícies rugosas foram obtidas e caracterizadas por MEV e difração de raios X (XRD). Esses eletrodos modificados foram empregados com sucesso para o monitoramento de oxigênio dissolvido em amostras de água e o desempenho analítico foi avaliado com base em parâmetros como sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade, estabilidade e limite de detecção (LOD).

Palavras Chaves: eletrodos modificados, complexos de porfirina, nanoestruturas de ouro, redução de oxigênio, técnicas eletroquímicas.

ABSTRACT

Saravia, L.P.H. **Fabrication of novel modified electrodes as electrochemical sensors for oxygen**. 2017. 111p. PhD Thesis – graduate Program in Chemistry. Institute of Chemistry, University of São Paulo, São Paulo.

During the development of this project, several results were obtained concerning the construction of different electrochemical sensors for the determination of oxygen in aqueous media in biological and environmental samples. Different electrode surfaces were used for the construction of these sensors, which were prepared by the incorporation of cobalt porphyrins synthesized and characterized in the laboratory of Prof. Koiti Araki, such as cobalt 5,10,15,20-meso-tetraphenylporphyrin (CoTPP) and [tetrakis-bisdimethyl-bipyridine chlorine (II)] - 5,10,15,20-Cobalt tetrahydrin (II) (CoTRP). Gold electrodes modified with gold nanostructures were also employed for the detection of oxygen. In some cases, graphene oxide (GO) was immobilized on the electrode surfaces to improve the electron transport.

CoTPP porphyrins were immobilized on a vitreous carbon electrode (GCE) and the electrochemical behavior of this modified electrode for the reduction of oxygen in 0.1 mol L⁻¹ KNO₃ aqueous solution was compared with that of a GCE, a reduction of the overpotential being observed. The utility of the sensor was demonstrated by the continuous amperometric monitoring of the mitochondrial oxygen consumption and the results were in agreement with those obtained in parallel measurements performed by using a commercial electrode ("Clark electrode").

GO was mixed with the CoTRP porphyrin for the preparation of composites, which were subsequently immobilized on electrode surfaces. The CoTRP molecules were found to be horizontal in the GO surface, generating more dispersed nanostructures in aqueous media depending on the relative amount of CoTRP and GO. This characteristic was used to modulate the electrocatalytic activity of the compounds in the oxygen reduction reaction (ORR) in neutral medium. The material was characterized by transmission electron microscopy, Raman, UV-vis spectroscopy and atomic force microscopy (AFM), and the results confirmed that CoTRP porphyrin is strongly anchored in the GO by means of electrostatic

interactions. The ORR in the modified CoTRP / GO electrode was evaluated by electrochemical techniques and a low overpotential (0.05 V) was observed in the four-electrons process involving the reduction of oxygen. This value is dramatically shifted to less negative potentials (0.88V compared to GCE), and the excellent electrode performance allows its use as an effective sensor for the continuous monitoring of oxygen dissolved in aqueous medium.

Gold nanoporous films (NPGF) were prepared on a gold surface by application of 2.0 V for 60 minutes in 0.5 mol L⁻¹ H₂SO₄ solution. The presence of gold nanostructures was confirmed by scanning electron microscopy (SEM) and the NPGF electrode showed superior electrocatalytic activity for the ORR compared to the gold polished surface.

More electrocatalytically active gold surfaces were also prepared by electrochemical reduction of Au³⁺ on glassy carbon electrodes. With an optimum deposition time of 90 s, rough surfaces were obtained and characterized by SEM and XRD. These modified electrodes were successfully used for the monitoring of dissolved oxygen in water samples and the analytical performance was evaluated based on parameters such as sensitivity, selectivity, reproducibility, stability and limit of detection (LOD).

Keywords: Modified electrodes, porphyrin complexes, gold nanostructures, oxygen reduction, electrochemical techniques.

SUMÁRIO

1. Introdução	26
1.1. Sensores eletroquímicos	26
1.1.1. Técnicas usadas em trabalhos com sensores eletroquímicos	27
1.1.2. Aplicações: Sensores eletroquímicos	28
1.1.3. Superfícies modificadas para a determinação de oxigênio	29
1.1.3.1. Porfirinas.....	29
1.1.3.2. Óxido de grafeno e compósitos	31
1.1.3.3. Nanopartículas.....	32
1.1.4. Sensores eletroquímicos para a detecção de oxigênio e desprendimento de hidrogênio	32
1.1.5. Estudo de superfícies	35
1.1.5.1. Raman	35
1.1.5.2. Microscopia de força atômica (AFM).....	37
1.1.5.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	38
1.1.5.3. Espectroscopia de impedância eletrônica (EIS).....	40
Objetivos	43
3. Parte Experimental	44
3.1. Reagentes.....	44
3.2. Instrumentação	44
3.3. Construção do eletrodo de referência de Ag/AgCl	45
3.4. Porfirinas.....	46
3.4.1. Síntese de CoTPP	46
3.4.1.1. Modificação da superfície do eletrodo com filme de CoTPP	46
3.4.2. Síntese do CoTRP	47
3.4.2.1. Preparação de compósitos CoTRP/nGO	48
3.4.2.2. Preparação de eletrodos de GCE modificados com CoTRP/nGO	49

3.4.3. Nanopartículas.....	50
3.4.3.1. Eletrocorrosão do eletrodo de ouro para a formação de nanoporos de ouro 50	
3.4.3.2. Eletrodeposição das nanopartículas de ouro	51
3.5. Célula para preparação de soluções de concentração conhecida de O ₂	52
3.7. Preparação de amostras ambientais.....	53
4. Resultados e discussão.....	55
4.1. Sensor de porfirina de cobalto (II) (CoTPP/GCE).....	55
4.1.1. Redução eletrocatalítica de oxigênio dissolvido no eletrodo modificado CoTPP/GCE.....	55
4.2. Sensor de oxigênio CoTRP/nGO	62
4.2.1. Caracterização dos compósitos CoTRP/nGO.....	63
4.2.2. Comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados com CoTRP/nGO.....	68
4.2.3. Redução eletrocatalítica do oxigênio nos eletrodos CoTRP/nGO	69
4.2.4. Aplicações	72
4.3. Filme de nanoporos de ouro (NPGF)	73
4.3.1. Utilização dos eletrodos NPGF na ORR	75
4.3.2. Calibração e estabilidade do NPGF	76
4.4. Nanopartículas de ouro (Au nanopartículas/GCE)	77
4.4.1. Caracterização eletroquímica e microscópica de varredura eletrônica das Au nanopartículas/GCE	78
4.4.2. Estudo eletroquímico sobre ORR em eletrodos modificados com nanopartículas de ouro	80
4.4.3. Aplicações	83
4.4.4. Comportamento eletroquímico para a reação de desprendimento de hidrogênio (HER)	85
4.5. Utilização do melhor sensor para análises em amostras ambientais	88

5. Conclusões.....	91
6. Referências	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Esquema geral dos principais componentes de um sensor químico [5]	26
Figura 2 Esquema de técnicas usadas em trabalhos com sensores eletroquímicos.....	28
Figura 3 Representação geral da estrutura das porfirinas	30
Figura 4 Representação da estrutura do óxido de grafeno (GO)	31
Figura 5 Representação do funcionamento do Raman.....	36
Figura 6 Representação do funcionamento do microscópio de força atômica	38
Figura 7 Representação esquemática da região de ionização gerada na interação do feixe de elétrons com a superfície no MEV	39
Figura 8 Esquema do circuito para um processo de eletrodo simples proposto por Randles [101]	41
Figura 9 Gráfico de impedância no plano complexo de um sistema eletroquímico simples..	42
Figura 10 Representação da estrutura da porfirimina de cobalto (II) tetrafenilporfirimina (CoTPP).	46
Figura 11 Representação da estrutura da [Tetraquis-bisdimetilbipiridina clororutênio (II)]- 5,10,15,20-tetrapiridilporfirimina de cobalto (II) (CoTRP)	48
Figura 12 Representação do processo de deposição dos compósitos em eletrodo de carbono vítreo por “drop casting”	49
Figura 13 Representação do processo da eletrocorrosão do eletrodo de ouro para a formação dos nanoporos de ouro.....	50
Figura 14 Representação do processo da eletrodeposição das nanopartículas de ouro no eletrodo de carbono vítreo	51
Figura 15 Representação esquemática do sistema de calibração de oxigênio. A: entrada do oxigênio, B: solução saturada de oxigênio C: válvula da entrada da solução de oxigênio saturado, D: contra eletrodo, E: eletrodo de trabalho, F: eletrodo de referência, G: saída da solução, H: célula de medição, I: agitador magnético.....	52
Figura 16 Voltamogramas cíclicos registrados com o eletrodo modificado CoTPP/GCE em uma solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura (A); gráfico de i_p vs v preparado com os dados da figura 16A (B)	56
Figura 17 Voltamogramas cíclicos registrados em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada com oxigênio usando GCE (linha vermelha) e eletrodo modificado CoTPP/GCE (linha verde) e sem oxigênio usando GCE (linha preta) e eletrodo modificado CoTPP/GCE (linha azul). Velocidade de varredura: $0,1 \text{ V s}^{-1}$	57

Figura 18 Voltamogramas cíclicos registrados com CoTPP/GCE em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} saturada com oxigênio: (A) 0,02 até 0,2 V s^{-1} , (B) corrente de pico versus a raiz quadrada da velocidade de varredura, (C) corrente de pico versus o logaritmo da velocidade de varredura e (D) potencial de pico versus a raiz de velocidade de varredura.	59
Figura 19 Voltamogramas cíclicos registrados com CoTPP/GCE a velocidade de 0,1 V s^{-1} em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} contendo oxigênio em diferentes concentrações: 5,0 até 48,7% de saturação (A). Curva de calibração (B).....	60
Figura 20 Monitoramento contínuo de oxigênio usando o eletrodo modificado CoTPP/GCE durante borbulhamento de oxigênio e argônio em solução de KNO_3 0,1mol L^{-1} . $E = -0.5 \text{ V}$.	61
Figura 21 Resposta amperométrica do eletrodo modificado CoTPP/GCE ($E = -0,5 \text{ V}$) e dados de concentração de O_2 dissolvido obtidos com eletrodo de Clark (linha vermelha) e CoTPP/GCE (linha azul), em meio celular, após adição de mitocôndrias (a,a', ~0,5 mg mL^{-1}), succinato (b,b', 1 mmol L^{-1}), ADP (c,c', 1 mmol L^{-1}) e oligomicina (d,d', 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$).....	62
Figura 22 Espectro UV-Vis de CoTRP, GO e CoTRP/4GO em solução aquosa.....	63
Figura 23 Imagens AFM e análise de cross-section do perfil de altura dos filmes das porfirinas CoTRP/GO (A e B) e CoTRP/4GO (C e D).....	64
Figura 24 Imagens TEM do compósito CoTRP/GO (A e B) e CoTRP/4GO (C e D). Espectro EDS do compósito CoTRP/4GO em (E), 1: branco e 2: compósito	65
Figura 25 Espectros Raman de GO (a) e CoTRP (b) na faixa de 500 a 4000 cm^{-1}	66
Figura 26 Espectros Raman de CoTRP, GO e o nanocomposito CoTRP/4GO (A). Imagens Raman confocal do nanocomposito CoTRP/4GO geradas a partir dos espectros CoTRP (B), de GO (C) e CoTRP/4GO (D). Sinal Raman correspondente ao perfil transversal ao longo da linha verde vertical indicada na Fig. 26D, considerando a contribuição de CoTRP (linha azul) e GO (linha vermelha) (E)	67
Figura 27 Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado CoTRP/4GO em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} a distintas velocidades de varredura (A) e corrente de pico vs velocidade de varredura (B).....	68
Figura 28 Voltamogramas cíclicos registrados em solução KNO_3 0,1 mol L^{-1} saturada com O_2 em eletrodos GCE (a), GO/GCE (b), CoTRP/GCE (c) and CoTRP/4GO (d) (A) e com eletrodos modificados CoTRP/nGO preparados com distintas proporções de porfirimina e GO: CoTRP/GO (a'), CoTRP/4GO (b'), CoTRP/6GO (c') (B). Velocidade de varredura: 0,1 V s^{-1} .	70

Figura 29 Voltamogramas registrados com eletrodo de disco rotativo (RDE) em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} saturada com O_2 usando o eletrodo modificado CoTRP/4GO (A). Gráficos de Levich (B) e Koutecky-Levich (C), em diferentes potenciais, e curvas teóricas para os processos de 2- e 4-elétrons (linha preta e linha verde, respectivamente)	71
Figura 30 Resposta amperométrica registrada em -0,05 V em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} com eletrodo modificado CoTRP/4GO variando-se a concentração de oxigênio dissolvido (0,00 a 21,24 mg L^{-1}), a qual foi determinada com um oxímetro (A). Curva de calibração correspondente (B)	72
Figura 31 Resposta amperométrica com eletrodo modificado CoTRP/4GO em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} , borbulhando argônio e oxigênio ($E = -0,05$ V)	73
Figura 32 Voltamogramas registrados em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} preparados em diferentes tempos de espera 0, 10, 20, 30, 60 minutos (linhas preta, vermelha e azul, verde e rosa respectivamente) (A). Velocidade de varredura: 0,1 V s^{-1} . Imagens FE-SEM dos nanoporos de ouro (B e C).....	74
Figura 33 Voltamogramas cíclicos registrados em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} saturada com O_2 usando, Au e NPGF (linha vermelha e azul respectivamente) a uma velocidade de varredura de 0,1 V s^{-1} (A); Voltamogramas cíclicos registrados com eletrodo modificado com NPGF na presença de O_2 variando-se a velocidade de varredura desde 0,01 a 0,20 V s^{-1} (B).	75
Figura 34 Voltamogramas cíclicos registrados com NPGF a velocidade de 0,1 V s^{-1} em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} contendo oxigênio em diferentes concentrações: 0,0 até 71,8% de saturação (A). Curva de calibração (B) e resposta amperométrica do NPGF frente à variação de O_2 ; $E = 0,00$ V (C).....	77
Figura 35 Voltamogramas registrados em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} com eletrodos modificados com nanopartículas da Au, preparados em diferentes potenciais (-2,0, -3,0 e -4,0 V, linhas preta, vermelha e azul, respectivamente) por 90 segundos. Velocidade de varredura: 0,1 V s^{-1}	78
Figura 36 Voltamogramas registrados em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} com GCE (linha preta), eletrodo de Au polido (linha vermelha) e GCE modificado com nanopartículas de Au (linha azul) a uma velocidade de varredura de 0,1 V s^{-1} (A) e imagens FE-SEM das nanopartículas de ouro (B e C)	79
Figura 37 Imagem FE-SEM de nanopartículas de ouro (A) e espectros EDS registrados nas posições 1 (B) e 2 (C). Análise cristalográfica por XRD das nanopartículas de Au (D)	80

Figura 38 Voltamogramas cíclicos registrados em solução de PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH=7) saturada com O ₂ usando eletrodos GCE (a'), Au (b') e GCE modificado com nanopartículas de ouro (c'), e na ausência de O ₂ : GCE (a), Au (b), modificado com nanopartículas de ouro (c) a uma velocidade de varredura de 0,1 V s ⁻¹ (A); Voltamogramas cíclicos registrados com eletrodo modificado com nanopartículas de ouro na presença de O ₂ variando-se a velocidade de varredura (B). Influência da velocidade de varredura na corrente de pico obtida dos voltamogramas mostrados em B (C).....	82
Figura 39 Voltamogramas registrados com eletrodo de disco rotativo (RDE) modificado com nanopartículas de ouro em solução de PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH=7) saturada com O ₂ (velocidade de varredura de 0,01 V s ⁻¹) (A). Gráfico de Koutecky-Levich em diferentes potenciais e curvas teóricas para os processos de 2- e 4-elétrons (linha vermelha e linha preta, respectivamente) (B).....	83
Figura 40 Voltametria linear (LSV) correspondente à variação da concentração de oxigênio (0,00 a 39,68 mg L ⁻¹) em solução de PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH=7) usando eletrodo modificado com nanopartículas de ouro em velocidade de varredura de 0,1 V s ⁻¹ (A). Curva de calibração correspondente (B)	84
Figura 41 Resposta amperométrica registrada com eletrodo modificado com nanopartículas de ouro em solução de PBS 0,1 mol L ⁻¹ (pH=7) durante borbulhamento de argônio e oxigênio (A) e após adição de interferentes: glicose (Glu), ureia e ácido ascórbico (AA), (1 mmol L ⁻¹). (E= -0,12 V)	85
Figura 42 Voltametria linear (LSV) em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ usando eletrodos GCE (linha preta), Au (linha vermelha), platina (linha azul) e GC modificado com nanopartículas de ouro (linha verde) a uma velocidade de varredura de 5 mV s ⁻¹ (iR corrigido) (A). Curvas de Tafel (B). Voltametria linear (LSV) em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ usando o eletrodo modificado com nanopartículas de ouro: ciclo 1, 1000 e 2000 (linha preta, vermelha e azul, respectivamente) (C). Curva de potencial em função do tempo durante aplicação de corrente catódica constante de 10 mA cm ⁻² durante 17 h em uma solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ , na ausência de oxigênio (D)	87
Figura 43 Diagramas de Nyquist para diferentes eletrodos obtidos em uma solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹	88
Figura 44 Fotografias onde se tomaram as amostras do lago da USP ("raia olímpica"), na direita "Água da raia (1)" (localização: "-23.555980, -46.721004") e na esquerda "Água da raia (2)" (localização: "-23.555648, -46.721695")	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Desempenho analítico de diferentes eletrodos modificados como sensores para oxigênio dissolvido.....	33
Tabela 2 Comparação do desempenho de diferentes materiais frente à HER	35
Tabela 3 Concentrações de oxigênio dissolvido em águas e impacto para a vida aquática.	54
Tabela 4 Sensores eletroquímicos para a detecção de oxigênio.....	89
Tabela 5 Resultado de amostras ambientais	90

LISTA DE ABREVIações

A	– Área do eletrodo
AFM	– Microscopia de força atômica (<i>atomic force microscopic</i>)
Ag/AgCl	– Eletrodo de prata/cloreto de prata, cloreto de potássio saturado
Amp	– Amperometria (Amperometry)
C _{celula}	– Concentração de oxigênio na célula eletroquímica
CoTPP	– 5,10,15,20-meso-tetrafenilporfirina de cobalto
CoTRP	– [Tetrakis-bisdimetil bipyridina cloro rutênio(II)]-5,10,15,20-Tetrapiridinaporfirina de Cobalto(II)
CoTRP/nGO	– Compósitos de CoTRP com distintas proporções de GO
C _{saturado}	– Concentração de oxigênio saturado
CV	– Voltametria Cíclica (Cyclic voltammetry)
D	– Coeficiente de difusão
DO	– Oxigênio dissolvido
DPV	– Voltametria de pulso diferencial (<i>Differential pulse voltammetry</i>)
E _{Ag/AgCl}	– Potencial em relação ao eletrodo de prata/cloreto de prata KCl saturado
ECSA	– Área superficial eletroquímica (<i>Electrochemical surface area</i>)
E _{HER}	– Potencial em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio
EIS	– Espectroscopia de impedância eletrônica (electrochemical impedance spectroscopy)
GCE	– Eletrodo de carbono vítreo (<i>Glassy carbon electrode</i>)

GO	– Óxido de grafeno
H_{ads}	– Hidrogênio adsorvido na superfície do eletrodo
i	– Corrente
i_k	– Corrente cinética
j	– Densidade corrente
HER	– Reação de desprendimento de hidrogênio
LOD	– Limite de detecção
LSV	– Voltametria linear (linear sweep voltammetry)
MEV	– Microscopia eletrônica de varredura (<i>scanning electron microscopy</i>)
n	– Número de elétrons
NPGF	– Nanoporous de ouro (Nanoporous Gold Film)
ORR	– Reação de redução de oxigênio
PBS	– Tampão salino fosfato (pH=7,0)
Q	– Carga (<i>Charge</i>)
TEM	– Microscopia eletrônica de transmissão (transmission electron microscopy)
v	– Velocidade de varredura
ν	– Viscosidade
$V_{extraido}$	– Volume extraído
V_{total}	– Volume total
ω	– Velocidade de rotação

XRD

– Difração de raios X

1. Introdução

1.1. Sensores eletroquímicos

Os sensores são muito importantes para o controle e monitoramento de espécies químicas que possuem relevância biológica e ambiental [1,2,3,4]. Nesse contexto, um grande interesse tem sido devotado aos sensores eletroquímicos, pois eles podem ser portáteis e requerem pequenas quantidades de amostra. Sensores eletroquímicos que possuam parâmetros analíticos cada vez mais favoráveis como reprodutibilidade de resposta, estabilidade, sensibilidade, seletividade e baixos limites de detecção são continuamente desejados [3].

