

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

VINICIUS ROMERO GONÇALES

**Nanoestruturação de filmes finos para utilização
em eletrodos enzimáticos**

Versão corrigida da Tese conforme Resolução CoPGr 5890

O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

11/11/2011

VINICIUS ROMERO GONÇALES

**Nanoestruturação de filmes finos para a utilização
em eletrodos enzimáticos**

*Tese apresentada ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Grau de Doutor em Química*

*Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Susana Inés Córdoba de Torresi
Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Regina Alcântara*

São Paulo

2011



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA



**“Nanoestruturação de filmes finos para utilização
em eletrodos enzimáticos”**

VINICIUS ROMERO GONÇALES

Tese de Doutorado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo
como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências – Programa:
Química.

Aprovada por:

Profa. Dra. Susana Inês Cordoba de Torresi
Orientadora e Presidente

Prof. Dr. Mauro Bertotti
IQ - USP

Prof. Dr. Paulo Teng An Sumodjo
IQ - USP

Prof. Dr. Lauro Tatsuo Kubota
IQ - UNICAMP

Prof. Dr. Fernando Battaglini
Universidad Buenos Aires

SÃO PAULO
12 de dezembro de 2011

Aos meus pais, Leda e Francisco
Por todo amor, ensinamentos e esforços
Dedico

Agradecimentos

Aos meus pais, por terem sempre incentivado o caminho da educação. Ao meu irmão, André, que junto com meus pais forma a base de minhas conquistas.

À minha orientadora, Prof^ª. Susana Torresi, pelo aprendizado, apoio, amizade, oportunidades e sinceridade com a qual sempre tratou minha formação.

Ao Prof. Roberto Torresi, pelo aprendizado, apoio, amizade e por sempre salientar os benefícios de um casamento.

Ao Prof. Pablo Fiorito, pela amizade e por me ensinar os primeiros passos durante minha Iniciação Científica.

À Martín Gaitán, pelo aprendizado, amizade e, juntamente com os Professores Luis Baraldo e Galo Soller-Illia, pelo esforço dedicado durante o meu estágio na Universidad de Buenos Aires e pelo aprendizado envolvendo os mediadores mesoporosos.

À Elaine Matsubara e ao Prof. José Maurício Rosolén, pelo aprendizado envolvendo os nanotubos de carbono.

À Prof^ª. Maria Regina Alcântara, pelo aprendizado envolvendo os cristais-líquidos.

Aos alunos que se esforçaram para o desenvolvimento desse trabalho: Álan Bragatto, David Moore e Renan Salvador. Aos alunos que trabalharam em outros projetos: Andrés Navarro e Vinicius Simões. Aos alunos que continuam desenvolvendo seus trabalhos: Dênis Limachi em parceria com a Prof^ª. Elaine Cintra; e Marco Minadeo, em parceria com Filipe Braga e o Prof. Roberto Torresi.

Aos amigos do Laboratório de Materiais Eletroativos, da velha e da nova guarda. Agradeço pelo convívio, amizade, colaborações e discussões que contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho. Ao Nedher e à Suélen, pelo convívio tanto dentro quanto fora do ambiente de trabalho.

À Turma de 2002, pelos amigos que fiz durante minha graduação. Ao Zé, à Juzinha e ao Christhiaan, por estarem sempre presentes.

À Tânia, que é a principal motivação e razão desse esforço. Obrigado pelo apoio e por ser parte de minha vida!

À FAPESP (Proc. 05/59560-9 e 09/53199-3), CNPq e ao INCT Bioanalítica pelo apoio financeiro.

RESUMO

Gonçalves, V.R. **Nanoestruturação de filmes finos para utilização em eletrodos enzimáticos.** 2011. 174p. Tese – Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Os desafios atuais no desenvolvimento de biossensores abrangem diversos aspectos, tais como a necessidade de se aperfeiçoar a interface de contato entre o substrato e o material biológico, a eficiência de transdução do sinal químico em um sinal mensurável, o tempo de resposta, a compatibilidade dos biossensores com matrizes biológicas e a integração de diferentes elementos de reconhecimento biológico em um único dispositivo, visando a detecção de distintos analitos. Nesse contexto, o desenvolvimento da nanociência tem criado recursos bastante atraentes para otimizar os aspectos descritos acima. O presente trabalho apresenta, portanto, estudos realizados para a construção de mediadores nanoestruturados que possam operar de maneira mais eficiente que os correspondentes materiais maciços (sistemas não-nanoestruturados).

Em uma das abordagens utilizadas, um mediador híbrido de hexacianoferrato de cobre/polipirrol (CuHCNFe/PPy) teve suas propriedades eletroquímicas aliadas às propriedades morfológicas e eletrônicas de um feltro revestido com nanotubos de carbono do tipo “*cup-stacked*” (feltro/NTCCS) para o desenvolvimento de um sensor de H₂O₂. O feltro/NTCCS é uma malha hidrofílica condutora que permite uma dispersão bastante uniforme do mediador híbrido. Essa característica, aliada ao aumento da área eletroativa e à interação eletrônica existente entre o CuHCNFe/PPy e os nanotubos de carbono criaram uma plataforma favorável para a construção de um biossensor de glicose.

Em uma segunda estratégia, esferas de poliestireno com diâmetros de 300, 460, 600 e 800 nm foram utilizadas como molde para a formação de filmes de CuHCNFe/PPy macroporosos. Os distintos mediadores foram aplicados na detecção de H₂O₂ com o intuito de se correlacionar a importância do tamanho do poro com o desempenho analítico obtido. Diferentemente do esperado, os mediadores maciços e porosos apresentaram desempenhos analíticos bastante similares, o que levou a uma consideração das propriedades termodinâmicas de superfícies curvas, da molhabilidade de materiais porosos e da influência da cinética eletroquímica na utilização de sistemas porosos. Tais plataformas também foram aplicadas com sucesso na construção de biossensores de glicose e de colina.

Por fim, foi possível sintetizar mediadores nanoestruturados através da imobilização de camadas de azul da Prússia e de CuHCNFe dentro das cavidades de filmes de TiO₂ mesoporosos (13, 20 e 40 nm de diâmetro). Os resultados obtidos demonstraram a possibilidade de se modular o desempenho dos sensores de H₂O₂ em função do diâmetro dos poros e da quantidade de mediador imobilizado. A união dos resultados analíticos obtidos com os dados de microscopia eletrônica de varredura possibilitou observar a importância do efeito de confinamento no desempenho dos mediadores. Além disso, dados espectroscópicos na região do visível foram fundamentais para relacionar a presença de defeitos estruturais com a reatividade do material. No fim, tais plataformas foram utilizadas para a formulação de biossensores de colina.

Palavras-chave: nanotubos de carbono, síntese assistida por molde, sensor de peróxido de hidrogênio, azul da Prússia, mediador híbrido, biossensor de glicose e colina.

ABSTRACT

Gonçales, V.R. **Nanostructuring of thin films for applying in enzyme based biosensors.** 2011. 174p. PhD Thesis – Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Nowadays, the challenges in the development of biosensors cover various aspects such as the need to improve the interface between the substrate and the biological material, the efficiency of the chemical signal transduction in a measurable one, the response time, the compatibility with biological matrices and the integration of different biological recognition elements in a single device, in order to perform detections of different analytes. In this context, the development of nanoscience has created very attractive features to optimize the aspects described above. Consequently, the present work studies the build up of nanostructured transducers that can operate more efficiently than the corresponding bulk materials (systems non-nanostructured).

In one of the approaches used, a hybrid transducer consisting of copper hexacyanoferrate/polypyrrole (CuHCNFe/Ppy) had its electrochemical properties combined with the morphological and electronic properties of a felt decorated with cup-stacked type carbon nanotubes (felt/CSCNT) for development of a H₂O₂ sensor. Felt/CSCNT is a hydrophilic conductive mesh that allows a uniform dispersion of the hybrid transducer. This feature, coupled with the improvement of electroactive surface and with the electronic interaction among the CuHCNFe/Ppy and carbon nanotubes have created a favorable platform for the construction of a glucose biosensor.

In a second strategy, polystyrene spheres with diameters of 300, 460, 600 and 800 nm were used as templates for the formation of macroporous CuHCNFe/Ppy films. The transducers were used to detect H₂O₂ in order to correlate the importance of pore size with the obtained analytical performance. Unlike expected, porous and bulk transducers presented very similar analytical performances, which led to a consideration of the thermodynamic properties of curved surfaces, the wettability of porous materials and the influence of electrochemical kinetics during the use of porous systems. Such platforms have also been successfully applied in the preparation of glucose and choline biosensors.

Finally, it was possible to synthesize nanostructured transducers through the immobilization of Prussian blue layers and CuHCNFe inside the cavities of mesoporous TiO₂ films (pore diameters of 13, 20 and 40 nm). The obtained results demonstrated the possibility of modulating the performance of H₂O₂ sensors according to the pore diameter and the amount of immobilized transducer. The union of the obtained analytical results with scanning electron microscopy data showed the importance of confinement effect on the transducers performances. In addition, spectroscopic data in the visible region were essential to correlate the presence of structural defects with the material reactivity. In the end, these platforms were used for the formulation of choline biosensors.

Keywords: carbon nanotubes, template assisted synthesis, hydrogen peroxide sensor, Prussian blue, hybrid transducer, glucose and choline biosensor.

GLOSSÁRIO

AP – azul da Prússia

BP – branco da Prússia

Brij 98 - polioxietileno oleil éter de fórmula $C_{18}H_{35}(OCH_2CH_2)_nOH$, com $n \sim 20$

BSA – albumina de soro bovino

CuHCNFe – hexacianoferrato de cobre

CuHCNFe/Ppy – hexacianoferrato de cobre/polipirrol

(CuHCNFe)_n/TiO_{2(x-y)} – “n” camadas de hexacianoferrato de cobre imobilizadas sobre um filme de TiO₂ com poros de “x” nm de diâmetro e espessura de “y” nm

FAD – flavina adenina dinucleotídeo

FADH₂ – forma reduzida da flavina adenina dinucleotídeo

FeHCNFe – hexacianoferrato de ferro ou azul da Prússia

(FeHCNFe)_n/TiO_{2(x-y)} – “n” camadas de azul da Prússia imobilizadas sobre um filme de TiO₂ com poros de “x” nm de diâmetro e espessura de “y” nm

Feltro/NTCCS – feltro com nanotubos de carbono do tipo “*cup-stacked*”

Feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy - feltro com nanotubos de carbono do tipo “*cup-stacked*” modificado com um filme de hexacianoferrato de cobre/polipirrol

Feltro/NTCCS-Fe(CN)₆³⁻/Ppy - feltro com nanotubos de carbono do tipo “*cup-stacked*” modificado com um filme de polipirrol dopado com íons ferricianeto

GOx – glicose oxidase

ITO – óxido de índio dopado com estanho

MECQ – microbalança eletroquímica a cristal de quartzo

MECQ-D – microbalança eletroquímica a cristal de quartzo com análise de dissipação

MEV – microscopia eletrônica de varredura

NiHCNFe – hexacianoferrato de níquel

NiHCNFe/Ppy – hexacianoferrato de níquel/polipirrol

NTCCS – nanotubos de carbono do tipo “*cup-stacked*”

NTCPM – nanotubos de carbono de parede múltipla

NTCPS – nanotubos de carbono de parede simples

NTCs – nanotubos de carbono

PBS – solução tampão a base de fosfato

PDDA – cloreto de polidialildimetilamônio

Ppy – polipirrol

SDS – dodecilsulfato de sódio

TiO_{2(x-y)} – filmes de TiO₂ com poros de “x” nm de diâmetro e espessura de “y” nm.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	11
1.1. Biossensores enzimáticos amperométricos.....	11
1.2. Azul da Prússia e seus análogos.....	15
1.3. A nanociência e os biossensores.....	19
1.3.1. Nanotubos de carbono.....	19
1.3.2. Síntese de materiais assistida por moldes.....	22
1.3.2.1. Moldes de partículas esféricas coloidais.....	24
1.3.2.2. Moldes de cristais líquidos liotrópicos.....	27
2. Objetivos.....	32
3. Procedimentos experimentais.....	33
3.1. Preparação dos eletrodos.....	33
3.1.1. Preparação dos eletrodos micro/nanoestruturados de feltro/NTCCS utilizados na síntese do CuHCNFe/Ppy.....	33
3.1.2. Preparação dos eletrodos de carbono vítreo utilizados na síntese do CuHCNFe/PPy maciço e macroporosos.....	34
3.1.2.1. Limpeza dos eletrodos de carbono vítreo.....	34
3.1.2.2. Deposição do molde de esferas de poliestireno sobre o carbono vítreo.....	35
3.1.3. Preparação dos eletrodos de ouro utilizados na síntese do CuHCNFe/Ppy mesoporoso e dos eletrodos de ITO modificados com filmes de TiO ₂ mesoporosos para imobilização do azul da Prússia e do CuHCNFe.....	35
3.1.3.1. Preparação dos eletrodos de ouro a partir de CDs.....	35
3.1.3.2. Preparação dos eletrodos de ITO modificados com filmes de TiO ₂ mesoporosos.....	36
3.2. Síntese dos mediadores de H ₂ O ₂	38
3.2.1. Deposição do CuHCNFe/Ppy sobre o feltro/NTCCS.....	38
3.2.2. Deposição do CuHCNFe/Ppy maciço e macroporosos sobre o carbono vítreo.....	39
3.2.3. Deposição do CuHCNFe/Ppy mesoporoso sobre o ouro de CD.....	40
3.2.3.1. Construção do diagrama de fase.....	40
3.2.3.2. Deposição do CuHCNFe/Ppy mesoporoso.....	41

3.2.4. Síntese do azul da Prússia e seus análogos sobre o TiO ₂ mesoporoso.....	42
3.3. Caracterização morfológica e composicional.....	43
3.4. Caracterização eletroquímica.....	44
3.5. Caracterização pela microbalança eletroquímica a cristal de quartzo (MECQ).....	45
3.6. Caracterização espectroscópica.....	45
3.7. Caracterização por ângulo de contato.....	46
3.8. Caracterização analítica.....	47
3.8.1. Detecção de H ₂ O ₂	47
3.8.2. Imobilização da GOx e da colina oxidase (COx).....	48
3.8.3. Detecção de glicose e colina.....	49
4. Resultados e discussão.....	51
4.1. Feltro/NTCCS modificado com o CuHCNFe/Ppy.....	67
4.2. Carbono vítreo modificado com o CuHCNFe/Ppy macroporoso.....	85
4.3. Mediador mesoporoso.....	110
4.4. Aplicação dos diferentes mediadores na preparação de biossensores.....	133
5. Conclusões.....	148
6. Referências.....	150
7. Apêndice.....	159
7.1. Deposição do molde coloidal sobre o carbono vítreo.....	159
8. Súmula Curricular.....	163

1. Introdução

1.1. Biossensores enzimáticos amperométricos

O interesse na pesquisa e desenvolvimento de novos sensores químicos pode ser constatado pela quantidade de artigos que vêm sendo publicados nas mais diversas áreas, tais como análises clínicas, controle de qualidade, química ambiental, etc. Tal fenômeno pode ser atribuído a uma necessidade de se obter processos de monitoramento sensíveis, precisos e que permitam a determinação de substâncias em matrizes complexas.

Um sensor químico é definido como um dispositivo que transforma informações químicas em um dado físico. [1] O elemento responsável por essa conversão de sinal é denominado como transdutor físico-químico, podendo ser classificado como eletroquímico, óptico, piezoelétrico, termométrico ou mecânico. Tal classificação é atribuída em função do tipo de sinal mensurável durante o monitoramento das espécies químicas de interesse. De maneira geral, o processo de desenvolvimento de um transdutor deve buscar especificidade ao analito de interesse, resposta em intervalos apropriados de concentração, baixos tempos de resposta (poucos segundos), capacidade de suportar mudanças de temperatura e pH, bem como facilidade de adaptação à dispositivos comerciais.

Dentro dessas considerações, as técnicas eletroquímicas aparecem como ferramentas atraentes para o desenvolvimento de transdutores de elevada sensibilidade, custo moderado, portabilidade e compatibilidade ambiental. [2] Os transdutores eletroquímicos são capazes de converter o sinal produzido pela interação entre o sistema de reconhecimento e o analito em um sinal elétrico, gerando informações quantitativas. Tais transdutores podem ser subdivididos em amperométricos, potenciométricos, condutométricos e transistores de efeito de campo. Entre eles, as duas categorias principais podem ser consideradas a amperométrica e a potenciométrica. [3]

Sensores amperométricos são baseados na detecção de espécies eletroativas através do controle do potencial do eletrodo de trabalho (em relação a um eletrodo de referência) e monitoramento da corrente. O potencial aplicado serve como força motriz para a reação de transferência de elétrons das espécies eletroativas. A corrente resultante é uma medida direta da velocidade da reação eletroquímica, sendo proporcional à concentração do analito.

Nos sensores potenciométricos, a informação analítica é obtida através de um sinal de potencial proporcional à concentração de espécies geradas ou consumidas durante o processo de sensoriamento. Tais eletrodos contam com uma membrana íon seletiva e, de maneira geral, são muito atraentes por causa de sua alta seletividade, simplicidade e baixo custo. Eles são, no entanto, menos sensíveis do que os sensores amperométricos.

Já o termo biossensor é utilizado para designar a união entre um material biológico e um transdutor físico-químico. [4] Como material biológico, é possível citar enzimas, anticorpos, organelas e até organismos vivos, sendo sua escolha dependente das características do composto a ser analisado. Tais dispositivos estão cada vez mais presentes no cotidiano da sociedade, seja como um elemento para diagnósticos clínicos ou como um material para detecção de agentes biológicos no meio ambiente.

O presente trabalho está baseado no desenvolvimento de biossensores enzimáticos amperométricos, os quais foram abordados inicialmente por Clark Jr. e Lyons em 1962 e patenteado em 1970. [5-7] Esse biossensor, comercializado pela “Yellow Springs Instrument Company” a partir de 1975, foi denominado “Enzyme Electrode” e consistia em enzimas glicose oxidase (GOx) imobilizadas sobre eletrodos de platina utilizados para reduzir eletroquimicamente o O₂. Tal processo foi possível porque a GOx é uma flavoproteína capaz de catalisar a oxidação da β-D-glicose a δ-gluconolactona em função da redução da flavina adenina dinucleotídeo (FAD) para FADH₂. Durante o processo de regeneração do cofator, o

O₂ trabalha como aceptor de elétrons e é consumido no sistema para gerar H₂O₂, conforme esquematizado na Figura 1. [8]

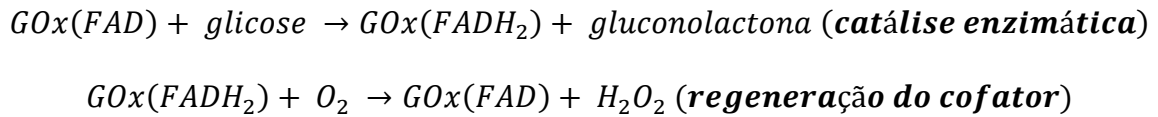


Figura 1 – Processos que ocorrem em um biossensor enzimático de glicose.

Como a concentração de oxigênio diminui proporcionalmente ao consumo de glicose pela reação enzimática, foi possível mensurar a quantidade de analito presente no meio através da diferença de corrente catódica obtida durante a redução do O₂ sobre um eletrodo de platina livre e sobre outro eletrodo de platina modificado com a GOx. [9]

Em 1973, Guilbault e col. propuseram um biossensor de glicose onde a transdução do sinal químico em sinal elétrico ocorria através da oxidação do H₂O₂ na superfície de um eletrodo de platina, ao invés da redução do O₂. [10] Essa abordagem alternativa simplificou o funcionamento do biossensor, uma vez que a oxidação do H₂O₂ exigia a utilização de apenas um eletrodo de trabalho. Entretanto, a determinação amperométrica anódica do H₂O₂ necessita da aplicação de um potencial de +0,60 V vs Ag/AgCl/Cl⁻_{sat}, o qual é um valor alto o suficiente para oxidar tanto espécies endógenas, tais como o ácido ascórbico e o ácido úrico, quanto alguns medicamentos como, por exemplo, o paracetamol. Conseqüentemente, a corrente anódica proveniente da oxidação dessas espécies cria um sinal de interferência capaz de comprometer a precisão do sensor. Por causa disso, esforços consideráveis começaram a ser realizados nos anos 80 com o intuito de minimizar o problema das espécies interferentes.

Uma alternativa útil consistiu no uso de membranas permeáveis capazes de minimizar o acesso das moléculas indesejáveis à superfície do eletrodo. Para tal, foram utilizados diferentes polímeros capazes de controlar o transporte em função da carga, tamanho ou

polaridade apresentada pelas espécies. Por exemplo, filmes eletropolimerizáveis a base de polifelinodiamina [11], 1,2-diaminobenzeno [12] e polipirrol super-oxidado [13] foram aplicados com sucesso na construção de biossensores de glicose trabalhando com a exclusão de espécies indesejáveis com base na dimensão das moléculas interferentes. Esse princípio também foi utilizado para a construção de biossensores de glicose modificados com filmes de acetato de celulose. [14] Com base na exclusão de interferentes em função da carga apresentada, é possível citar trabalhos onde biossensores de glicose foram construídos com Náfion ou revestimentos perfluorados, ambos negativamente carregados. [15] Já camadas lipídicas ou filmes hidrofóbicos de alcanotiol foram empregados para minimizar o problema de interferência com base na polaridade. [16] Uma abordagem interessante consistiu na combinação de filmes sobrepostos capazes de excluir interferentes com diferentes propriedades. Por exemplo, o Náfion e o acetato de celulose foram empregados concomitantemente para eliminar a interferência do ácido ascórbico e ácido úrico (negativamente carregados) e do paracetamol eletricamente neutro. [17] A utilização de filmes capazes de excluir interferentes com base em propriedades físico-químicas é interessante porque pode ser implementada em eletrodos com diferentes tamanhos e geometrias. Entretanto, os filmes utilizados normalmente apresentam estabilidade limitada, o que prejudica o funcionamento do biossensor.

Outra abordagem desenvolvida para minimizar o problema das espécies interferentes consistiu na detecção eletrocatalítica preferencial do H_2O_2 gerado durante o mecanismo de atuação das enzimas oxidases. Para tal, os eletrodos foram modificados, previamente à imobilização da GOx, com um material capaz de detectar o H_2O_2 entre -0,20 e 0,10 V vs $Ag/AgCl/Cl^-_{sat}$, ao invés do potencial de +0,60 V vs $Ag/AgCl/Cl^-_{sat}$ necessário para se detectar o H_2O_2 diretamente sobre um eletrodo. O novo valor de potencial utilizado durante a aplicação dos biossensores não era capaz de oxidar eletroquimicamente as espécies

interferentes, o que aumentou a seletividade do sistema. Dentro dessa classe de materiais, o $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ (azul da Prússia) é capaz de eletrocatalisar a redução do H_2O_2 unindo seletividade com alta sensibilidade, tempo de resposta rápido e baixos limites de detecção. [18,19] Esse mediador foi empregado pela primeira vez em um biossensor de glicose por Karyakin e col. em 1994 [20] e, desde então, têm sido bastante estudado com essa finalidade. Eletrodos modificados com azul da Prússia apresentaram sensibilidades de $600 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$ e limites de detecção na ordem de $10^{-7} \text{mol L}^{-1}$ frente à redução do H_2O_2 . [21,22] Considerando a aplicação em biossensores, o desempenho analítico desse mediador em meios neutros é mais eficiente do que o obtido com platina [23] e não necessita da remoção do O_2 presente no meio. [24]

1.2. Azul da Prússia e seus análogos

O azul da Prússia é formado por uma célula unitária cúbica onde os átomos de Fe^{III} de alto spin ocupam os vértices e os centros das faces do cubo, enquanto os átomos de Fe^{II} de baixo spin ocupam os centros das arestas, conforme esquematizado na Figura 2. Nessa configuração, as moléculas de água completam a esfera de coordenação dos átomos de Fe^{III} localizados no centro das faces, gerando vacâncias que são distribuídas ao longo do mediador. Tais vacâncias são ocasionadas pela incorporação de cátions utilizados no processo de síntese do $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$. Experimentos de difração de raios-X demonstraram que essa célula unitária cúbica apresenta arestas de $10,2 \text{ \AA}$ e canais com dimensões de $3,2 \text{ \AA}$ [25], os quais são necessários para o movimento do solvente e dos íons pelo filme eletroativo. [26]

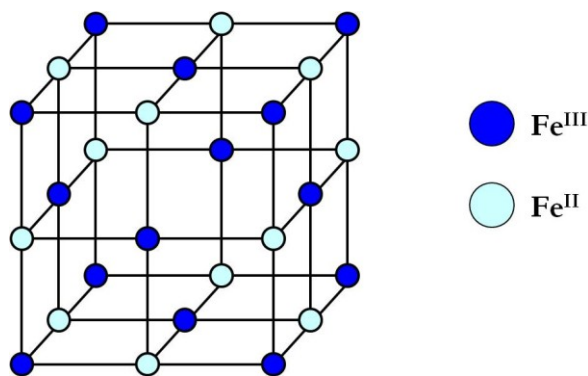


Figura 2 – Célula unitária da estrutura cristalina do azul da Prússia.

De fato, o azul da Prússia apresenta três estados de oxidação, os quais se diferenciam pela sua coloração. Assim, o estado de oxidação mais reduzido é conhecido como Branco da Prússia e é incolor – $K_2Fe^{II}[Fe^{II}(CN)_6]$. O estado de oxidação intermediário é o próprio azul da Prússia e o estado de máxima oxidação é conhecido como Verde de Berlim – $K_{1/3}[Fe^{III}(CN)_6]_{2/3}[Fe^{II}(CN)_6]_{1/3}$. [27]

A característica que faz do azul da Prússia um composto interessante para a construção de biossensores é que a sua forma reduzida, ou seja, o branco da Prússia apresenta uma alta capacidade de catalisar a eletro-redução do H_2O_2 , possibilitando sua detecção seletiva a baixos potenciais. Segundo Itaya e col., as vacâncias apresentadas pelo $K_2Fe^{II}[Fe^{II}(CN)_6]$ estão diretamente relacionadas com a atividade electrocatalítica exibida pelo mediador. [28] Inicialmente, o fato dos canais apresentarem apenas 3,2 Å de diâmetro faz com que apenas moléculas de baixo peso molecular (como o H_2O_2 ou o O_2) consigam acessar a estrutura zeolítica do material. Uma vez que essas moléculas penetram pela estrutura do mediador, elas ficam localizadas no centro das vacâncias e cercadas por uma média de quatro átomos de Fe^{II} de alto spin capazes de catalisar a redução do H_2O_2 .

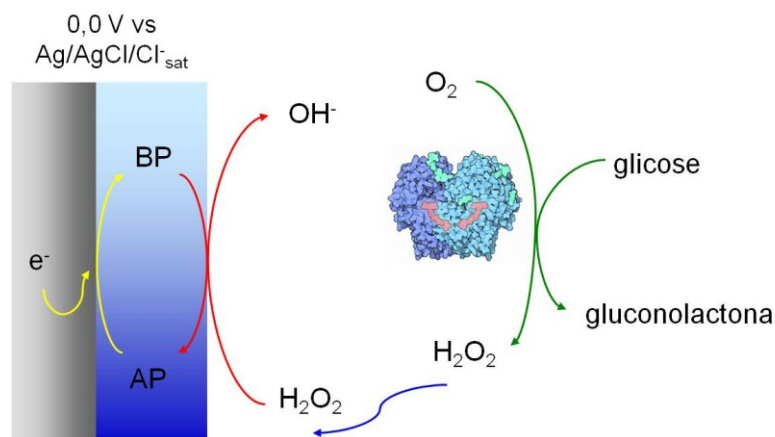


Figura 3 – Representação esquemática de um biossensor de glicose utilizando o azul da Prússia como mediador do H_2O_2 .

Conforme apresentado na Figura 3, o $\text{K}_2\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ se oxida para $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ ao reduzir o H_2O_2 para OH^- . Entretanto, como o eletrodo é sempre mantido em um potencial de $0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$, o $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ volta para a forma de branco da Prússia, gerando uma corrente catódica proporcional à concentração de glicose. Entretanto, apesar da vantagem de se minimizar consideravelmente a interferência produzida por espécies redutoras, a utilização do azul da Prússia em biossensores apresenta uma severa limitação, uma vez que ele é capaz de mediar a eletro-redução do H_2O_2 apenas em meios que contenham cátions K^+ , Rb^+ , Cs^+ e NH_4^+ , pois seus diâmetros hidrodinâmicos são menores do que os canais de $3,2 \text{ \AA}$ apresentados pelo mediador. Em meios contendo excesso de Na^+ , cujo diâmetro hidrodinâmico vale $3,66 \text{ \AA}$ [26], o azul da Prússia perde a sua eletroatividade porque o cátion não é capaz de realizar a compensação de carga entre a forma oxidada e reduzida do mediador. Tal fenômeno é um obstáculo quando se considera a aplicação do azul da Prússia em amostras biológicas. Esse comportamento também é observado com Li^+ , H^+ e com todos os cátions de metais alcalinos terrosos. [29]

Uma alternativa para resolver esse problema consiste na substituição do Fe^{III} do $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ por outro metal de transição, tal como o Ni ou o Cu. [30-33] Esses novos

mediadores são conhecidos como análogos do azul da Prússia e, ao contrário do $KFe^{III}[Fe^{II}(CN)_6]$, apresentam eletroatividade em meios contendo cátions cujos diâmetros hidrodinâmicos são maiores do que 3,2 Å. Isso é possível porque o hexacianoferrato de níquel (NiHCNFe) e o hexacianoferrato de cobre (CuHCNFe) apresentam estruturas suficientemente abertas para permitir o fluxo dos cátions hidratados que bloqueiam a atividade do azul da Prússia. [29] A Tabela 1 apresenta os valores de sensibilidades obtidos quando o azul da Prússia, o NiHCNFe e o CuHCNFe são empregados como mediador no sensoriamento do H_2O_2 .

Tabela 1 – Sensibilidades obtidas com o azul da Prússia e seus análogos durante o sensoriamento do H_2O_2 . Valores retirados de Karyakin e col. [22] e Fiorito e col. [34]

Mediador	Sensibilidade / $\mu A\ cm^{-2}\ mmol^{-1}\ L$
azul da Prússia	600
NiHCNFe	9,61
CuHCNFe	0,140

Conforme é possível observar, os eletrodos modificados com NiHCNFe e CuHCNFe apresentaram uma sensibilidade muito aquém da encontrada com o azul da Prússia. Entretanto, esses valores são passíveis de serem otimizados através da introdução dos mediadores análogos na matriz de um polímero condutor, tal como o polipirrol (Ppy). Com isso, foi possível gerar materiais híbridos inorgânicos-orgânicos denominados de hexacianoferrato de níquel/polipirrol (NiHCNFe/Ppy) [35] e de hexacianoferrato de cobre/polipirrol (CuHCNFe/Ppy). [34] As sensibilidades obtidas com os mediadores híbridos durante experimentos de detecção de H_2O_2 estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Sensibilidades obtidas com os mediadores híbridos durante o sensoriamento do H₂O₂.