Os sensores eletroquímicos são constituídos por diferentes elementos: reconhecedor, transdutor e um comunicador (como é apresentado na Fig. 1). Cada um desses elementos cumpre uma função importante para que o conjunto forneça a informação desejada: o reconhecedor interage com a espécie de interesse de maneira seletiva e gera um sinal químico; o transdutor converte esse sinal químico em dado eletrônico; o comunicador analisa esse sinal para que seja enviado ao usuário na forma de concentração [5]. Neste contexto, tem sido desenvolvidas novas plataformas para que os sensores sejam mais seletivos e sensíveis às espécies de interesse, e essas baseiam-se no uso de ftalocianinas, porfirinas, nanopartículas, enzimas, nanocompostos, etc. [6,7,8,9,10]

Figura 1 Esquema geral dos principais componentes de um sensor químico [5].

1.1.1. Técnicas usadas em trabalhos com sensores eletroquímicos

Sensores eletroquímicos operam com base em diferentes técnicas, como as condutométricas, potenciométricas, amperométricas e voltamétricas (Fig. 2).

As técnicas condutométricas são aquelas baseadas na medição da resistência da solução e, por consequência, sensores baseados nessas técnicas não são seletivos frente a diferentes espécies que possam estar presentes na solução.

As técnicas potenciométricas são aquelas em que o potencial de um eletrodo indicador é medido em relação ao potencial de um eletrodo de referência utilizando-se um voltímetro numa situação em que não flui corrente no circuito. Manipulando-se de forma apropriada a superfície do eletrodo indicador, o potencial medido pode depender exclusivamente da concentração da espécie de interesse, obtendo-se assim seletividade na resposta.

As técnicas voltamétricas são aquelas em que potenciais variados são aplicados a um eletrodo de trabalho, gerando-se uma corrente que é proporcional à concentração da espécie que sofre processo de redução ou oxidação. Técnicas voltamétricas como as de pulso ou onda quadrada são muito sensíveis e normalmente utilizadas para fins analíticos em que a concentração da espécie de interesse é muito baixa (faixa de micro ou nanomolar).

As técnicas amperométricas são aquelas em que se aplica um potencial fixo em região em que a corrente é governada pelo transporte de massa e no qual a espécie eletroativa sofra um processo redox. A corrente é proporcional à concentração desta espécie e como não há variação de potencial, o sinal capacitivo é bastante reduzido e medidas mais sensíveis podem ser obtidas.

Figura 2 Esquema de técnicas usadas em trabalhos com sensores eletroquímicos.

1.1.2. Aplicações: Sensores eletroquímicos

As porfirinas e nanocompósitos têm recebido crescente atenção, pois podem servir como plataformas mais condutoras para a fabricação de detectores, sensores e geradores de energia [11,12,13]. Nesse sentido, sensores eletroquímicos à base de porfirinas e compósitos têm sido fabricados e utilizados para a determinação de nitrito [14], peróxido de hidrogênio [15], glicose [16], dopamina [17], prednisona [18], etc.

1.1.3. Superfícies modificadas para a determinação de oxigênio

1.1.3.1. Porfirinas

As porfirinas são compostos macrocíclicos aromáticos que contêm 18 elétrons π - e possuem metinos (=CH-) coordenados com os tetra pirrol localizados no centro (anel) das porfirinas, formando uma coordenação planar com sistema axial [19,20]. Essa forte coordenação provoca a deslocalização da densidade eletrônica para o centro da porfirina, e facilita processos catalíticos e eletrocatalíticos frente a espécies eletroativas [21,22]. No anel podem ser introduzidos metais de transição, formando assim as metalo-porfirinas (exemplo: Cu, Co, Mn, Fe, Ir, etc.), já que o anel da porfirina aumenta as propriedades eletrocatalíticas dos metais devido ao deslocamento da densidade eletronegativa, formando assim uma coordenação com o nitrogênios do anel da porfirina [21,23,24,25,26].

As metalo-porfirinas possuem notáveis propriedades eletroquímicas, as quais são atribuídas geralmente ao metal central. As propriedades eletrocatalíticas podem ser melhoradas a partir da complexos nas posição *meso* das metalo-porfirinas [27,28], como representado na Fig. 3. Tais substituintes são adaptados para conferir propriedades físico-químicas, eletroquímicas e catalíticas essenciais para controlar as interações e o comportamento dos derivados de porfirina [29]. No entanto, é de vital importância conhecer as propriedades de oxidação/redução e doação/retirada de elétrons dos complexos, pois assim pode-se ajustar as propriedades eletrocatalíticas da macromolécula. Neste contexto, os complexos de metal de transição desempenham um papel importante nos sítios ativos, contribuindo para gerar novas funcionalidades mais complexas pelas interações sinérgicas entre as subunidades. Dentre as possibilidades, podem ser citados os complexos de metal de transição tais como os de rutênio, que possuem como característica a de transferir uma maior densidade eletrônica ao anel da porfirina e, por consequência, ao metal central.

O sistema π -elétron estendido favorece a interação de espécies moleculares por interações π e dipolos. [30,31] Muitas moléculas orgânicas aromáticas, como as porfirinas, podem ser convenientemente adsorvidas na superfície para gerar novos materiais.

Figura 3 Representação geral da estrutura das porfirinas

1.1.3.2. Óxido de grafeno e compósitos

Os nanomateriais à base de carbono possuem propriedades médicas, de condução, eletrônicas e redox muito interessantes. Esta classe de materiais foi descoberta a partir de trabalhos feitos com fulerenos [32]. Estes tipos de compostos são atraentes por suas propriedades químicas e eletroquímicas, especialmente no que diz respeito ao transporte de carga. Por isso, a síntese de novos materiais com base em grafeno, óxido de grafeno, óxido de grafeno reduzido e nanotubos de carbono tem sido continuamente estudada [33,34,35,36] .

Os nanomateriais à base de carbono podem se combinar com complexos outorgando assim novas propriedades elétricas e eletrônicas aos materiais sintetizados, que aliadas à rigidez e área superficial os tornam ideais para a fabricação de novos catalisadores e sensores [30,37,38,39]. Um dos nanomateriais mais utilizados para a formação desses compósitos é o óxido de grafeno, ilustrado na Fig. 4 [6,40].

Figura 4 Representação da estrutura do oxido de grafeno (GO)

1.1.3.3. Nanopartículas

As nanopartículas são estruturas de tamanho de até aproximadamente 100 nm, as quais têm recebido um grande interesse em pesquisas nas áreas da saúde, ambiental, geração de energia, fabricação de sensores, dentre outras [41,42,43,44]. Este interesse deve-se ao fato de que essas nanopartículas possuem propriedades diferenciadas, pois possuem maior área superficial e sítios ativos altamente reativos, o que leva a um transporte de elétrons mais eficiente [41,45]. Na atualidade, essas nanoestruturas têm tido um grande impacto na fabricação de sensores eletroquímicos, preparados tipicamente com metais de transição como platina, cobre, níquel, cobalto, ouro, dentre outros [18,46,47,48,49].

1.1.4. Sensores eletroquímicos para a detecção de oxigênio e desprendimento de hidrogênio

O oxigênio é essencial para sustentar a vida animal no nosso planeta e é um potencial receptor de elétrons em células de combustível, devido ao seu elevado potencial de redução e ao fato de que a reação pode gerar água como o único produto [50]. No entanto, a lenta cinética da reação de redução de oxigênio (ORR) impede a sua utilização em meios neutros. Além disso, o controle do mecanismo da ORR é muito importante para várias aplicações tecnológicas, especialmente em células de combustível, uma vez que a eficiência desse processo é fortemente dependente do número de elétrons transferidos ao oxigênio (2e⁻ ou 4e⁻). A platina (Pt) e outros metais nobres têm sido extensivamente empregados como catalisadores de 4e⁻ na ORR, mas o custo elevado, a escassez e propensão de envenenamento pelo monóxido de carbono, que limita sua vasta aplicação, têm justificado a procura por materiais alternativos eletrocatalíticos. Neste contexto, após a publicação de trabalhos sobre as propriedades de ftalocianinas e porfirinas de cobalto [51], vários outros mediadores moleculares tais como o DNA [52], antraquinona [53,54], azul de polimetileno [55], peptídeos nanoestruturados [56], complexos de cobalto [21,57,58,59,60], ftalocianina tetrassulfonada de ferro (II) e tetra (N-metil-piridil) porfirina de ferro (II) [7], ftalocianina de magnésio (II) [61], níquel Salen [27], vitamina B-12 [62], ABTS-lacase [63], ZnO dopado com RuO₂ [64],

diamino-o-benzoquinona [65], índigo tetrassulfonato [66] e eugenol [67] têm sido estudados.

A medição contínua da concentração de oxigênio é essencial em muitos procedimentos médicos e aplicações, processos tecnológicos e de monitoramento e análise ambiental. Vários sensores eletroquímicos à base de mediadores ORR têm sido propostos para a determinação de oxigênio dissolvido em água [41,56,57,64, 68,69,70,71,72], mas nenhum deles apresenta robustez adequada, requisito importante para competir com eletrodos de Clark. A título de exemplo, na Tabela 1 apresentam-se distintos sensores eletroquímicos com informações sobre faixa linear, limite de detecção, método eletroquímico empregado e potencial no qual são feitas as determinações analíticas de O₂.

Tabela 1 Desempenho analítico de diferentes eletrodos modificados como sensores para oxigênio dissolvido.

Modificações	Método	Potential (V) vs Ag/AgCl (Sat. KCl)	Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
^a CoPc/C/SiO ₂	Amp	-0,185	15,6-206	0,3	[74]
^b CoTRP/4GO	Amp	-0,05	5,19-663,8	5,8	[37]
^c NPGF	CV	-0,045	6,19-60+93,8	35	[41]
Antraquinona/ cisteamina - AuNPs	CV	-0,53	6,25-181	0,93	[53]
^d Antraquinona/ cisteamina - AuNPs/SPE	CV	-0,5	6,25-190	4,1	[54]
Poli (azul de metileno)/silica	CV	-0,315	3,5-180	1,2	[55]
^e CoTPP/GC	CV	-0,420	62-604	0,4	[57]
^f MnPc / SiO ₂ /SnO ₂	DPV	-0,375	0-253	0,7	[61]
Filme polimérico níquel Salen	CV	-0,205	123-287,5	22	[73]

^a ftalocianina de cobalto (II); ^b [tetrakis-bisdimetil bipyridina cloro rutênio(II)]-5,10,15,20-Tetrapiridinaporfirina de Cobalto(II); ^c filme de nanoporos de ouro; ^d Eletrodo impresso em tela; ^e tetrafenilporfirina de cobalto (II); ^fftalocianina de manganês (II).

Diversos fatores dificultam o desenvolvimento e a sobrevivência da humanidade, como o aquecimento global, a contaminação ambiental e a crise energética [75]. Atualmente, a crise de energia é um problema muito sério, uma vez que uma das fontes mais utilizadas de geração de energia consiste no uso de combustíveis fósseis, que produzem dióxido de carbono como produto, uma das principais causas da poluição ambiental e do aquecimento global [76,77,78]. Neste contexto, a busca de energias eficientes e limpas tornou-se vital nos últimos anos [79,80]. Assim, nesta última década, uma nova fonte de energia limpa e renovável, de alta eficiência e amigável ao meio ambiente, como o hidrogênio, tem sido perseguida. Por outro lado, a geração de hidrogênio em escala industrial tem sido problemática e embora muitos processos tenham sido desenvolvidos, nenhum deles conseguiu satisfazer a plena demanda de hidrogênio [77].

Os processos mais utilizados para a produção de hidrogênio são a gaseificação do carvão e a pirólise da biomassa, mas estes geram energia de baixo custo e poluição ambiental [75]. Neste contexto, o procedimento mais ecológico baseia-se na quebra das ligações da molécula de água, sendo o processo mais desejado a reação de desprendimento do hidrogênio (HER), porque é uma das alternativas com maior potencial para a geração de hidrogênio sustentável e limpo [81,82,83]. Por outro lado, a alta sobretensão associada a esse processo requer alto consumo de energia elétrica, portanto permanece o problema atual da crise energética. Para superar esta limitação, a procura de novos catalisadores que facilitem o processo HER tem sido fortemente incentivada, e as superfícies metálicas nanoporosas têm recebido uma grande atenção na literatura [41,42,43,44] devido à elevada área superficial e à presença de sítios mais ativos, o que leva a um transporte mais eficiente de elétrons [41,45]. Entre os catalisadores para HER, a platina é um dos mais conhecidos e utilizados, mas seu alto custo e facilidade de contaminação limita o uso deste metal, justificando a busca de novos materiais [84,85,86], como os apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 Comparação do desempenho de diferentes materiais frente à HER

Modificações	Sobrepotential(mV)	Inclinação Tafel (mV dec ⁻¹)	Ref.
^a CoSe ₂ @CNWs	130	41.3	[87]
^b Cu@GD nanofios	275	89	[88]
^c NiEt-OAm6	180	111	[89]
^d NiS ₂ -MoS ₂	76	72	[90]
^e CoS _{2x} Se _{2(1-x)} NWs	140	44	[91]
^f NiMo-Mo ₂ C/C	90	73	[92]
^g Co@NCN	130	82	[93]

^aNanocristais de cobalto selênio suportados em nanofios de carbono; ^b Nanocristais de cobre em grafeno; ^c Nanopartículas de níquel solvatadas em alcoóis simples e oleilamina; ^dnanopartículas de níquel-cobalto; ^eNanocristais de cobalto, enxofre e selênio suportados em nanofios de carbono; ^fnanopartículas de níquel e molibdênio; ^gnanopartículas de Co embutidas em nanotubos de polímero de melamina.

1.1.5. Estudo de superfícies

1.1.5.1. Raman

A técnica de espectroscopia Raman analisa a luz que é dispersa por uma amostra após incidência de um feixe de luz monocromático, como representado na Fig. 5. As dispersões são características de cada material, pois são devidas às vibrações internas que ocorrem em cada molécula, e o conjunto das dispersões produzidas pela amostra formará espectro Raman característico [94]. O espectro Raman consiste numa banda com a mesma frequência de radiação incidente e outras bandas de menor intensidade, e essas bandas formam dois conjuntos diferentes: a primeira são as bandas Stokes, que são bandas com frequência inferior à incidente, e as demais são as bandas anti-Stokes, que possuem frequência superior à da radiação incidente. As bandas de Stokes são consideravelmente mais intensas do que as anti-Stokes, as quais são geralmente omitidas, pois fornecem a mesma informação que as bandas de Stokes. Geralmente, a representação dessas bandas de dispersão é feita em função do número de onda normalizado, em vez do comprimento de onda ou da frequência [95].

O deslocamento do número de onda após a aplicação do laser pode fornecer informação sobre as ligações químicas do material. Os espectros são obtidos a partir das bandas de dispersão, independentemente da frequência da fonte de excitação usada. Dentre os componentes que perturbam o sinal, pode-se encontrar o ruído aleatório, que aparece devido à natureza aleatória da luz e ocorre sob a forma de pequenas flutuações em torno do valor médio da intensidade do sinal. O espectro Raman, através de suas bandas características dos componentes da amostra iluminada por laser, pode ser usado como uma impressão digital para análise qualitativa.

A análise qualitativa é baseada na comparação entre um espectro obtido experimentalmente e outros espectros que fazem parte de um banco de dados de referência. Graças a este tipo de análise, é possível identificar materiais ou diferenciá-los de outros. O conjunto de bandas Raman é característico e particular de cada material e permite a identificação inequívoca do mesmo. Portanto, é de grande importância obter valores exatos das posições dessas bandas, pois estas serão usadas para identificar o material [95]. Ocorre que a obtenção desta informação Raman nem sempre é fácil, pois o espectro medido contém, além do sinal Raman, o ruído inerente ao processo de medição e à natureza da amostra analisada, que pode mascarar o sinal Raman.

Figura 5 Representação do funcionamento do Raman.

1.1.5.2. Microscopia de força atômica (AFM)

A microscopia de força atômica (AFM) é uma técnica de varredura por sonda, baseada na interação entre uma amostra e o cantilever [96]. O equipamento de AFM está constituído por cantilever, laser, detector e componentes de varrimento (Fig. 6). O cantilever consiste em uma haste flexível em cuja parte inferior é crescida uma ponta com dimensão de poucos micrometros. Para percorrer a amostra de forma a obter uma imagem, é utilizado um sistema de posicionamento que possui cerâmicas piezoelétricas. Durante esta varredura é utilizado um sistema de alinhamento, em que um feixe de laser incide sobre o cantilever e é refletido em um sensor de quatro quadrantes, o qual fornece informação da posição do sistema de realimentação e controle [97]. Este corrige a posição do cantilever de forma a manter o contato com a amostra durante a varredura e permite a obtenção da imagem.

A técnica de AFM pode ser classificada quanto ao modo de atuação do cantilever: de contato e de força dinâmica. Esta última é ainda dividida em não-contato e contato intermitente.

AFM de contato: Neste método o cantilever efetua uma varredura vibrando em alta frequência e toca a amostra suavemente durante a varredura [98].

AFM de contato intermitente: Nessa técnica, o cantilever toca suavemente a amostra e quando uma varredura é realizada ele vibra a alta frequência. Quanto mais rígido for o cantilever, maior será sua frequência de oscilação durante a varredura [98,99].

AFM de não-contato: O cantilever vibra sobre a amostra para não danificá-la, mas tanto a resolução como a velocidade de varredura são menores do que nos métodos de contato e contato intermitente [98].

Figura 6 Representação do funcionamento do microscópio de força atômica.

1.1.5.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi proposta por Knoll, o qual em 1935 teve êxito em focalizar um feixe eletrônico sobre a superfície de uma amostra e registrar a corrente emitida [100]. A técnica MEV permite a observação e a caracterização de diferentes tipos de materiais a partir da emissão e interação de feixes de elétrons sobre uma amostra, sendo também possível caracterizar a morfologia.

O equipamento possui três partes principais:

1. Coluna eletro-óptica, que gera o feixe eletrônico.
2. Sistema de vácuo, incluindo a câmara onde fica a amostra.
3. Sistema para detecção do sinal e geração de imagem.

Uma amostra submetida a um feixe de elétrons proporciona diversos tipos de sinais, propiciando a cada um deles um modo particular de operação. Assim, o princípio de funcionamento da MEV baseia-se fundamentalmente na quantificação dos elétrons secundários emitidos por uma amostra como resposta a uma excitação eletrônica incidente (Fig. 7). Esta medida de elétrons secundários permite uma definição qualitativa da morfologia e topografia da amostra. Os elétrons secundários fornecem imagem de topografia da superfície da amostra e são responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução e o retro-espalhamento de elétrons (BSE) fornece imagem característica da variação de composição [100].

Figura 7 Representação esquemática da região de ionização gerada na interação do feixe de elétrons com a superfície no MEV.

1.1.5.3. Espectroscopia de impedância eletrônica (EIS)

A espectroscopia de impedância eletroquímica é uma técnica muito utilizada para o estudo de superfícies eletródicas e proporciona informações sobre os diferentes processos eletroquímicos que acontecem na interface. A técnica consiste na análise de circuitos elétricos, que descrevem a resposta da corrente alternada (AC) em função da frequência. A equação que descreve o processo está apresentada abaixo (equação 1):

$$Z = \frac{[\Delta E \text{ sen}(\omega t)]}{R} \quad (1)$$

A partir da utilização de circuitos elétricos análogos ou circuitos equivalentes e em conjunto com modelos matemáticos, podem ser obtidas informações que ocorrem na dupla camada elétrica, já que os circuitos equivalentes têm como fundamento as semelhanças entre o comportamento da célula eletroquímica e um circuito elétrico, os quais estão compostos normalmente de resistências e capacitores. Na eletroquímica, os fenômenos tipicamente estudados ocorrem em regiões de baixas e altas frequências, sendo que as regiões de baixa frequência são associadas ao controle cinético e as de altas frequências correspondem ao transporte por difusão.

O modelo de circuito equivalente mais simples está representado na Fig. 8: resistência não compensada (R_Ω) (composta pela corrente faradaica (i_f) e corrente capacitiva (i_c)), resistência da solução entre os eletrodos de trabalho e de referência, que é a resistência não compensada (R_Ω), impedância do processo faradaico (Z_f), frequência (ω) e parâmetros da dupla camada (C_{dl}).

Figura 8 Esquema do circuito para um processo de eletrodo simples proposto por Randles [101].

O circuito de Randles tem sua representação em um sistema eletroquímico pelo diagrama de Nyquist, composto por impedância imaginária ($-Z''$) e real (Z'), resultante de uma combinação paralela de um resistor e um capacitor. A resposta característica da impedância é composta por um semicírculo associado a uma reta. Como se mostra na Fig. 9, parte-se de frequências maiores para frequências menores e a variação resulta em duas regiões: uma região controlada pela transferência de carga (semicírculo) e outra regida pela difusão, as quais podem ser analisadas pelas equações 2 e 3.

$$Z' = R_{\Omega} + \frac{R_{ct} + \sigma\omega^{-\frac{1}{2}}}{(\sigma\omega^{-\frac{1}{2}} C_{dl} + 1)^2 + \omega^2 C_{dl}^2 (R_{ct} + \sigma\omega^{-\frac{1}{2}})^2} \quad (2)$$

$$-Z'' = \frac{\omega C_d (R_{ct} + \sigma\omega^{-1/2})^2 + \sigma\omega^2 C_d + \sigma\omega^{-1/2}}{(\sigma\omega^{-1/2} C_{dl} + 1)^2 + \omega^2 C_{dl}^2 (R_{ct} + \sigma\omega^{-1/2})^2} \quad (3)$$

Em baixas frequências, quando $\omega \rightarrow 0$, os componentes Z' e Z'' da impedância total do circuito são:

$$Z' = R_{\Omega} + R_{ct} + \sigma \omega^{-1/2} \quad (4)$$

$$-Z'' = \sigma \omega^{-1/2} + 2\sigma^2 C_{dl} \quad (5)$$

Em altas frequências, nas quais a impedância de Warburg tem um valor muito pequeno em comparação com o valor de R_{ct} , os componentes Z' e Z'' são:

$$Z' = R_{\Omega} + \frac{R_{ct}}{\omega^2 C_{dl}^2 R_{ct}^2 + 1} \quad (6)$$

$$-Z'' = \frac{C_d \omega R_{ct}^2}{\omega^2 C_{dl}^2 R_{ct}^2 + 1} \quad (7)$$

Figura 9 Gráfico de impedância no plano complexo de um sistema eletroquímico simples.

Objetivos

1. Verificar o comportamento eletroquímico do oxigênio em eletrodos de carbono vítreo modificados com porfirinas de cobalto (Tetrafenil porfirina de cobalto (CoTPP) e [tetrakis-bisdimetil bipyridina cloro rutênio(II)]-5,10,15,20-Tetrapiridinaporfirina de Cobalto(II) (CoTRP)) e nanoestruturas de ouro.
2. Estudar o efeito da adição de óxido de grafeno nas superfícies eletródicas.
3. Estudar o mecanismo de reação de processo de redução de oxigênio nos diferentes eletrodos modificados.
4. Utilizar as plataformas sintetizadas na construção de sensores eletroquímicos para a detecção de O₂.

3. Parte Experimental

3.1. Reagentes

Todas as soluções utilizadas nos procedimentos experimentais foram preparadas a partir de reagentes de grau de pureza analítica dissolvidos em água deionizada (processada em sistema Nanopure Infinity, Barnstead 18 MΩ cm). Os reagentes utilizados foram fosfato de potássio dibásico (Na_2HPO_4), fosfato de potássio monobásico (NaH_2PO_4), nitrato de potássio (KNO_3), metanol (CH_3OH), Nafion, cloreto de potássio, HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid), cloreto de magnésio, succinato, ADP, oligômero, hidróxido de sódio (NaOH), ácido sulfúrico (H_2SO_4), permanganato de potássio (KMnO_4), nitrato de sódio (NaNO_3), ácido clorídrico (HCl), etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), tetrafenilporfirina (TPyP), acetato cobalto (II) ($\text{Co}(\text{Ac})_2$), metanol (CH_3OH), dimetilformamida (DMF), tampão fosfato pH=7 (PBS) e tetracloreto de ouro (HAuCl_4) (Sigma Aldrich) e oxigênio medicinal X-10S (Air Products).

3.2. Instrumentação

As determinações de pH foram feitas com um pH-metro da Fisher Scientific, Modelo Accumet 50. Os voltamogramas cíclicos foram registrados com o potenciostato/galvanostato, modelo Autolab PGSTAT128 (Ecochemie, Holanda), com um sistema de três eletrodos (um eletrodo de GCE (polido ou modificado) (3 mm de diâmetro), um de Ag/AgCl (solução saturada de KCl) e um fio de platina, que serviram como eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente). Os espectros de absorção UV-vis foram registrados num espectrofotômetro de Hewlett Packard 8453A, na faixa de 190 a 1100 nm. Os espectros Raman foram registrados com um microscópio confocal WITec 300R Alpha, equipado com um laser Ar de 488 nm (potência = $0,06 \text{ mW cm}^{-2}$), 100X objetivo (0,80 NA). Experimentos com eletrodo de disco rotativo (RDE) foram realizados usando um aparelho AFMSRX, da Pine Instrument Company) e um potenciostato Autolab (Metrohm Pensalab) PGSTAT 302N. Um eletrodo de GCE (7,5 mm de diâmetro) foi utilizado como eletrodo de trabalho nos experimentos com o RDE. Um oxímetro (DM-4P) foi utilizado para

determinar a concentração de oxigênio após adições de solução saturada com o gás à célula eletroquímica. As imagens topográficas por microscopia de transmissão eletrônica (TEM) foram obtidas com um equipamento de emissão de campo JEOL JEM-2100 com voltagem de aceleração de 200 kV. As imagens topográficas obtidas por Scanning Probe Microscopy (SPM) foram realizadas utilizando um equipamento PicoSPM I, com um controlador 2100 PicoScan e Cantilevers de silício, com valor nominal de amplitude em torno de 6,5 V. O raio da “tip” foi de 10 nm. Utilizou-se um microscópio de varredura eletrônica, modelo JEI JSM-7401 Field Emission Gun (MEV FEG), para a obtenção das imagens MEV. As caracterizações cristalográficas foram feitas por difração de raios X (XRD) em um equipamento Bruker D8 Phaser com uma fonte de Cu K α ($\lambda=1.5418$ Å, 30 kV, 15 mA, passo=0,05°) e telas de dispersão de ar para evitar a dispersão difusa a ângulos inferiores, na faixa 2 θ de 20 a 90°.

3.3. Construção do eletrodo de referência de Ag/AgCl

Um fio de prata de 1 mm de diâmetro foi utilizado para a construção do eletrodo de referência Ag/AgCl. O fio de prata foi polido com uma lixa, para posterior eletrodeposição de cloreto de prata sobre o fio aplicando um potencial de 1,0 V por 30 minutos em uma solução saturada de KCl, utilizando o fio de Ag como eletrodo de trabalho, um eletrodo de Ag/AgCl comercial como referência e um eletrodo de platina como auxiliar. Posteriormente, o fio foi introduzido em uma ponteira de micropipeta, a qual continha em sua extremidade um separador de baterias para permitir o contato eletrolítico. A ponteira foi preenchida com uma solução saturada de cloreto de potássio. O bom funcionamento do eletrodo de referência foi confirmado registrando-se voltamogramas em solução de K₃[Fe(CN)₆] e comparando-se o resultado com os oriundos do uso de eletrodo de referência comercial.

3.4. Porfirinas

3.4.1. Síntese de CoTPP

Dissolveram-se 0,0594 g de TPP (*meso*- tetrafenilporfirina) em 9 mL de DMF e aqueceu-se a 145°C num banho de silicone durante 20 min. Subsequentemente, 0,0596 g de cloreto de cobalto (II) hexahidratado $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ foram adicionados à solução e a reação foi mantida por mais 20 minutos (145-150 °C). Em seguida, a solução foi arrefecida à temperatura ambiente e mantida numa geladeira durante 12 horas. Finalmente, o produto da reação (CoTPP) foi filtrado, seco e utilizado para a modificação da superfície do GCE [102].

3.4.1.1. Modificação da superfície do eletrodo com filme de CoTPP

O eletrodo de GCE foi polido cuidadosamente com um pano de polimento utilizando pó de alumina de 0,05 μm e submetido a ultrassom durante 5 min. O pó de CoTPP sintetizado (estrutura representada na Fig. 10) foi disperso em clorofórmio (1 mg mL^{-1}) e solução de Nafion (0,1%). A mistura foi sonicada durante 10-15 minutos para formar uma suspensão homogênea. Posteriormente, 10 μL desta solução foram transferidos para a superfície do GCE por *drop casting* para posterior secagem ao ar.

Figura 10 Representação da estrutura da porfirina de cobalto (II) tetrafenilporfirina (CoTPP).

3.4.2. Síntese do CoTRP

O CoTPyP foi preparado por refluxo de TPyP (100 mg, 0,16 mmol) e acetato de cobalto (II) (100 mg, 0,40 mmol) em DMF durante quatro horas, em atmosfera de N₂. O precipitado roxo foi filtrado e lavado com DMF e depois com metanol [103]. O espectro UV-vis da amostra preparada exibiu a banda Soret a 413 nm e a banda Q a 500 nm, características de uma porfirina de Co(II). Análise elementar: calc. (exp.): C% 71,11 (70,53), N% 16,59 (16,15), H% 3,58 (3,78).

[Ru(dmbpy)₂Cl₂] foi preparado por refluxo a partir de 809,8 mg (19,1 mmol) de LiCl, 500 mg (1,91 mmol) de RuCl₃·3H₂O e 703,8 mg (3,82 mmol) de 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina em 30 mL de DMF durante 8 horas, no escuro, sob atmosfera de N₂. A solução foi concentrada em um evaporador rotativo e o sólido foi precipitado em acetona, filtrado e lavado com água fria e éter dietílico. Análise elementar: calc. (exp.) para RuC₂₄H₂₄N₄Cl₂ : C 53,34% (53,18), N 10,37% (10,17), H 4,48% (5,06).

CoTRP foi sintetizado por refluxo dos complexos [Ru(dmbpy)₂Cl₂] e CoTPyP em ácido acético glacial numa razão de 4,2 : 1, durante uma hora (estrutura representada na Fig. 11) [104,37,105]. A solução foi seca num evaporador rotativo, redissolvida em metanol e refluxada durante mais uma hora. O solvente foi removido em um evaporador, o sólido foi redissolvido em DMF e o produto precipitado com uma solução aquosa saturada de LiTFMS. O sólido castanho escuro foi removido por filtração e lavado várias vezes com água fria e seco sob vácuo.

Figura 11 Representação da estrutura da [Tetraquis-bisdimetilbipiridina clororutênio (II)]-5,10,15,20-tetrapiridilporfirina de cobalto (II) (CoTRP).

3.4.2.1. Preparação de compósitos CoTRP/nGO

Os compósitos de óxido de grafeno/porfirina foram preparados misturando-se 10 mL de uma solução aquosa de CoTRP ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$) e uma suspensão de óxido de grafeno ($2,0 \text{ mg mL}^{-1}$) em diferentes proporções. Em seguida, foram adicionados 5, 10, 20 e 30 mL de suspensão de óxido de grafeno a 10 mL de solução de porfirina. As misturas foram filtradas e os sólidos lavados com água, gerando os compósitos denotados como CoTRP/GO, CoTRP/2GO, CoTRP/4GO e CoTRP/6GO, respectivamente, em que $n=1$ a 6 refere-se à proporção em massa de GO em relação ao complexo CoTRP.

3.4.2.2. Preparação de eletrodos de GCE modificados com CoTRP/nGO

O GCE foi polido com um pano de polimento usando pó de alumina de 0,05 μm e limpo num banho de ultrassom durante 15 min. Em seguida, adicionaram-se gota a gota 50 μL de dispersões de CoTRP/nGO (CoTRP/GO, CoTRP/2GO, CoTRP/4GO e CoTRP/6GO) à superfície do GCE por *drop casting*, para posterior secagem ao ar durante 4 horas, como representado na Fig. 12.

Figura 12 Representação do processo de deposição dos compósitos em eletrodo de carbono vítreo por “drop casting”.

3.4.3. Nanopartículas

3.4.3.1. Eletrocorrosão do eletrodo de ouro para a formação de nanoporos de ouro

Após polimento da superfície do eletrodo de Au utilizando pó de alumina 0,05 μm e posterior limpeza em banho de ultrassom por 5 minutos, esse foi imerso em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} e registrou-se ciclo voltamétrico na faixa compreendendo 0,0 a 2,0 V com uma velocidade de varredura de 0,02 V s^{-1} . Ao se atingir o potencial de 2,0 V pode ser observada a formação de bolhas de oxigênio e esse potencial é mantido por 60 minutos para a formação da superfície contendo nanoporos de ouro (NPGF) [41], podendo-se observar o desprendimento de oxigênio, como apresentado na Fig. 13.

Figura 13 Representação do processo da eletrocorrosão do eletrodo de ouro para a formação dos nanoporos de ouro.

3.4.3.2. Eletrodeposição das nanopartículas de ouro

Após polimento da superfície do GCE utilizando pó de alumina 0,05 μm e posterior limpeza em banho de ultrassom por 5 minutos, este foi introduzido em uma solução de HAuCl_4 5 mmol L^{-1} + H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} . Aplicou-se potencial de -4,0 V por 90 segundos [106], podendo-se observar o desprendimento de hidrogênio, como apresentado na Fig. 14.

Figura 14 Representação do processo da eletrodeposição das nanopartículas de ouro no eletrodo de carbono vítreo.

3.5. Célula para preparação de soluções de concentração conhecida de O₂

Foi construída uma célula eletroquímica específica e em sistema fechado para estudos envolvendo a construção de curva de calibração para O₂ (Fig. 15). Empregou-se cilindro de oxigênio para saturar uma solução contida em uma bureta de pistão, a partir da qual volumes definidos eram transferidos para a célula eletroquímica. A solução contida na célula era totalmente isenta de O₂ no início do processo e um volume igual dessa solução era removido da célula após a adição da solução contendo O₂. Utilizou-se a equação 8 para determinar a concentração de O₂ na célula eletroquímica após a adição de cada volume da solução saturada com O₂ contida na bureta [10]:

$$C_{final} = C_{inicial} \frac{V_{extraido}}{V_{total}} \sum_{k=0}^{k=i-1} \left(1 - \frac{V_{extraido}}{V_{total}}\right)^k \quad (8)$$

Figura 15 Representação esquemática do sistema de calibração de oxigênio. A: entrada do oxigênio, B: solução saturada de oxigênio C: válvula da entrada da solução de oxigênio saturado, D: contra eletrodo, E: eletrodo de trabalho, F: eletrodo de referência, G: saída da solução, H: célula de medição, I: agitador magnético.

3.6. Incubação e isolamento das Mitocôndrias

Todos os experimentos foram aprovados pelo “Animal Care” local e pelo comitê de ética de uso de animais, e segundo os protocolos da pesquisa de vertebrados NIH-like internacionais. As mitocôndrias foram isoladas a partir de fígados de ratos adultos utilizando protocolos padrão de centrifugação diferencial [107] e mantidas sobre gelo até que os ensaios fossem realizados. O meio celular utilizado nos experimentos consistiu em solução de sacarose 125 mmol L⁻¹, KCl 65 mmol L⁻¹, HEPES (ácido 4- (2-hidroxietil) -1-piperazinoetanossulfônico) 10 mmol L⁻¹, Na₂HPO₄ 2 mmol L⁻¹ e MgCl₂ 4 mmol L⁻¹. O pH foi ajustado a 7,2 utilizando KOH.

3.7. Preparação de amostras ambientais

O processo de amostragem e preservação é essencial para garantir a integridade das amostras antes da análise. Para análises de diferentes tipos de água, existem procedimentos para a coleta correta da amostra, os quais são descritos a seguir [108]:

Torneira:

1. Remove-se os utensílios da torneira.
2. Limpa-se cano da torneira.
3. Coleta-se a amostra de água em um recipiente plástico.
4. Adiciona-se 1 mL de solução de ácido nítrico concentrado por cada litro de amostra.