Mediador	Sensibilidade / $\mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$
NiHCNFe/Ppy	88,3
CuHCNFe/Ppy	198

Entre os eletrodos modificados com materiais híbridos, é possível destacar a sensibilidade alcançada pelo CuHCNFe/Ppy. Tal valor foi três ordens de grandeza maior do que o obtido com o CuHCNFe na ausência do polímero condutor. Conforme discutido por Fiorito e col., as razões para essa diferença de comportamento podem ser atribuídas ao fato do polipirrol atuar como uma malha que conecta eletronicamente os centros redox do mediador inorgânico. [34,35] Evidências experimentais obtidas recentemente por Limachi e col. em nosso laboratório também indicam que a presença do material orgânico faz com que o mediador inorgânico seja sintetizado com uma estrutura cúbica mais aberta do que a convencional, o que favorece a eletroatividade em meios biológicos.

Consequentemente, o bom desempenho analítico do CuHCNFe/PPy durante a detecção do H₂O₂ aliado à vantagem de ser eletroativo na presença de cátions que bloqueiam a atividade do azul da Prússia, torna o CuHCNFe/Ppy o mediador de principal interesse no presente trabalho.

1.3.A nanociência e os biossensores

1.3.1. Nanotubos de carbono

Em função da crescente importância econômica e social, muitos trabalhos têm sido direcionados para o desenvolvimento de biossensores capazes de operar de maneira cada vez mais eficaz. Os desafios abrangem diversos aspectos, tais como a necessidade de se

aperfeiçoar: (a) a interface de contato entre o substrato e o material biológico; (b) a eficiência de transdução do sinal químico em um sinal mensurável, do ponto de vista da sensibilidade; (c) o tempo de resposta; (d) a compatibilidade dos biossensores com matrizes biológicas, com o objetivo de aplicá-los in vivo; (e) a integração de diferentes elementos de reconhecimento biológico em um único dispositivo, visando a detecção de distintos analitos. [36]

Em especial, o emprego de nanotubos de carbono (NTCs) no desenvolvimento de biossensores tem sido bastante difundido tanto com o intuito de se melhorar o desempenho dos macro-dispositivos já existentes, quanto com o objetivo de se avançar na miniaturização dos biossensores [37,38] Tais avanços foram possíveis em função das propriedades apresentadas pelos NTCs, tais como altas áreas superficiais, estabilidade química e térmica e condução eletrônica. [39]

Os NTCs são nanomateriais bem ordenados formados por cilindros de átomos de carbono em hibridização sp^2 . Os NTCs são agrupados em duas categorias principais, correspondentes aos NTCs de parede simples (NTCPS) e aos NTCs de parede múltipla (NTCPM). Conforme apresentado na Figura 4, os NTCPS são formados por folhas únicas de grafeno enroladas em tubo, enquanto os NTCPM são constituídos por dois ou mais tubos de grafeno arranjados de forma concêntrica. [40]

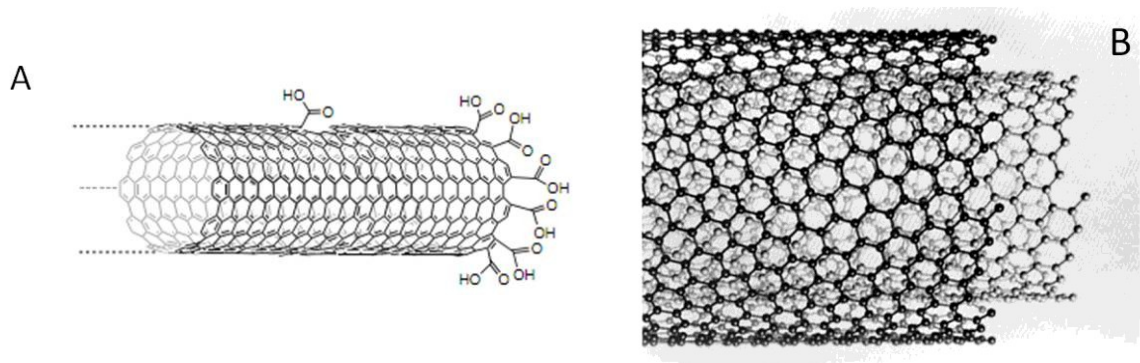


Figura 4 – Representação dos NTCs de (A) parede simples e (B) paredes múltiplas. Imagens retiradas de Hirsch [41] e Iijima [42], respectivamente.

Os NTCs podem apresentar comprimentos desde centenas de nanômetros até alguns milímetros. Quanto ao diâmetro, os NTCPS apresentam valores entre 0,4 e 2,0 nm, enquanto os NTCPM vão desde 2 até 100 nm. Dependendo das condições empregadas durante a síntese, os NTCs também podem aparecer com outras morfologias, tais como os NTCs helicoidais [43], formados a partir da introdução periódica de anéis heptagonais e pentagonais na rede hexagonal da folha de grafeno, e os NTCs do tipo “*cup-stacked*” (NTCCS), formados pelo empilhamento de copos de grafeno. [44]

Quanto à estrutura eletrônica, os NTCPS podem ser tanto metálicos quanto semicondutores, dependendo da direção em que a folha de grafeno foi enrolada. [45] Esse fator é importante porque influencia diretamente no alinhamento dos orbitais π . [46] Já os NTCPM são geralmente classificados como metálico. Entretanto, essa descrição é altamente influenciada pela presença de defeitos estruturais nas folhas de grafeno.

Um aspecto importante dos NTCs está relacionado com a sua anisotropia local, uma vez que as paredes dos tubos são bastante diferentes das pontas. De maneira geral, as paredes dos NTCs são constituídas por carbonos com hibridização sp^2 , enquanto as pontas apresentam carbonos ligados a oxigênios. No que se refere à eletroquímica dos NTCs, muita discussão ainda está em pauta para verificar se ela é determinada pelas propriedades inerentes à essa classe de materiais, pelos grupos contendo oxigênio presentes no NTCs, pelas regiões de borda e pontas ou pelas partículas metálicas remanescentes do processo de síntese e não eliminadas na purificação. [47-51] Por exemplo, Gong e col. mostraram que a cinética do processo redox envolvendo os pares $Fe(CN)_6^{4-}/Fe(CN)_6^{3-}$ é mais favorecida nas pontas dos NTCs, especialmente na presença de grupos contendo oxigênio, enquanto a oxidação do H_2O_2 ocorre mais rapidamente nas paredes laterais. [52]

No campo dos sensores e biossensores, mesmo com as discussões ainda em aberto sobre os fundamentos da eletroquímica de NTCs, eletrodos modificados com essa classe de

nanomateriais têm sido aplicados com sucesso na detecção de diversos analitos, tais como dopamina, ácido ascórbico, ácido úrico e H_2O_2 . Comparado a eletrodos convencionais, a utilização dos NTCs promoveram não apenas o aumento da corrente observada, mas também uma diminuição considerável do sobrepotencial necessário para a detecção dos respectivos analitos. [53]

A combinação dos NTCs com o azul da Prússia também tem criado plataformas eficientes para a construção de biossensores de glicose [54], criando mediadores com melhor estabilidade eletroquímica e maior capacidade de transdução do H_2O_2 . [55]

1.3.2. Síntese de materiais assistida por moldes

Outro aspecto que tem chamado bastante atenção está relacionado com as propriedades e aplicabilidades de materiais que apresentam mesoestruturas (2 a 50 nm) e macroestruturas (acima de 50 nm) regulares geradas através da utilização de sínteses assistidas por moldes. Entre as diversas características interessantes associadas a essa técnica, a principal é que ela pode ser aplicada a uma gama muito grande de materiais. Muitos exemplos podem ser constatados nos trabalhos de Martin e col., que fizeram uso de membranas porosas de alumina e policarbonato para sintetizar metais [56], semicondutores [57], carbono [58] e outros materiais. Esse processo envolve a síntese do material desejado dentro dos poros da membrana. Como as membranas apresentam poros cilíndricos de diâmetros uniformes, um cilindro do material desejado pode ser obtido em cada poro.

Do ponto de vista eletroquímico, a idéia de se eletrodepositar materiais fazendo uso de moldes não é nova. Em 1970, Possin apresentou trabalhos envolvendo a eletrodeposição de fios de Sn, In e Zn utilizando moldes de mica. [59] Entretanto, Martin foi o pioneiro a usar as membranas porosas para eletrodepositar nanofios de polímeros condutores, tais como polipirrol e polianilina. [60] Ele reconheceu que as membranas porosas poderiam ser

utilizadas para a eletrodeposição de diversos compostos ao revestir um dos lados com uma camada de ouro evaporado e, então, fazer uso desse sistema como um eletrodo para o crescimento do material desejado dentro do poro. O diâmetro dos nanotubos resultantes pode ser controlado de acordo com o tamanho dos poros. A Figura 5 ilustra uma micrografia eletrônica de varredura de um tubo de poli(N-metilpirrol) resultante da utilização de membranas porosas como molde.

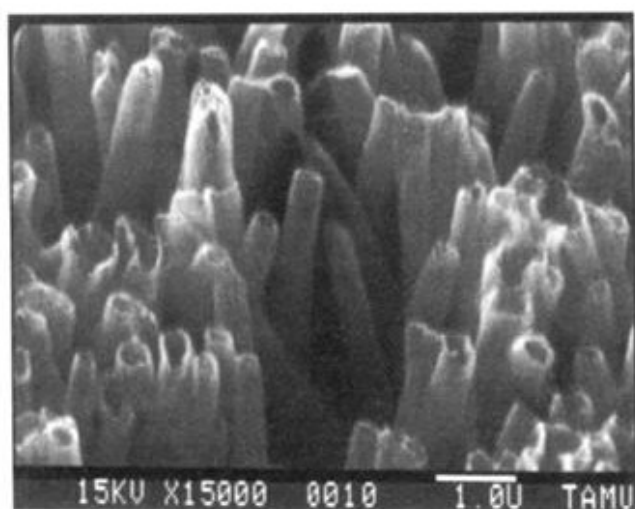


Figura 5 - Tubos de poli(N-metilpirrol) sintetizados com auxílio de uma membrana porosa.

Imagem retirada de Martin. [60]

Seguidamente aos trabalhos de Martin e col., outros grupos têm utilizado esse método e desenvolvido novas membranas porosas para produzir uma grande variedade de nanofios. O presente trabalho se difere dos de Martin e dos demais estudos com membranas porosas, uma vez que utiliza a idéia do uso dos moldes para gerar, ao invés de nanofios ou nanotubos, arranjos regulares de mesoporos e macroporos. Para tal, ao invés das membranas porosas, foram utilizados dois tipos diferentes de moldes já descritos na literatura: as partículas esféricas coloidais de poliestireno e os cristais líquidos liotrópicos. [61,62] Os moldes coloidais são capazes de produzir materiais com arranjos porosos esféricos com diâmetros

que podem variar de 20 nm até cerca de alguns micrometros. Já os cristais líquidos liotrópicos produzem materiais com arranjos de poros regulares com diâmetros entre 2 e 50 nm. Esses filmes porosos apresentam propriedades únicas devido à alta área superficial que possuem em relação ao volume de material e à capacidade de controle da espessura e dos tamanhos dos poros pelo formato e dimensão dos moldes utilizados.

1.3.2.1. Moldes de partículas esféricas coloidais

Partículas esféricas coloidais de sílica e de poliestireno podem ser depositadas em diversas superfícies através de uma série de métodos, tais como centrifugação, evaporação e método de Langmuir-Blodgett. Devido aos efeitos da difração de Bragg, as camadas de esferas coloidais apresentam, após a deposição, uma coloração que, dependendo do ângulo de visão, vai do vermelho ao azul. Essa opalescência é idêntica àquela vista em opalas naturais, uma vez que elas são formadas por arranjos empacotados de esferas uniformes de sílica. Efeitos similares também são responsáveis pela coloração vista na plumagem de alguns pássaros e nas asas de uma variedade de borboletas. [63]

Muito do interesse na utilização dos moldes de partículas coloidais na formação de materiais, particularmente óxidos e semicondutores, é atribuído aos estudos de cristais fotônicos. Materiais de estruturas porosas submicrométricas e distribuídas em arranjos empacotados, tais como o Sb_2S_3 , podem ser sintetizados através da infiltração dos respectivos precursores nas vacâncias intersticiais das esferas coloidais, seguido pela conversão química para o material desejado e pela subsequente remoção do molde. [64] Após a síntese química do material desejado, as partículas esféricas de poliestireno podem ser removidas, por exemplo, pela dissolução com tetrahidrofurano ou tolueno. No caso das partículas de sílica, elas podem ser removidas com uma solução diluída de HF. Entretanto, uma desvantagem dos processos que empregam a síntese química está relacionada com a dificuldade em se

preencher homoganeamente todas as vacâncias localizadas entre as esferas do molde. Consequentemente, durante a remoção do mesmo, existe uma redução de volume (tipicamente de 15% ou mais) que, além de ocasionar rachaduras pelo material desejado, torna difícil prever os tamanhos dos poros nas estruturas finais. Portanto, métodos químicos não são muito satisfatórios para a fabricação de filmes finos porosos. Já os métodos eletroquímicos podem resolver esse problema.

A primeira eletrodeposição ao redor de moldes de partículas coloidais foi reportada nos trabalhos de Braun e Wiltzius, durante a preparação de filmes macroporosos de CdS e CSe para estudos fotônicos. [65] Desde então, alguns grupos de pesquisa, como os de Bartlett e col., Kuhn e col. e Yanagida e col., têm feito uso dessa técnica para eletrodepositar filmes porosos bem ordenados de metais e ligas [66-68], de óxidos [69-71] e de polímeros condutores. [72,73] Em contraste com a deposição química, a eletrodeposição assegura a formação de depósitos de alta densidade e de boa estabilidade mecânica, permitindo reproduzir o molde com uma maior fidelidade. Além disso, a deposição eletroquímica apresenta a característica única de permitir o controle da espessura dos filmes através da carga utilizada no processo. Uma vez que o processo de eletrodeposição ocorre a partir da superfície do eletrodo, o controle da carga do depósito permite manipular a espessura do filme resultante. A Figura 6 ilustra o processo de eletrodeposição de materiais macroporosos utilizando moldes de esferas coloidais.



Figura 6 - Representação esquemática da eletrodeposição de um material sobre um eletrodo modificado com um molde coloidal de partículas esféricas.

Além da relação favorável área superficial/volume, os materiais gerados através dessa técnica apresentam superfícies uniformes que podem ser aplicadas como espelhos fotônicos. A sua refletividade óptica depende do tipo de material, do diâmetro do poro e da espessura do filme. [74] Além dessa finalidade, tais materiais também apresentam aplicações no campo do magnetismo [75-77], das células solares [78], da espectroscopia Raman [79] e da supercondutividade. [80]

No campo dos sensores e biossensores, as esferas de poliestireno têm sido usadas para a deposição de filmes macroporosos de azul da Prússia aplicados na oxidação de hidrazina [81] e na construção de biossensores para glicose. [82] Nesse último caso, os autores reportaram que o tempo de resposta e a sensibilidade do biossensor construído com o mediador macroporoso foram mais favoráveis do que os resultados obtidos com o biossensor construído sobre o azul da Prússia convencional (maciço). Na ocasião, a sensibilidade exibida pelo biossensor macroporoso foi de $34,8 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$, um valor oito vezes superior ao obtido com o azul da Prússia maciço. Além da questão da exposição de um maior número de sítios ativos superficiais em relação ao volume, os autores atribuem o resultado obtido à maior permeabilidade do eletrólito contendo o analito pela estrutura porosa.

1.3.2.2. Moldes de cristais líquidos liotrópicos

Os cristais líquidos, ou mesofases, constituem uma classe de materiais no qual se encontram arranjos ordenados de partículas que, entretanto, conservam propriedades características dos líquidos. [83] Ou seja, trata-se de um estado físico intermediário ao sólido e ao líquido. Essa classe de compostos, que podem ser substâncias puras ou misturas, toma a forma dos recipientes que os contêm e exibem propriedades singulares, especialmente ópticas e de orientação por ação de campos magnéticos.

Esses arranjos ordenados líquido cristalinos podem se originar da fusão de substâncias orgânicas, em geral constituídas por moléculas alongadas com geometria conveniente. O calor age no sentido de quebrar o retículo cristalino molecular de maneira gradativa, permitindo passar por sistemas que exibam um determinado ordenamento até, finalmente, alcançarem o estado líquido.

Os compostos que alcançam o estado líquido-cristalino por ação da temperatura são denominados de cristais líquidos termotrópicos. Além da temperatura, a ação de solventes sobre certas substâncias orgânicas também é capaz de gerar arranjos ordenados. Por exemplo, soluções aquosas concentradas de compostos anfífilos, como sabões e detergentes, exibem propriedades líquido-cristalinas. Sistemas desse tipo são denominados de cristais líquidos liotrópicos ou liomesofases micelares.

Em concentrações elevadas dos compostos anfífilos, as micelas formadas (micelas infinitas) se organizam em estruturas muito estáveis, cujas formas principais são lamelas ou cilindros. Nas liomesofases lamelares infinitas, as moléculas se arranjam em bicamadas separadas uma das outras pela água e pelos contra-íons, formando sistemas bastante viscosos. No outro tipo estrutural de liomesofase infinita, as micelas formam cilindros muito longos, nos quais as cabeças iônicas ou polares se distribuem na superfície dos cilindros, em contato com a água e os contra-íons. Os cilindros formam arranjos hexagonais [84,85], razão pela

qual esse sistema é chamado de liomesofase hexagonal infinita. A Figura 7 ilustra os dois tipos de liomesofases micelares infinitos.

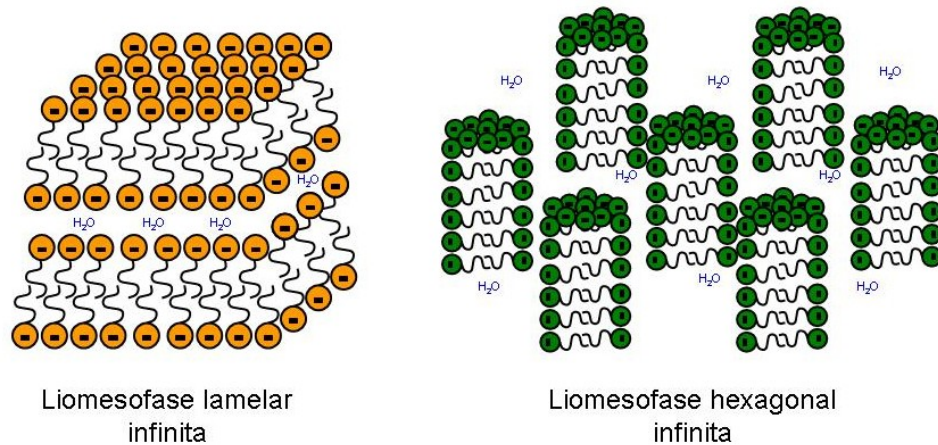


Figura 7 – Representação esquemática das liomesofases micelares infinitas.

A liomesofase hexagonal infinita pode ser utilizada como um molde de cristais líquidos liotrópicos para a nanoestruturação de filmes com poros de dimensões micelares. Esses poros são menores dos que os alcançados pelas partículas coloidais esféricas, o que torna o método bastante atraente. Soluções aquosas concentradas de polioxietilenos estão entre os sistemas líquido-cristalinos mais utilizados para essa finalidade. [86] Como exemplo, é possível citar sistemas hexagonais formados com o octaetilenoglicol monohexadecil éter ($C_{16}EO_8$). Tal molécula anfifílica é um composto não-iônico com uma cadeia alquílica hidrofóbica de dezesseis carbonos e com cabeças hidrofílicas formadas por oito grupos de óxidos de etileno. Um diagrama de fase do $C_{16}EO_8$ é apresentado na Figura 8, onde é possível encontrar a faixa de concentração e temperatura necessárias para a obtenção da liomesofase desejada.

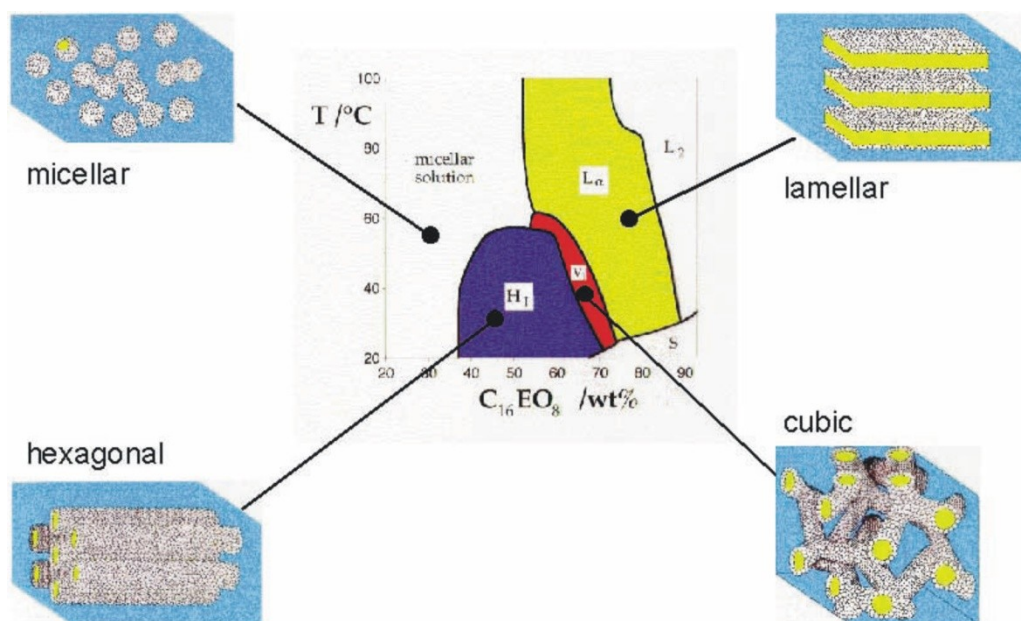


Figura 8 – Diagrama de fase do C₁₆EO₈. Imagem extraída de Bartlett. [61]

A utilização da liomesofase hexagonal é interessante porque ela é capaz de produzir materiais com uma rede porosa contínua e estabilidade mecânica adequada. [87] Para se utilizar essas micelas como molde, dissolve-se os precursores do material desejado e o eletrólito no domínio aquoso da mistura. É importante lembrar que a força iônica do meio é alterada ao se adicionar esses componentes, o que pode alterar o diagrama de fase característico do sistema surfactante/água. [88] Nesse sentido, é recomendável que um diagrama de fase do sistema surfactante/solução aquosa contendo eletrólito e precursores seja construído antes da deposição dos materiais.

Após a escolha da composição e temperatura de trabalho desejadas, é possível executar a deposição ou eletrodeposição do material de interesse ao redor das micelas do surfactante, conforme exemplificado na Figura 9. Em seguida à síntese, o surfactante pode ser removido por calcinação ou com um solvente adequado, formando um filme poroso com uma estrutura que reflete o domínio aquoso da solução que continha o cristal líquido liotrópico. [89]



Figura 9 - Representação esquemática da deposição de um material utilizando micelas de surfactante em fase hexagonal como molde.

Esse método é bastante versátil e permite o controle sobre o tamanho e o formato dos poros. Por exemplo, apesar da maioria dos trabalhos utilizarem as fases hexagonais, uma eletrodeposição que ocorra com um molde de cristal líquido na fase cúbica produzirá um filme cuja estrutura é diferente da ilustrada acima. [90,91] Além disso, o tamanho do poro pode ser controlado pelo tamanho da cadeia carbônica do surfactante ou pela utilização de um solvente apolar, como o n-heptano. No primeiro caso, a utilização do surfactante $C_{12}EO_8$ ao invés do $C_{16}EO_8$ formará micelas com diâmetros menores e, conseqüentemente, produzirá um filme com poros de menores dimensões. Por outro lado, o n-heptano, em meio aquoso, ficará preferencialmente dentro das micelas, o que aumentará o tamanho das mesmas e, por sua vez, acarretará na formação de um filme com poros maiores.

Dentro da eletroquímica, o método pode ser aplicado a diversos materiais que possam ser eletrodepositados a partir de uma solução, como metais [92-96], semimetais [97], estruturas bimetalicas [98,99] e polímeros. [100,101]

Filmes eletrodepositados a partir de moldes de cristais líquidos liotrópicos contêm uma alta área superficial, comparáveis às apresentadas por nanopartículas de dimensões similares aos diâmetros das cavidades. Entretanto, uma vantagem da utilização das nanoestruturas sobre as nanopartículas é que existe uma diminuição da resistência ao transporte de elétrons. Enquanto as nanopartículas precisam ser relativamente aglomeradas para que ocorra o

transporte de partícula para partícula, as nanoestruturas são capazes de fazê-lo através das paredes que separam os arranjos regulares de poros. Isso abre um leque de aplicações nas mais diversas áreas, tais como baterias e armazenamento de energia [87,102-104], eletrocatalise [99,105,106] e sensores. [107-109] Os cristais líquidos liotrópicos também foram utilizados como moldes para a eletrodeposição do azul da Prússia. Apesar de não obterem um arranjo poroso hexagonal ordenado, Karyakin e col. mostraram que o molde de surfactante foi capaz de gerar “ilhas” de azul da Prússia que se comportaram como um arranjo de nanoeletrodos. Durante a detecção de H_2O_2 , o sistema nanoestruturado apresentou uma diminuição do limite de detecção de $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ em relação a um filme de azul da Prússia maciço. [110,111]

2. Objetivos

Conforme apresentado na seção introdutória, a aproximação entre nanociência e o azul da Prússia possibilitou a obtenção de mediadores de H_2O_2 com propriedades analíticas melhoradas em relação aos filmes maciços de azul da Prússia. De maneira análoga, o presente trabalho busca observar e compreender como o comportamento do CuHCNFe/PPy pode ser influenciado pela utilização de NTCs e de técnicas de estruturação por moldes coloidais e líquido-cristalinos, visando uma correlação entre morfologia e tamanho com a reatividade do material sintetizado. Por fim, o trabalho também tem como objetivo aplicar os mediadores desenvolvidos na construção de biossensores amperométricos enzimáticos.

3. Procedimentos experimentais

Todos os reagentes foram manuseados conforme recebidos, exceto o pirrol que foi destilado antes da sua utilização. As soluções aquosas foram preparadas com água ultra-pura (Elga System UHQ, 18 MΩ cm). Durante os experimentos, foi utilizado um potenciostato/galvanostato PGSTAT30 dirigido pelos softwares GPS versão 4.9.005 e NOVA versão 1.6.013.

3.1.Preparação dos eletrodos

3.1.1. Preparação dos eletrodos micro/nanoestruturados de feltro/NTCCS utilizados na síntese do CuHCNFe/Ppy

Os eletrodos micro/nanoestruturados utilizados como substratos para a síntese do CuHCNFe/Ppy foram preparados através do uso de um feltro formado por microfibras de poliacrilonitrila. Inicialmente, o feltro foi cortado em dimensões de 5 x 5 mm no plano xy e 1 mm de espessura no eixo z. Após essa etapa, os feltros foram carbonizados a 1000 °C, pesados e, posteriormente, submetidos à incorporação de Mn(CH₃COO)₂ e Co(CH₃COO)₂ (proporção 1:1), os quais atuam como precursores dos catalisadores metálicos necessários durante o processo de crescimento dos NTCCS. Por fim, os feltros foram colocados em um reator de deposição química a vapor, onde a temperatura foi aumentada em uma rampa de 20 °C min⁻¹. Quando a temperatura estava entre 300 e 400 °C, houve a decomposição dos sais dos metais de transição e a conseqüente formação de aglomerados de partículas metálicas. Prosseguiu-se com o aumento da temperatura até que um valor de 600 °C fosse obtido dentro do reator, quando uma mistura de metanol/etanol (1:1 v/v) foi introduzida como fonte de carbono para o crescimento dos NTCCS. Nessa etapa, os NTCCS foram depositados à pressão atmosférica durante 20 min, sendo o N₂ utilizado como gás de arraste a um fluxo de 150 sccm (centímetro cúbico por minuto). Após o crescimento dos NTCCS, os catalisadores

metálicos foram removidos através da imersão do feltro decorado com nanotubos de carbono do tipo “*cup-stacked*” (feltro/NTCCS) em HCl concentrado por 10 min. Esse procedimento foi repetido três vezes e, posteriormente, o feltro/NTC foi lavado através de sucessivas imersões em água deionizada. Após a extração dos catalisadores, o feltro/NTCCS foi seco à temperatura ambiente e, por fim, pesado novamente para a obtenção da massa de NTCCS depositada no processo. [112]

Os eletrodos feltro/NTCCS foram desenvolvidos pelo Prof. Dr. José Maurício Rosolen e produzidos em seu laboratório pela Dr^a. Elaine Y. Matsubara, na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP) da Universidade de São Paulo. A preparação desses eletrodos não foi realizada ou acompanhada pelo presente aluno, sendo recebidos os materiais já prontos para caracterização e aplicação experimental.

3.1.2. Preparação dos eletrodos de carbono vítreo utilizados na síntese do CuHCNFe/PPy maciço e macroporosos

3.1.2.1. Limpeza dos eletrodos de carbono vítreo

Os eletrodos de carbono vítreo apresentavam 3 mm de diâmetro e, antes de serem empregados nos experimentos eletroquímicos, foram polidos com alumina em uma politriz. Foram utilizadas, na sequência, suspensões com partículas de 1,00, 0,30 e 0,05 μm . Após o polimento, os eletrodos foram colocados em um banho de ultra-som por 5 min em acetona e por mais 5 min em água deionizada. Por fim, os eletrodos foram imersos em uma solução de NaOH $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e polarizados a +1,80 V vs Ag/AgCl/Cl_{sat}⁻ por 10 s. [113] Esse tratamento foi utilizado para remover os contaminantes orgânicos e os resíduos do polimento.

3.1.2.2. Deposição do molde de esferas de poliestireno sobre o carbono vítreo

Esferas de poliestireno com diâmetros de 300, 460, 600 e 800 nm foram utilizadas como molde para a síntese dos mediadores híbridos macroporosos. As esferas foram adquiridas comercialmente (Sigma-Aldrich) na forma de suspensões coloidais aquosas 10 % m/m. No laboratório, as suspensões foram diluídas para 0,5 % m/m e acrescidas do surfactante Triton X-100. A adição do surfactante foi importante para estabilizar o molde coloidal na superfície do carbono vítreo, sendo testadas concentrações de $1,0 \times 10^{-5}$, $1,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. Antes de utilizada, as suspensões foram colocadas em banho de ultra-som por 2 min.

O molde coloidal foi depositado sobre o carbono vítreo através da adição de 10 µL da suspensão aquosa das esferas de poliestireno. O eletrodo permaneceu em uma câmara de umidade saturada para evaporação lenta do solvente. Após a primeira secagem, outros 10 µL da mesma suspensão foram adicionados sobre as esferas depositadas previamente e, mais uma vez, o eletrodo foi colocado em uma câmara de umidade saturada.

Após a deposição do molde coloidal, os eletrodos foram colocados em uma estufa a 100 °C por 4 h, com exceção feita aos eletrodos que continham esferas de poliestireno com 300 nm de diâmetro. Nesse caso, o tempo de permanência na estufa foi de 1 h.

A importância de cada uma dessas etapas experimentais pode ser encontrada com mais detalhes no Apêndice da presente tese.

3.1.3. Preparação dos eletrodos de ouro utilizados na síntese do CuHCNFe/Ppy mesoporoso e dos eletrodos de ITO modificados com filmes de TiO₂ mesoporosos para imobilização do azul da Prússia e do CuHCNFe

3.1.3.1. Preparação dos eletrodos de ouro a partir de CDs

Os eletrodos de ouro utilizados nessa seção foram fabricados segundo uma metodologia proposta por Lowinsohn e col. [114] A inovação do procedimento proposto pelos autores

consistiu na utilização de máscaras de toner para definir áreas reproduzíveis em superfícies de ouro obtidas a partir de discos de gravação (CD-R). Para tal, as dimensões e geometria do eletrodo foram desenhadas no software “*Power Point*”, impressas com uma impressora a laser em um papel adequado (por exemplo o papel “*glossy*”) e transferidas para a superfície do ouro utilizando uma prensa com controle de temperatura.

Os eletrodos foram fabricados no laboratório do Prof. Dr. Lúcio Angnes com auxílio do aluno Fernando C. M. de Oliveira, no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo. O presente aluno participou da construção dos eletrodos para a utilização no projeto.

3.1.3.2. Preparação dos eletrodos de ITO modificados com filmes de TiO₂ mesoporosos

Eletrodos de óxido de índio dopado com estanho (ITO) foram utilizados para a deposição de filmes de TiO₂ mesoporoso através de um processo sol-gel realizado ao redor de micelas de surfactantes em fase hexagonal. O sol contendo o molde foi depositado na superfície do ITO pelo método de “*dip-coating*”. Para tal, o ITO foi mergulhado em um sistema líquido-cristalino em fase cúbica contendo o surfactante Pluronic F127 e $4,0 \times 10^{-1}$ mol de etanol anidro. A solução etanólica continha TiCl₄ como precursor inorgânico, sendo mantida uma proporção de $5,0 \times 10^{-5}$ mol de surfactante para cada $1,0 \times 10^{-2}$ mol de TiCl₄. Posteriormente, foram adicionados $1,0 \times 10^{-1}$ mol de água no sistema para causar a hidrólise do precursor inorgânico.

O ITO foi então imerso e retirado do sol descrito acima a uma velocidade de $1,5 \text{ mm s}^{-1}$, sendo o processo conduzido dentro de uma câmara com 30 % de umidade relativa. Em seguida, o eletrodo foi envelhecido por 2 dias em outra câmara com umidade ajustada entre 50 e 60 %. Posteriormente, o eletrodo foi mantido em uma estufa a 60, 100 e 130 °C, por 24

h em cada uma das temperaturas. O envelhecimento em cada uma das temperaturas, além de ocasionar a transição da fase cúbica para a fase hexagonal em $T = 40\text{ }^{\circ}\text{C}$, também é responsável pela condensação do precursor hidrolisado. O controle da condensação é importante para a organização do material resultante. [115] Após o último tratamento térmico de 24 h, o filme já está estável o suficiente para ser calcinado. Para tal, a temperatura foi aumentada de 130 até 350 $^{\circ}\text{C}$ a uma velocidade de $1\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, sendo mantido a 350 $^{\circ}\text{C}$ por 2 h. Durante a rampa de temperatura, houve a formação do TiO_2 mesoporoso e a remoção térmica do molde de surfactantes utilizado. [116] Esse procedimento foi capaz de gerar filmes de TiO_2 com canais porosos de 13 nm de diâmetro e 130 nm de espessura - $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. No que se refere à espessura, também foi possível sintetizar filmes de TiO_2 mesoporoso com 200 e 260 nm de espessura - $\text{TiO}_2(13\text{nm}-200\text{nm})$ e $\text{TiO}_2(13\text{nm}-260\text{nm})$. Nesse sentido, o processo de imersão/emersão utilizado para a formação dos filmes de 130 nm pôde ser feito duas vezes, imobilizando-se um sistema líquido-cristalino sobre o molde de micelas fixado previamente. Esse procedimento foi capaz de gerar filmes de TiO_2 mesoporosos com 260 nm de espessura. Outra possibilidade consistiu na diminuição da velocidade de imersão/emersão utilizada na primeira abordagem, o que alterou a quantidade de molde imobilizado e possibilitou a síntese de filmes com 200 nm de espessura. Na ocasião, as espessuras foram determinadas por técnicas de Refletividade por Difração de Raios-X e Elipsometria.

Além da espessura, o diâmetro dos poros também pôde ser modulado em função de algumas alterações no procedimento experimental, basicamente referentes à adição de compostos capazes de aumentar as dimensões das micelas utilizadas como molde. No caso, o polipropilenoglicol e o tetrahydrofurano foram utilizados com a finalidade de produzir outras duas plataformas mesoporosas de TiO_2 , sendo uma delas formada por canais com 20 nm de diâmetro $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e outra formada simultaneamente por canais de 13 e 40 nm de

diâmetro $\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$. Essas duas plataformas possuíam 130 nm de espessura e os detalhes experimentais podem ser encontrados no trabalho de Malfatti e col. [117]

As plataformas foram produzidas na Unidad de Actividad Química do Centro Atómico Constituyentes, localizado em Buenos Aires e sob coordenação do Prof. Dr. Galo J. A. A. Soler-Illia. Durante o estágio realizado na Universidad de Buenos Aires, o presente aluno pôde acompanhar o doutorando Martín H. Gaitán e participar do processo de preparação dos eletrodos de TiO_2 mesoporosos.

3.2. Síntese dos mediadores de H_2O_2

3.2.1. Deposição do CuHCNFe/Ppy sobre o feltro/NTCCS

Após a preparação do feltro/NTCCS, o mesmo foi utilizado como eletrodo de trabalho para a síntese do CuHCNFe/Ppy . Para tal, o contato elétrico foi realizado prendendo-se o feltro/NTCCS em um gancho formado por um fio de Pt. Toda a parte exposta do fio de Pt foi pintada com esmalte para que apenas o feltro/NTCCS ficasse passível de ser modificado com o mediador. A síntese do CuHCNFe/Ppy foi realizada em duas etapas eletroquímicas, sendo que a primeira consistiu na formação de um filme de Ppy dopado com íons $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Para tal, o feltro/NTCCS foi imerso em uma solução contendo $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, pirrol $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. Após a imersão, 10 ciclos voltamétricos foram realizados entre $-0,25$ e $+0,95 \text{ V}$ a uma velocidade de 50 mV s^{-1} . Terminada a primeira etapa, o feltro/NTCCS modificado com $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Ppy}$ (feltro/NTCCS- $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Ppy}$) foi lavado com água deionizada e imerso em outra solução contendo CuCl_2 $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ por 2 h, para que a solução contendo íons Cu^{2+} pudesse encharcar o filme de Ppy. Após esse período, a segunda etapa eletroquímica foi realizada através de 20 ciclos voltamétricos utilizando-se a mesma solução. A janela de potencial e a velocidade de varredura foram as mesmas da primeira etapa eletroquímica. Ao final dessa etapa, foi

possível sintetizar o CuHCNFe/Ppy sobre o feltro/NTCCS (feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy). A metodologia utilizada foi baseada no trabalho de Fiorito e col. [34]

Para estudar o papel dos NTCCS, o CuHCNFe/Ppy também foi sintetizado sobre um feltro previamente carbonizado, mas que não foi submetido ao processo de crescimento dos NTCs. Para tal, foram mantidas exatamente as mesmas condições experimentais utilizadas durante a lavagem com HCl concentrado e durante a realização das duas etapas eletroquímicas envolvidas na síntese do mediador. Ao fim desse processo, foi possível obter um feltro sem NTCs modificado com CuHCNFe/Ppy (feltro-CuHCNFe/Ppy).

Para estudar o papel dos NTCCS, o CuHCNFe/Ppy também foi sintetizado sobre um feltro previamente carbonizado, mas que não foi submetido ao processo de crescimento dos NTCs. Para tal, foram mantidas exatamente as mesmas condições experimentais utilizadas durante a lavagem com HCl concentrado e durante a realização das duas etapas eletroquímicas envolvidas na síntese do mediador. Ao fim desse processo, foi possível obter um feltro sem NTCs modificado com CuHCNFe/Ppy (feltro-CuHCNFe/Ppy).

3.2.2. Deposição do CuHCNFe/Ppy maciço e macroporosos sobre o carbono vítreo

O CuHCNFe/PPy maciço foi depositado sobre o carbono vítreo através da mesma metodologia descrita para o feltro/NTCCS. Entretanto, o número de ciclos voltamétricos foi controlado em função da carga de deposição desejada.

No caso dos mediadores de CuHCNFe/PPy macroporosos, antes de se realizar a primeira etapa eletroquímica, o eletrodo de carbono vítreo com as esferas de poliestireno permaneceu imerso na solução de $K_3Fe(CN)_6$, pirrol e KCl por 30 min. Esse tempo foi necessário para que a solução penetrasse pelos interstícios das esferas e alcançasse a superfície do eletrodo de trabalho. Outra diferença foi que, ao fim da segunda etapa eletroquímica, os mediadores CuHCNFe/Ppy-(300, 460, 600 e 800)nm permaneceram em tolueno por 24 h sob agitação

magnética para dissolução do molde de poliestireno. Após esse período, os eletrodos permaneceram por 12 h em um dessecador a vácuo para garantir que não houvesse tolueno aprisionado dentro dos macroporos.

3.2.3. Deposição do CuHCNFe/Ppy mesoporoso sobre o ouro de CD

3.2.3.1. Construção do diagrama de fase

Os cristais líquidos foram preparados através da mistura de um surfactante não-iônico com uma solução aquosa que continha $K_3Fe(CN)_6$, pirrol e KCl. O surfactante utilizado foi o Brij 98, de nome polioxietileno oleil éter e fórmula $C_{18}H_{35}(OCH_2CH_2)_nOH$, com $n \sim 20$.

Uma vez que as fases micelares variam de acordo com a composição da mistura e com a temperatura, é essencial a elaboração de um diagrama de fase para o reconhecimento da faixa de trabalho onde se encontra a estrutura desejada para a síntese assistida por molde. No presente trabalho, os estudos foram voltados para a determinação da fase hexagonal. Entretanto, diferentemente da utilização das esferas de poliestireno, o molde micelar só esteve presente durante a formação do Ppy dopado com $Fe(CN)_6^{3-}$, ou seja, apenas na primeira etapa eletroquímica. Portanto, o diagrama de fase foi formado através da análise por microscopia sob luz polarizada com varredura de temperatura para diversas proporções m/m de Brij 98/solução aquosa contendo pirrol $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, $K_3Fe(CN)_6$ $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

Conforme mencionado na seção introdutória, a adição de um novo composto pode variar a força iônica do meio e, conseqüentemente, alterar as fases micelares. Para acompanhar esse efeito, criou-se, inicialmente, um diagrama de fase contendo apenas Brij 98 e água. Posteriormente, adicionou-se o KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e construiu-se um novo diagrama Brij 98/solução aquosa contendo o sal. Em seguida, foi feito um terceiro diagrama de fase Brij

98/KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ + $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ até que, por último, o pirrol foi adicionado e chegou-se ao diagrama de fase final.

Para preparar os cristais líquidos, o surfactante foi aquecido em banho-Maria a 60°C até que ele fosse liquefeito. Adicionou-se a massa desejada do surfactante em um “eppendorf” e, em seguida, acrescentou-se a massa desejada de solução. O sistema foi agitado vigorosamente, aquecido em banho-Maria a 60°C , agitado novamente, misturado com um bastão de vidro e, por fim, centrifugado por 10 min a 13.400 rpm. Esses passos foram repetidos até que se formasse uma mistura homogênea.

Para construir o diagrama de fase, os cristais líquidos foram colocados em “*microslides*” de $0,4 \times 4 \text{ mm}$. Para estabilização das fases micelares antes da varredura de temperatura sob análise de um microscópio de luz polarizada, os cristais líquidos liotrópicos foram mantidos dentro dos “*microslides*” por, no mínimo, 2 h.

A construção do diagrama de fase em questão foi auxiliada pela Profa. Dra. Maria Regina Alcântara, coordenadora do Grupo de Reologia em Sistemas Organizados, no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo.

3.2.3.2. Deposição do CuHCNFe/Ppy mesoporoso

O cristal líquido liotrópico preparado para a nanoestruturação do CuHCNFe/Ppy consistiu em um sistema Brij 98 (65% m/m)/solução aquosa (35% m/m). A solução aquosa continha pirrol $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ + $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ + KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e o cristal líquido foi preparado de maneira similar a descrita anteriormente para a elaboração do diagrama de fase.

Diferentemente do caso das partículas coloidais, somente foi possível utilizar o molde micelar na etapa de formação do Ppy dopado com íons $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Para tal, utilizou-se um eletrodo de ouro como trabalho ($d = 1 \text{ mm}$), uma chapa de Pt como contra-eletrodo e um fio

de Ag/AgCl como referência. Foi realizada uma varredura de potencial entre -0,30 V e 0,85 V. Foram realizados 10 ciclos de voltametria cíclica com velocidade de 50 mV s⁻¹. Como o cristal líquido é bastante viscoso, os experimentos foram conduzidos a 60 °C.

Após a conclusão da primeira etapa, o molde de cristal líquido foi removido com a utilização de álcool isopropílico. Para tal, o eletrodo permaneceu mergulhado por 24 h no solvente com agitação magnética.

Após a remoção do molde, a etapa de incorporação do Cu²⁺ ocorreu de maneira similar a descrita para o molde de partículas coloidais. Para tal, o eletrodo foi imerso em uma solução de CuCl₂ 2,0 x 10⁻² mol L⁻¹ e KCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹. Após 2 h, o eletrodo foi ciclado na mesma solução por 20 vezes, a 50 mV s⁻¹, em uma janela de potencial de -0,30 V a 0,85 V vs Ag/AgCl/Cl⁻_{sat}.

3.2.4. Síntese do azul da Prússia e seus análogos sobre o TiO₂ mesoporoso

Os filmes de TiO₂ mesoporosos sintetizados sobre o ITO foram utilizados para a imobilização do azul da Prússia. Para tal, o eletrodo foi imerso inicialmente em uma solução etanólica do ligante 1,10-fenantrolina-5,6-diona 5,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ por 24 h. Após a imobilização do ligante, o eletrodo foi lavado com etanol. Posteriormente, o eletrodo mesoporoso modificado com o ligante foi imerso em uma solução aquosa de FeSO₄ 5,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ por 30 min, lavado com água deionizada e seco com N₂. Por fim, o eletrodo foi imerso por mais 30 min em outra solução aquosa contendo K₃Fe(CN)₆ 5,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹, lavado com água deionizada e seco com N₂. Após essa etapa, foi possível formar uma monocamada de azul da Prússia na superfície do eletrodo mesoporoso. O processo de imersão nas soluções de FeSO₄ e K₃Fe(CN)₆ pôde ser repetido diversas vezes, sendo que cada repetição foi capaz de formar uma monocamada de azul da Prússia sobre a camada anterior.

O mesmo procedimento pôde ser adaptado para a formação do CuHCNFe na superfície dos filmes de TiO₂ mesoporosos. Para tal, após a imobilização do ligante 1,10-fenantrolina-5,6-diona, o eletrodo foi imerso em uma solução aquosa contendo CuCl₂ 5,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ por 30 min, lavado com água deionizada e seco com N₂. Por fim, o eletrodo foi imerso por mais 30 min em outra solução aquosa contendo K₃Fe(CN)₆ 5,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹, lavado com água deionizada e seco com N₂. Assim como no caso do azul da Prússia, esse processo formou uma monocamada de CuHCNFe na superfície do eletrodo mesoporoso. O processo de imersão nas soluções de CuCl₂ e K₃Fe(CN)₆ pôde ser repetido diversas vezes, sendo que cada repetição foi capaz de formar uma monocamada de CuHCNFe sobre a camada anterior.

A metodologia para a imobilização do azul da Prússia e de seus análogos na superfície do TiO₂ mesoporoso foi desenvolvida durante o doutorado de Martín H. Gaitán no laboratório coordenado pelo Prof. Dr. Luis M. Baraldo, situado na Facultad de Ciencias Exactas y Naturales da Universidad de Buenos Aires. O trabalho envolvendo a imobilização de mediadores sobre os eletrodos de TiO₂ mesoporosos é fruto de uma parceria realizada entre o grupo do Prof. Dr. Luis M. Baraldo e da Prof^{ta}. Dr^a. Susana Inés Córdoba de Torresi, a qual ocasionou dois estágios de Martín H. Gaitán na Universidade de São Paulo e um estágio do presente aluno na Universidad de Buenos Aires.

3.3. Caracterização morfológica e composicional

Os mediadores foram caracterizados morfológicamente através do uso da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) por emissão de campo (JEOL, modelo JSM-7401F). Um detector SEI foi utilizado para a coleta e análise dos elétrons secundários.

O feltro e o feltro/NTCCS foram caracterizados morfológicamente antes e após a modificação com o CuHCNFe/Ppy. No caso específico do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy, o MEV também foi utilizado para a análise da composição do material, com o intuito de

estudar qual estrutura morfológica correspondia ao material inorgânico (CuHCNFe) e qual estrutura poderia ser atribuída à parte orgânica do mediador híbrido (Ppy). Para tal, foram gravadas imagens coletando-se os elétrons retro-espalhados no sistema. Nesse caso, as imagens foram obtidas no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS-Campinas-SP-Brasil) utilizando-se um MEV operado por emissão de campo (JEOL, JSM-6330F).

Os filmes de CuHCNFe/Ppy macroporosos de 460, 600 e 800 nm tiveram suas espessuras determinadas através da utilização do MEV. Para tal, placas de carbono vítreo foram pintadas com esmalte até que ficassem descobertos apenas um círculo de 3 mm de diâmetro para deposição do mediador e uma área para o contato elétrico. O CuHCNFe/Ppy macroporoso foi sintetizado da mesma maneira descrita anteriormente e, após a imersão em tolueno, foi possível eliminar o molde coloidal e o esmalte. A espessura do filme foi determinada através do uso de um porta-amostra desenvolvido para posicionar a placa de carbono vítreo com o mediador a 85° dentro do MEV.

A caracterização composicional também foi feita com auxílio do MEV. Após a focalização de uma região de interesse, foi utilizada a técnica de Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X para monitoramento de C, O, Cu, Cl, K e Fe.

3.4.Caracterização eletroquímica

O feltro e o feltro/NTCCS foram caracterizados por voltametria cíclica antes e após a modificação dos mesmos com o CuHCNFe/Ppy. Para tal, foi utilizada uma solução contendo NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. A janela de potencial foi de -0,25 a +0,95 V vs Ag/AgCl/Cl_{sat}⁻ e a velocidade de varredura foi de 50 mV s⁻¹. O potencial inicial foi o de circuito aberto (+0,36 V).

Os mediadores de CuHCNFe/Ppy maciço e macroporosos sintetizados sobre o carbono vítreo também foram caracterizados eletroquimicamente nas mesmas condições. Entretanto,

experimentos de voltametria cíclica também foram conduzidos na presença de dodecilsulfato de sódio (SDS) $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com o intuito de melhorar a molhabilidade dos mediadores macroporosos.

Por fim, os filmes de TiO_2 modificados com azul da Prússia foram caracterizados por voltametria cíclica em uma solução contendo $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. A janela de potencial utilizada foi de 0,00 a +0,60V e a velocidade de varredura foi de 100 mV s^{-1} .

3.5.Caracterização pela microbalança eletroquímica a cristal de quartzo (MECQ)

A síntese do CuHCNFe/Ppy maciço foi monitorada por uma MECQ, a qual era constituída por um frequencímetro (Stanford Research Instruments, modelo SR60) e por uma fonte de tensão alternada (Dual, modelo GP322). Durante as medidas, foi utilizado um cristal de quartzo (Maxtek) com frequência de ressonância de 6 MHz, recoberto com ouro em uma área piezoeletricamente ativa de $0,32 \text{ cm}^2$.

Os experimentos também foram conduzidos em uma microbalança a cristal de quartzo com análise de dissipação (QSense, Modelo E4) acoplada a um potenciostato/galvanostato PGSTAT30 Autolab. Durante as medidas, foi utilizado um cristal de quartzo com frequência de ressonância de 4,95 MHz, recoberto com ouro em uma área de $1,54 \text{ cm}^2$. O software utilizado durante os experimentos foi o QSoft401 versão 2.5.9.532.

3.6.Caracterização espectroscópica

O estado de oxidação dos átomos de Cu e Fe presentes no CuHCNFe/Ppy em diferentes potenciais foi monitorado por raios-x através da espectroscopia de alta resolução da borda K de absorção (XANES). Foram utilizados um monocromador sulcado de Si (111) e um detector de estado sólido de Ge. Um potenciostato PAR 362 foi utilizado para os

experimentos eletroquímicos *in situ*. Para esse experimento, foi utilizado um substrato de Au como eletrodo de trabalho. Esses experimentos foram realizados no Laboratório Nacional de Luz Síncroton (LNLS-Campinas-SP-Brasil).

O feltro/NTCCS e o feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy foram caracterizados por espectroscopia Raman ressonante utilizando-se um instrumento Renishaw (System 3000) combinado a um microscópio óptico Olympus e a um detector CCD (Wright, 600 x 400 pixels). Para as análises, foi empregado um laser de He/Ne com excitação em $\lambda = 632,8$ nm. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Espectroscopia Molecular do Instituto de Química da Universidade de São Paulo e o equipamento foi operado por Diego Pereira dos Santos, aluno de doutorado da Prof^a. Dr^a. Márcia L. A. Temperini.

Os eletrodos de $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ modificados com as diferentes camadas de azul da Prússia foram caracterizados por espectroscopia UV-Vis (Hewlett-Packard, modelo HP8453).

3.7. Caracterização por ângulo de contato

Os experimentos de ângulo de contato na ausência dos surfactantes foram realizados em um equipamento construído no laboratório coordenado pela Prof^a. Dr^a. Denise Freitas Siqueira Petri, no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo. Nesse estudo, uma gota da solução de interesse foi adicionada com uma micropipeta sobre os filmes de CuHCNFe/Ppy maciço e macroporosos sintetizados sobre os eletrodos de carbono vítreo. O equipamento contém uma lâmpada fria, cuja luz foi incidida na interface líquido/sólido através de uma fibra óptica. A sombra criada foi projetada em um papel fixado na parede e as fotos foram adquiridas com uma câmera digital. O ângulo de contato entre as interfaces líquido/sólido e líquido/gás foi medido posteriormente com o auxílio do software “Corel Draw”. Foram utilizados 6 μL de uma solução contendo $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ para a obtenção do ângulo de contato. Esse procedimento também foi realizado

com o filme de TiO₂ mesoporoso modificado com azul da Prússia. Entretanto, nessa ocasião, foram posicionados sobre o eletrodo 6 µL de KCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ + HCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹.

Já os experimentos de ângulos de contato realizados na presença do SDS foram feitos em um equipamento GBX Instrumentation Scientificque acoplado a uma câmera Nikon PixeLink. As imagens obtidas pela câmara são gerenciadas pelo software Visiondrop 1.02.01.01GB e PixeLINK Capture OEM 7.12, onde foi possível monitorar a variação em função do tempo do ângulo de contato formado na interface líquido/gás e líquido/sólido. As soluções utilizadas continhas NaCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ + HCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ e SDS com concentrações de 1,0 x 10⁻¹, 1,0 x 10⁻², 1,0 x 10⁻³ e 1,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹.

3.8.Caracterização analítica

3.8.1. Detecção de H₂O₂

Os sistemas feltro-CuHCNFe/Ppy e feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy foram utilizados para os experimentos de detecção de H₂O₂ por cronoamperometria. Para tal, foram utilizados 5 mL de uma solução contendo NaCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ + HCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ na presença de agitação magnética. Inicialmente, os eletrodos foram polarizados a 0,00 V por 40 min, para que houvesse estabilização da corrente residual. Posteriormente, foram adicionadas sucessivas alíquotas de 10 µL de H₂O₂ 5,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹. Nessas condições, cada adição correspondeu a um incremento de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ na concentração de H₂O₂.

Já os filmes de CuHCNFe/Ppy maciços e macroporosos foram aplicados na detecção de H₂O₂ através da utilização da cronoamperometria e da voltametria linear. As condições empregadas na cronoamperometria foram as mesmas descritas no parágrafo anterior, com exceção feita às adições de alíquotas de 5 µL de solução de H₂O₂ 2,5 x 10⁻¹ mol L⁻¹. Nessa condição, cada adição correspondeu a um incremento de 2,5 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ na concentração de H₂O₂. Os experimentos também foram realizados adicionando-se SDS ao eletrólito nas

concentrações de $1,0 \times 10^{-1}$, $1,0 \times 10^{-2}$, $1,0 \times 10^{-3}$ e $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Nos experimentos de detecção de H₂O₂ realizados por voltametria linear, o eletrodo foi inicialmente polarizado a +0,95 V por 10 min em uma solução contendo NaCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ + HCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ + SDS $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. Após a adição 5 µL de H₂O₂ $2,5 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹, foi realizada uma voltametria linear até -0,20 V a uma velocidade de 5 mV s⁻¹. A concentração de analito presente no eletrólito foi de $2,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹.

Os filmes de TiO₂ mesoporosos modificados com diferentes números de camadas de azul da Prússia ou CuHCNFe foram aplicados na detecção de H₂O₂ através da utilização da cronoamperometria. Os cronoamperogramas foram obtidos em 5 mL de uma solução contendo KCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ + HCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ sob agitação magnética. Também foram realizados experimentos em soluções contendo 5 mL de NaCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ + HCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹. Inicialmente, os eletrodos foram polarizados a 0,00 V até estabilização da corrente residual (20 min) e, posteriormente, foram realizadas sucessivas adições de alíquotas de 5 µL de solução de H₂O₂ $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹. Nessa condição, cada adição correspondeu a um incremento de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ na concentração de H₂O₂.

3.8.2. Imobilização da GOx e da colina oxidase (COx)

O feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy foi utilizado para a imobilização da GOx (E.C. 1.1.3.4 *Aspergillus Níger* 198000 U g⁻¹) através da técnica de camadas automontadas. Para tal, o eletrodo modificado foi mergulhado inicialmente em uma solução tamponada 1 % m/m de cloreto de polidialildimetilamônio (PDDA) por 30 min. Após esse período, o eletrodo foi imerso em uma solução tampão de lavagem por 15 min. Posteriormente, as enzimas foram imobilizadas mergulhando-se o feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy modificado com PDDA em uma solução tamponada de GOx 2 g L⁻¹ por 30 min. Por fim, o eletrodo foi lavado novamente imergindo o mesmo em uma solução tamponada por 15 min. Esse processo formou 1

bicamada de PDDA/GOx na superfície do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy e o processo foi repetido com o auxílio de um “*LbL Robot*” (Prosiga Informática) para a formação de sistemas com 5, 10 e 15 bicamadas de PDDA/GOx. Uma solução tampão PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada utilizando-se $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e o seu pH foi ajustado para 7 com NaOH. Essa solução foi utilizada para preparar as soluções de PDDA e GOx, bem como para lavar os eletrodos.

Essa metodologia também foi utilizada para a imobilização da GOx sobre o CuHCNFe/PPy macroporoso. Entretanto, nessa ocasião, as etapas de lavagem em PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7) foram feitas por 1 min sob agitação magnética.

O CuHCNFe/Ppy-460nm também foi utilizado para a imobilização da COx (E.C. = 1.1.3.17 *Alcaligenes sp.* 10000 U g^{-1}) pelo método das ligações cruzadas com glutaraldeído. Para tal, preparou-se uma solução onde 16 mg de albumina de soro bovino (BSA) e 1 mg de COx foram adicionados a 200 μL de PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7). Posteriormente, 20 μL dessa solução foram misturados com 2 μL de uma solução aquosa de glutaraldeído 2,5 % v/v. Dessa nova solução, 3 μL foram adicionados sobre o CuHCNFe/Ppy-460nm e o sistema foi deixado em repouso para secagem em temperatura ambiente.

A metodologia das ligações cruzadas também foi utilizada para a imobilização da COx sobre o filme de $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ modificado com 5 camadas de azul da Prússia. As condições experimentais foram exatamente as mesmas descritas no parágrafo anterior.

3.8.3. Detecção de glicose e colina

Os sistemas feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy modificados com 5, 10 e 15 bicamadas de PDDA/GOx foram utilizados para os experimentos de detecção de glicose por cronoamperometria. Para tal, foram utilizados 5 mL de uma solução PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7) contendo $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ na presença de agitação magnética. Inicialmente,

os eletrodos foram polarizados a 0,00 V por 60 min, para que houvesse estabilização da corrente residual. Posteriormente, foram adicionadas sucessivas alíquotas de 4 μL de glicose $2,5 \times 10^{-1} \text{ mmol L}^{-1}$. Nessas condições, cada adição correspondeu a um incremento de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na concentração de H_2O_2 . A solução estoque de glicose também foi preparada com PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7) e, antes de sua utilização, a mesma permaneceu por 12 h a $+4^\circ\text{C}$ para que ocorresse o equilíbrio entre as formas α e β da D-glicose.

Esse procedimento também foi aplicado nos biossensores de glicose construídos com o CuHCNFe/Ppy-460nm. Entretanto, foram realizadas sucessivas adições de $2,5 \mu\text{L}$ de glicose $2,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. Cada adição correspondeu a um incremento de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na concentração da glicose.

A cronoamperometria também foi utilizada nos experimentos de detecção de colina. Para tal o eletrodo de CuHCNFe/Ppy-460nm que continha a COx foi imerso em 5 mL de uma solução de NaCl $5,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ preparada com PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7). A solução foi agitada magneticamente durante o experimento. Inicialmente, o sistema foi mantido a 0,00 V até a estabilização da corrente residual (60 min). Após esse período, o sistema continuou mantido no mesmo potencial enquanto foram realizadas sucessivas adições de 10 μL de cloreto de colina $1,25 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Cada adição correspondeu a um incremento de $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ na concentração de colina. Esse mesmo procedimento também foi aplicado no biossensor de colina formado a partir do $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ modificado com 5 camadas de azul da Prússia.