Lagos:

1. Utiliza-se recipiente de plástico para coletar a amostra de água, submergindo-o completamente e movendo-o horizontalmente na direção do lago.
2. Adiciona-se 1 mL de solução de ácido nítrico concentrado por cada litro de amostra.

A Tabela 3 apresenta informações sobre a concentração de O₂ em águas e consequências para a vida.

Tabela 3 Concentrações de oxigênio dissolvido em águas e impacto para a vida aquática.

Concentração / ppm	Impacto
5-6	Concentração suficiente para o desenvolvimento de espécies aquáticas
<3	Concentração que afeta a grande maioria de espécies aquáticas
<2	Fatal para a grande maioria das espécies

4. Resultados e discussão

4.1. Sensor de porfirina de cobalto (II) (CoTPP/GCE)

4.1.1. Redução eletrocatalítica de oxigênio dissolvido no eletrodo modificado CoTPP/GCE

Os voltamogramas cíclicos registrados com o eletrodo modificado CoTPP/GCE numa solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ livre de oxigênio a diferentes velocidades de varredura ($0,01$ - $0,15 \text{ V s}^{-1}$) são mostrados na Fig. 16A. O processo redox bem definido observado ao redor de $0,2 \text{ V}$ corresponde ao processo de transferência de elétrons envolvendo o par Co(II)/Co(III) . Os valores de corrente dos picos de oxidação e redução aumentam linearmente em função da velocidade de varredura (Fig. 16B). A fim de calcular o excesso superficial (Γ , *surface coverage*) no eletrodo modificado com o filme de CoTPP, a inclinação obtida a partir da curva de i_p vs velocidade de varredura do processo anódico (Fig. 16B) foi usada na equação 9 [67]:

$$\Gamma = i_p 4RT / n^2 F^2 A v \quad (9)$$

onde i_p é a corrente de pico anódica, R representa a constante universal dos gases perfeitos ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}$), T é a temperatura absoluta (298 K), n é o número de elétrons transferidos no processo redox, F é a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), A é a área do eletrodo ($0,07065 \text{ cm}^2$) e v é a velocidade de varredura (V s^{-1}). O valor de Γ calculado para o eletrodo modificado CoTPP/GCE foi $4,75 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$.

Figura 16 Voltamogramas cíclicos registrados com o eletrodo modificado CoTPP/GCE em uma solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura (A); gráfico de i_p vs v preparado com os dados da figura 16A (B).

Os voltamogramas cíclicos registrados em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH=7) contendo oxigênio dissolvido (saturado) utilizando GCE e eletrodo modificado CoTPP/GCE na velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$ são mostrados na Fig. 17. O pico de redução de oxigênio situa-se em um potencial de $-0,72 \text{ V}$ para o eletrodo de carbono vítreo, e o mesmo processo tem lugar a $-0,42 \text{ V}$ com o eletrodo modificado CoTPP/GCE. Ao comparar os dois voltamogramas, observa-se claramente um deslocamento de potencial para valor menos negativo (perto de $0,30 \text{ V}$) ao se utilizar o eletrodo modificado. Além disso, também é interessante notar os distintos valores de potenciais correspondentes ao início do processo de redução do oxigênio, que são $-0,30 \text{ V}$ e $-0,15 \text{ V}$ para o GCE e CoTPP/GCE, respectivamente. Os resultados obtidos confirmam o comportamento eletrocatalítico do eletrodo modificado CoTPP/GCE para a reação de redução de oxigênio. Isto pode ser fundamentado levando-se em consideração que (i) ligação do oxigênio ao cobalto (II) na posição axial facilita a reação de redução eletroquímica e (ii) a coordenação de Co(II)TPP com oxigênio muda os níveis de energia [62].

Figura 17 Voltamogramas cíclicos registrados em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada com oxigênio usando GCE (linha vermelha) e eletrodo modificado CoTPP/GCE (linha verde) e sem oxigênio usando GCE (linha preta) e eletrodo modificado CoTPP/GCE (linha azul). Velocidade de varredura: $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Para compreender a cinética do processo de transferência de elétrons que envolve a redução do oxigênio no eletrodo modificado CoTPP/GCE, voltamogramas cíclicos foram registrados em várias velocidades de varredura na faixa $0,02$ - $0,2 \text{ V s}^{-1}$ em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo 100 % de oxigênio dissolvido (Fig. 18A) (solução saturada). O pico de redução de oxigênio aumenta com o aumento da velocidade de varredura, e a dependência linear observada no gráfico $i_p \times v^{1/2}$ (Fig. 18B) indica que o processo eletródico é controlado por difusão. Os dados desse experimento também foram representados em escala logarítmica, e um valor de coeficiente angular de aproximadamente 0,44 foi obtido (Fig. 18C). Este valor está próximo ao esperado (0,5) para um processo controlado por difusão.

A fim de obter informações sobre o mecanismo do processo de redução do oxigênio utilizando-se o eletrodo modificado com o filme de CoTPP/GCE (via de dois elétrons (formação de peróxido de hidrogênio) ou de quatro elétrons (formação de água)), o coeficiente de transferência (α) e o número de elétrons envolvidos na etapa determinante da velocidade (n_c) foram calculados a partir de dados de potencial de pico (E_{pc}) e velocidade de varredura (Fig. 18D). A partir do valor do coeficiente angular ($\sim 0,054 \text{ V}$), calculou-se o coeficiente de Tafel (b) (equação 11) como $0,108 \text{ V}$. Os valores de n_c e α foram calculados usando a inclinação de Tafel [109,110]:

$$E_p = y/2 \log v + \text{constante} \quad (10)$$

$$y = 2,303RT/\alpha n_c F \quad (11)$$

e foram obtidos os valores de 0,54 e 1,09, respectivamente. Posteriormente, o número total de elétrons (n) transferidos na reação de redução de oxigênio foi calculado a partir do valor de coeficiente angular ($120,6 \mu\text{A} (\text{s V}^{-1})^{1/2}$) obtido na Fig. 18B usando a equação 12 para um processo controlado pela difusão [109]:

$$i_p = 2,99 \times 10^5 \text{ A C}_o^* D_o^{1/2} v^{1/2} n (\alpha n_c)^{1/2} \quad (9)$$

O valor obtido para n foi $\sim 1,84$, o que sugere que a redução de oxigênio segue uma via de dois elétrons, onde o peróxido de hidrogênio é o principal produto e a transferência de dois elétrons é o passo determinante no processo ao se utilizar o eletrodo modificado CoTPP/GCE.

Figura 18 Voltamogramas cíclicos registrados com CoTPP/GCE em solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} saturada com oxigênio: (A) 0,02 até 0,2 V s^{-1} , (B) corrente de pico versus a raiz quadrada da velocidade de varredura, (C) corrente de pico versus o logaritmo da velocidade de varredura e (D) potencial de pico versus a raiz de velocidade de varredura.

4.1.2. Aplicações analíticas

O desempenho analítico do eletrodo modificado CoTPP/GCE foi avaliado por meio da variação da concentração de oxigênio dissolvido na célula eletroquímica de acordo com um procedimento proposto na literatura [10]. Os voltamogramas cíclicos registrados em uma solução de KNO_3 0,1 mol L^{-1} são apresentados na Fig. 19A e a corrente de redução aumenta linearmente com a concentração de oxigênio dissolvido, em experimentos realizados no intervalo de 5,0 a 48,7% (coeficiente de correlação de 0,992, Fig. 19B). Os parâmetros analíticos importantes, tais como a reprodutibilidade, repetibilidade e estabilidade em função do tempo foram avaliados por voltametria cíclica. Os estudos de reprodutibilidade foram realizados utilizando

cinco diferentes eletrodos modificados CoTPP/GCE e a repetibilidade das determinações foi avaliada com um eletrodo modificado em diferentes intervalos de tempo ($n = 10$). Os valores de desvio padrão relativo (SD) foram 2,6 e 2,7%, respectivamente. A estabilidade em longo prazo foi avaliada medindo-se a resposta para oxigênio durante cinco dias consecutivos, utilizando-se o mesmo eletrodo modificado. Quando não utilizado, o sensor foi armazenado numa solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O SD calculado foi de 2,6% (entre as medições, o eletrodo foi armazenado à temperatura ambiente). O limite de detecção (LOD) de 0,035% ($0,4 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) foi calculado usando a equação 13 [61]:

$$\text{LOD} = 3\text{SD}/m \quad (13)$$

Figura 19 Voltamogramas cíclicos registrados com CoTPP/GCE a velocidade de $0,1 \text{ V s}^{-1}$ em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo oxigênio em diferentes concentrações: 5,0 até 48,7% de saturação (A). Curva de calibração (B).

Para avaliar a aplicação prática da plataforma proposta para o monitoramento contínuo de oxigênio dissolvido em soluções aquosas neutras, foram realizadas medidas amperométricas a um potencial aplicado de $-0,5 \text{ V}$. O experimento foi projetado com o objetivo de variar a concentração de oxigênio em solução por meio de borbulhamento dos gases oxigênio e argônio, repetidamente. A Fig. 20 mostra o resultado de tal experimento e o aumento da corrente (durante o borbulhamento de O_2) e a diminuição posterior (durante o borbulhamento de argônio) demonstram claramente que o sensor responde rapidamente a variações na concentração de

oxigênio dissolvido.

Figura 20 Monitoramento contínuo de oxigênio usando o eletrodo modificado CoTPP/GCE durante borbulhamento de oxigênio e argônio em solução de KNO_3 $0,1\text{ mol L}^{-1}$. $E = -0,5\text{ V}$.

O sensor CoTPP/GCE foi utilizado para acompanhar a atividade respiratória em um sistema biológico, o qual consistiu em mitocôndrias isoladas de fígado. A resposta para oxigênio foi medida continuamente utilizando o sensor eletroquímico proposto (Fig. 21, azul) e medições paralelas foram realizadas com um eletrodo de Clark (Fig. 21, vermelho) utilizando-se um equipamento considerado padrão para o monitoramento da variação da concentração de oxigênio em sistemas biológicos líquidos [111]. A discreta diminuição da concentração de oxigênio foi detectada por ambos os sistemas de monitoramento na presença de mitocôndrias (a, a'). A subsequente adição de succinato (b, b'), que atua como um substrato para o transporte de elétrons mitocondrial ao oxigênio, gerou um aumento substancial da taxa de consumo de oxigênio. ADP (c, c') aumentou ainda mais este consumo, uma vez que essa substância ativa o mecanismo de fosforização oxidativa mitocondrial [107]. Finalmente, a adição de oligomicina resulta na redução do consumo de oxigênio, devido ao seu efeito inibitório sobre a fosforização oxidativa mitocondrial (d, d'). A semelhança nos perfis observados para o consumo de oxigênio empregando-se os dois diferentes sistemas de detecção confirmam a utilidade do eletrodo modificado proposto como um sensor amperométrico para o oxigênio em amostras biológicas.

Figura 21 Resposta amperométrica do eletrodo modificado CoTPP/GCE ($E = -0,5 \text{ V}$) e dados de concentração de O_2 dissolvido obtidos com eletrodo de Clark (linha vermelha) e CoTPP/GCE (linha azul), em meio celular, após adição de mitocôndrias (a, a', $\sim 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$), succinato (b, b', 1 mmol L^{-1}), ADP (c, c', 1 mmol L^{-1}) e oligomicina (d, d', $1 \mu\text{g mL}^{-1}$).

4.2. Sensor de oxigênio CoTRP/nGO

Para efeito de comparação, voltamogramas cíclicos foram registrados em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo oxigênio em experimentos nos quais empregaram-se eletrodos GCE, GO/GCE, CoTRP/GCE e CoTRP/GO. O pico de redução de oxigênio situa-se em um potencial de $-0,83 \text{ V}$ para o GCE, e o mesmo processo tem lugar em $-0,58 \text{ V}$ com GO/GCE, $-0,29 \text{ V}$ com o eletrodo CoTRP/GCE e $0,04 \text{ V}$ com o eletrodo CoTRP/4GO. Ao comparar os voltamogramas, pode-se observar claramente o deslocamento do potencial para um valor menos negativo (perto de $0,80 \text{ V}$) quando o experimento foi realizado com o eletrodo modificado CoTRP/4GO. Além disso, também é interessante notar os valores de potencial de início da redução eletroquímica, que são $-0,52 \text{ V}$ e $0,30 \text{ V}$ para os eletrodos GCE e CoTRP/4GO, respectivamente. Os resultados obtidos confirmam o melhor comportamento eletrocatalítico do eletrodo modificado CoTRP/4GO para a reação de redução de oxigênio. O grafeno tem propriedades físicas e químicas que melhoram a atividade eletrocatalítica da porfirina [112] e, portanto, facilita o transporte de elétrons, de tal forma que o processo de transferência de elétrons ocorre em potenciais menos negativos [113,114,115,116].

4.2.1. Caracterização dos compósitos CoTRP/nGO

O espectro de absorção eletrônica da porfirina CoTRP (Fig. 22) exibiu bandas associadas aos grupos $[\text{RuCl}(\text{dmbpy})_2]^+$ e $[\text{CoTPyP}]$. A banda a 292 nm foi atribuída à transição $\pi\pi \rightarrow \pi\pi^*$ do ligante dmbpy [37], enquanto as bandas a 348 e 490 nm (ombro da banda de Soret) foram atribuídas às transições $\text{Ru}(\text{d}\pi) \rightarrow \pi\pi^*_{\text{dmbpy}}$ MLCT_2 e MLCT_1 associadas aos quatro complexos periféricos de rutênio. A banda de Soret a 434 nm é ampliada no lado de maior comprimento de onda devido à contribuição das bandas MLCT dos complexos de rutênio.

Figura 22 Espectro UV-Vis de CoTRP, GO e CoTRP/4GO em solução aquosa.

Os compósitos CoTRP/nGO foram preparados por mistura da suspensão de óxido de grafeno com CoTRP. A porfirina CoTRP pode interagir eletrostaticamente com os sítios negativamente carregados presentes na superfície de GO e arestas, conferindo uma carga positiva global alta o suficiente para manter as nanoestruturas em suspensão. Camadas de apenas 1,45 nm de espessura (estimada a partir do perfil de altura mostrada na Fig. 23) foram observadas nas imagens de microscopia AFM, indicando fragmentos de folha GO individuais decorados com CoTRP, consistentes com o compósito CoTRP/1GO (Fig. 23A-23B). No entanto, como a proporção de porfirina-GO aumenta nos compósitos CoTRP/2GO e CoTRP/4GO, a carga positiva líquida sobre as camadas deve diminuir, facilitando o seu empilhamento. Por conseguinte, o nanocompósito com a mais alta proporção porfirina/óxido de grafeno (1:4 m/m) exibiu várias camadas de CoTRP/GO, como

apresentado na Fig. 23C-23D, e cada camada apresentou uma altura de 1,45 nm.

A molécula de TRP possui cerca de 2,0 nm de altura e $\sim 1,1$ nm de largura e isso sugere que a porfirina de cobalto permaneça na posição horizontal sobre a superfície do GO ($\sim 0,9$ nm), e que a interação deve ser "flutuante" ou não muito forte. Assim, o procedimento empregado na síntese deve favorecer a formação da porfirina (CoTRP) que possui carga positiva e se deposita sobre as folhas de GO, que possuem carga negativa. A quantidade de GO na superfície deve ser suficientemente baixa para minimizar a possibilidade de duas moléculas ficarem sobrepostas durante o processo de empilhamento.

Figura 23 Imagens AFM e análise de cross-section do perfil de altura dos filmes das porfirinas CoTRP/GO (A e B) e CoTRP/4GO (C e D).

Análises de TEM corroboram os resultados de AFM, pois o compósito 1:1 exibiu monocamadas isoladas de CoTRP/GO, enquanto o compósito CoTRP/4GO aparece como pilhas de algumas camadas (Fig. 24A-24B). A presença do complexo CoTRP na superfície de GO foi confirmada por análise EDS, que mostrou sinais de rutênio e cobalto sempre juntamente com sinais de carbono (Fig. 24E). O sinal de silício é oriundo de impurezas presentes no grafite, enquanto S e K, provavelmente, foram incorporados no processo de oxidação do grafite. Como esperado, a quantidade de rutênio no compósito CoTRP/4GO é maior do que a de cobalto, pois em cada molécula de porfirina há 4 átomos de rutênio para cada átomo de cobalto.

Figura 24 *Imagens TEM do compósito CoTRP/GO (A e B) e CoTRP/4GO (C e D). Espectro EDS do compósito CoTRP/4GO em (E), 1: branco e 2: compósito.*

O óxido de grafeno e o complexo supramolecular foram caracterizados por espectroscopia Raman, enquanto o composto CoTRP/4GO foi estudado por microscopia Raman confocal (Fig. 25). O óxido de grafeno mostrou uma banda D intensa e simétrica a 1353 cm^{-1} (FWHM= 98 cm^{-1}) e uma banda G a 1608 cm^{-1} (FWHM = 69 cm^{-1}). A relação $I_D/I_G = 0,77$ indica uma alta concentração de defeitos estruturais causados por oxidação de folhas de grafeno e incorporação de sítios sp^3 (tetraédricos). A presença de bandas G', D' e D + G (2700 , 2950 , 3220 cm^{-1}) é comumente encontrada neste tipo de material, sendo que a banda G' está relacionada à organização estrutural no plano do grafeno bidimensional. O complexo CoTRP apresenta picos que podem ser atribuídos aos modos de vibração do ligando bipy e núcleo de porfirina a 1020 cm^{-1} ν (pi), 1213 cm^{-1} δ (pi), 1316 cm^{-1} ν_{NC} , 1369 cm^{-1} V (C α -N) + ν (C α -C β), 1479 cm^{-1} ν (C α -C β), 1544 cm^{-1} ν (C β -C β), 1606 cm^{-1} ν (py).

Figura 25 Espectros Raman de GO (a) e CoTRP (b) na faixa de 500 a 4000 cm^{-1} .

A microscopia Raman confocal é também uma técnica muito importante para a caracterização de materiais compósitos, uma vez que permite o mapeamento químico do material com base nos espectros Raman típicos incorporados em cada pixel. O óxido de grafeno e a molécula de CoTRP exibem perfis espectrais típicos e picos que podem ser encontrados nos compósitos, particularmente o composto CoTRP/4GO, como mostrado na Fig. 26A. De fato, este espectro assemelha-se à soma dos componentes das características espectrais, indicando que a interação

entre eles é relativamente fraca e confirmando a distância relativamente grande que separa os sistemas π de GO e CoTRP. As Fig. 26B-26D mostram resultados do mapeamento das superfícies de CoTRP, GO e CoTRP/4GO, respectivamente, e pode-se observar que tanto o GO, a porfirina e o nanocompósito possuem uma boa dispersão. No compósito, pode-se observar uma boa distribuição da porfirina e do GO (Fig.26E), analisando-se o perfil de secção transversal Raman, correspondente à linha verde na Fig. 26D.

Figura 26 Espectros Raman de CoTRP, GO e o nanocomposito CoTRP/4GO (A). Imagens Raman confocal do nanocomposito CoTRP/4GO geradas a partir dos espectros CoTRP (B), de GO (C) e CoTRP/4GO (D). Sinal Raman correspondente ao perfil transversal ao longo da linha verde vertical indicada na Fig. 26D, considerando a contribuição de CoTRP (linha azul) e GO (linha vermelha) (E).

4.2.2. Comportamento eletroquímico dos eletrodos modificados com CoTRP/nGO

Foram registrados voltamogramas cíclicos dos eletrodos modificados com o compósito CoTRP/4GO em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na faixa de velocidade de varredura de $0,02$ a $0,20 \text{ V s}^{-1}$ (Fig. 27A). O processo situado em $0,9 \text{ V}$ pode ser atribuído ao par redox Ru(II)/Ru(III) associado com a porfirina CoTRP. A transferência de elétrons referente ao par Co(II)/Co(III) geralmente não é observada no voltamograma, uma vez que se trata de processo de transferência de elétrons lento, mas pode ser revelada por espectroeletroquímica.

A intensidade de corrente anódica é linearmente dependente da velocidade de varredura (Fig. 27B). A quantidade da porfirina CoTRP/4GO imobilizada sobre a superfície do eletrodo foi determinada usando a equação 9 e o valor obtido foi $51,3 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ de CoTRP/4GO (calculado a partir do pico Ru(II)/Ru(III)). Com esse eletrodo modificado não foi observado processo que poderia estar associado com o sítio de cobalto da porfirina.

Figura 27 Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado CoTRP/4GO em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ a distintas velocidades de varredura (A) e corrente de pico vs velocidade de varredura (B).

4.2.3. Redução eletrocatalítica do oxigênio nos eletrodos CoTRP/nGO

Os voltamogramas cíclicos de oxigênio dissolvido registrados em uma solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=7,0$) utilizando eletrodos de GCE polido e modificados com GO, CoTRP e CoTRP/4GO são mostrados na Fig. 28A. Com o GCE observou-se um pico catódico no potencial de $-0,82 \text{ V}$. No entanto, observou-se um deslocamento do processo de redução ao se trabalhar com eletrodos modificados com GO, CoTRP e CoTRP/GO para $-0,60 \text{ V}$, $-0,28$ e $0,05 \text{ V}$, respectivamente. Estes resultados indicam o papel do GO no aumento da atividade catalítica para a ORR, sendo o efeito mais pronunciado com CoTRP e CoTRP/GO. Assim, um efeito sinérgico é claramente observado no material nanocompósito, com aumento significativo da atividade eletrocatalítica para a redução catódica de oxigênio.

A influência da proporção de GO sobre a atividade eletrocatalítica da porfirina CoTRP também foi investigada, como apresentado na Fig. 28B. Nota-se que o pico de redução de O_2 foi deslocado de cerca de $-0,23 \text{ V}$ (curva a'), no compósito com a menor quantidade relativa de GO (1:1), para $0,05 \text{ V}$ (curva b'), naquele com maior quantidade relativa de GO (1:4), o que indica que a ativação da molécula CoTRP por GO pode depender da interação com locais específicos sobre a superfície. O melhor desempenho para ORR foi atingido para a proporção 1:4, em vez de 1:6, e isso se deve provavelmente ao fato de que as interações π - π entre as folhas de grafeno tendem a induzir a agregação, impedindo estereoquimicamente o acesso do O_2 à porfirina, diminuindo a atividade catalítica do compósito. Este efeito e a diminuição do número de sítios de porfirina de cobalto disponíveis podem também explicar a diminuição significativa da corrente com o eletrodo modificado com o compósito na proporção 1:6, em comparação com aquele modificado na proporção 1:4. Por conseguinte, a redução eletrocatalítica de oxigênio se deve à ligação de oxigênio com o centro de cobalto(II), que foi ativado pelos complexos de rutênio e pelo GO (até a quantidade na qual o GO começa a se agregar).

Figura 28 Voltamogramas cíclicos registrados em solução KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada com O_2 em eletrodos GCE (a), GO/GCE (b), CoTRP/GCE (c) and CoTRP/4GO (d) (A) e com eletrodos modificados CoTRP/nGO preparados com distintas proporções de porfirina e GO: CoTRP/GO (a'), CoTRP/4GO (b'), CoTRP/6GO (c') (B). Velocidade de varredura: $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Com o objetivo de elucidar o mecanismo da ORR com o eletrodo modificado CoTRP/4GO, foi realizado um estudo por voltametria com eletrodo de disco rotativo (RDE) em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada com O_2 . Esta técnica permite controlar o transporte de massa. Os voltamogramas obtidos com RDE sobre condições hidrodinâmicas (400-3600 rpm) mostrados na Fig. 29A indicam que a corrente limite é uma função linear da raiz quadrada da velocidade de rotação de acordo com a equação de Levich (Fig. 29B), o que confirma a ocorrência de uma reação controlada por transporte de massa. Assim, em valores de potencial entre -0,10 e 0,0 V, a corrente é controlada pela difusão do O_2 a partir do seio da solução para a superfície do eletrodo.

Na faixa de potencial de 0,10 V e 0,0 V, a corrente é controlada pela difusão e pela cinética de transferência de elétrons. Gráficos do recíproco da corrente em função do inverso da raiz quadrada da velocidade de rotação foram feitos para diferentes potenciais nessa faixa e esses são mostrados na Fig. 29C. A linearidade desses gráficos em diferentes valores de potencial indica que o processo de transferência de elétrons segue a equação de Koutecky Levich (14):

$$i^{-1} = i_K^{-1} + (0,62nFAD^{2/3}\omega^{1/2}\nu^{-1/6}C_0)^{-1} \quad (10)$$

em que i é a corrente medida, ω é a velocidade de rotação do eletrodo, D é o coeficiente de difusão de oxigênio na solução de KNO_3 ($1,9 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), n é o número total de elétrons transferidos no ORR, F é a constante de Faraday, C_0 é a concentração de O_2 dissolvido ($1,24 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), A é a área do eletrodo ($0,4301 \text{ cm}^2$) e ν é a viscosidade cinemática do eletrólito ($0,01 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, em KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). O número de elétrons transferidos por molécula de O_2 em diferentes potenciais foi calculado pela inclinação das linhas retas apresentadas na Fig. 29C. Para fins de comparação, as curvas teóricas correspondentes para ORR envolvendo 2 e 4 elétrons foram também incluídas na Fig. 29C. Pela análise dos dados apresentados nessa figura, fica evidente que o processo de redução envolve a transferência de quatro elétrons em potenciais mais próximos de 0,00 V, situação na qual GO está interagindo com o anel da porfirina na transferência da densidade de elétrons e ativando o anel da porfirina de cobalto.

Figura 29 Voltamogramas registrados com eletrodo de disco rotativo (RDE) em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada com O_2 usando o eletrodo modificado CoTRP/4GO (A). Gráficos de Levich (B) e Koutecky-Levich (C), em diferentes potenciais, e curvas teóricas para os processos de 2- e 4-elétrons (linha preta e linha verde, respectivamente).

4.2.4. Aplicações

O desempenho analítico do eletrodo modificado com CoTRP/4GO foi avaliado por medições contínuas da concentração de oxigênio dissolvido após borbulhamento do gás numa solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A concentração de oxigênio foi monitorada simultaneamente com um oxímetro calibrado. As respostas amperométricas no potencial selecionado de $-0,05 \text{ V}$ apresentadas na Fig. 30A confirmam o aumento de corrente como uma função linear da concentração de oxigênio dissolvido (Fig. 30B). O limite de detecção (LOD) de $0,02 \text{ mg L}^{-1}$ ($0,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) foi calculado usando a equação 15:

$$\text{LOD} = 3\text{SD}/m \quad (15)$$

onde SD é o desvio padrão e m é o coeficiente angular da curva de calibração. O LOD obtido para o eletrodo modificado CoTRP/4GO é comparável a alguns valores relatados na literatura [57,62,41,73,117,74].

Figura 30 Resposta amperométrica registrada em $-0,05 \text{ V}$ em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com eletrodo modificado CoTRP/4GO variando-se a concentração de oxigênio dissolvido ($0,00$ a $21,24 \text{ mg L}^{-1}$), a qual foi determinada com um oxímetro (A). Curva de calibração correspondente (B).

Experimento complementar foi realizado variando-se a concentração de oxigênio entre 0 e 100% para avaliar a resposta dinâmica do sensor. Os gases argônio e oxigênio foram borbulhados alternadamente na solução e monitorou-se a

corrente continuamente durante a experimento, conforme mostra-se na Fig. 31A. Os resultados confirmam que o eletrodo modificado responde rapidamente a alterações na concentração do oxigênio dissolvido e fornece respostas reprodutíveis por um longo período de tempo. Além disso, substâncias de interesse bioquímico tais como a glicose, ureia e ácido ascórbico (1 mmol L^{-1}) não têm nenhum ou baixo efeito sobre a resposta do sensor no potencial selecionado de trabalho ($-0,05 \text{ V}$), conforme mostra-se na Fig. 31B.

Figura 31 Resposta amperométrica com eletrodo modificado CoTRP/4GO em solução de $\text{KNO}_3 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, borbulhando argônio e oxigênio ($E = -0,05 \text{ V}$).

4.3. Filme de nanoporos de ouro (NPGF)

A Fig. 32A mostra voltamogramas registrados com um eletrodo de Au e o NPGF em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ numa velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$. No caso do NPGF, os experimentos foram realizados com eletrodos preparados com diferentes tempos de espera a $2,0 \text{ V}$ (10, 20, 30 e 60 minutos), para oxidação do ouro. Pode-se observar um aumento do pico catódico correspondente à redução eletroquímica da camada de óxido de ouro no potencial de $0,9 \text{ V}$ à medida que o tempo de espera aumenta. Para cada tempo de eletrocorrosão, calculou-se a área superficial eletroquímica (ECSA) de acordo com as equações 16 e 17. Para os eletrodos de ouro e NPGF em diferentes tempos de espera (10, 20, 30 e 60 minutos), foram obtidos os seguintes valores de ECSA: 0,3307, 1,038, 1,513, 3,10 e

6,097 cm², respectivamente, observando-se aumento de até aproximadamente 20 vezes na ECSA em comparação com o eletrodo polido. Foram obtidas imagens FE-SEM do eletrodo NPGF modificado com tempo de espera igual a 60 minutos em diferentes ampliações, podendo-se observar a presença de nanoporos na superfície do eletrodo de ouro (Fig. 32B e 32C).

$$\text{Carga (Q)} = \frac{\text{Area}}{\text{Velocidade de varredura}} \quad (16)$$

$$\text{ECSA} = \frac{\text{Carga (Q)}}{390 \mu\text{C cm}^{-2}} \quad (17)$$

Figura 32 Voltamogramas registrados em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} preparados em diferentes tempos de espera 0, 10, 20, 30, 60 minutos (linhas preta, vermelha e azul, verde e rosa respectivamente) (A). Velocidade de varredura: 0,1 V s^{-1} . Imagens FE-SEM dos nanoporos de ouro (B e C).

4.3.1. Utilização dos eletrodos NPGF na ORR

As respostas dos eletrodos de Au e NPGF em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada com oxigênio são apresentadas na Fig. 33A e pode-se observar que o processo de redução do oxigênio é facilitado ao se trabalhar com o eletrodo modificado (deslocamento de potencial para valor menos negativo ($\sim 0,30 \text{ V}$)). Além disso, ocorre um aumento de corrente (aproximadamente 3 vezes) em comparação com o eletrodo de Au. A dependência da corrente de pico com a velocidade de varredura foi examinada registrando-se voltamogramas cíclicos com o eletrodo NPGF em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada em oxigênio. A corrente de pico aumenta linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura, revelando que o processo do eletrodo é controlado por difusão. Além disso, foi calculado o número de elétrons envolvidos na ORR e obteve-se o valor de 2 elétrons com base nos dados da Fig. 33B e nas equações 10,11,12, o que significa que o oxigênio se reduz a peróxido de hidrogênio neste eletrodo modificado.

Figura 33 Voltamogramas cíclicos registrados em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ saturada com O_2 usando, Au e NPGF (linha vermelha e azul respectivamente) a uma velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$ (A); Voltamogramas cíclicos registrados com eletrodo modificado com NPGF na presença de O_2 variando-se a velocidade de varredura desde $0,01$ a $0,20 \text{ V s}^{-1}$ (B).

4.3.2. Calibração e estabilidade do NPGF

A resposta do eletrodo NPGF foi examinada em soluções contendo oxigênio em concentrações variáveis (5 a 71,8%), preparadas de acordo com o esquema experimental mostrado na Fig. 8 e calculadas com base na equação 15. O desempenho analítico foi examinado por voltametria cíclica, observando-se um aumento linear da corrente de pico em função da concentração como mostra as Fig. 34A e 34B. O limite de detecção (LOD) foi calculado a partir do gráfico de calibração (Fig.34B) usando a equação $LOD = 3SD/m$, onde SD é o desvio padrão de medidas registradas em ausência de oxigênio, e m é a inclinação do gráfico de calibração. Obteve-se o valor de $LOD = 2,83\%$ ($35 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Finalmente, analisou-se a resposta do eletrodo NPGF alterando a concentração de O_2 . Medidas amperométricas foram registradas no potencial 0,0 V na solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em experimento realizado durante borbulhamento alternado de oxigênio e argônio. A Fig.34C mostra o resultado desse experimento e pode-se perceber aumento contínuo da corrente durante borbulhamento de O_2 e diminuição da corrente após remoção do O_2 via borbulhamento de argônio.

Figura 34 Voltamogramas cíclicos registrados com NPGF a velocidade de $0,1 \text{ V s}^{-1}$ em solução de KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo oxigênio em diferentes concentrações: 0,0 até 71,8% de saturação (A). Curva de calibração (B) e resposta amperométrica do NPGF frente à variação de O_2 ; $E = 0,00 \text{ V}$ (C).

4.4. Nanopartículas de ouro (Au nanopartículas/GCE)

Um GCE foi polarizado aplicando-se diferentes potenciais ($-2,0$, $-3,0$ e $-4,0 \text{ V}$) em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e HAuCl_4 $5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ durante 90 s para formar um filme de óxido de ouro (cor alaranjado-amarelada) na superfície do eletrodo. A Fig. 35 revela voltamogramas característicos de eletrodos de Au em solução de H_2SO_4 e maiores correntes foram obtidas com eletrodos preparados pela aplicação de $-4,0 \text{ V}$, indicando maior quantidade de Au depositado.

Figura 35 Voltamogramas registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com eletrodos modificados com nanopartículas da Au, preparados em diferentes potenciais (-2,0, -3,0 e -4,0 V, linhas preta, vermelha e azul, respectivamente) por 90 segundos. Velocidade de varredura: $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

4.4.1. Caracterização eletroquímica e microscópica de varredura eletrônica das Au nanopartículas/GCE

O perfil voltamétrico do eletrodo fabricado com as nanopartículas de ouro em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi estudado e comparado com aquele oriundo de experimentos realizados com eletrodo de carbono vítreo e eletrodo polido de Au. A Fig. 36A mostra os resultados obtidos e pode-se observar a presença de um pico catódico característico no potencial de 0,9 V, correspondente à redução eletroquímica da camada de óxido de ouro formada no eletrodo. Observa-se que a corrente em 0,9 V é muito mais significativa ao se utilizar o GCE modificado com nanopartículas de Au em comparação com o eletrodo de Au polido, pois a área superficial é maior e existem sítios cataliticamente ativos. As imagens FE-SEM do eletrodo contendo nanopartículas de ouro com ampliações diferentes são mostradas na Fig. 36B e 36C e ratificam a formação das estruturas nanométricas de ouro na superfície do eletrodo de carbono vítreo.

Figura 36 Voltamogramas registrados em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ com GCE (linha preta), eletrodo de Au polido (linha vermelha) e GCE modificado com nanopartículas de Au (linha azul) a uma velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$ (A) e imagens FE-SEM das nanopartículas de ouro (B e C).

Análises por EDS das nanopartículas de Au foram realizadas e confirmou-se a presença do ouro na superfície do GCE, conforme observa-se pelos resultados apresentados na Fig 37A-37C. Análise cristalográfica das nanopartículas foi executada por difração de raios X (XRD), obtendo-se picos intensos nos ângulos $38,94^\circ$, $45,23^\circ$, $65,93^\circ$, $79,75^\circ$ e $83,74^\circ$, que correspondem aos planos cristalográficos (111), (200), (220), (311) e (222), respectivamente (Fig. 37D).

Figura 37 Imagem FE-SEM de nanopartículas de ouro (A) e espectros EDS registrados nas posições 1 (B) e 2 (C). Análise cristalográfica por XRD das nanopartículas de Au (D).

4.4.2. Estudo eletroquímico sobre ORR em eletrodos modificados com nanopartículas de ouro

As respostas voltamétricas dos eletrodos de carbono vítreo, Au e com nanopartículas de ouro em solução de PBS 0,1 mol L⁻¹ na ausência e presença de oxigênio são mostradas na Fig. 38A. Pode-se observar processo de redução de oxigênio nos eletrodos de carbono vítreo, ouro e com nanopartículas de ouro (pico de potencial de redução em -0,8 V, -0,42 V e -0,12 V respectivamente). O sobrepotencial para o processo de redução de oxigênio empregando-se a plataforma proposta é significativamente menor em comparação com valores relatados na literatura, observando-se adicionalmente um sinal de corrente bastante amplificado.

Esse desempenho superior do eletrodo modificado com nanopartículas de ouro pode ser explicado pela presença de sítios cataliticamente ativos e pelo aumento da ECSA ($ECSA = 0,252 \text{ cm}^2$ para o eletrodo de ouro e $9,562 \text{ cm}^2$ para o eletrodo modificado com as nanopartículas de ouro, conforme cálculos executados com base nas equações 16 e 17), de tal forma que o processo de transferência de elétrons é facilitado e ocorre com ganho de corrente.

Para compreender a cinética do processo de transferência de elétrons envolvendo a ORR no eletrodo modificado com nanopartículas de ouro, foram registrados voltamogramas cíclicos em distintas velocidades de varredura na faixa $0.01\text{-}0.1 \text{ V s}^{-1}$, em solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo oxigênio dissolvido (100 %) (Fig. 38B). Dados de corrente de pico (i_p) foram usados para construir a Fig. 38C, em que se demonstra relação linear entre corrente de pico e raiz quadrada da velocidade de varredura (v). Portanto, conclui-se que o processo é controlado por difusão.

Figura 38 Voltamogramas cíclicos registrados em solução de PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH=7) saturada com O₂ usando eletrodos GCE (a'), Au (b') e GCE modificado com nanopartículas de ouro (c'), e na ausência de O₂: GCE (a), Au (b), modificado com nanopartículas de ouro (c) a uma velocidade de varredura de 0,1 V s⁻¹ (A); Voltamogramas cíclicos registrados com eletrodo modificado com nanopartículas de ouro na presença de O₂ variando-se a velocidade de varredura (B). Influência da velocidade de varredura na corrente de pico obtida dos voltamogramas mostrados em B (C).