4. Resultados e discussão

A síntese do mediador híbrido inorgânico/orgânico de CuHCNFe/Ppy foi realizada através de duas etapas eletroquímicas que envolveram o uso da voltametria cíclica. A primeira etapa eletroquímica consistiu na formação de um filme de Ppy dopado com íons $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. A formação do filme polimérico foi acompanhada através do uso de uma MECQ, capaz de monitorar variações de massa na interface eletrodo/solução. [118] A técnica faz uso do efeito piezoelétrico reverso, onde um campo elétrico alternado com características adequadas de amplitude e frequência é aplicado sobre um cristal de quartzo. Como consequência desse efeito, o cristal de quartzo é capaz de oscilar em seu modo de cisalhamento (perpendicularmente ao campo elétrico). No presente caso, para induzir a oscilação mecânica, um campo elétrico alternado foi aplicado entre dois depósitos metálicos de ouro que revestiam parte das duas faces do cristal de quartzo. Durante a deposição do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ /Ppy, um dos depósitos de ouro foi colocado em contato com a solução de deposição e atuou também como eletrodo de trabalho. Consequentemente, as variações de massa produzidas pela reação redox puderam ser observadas através das variações de frequência da oscilação do cristal, conforme descrito pela equação de Sauerbrey (Equação 1).

$$\Delta f = - \left(\frac{2f_0^2}{A\sqrt{\mu_c\rho_c}} \right) \Delta m$$

Equação 1 – Equação de Sauerbrey, onde Δf é a variação da frequência de ressonância (Hz), A é a área geométrica piezoeletricamente ativa (cm^2), f_0 é a frequência fundamental do cristal de quartzo (Hz), μ_c é o módulo de cisalhamento ($\text{g cm}^{-1} \text{s}^{-2}$), ρ_c é a densidade do quartzo (g cm^{-3}) e Δm é a variação de massa (g).

A Figura 10A apresenta os perfis j/E obtidos durante a deposição do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ /Ppy, ou seja, durante a realização da primeira etapa eletroquímica envolvida na síntese do mediador.

Já a Figura 10B traz o perfil $\Delta m/t$ calculado pela Equação 1 através dos experimentos *in situ* realizados com a MECQ.

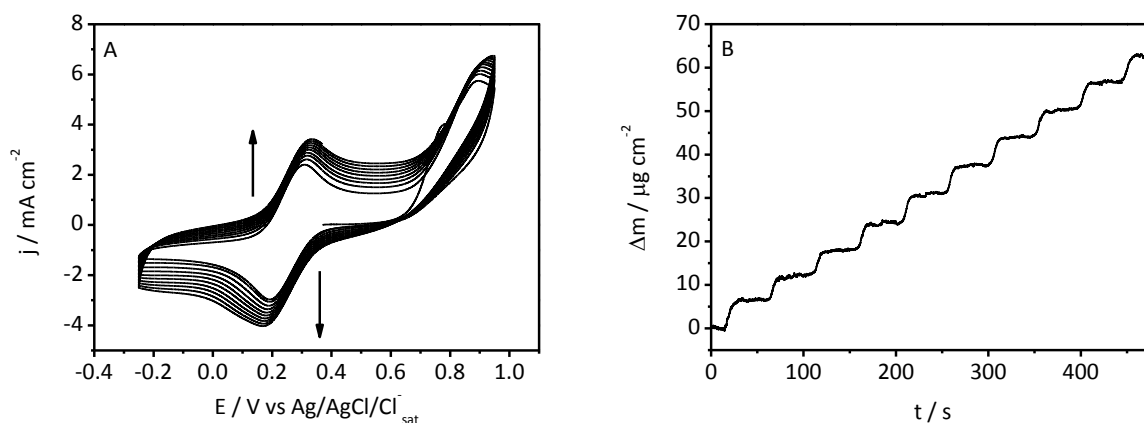


Figura 10 – (A) Perfis j/E obtidos durante a síntese do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Ppy}$. Solução de deposição contém $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ + pirrol $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$ + KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (B) Perfil $\Delta m/t$ obtido durante a realização da primeira etapa eletroquímica de deposição do mediador.

A Figura 10A apresenta um aumento da densidade de corrente conforme a ciclagem na região próxima a $+0,60 \text{ V}$, uma vez que nesse potencial existe a polimerização do pirrol. O aumento da quantidade de polímero presente no eletrodo em função do aumento do número de ciclos é ratificado pela variação de massa obtida na Figura 10B. Pelo comportamento linear da curva, é possível afirmar que quantidades similares de Ppy são depositadas por ciclo. Além disso, também é possível observar na Figura 10A que existe um aumento no valor de corrente de pico anódico (I_{pa}) situado a $+0,33\text{V}$ e no valor de corrente de pico catódico (I_{pc}) localizado a $+0,18\text{V}$. A Figura 10B também mostra que o crescimento do PPy não é contínuo, sendo possível visualizar patamares durante a ciclagem onde a variação de

massa não é significativa. Esse comportamento pode ser entendido em função do mecanismo de polimerização do pirrol, conforme apresentado na Figura 11.

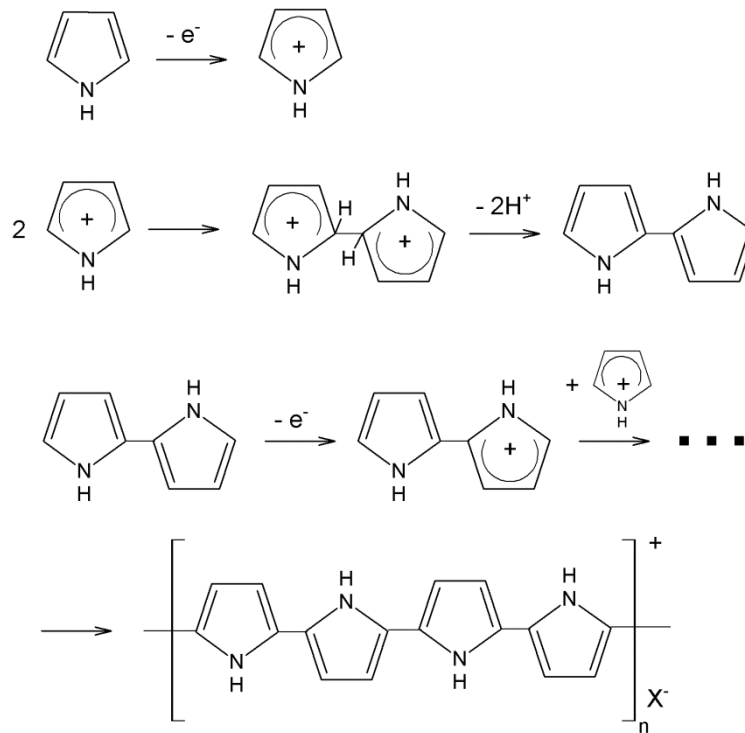


Figura 11 – Mecanismo de polimerização do pirrol, onde X^- é o ânion dopante. Mecanismo extraído de De Paoli e col. [119]

Pelo mecanismo, é possível notar que cada acoplamento de monômero à cadeia polimérica envolve uma oxidação e, portanto, o aumento de massa monitorado na Figura 10B ocorre apenas quando a voltametria cíclica se encontra em regiões de potencial onde a estrutura polimérica é passível de oxidação. Além disso, a carga positiva apresentada pela estrutura polimérica possibilita a inserção de íons negativos capazes de dopar o polímero e realizar o balanço de carga. A solução de deposição utilizada na primeira etapa eletroquímica contém, além do pirrol, $K_3Fe(CN)_6$ e KCl , o que faz com que tanto os ânions Cl^- quanto os $Fe(CN)_6^{3-}$ possam desempenhar esse papel. Portanto, o par redox localizado entre +0,10 e +0,40V na Figura 10A é atribuído ao sistema $Fe^{II}(CN)_6^{4-}/Fe^{III}(CN)_6^{3-}$ e, conforme se aumenta

a quantidade de Ppy depositado, mais contra-íons são necessários para a dopagem do polímero.

Antes de se avançar para a segunda etapa eletroquímica envolvida na formação do CuHCNFe/Ppy, uma observação importante deve ser feita a respeito da Figura 10B. Para se empregar a Equação de Sauerbrey no cálculo da variação de massa, o filme deve estar rigidamente ligado ao sistema, de tal maneira que não ocorra perda de energia durante o processo de oscilação do composto estudado sobre o eletrodo de ouro. Essa perda de energia pode ser medida, durante a realização do experimento, através do monitoramento do fator de dissipação. Para tal, a MECQ com análise de dissipação (MECQ-D) é capaz de aplicar um pulso de potencial sobre o quartzo e monitorar durante 2 ms, tanto para a frequência de ressonância fundamental quanto para seus harmônicos, como a onda de cisalhamento se dissipa com o tempo. O cálculo do fator de dissipação é apresentado na Equação 2. Uma vez que filmes oscilando rigidamente junto ao eletrodo da MECQ-D não possuem valores significativos de $E_{dissipada}$ durante o período de 2 ms, o valor do fator de dissipação tende a zero para os sistemas passíveis de serem trabalhados de acordo com a Equação de Sauerbrey.

[120]

$$D = \frac{E_{dissipada}}{2\pi E_{armazenada}}$$

Equação 2 – Equação que descreve o fator de dissipação D em função das energias dissipadas e armazenadas durante o período de 2 ms após a aplicação do pulso de potencial que ocasiona a oscilação do sistema no modo de cisalhamento.

A Figura 12 apresenta os perfis $\Delta f/t$ e $\Delta D/t$ obtidos durante a polimerização do pirrol, onde duas informações importantes podem ser realçadas. A primeira delas, conforme já discutido, está relacionada com a oscilação rígida da malha polimérica sobre o eletrodo e

valida a construção dos perfis $\Delta m/t$ utilizando a Equação de Sauerbrey. A segunda observação importante está relacionada com os perfis similares observados para a frequência fundamental e para todos os harmônicos monitorados, o que está relacionado com a homogeneidade do filme depositado por toda a área piezoelectricamente ativa.

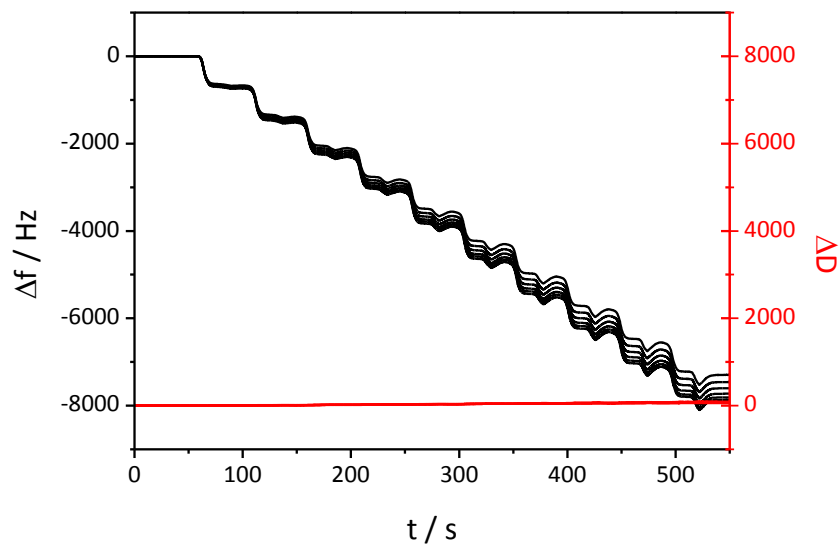


Figura 12 – Perfis $\Delta f/t$ e $\Delta D/t$ obtidos durante a formação do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Ppy}$. As curvas em preto são referentes à frequência fundamental e à série de frequências harmônicas. Já as curvas em vermelho são referentes ao fator de dissipação para cada uma das frequências monitoradas.

A segunda etapa eletroquímica consistiu em mergulhar o eletrodo modificado com $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Ppy}$ em uma solução contendo CuCl_2 e KCl por 2 h. Esse tempo é importante para permitir que os íons Cu^{2+} se difundam por toda a malha polimérica antes de se realizar a deposição eletroquímica. Após esse período, voltametrias cíclicas foram realizadas nessa mesma solução e os perfis j/E e $\Delta m/t$ obtidos *in situ* com a MECQ são apresentados na Figura 13.

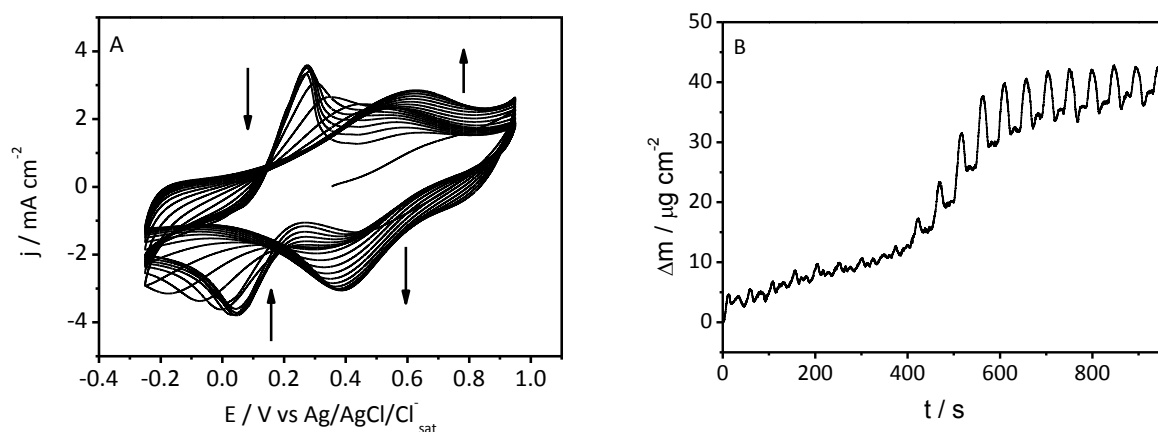


Figura 13 - (A) Perfis j/E obtidos durante a segunda voltametria cíclica envolvida na síntese do CuHCNFe/Ppy. Solução de deposição contém CuCl_2 $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (B) Perfil $\Delta m/t$ obtido durante a realização da segunda etapa eletroquímica de deposição do mediador.

A Figura 13A apresenta um processo redox entre $-0,10$ e $+0,30 \text{ V}$, cujos valores de I_{pa} e I_{pc} diminuem lentamente conforme as primeiras ciclagens. Esse efeito é acompanhado, concomitantemente, pelo aumento dos valores de I_{pa} e I_{pc} do processo redox situado entre $+0,30$ e $+0,70 \text{ V}$ e pelo aumento de massa monitorado pela MECQ entre 0 e 400 s . Após esse período, é possível observar na Figura 13B um aumento de massa mais pronunciado entre 400 e 600 s , acompanhado por uma queda mais acentuada do processo redox situado entre $-0,10$ e $+0,30 \text{ V}$ e pelo favorecimento do processo localizado entre $+0,30$ e $+0,70 \text{ V}$. De fato, o processo redox situado nas regiões mais baixas de potencial, a partir de 400 s , fica cada vez mais desfavorecido e passa a apresentar valores de $E_{pa} - E_{pc}$ maiores do que os obtidos até esse tempo. Por fim, após 600 s , é possível notar na Figura 13B que existe uma tendência de estabilização da massa de mediador depositado. Essa tendência é acompanhada pelo completo desaparecimento do processo redox situado entre $-0,10$ e $+0,30 \text{ V}$ e pela estabilização dos valores de I_{pa} e I_{pc} do processo redox localizado entre $+0,30$ e $+0,70 \text{ V}$.

O processo redox entre -0,10 e +0,30 V corresponde ao par redox $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6^{3-}$ que atua como dopante do Ppy. Já o processo localizado entre +0,30 e +0,70 V é atribuído tanto à oxidação e redução do próprio polímero, o que ocasiona o alargamento dos picos, quanto à oxidação e redução do hexacianoferrato de cobre localizado na matriz polimérica. Conseqüentemente, existe um desaparecimento do processo redox entre -0,10 e +0,30 V em função do consumo dos íons ferrocianeto/ferricianeto e um favorecimento do processo redox entre +0,30 e +0,70 V por causa da formação do CuHCNFe/Ppy. A síntese do mediador híbrido termina por completo quando não existem mais íons $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6^{3-}$ livres dopando o polímero, o que ocasiona a estabilização da massa na Figura 13B e a dos valores de I_{pa} e I_{pc} entre +0,30 e +0,70 V na Figura 13A. Na Figura 13B, também é possível notar que conforme se aumenta a quantidade de CuHCNFe/Ppy depositado, existe o aparecimento de picos ocasionados pelo aumento e pela diminuição de massa dentro do mesmo ciclo voltamétrico. Esses picos aparecem em função da entrada e saída de contra-íons necessários para a compensação de carga entre a forma reduzida e oxidada do CuHCNFe/Ppy.

Após a síntese do CuHCNFe/Ppy, o mediador teve sua eletroatividade monitorada em meios contendo cátions Na^+ e H^+ , ambos capazes de bloquear a atividade do azul da Prússia. Para tal, a Figura 14A apresenta os perfis j/E obtidos por voltametrias cíclicas realizadas com diferentes velocidades de varredura, onde é possível observar o processo redox referente à oxidação e redução do composto híbrido. A Figura 14B apresenta a dependência linear entre os valores de I_{pa} e I_{pc} em função da velocidade de varredura. Esse fenômeno pode estar relacionado tanto às compensações de carga que ocorrem apenas nas regiões mais superficiais do filme quanto ao comportamento característico de filmes de camada muito fina.

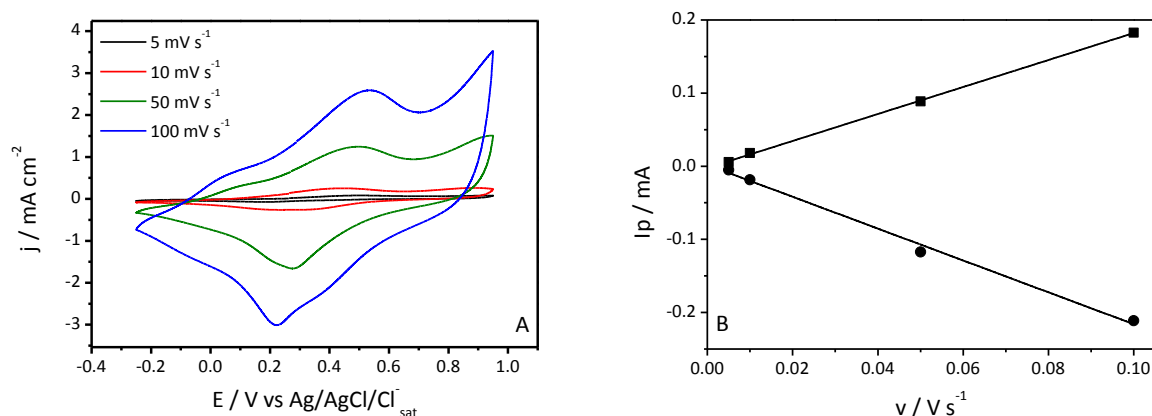


Figura 14 – (A) Perfis j/E obtidos com o CuHCNFe/Ppy à diferentes velocidades de varredura em uma solução contendo NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Dependência de I_{pa} e I_{pc} em função da velocidade de varredura.

Conforme discutido no processo de síntese, os picos de oxidação e redução apresentam influência tanto do componente inorgânico quanto do orgânico que constituem o mediador híbrido. No caso do CuHCNFe, é importante ressaltar que tanto os átomos de Fe quanto os de Cu podem trabalhar como sítios aceptores/doadores de elétrons. Para se obter informações a respeito do estado eletrônico dos átomos evidenciados [121,122], foram realizados experimentos de espectroscopia de alta resolução da borda K de absorção (XANES) tanto para o CuHCNFe quanto para o híbrido CuHCNFe/Ppy. As Figuras 15A e 15B apresentam o espectro obtido *in situ* para o CuHCNFe em diferentes potenciais aplicados monitorando-se a linha do Fe. Já a Figura 15C e 15D apresentam os resultados obtidos através da utilização da linha do Cu.

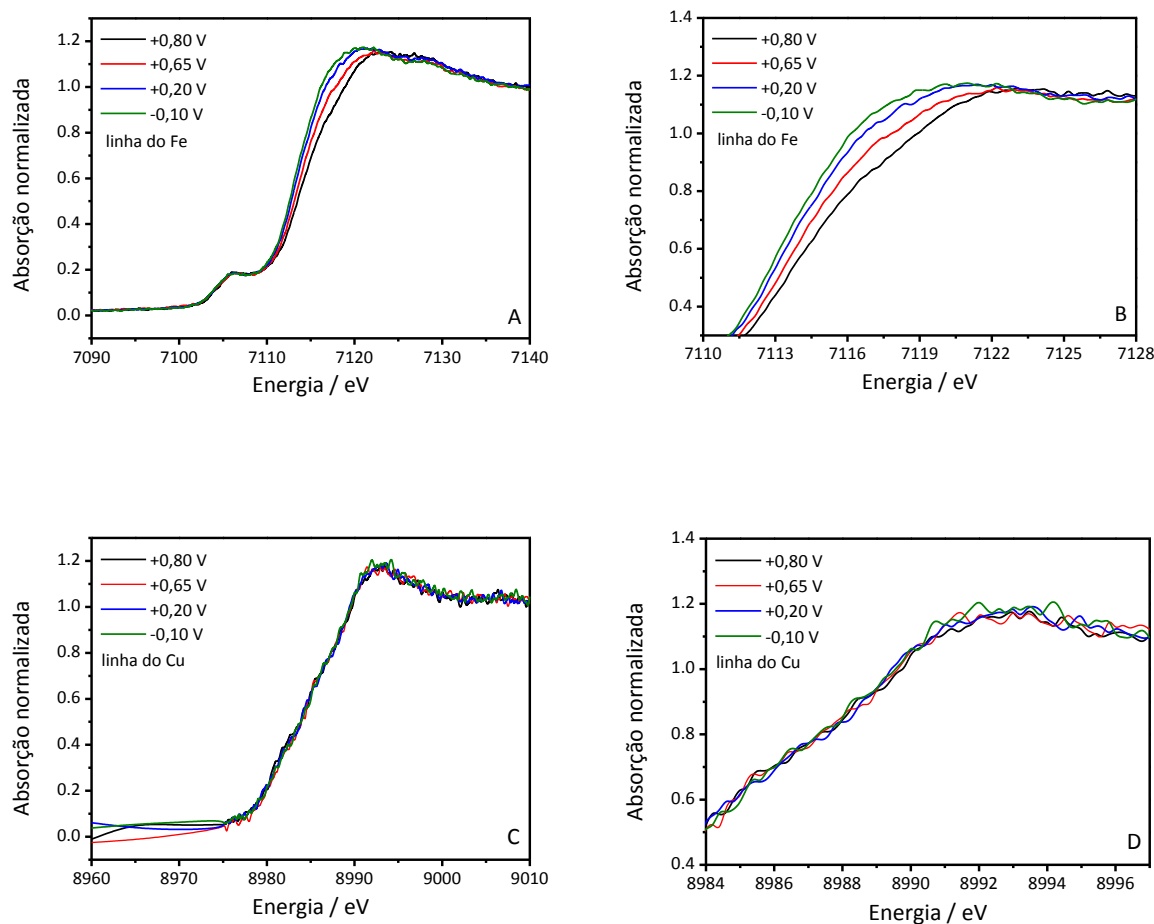


Figura 15 – (A) Espectros XANES obtidos na região da borda K do Fe para o CuHCNFe na ausência do Ppy. (B) Espectro ampliado da Figura A. (C) Espectros XANES obtidos s na região da borda K do Cu para o CuHCNFe na ausência do Ppy. (D) Espectro ampliado da

Figura C.

O monitoramento através dos espectros da alteração do estado de oxidação do Fe e do Cu em função do potencial aplicado pode ser realizado através da observação da energia onde a máxima absorbância é alcançada. Essa energia pode ser obtida derivando-se os espectros apresentados nas Figuras 15A e 15C, observando o valor onde a derivada vale zero. Os resultados obtidos para a linha do Fe e do Cu estão apresentados nas Figuras 16A e 16B, respectivamente.

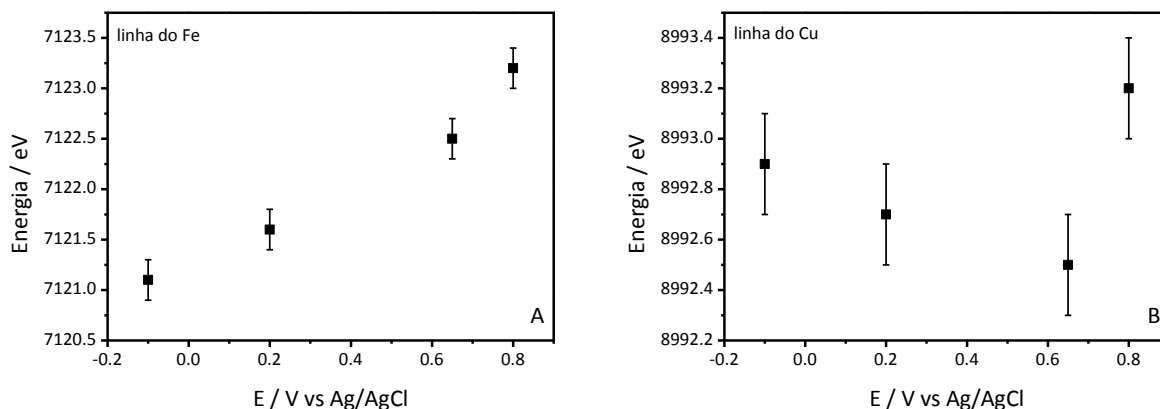


Figura 16 – Variação da energia necessária para a obtenção do máximo de absorção na região da borda K do (A) Fe e (B) Cu em função do potencial aplicado em um filme de CuHCNFe na ausência do Ppy. Erro do equipamento especificado como ± 0.2 eV.

Pela Figura 16A, é possível perceber que, no caso dos átomos de Fe, existe um aumento da energia necessária para se obter o máximo de absorção em função do aumento do potencial aplicado, sendo que o valor de $E_{+0,80V} - E_{-0,10V} = 2,1$ eV. Já a Figura 16B apresenta um valor de $E_{+0,80V} - E_{-0,10V} = 0,3$ eV e, ao se comparar as barras de erro, é possível afirmar que, no caso do Cu, não existe diferença significativa na energia de máxima absorção dentro dos diferentes potenciais aplicados. Esse resultado permite inferir que, na ausência do Ppy, a espécie que apresenta variação mais significativa do estado de oxidação dentro da janela eletroquímica considerada é o Fe. Essa conclusão é coerente com o fato de que é necessária uma energia maior para se remover um elétron da camada K dos átomos de Fe com maior número de oxidação. No caso do Cu, como a energia é similar para todos os potenciais, é possível inferir que o estado de oxidação permanece constante.

Entretanto, no presente caso, o mediador é formado pela introdução do CuHCNFe dentro da matriz polimérica do Ppy, criando um material híbrido cuja voltametria, apresentada na Figura 14A não é simplesmente a somatória dos perfis j/E dos dois componentes individuais.

Portanto, para efeitos comparativos, a Figura 17 apresenta os espectros XANES obtidos nas regiões da borda K do Fe (Figura 17A e 17B) e do Cu (Figura 17C e 17D) para o CuHCNFe/Ppy.

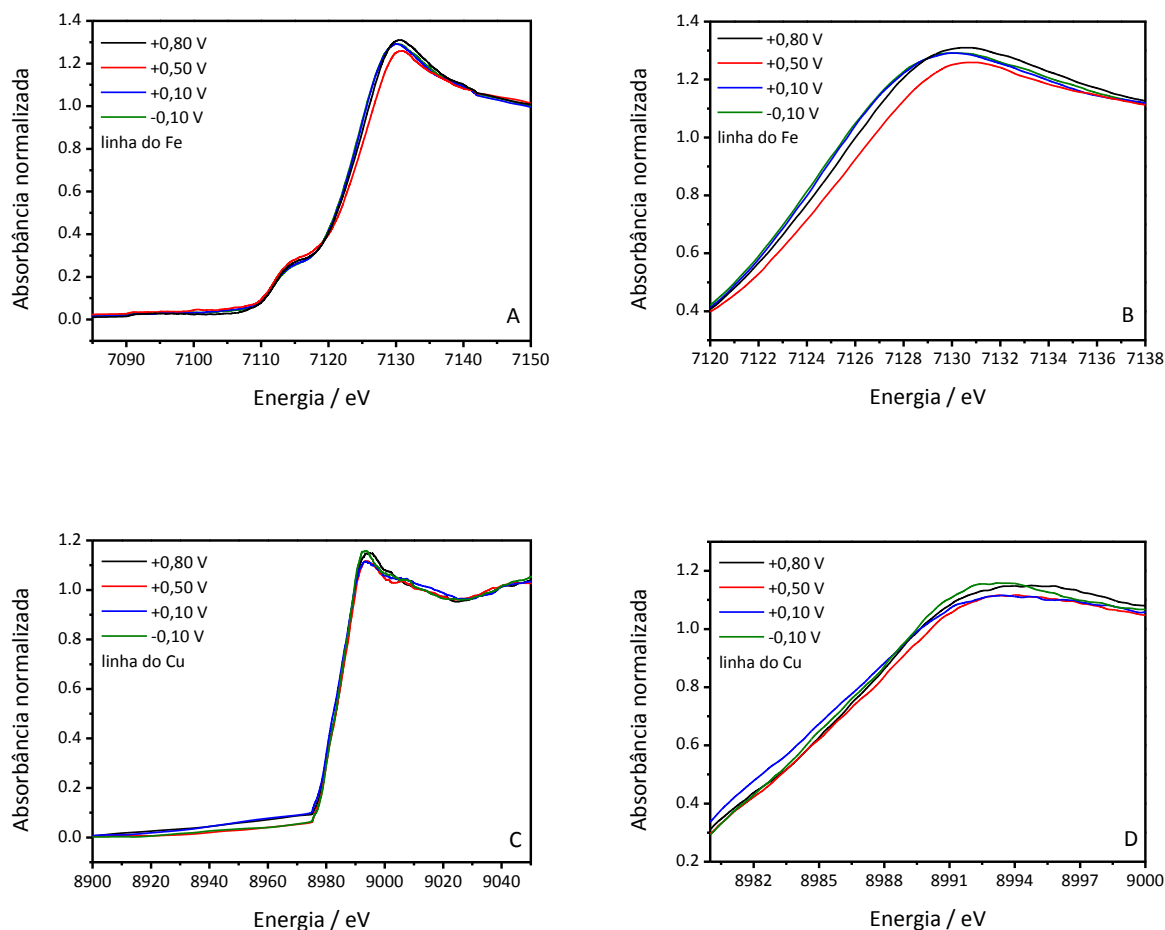


Figura 17 - (A) Espectros XANES obtidos na região da borda K do Fe para o CuHCNFe/Ppy. (B) Espectro ampliado da Figura A. (C) Espectros XANES obtidos s na região da borda K do Cu para o CuHCNFe/Ppy. (D) Espectro ampliado da Figura C.

A comparação entre a variação da energia onde a absorção foi máxima em função dos potenciais aplicados também foi realizada para o CuHCNFe sintetizado na matriz do Ppy. Os

resultados obtidos para a linha do Fe e do Cu estão apresentados nas Figuras 18A e 18B, respectivamente.