Distintos tipos de mecanismos para o processo de redução de oxigênio são descritos na literatura, nos quais os produtos principais são peróxido de hidrogênio e água [118]. Com o intuito de examinar o mecanismo da ORR no eletrodo modificado com nanopartículas de ouro, realizou-se estudo por RDE em solução de PBS 0,1 mol L⁻¹ saturada com O₂. Os voltamogramas obtidos sob condições hidrodinâmicas (100-1225 rpm) são mostrados na Fig. 39A. Considerando-se a faixa de potencial de -0,20 V a -0,60 V, observa-se a existência de linearidade no gráfico correspondente ao inverso da corrente e o inverso da raiz quadrada da velocidade de rotação (Fig.

39B), portanto conclui-se que o processo de transferência de elétrons segue a equação de Koutecky-Levich (equação 14), em que i é a corrente, ω é a velocidade de rotação do eletrodo, D é o coeficiente de difusão de oxigênio na solução de PBS ($1,9 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), n é o número total de elétrons transferidos, F é a constante de Faraday (96484 C mol^{-1}), C_0 é a concentração de O_2 ($1,24 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), A é a área do eletrodo ($0,43 \text{ cm}^2$) e ν é a viscosidade cinemática do eletrólito ($0,01 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, em PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). O número de elétrons transferidos por molécula de O_2 (n) em diferentes potenciais foi calculado pela inclinação das linhas retas apresentadas na Fig. 39B. Pela análise dos dados apresentados, pode-se afirmar que a reação de redução de oxigênio nesse eletrodo modificado ocorre em processo envolvendo 4 elétrons, ou seja, as nanoestruturas consistem em plataforma bastante eficiente para a redução completa de O_2 a água.

Figura 39 Voltamogramas registrados com eletrodo de disco rotativo (RDE) modificado com nanopartículas de ouro em solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=7$) saturada com O_2 (velocidade de varredura de $0,01 \text{ V s}^{-1}$) (A). Gráfico de Koutecky-Levich em diferentes potenciais e curvas teóricas para os processos de 2- e 4-elétrons (linha vermelha e linha preta, respectivamente) (B).

4.4.3. Aplicações

O desempenho analítico do sensor fabricado com nanopartículas de ouro foi examinado por medições contínuas da concentração de oxigênio dissolvido após borbulhamento de O_2 numa solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A concentração real de

oxigênio foi monitorada simultaneamente com um oxímetro calibrado. Nas voltametrias lineares (LSV) apresentadas na Fig. 40A, observa-se aumento da corrente de pico à medida que se aumenta a concentração de O_2 dissolvido na solução. Com base nas correntes medidas em -0,12 V, construiu-se curva de calibração e os dados demonstram a existência de uma relação linear entre corrente e concentração de oxigênio dissolvido (Fig. 40B). O limite de detecção (LOD) de $0,04 \text{ mg L}^{-1}$ ($1,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) foi calculado usando a equação 15, onde SD é o desvio padrão (o desvio padrão de dez voltamogramas registrados em PBS livre de oxigênio) e m é a inclinação da curva de calibração. Tal valor é bastante baixo em comparação a outros reportados na literatura [41,37,57,119].

Figura 40 Voltametria linear (LSV) correspondente à variação da concentração de oxigênio ($0,00$ a $39,68 \text{ mg L}^{-1}$) em solução de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=7$) usando eletrodo modificado com nanopartículas de ouro em velocidade de varredura de $0,1 \text{ V s}^{-1}$ (A). Curva de calibração correspondente (B).

A avaliação da resposta dinâmica do sensor foi examinada monitorando-se a corrente após saturação da solução de PBS com O_2 . Os resultados apresentados na Fig. 41 demonstram que o eletrodo modificado com nanopartículas de ouro responde rapidamente às alterações na concentração do oxigênio dissolvido e que o sinal é estável por um longo período de tempo. Na Fig. 41, observa-se que a adição de algumas substâncias de importância fisiológica (glicose, ureia e ácido ascórbico (1 mmol L^{-1}) [37], não acarretam mudança na resposta do sensor, ou seja, existe

relativa seletividade para O₂ no potencial selecionado para as determinações (-0,12 V).

Figura 41 Resposta amperométrica registrada com eletrodo modificado com nanopartículas de ouro em solução de PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH=7) durante borbulhamento de argônio e oxigênio (A) e após adição de interferentes: glicose (Glu), ureia e ácido ascórbico (AA), (1 mmol L⁻¹). (E= -0,12 V).

4.4.4. Comportamento eletroquímico para a reação de desprendimento de hidrogênio (HER)

O mecanismo do processo HER foi estudado com o eletrodo modificado de acordo com as duas etapas usualmente aceitas na literatura [82,81,120]. O primeiro passo envolve a adsorção de átomo de hidrogênio (H) sobre a superfície do eletrodo por meio da reação de Volmer, equação 18:

Após a reação de Volmer, hidrogênio é gerado mediante duas vias de reação. A primeira delas acontece quando o átomo de hidrogênio que foi adsorvido na superfície do eletrodo reage com o próton proveniente da solução e essa etapa é conhecida como reação de Heyrovksy, descrita na equação 19:

Uma outra via de geração de hidrogênio envolve a interação das espécies adsorvidas na superfície do material, em processo descrito pela reação de Tafel (equação 20):

Assim, com base no coeficiente angular de curvas de polarização é possível descrever o mecanismo pelo qual H_2 é gerado no processo HER. No presente trabalho, dados foram obtidos por Voltametria Linear (LSV) em solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na ausência de oxigênio e a uma velocidade de varredura de 5 mV s^{-1} . Os estudos de HER foram feitos de modo comparativo com os eletrodos GC, Pt, Au e o modificado com nanopartículas de ouro. Observou-se uma antecipação no processo de desprendimento de hidrogênio ao se trabalhar com o eletrodo GC modificado com nanopartículas de ouro em relação aos eletrodos GC, Au e Pt (~ 180 , ~ 130 e 39 mV , respectivamente), conforme observa-se pela análise dos voltamogramas mostrados na Fig. 42A. As curvas de Tafel apresentadas na Fig. 42B revelam uma inclinação de 59 mV dec^{-1} para o eletrodo modificado com nanopartículas de ouro, indicando que o mecanismo do processo de HER é regido pela reação de Volmer –Heyrovsky.

Outro parâmetro importante em estudos sobre HER refere-se à avaliação da manutenção de resposta durante o registro de curvas de polarização. Experimentos foram realizados em meio de H_2SO_4 com base em voltametrias cíclicas consecutivas a $0,01 \text{ V s}^{-1}$. Como se pode notar pela análise dos dados apresentados na Fig. 42C, a resposta voltamétrica é relativamente estável, já que a densidade de corrente inicial é de $29,4 \text{ mA cm}^{-2}$ (a -100 mV vsNRHE) e atinge $25,3 \text{ mA cm}^{-2}$ após 2000 ciclos, ou seja, a perda de sinal é de $\sim 13,9\%$. A estabilidade do eletrodo modificado também foi avaliada pela execução de eletrólise a 10 mA cm^{-2} . Observa-se na Fig. 42D que o potencial se mantém praticamente constante mesmo após 4 horas, sugerindo que esse eletrodo pode ser considerado como alternativa viável para o processo HER (todos os potenciais repostados em NHE foram transformados mediante a equação 21).

$$E_{\text{NHE}} = E_{\text{Ag/AgCl}} + 0,199 \text{ V}$$

(21)

Figura 42 Voltametria linear (LSV) em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} usando eletrodos GCE (linha preta), Au (linha vermelha), platina (linha azul) e GC modificado com nanopartículas de ouro (linha verde) a uma velocidade de varredura de 5 mV s^{-1} (iR corrigido) (A). Curvas de Tafel (B). Voltametria linear (LSV) em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} usando o eletrodo modificado com nanopartículas de ouro: ciclo 1, 1000 e 2000 (linha preta, vermelha e azul, respectivamente) (C). Curva de potencial em função do tempo durante aplicação de corrente catódica constante de 10 mA cm^{-2} durante 17 h em uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} , na ausência de oxigênio (D).

Com a finalidade de investigar a cinética da HER no eletrodo modificado com nanopartículas de Au, foram realizados experimentos de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). As curvas de Nyquist e o ajuste de dados para um circuito simplificado são mostrados na Fig. 43 A e B, respectivamente. Conforme pode ser observado, a resistência (R_{ct}) na interface é de aproximadamente 20,3 Ω para o eletrodo modificado com nanopartículas de ouro. Os correspondentes valores

para o eletrodo de Pt e o de ouro foram 16,5 Ω e 950 Ω , respectivamente, demonstrando que a cinética de transferência de carga no eletrodo modificado com nanopartículas de ouro é semelhante àquela obtida com o eletrodo convencional de platina.

Figura 43 Diagramas de Nyquist para diferentes eletrodos obtidos em uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} .

4.5. Utilização do melhor sensor para análises em amostras ambientais

A análise comparativa do desempenho dos distintos sensores eletroquímicos fabricados para a detecção de oxigênio desenvolvidos neste projeto foi feita com base nos seguintes parâmetros: seletividade, sensibilidade, faixa linear de concentração e limite de detecção. Informações referentes a esses parâmetros analíticos para os sensores NPGF, CoTPP, CoTRP/GO e Au nanopartículas/GCE são expostos na Tabela 4. Levando em consideração esses parâmetros pode-se concluir que o melhor sensor foi o CoTRP/GO, pois o processo de redução do O_2 ocorre em potencial menos negativo e a faixa dinâmica de concentração é bastante extensa. De outro lado, sob um ponto de vista operacional deve-se ressaltar que a construção desse sensor não é tão simples devido à necessidade de síntese da porfina e do óxido de grafeno. Tal complicação experimental é menos acentuada no caso dos eletrodos fabricados à base de nanoestruturas de Au, sendo que os eletrodos contendo nanoporos possuem um limite de detecção mais elevado, o que pode ser inadequado no caso de amostras com baixas quantidades de O_2 dissolvido.

Tabela 4 **Sensores eletroquímicos para a detecção de oxigênio desenvolvidos nesse trabalho.**

Eletrodos modificados	Técnica	Potencial de pico (V) vs Ag/AgCl	Faixa linear (mg L⁻¹)	LOD (mg L⁻¹)
NPGF ^a	CV	-0,045	1,98-19,32	1,12
CoTPP ^b /GC	CV	-0,420	1,98-28,49	0,01
CoTRP ^c /GO	Amp	+0,050	1,66-21,24	0,02
Au nanopartículas/GCE	LSV	-0,120	2,16-39,68	0,04

^a filme de nanoporos de ouro; ^b 5,10,15,20-tetrafenilporfirina de cobalto (II); ^c [tetrakis-bisdimetil bipyridina cloro rutênio(II)]-5,10,15,20-Tetrapiridinaporfirina de Cobalto(II).

O sensor Au nanopartículas/GCE foi aplicado em algumas amostras de águas de torneira e lago para corroborar a eficácia e aplicabilidade em amostras reais. Neste contexto, foram tomadas amostras da torneira do laboratório do Prof. Dr. Mauro Bertotti e de um lago da USP (“raia olímpica”) (localização: “-23.555980, -46.721004” e “-23.555648, -46.721695”, respectivamente). A Fig. 44 mostra fotos da coleta de amostras da raia da USP. Os resultados apresentados na Tabela 5 revelam claramente que a concentração de oxigênio na amostra de água da “raia” é relativamente menor em comparação com a amostra de água de torneira. Tal fato seria esperado devido ao ecossistema existente na água da raia, responsável pelo consumo de oxigênio. No caso da água de torneira, o valor obtido é concordante com aquele esperado para água saturada com ar (em torno de 8 mg L⁻¹, à temperatura ambiente). Pela análise da Tabela 5 pode-se também verificar que as concentrações obtidas com o sensor proposto são coincidentes com as oriundas do uso do oxímetro comercial, indicando que o método proposto possui boa exatidão.

Tabela 5 Resultado de análise de O₂ em amostras de águas

Amostra	Nº de medidas	Concentração de oxigênio (mg L ⁻¹)		
		Sensor	Oxímetro	Diferença %
Água da torneira	20	7,70±0,08	7,93±0,03	2,90
Água da raia (1)	20	4,86±0,11	5,06±0,06	3,95
Água da raia (2)	20	4,97±0,07	4,96±0,01	0,20

Figura 44 Fotografias do lago da USP (“raia olímpica”) e pontos de coleta: à direita “Água da raia (1)” (localização: “-23.555980, -46.721004”) e à esquerda “Água da raia (2)” (localização: “-23.555648, -46.721695”).

5. Conclusões

A modificação da superfície de eletrodos de carbono vítreo (GCE) com metaloporfirinas de cobalto (II) (CoTPP) visando à eletrorredução de oxigênio mostrou-se favorável, pois observou-se a deposição de um filme com boa estabilidade. O centro de cobalto antecipou a resposta eletroquímica referente ao processo de redução do analito em ~ 300 mV. Os estudos cinéticos realizados sugeriram que o mecanismo de redução no eletrodo modificado com CoTPP/GCE é por via de 2 elétrons, ou seja, o produto principal é o peróxido de hidrogênio. O sensor foi empregado no monitoramento do consumo de oxigênio por mitocôndrias em tempo real durante a adição de substâncias que aceleram ou retardam o processo, e os dados obtidos foram concordantes com aqueles oriundos do uso em paralelo de eletrodo comercial.

Ao adicionar o grupo $[\text{Ru}(\text{dmbpy})_2\text{Cl}_2]$ nas posições meso das porfirinas, observou-se melhoria no desempenho do sensor no que se refere ao processo de redução do O_2 . A incorporação de GO melhorou ainda mais o desempenho do sensor, sendo que aquele fabricado como o compósito denominado foi o mais efetivo, pois o processo de redução do O_2 ocorreu em potencial próximo a 0,0 vs Ag/AgCl em solução aquosa neutra $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KNO}_3$. Cumpre destacar que filmes estáveis foram formados na superfície do eletrodo de carbono vítreo com esse compósito, propiciando o desenvolvimento de sensor respostas rápidas e reproduzíveis. O mecanismo da ORR nessa superfície foi elucidado por estudos com voltametria linear e com um RDE, concluindo-se que nesse caso o O_2 é reduzido em processo de quatro elétrons, tendo a água como produto principal da reação. No potencial de trabalho observou-se influência desprezível na resposta eletroquímica após a adição de interferentes biológicos típicos como glicose, ureia e ácido ascórbico.

O processo de redução de O_2 também foi estudado em superfícies contendo nanoestruturas de ouro, sintetizadas por processo de corrosão eletroquímica em meio de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Nessa nova plataforma, a redução de O_2 ocorreu em potencial bastante favorável ($-0,045 \text{ V}$ vs Ag/AgCl) e com maior sensibilidade (aproximadamente duas vezes maior) em comparação com o eletrodo polido de Au. Com base em

estudos mecanísticos do processo de redução do O_2 , concluiu-se que nesse caso o produto da reação é H_2O_2 .

Processo alternativo para a imobilização de nanoestruturas de Au em uma superfície eletródica (GCE) foi testado por eletrodeposição trabalhando-se com solução de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ + $HAuCl_4$ $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$. O processo de redução do O_2 no sensor denominado Au nanopartículas/GCE ocorreu com baixa sobretensão ($\sim -0,1 \text{ V}$ vs Ag/AgCl) em solução de PBS, proporcionando rápidas e reprodutíveis respostas, além de sensibilidade 3 vezes maior do que a obtida com o eletrodo polido. Estudos cinéticos realizados por voltametria com RDE indicaram que o processo de redução de O_2 ocorre com transferência de 4 elétrons e formação de água. A reação eletródica é facilitada nessa superfície devido à presença de sítios cataliticamente ativos que favorecem a transferência de elétrons. Com esse sensor foram realizadas análises visando ao monitoramento da concentração de O_2 em amostras de águas e os resultados foram concordantes com aqueles obtidos utilizando-se oxímetro comercial e coerentes com a natureza das amostras (torneira e de lago).

6. Referências

- [1] Sedigheh Rostami, Seyed N. Azizi and Sharam Ghasemi. Using of silver nanoparticles incorporated in nanoporous ZSM-5 hierarchical zeolite prepared from bagasse as a new sensor for electrocatalytic determination of H_2O_2 in biological samples. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **799**, 583–594 (2017).
- [2] Long Zhang, Yangping Wen, Yuanyuan Yao, Jingkun Xu, Xuemin Duan and Ge Zhang. Synthesis and Characterization of PEDOT Derivative with Carboxyl Group and Its Chemo/Bio Sensing Application as Nanocomposite, Immobilized Biological and Enhanced Optical Materials. *Electrochimica Acta* **116**, 343–354 (2014).
- [3] Anandhakumar Sukeri, Alex S. Lima and Mauro Bertotti. Development of non-enzymatic and highly selective hydrogen peroxide sensor based on nanoporous gold prepared by a simple unusual electrochemical approach. *Microchemical Journal* **133**, 149–154 (2017).
- [4] Christopher M. A. Brett. Electrochemical sensors for environmental monitoring. Strategy and examples. *Pure and Applied Chemistry* **73**, (2001).
- [5] Denise Lowinsohn and Mauro Bertotti. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. *Química Nova* **6**, 1318–1325 (2006).
- [6] Urbanová Veronika, Bakandritsos Aristides, Jakubec Petr, Tamás Szambó and Radek Zbořil. A facile graphene oxide based sensor for electrochemical detection of neonicotinoids. *Biosensors and Bioelectronics* **89**, 532–537 (2017).
- [7] Juliana C. Duarte, Rita C. S. Luz, Flavio S. Damos, Auro A. Tanaka and Lauro T. Kubota. A highly sensitive amperometric sensor for oxygen based on iron(II) tetrasulfonated phthalocyanine and iron(III) tetra-(N-methyl-pyridyl)-porphyrin multilayers. *Analytica Chimica Acta* **612**, 29–36 (2008).
- [8] Jinping Wang, Hua Gao, Fenglei Sun and Caixia Xu. Nanoporous PtAu alloy as an electrochemical sensor for glucose and hydrogen peroxide. *Sensors and Actuators B: Chemical* **191**, 612–618 (2014).