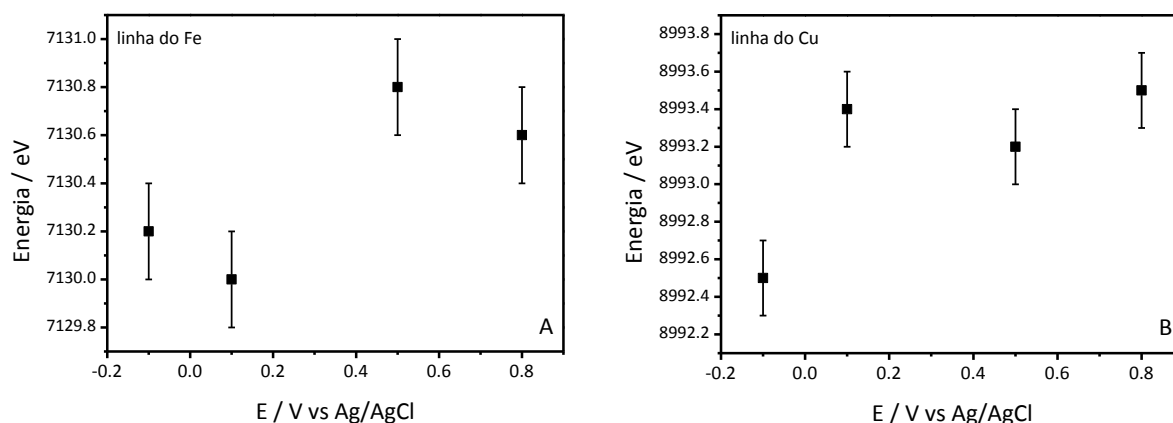


Figura 18 - Variação da energia necessária para a obtenção do máximo de absorção na região da borda K do (A) Fe e (B) Cu em função do potencial aplicado em um filme de CuHCNFe/Ppy. Erro do equipamento especificado como ± 0.2 eV.

Pela Figura 18A, é possível perceber que, no caso dos átomos de Fe, também existe um aumento da energia necessária para se obter o máximo de absorção em função do aumento do potencial aplicado. Entretanto, o valor de $E_{+0,80V} - E_{-0,10V} = 0,4$ eV é bastante inferior ao valor de 2,1 eV obtido para o CuHCNFe na ausência do Ppy. Além disso, a Figura 18B apresenta um valor de $E_{+0,80V} - E_{-0,10V} = 1,0$ eV, o qual é consideravelmente superior ao valor de 0,3 eV obtido para o Cu na ausência do Ppy. Esse resultado é interessante porque sugere a existência de uma interação eletrônica entre o CuHCNFe e o Ppy. Tal interação parece ser mais acentuada com o Fe, uma vez que a presença do polímero condutor diminui de maneira considerável a variação do número de oxidação dessa espécie em função do potencial aplicado. Já o Cu, na presença do Ppy, apresenta uma variação do número de oxidação mais acentuada do que na ausência do mesmo.

Ou seja, os estudos de XANES indicam que o Fe é a espécie que sofre mudanças no estado de oxidação quando uma voltametria cíclica é realizada com o CuHCNFe na ausência do Ppy. Já na presença do polímero condutor, tanto o Fe quanto o Cu apresentam mudanças no estado de oxidação. Entretanto, os resultados indicam que essa mudança passa a ser mais acentuada nos átomos de Cu, o que é um importante indicio de que o mediador híbrido apresenta propriedades de um compósito. Vale ressaltar que o perfil voltamétrico do CuHCNFe na ausência do Ppy apresenta um par redox em potenciais mais elevados que o CuHCNFe/Ppy.

Após a caracterização do CuHCNFe/Ppy e a verificação de que o mediador híbrido apresentou atividade eletroquímica em meios contendo cátions onde o azul da Prússia não é capaz de operar, o material teve suas propriedades eletrocatalíticas testadas frente à redução do H_2O_2 . Para tal, o eletrodo modificado com CuHCNFe/Ppy foi submetido a um pré-tratamento onde um potencial de +0,60V foi aplicado durante 10 min e, após esse período, foi realizada uma voltametria linear até -0,40 V. Esse experimento foi repetido na presença de crescentes concentrações de H_2O_2 . O resultado é apresentado na Figura 19.

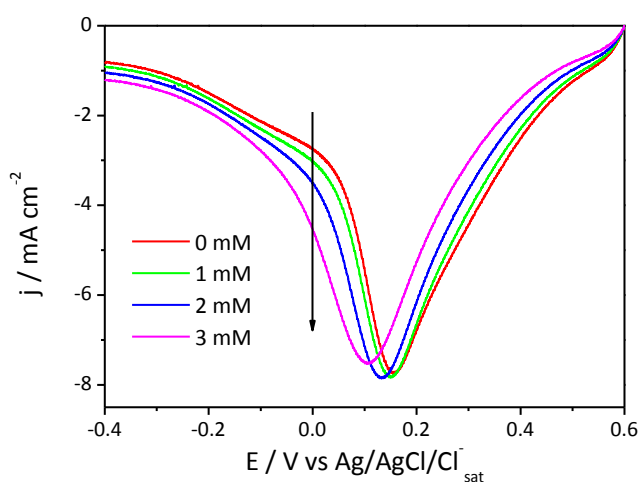


Figura 19 – Voltametria linear realizada com o CuHCNFe/Ppy em $NaCl\ 1,0 \times 10^{-1}\ mol\ L^{-1}$ + $HCl\ 1,0 \times 10^{-1}\ mol\ L^{-1}$ na presença de diferentes concentrações de H_2O_2 . Velocidade de varredura = $200\ mV\ s^{-1}$.

Pela Figura 19, é possível notar que existe um aumento mais acentuado na corrente catódica em 0,00 V quando a voltametria é realizada na presença de diferentes concentrações de H_2O_2 . Esse aumento existe porque, no potencial considerado, o mediador se encontra em sua forma reduzida e é capaz de se oxidar reduzindo quimicamente o H_2O_2 a H_2O . Após essa interação, o mediador se encontra na forma oxidada, mas como o sistema se encontra polarizado a 0,00 V, a forma oxidada do CuHCNFe/Ppy é reduzida eletroquimicamente na superfície do eletrodo, aumentando a corrente catódica em comparação à obtida na ausência do analito. Esse efeito passa a ser mais pronunciado conforme se aumenta a quantidade de H_2O_2 presente no meio. Um esquema ilustrativo é apresentado na Figura 20.

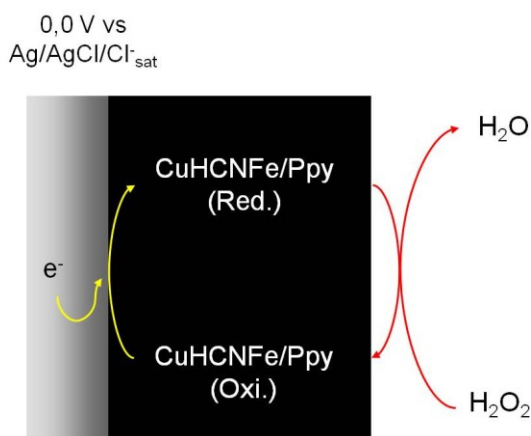


Figura 20 – Ilustração esquemática do processo de redução do H_2O_2 por parte do CuHCNFe/Ppy.

O experimento apresentado na Figura 19 foi importante para determinar qual seria o melhor potencial para polarizar o eletrodo durante os experimentos de detecção de H_2O_2 por cronoamperometria, cujo resultado está apresentado na Figura 21A. Já a Figura 21B traz a curva analítica que relaciona os valores de $j-j_0$ obtidos em função da variação da concentração de H_2O_2 .

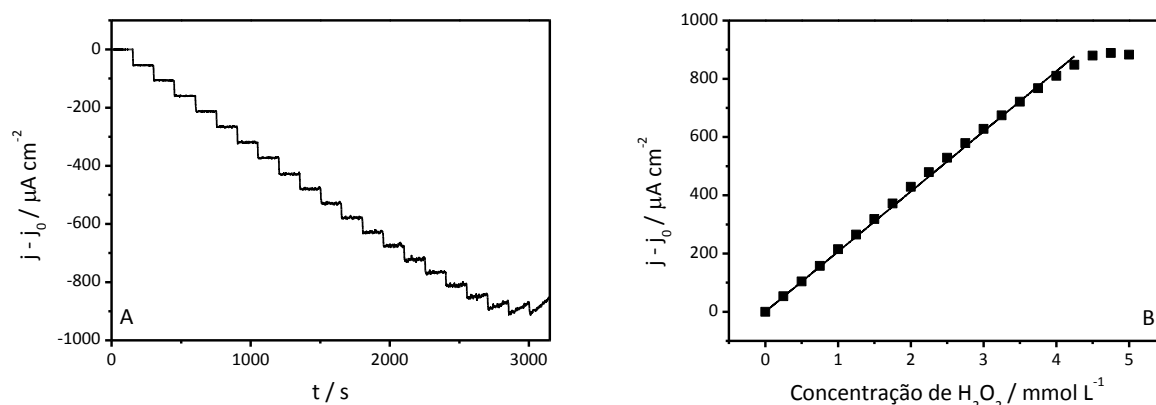


Figura 21 – (A) Cronoamperograma obtido com o CuHCNFe/Ppy durante a adição de alíquotas de 5 μL de H_2O_2 $2,5 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $E = 0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$ (B) Curva analítica construída através da variação de corrente observada durante as adições de alíquotas de $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

O valor de sensibilidade obtido para o CuHCNFe/Ppy através da Figura 21B foi de $(198 \pm 6) \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$, com limite de detecção de $(1,9 \pm 0,1) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade), faixa linear até $(4,0 \pm 0,2) \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e tempo de resposta de $(3,5 \pm 0,7) \text{ s}$ (90% da variação da corrente). Número de amostras = 3. Do ponto de vista analítico, é possível encontrar trabalhos na literatura que reportam uma sensibilidade de $(6 \pm 1) \times 10^2 \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$ e um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ para detecções de H_2O_2 com eletrodos modificados com azul da Prússia. [22] Tal fato ainda caracteriza o azul da Prússia como o mediador de melhor desempenho analítico para o sensoriamento de H_2O_2 . Entretanto, o presente sensor apresentou atividade eletroquímica em meios contendo apenas cátions Na^+ e H^+ , o que torna o CuHCNFe/Ppy uma alternativa bastante interessante para a utilização de um eletrodo capaz de operar em meios contendo cátions que bloqueiam a atividade eletroquímica do azul da Prússia.

Ainda no que se refere a trabalhos publicados na literatura envolvendo a modificação de eletrodos com azul da Prússia, é possível encontrar a utilização da miniaturização desse mediador para a escala micro e nano com o intuito de se otimizar as propriedades analíticas desse material. A utilização de ultramicroeletrodos modificados com azul da Prússia tem possibilitado a obtenção de sensores de H_2O_2 com sensibilidades de $(4,4 \pm 0,4) \times 10^3 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. [22] Já a utilização de micelas de surfactante em fase hexagonal tem possibilitado a síntese de nanoestruturas de azul da Prússia capazes de operar com um limite de detecção de $1,0 \times 10^{-8} \text{mol L}^{-1}$ durante o sensoriamento do H_2O_2 . [22]

Portanto, assim como a nanociência possibilitou a síntese de nanomateriais capazes de melhorar a performance analítica do azul da Prússia, o presente trabalho tem como objetivo sintetizar e caracterizar nanoestruturas do CuHCNFe/Ppy , bem como comparar o desempenho analítico desses nanomateriais frente ao comportamento do CuHCNFe/Ppy maciço. Por fim, o trabalho apresenta o intuito de discutir quais são as características dos materiais nanoestruturados importantes para o desempenho do mediador, visando uma correlação entre morfologia e tamanho com a reatividade do mesmo.

Duas estratégias distintas surgem para a obtenção de nanoestruturas do CuHCNFe/Ppy , as quais abrangem a nanoestruturação do próprio mediador e a nanoestruturação inicial de um eletrodo para posterior modificação com o CuHCNFe/Ppy . Essa última é a estratégia abordada inicialmente no presente trabalho através da utilização de um feltro de microfibras de carbono revestidas por nanotubos de carbono.

Os resultados apresentados nessa seção tiveram a participação do aluno de Iniciação Científica Álann de Oliveira P. Bragatto. Além disso, esse trabalho foi desenvolvido em colaboração com a Dr^a. Tânia Machado Benedetti e com o Prof. Dr. Roberto M. Torresi, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo.

4.1. Feltro/NTCCS modificado com o CuHCNFe/Ppy

O substrato micro/nanoestruturado utilizado como eletrodo de trabalho para a síntese do CuHCNFe/Ppy consiste em um feltro de microfibras de carbono revestidas por nanotubos de carbono do tipo “*cup-stacked*” (feltro/NTCCS) com diâmetros entre 20 e 60 nm. Essa matriz tridimensional é condutora eletrônica, apresentando baixa impedância, resistência mecânica e estabilidade térmica. [123] A Figura 22A apresenta uma imagem obtida com uma câmera digital de um feltro/NTCCS com dimensões de 5 x 5 mm e espessura de 1 mm. Já a Figura 22B mostra uma imagem em baixa magnificação do feltro/NTCCS caracterizado por MEV, onde é possível observar as microfibras de carbono que servem como base para o crescimento dos NTCCS.

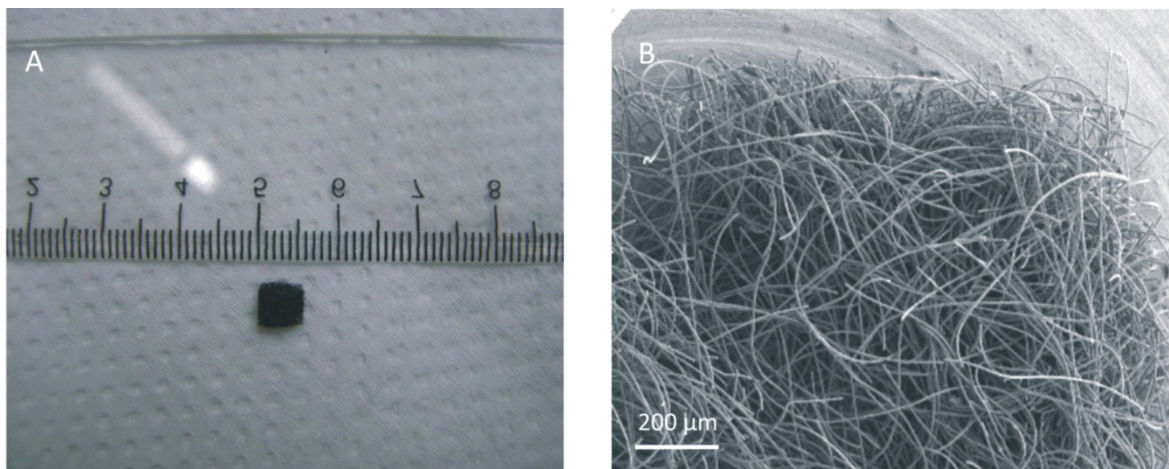


Figura 22 – (A) Imagem do feltro/NTC (5 x 5 mm no plano xy e 1 mm no eixo z) obtida com uma câmera digital. (B) Imagem de MEV em baixa magnificação do feltro/NTCCS.

Após a síntese dos NTCCS sobre as microfibras de carbono, o feltro/NTCCS foi caracterizado por MEV e as imagens de uma das fibras com diferentes magnificações estão apresentadas nas Figuras 23A e 23B. Para fins comparativos, as Figuras 23C e 23D apresentam imagens obtidas com um feltro que não foi revestido por NTCs.

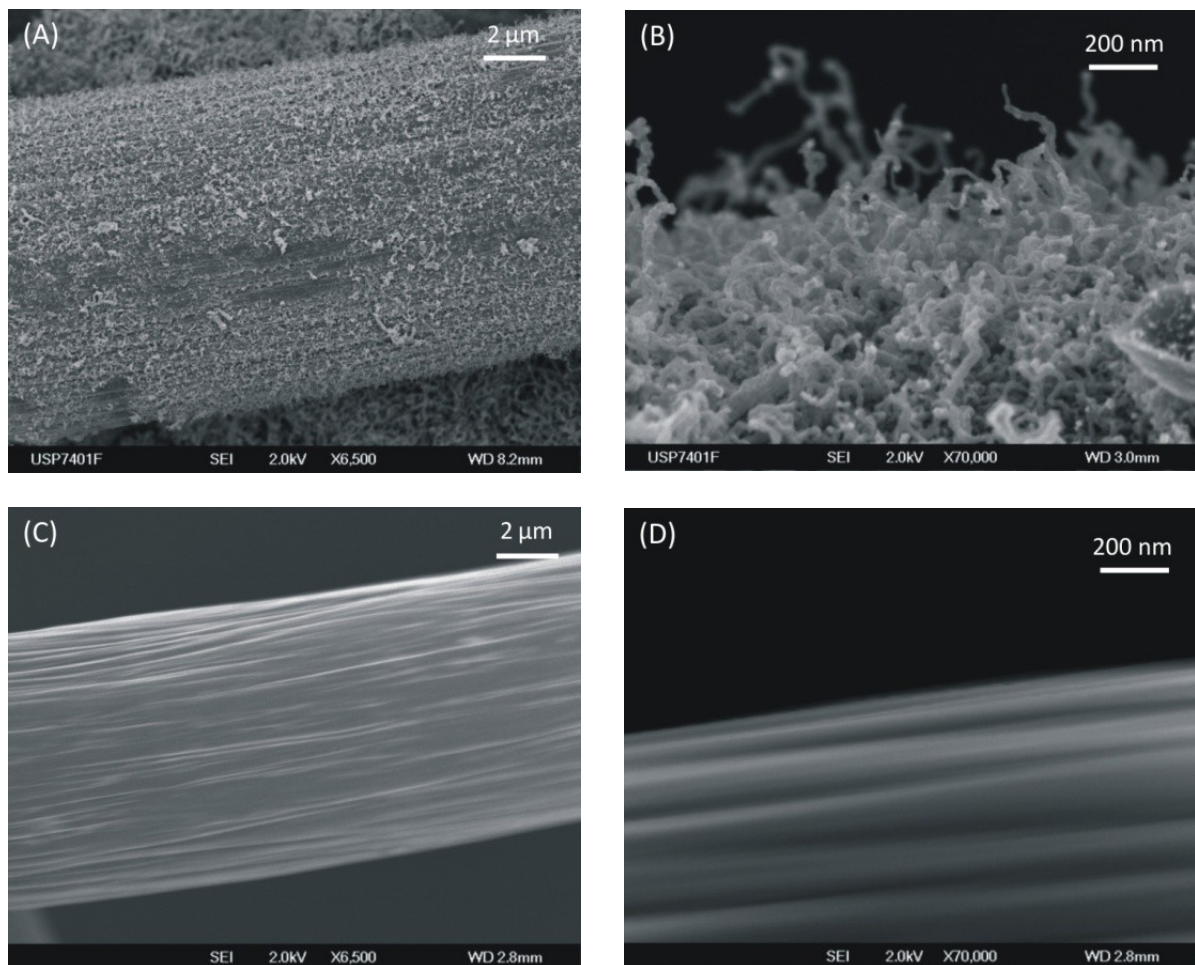


Figura 23 – (A) Imagem de MEV de uma das fibras do eletrodo feltro/NTCCS. (B) Imagem de MEV dos NTCCS que estão revestindo as microfibras de carbono. (C) Imagem de MEV de uma fibra de carbono não revestida por NTCs. (D) Imagem de MEV em alta magnificação da fibra de carbono não revestida por NTCs.

A Figura 23 apresenta uma comparação direta entre as microfibras de carbono com e sem o revestimento dos NTCs. A comparação entre as Figuras 23A e 23C permite observar que o revestimento é bastante uniforme por toda a microfibra. Já a comparação entre as Figuras 23B e 23D, além de situar as dimensões dos NTCCS, mostra que a microfibra de carbono que serve de base para o crescimento dos NTCCS é uma superfície lisa e livre de poros. Além

disso, é possível afirmar que não existe uma direção preferencial para o crescimento dos NTCCS, os quais crescem a partir da fibra e se espalham por todas as direções.

Portanto, o feltro/NTCCS é um eletrodo micro/nanoestruturado capaz de fornecer uma área eletroativa bastante superior à apresentada pelos eletrodos convencionais bidimensionais. [123] Além do aumento da área eletroativa, o tipo de NTC que reveste as microfibras é importante para o desempenho dos sensores resultantes. No presente caso, as condições experimentais empregadas no mecanismo de deposição química a vapor permitem o crescimento de NTCCS sobre as fibras, os quais consistem em folhas de grafeno em forma de cones de pontas abertas. Cada cone é empilhado sobre o outro e esta configuração é mantida por forças de van der Waals. Conseqüentemente, os NTCCS apresentam sítios de inserção no canal central e no espaçamento interplanar entre os cones, conforme esquematizado na Figura 24.

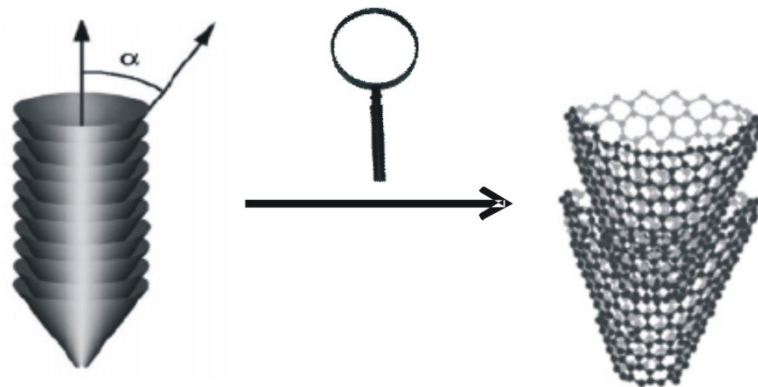


Figura 24 – Representação esquemática dos NTCCS. Imagens retiradas de See e col. [124] e Lee e col. [125]

Apesar dos NTCCS serem semicondutores [126], a utilização dos mesmos é interessante em função da quantidade de regiões de borda disponíveis e do caráter hidrofílico apresentado por eles, conforme destacado nos experimentos de ângulo de contato apresentados na Figura

25. A Figura 25A apresenta o comportamento obtido quando uma gota de água é posicionada sobre um feltro com NTCPM. Já a Figura 25B apresenta o resultado obtido quando uma gota de água é posicionada sobre o feltro com NTCCS.

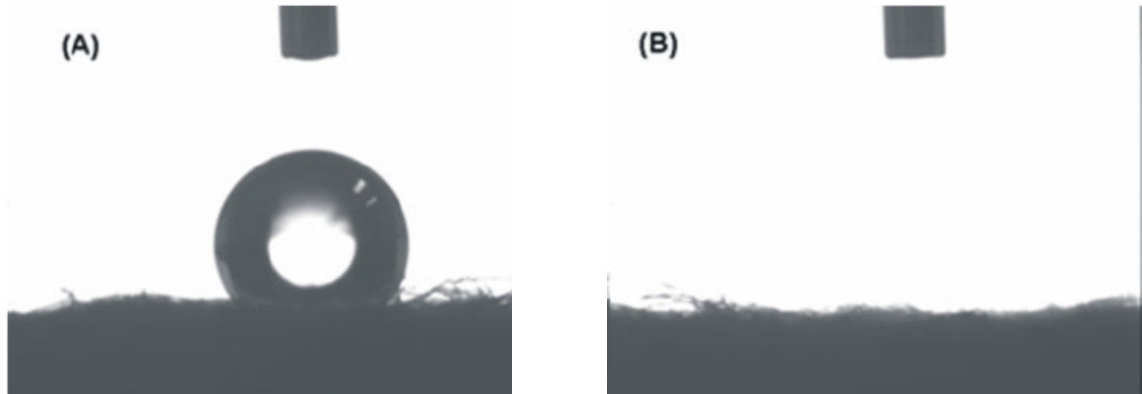


Figura 25 – Experimentos de ângulo de contato realizados através do posicionamento de uma gota de água sobre um feltro com microfibras de carbono revestidas por (A) NTCPM e (B) NTCCS. Imagem retirada de Matsubara, onde é possível perceber que a gota de água penetrou por completo apenas no feltro/NTCCS. [112]

As medidas de ângulo de contato na interface representada na Figura 25 dependem das propriedades dos três meios de contato, ou seja, dos NTCCS, da água e do ar. A região na qual essas três fases se encontram é denominada “linha de contato”, a qual está representada na Figura 26.



Figura 26 – Ângulo de contato θ de um líquido sobre um sólido em meio gasoso.

O ângulo de contato θ é definido, a partir da linha de contato, como o ângulo entre a tangente da interface líquido-gás e a tangente da interface líquido-sólido. Esse ângulo é determinado a partir de um balanço de forças resultante das tensões superficiais líquido-gás (σ_{lg}), líquido-sólido (σ_{ls}) e sólido-gás (σ_{sg}) e pode ser expresso através da Equação de Young. [127]

$$\cos\theta = \left(\frac{\sigma_{sg} - \sigma_{sl}}{\sigma_{lg}} \right)$$

Equação 3 – Equação de Young

Consequentemente, o aumento do valor de θ representa uma diminuição da área de contato entre o líquido e o sólido. Por outro lado, quando $\theta \rightarrow 0$, o líquido se espalha pela superfície do sólido. De maneira geral, quando uma gota de água é posicionada sobre a superfície de um material, ele pode ser caracterizado como hidrofílico se $\theta < 90^\circ$ e como hidrofóbico se $\theta > 90^\circ$. Pela Figura 25, é possível perceber que o feltro/NTCCS apresenta uma alta molhabilidade, o que não é característico dos feltros recobertos com NTCPM. Essa característica é bastante importante para se utilizar o feltro/NTCCS como eletrodo de trabalho para a deposição do CuHCNFe/PPy a partir de soluções aquosas. Como a plataforma

tridimensional é hidrofílica, ela pode permitir o acesso da solução aquosa utilizada na primeira etapa de deposição do mediador por toda a matriz de carbono, o que maximiza a utilização da sua área superficial.

As razões para o comportamento hidrofílico do feltro/NTCCS ainda estão sob investigação no grupo de pesquisa do Prof. Dr. José Maurício Rosolén. Entretanto, alguns resultados iniciais obtidos pela Dr^a. Elaine Y. Matsubara mostraram, através de experimentos de Espectroscopia no Infravermelho e de Análise Elementar, que o feltro/NTCCS apresentava nitrogênio em sua composição substituindo alguns átomos de carbono nas folhas de grafeno dos NTCCS. O nitrogênio provém do gás de arraste utilizado durante o processo de deposição química a vapor e pode ocasionar a criação tanto de grupos nitrogenados sp^2 nas regiões de borda quanto piridínicos no plano do grafeno.

A deposição do CuHCNFe/Ppy sobre o feltro/NTCCS ocorreu da mesma maneira descrita para o CuHCNFe/Ppy sobre o carbono vítreo. Ou seja, o feltro/NTCCS foi inicialmente modificado com uma matriz polimérica dopada com íons $Fe(CN)_6^{3-}$ e, posteriormente, íons Cu^{2+} foram inseridos em sua estrutura para formar o CuHCNFe/Ppy. Os perfis voltamétricos obtidos durante a síntese foram similares aos registrados quando o mediador híbrido foi depositado sobre o carbono vítreo, sendo adotada a mesma interpretação. O material feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy resultante foi caracterizado por MEV e as imagens obtidas são apresentadas na Figura 27.

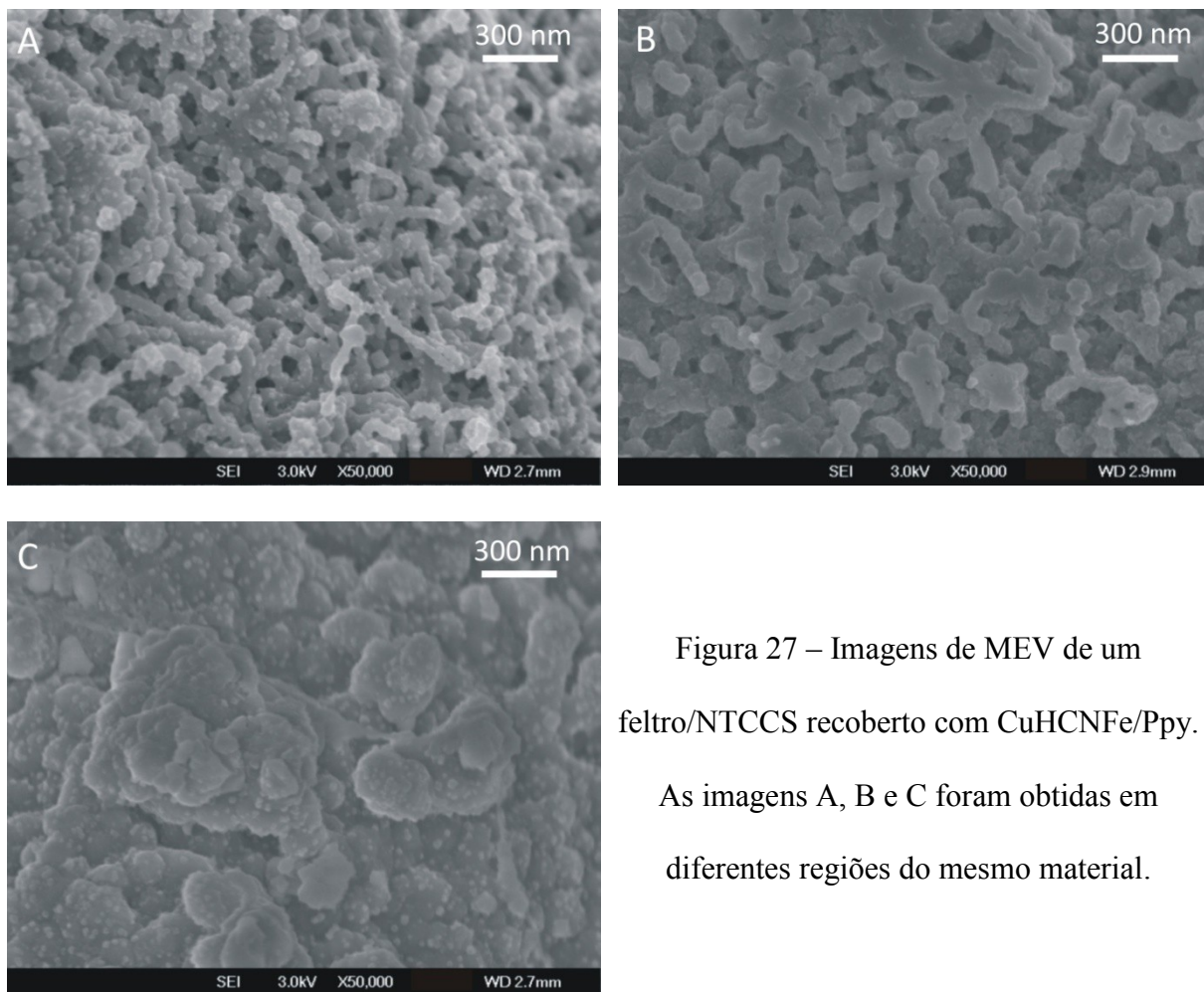


Figura 27 – Imagens de MEV de um feltro/NTCCS recoberto com CuHCNFe/Ppy. As imagens A, B e C foram obtidas em diferentes regiões do mesmo material.

As diferentes imagens apresentadas na Figura 27 correspondem ao mesmo feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy, sendo possível identificar NTCCS levemente recobertos pelo mediador (Figura 27A), NTCCS recoberto por uma camada mais espessa de mediador, mas ainda sendo possível identificar as estruturas tubulares (Figura 27B) e, por fim, NTCCS recobertos totalmente pelo CuHCNFe/Ppy (Figura 27C). Também é importante ressaltar que essas estruturas foram encontradas tanto nas fibras externas quanto nas fibras internas do feltro/NTCCS, o que é um indício da importância do caráter hidrofílico dos NTCCS para que a deposição ocorra por toda a matriz.

A Figura 28 apresenta o resultado obtido por Espectrometria de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) acoplado a um Microscópio Eletrônico de Varredura. O Espectro foi obtido

na região apresentada pela Figura 27C, uma vez que era possível encontrar uma maior quantidade de CuHCNFe/Ppy.

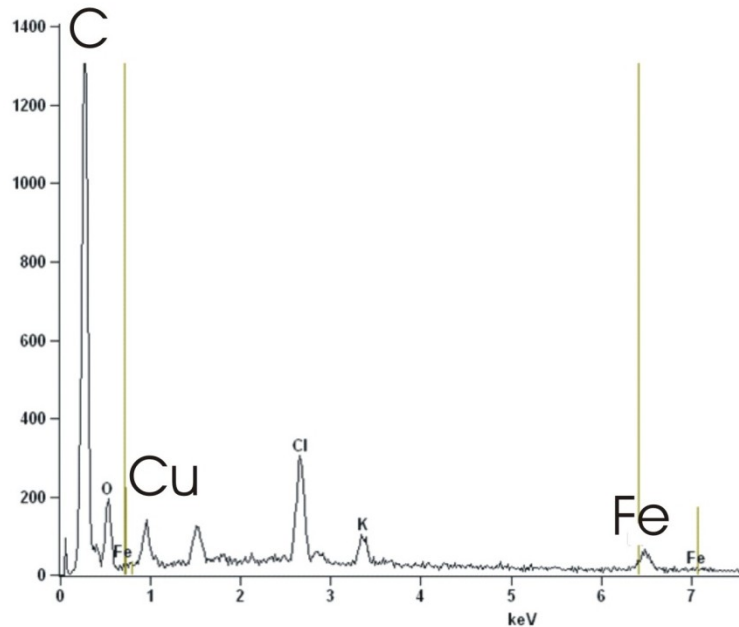


Figura 28 – Espectro EDS obtido através da análise do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy.

Pelo espectro, é possível notar que foram identificados os átomos metálicos que formam o mediador, no caso o Fe e o Cu. Já o carbono aparece em forma majoritária, uma vez que está presente na fibra, nos NTCCS, no Ppy e no próprio CuHCNFe. Os átomos de K e Cl estão, provavelmente, presentes na estrutura como contra-íons do balanço de carga entre a forma oxidada e reduzida do CuHCNFe/Ppy. Vale ressaltar que KCl foi adicionado como eletrólito nas duas soluções de deposição envolvendo a síntese do mediador híbrido. Por fim, também é possível observar a presença de átomos de O, uma vez que o tratamento ácido empregado para a remoção dos catalisadores utilizados no processo de crescimento dos NTCCS pode acarretar na oxidação das estruturas de carbono.

O espectro EDS mostra que foi possível encontrar átomos constituintes do mediador após

a modificação do feltro/NTCCS com CuHCNFe/Ppy. Entretanto, ainda observando a Figura 27C, é possível notar a presença de pequenas estruturas espalhadas por todo o material. Algumas dessas estruturas estão apresentadas na Figura 29A, a qual corresponde a uma imagem de MEV monitorando os elétrons secundários. Já a Figura 29B apresenta uma imagem obtida exatamente na mesma região, mas utilizando-se um detector de elétrons retroespalhados. Esse modo de aquisição de imagens é interessante porque, apesar de fornecer um menor número de detalhes morfológicos, ele permite a obtenção de informações relacionadas à composição do material. Ao se analisar uma imagem adquirida através do monitoramento dos elétrons retroespalhados, quanto maior for o número atômico do átomo que compõe o material, mais brilhante ele aparecerá na imagem.

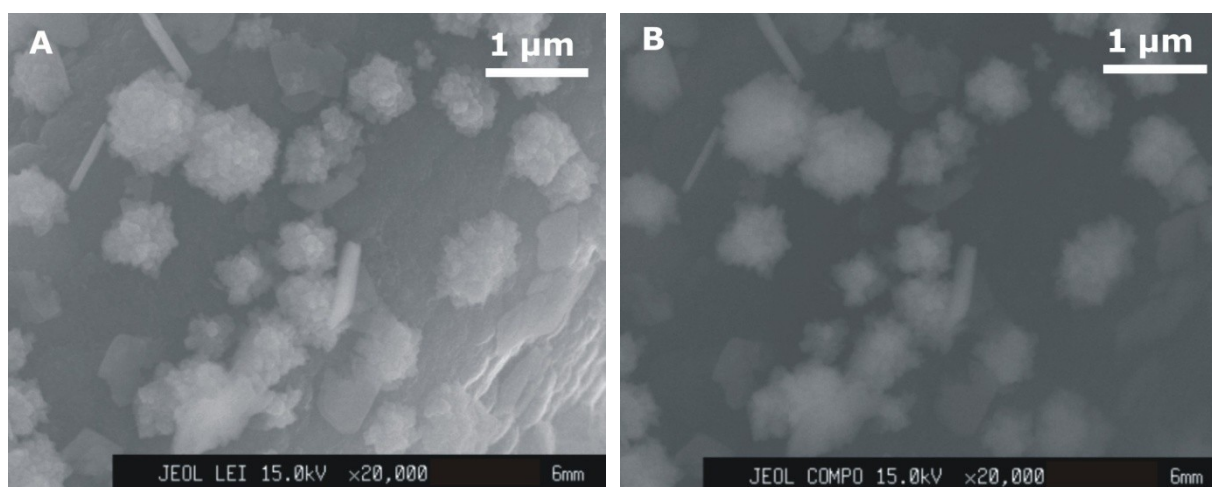


Figura 29 – Imagens de MEV obtidas com um feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy através do monitoramento dos (A) elétrons secundários e (B) elétrons retroespalhados.

Os átomos de maior número atômico identificados pelo EDS foram o Fe e o Cu, os quais estão localizados nas estruturas que aparecem mais claras na Figura 29B. Já a parte mais escura corresponde aos átomos de menor número atômico que, pelo resultado do EDS, é constituído predominantemente de carbono. Portanto, a plataforma utilizada é formada por

estruturas pontuais de CuHCNFe espalhadas uniformemente por uma matriz de Ppy que está recobrendo os NTCCS sintetizados na superfície das microfibras de carbono.

Após a síntese e a caracterização microscópica do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy, o mesmo teve a sua eletroatividade monitorada em uma solução contendo cátions Na^+ e H^+ . Para fins de comparação, o CuHCNFe/Ppy também foi sintetizado em um feltro não recoberto por NTCs (feltro-CuHCNFe/PPy) mantendo-se as mesmas condições experimentais. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 30. Como a matriz é uma plataforma tridimensional, os valores de corrente foram normalizados pela massa do feltro, e não pela área geométrica.

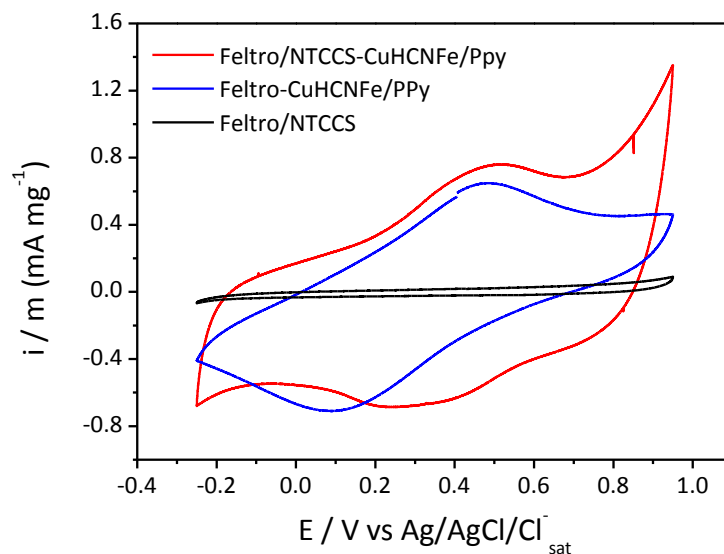


Figura 30 – Perfis i/E obtidos em $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ com um feltro/NTCCS, com um feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy e com um feltro sem NTCs modificado com o mediador (feltro-CuHCNFe/PPy).

Através dos voltamogramas, é possível observar que quando a mesma quantidade de feltro é modificada com o CuHCNFe/PPy, a eletroatividade do mediador é melhor na presença dos NTCCS. Tal fato é evidenciado principalmente pela diferença obtida no valor

de ($\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$) na presença e na ausência dos NTCs, uma vez que $\Delta E_p = 401$ mV para o feltro-CuHCNFe/PPy e $\Delta E_p = 238$ mV para o feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy.

Após a caracterização morfológica e eletroquímica, o feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy foi aplicado em experimentos de detecção de H_2O_2 . Assim como nos experimentos de voltametria cíclica, um feltro sem NTCs modificado com o mediador híbrido foi utilizado como modelo de comparação. Os cronoamperogramas e as curvas analíticas obtidas estão apresentados nas Figuras 31A e 31B, respectivamente.

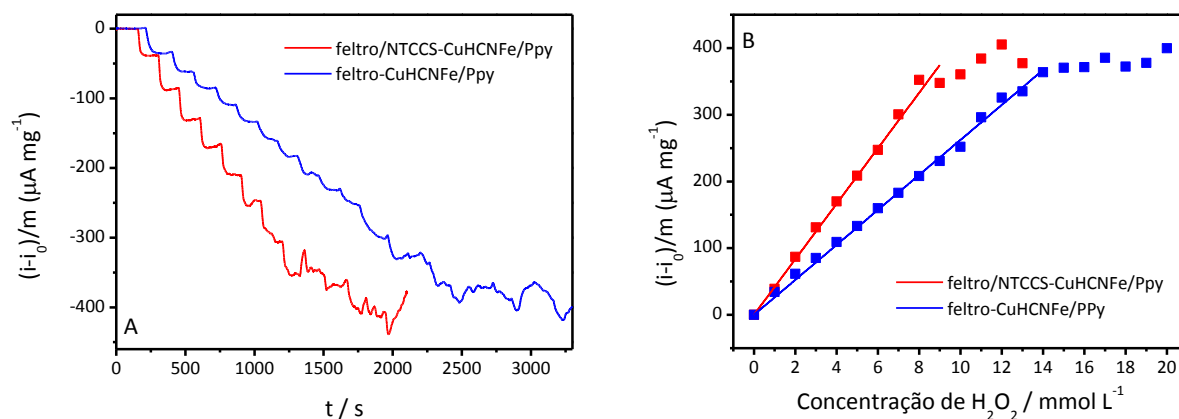


Figura 31 – (A) Cronoamperogramas obtidos com o feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy e com o feltro-CuHCNFe/PPy durante a adição de alíquotas de $10 \mu\text{L}$ de H_2O_2 $5,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $E = 0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$ (B) Curva analítica construída através da variação de corrente observada durante as adições de alíquotas de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 .

O valor de sensibilidade obtido para o feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy através da Figura 31B foi de $(42 \pm 3) \mu\text{A mg}^{-1} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$, com limite de detecção (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade) de $(9,0 \pm 0,7) \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, faixa linear até $(8 \pm 1) \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e tempo de resposta de $(17 \pm 2) \text{ s}$ (90% da variação da corrente). Número

de amostras = 3. Já para o feltro-CuHCNFe/Ppy, ou seja, na ausência dos NTCs, a sensibilidade obtida foi de $(30 \pm 5) \mu\text{A mg}^{-1} \text{mmol}^{-1} \text{L}$, com limite de detecção (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade) de $(4 \pm 2) \times 10^{-5} \text{mol L}^{-1}$, faixa linear até $(12 \pm 2) \times 10^{-3} \text{mol L}^{-1}$ e tempo de resposta de $(25 \pm 4) \text{s}$ (90% da variação da corrente). Número de amostras = 3.

Os resultados apresentados mostram que a presença dos NTCCS desempenha um papel importante no comportamento analítico do sensor de H_2O_2 , principalmente no que se refere ao aumento da sensibilidade e à diminuição do tempo de resposta do sensor. Uma das razões responsáveis pela otimização do desempenho do mediador sintetizado sobre os NTCCS está relacionada com a presença de um maior número de sítios ativos com menor resistência à transferência de carga. Com o intuito de verificar essa afirmação, a Figura 32 apresenta voltamogramas do par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ obtidos com um feltro/NTCCS e com um feltro não recoberto com NTCs.

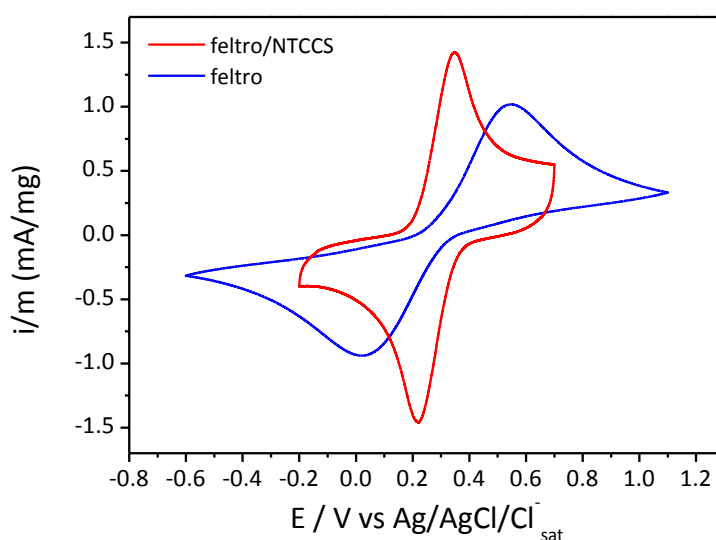


Figura 32 – Voltamogramas obtidos com o feltro/NTCCS e feltro em uma solução contendo $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-2} \text{mol L}^{-1}$ + $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ $1,0 \times 10^{-2} \text{mol L}^{-1}$ + KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{mV s}^{-1}$.

O primeiro aspecto importante a ser observado nos voltamogramas está relacionado com a diferença observada no valor de $\Delta E_p = (E_{pa} - E_{pc})$ na presença e na ausência dos NTCs. Para o feltro, o valor registrado de ΔE_p foi de 530 mV, enquanto que para o feltro/NTCCS, a separação entre os picos foi de 130 mV. Além do favorecimento da reversibilidade da reação eletroquímica, também é possível notar que a presença dos NTCCS acarreta no aumento nos valores de I_{pa} e I_{pc} registrados para o par $Fe(CN)_6^{4-}/Fe(CN)_6^{3-}$, em função de uma maior área eletroativa disponível para a reação eletroquímica. Ambos os fatos são bastante importantes no processo de síntese do CuHCNFe/Ppy, uma vez que cada NTCCS pode atuar como um nanofio condutor de elétrons, favorecendo a formação do mediador. A Figura 33A apresenta uma imagem de uma microfibrilha de carbono com NTCCS totalmente recoberta com o CuHCNFe/Ppy. A Figura 33B traz uma imagem da mesma microfibrilha em uma maior magnificação. Para fins comparativos, a Figura 33C mostra uma imagem de uma microfibrilha de carbono (sem os NTCs) também recoberta em sua totalidade pelo mediador. Por fim, a Figura 33D apresenta uma imagem em maior magnificação do CuHCNFe/Ppy sintetizado na ausência dos NTCs.

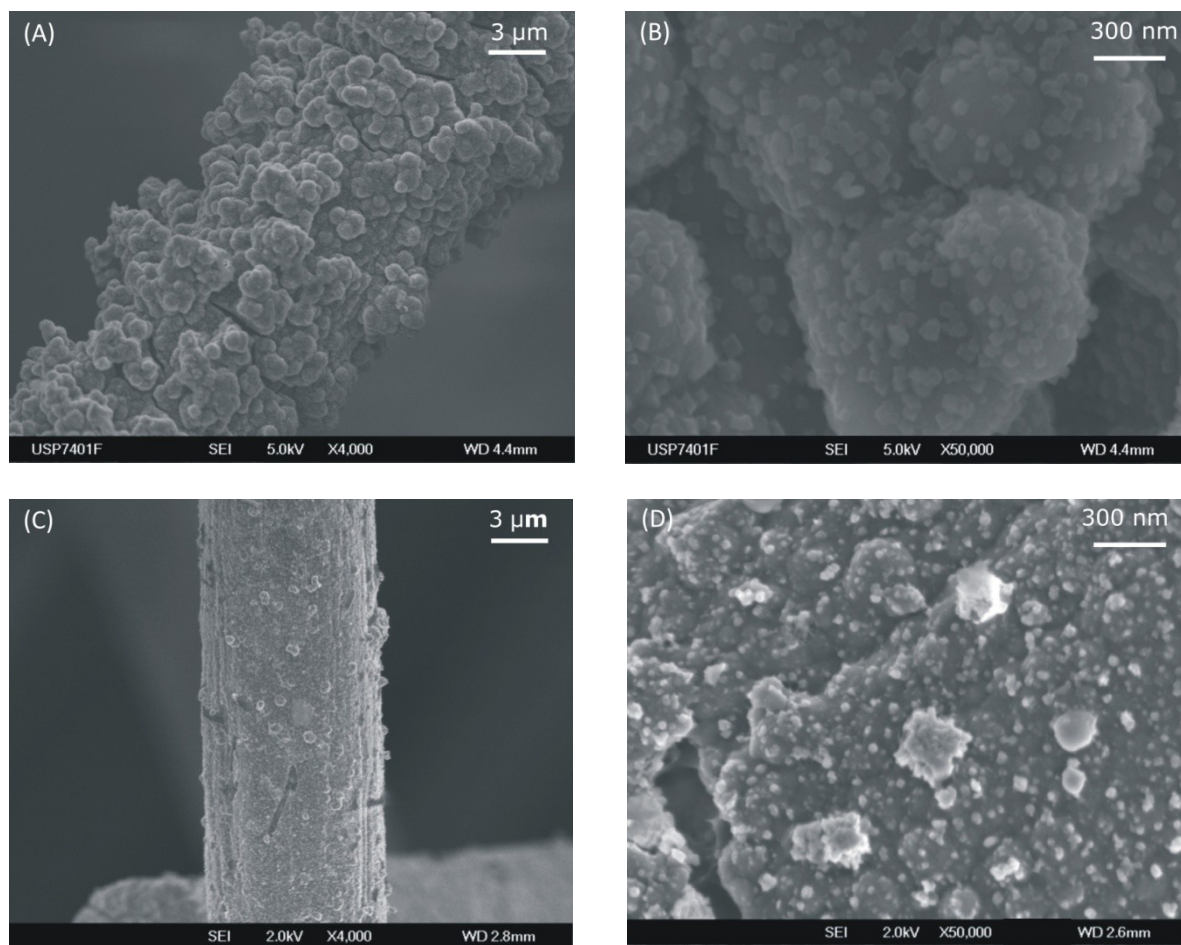


Figura 33 – (A) Imagem de MEV de uma das fibras do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy. (B) Imagem de MEV da dispersão do CuHCNFe sobre a matriz de Ppy sintetizada na presença dos NTCCS. (C) Imagem de MEV de uma das fibras do feltro-CuHCNFe/Ppy (D) Imagem de MEV da dispersão do CuHCNFe sobre a matriz de Ppy sintetizada sobre o feltro que não contém NTCs.

Uma comparação direta entre as Figuras 33A e 33C mostra que o revestimento da microfibrila de carbono foi favorecido pela presença dos NTCCS, uma vez que o recobrimento ocorreu de maneira mais acentuada na presença dos mesmos. Já a comparação entre as Figuras 33B e 33D permite analisar a maneira como os cristais de CuHCNFe foram sintetizados e dispersos na matriz de Ppy, tanto na presença quanto na ausência dos NTCs. Apesar de ser possível observar os cristais de CuHCNFe presentes sobre o polímero em

ambas as amostras, a dispersão do material inorgânico é mais homogênea quando os NTCCS estão presentes, tanto no que se refere à dimensão quanto ao formato das estruturas.

Ou seja, antes da modificação, o feltro/NTCCS apresenta um maior número de sítios disponíveis para a formação do CuHCNFe/Ppy. Tais sítios favorecem a dispersão do material inorgânico sobre a matriz polimérica, o que também contribui para a diferença observada no desempenho do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy e do feltro-CuHCNFe/PPy durante os experimentos de detecção do H₂O₂.

Por fim, outro aspecto importante consiste na investigação da interação eletrônica existente entre os NTCCS e o CuHCNFe/Ppy após o recobrimento das nanoestruturas de carbono com o material híbrido. Esse fenômeno pode facilitar o contínuo processo de oxidação e redução que ocorre quando o mediador é utilizado no sensoriamento do H₂O₂. Vale lembrar que o mediador reduzido se oxida na presença do analito e volta a se reduzir em função da constante polarização do eletrodo a 0,00 V.

Nesse sentido, a espectroscopia Raman ressonante é uma técnica adequada para a investigação de processos de transferência de carga entre espécies químicas e nanomateriais de carbono, como no caso das interações entre o azul da Prússia e os NTCs. [128-130] A Figura 34 apresenta os espectros Raman ressonante característicos do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy e do feltro/NTCCS (sem a presença do mediador) obtidos com $E_{\text{laser}} = 1,96$ eV ($\lambda = 632,8$ nm).

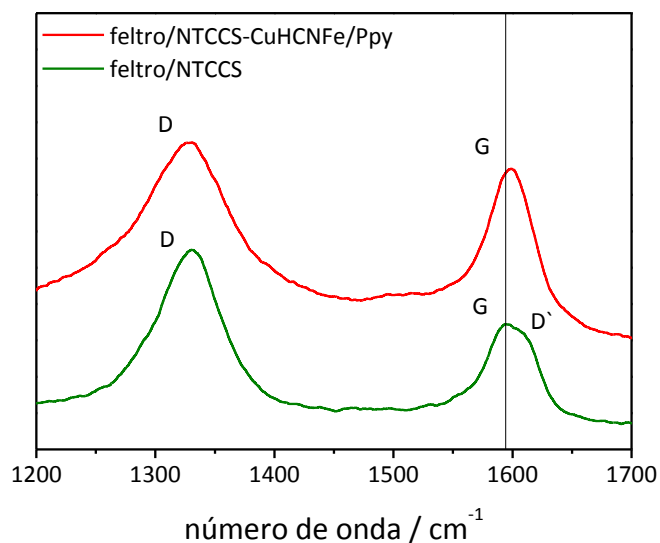


Figura 34 – Espectro Raman Ressonante obtido para o feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy e para o feltro/NTCCS antes da deposição do mediador.

Os espectros das duas amostras investigadas apresentam uma banda na região de 1590 cm^{-1} , associada ao modo de estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$ (banda-G tangencial), e outra banda em 1325-1331 cm^{-1} , a qual está relacionada com o modo de desordem (banda-D). Nos espectros de NTCs com alta quantidade de defeitos na rede de grafeno, muitas vezes é possível se observar um ombro na banda G, o qual também é atribuído a um modo de desordem conhecido como banda-D'. Conforme detectado nas análises de MEV, há uma concentração considerável de tubos sobre as fibras de carbono dos feltros empregados na preparação do feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy. Assim, acredita-se que as bandas G e D dos espectros na Figura 34 são predominantemente associadas com NTCs que apresentam uma alta concentração de defeitos. Além disso, no caso da espectroscopia Raman de NTCs, uma variação do número de onda atribuído à banda-G tem sido frequentemente associada a uma modificação da densidade de elétrons e da condutividade elétrica das paredes dos NTCs através de um processo de transferência de carga. No que diz respeito à posição da banda-G, os espectros Raman da Figura 34 são diferentes uns dos outros. A posição da banda-G no

espectro do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy está deslocada para números de onda maiores em relação à banda-G do feltro/NTCCS. Esse deslocamento é um indício de que existe uma interação eletrônica entre o CuHCNFe/Ppy e os NTCCS. Essa interação pode ser similar à que foi demonstrada para a polianilina, onde o seu anel quinoidal (o mesmo anel pode ser encontrado no Ppy) foi estabilizado através de ligações com NTCs. Conseqüentemente, compósitos PANI/NTC têm apresentado melhores propriedades de condução eletrônica. [131,132] Este efeito também pode estar relacionado como uma das causas para o melhor desempenho analítico do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy em relação ao sensor feltro-CuHCNFe/Ppy. Outro aspecto interessante da Figura 34 é a mudança no perfil das bandas na região de 1500-1700 cm^{-1} . No caso do feltro/NTCCS, as bandas G e D' aparecem em 1594 e 1615 cm^{-1} , respectivamente, enquanto a banda detectada no espectro do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy é descrita por uma curva Gaussiana centrada em 1598 cm^{-1} . A ausência da banda D' é um indício de que existe a modificação das propriedades dos NTCCS quando o CuHCNFe/Ppy está presente em sua superfície.

Portanto, como conclusão desse trabalho, a plataforma micro/nanoestruturada de feltro/NTCCS se mostrou uma matriz eficiente para a síntese do CuHCNFe/PPy. O feltro/NTCCS-CuHCNFe/PPy foi aplicado na detecção de H_2O_2 , onde alcançou uma sensibilidade de $(42 \pm 3) \mu\text{A mg}^{-1} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. Os resultados mostraram que a matriz feltro/NTCCS aumentou a sensibilidade do CuHCNFe/PPy quando comparada à obtida em um sistema onde o CuHCNFe/Ppy foi depositado em um feltro não recoberto por NTCs: $(30 \pm 5) \mu\text{A mg}^{-1} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. Além do aumento da área eletroativa ocasionado pela presença dos NTCCS, as causas da otimização do desempenho do mediador feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy também podem ser atribuídas a uma interação eletrônica existente entre os cristais de CuHCNFe, o Ppy e os NTCCS. Em adição, a presença dos NTCCS também favoreceu a dispersão do CuHCNFe na matriz do Ppy.

A utilização do feltro/NTCCS é bastante promissora, pois o mesmo consiste em um rede tridimensional compacta capaz de fornecer uma maior área eletroativa quando comparado aos convencionais eletrodos bidimensionais. Essa característica é fundamental para a magnitude das correntes registradas durante os experimentos analíticos. Por exemplo, um eletrodo de carbono vítreo convencional ($d = 3 \text{ mm}$) modificado com CuHCNFe/Ppy apresentou uma sensibilidade média não normalizada de $14 \mu\text{A mmol}^{-1} \text{ L}$ durante a detecção de H_2O_2 , enquanto o feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy (medindo $5 \times 5 \text{ mm}$, com uma espessura de 1 mm) apresentou um valor de $209 \mu\text{A mmol}^{-1} \text{ L}$. A sensibilidade obtida com o eletrodo tridimensional foi uma ordem de grandeza maior do que a registrada com o eletrodo bidimensional, fato que é um relevante parâmetro para aplicações práticas.

Vale ressaltar que a utilização do feltro/NTCCS não exige que os NTCs sejam dispersos em alguma pasta ou solvente antes de serem imobilizados sobre um eletrodo, o que é uma importante vantagem experimental para a preparação dos sensores.

Os resultados apresentados nessa seção foram obtidos em colaboração com a Dr^a. Elaine Y. Matsubara e com o Prof. Dr. José Maurício Rosolén, da FFCLRP da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. Os espectros Raman foram realizados no Laboratório de Espectroscopia Molecular do Instituto de Química da Universidade de São Paulo e o equipamento foi operado por Diego Pereira dos Santos, aluno de doutorado da Prof^a. Dr^a. Márcia L. A. Temperini.

4.2. Carbono vítreo modificado com o CuHCNFe/PPy macroporoso

Até o presente momento, foram discutidos os resultados obtidos através da síntese do CuHCNFe/PPy sobre uma plataforma nanoestruturada. Nessa seção, são apresentados os resultados alcançados através da estratégia de se miniaturizar o próprio CuHCNFe/PPy na superfície de um eletrodo de carbono vítreo. A metodologia utilizada consistiu na utilização de partículas esféricas de poliestireno como molde para a eletrodeposição do mediador híbrido. Conforme descrito na seção introdutória, essa técnica é capaz de produzir materiais mecanicamente estáveis, uma vez que os compostos são depositados eletroquimicamente nos interstícios das partículas coloidais. Quando o molde é removido, não há encolhimento do material e os poros dos filmes resultantes são bastante fidedignos ao diâmetro das esferas utilizadas como molde.

Esferas de poliestireno com diâmetros de 300, 460, 600 e 800 nm foram empregadas com essa finalidade. A discussão envolvendo a deposição do molde coloidal sobre o carbono vítreo pode ser encontrada no Apêndice da presente Tese. É importante ressaltar que moldes coloidais com diferentes dimensões foram escolhidos com o objetivo de se investigar a influência do tamanho do poro no desempenho analítico obtido durante a detecção de H₂O₂.

Durante a síntese do CuHCNFe/PPy, os substratos de carbono vítreo que continham os moldes coloidais permaneceram inicialmente imersos por 30 min na solução que continha as espécies necessárias para a formação do filme de Ppy dopado com íons Fe(CN)₆³⁻. Esse tempo prévio de 30 min, não utilizado nos casos anteriores, foi importante para permitir que a solução penetrasse pelos interstícios do molde coloidal e alcançasse a superfície do eletrodo. Terminados os 30 min, o eletrodo foi submetido a uma varredura de potencial entre -0,25 e +0,95 V, a uma velocidade de 50 mV s⁻¹. A carga de deposição foi monitorada durante os experimentos para que a mesma fosse igual independentemente do diâmetro do molde utilizado.

Com o término da primeira etapa eletroquímica, o eletrodo foi lavado e imerso em uma solução contendo os íons Cu^{2+} . Assim como nos casos anteriores, o eletrodo permaneceu imerso por 2 h antes da realização da segunda etapa eletroquímica. Após esse período, o eletrodo foi submetido a outra varredura de potencial dentro das mesmas condições utilizadas na primeira etapa eletroquímica. A carga de deposição foi novamente monitorada para que uma quantidade similar de mediador estivesse presente em todos os sistemas testados. Os voltamogramas obtidos durante a primeira e a segunda etapa eletroquímica estão apresentados nas Figuras 35A e 35B, respectivamente.