- [9] Koiti Araki, Lucio Angnes, Carla M. N. Azevedo and Henrique E. Toma. Electrochemistry of a tetraruthenated cobalt porphyrin and its use in modified electrodes as sensors of reducing analytes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **397**, 205–210 (1995).
- [10] Maciej Sosna, Guy Denuault, Robin W. Pascal, Ralf D. Prien and Matt Mowlem. Development of a reliable microelectrode dissolved oxygen sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical* **123**, 344–351 (2007).
- [11] Xike Tian, Lin Liu, Yong Li, Chao Yang, Zhaoxin Zhou, Yulun Nie and Yanxin Wang. Nonenzymatic electrochemical sensor based on CuO-TiO₂ for sensitive and selective detection of methyl parathion pesticide in ground water. *Sensors and Actuators B: Chemical* **256**, 135–142 (2018).
- [12] Chao Chen, Rui Ran, Zhiyu Yang, Ruitao Lv, Wanci Shen, Feiyu Kang and Zheng-Hong Huang. An efficient flexible electrochemical glucose sensor based on carbon nanotubes/carbonized silk fabrics decorated with Pt microspheres. *Sensors and Actuators B: Chemical* **256**, 63–70 (2018).
- [13] Hao-Fan Wang, Cheng Tang and Qiang Zhang. Template growth of nitrogen-doped mesoporous graphene on metal oxides and its use as a metal-free bifunctional electrocatalyst for oxygen reduction and evolution reactions. *Catalysis Today* **301**, 25–31 (2018).
- [14] Feifei Song, Pan Ma, Changlong Chen, Jingna Jia, Yucheng Wang and Peihua Zhu. Room temperature NO₂ sensor based on highly ordered porphyrin nanotubes. *Journal of Colloid and Interface Science* **474**, 51–57 (2016).
- [15] Suhua Fan, Yun Zhu, Ruirui Liu, Hong Zhang, Zhong-sheng Wang and Hai Wua. A porphyrin derivative for the fabrication of highly stable and sensitive electrochemical sensor and its analytical applications. *Sensors and Actuators B: Chemical* **233**, 206–213 (2016).
- [16] Qingyun Liu, Pengpeng Chen, Zhe Xu, Miaomiao Chen, Yanan Ding, Kang Yue and Jian Xu. A facile strategy to prepare porphyrin functionalized ZnS nanoparticles and their peroxidase-like catalytic activity for colorimetric sensor of hydrogen peroxide and glucose. *Sensors and Actuators B: Chemical* **251**, 339–348 (2017).

- [17] Li Wu, Lingyan Feng, Jinsong Ren and Xiaogang Qu. Electrochemical detection of dopamine using porphyrin-functionalized graphene. *Biosensors and Bioelectronics* **34**, 57–62 (2012).
- [18] Josué M. Gonçalves, Robson R. Guimarães, Bruno B.N.S. Brandão, Lucas P. H. Saravia, Pamela O. Rossini, Cícero V. Nunes, Juliana S. Bernardes, Mauro Bertotti, Lucio Angnes and Koiti Araki. Nanostructured Alpha-NiCe Mixed Hydroxide for Highly Sensitive Amperometric Prednisone Sensors. *Electrochimica Acta* **247**, 30–40 (2017).
- [19] Shinsuke Ishihara, Jan Labuta, Wim Van Rossom, Daisuke Ishikawa, Kosuke Minami, Jonathan P. Hill and Katsuhiko Ariga. Porphyrin-based sensor nanoarchitectonics in diverse physical detection modes. *Physical Chemistry Chemical Physics* **16**, 9713 (2014).
- [20] Gema de la Torre, Giovanni Bottari, Michael Sekita, Anita Hausmann, Dirk M. Guldi and Tomás Torres. A voyage into the synthesis and photophysics of homo- and heterobinuclear ensembles of phthalocyanines and porphyrins. *Chemical Society Reviews* **42**, 8049 (2013).
- [21] Koiti Araki, Sergio Dovidauskas, Herbert Winnischofer, Anamaria D. P. Alexiou and Henrique E. Toma. A new highly efficient tetra-electronic catalyst based on a cobalt porphyrin bound to four μ_3 -oxo-ruthenium acetate clusters. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **498**, 152–160 (2001).
- [22] Wei Yin, Changguo Chen, Huanbao Fa and Liping Zhang. Electropolymerization of CoTPP and its catalytic performance for oxygen-reduction reaction in an acid medium. *Journal of Solid State Electrochemistry* **17**, 3095–3099 (2013).
- [23] Michael J. Gottfried, Ken Flechtner, Andreas Kretschmann, Thomas Lukasczyk, and Hans-Peter Steinrück. Direct synthesis of a metalloporphyrin complex on a surface. *Journal of the American Chemical Society* **128**, 5644–5645 (2006).
- [24] Ana Delgado-Lima, António M. Fonseca, Ana V. Machado. Novel iridium-pentafluorophenyl porphyrin complex. *Materials Letters* **200**, 6–9 (2017).

- [25] Kelly A. D. F. Castro, João M. M. Rodrigues, Ricardo F. Mendes, Maria da G. P. M. S. Neves, Mário M. Q. Simões, José A. S. Cavaleiro, Filipe A. A. Paz and João P.C. Tomé, Shirley Nakagaki. New copper porphyrins as functional models of catechol oxidase. *Journal of Catalysis* **344**, 303–312 (2016).
- [26] Gregory Kalyuzhny, Alexander Vaskevich, Gonen Ashkenasy, Abraham Shanzer and Israel Rubinstein. UV/Vis Spectroscopy of Metalloporphyrin and Metallophthalocyanine Monolayers Self-Assembled on Ultrathin Gold Films. *The Journal of Physical Chemistry B* **104**, 8238–8244 (2000).
- [27] Ildemar Mayer, Henrique E. Toma and Koiti Araki. Electrocatalysis on tetraruthenated nickel and cobalt porphyrins electrostatic assembled films. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **590**, 111–119 (2006).
- [28] Ildemar Mayer, Marcelo Nakamura, Henrique E. Toma and Koiti Araki. Multielectronic redox and electrocatalytic supramolecular films based on a tetraruthenated iron porphyrin. *Electrochimica Acta* **52**, 263–271 (2006).
- [29] David González-Rodríguez, Christian G. Claessens, and Tomás Torres. Synthesis of low-symmetry subphthalocyanines with diverse functionalization patterns. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines* **13**, 203–214 (2009).
- [30] Yun Yang, Ruirui Sun, Mingyi Tang and Shi Ren. Ionic self-assembled porphyrin-graphene composite for enhanced photocurrent response and electrochemical property. *Low-dimensional Systems and Nanostructures. Physica E* **86**, 76–80 (2017).
- [31] Wenwen Tu, Jianping Lei, Guoqiang Jian, Zheng Hu and Huangxian Ju. Noncovalent Assembly of Picket-Fence Porphyrins on Nitrogen-Doped Carbon Nanotubes for Highly Efficient Catalysis and Biosensing. *Chemistry - A European Journal* **16**, 4120–4126 (2010).
- [32] Sumio Iijima. Direct observation of the tetrahedral bonding in graphitized carbon black by high resolution electron microscopy. *Journal of Crystal Growth* **50**, 675–683 (1980).
- [33] R. M. N. M. Rathnayake, H. W. M. A. C. Wijayasinghe, H. M. T. G. A. Pitawala, Masamichi Yoshimura, Hsin-Hui Huang. Synthesis of graphene oxide and reduced graphene oxide by needle platy natural vein graphite. *Applied Surface Science* **393**, 309–315 (2017).

- [34] S. Tourani, A. M. Rashidi, A. A. Safekordi, H. R. Aghabozorg and F. Khorasheh. Synthesis of Reduced Graphene Oxide-Carbon Nanotubes (rGO–CNT) Composite and Its Use As a Novel Catalyst Support for Hydro-Purification of Crude Terephthalic Acid. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **54**, 7591–7603 (2015).
- [35] Xi'an Chen, Xiaohua Chen, Fengqiao Zhang, Zhi Yang, Shaoming Huang. One-pot hydrothermal synthesis of reduced graphene oxide/carbon nanotube/ α -Ni(OH)₂ composites for high performance electrochemical supercapacitor. *Journal of Power Sources* **243**, 555–561 (2013).
- [36] Ramendra S. Dey, Saumen Hajra, Ranjan K. Sahu, Raj C. Retna and M. K. Panigrahi. A rapid room temperature chemical route for the synthesis of graphene: metal-mediated reduction of graphene oxide. *Chemical Communications* **48**, 1787 (2012).
- [37] Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, Josue M. Gonçalves, Juan S. Aguirre-Araque, Bruno B.N.S. Brandão, Tiago A. Matias, Marcelo Nakamura, Koiti Araki, Henrique E. Toma and Mauro Bertotti. CoTRP/Graphene oxide composite as efficient electrode material for dissolved oxygen sensors. *Electrochimica Acta* **222**, 1682–1690 (2016).
- [38] Subbiramaniyan Kubendhiran, Subramanian Sakthinathan, Shen-Ming Chen, P. Tamizhdurai, K. Shanthi, Chelladurai Karuppiyah. Green reduction of reduced graphene oxide with nickel tetraphenyl porphyrin nanocomposite modified electrode for enhanced electrochemical determination of environmentally pollutant nitrobenzene. *Journal of Colloid and Interface Science* **497**, 207–216 (2017).
- [39] Celine I. L. Justino, Ana R. Gomes, Ana C. Freitas, Armando C. Duarte and Teresa A. P. Rocha-Santos. Graphene based sensors and biosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **91**, 53–66 (2017).
- [40] Sheeba Alexander, P. Baraneedharan, Shriya Balasubrahmanyam and S. Ramaprabhu. Highly sensitive and selective non enzymatic electrochemical glucose sensors based on Graphene Oxide-Molecular Imprinted Polymer. *Materials Science and Engineering: C* **78**, 124–129 (2017).

- [41] Anandhakumar Sukeri, Lucas P. H. Saravia and Mauro Bertotti. A facile electrochemical approach to fabricate a nanoporous gold film electrode and its electrocatalytic activity towards dissolved oxygen reduction. *physical chemistry chemical physics*, **17**, 28510–28514 (2015).
- [42] Wittstock Arne, Biener Jürgen and Bäumer Marcus. Nanoporous gold: a new material for catalytic and sensor applications. *Physical Chemistry Chemical Physics* **12**, 12919 (2010).
- [43] Micheál D. Scanlon, Urszula Salaj-Kosla, Serguei Belochapkine, Domhnall MacAodha, Dónal Leech, Yi Ding and Edmond Magner. Characterization of Nanoporous Gold Electrodes for Bioelectrochemical Applications. *Langmuir* **28**, 2251–2261 (2012).
- [44] Jintao Zhang and Chang M. Li. Nanoporous metals: fabrication strategies and advanced electrochemical applications in catalysis, sensing and energy systems. *Chemical Society Reviews* **41**, 7016 (2012).
- [45] Falong Jia, Chuanfang Yu, Zhihui Ai and Lizhi Zhang. Fabrication of Nanoporous Gold Film Electrodes with Ultrahigh Surface Area and Electrochemical Activity. *Chemistry of Materials* **19**, 3648–3653 (2007).
- [46] Limei Chen, Yi Peng, Jia-En Lu, Nan Wang, Peiguang Hu, Bingzhang Lu and Shaowei Chen. Platinum nanoparticles encapsulated in nitrogen-doped graphene quantum dots: Enhanced electrocatalytic reduction of oxygen by nitrogen dopants. *International Journal of Hydrogen Energy* (2017).
- [47] Weiwei Yang, Yu Bai, Yancai Li and Changqing Sun. Amperometric nitrite sensor based on hemoglobin/colloidal gold nanoparticles immobilized on a glassy carbon electrode by a titania sol-gel film. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **382**, 44–50 (2005).
- [48] Xike Tian, Lin Liu, Yong Li, Chao Yang, Zhaoxin Zhou, Yulun Nie and Yanxin Wang. Nonenzymatic electrochemical sensor based on CuO-TiO₂ for sensitive and selective detection of methyl parathion pesticide in ground water. *Sensors and Actuators B: Chemical* **256**, 135–142 (2018).
- [49] Fengyu Xiea, Xiaoqin Cao, Fengli Qud, Abdullah M. Asiri and Xuping Sun. Cobalt nitride nanowire array as an efficient electrochemical sensor for glucose and H₂O₂ detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **255**, 1254–1261 (2018).

- [50] Bruce E. Logan, Bert Hamelers, Reneä Rozendal, Uwe Schröder, Jürg Keller, Stefano Freguia, Peter Aelterman, Willy Verstraete and Korneel Rabaey. Microbial fuel cells: Methodology and technology. *Environmental Science and Technology* **40**, 5181–5192 (2006).
- [51] Raymond Jasinski. A New Fuel Cell Cathode Catalyst. *Nature* **201**, 1212–1213 (1964).
- [52] Fang Wang, Jia Zhao, Yanxia Xu and Shengshui Hu. Electroreduction of dioxygen on Aunano-DNA film electrode in acidic electrolyte. *Bioelectrochemistry* **69**, 148–157 (2006).
- [53] Ida Tiwari, Mandakini Gupta, Rajiv Prakash and Craig E. Banks. An anthraquinone moiety/cysteamine functionalized-gold nanoparticle/chitosan based nanostructured composite for the electroanalytical detection of dissolved oxygen within aqueous media. *Anal. Methods* **6**, 8793–8801 (2014).
- [54] Ida Tiwari, Monali Singh, Mandakini Gupta, Jonathan P. Metters and Craig E. Banks. Design of screen-printed bulk modified electrodes using anthraquinone–cysteamine functionalized gold nanoparticles and their application to the detection of dissolved oxygen. *Anal. Methods* **7**, 2020–2027 (2015).
- [55] Xiuli Xiao, Bei Zhou, Liang Tan, Hao Tang, Youyu Zhang, Qingji Xie and Shouzhuo Yao. Poly(methylene blue) doped silica nanocomposites with crosslinked cage structure: Electropolymerization, characterization and catalytic activity for reduction of dissolved oxygen. *Electrochimica Acta* **56**, 10055–10063 (2011).
- [56] Camila P. Sousa, Mauricio D. Coutinho-Neto, Michelle S. Liberato, Lauro T. Kubota, and Wendel A. Alves. Self-assembly of peptide nanostructures onto an electrode surface for nonenzymatic oxygen sensing. *Journal of Physical Chemistry C* **119**, 1038–1046 (2015).
- [57] Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, André L. A. Parussulo, Tiago A. Matias, Camile C. Caldeira da Silva, Alice J. Kowaltowski, Koiti Araki, Mauro Bertotti. Development of a tetraphenylporphyrin cobalt (II) modified glassy carbon electrode to monitor oxygen consumption in biological samples. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **775**, 72–76 (2016).

- [58] Yassin Belghith, Anissa Mansour, Jean-Claude Daran and Habib Nasri. Spectroscopic and molecular structure characterization of the bis (2-aminophenol) (5,10,15,20-tetraphenylporphyrinato) cobalt(II) complex. *Journal of Inorganic Chemistry* **2**, 81–87 (2012).
- [59] Taek D. Chung and Fred C. Anson. Catalysis of the electroreduction of O₂ by cobalt 5,10,15,20-tetraphenylporphyrin dissolved in thin layers of benzonitrile on graphite electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **508**, 115–122 (2001).
- [60] Seungwon Jeon, Hyo Kyoung and Song M. Kim. Electrocatalytic Reduction of Dioxigen by Cobaltporphyrin in Aqueous Solutions. *Bulletin of the Korean Chemical* **19**, 500–757 (1998).
- [61] Lucas S.S. Santos, Richard Landers and Yoshitaka Gushikem. Application of manganese (II) phthalocyanine synthesized in situ in the SiO₂/SnO₂ mixed oxide matrix for determination of dissolved oxygen by electrochemical techniques. *Talanta* **85**, 1213–1216 (2011).
- [62] Meng S. Lin, Hoang J. Leu and Chien H. Lai. Development of Vitamin B12 based disposable sensor for dissolved oxygen. *Analytica Chemical Acta* **561**, 164–170 (2006).
- [63] Izabella Zawisza, Jerzy Rogalski and Marcin Opallo. Electrocatalytic reduction of dioxygen by redox mediator and laccase immobilized in silicate thin film. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **588**, 244–252 (2006).
- [64] Serge Zhuiykov and Eugene Kats. Electrochemical DO sensor based on sub-micron ZnO-doped RuO₂ sensing electrode: Influence of sintering temperature on sensing performance. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **187**, 12–19 (2013).
- [65] Fahimeh Jalali, Amir M. Ashrafi and Davood Nematollahi. Measurement of dissolved oxygen in biological fluids by using a modified carbon paste electrode. *Electroanalysis* **21**, 201–205 (2009).
- [66] Rita de C. S. Luz, Adriano B. Moreira, Flavio S. Damos, Auro A. Tanaka and Lauro T. Kubota. Cobalt tetrasulphonated phthalocyanine immobilized on poly-L-lysine film onto glassy carbon electrode as amperometric sensor for cysteine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **42**, 184–191 (2006).

- [67] David W. Paul, Indira Prajapati and Michelle L. Reed. Electropolymerized eugenol: Evaluation as a protective film for oxygen sensing. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **183**, 129–135 (2013).
- [68] Irja Helm, Lauri Jalukse, Martin Vilbaste and Ivo Leito. Micro-Winkler titration method for dissolved oxygen concentration measurement. *Analytica Chimica Acta* **648**, 167–173 (2009).
- [69] William W. Broenkow and Joel D. Cline. Calorimetric determination of dissolved oxygen at low concentrations. *Limnology and Oceanography* **14**, 450–454 (1969).
- [70] Wendy Glasspool and John Atkinson. A screen-printed amperometric dissolved oxygen sensor utilising an immobilised electrolyte gel and membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical* **48**, 308–317 (1998).
- [71] Yong-Eun L. Koo, Youfu Cao, Raoul Kopelman, Sang M. Koo, Murphy Brasuel and Martin A. Philbert. Real-Time Measurements of Dissolved Oxygen Inside Live Cells by Organically Modified Silicate Fluorescent Nanosensors. *Analytical Chemistry* **76**, 2498–2505 (2004).
- [72] Keiichi Fujimori, Norimichi Takenaka, Hiroshi Bando and Yasuaki Maeda. Measurement of Dissolved Oxygen Based on Enhanced Cerium (IV) Chemiluminescence. *Analytical sciences* **17**, 161–166 (2001).
- [73] Cibely S. Martin, Tony R. L. Dadamos, Marcos F. S. Teixeira. Development of an electrochemical sensor for determination of dissolved oxygen by nickel-salen polymeric film modified electrode. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **175**, 111–117 (2012).
- [74] Rita de C. S. Luz, Flavio S. Damos, Auro A. Tanaka and Lauro T. Kubota. Dissolved O₂ sensor based on cobalt(II) phthalocyanine immobilized in situ on electrically conducting carbon ceramic mesoporous SiO₂/C material. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **177**, 231–238 (2013).
- [75] Shiraz H. Ghorbani and Shiraz M. Ghorbani. Palladium nanoparticle and decorated carbon nanotube for electrochemical hydrogen storage. *International Journal of Hydrogen Energy* **42**, 11528–11533 (2017).