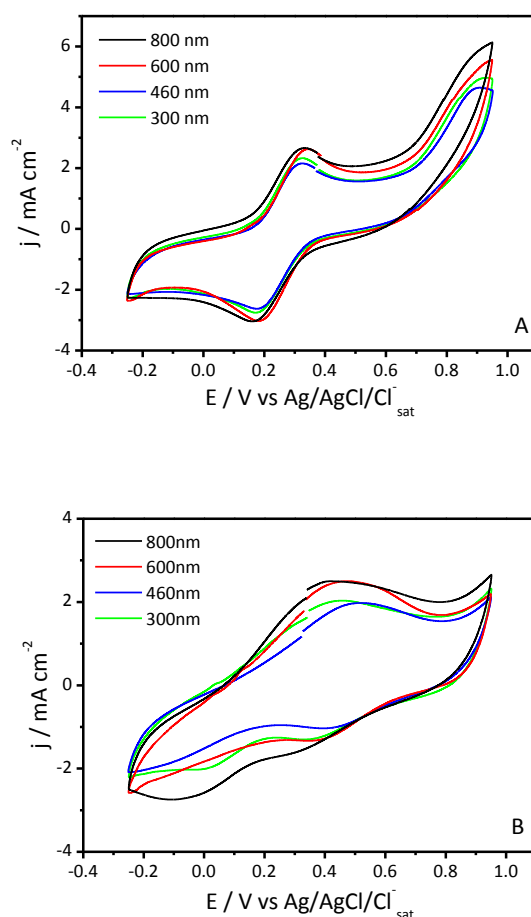


Figura 35 – Perfis j/E obtidos no último ciclo de síntese do (A) Ppy dopado com íons $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e (B) CuHCNFe/PPy utilizando eletrodos de carbono vítreo com esferas de poliestireno de 300, 460, 600 e 800 nm de diâmetro.

Pelas Figuras 35A e 35B, é possível notar que os voltamogramas são mais similares entre si após o término da primeira etapa eletroquímica. Já ao final da síntese do CuHCNFe/Ppy, é possível perceber que existe uma diferença mais acentuada entre os perfis j/E obtidos, seja no que se refere à magnitude das correntes de pico obtidas (principalmente as anódicas), ou nos picos catódicos ainda observáveis em torno de 0,00 V para o eletrodo de 300 nm e em -0,10 V para o mediador sintetizado ao redor do molde de 800 nm. Esses picos catódicos remanescentes podem estar relacionados com os íons $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ainda livres dentro da matriz polimérica, isso é, que não foram utilizados para a formação do CuHCNFe/Ppy. Além disso, a maior dificuldade de se controlar a carga durante a segunda etapa eletroquímica pode ser entendida observando-se novamente as Figuras 10 e 13 (pág. 52 e 56). Enquanto a formação da malha polimérica dopada com $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ consiste em um crescimento linear do filme, o mesmo comportamento não é obtido durante a precipitação do CuHCNFe na matriz do Ppy.

Após a síntese do CuHCNFe/PPy ao redor das esferas de poliestireno, os eletrodos modificados foram imersos em tolueno sob agitação magnética por 24 h, para a dissolução do molde coloidal. Passado esse período, os filmes de CuHCNFe/PPy macroporosos permaneceram por 12 h em um dessecador para total evaporação do solvente orgânico. Terminada essa etapa, os mediadores foram caracterizados por MEV e as imagens obtidas estão apresentadas nas Figuras 36A (CuHCNFe/Ppy-300nm), 36B (CuHCNFe/Ppy-460nm), 36C (CuHCNFe/PPy-600nm) e 36D (CuHCNFe/Ppy-800nm).

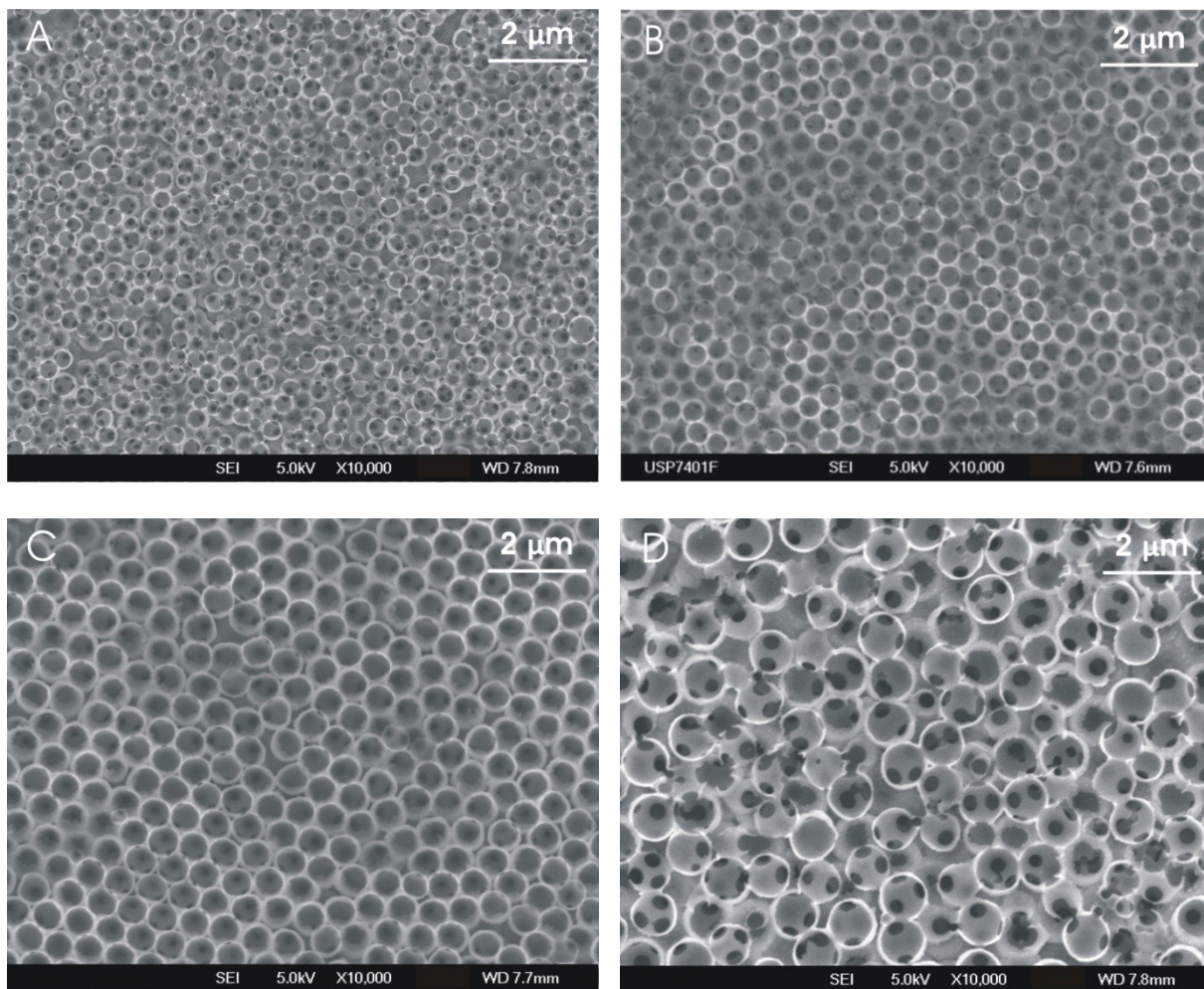


Figura 36 – Imagens de MEV dos filmes de CuHCNFe/PPy sintetizados ao redor de esferas de poliestireno com diâmetros de (A) 300, (B) 460, (C) 600 e (D) 800 nm.

As imagens apresentadas na Figura 36 possuem a mesma magnificação, o que facilita o processo de comparação entre os diferentes filmes porosos formados. Já a Figura 37 traz uma visão mais paronâmica do substrato modificado, onde é possível notar que o mediador macroporoso se formou de maneira homogênea pelo eletrodo de trabalho.

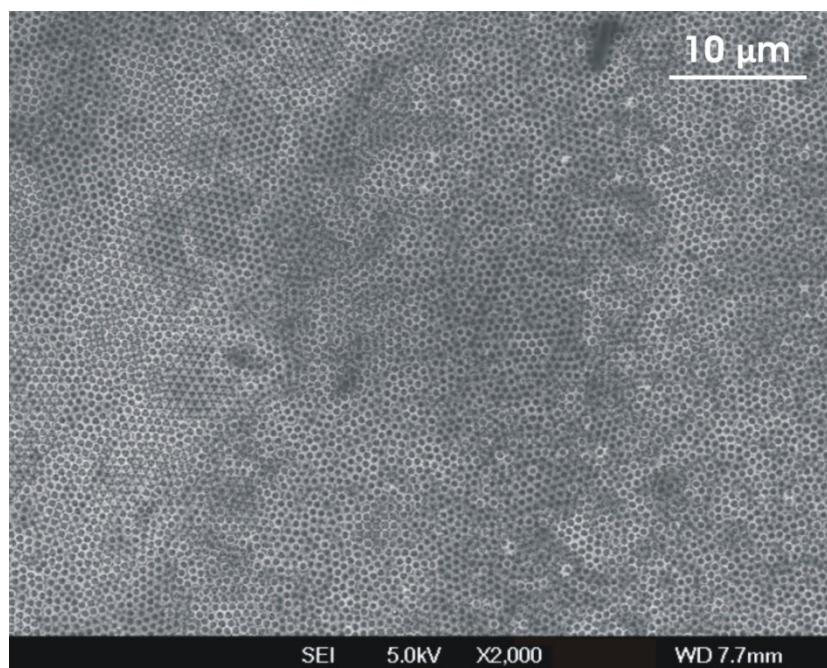


Figura 37 – Imagem de MEV do CuHCNFe/PPy-600nm.

Por fim, algumas observações importantes também podem ser realizadas através da análise da Figura 38, a qual apresenta uma imagem mais detalhada do CuHCNFe/PPy macroporoso. Inicialmente, é possível notar a presença das estruturas de CuHCNFe distribuídas pela matriz do PPy, conforme já discutido anteriormente. No que se refere à formação dos poros, pode-se notar a existência de concavidades conectando os poros externos com os poros mais internos, o que é um fator morfológico necessário para a utilização de todo o mediador. Tais conexões apresentam dimensões entre 20 e 25% do diâmetro da esfera de poliestireno utilizada como molde. [133] Outro fator morfológico interessante pode ser notado nos poros mais externos do CuHCNFe/PPy macroporoso, uma vez que existem espaços vazios entre os poros mais superficiais. Essas vacâncias são conhecidas como “*spandrels*” e indicam que a deposição do CuHCNFe/PPy ocorre preferencialmente ao redor da esfera de poliestireno. É importante ressaltar que os “*spandrels*” foram encontrados apenas nos poros externos, o que indica que os interstícios internos entre as esferas foram totalmente preenchidos durante o crescimento do

CuHCNFe/Ppy. Uma possível razão para a existência dos “*spandrels*” está relacionada com a presença de grupos SO_4^{2-} nos estabilizadores da suspensão comercial do molde coloidal. Uma vez que durante a síntese do Ppy existe a formação de cátions oligoméricos e poliméricos, a atração eletrostática existente entre essas espécies e os grupos SO_4^{2-} localizados na superfície das esferas poderia direcionar a deposição inicial do filme ao redor do molde. [73]

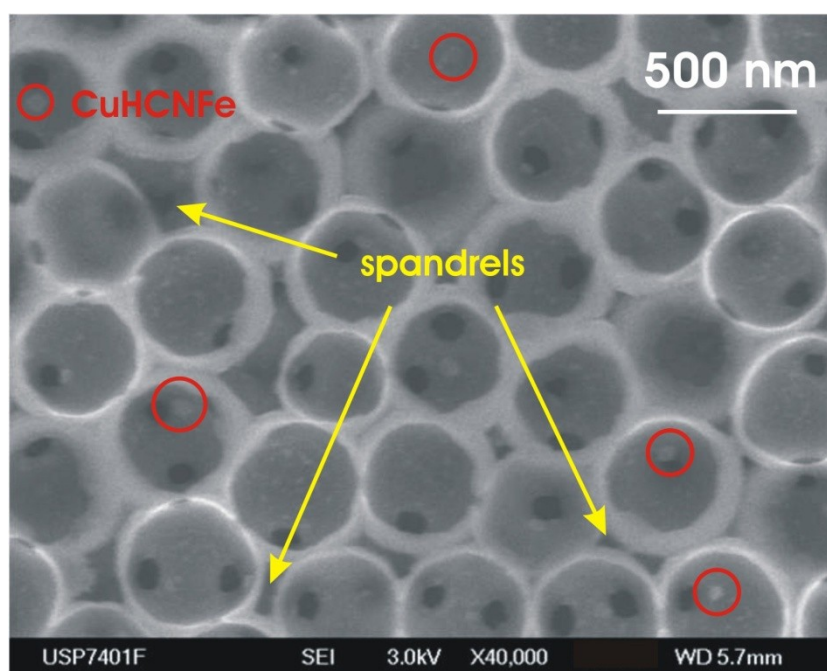


Figura 38 – Imagem de MEV do CuHCNFe/Ppy-460nm.

Após a caracterização morfológica, os mediadores macroporosos foram aplicados na detecção de H_2O_2 com o intuito de se comparar a influência do tamanho do poro no desempenho analítico dos sensores. Tais resultados também foram confrontados com os obtidos com filmes de CuHCNFe/Ppy maciços (sem a presença dos poros). Esse último também teve a carga de deposição controlada durante a síntese, para que os eletrodos apresentassem quantidades similares de material. Os cronoamperogramas obtidos estão apresentados na Figura 39.

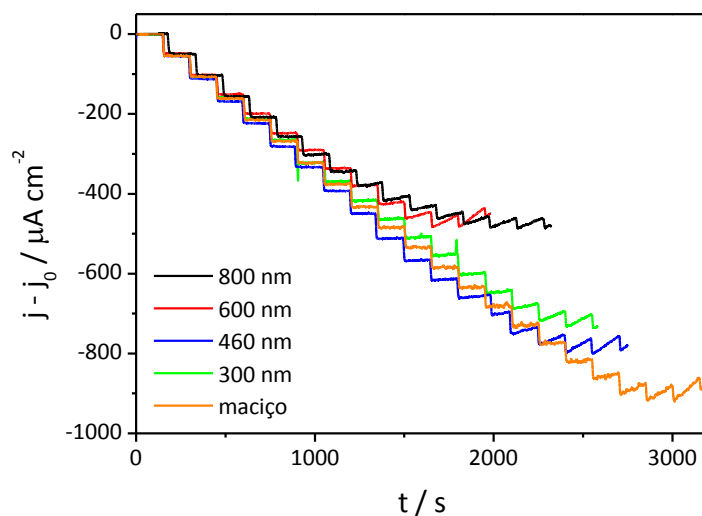


Figura 39 - Cronoamperogramas obtidos com o CuHCNFe/Ppy maciço e macroporosos durante a adição de alíquotas de 5 μL de H_2O_2 $2,5 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $E = 0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$

Os parâmetros analíticos obtidos estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros analíticos obtidos com o CuHCNFe/Ppy maciço e macroporosos. Com exceção do CuHCNFe/Ppy-300 nm, o número de amostras consideradas foi igual a três.

	Maciço	300 nm	460 nm	600 nm	800 nm
Sensibilidade / $\times 10 \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$	(20 ± 1)	20	(19 ± 3)	(20 ± 2)	(16 ± 3)
Limite de detecção / $\times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade)	$(1,9 \pm 0,1)$	3,5	(3 ± 2)	$(1,0 \pm 0,3)$	(2 ± 1)
Faixa linear / $\times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	até $(4,0 \pm 0,2)$	até 3,2	até $(3,0 \pm 0,5)$	até $(2,2 \pm 0,2)$	até $(2,2 \pm 0,2)$
Tempo de resposta / s (90% da variação da corrente)	$(3,5 \pm 0,7)$	2,4	(4 ± 1)	(5 ± 2)	(5 ± 3)

Diferentemente do esperado, não houve variações consideráveis entre os desempenhos dos mediadores macroporosos quando comparados entre si e, principalmente, também não existiu um rendimento superior quando os resultados foram comparados ao desempenho do CuHCNFe/PPy maciço. Mais ainda, pelos valores obtidos de desvio padrão, também é possível inferir que a reprodutibilidade do CuHCNFe/PPy maciço foi superior à obtida com os mediadores macroporosos.

Os resultados apresentados na Tabela 3 representaram um desafio para a compreensão das possíveis causas que pudessem estar relacionadas com o comportamento obtido. A primeira possibilidade considerada consistiu em investigar se a detecção de H_2O_2 por parte do CuHCNFe/PPy era um fenômeno de superfície ou se dependia da quantidade de material presente no eletrodo. Essa resposta é importante porque todos os mediadores tiveram a carga de deposição monitorada durante a síntese para que, no final, apresentassem quantidades similares de material. Caso o filme seja bastante permeável ao H_2O_2 , a detecção poderia ocorrer por todo o volume de mediador depositado e, como todos os filmes apresentam a mesma carga, isso poderia explicar os resultados analíticos obtidos. Nesse sentido, a Tabela 4 apresenta as sensibilidades obtidas quando quatro filmes maciços com diferentes quantidades de CuHCNFe/PPy foram utilizados para a detecção de H_2O_2 . Os voltamogramas dos CuHCNFe/PPy sintetizados com diferentes cargas estão apresentados na Figura 40A e 40B, correspondendo à primeira e à segunda etapa eletroquímica.

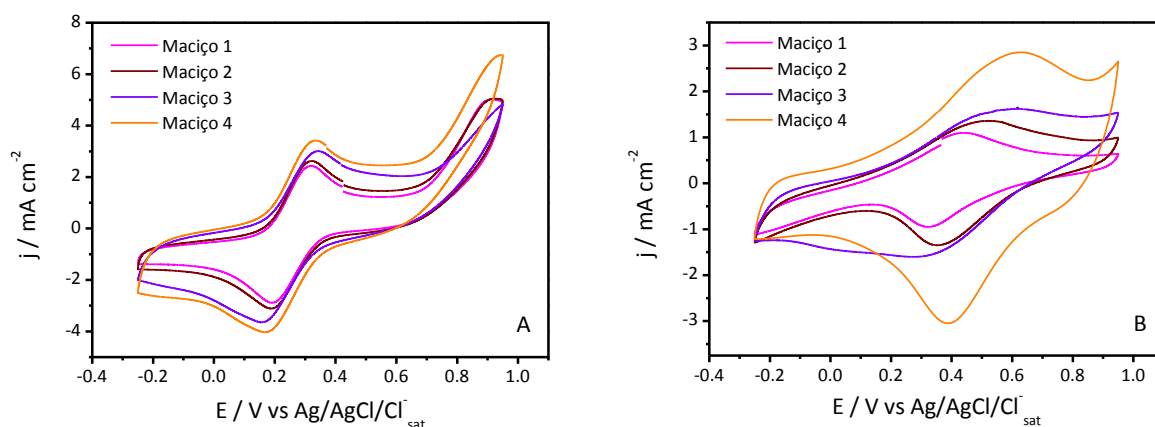


Figura 40 – (A) Perfis j/E obtidos durante a síntese do Ppy dopado com íons $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. (B) Perfis j/E obtidos durante a formação do CuHCNFe/Ppy. Foram utilizados quatro valores distintos de carga para a síntese dos diferentes filmes de CuHCNFe/Ppy maciços.

Tabela 4 – Sensibilidades obtidas durante a detecção de H_2O_2 com mediadores de CuHCNFe/Ppy maciços sintetizados com diferentes cargas na Figura 40. As cargas especificadas na tabela correspondem à segunda etapa eletroquímica.

	Q_+ (mC)	Q_- (mC)	Sensibilidade ($\mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$)
Maciço 1	1,25	1,20	206
Maciço 2	1,71	1,66	169
Maciço 3	2,81	3,04	206
Maciço 4	7,11	6,54	195

Pela tabela, é possível perceber que os resultados de sensibilidade foram muito similares, independentemente das diferentes cargas anódicas e catódicas monitoradas durante a segunda etapa da síntese voltamétrica do CuHCNFe/Ppy. Esses resultados sugerem que a detecção de H_2O_2 por parte do CuHCNFe/Ppy não depende do volume do material e ocorre principalmente na parte mais externa do mediador. Esse mesmo tipo de comportamento

também foi observado quando diferentes polímeros condutores, tais como polianilina e Ppy, foram utilizados para formar compostos híbridos com o azul da Prússia. A introdução dos polímeros condutores fez com que a redução eletrocatalítica do H_2O_2 pelo azul da Prússia ocorresse nas camadas mais superficiais do mediador. Já na ausência dos polímeros condutores, o filme de Azul da Prússia se tornava mais permeável ao H_2O_2 , o que diminuía a estabilidade operacional do mesmo. [21] Na ocasião, Borisova e col. explicaram esse comportamento em termos do aumento da hidrofobicidade do mediador ocasionado pela incorporação dos polímeros condutores. [23]

Portanto, uma vez que a redução do H_2O_2 é um fenômeno de superfície quando o CuHCNFe/Ppy é utilizado como mediador, a determinação do aumento da área superficial obtido com a utilização dos filmes macroporosos descritos na Tabela 3 passa a ser outro aspecto importante para a compreensão dos resultados analíticos alcançados. A estratégia utilizada para a determinação do aumento da área consistiu, primeiramente, na obtenção das espessuras dos mediadores macroporosos. Para tal, os filmes foram posicionados a 85° em um porta amostra e observados por MEV. A Figura 41 apresenta uma imagem obtida através do monitoramento da espessura de um filme de CuHCNFe/Ppy-460nm.

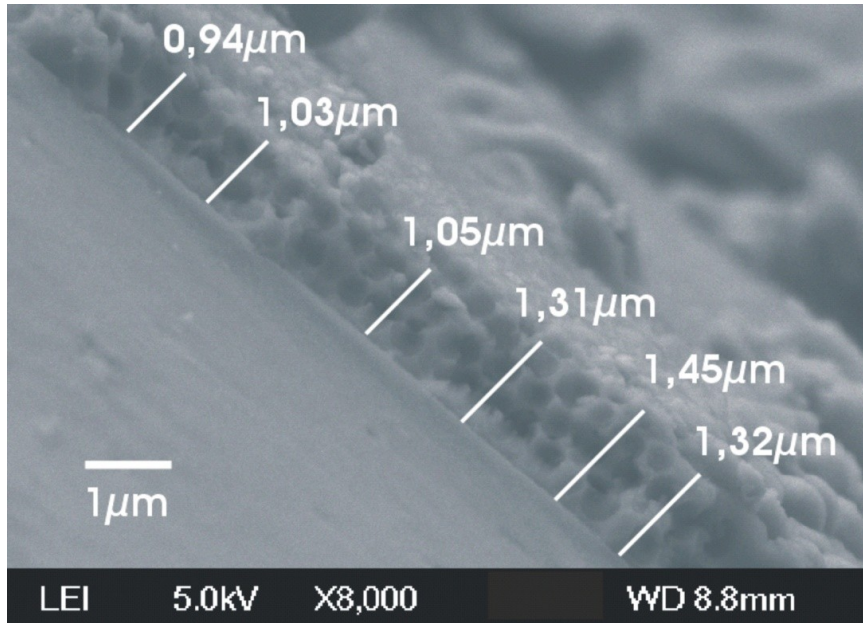


Figura 41 - Imagem de MEV da espessura do filme de CuHCNFe/Ppy-460nm.

Os resultados obtidos com os filmes de 460, 600 e 800 nm estão apresentados na Figura 42.

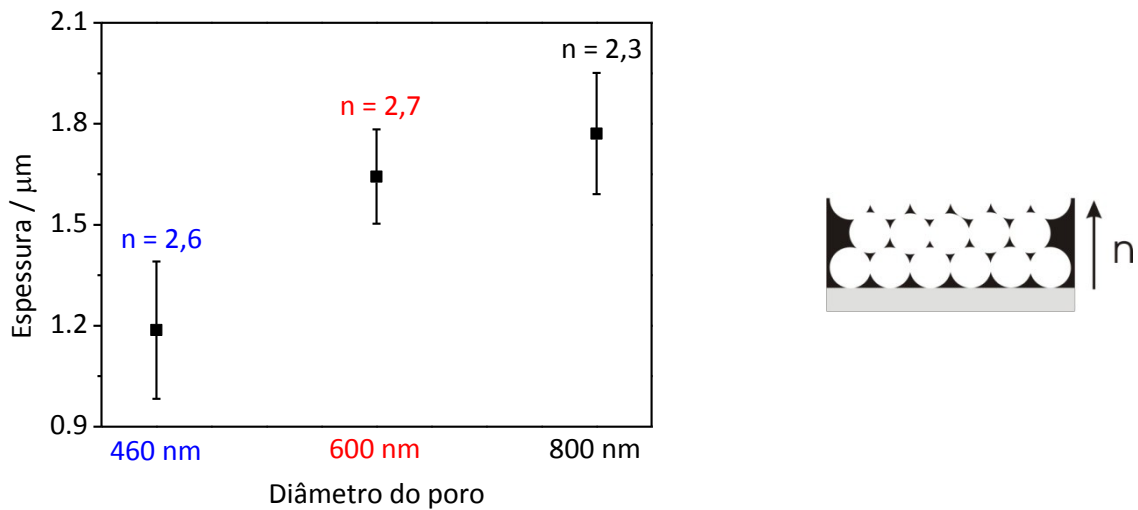


Figura 42 – Espessuras obtidas com a metodologia apresentada na Figura 41 para os mediadores de CuHCNFe/Ppy sintetizados ao redor das esferas de 460, 600 e 800 nm de diâmetro. O gráfico também apresenta o valor “n” obtido para cada tamanho de poro, sendo que $n = \text{espessura média (nm)}/\text{diâmetro da esfera utilizada como molde (nm)}$.

A Figura 42 possibilita observar que, quando os filmes de CuHCNFe/Ppy foram sintetizados com a mesma carga, os mediadores com poros maiores ficaram mais espessos que aqueles sintetizados ao redor de esferas de poliestireno com diâmetros menores. Entretanto, a divisão da espessura média pelo diâmetro da esfera utilizada como molde mostra que todos os mediadores macroporosos são formados por aproximadamente 2,5 camadas porosas, conforme ilustrado no desenho da Figura 42. A determinação do número de camadas porosas que constituem o mediador é importante porque, quando um filme de CuHCNFe/Ppy macroporoso é comparado com o CuHCNFe/Ppy maciço, o valor teórico do aumento da área superficial pode ser estimado com base em considerações geométricas que levam à Equação 4.

$$f = n\pi \left(\sqrt{\frac{4}{3}} \right)$$

Equação 4 – Correlação entre aumento superficial e espessura do filme, onde f é o fator de aumento da área superficial em relação a um depósito maciço (sem a presença dos macroporos) e n é o número de camadas porosas. [133,134]

A Equação 4 mostra que o fator de aumento superficial só depende do número de camadas porosas (n) e não do diâmetro dos poros, uma vez que o aumento da espessura dos filmes CuHCNFe/PPy-800nm compensa o menor diâmetro dos poros presentes nos filmes de CuHCNFe/PPy-460 nm. [133,134] Pela Figura 42, é possível perceber que todos os mediadores macroporosos formados apresentam valores próximos de “n” e, conseqüentemente, também possuem valores de área superficial similares. Por exemplo, para n = 2,5, o fator de aumento superficial corresponde a f = 9, o que significa que os mediadores macroporosos apresentam uma área superficial teórica nove vezes maior do que a do

CuHCNFe/Ppy maciço. Esse fato pode explicar porque os desempenhos dos mediadores macroporosos são similares entre si, mas não permite concluir porque não existe vantagem em utilizar essas macroestruturas frente ao material maciço. Portanto, uma vez determinado que a detecção de H₂O₂ com o CuHCNFe/Ppy é um fenômeno superficial e que os filmes macroporosos apresentam uma área superficial teórica aproximadamente nove vezes maior que a do mediador maciço, quais seriam as razões para não ser possível observar um aumento da performance analítica do CuHCNFe/Ppy macroporosos em relação ao CuHCNFe/Ppy maciço?

Uma dessas respostas pode estar ligada a um fator termodinâmico, já que as propriedades de átomos localizados na superfície de um material são diferentes das propriedades dos átomos análogos localizados no interior do mesmo material. Segundo a teoria de Young-Laplace, quando um átomo está localizado na superfície de um material curvilíneo, a diferença de potencial químico em relação ao mesmo átomo localizado em uma superfície plana pode ser descrita em função da curvatura superficial através da Equação 5:

$$\Delta\mu = 2\gamma \frac{\Omega}{R}$$

Equação 5 – Equação de Young-Laplace, onde $\Delta\mu$ é a diferença de potencial químico existente entre um átomo localizado em uma superfície curva e o mesmo átomo localizado em uma superfície plana, γ é a energia superficial, Ω é o volume atômico e R é o raio que descreve a curvatura da superfície. [135,136]

A Equação de Young-Laplace pode ser generalizada para qualquer tipo de curvatura. No caso das nanopartículas com superfícies convexas, por exemplo, a curvatura da Equação 5 é considerada positiva ($R > 0$). Portanto, o potencial químico de um átomo localizado na superfície de uma nanopartícula é maior do que o de um átomo do mesmo material situado

em uma superfície plana, tornando-o mais reativo. Já no caso das macroestruturas presentes no CuHCNFe/PPy macroporoso, a superfície é côncava e a curvatura da Equação 5 é considerada negativa ($R < 0$). Consequentemente, do ponto de vista termodinâmico, átomos localizados na superfície de macroporos côncavos possuem um potencial químico menor do que os átomos do mesmo material localizados em uma superfície plana, o que acarreta no aumento de sua estabilidade química, conforme esquematizado na Figura 43. [135,136]

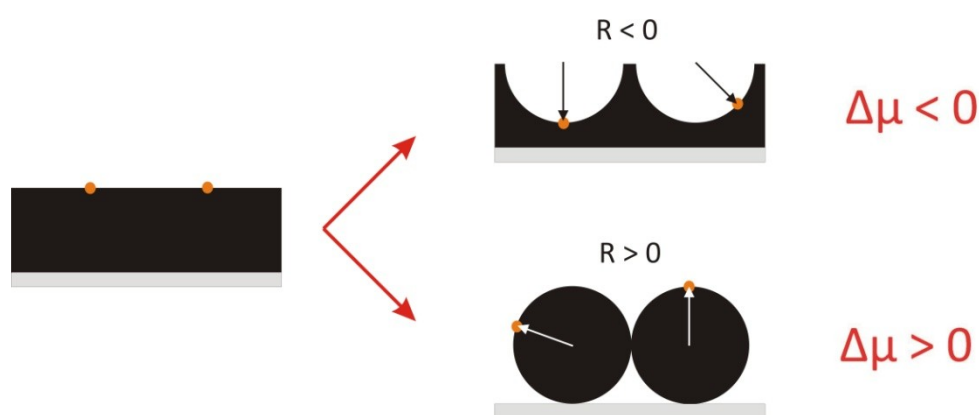


Figura 43 – Variação do potencial químico em função da curvatura de uma superfície.

É importante ressaltar que esse efeito se torna mais significativo conforme se diminui o raio R da curvatura côncava ou convexa. Essa é uma consideração interessante para trabalhos publicados anteriormente com o azul da Prússia e com o CuHCNFe, os quais mostram que o desempenho eletroquímico obtido com mediadores nanoparticulados é bastante superior ao alcançado com os mesmos mediadores maciços. [137,138] Esse aumento se deve não apenas à exposição de um maior número de sítios ativos superficiais, mas também, ao alto potencial químico e à maior reatividade que esses átomos apresentam em relação aos análogos maciços.