- [76] Xiao Shang, Jing-Qi Chi, Zi-Zhang Liu, Bin Dong, Kai-Li Yan, Wen-Kun Gao, Jing-Bin Zeng, Yong-Ming Chai and Chen-Guang Liu. Ternary Ni-Fe-V sulfides bundles on nickel foam as free-standing hydrogen evolution electrodes in alkaline medium. *Electrochimica Acta* **256**, 241–251 (2017).
- [77] Fang-Qi Shao, Xiao-Yan Zhu, Ai-Jun Wang, Ke-Ming Fang, Junhua Yuan, Jiu-Ju Feng. One-pot synthesis of hollow AgPt alloyed nanocrystals with enhanced electrocatalytic activity for hydrogen evolution and oxygen reduction reactions. *Journal of Colloid and Interface Science* **505**, 307–314 (2017).
- [78] A. Londono-Calderon, C. A. Campos-Roldan, R. G. Gonzalez-Huerta, M. L. Hernandez-Pichardo, P. del Angel, M. J. Yacaman. Influence of the architecture of Au Ag Pt nanoparticles on the electrocatalytic activity for hydrogen evolution reaction. *International Journal of Hydrogen Energy* **51**, 30208-30215 (2017).
- [79] Yameng Wang, Liangliang Zou, Qinghong Huang, Zhiqing Zou and Hui Yang. 3D carbon aerogel-supported PtNi intermetallic nanoparticles with high metal loading as a durable oxygen reduction electrocatalyst. *International Journal of Hydrogen Energy* **42**, 26695–26703 (2017).
- [80] Ahmed H. Salem, Thorsten Mietzel, Ruth Brunstermann and Renatus Widmann. Effect of cell immobilization, hematite nanoparticles and formation of hydrogen-producing granules on biohydrogen production from sucrose wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy* **42**, 25225–25233 (2017).
- [81] Shu Min Tan, Chun Kiang Chua, David Sedmidubský, Zdeněk Sofer and Martin Pumera. Electrochemistry of layered GaSe and GeS: applications to ORR, OER and HER. *Physical Chemistry Chemical Physics* **18**, 1699–1711 (2016).
- [82] Li Yanguang, Wang Hailiang, Xie Liming, Liang Yongye, Hong Guosong and Dai Hongjie. MoS₂ nanoparticles grown on graphene: An advanced catalyst for the hydrogen evolution reaction. *Journal of the American Chemical Society* **133**, 7296–7299 (2011).
- [83] Meng-Ting Liu, Li-Xian Chen, Ai-Jun Wang, Ke-Ming Fang and Jiu-Ju Feng. Ternary PtCoNi flower-like networks: One-step additive-free synthesis and highly boosted electrocatalytic performance for hydrogen evolution and oxygen reduction. *International Journal of Hydrogen Energy* **42**, 25277–25284 (2017).

- [84] Liu-Ying Jiang, Xiao-Xiao Lin, Ai-Jun Wang, Junhua Yuan, Jiu-Ju Feng and Xin-Sheng Li. Facile solvothermal synthesis of monodisperse $\text{Pt}_{2.6}\text{Co}_1$ nanoflowers with enhanced electrocatalytic activity towards oxygen reduction and hydrogen evolution reactions. *Electrochimica Acta* **225**, 525–532 (2017).
- [85] Guang-Rui Xu, Jiao-Jiao Hui, Tan Huang, Yu Chen and Jong-Min Lee. Platinum nanocuboids supported on reduced graphene oxide as efficient electrocatalyst for the hydrogen evolution reaction. *Journal of Power Sources* **285**, 393–399 (2015).
- [86] Song Bai, Chengming Wang, Mingsen Deng, Ming Gong, Yu Bai, Jun Jiang and Yujie Xiong. Surface Polarization Matters: Enhancing the Hydrogen-Evolution Reaction by Shrinking Pt Shells in Pt-Pd-Graphene Stack Structures. *Angewandte Chemie International Edition* **53**, 12120–12124 (2014).
- [87] Keren Zhou, Jiarui He, Xinqiang Wang, Jie Lin, Ye Jing, Wanli Zhang and Yuanfu Chen. Self-assembled CoSe_2 nanocrystals embedded into carbon nanowires as highly efficient catalyst for hydrogen evolution reaction. *Electrochimica Acta* **231**, 626–631 (2017).
- [88] Xue Yurui, Guo Yuan, Yi Yuanping, Li Yongjun, Liu Huibiao, Li Dan, Yang Wensheng and Li Yuliang. Self-catalyzed growth of Cu@graphdiyne core–shell nanowires array for high efficient hydrogen evolution cathode. *Nano Energy* **30**, 858–866 (2016).
- [89] Abbas Syed Asad, Iqbal Muhammad Ibrahim, Kim Seong-Hoon and Jung Kwang-Deog. Catalytic Activity of Urchin-like Ni nanoparticles Prepared by Solvothermal Method for Hydrogen Evolution Reaction in Alkaline Solution. *Electrochimica Acta* **227**, 382–390 (2017).
- [90] An Tiance, Wang Yang, Tang Jing, Wei Wei, Cui Xiaoqi, Alenizi Abdullah M., Zhang Lijuan and Zheng Gengfeng. Interlaced $\text{NiS}_2\text{--MoS}_2$ nanoflake-nanowires as efficient hydrogen evolution electrocatalysts in basic solutions. *Journal of Materials Chemistry A* **4**, 13439–13443 (2016).
- [91] Liu Kaili, Wang Fengmei, Xu Kai, Shifa Tofik Ahmed, Cheng Zhongzhou, Zhan Xueying and He Jun. $\text{CoS}_{2x}\text{Se}_{2(1-x)}$ nanowire array: an efficient ternary electrocatalyst for the hydrogen evolution reaction. *Nanoscale* **8**, 4699–4704 (2016).

- [92] Yan Zhang, Wang Yanhui, Jia Shaopei, Xu Hanqing, Zang Jianbing, Lu Jing and Xu Xipeng. A hybrid of NiMo-Mo₂C/C as non-noble metal electrocatalyst for hydrogen evolution reaction in an acidic solution. *Electrochimica Acta* **222**, 747–754 (2016).
- [93] Dai Xiaoping, Li Zhanzhao, Ma Yangde, Liu Mengzhao, Du Kangli, Su Haixia, Zhuo Hongying, Yu Lei, Sun Hui and Zhang Xin. Metallic Cobalt Encapsulated in Bamboo-Like and Nitrogen-Rich Carbonitride Nanotubes for Hydrogen Evolution Reaction. *ACS Applied Materials & Interfaces* **8**, 6439–6448 (2016).
- [94] Katrin Kneipp, Harald Kneipp, Irving Itzkan, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld. Ultrasensitive Chemical Analysis by Raman Spectroscopy. *Chemical Reviews* **99**, 2957–2976 (1999).
- [95] SALA, O. Fundamentos de espectroscopia Raman e no infravermelho. no *capitulo 1* 10–34 (1996).
- [96] G. Binnig, C. F. Quate and Ch. Gerber. Atomic Force Microscope. *Physical Review Letters* **56**, 930–933 (1986).
- [97] G. Binnig, Ch. Gerber, E. Stoll, T. R. Albrecht and C. F. Quate. Atomic Resolution with Atomic Force Microscope. *Europhysics Letters* **3**, 1281–1286 (1987).
- [98] Meyer, E. Atomic force microscopy. *Progress in Surface Science* **41**, 3–49 (1992).
- [99] H. Heinzelmann, E. Meyer, D. Brodbeck, G. Overney and H-J. Güntherodt. Atomic-scale contrast mechanism in atomic force microscopy. *Zeitschrift für Physik B Condensed Matter* **88**, 321–326 (1992).
- [100] Knoll M. . Charge potential and secondary emissions of electron irradiated bodies. *Physikalische Zeitschrift* **36**, 861–869 (1935).
- [101] Digby D. Macdonald. Reflections on the history of electrochemical impedance spectroscopy. *Electrochimica Acta* **51**, 1376–1388 (2006).
- [102] Héloïse H. De Paz, Christelle Médard and Mario Morin. An electrochemical and spectroelectrochemical study of pentacoordinated CoTPP on glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **648**, 163–168 (2010).

- [103] Hong-Guo Liu, Xu-Sheng Feng, Li-Juan Zhang, Jianzhuang Jiang, Yong-III Lee, Ki-Wan Jang, Dong-Jin Qian and Kong-Zhang Yang. Supramolecular assemblies of Eu(TPyP)Pc at the air/water and air/Cd²⁺ aqueous solution interfaces. *Materials Letters* **57**, 2156–2161 (2003).
- [104] Rodrigo A.A. Munoz, Sergio H. Toma, Henrique E. Toma, Koiti Araki and Lúcio Angnes. Investigation of interfacial processes at tetra-ruthenated zinc porphyrin films using electrochemical surface plasmon resonance and electrochemical quartz crystal microbalance. *Electrochimica Acta* **54**, 2971–2976 (2009).
- [105] Karla Calfumán, Maria Jesús Aguirre, Paulina Canete-Rosales, Soledad Bollo, Rosa Llusar and Mauricio Isaacs. Electrocatalytic reduction of nitrite on tetra-ruthenated metalloporphyrins/Nafion glassy carbon modified electrode. *Electrochimica Acta* **56**, 8484–8491 (2011).
- [106] Gabriella Sanz, Irene Taurino, Riccarda Antiochia, Lo Gorton, Gabriele Favero, Franco Mazzei, Giovanni De Micheli and Sandro Carrara. Bubble electrodeposition of gold porous nanocorals for the enzymatic and non-enzymatic detection of glucose. *Bioelectrochemistry* **112**, 125–131 (2016).
- [107] Erich B. Tahara, Felipe D.T. Navarete, Alicia J. Kowaltowski. Tissue-, substrate-, and site-specific characteristics of mitochondrial reactive oxygen species generation. *Free Radical Biology and Medicine* **46**, 1283–1297 (2009).
- [108] Preservao e tcnicas de amostragem de efluentes lquidos e corpos receptores NBR 9898.
- [109] Rajaram Rajendran, Anandhakumar Sukeri and Mathiyarasu Jayaraman. Electrocatalytic oxidation of NADH at low overpotential using nanoporous poly(3,4)-ethylenedioxythiophene modified glassy carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **746**, 75–81 (2015).
- [110] Rita Nissim and Richard G. Compton. Superoxide generation from the reduction of oxygen at the carbon-oil-water triple phase boundary. *Physical chemistry chemical physics* **15**, 11918–25 (2013).
- [111] Erich Gnaiger, Rosmarie Steinlechner-Maran, Gabriela Mndez, Thomas Eberl and Raimund Margreiter. Control of mitochondrial and cellular respiration by oxygen. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* **27**, 583–596 (1995).

- [112] Xiao Huang, Zongyou Yin, Shixin Wu, Xiaoying Qi, Qiyuan He, Qichun Zhang, Qingyu Yan, Freddy Boey and Hua Zhang. Graphene-based materials: Synthesis, characterization, properties and applications. *Small* **7**, 1876–1902 (2011).
- [113] Yuyan Shao, Sheng Zhang, Chongmin Wang, Zimin Nie, Jun Liu, Yong Wanga and Yuehe Lin. Highly durable graphene nanoplatelets supported Pt nanocatalysts for oxygen reduction. *Journal of Power Sources* **195**, 4600–4605 (2010).
- [114] Longhua Tang, Ying Wang, Yueming Li, Hongbing Feng, Jin Lu and Jinghong. Preparation, structure, and electrochemical properties of reduced graphene sheet films. *Advanced Functional Materials* **19**, 2782–2789 (2009).
- [115] Ki R. Lee, Kye U. Lee, Jong W. Lee, Byung T. Ahn and Seong I. Woo. Electrochemical oxygen reduction on nitrogen doped graphene sheets in acid media. *Electrochemistry Communications* **12**, 1052–1055 (2010).
- [116] Paola Fisicaro, Annemie Adriaens, Enzo Ferrara and Enrico Prenesti. Assessment of the uncertainty budget for the amperometric measurement of dissolved oxygen. *Analytica Chimica Acta* **597**, 75–81 (2007).
- [117] Tsung-Hsuan Tsai, Cheng-Yu Yang and Shen-Ming Chen. Development of a Dissolved Oxygen Sensor for Commercial Applications. *International Journal of Electrochemical science* **8**, 5250–5261 (2013).
- [118] Christopher C. M. Neumann, Eduardo Laborda, Kristina Tschulik, Kristopher R. Ward and Richard G. Compton. Performance of silver nanoparticles in the catalysis of the oxygen reduction reaction in neutral media: Efficiency limitation due to hydrogen peroxide escape. *Nano Research* **6**, 511–524 (2013).
- [119] Tsung-Hsuan Tsai, Shih-Hong Wang and Shen-Ming Chen. Electrodeposited indigotetrasulfonate film onto glutaraldehyde-cross-linked poly-L-lysine modified glassy carbon electrode for detection of dissolved oxygen. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **659**, 69–75 (2011).
- [120] Zizai Ma, Ruixue Li, Mei Wang, Huijie Meng, Fei Zhang, Xiao-Qing Bao, Bin Tang and Xiaoguang Wang. Self-supported porous Ni-Fe-P composite as an efficient electrocatalyst for hydrogen evolution reaction in both acidic and alkaline medium. *Electrochimica Acta* **219**, 194–203 (2016).

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Lucas Patricio Hernández Saravia

Local e data de nascimento: Arica, 03 junho de 1991

EDUCAÇÃO

North American College, Arica, Chile, 2008. Universidad de Tarapacá de Arica, Chile, 2013. Graduação (Químico)

Universidad de Tarapacá de Arica, Chile, 2013. Graduação (Licenciado em Química)

Formação Complementar

10th Escola de Eletroquímica. Universidade de São Paulo, USP, Brasil, 2015.

11th Escola de Eletroquímica. Universidade de São Paulo, USP, Brasil, 2016.

12th Escola de Eletroquímica. Universidade de São Paulo, USP, Brasil, 2017.

Tópicos modernos de química analítica. Universidade de São Paulo, USP, Brasil, 2014.

OCUPAÇÃO

Bolsista de Doutorado Direto, CAPES, 01/ 06/ 2014.

PUBLICAÇÕES

- 1) Anandhakumar Sukeri, Lucas P. H. Saravia and Mauro Bertotti. *A facile electrochemical approach to fabricate a nanoporous gold film electrode and its electrocatalytic activity towards dissolved oxygen reduction*. Physical Chemistry Chemical Physics, (2015), 17 (43), 28510-28514.
- 2) Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, Andre L. A. Parussulo, Tiago A. Matias, Camile C. A. Da Silva, Alice J. Kowaltowski, Koiti Araki, and Mauro Bertotti. *Development of tetraphenylporphyrinate cobalt (II) modified glassy carbon electrode to monitor oxygen consumption in biological samples*. Journal of Electroanalytical Chemistry (2016) 775, 72–76.
- 3) Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, Josue M. Gonçalves, Juan S. Aguirre-Araque, Bruno B. N. S. Brandão, Tiago A. Matias, Marcelo Nakamura, Koiti Araki, Henrique E. Toma and Mauro Bertotti. *CoTRP/Graphene oxide composite as efficient electrode material for dissolved oxygen sensors*. Electrochimica Acta (2016) 222, 1682–1690.
- 4) Josué M. Gonçalves, Robson F. Guimarães, Bruno B. N. S. Brandão, Lucas P. H. Saravia, Pamela Rossini, Juliana S. Bernades, Mauro Bertotti, Lucio Angnes and Koiti Araki. *Highly Active Nanostructured α -NiCe Mixed Hydroxide Electrodes for Sensitive Amperometric Prednisone Sensors*. Electrochimica Acta (2017) 247, 30-40.
- 5) Darío X. O. Jaramillo, Anandhakumar Sukeri, Lucas P. H. Saravia, Mauro Bertotti and Patricio J. Espinoza-Montero. *Nanoporous Gold Microelectrode: A Novel Sensing Platform for Highly Sensitive and Selective Determination of Arsenic (III) using Anodic Stripping Voltammetry*. Electroanalysis (2017) 29 (10), 2316-2322.

- 6) Josué M. Gonçalves, Tiago A. Matias, Lucas P.H. Saravia, Marcelo Nakamura, Juliana S. Bernardes, Mauro Bertotti and Koiti Araki. *Synergic effects enhance the catalytic properties of alpha-Ni(OH)₂-FeOCPc@rGO composite for oxygen evolution reaction*. *Electrochimica Acta* (2018) 267, 161-169.

PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS

1. Anandhakumar Sukeri, Lucas P. H. Saravia and Mauro Bertotti. XX simpósio brasileiro de eletroquímica e eletroanalítica (SIBEE). *Facile electrochemical approach to fabricate a nanoporous gold film electrode: application towards electrocatalytic sensing of oxygen at low overpotential*. 2015.
2. Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, Andre L. A. Parussulo, Tiago A. Matias, Camile C. A. Da Silva, Alice J. Kowaltowski, Koiti Araki, and Mauro Bertotti. Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica (SIBEE). *Electrochemical detection of oxygen using tetraphenylporphyrin cobalt (II) modified glassy carbon electrode in aqueous solution*. 2015.
3. Juan S. Aguirre-Araque, Anandhakumar Sukeri, Josue M. Gonçalves, Lucas P. H. Saravia, Bruno B. N. S. Brandão, Tiago A. Matias, Marcelo Nakamura, Koiti Araki, Henrique E. Toma and Mauro Bertotti. XV Brazilian MRS meeting, 2016, Campinas. *CoTRP/Graphene oxide composite as efficient electrode material for dissolved oxygen sensors*.
4. Darío X. O. Jaramillo, Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, Mauro Bertotti and Patricio J. Espinoza-Montero. 18º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA). *Nanoporous Gold microelectrode: a new platform for arsenic(III) Sensing*, 2016.

5. Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, Josue M. Gonçalves, Juan S. Aguirre-Araque, Bruno B. N. S. Brandão, Tiago A. Matias, Koiti Araki, Henrique E. Toma and Mauro Bertotti. International Society Electroanalytical (ISE). *CoTRP/Graphene oxide composite as efficient electrode material for dissolved oxygen sensors*, 2016.

6. Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri and Mauro Bertotti. Encontro de Eletroquímica e Eletroanalítica (E3+) IQ-USP. *Electrocatalytic role of gold nanostructures in the sensing of dissolved oxygen*, 2017.

7. Josue M. Gonçalves, Robson R. Guimarães, Bruno B. N. S. Brandão, Lucas P. H. Saravia, Pamela Rossini, Juliana S. Bernades, Mauro Bertotti, Lucio Agnes and Koiti Araki. 26º Congresso Brasileiro de Microscopia. *Nanostructured Alpha-NiCe Mixed Hydroxide Electrodes for Sensitive Amperometric Prednisone Sensors*, 2017.

8. Lucas P. H. Saravia, Anandhakumar Sukeri, Abhishek Kumar and Mauro Bertotti. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) 46th World Chemistry Congress. *Electrocatalytic role of gold nanocorals in the sensing of dissolved oxygen at low overpotential*, 2017.

9. Josue M. Gonçalves, Tiago A. Matias, Lucas P. H. Saravia, Mauro Bertotti, Lucio Agnes and Koiti Araki. MRS Fall meeting & exhibit Congress. *The Influence of Nanoparticle Size on the Synergistic Catalytic Properties of α -Ni(OH)₂-FeOCPc@rGO Composite for Water Oxidation*, 2017.