Além do fator termodinâmico, outra razão que pode estar relacionada com o comportamento analítico observado na Tabela 3 (pág. 91) diz respeito às molhabilidades do

CuHCNFe/Ppy maciço e dos mediadores macroporosos. Conforme discutido nas Figuras 25 e 26 (pág. 71), é possível atribuir um comportamento hidrofílico ou hidrofóbico a uma determinada amostra em função do ângulo de contato formado entre a tangente da interface líquido-gás e a tangente da interface líquido-sólido após o posicionamento de uma gota de água ou de uma solução aquosa na superfície do material. Especialmente no caso de sistemas rugosos ou porosos, existem dois modelos que descrevem os tipos de interações que podem ocorrer entre a fase líquida e o substrato: (a) o modelo de Wenzel, que é baseado na idéia de que um líquido penetra completamente pela superfície porosa de um material e (b) o modelo de Cassie-Baxter, onde existe a possibilidade de bolhas de ar ficarem aprisionadas dentro da estrutura porosa e impedirem a molhabilidade homogênea do material. [127,139,140] Os modelos de Wenzel e Cassie-Baxter estão esquematizados Figura 44.

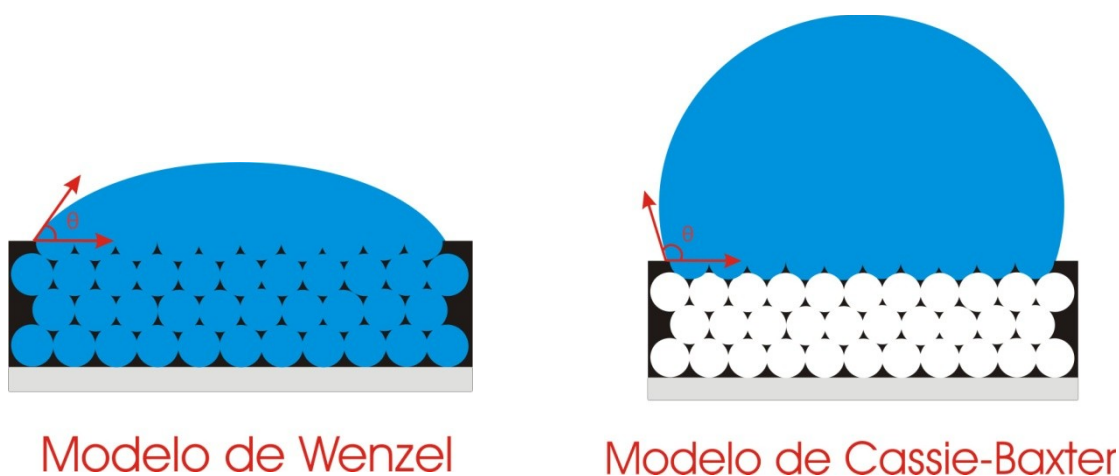


Figura 44 – Representações esquemáticas dos modelos de Wenzel e Cassie-Baxter para plataformas porosas.

Nesse sentido, a Figura 45A apresenta as imagens obtidas quando uma gota da solução NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ + HCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionada sobre o CuHCNFe/Ppy maciço e sobre os mediadores macroporosos. Tal solução eletrolítica foi utilizada durante os

experimentos de detecção de H_2O_2 . Já a Figura 45B traz os ângulos de contato obtidos com as distintas plataformas.

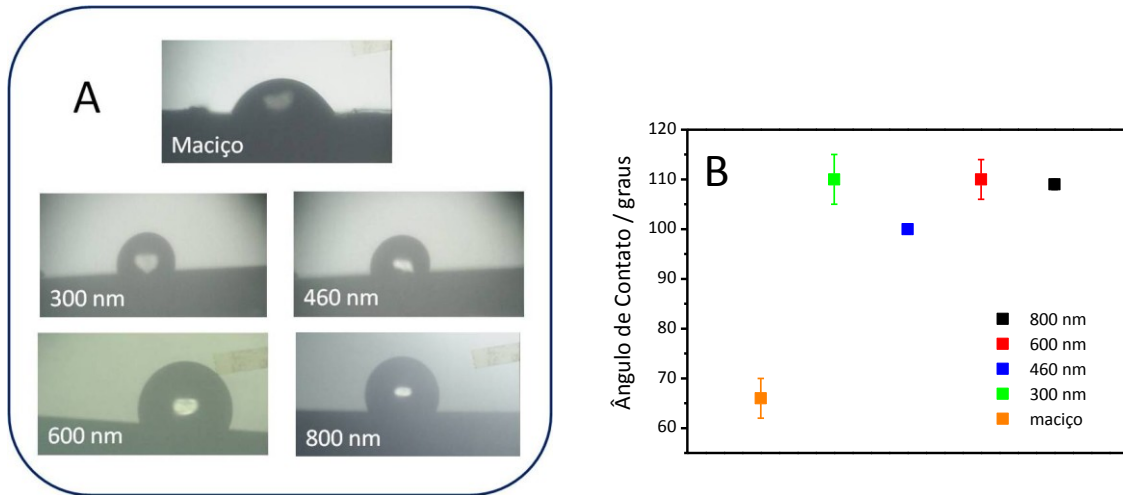


Figura 45 – (A) Imagens obtidas através da adição da solução $NaCl\ 1,0 \times 10^{-1}\ mol\ L^{-1} + HCl\ 1,0 \times 10^{-1}\ mol\ L^{-1}$ sobre o $CuHCNFe/PPy$ maciço e $CuHCNFe/PPy$ macroporosos. (B) Ângulo de contato obtido entre a tangente da interface líquido-vapor e a tangente da interface líquido-sólido. As medições dos ângulos foram feitas no “*Corel-Draw*” e o número de ângulos medidos para cada tamanho foi igual a seis.

Pela Figura 45B é possível perceber que não existe uma diferença significativa entre os ângulos de contato medidos para os mediadores macroporosos, sendo que todos ficaram localizados acima de 90° , o que caracteriza uma superfície como sendo hidrofóbica. Esses ângulos são superiores ao ângulo de contato medido para o $CuHCNFe/PPy$ maciço, que ficou localizado ao redor de 65° . Essas medidas possibilitam concluir que, apesar do mediador maciço apresentar um ângulo inferior a 90° , trata-se de um material que não apresenta um grau acentuado de hidrofobicidade, uma vez que a interação tende a ser mais favorável com a diminuição desse ângulo. Em plataformas bastante hidrofílicas, a molhabilidade é bastante

acentuada e pode existir até uma dificuldade para a medida do valor do ângulo de contato. Outra conclusão importante está relacionada com o aumento do ângulo de contato entre o CuHCNFe/PPy maciço e os filmes de CuHCNFe/PPy macroporosos. Uma vez que eles são constituídos exatamente do mesmo material, tal aumento angular é devido ao ar aprisionado dentro dos poros, o que mostra que o presente sistema segue o comportamento do modelo proposto por Cassie e Baxter.

Consequentemente, os resultados obtidos com os experimentos de ângulo de contato sugerem que o ar aprisionado dentro das plataformas macroporosas pode estar contribuindo para dificultar o acesso da solução eletrolítica e, conseqüentemente, do H₂O₂ aos sítios ativos internos do material. Tal fato também pode estar contribuindo para o desempenho analítico similar obtido entre o CuHCNFe/PPy maciço e os filmes de CuHCNFe/PPy macroporosos. Nesse sentido, o surfactante dodecilsulfato de sódio (SDS) foi adicionado à solução de NaCl 0,1 mol L⁻¹ + HCl 0,1 mol L⁻¹ com o intuito de melhorar a molhabilidade do material e ocasionar o completo preenchimento dos poros. [141] Diferentes concentrações de SDS foram utilizadas com essa finalidade, tanto acima quanto abaixo da concentração micelar crítica (cmc SDS em NaCl 0,1 mol L⁻¹ + HCl 0,1 mol L⁻¹ = 0,9 mmol L⁻¹). A Figura 46 apresenta os resultados obtidos com os experimentos de ângulo de contato realizados sobre o CuHCNFe/PPy macroporoso. Pelas imagens, é possível observar que a utilização do surfactante permitiu uma transição efetiva do Sistema de Cassie-Baxter para o Sistema de Wenzel. Também foi possível generalizar que o tempo de transição entre os dois sistemas diminui em função do aumento da concentração de SDS presente na solução aquosa.

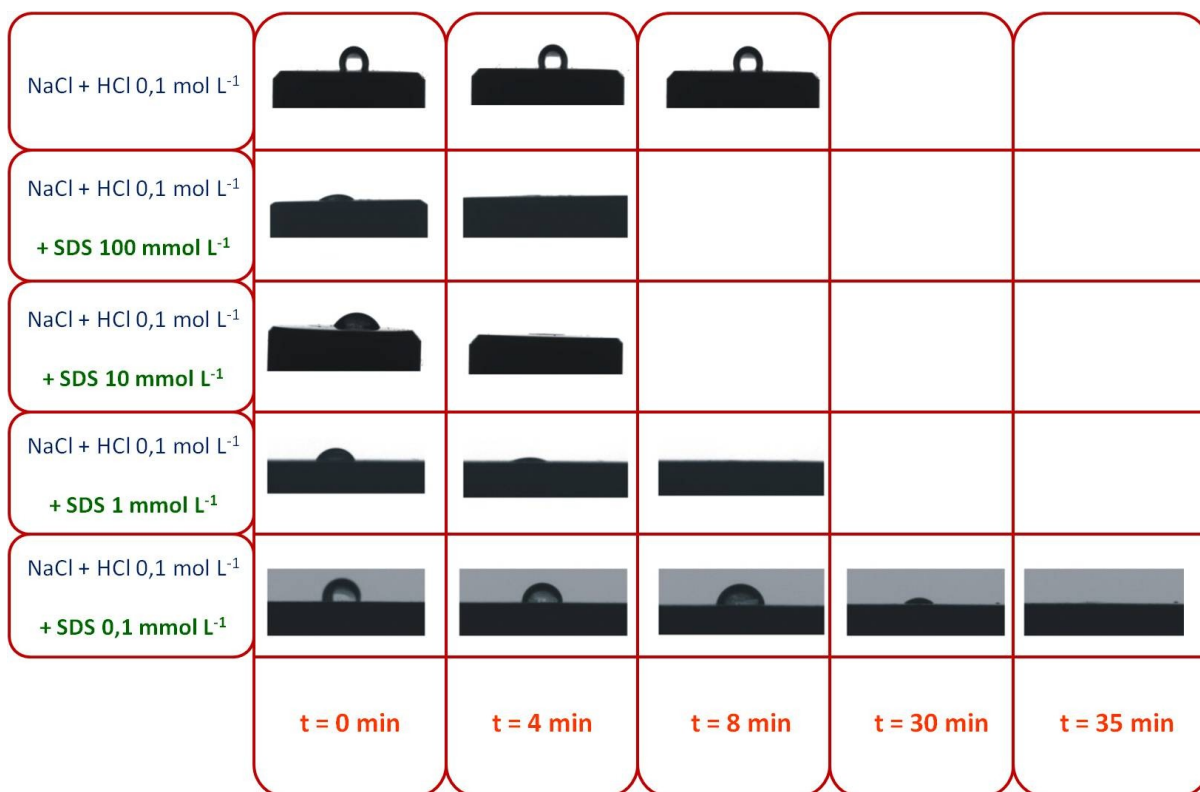


Figura 46 - Variação do ângulo de contato com o tempo quando uma gota de NaCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ + HCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ foi posicionada na superfície do CuHCNFe/Ppy-460 nm na presença de diferentes concentrações do surfactante SDS.

Uma vez demonstrado que o mediador macroporoso estava acessível para a solução eletrolítica, experimentos de detecção de H₂O₂ foram mais uma vez realizados por cronoamperometria com o CuHCNFe/Ppy-460nm, mas agora na presença do surfactante SDS. Os experimentos foram realizados com as soluções eletrolíticas contendo 100, 10 e 0,1 mmol L⁻¹ do surfactante, com o intuito de verificar se a quantidade de moléculas anfífilas presentes no meio poderia alterar os resultados obtidos durante o sensoriamento do H₂O₂. Isso porque, apesar da solução ter acesso aos sítios internos do material na presença de todas as concentrações analisadas, havia a preocupação de que a parte apolar do surfactante pudesse se adsorver sobre o Ppy, o que poderia dificultar o acesso do H₂O₂ à superfície do mediador. As sensibilidades obtidas estão apresentadas na Figura 47.

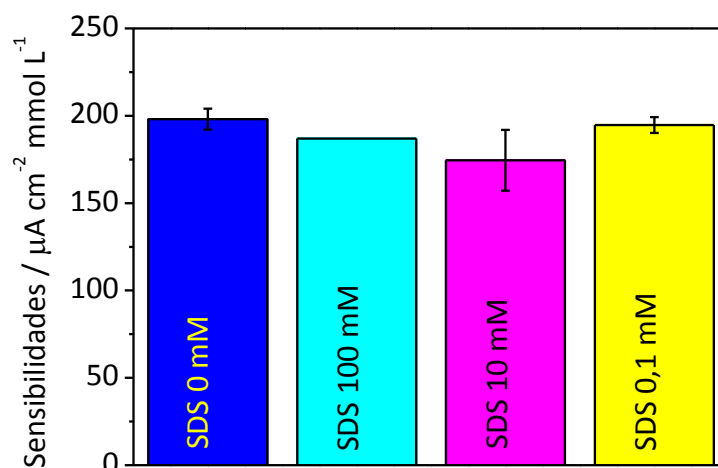


Figura 47 - Sensibilidades obtidas através da detecção de H_2O_2 com o mediador CuHCNFe/Ppy-460 nm na presença de $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, $\text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e diferentes concentrações do surfactante SDS. $E = 0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$. Número de amostras = 3 (SDS 0 mmol L^{-1}). Número de amostras = 1 (SDS 100 mmol L^{-1}). Número de amostras = 2 (SDS 10 e 0,1 mmol L^{-1}).

Pela Figura 47 é possível perceber que as sensibilidades obtidas foram, novamente, bastante similares entre todos os sistemas considerados. Conseqüentemente, os resultados apresentados até aqui para o CuHCNFe/Ppy macroporoso permitem concluir que a utilização de surfactantes torna possível o completo acesso do eletrólito à todos os sítios ativos sintetizados através da utilização de esferas de poliestireno como molde. Mais ainda, mostra que a concentração do surfactante, dentro da faixa considerada, não está influenciando o desempenho do mediador na detecção do H_2O_2 . Já foi mostrado também que essas plataformas macroporosas apresentam um fator termodinâmico inerente a ser considerado, uma vez que, diferentemente das nanopartículas, superfícies côncavas tendem a ser menos reativas que superfícies planas. Entretanto, esse efeito passa a ser mais significativo em função da diminuição do diâmetro da esfera utilizado como molde. O fato do desempenho do

CuHCNFe/Ppy-300nm ser similar ao do CuHCNFe/PPy-800nm sugere que outro fator deve estar desempenhando um papel importante. Tal fator pode ser cinético e, conforme já discutido em trabalhos anteriores por Szamocki e col. [142], desempenha um papel fundamental na utilização de plataformas macroporosas.

A Figura 48 apresenta um gráfico obtido quando eletrodos de ouro macroporosos ($d = 680 \text{ nm}$) foram utilizados como substratos para a redução do H_2O_2 . Na ocasião, Szamocki e col. mantiveram o mesmo diâmetro do molde para sintetizar plataformas com diferentes espessuras e, portanto, com variados números de camadas porosas (diferentes valores de “n” apresentados na Figura 42 - pág. 95).

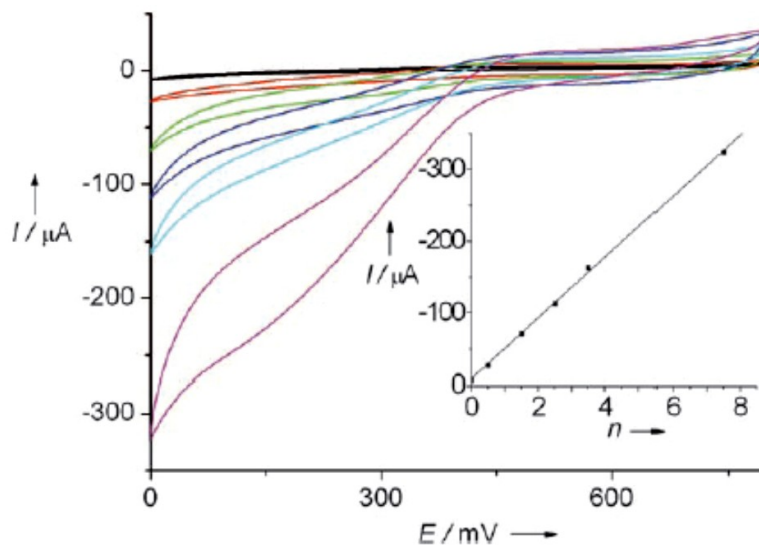


Figura 48 - Redução do H_2O_2 (concentração inicial = $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $5,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$) sobre eletrodos de Au-680nm com diferentes números de camadas porosas: eletrodo maciço (preto), $n = 0,5$ (vermelho), $n = 1,5$ (verde), $n = 2,5$ (azul escuro), $n = 3,5$ (azul claro), $n = 7,5$ (violeta); $v = 10 \text{ mVs}^{-1}$. O gráfico interno apresenta a corrente de redução obtida a $0,00 \text{ V}$ em função do número de camadas porosas (n). Figura extraída do artigo de Szamocki e col. [142]

Com esse resultado, os autores mostraram que filmes com diferentes fatores de aumento superficial apresentam comportamentos distintos durante processos eletroquímicos que ocorrem na superfície de um eletrodo. De maneira geral, quanto maior o número de camadas porosas, maior a área eletroativa do eletrodo e maior é a corrente obtida durante um processo eletroquímico de interesse. Um eletrodo de ouro poroso com $n = 7,5$ apresenta um aumento de área superficial de 27 vezes quando comparado a um eletrodo de ouro maciço, fator também observado no aumento da corrente de redução do H_2O_2 . Entretanto, vale ressaltar que os autores discutem nesse mesmo trabalho que a redução do H_2O_2 na superfície do ouro é uma reação eletroquímica de cinética lenta. Em contraste, Szamocki e col. discutem que para reações eletroquímicas de cinética rápida, como a redução do $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ para $[Ru(NH_3)_6]^{2+}$, não foi possível observar qualquer aumento significativo na atividade redox em função do aumento do número de camadas porosas. Os autores sugeriram que uma possível explicação para este comportamento estaria relacionada a um fator cinético, uma vez que a maior parte das moléculas de $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ reagiriam completamente nos poros periféricos da primeira meia camada antes de serem capazes de se difundir para os poros mais internos. Portanto, apenas uma pequena parte de toda área do ouro macroporoso estaria sendo utilizada para a reação.

O fator cinético passou a ser considerado também no presente trabalho, uma vez que o CuHCNFe/Ppy é um catalisador da redução do H_2O_2 . A questão cinética pode estar relacionada com os resultados analíticos similares obtidos até então, uma vez que apenas os poros mais externos do CuHCNFe/Ppy macroporoso estariam participando da redução do H_2O_2 . Consequentemente, o analito estaria sendo consumido antes de acessar os sítios ativos mais internos dos mediadores porosos.

Vale ressaltar que os experimentos de detecção de H_2O_2 feitos até então foram realizados por cronoamperometria, onde o mediador foi polarizado a 0,00 V vs Ag/AgCl/ Cl^-_{sat} e,

posteriormente, foram adicionadas alíquotas de H_2O_2 . Na tentativa de se aproveitar os poros mais internos do CuHCNFe/Ppy macroporoso, os experimentos de detecção de H_2O_2 passaram a ser realizados por voltametria. A voltametria é interessante na utilização dos filmes de CuHCNFe/Ppy macroporosos porque a compensação de carga entre a forma oxidada e reduzida do mediador se dá de maneira mais efetiva do que a obtida com o CuHCNFe/Ppy-maciço. A Figura 49 apresenta voltamogramas cíclicos obtidos com o CuHCNFe/Ppy-800 nm e CuHCNFe/Ppy-maciço em meios contendo $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{SDS } 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Quando sintetizados previamente, ambos os mediadores tiveram a carga monitorada para que fossem formados pela mesma quantidade de material.

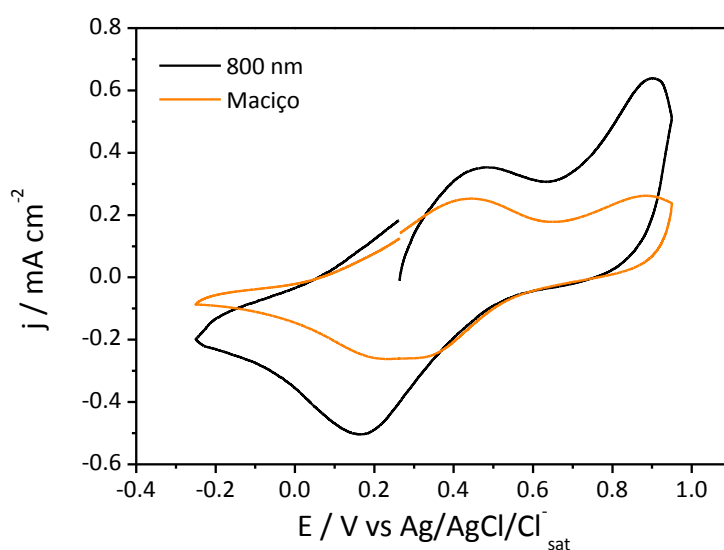


Figura 49 – Perfis j/E obtidos em $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{SDS } 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com filmes de CuHCNFe/Ppy-maciço e CuHCNFe/Ppy-800 nm sintetizados com a mesma carga. $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

A Figura 49 mostra que a quantidade de material eletroativo disponível na presença do CuHCNFe/Ppy-800nm é maior do que a do CuHCNFe/Ppy-maciço, mesmo com o controle

de carga empregado na síntese. Uma possível explicação para isso, é que os sistemas estejam trabalhando em um regime (Figura 14 – pág. 58) onde os ânions necessários para compensar a carga do Ppy e os cátions utilizados para compensar a carga do CuHCNFe consigam penetrar de maneira mais efetiva pelo mediador macroporoso, o qual apresenta maior área de contato com o eletrólito. A Figura 50 apresenta uma representação esquemática do caso.

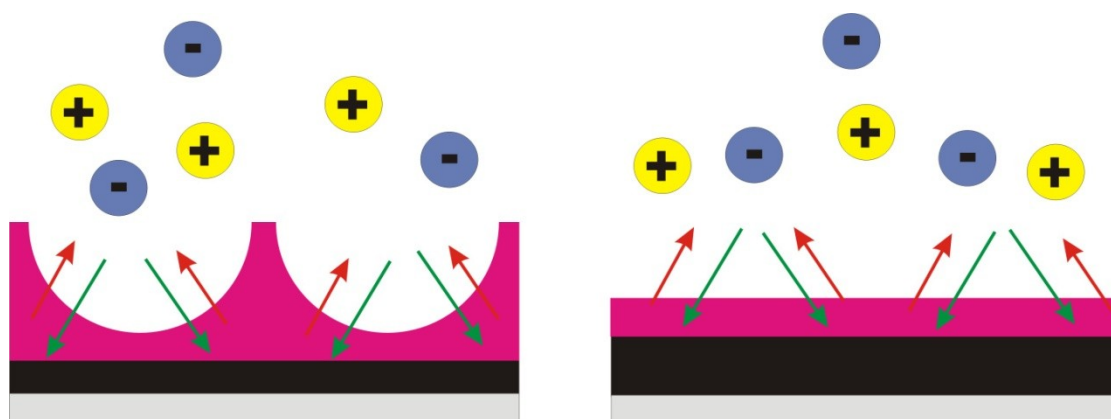


Figura 50 - Representação esquemática da compensação de carga existente durante os ciclos de oxidação e redução de um filme de CuHCNFe/Ppy macroporoso e maciço.

Portanto, com o intuito de se aproveitar a maior facilidade de compensação de carga do CuHCNFe/Ppy macroporoso, alguns experimentos iniciais de detecção de H_2O_2 também foram realizados por voltametria linear. Na ocasião, o eletrodo foi inicialmente polarizado em um potencial onde o mediador estava oxidado e, posteriormente, uma alíquota do H_2O_2 foi adicionada à solução eletrolítica contendo $NaCl\ 1,0 \times 10^{-1}\ mol\ L^{-1} + HCl\ 1,0 \times 10^{-1}\ mol\ L^{-1} + SDS\ 1,0 \times 10^{-4}\ mol\ L^{-1}$ sob agitação. Após alguns segundos, a agitação foi desligada e realizou-se uma varredura de potencial até $-0,20\ V$. O resultado obtido está apresentado na Figura 51.

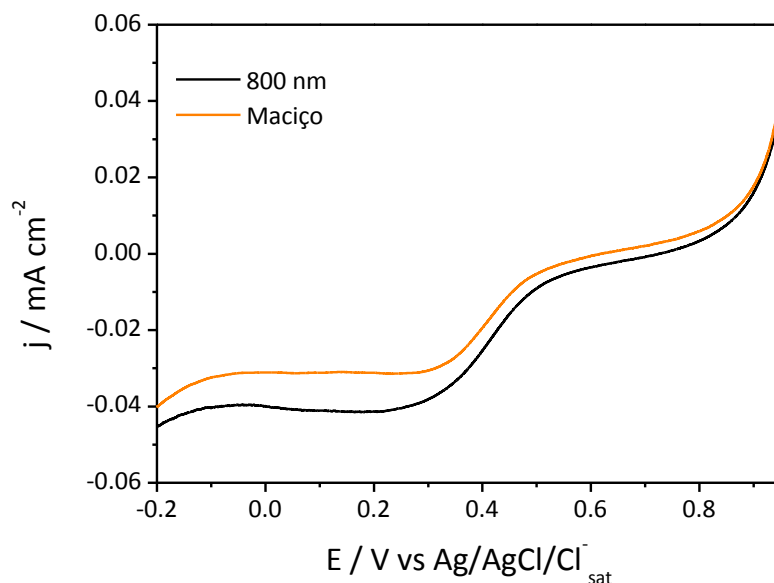


Figura 51 – Perfis j/E obtidos em $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{SDS } 1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com filmes de CuHCNFe/PPy-800nm e $\text{CuHCNFe/PPy-maciço}$ sintetizados com a mesma carga na presença de $\text{H}_2\text{O}_2 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$.

Pela Figura 51, é possível perceber que a corrente de redução apresentada pelo $\text{CuHCNFe/PPy-800 nm}$ foi maior do que a obtida com o $\text{CuHCNFe/PPy-maciço}$ na presença de H_2O_2 . Ou seja, a solução eletrolítica teve o acesso aos sítios mais internos do CuHCNFe/PPy-800nm facilitado por causa da utilização do SDS. Uma vez que a área superficial do CuHCNFe/PPy-800nm é maior do que a do $\text{CuHCNFe/PPy-maciço}$, a quantidade de contra-íons que participam do processo de compensação de carga favorece a eletroatividade do CuHCNFe/PPy macroporoso. Além disso, a voltametria permite que o H_2O_2 entre em contato com os poros mais internos antes do CuHCNFe/PPy estar no potencial necessário para reduzir o analito. Quando a cronoamperometria é utilizada, o H_2O_2 entra em contato com o mediador já no potencial ótimo de detecção. Portanto, a utilização da voltametria parece ser mais vantajosa para reações eletroquímicas de cinética rápida, com o

intuito de minimizar o consumo do analito nos poros mais externos. Vale ressaltar que os resultados de detecção de H_2O_2 obtidos por voltametria linear são preliminares e ainda não foi possível se obter um aumento da corrente de redução próximo ao aumento teórico da área superficial obtido através da Equação 4 – pág. 96 ($f = 9$ vezes). Entretanto, esse é um resultado que ajuda a compreender os fatores que devem ser considerados para a utilização das plataformas macroporosas.

Portanto, como conclusão desse trabalho, foi possível mostrar que filmes macroporosos sintetizados com o mesmo número de camadas porosas, independentemente do diâmetro da esfera utilizada com molde, apresentam o mesmo fator de aumento superficial em relação ao seu análogo maciço. Entretanto, uma série de fatores deve ser considerada para verificar se de fato toda a área sintetizada está ativa e disponível para a realização de experimentos eletroquímicos. Quanto menor o diâmetro das superfícies côncavas sintetizadas, maior é a dificuldade de conexão entre as camadas externas e internas – tipicamente com dimensões entre 20 e 30% do diâmetro da esfera utilizada como molde. Além disso, mais acentuada é a diminuição do potencial químico, o que prejudica a reatividade do sistema. Uma vez que o tamanho da esfera utilizada como molde é otimizado, é preciso garantir que o eletrólito possa penetrar pelos poros e acessar os sítios ativos localizados no interior do material, o que pode ser feito com auxílio de surfactantes. Por fim, mesmo após garantir essas condições, é preciso verificar se a cinética envolvida na reação eletroquímica de interesse permite utilizar todas as camadas porosas sintetizadas, ou se a reação é demasiada rápida e ocorre apenas nos poros mais externos do material.

Os resultados apresentados nessa seção foram obtidos em colaboração com o aluno de Iniciação Científica Álann de Oliveira P. Bragatto. As medidas de ângulos de contato na ausência do surfactante foram realizadas no laboratório da Prof^a. Dr^a. Denise Freitas Siqueira Petri, no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo.

4.3. Mediador mesoporoso

A terceira estratégia utilizada na miniaturização de mediadores de H_2O_2 consistiu na utilização de micelas de surfactante em fase hexagonal como molde, conforme descrito na seção introdutória.

O princípio é bastante semelhante ao método onde as esferas de poliestireno foram utilizadas para a formação do CuHCNFe/PPy macroporoso. A diferença está centrada no tamanho dos poros resultantes. No caso das partículas coloidais, os moldes eram formados por esferas com diâmetros controlados que serviam de barreira física para a deposição do mediador. Já no caso dos mesoporos, são utilizados cristais líquidos formados por misturas de surfactantes e soluções que contenham os precursores do material que se deseja depositar. Nesse caso, as micelas formadas atuam como molde e são capazes de produzir poros entre 2 e 50 nm. No caso da utilização de soluções aquosas para deposição, as micelas apresentam a parte polar exposta à solução e a porção apolar localizada em seu interior. Essa característica é importante porque permite o controle do tamanho dos poros através do tamanho da cadeia carbônica do surfactante utilizado ou através da utilização de um solvente apolar capaz de inchar as micelas do surfactante.

Apesar desse método gerar uma superfície côncava mais estável termodinamicamente, ele apresenta uma maior área superficial e, conseqüentemente, a exposição de um número maior de sítios ativos do que os mediadores macroporosos. Esse balanço torna a comparação entre as distintas plataformas porosas bastante interessante.

O primeiro passo consistiu na determinação da razão surfactante/solução de deposição necessária para a formação da fase micelar hexagonal. Essa determinação foi realizada através da construção de um diagrama de fase com o auxílio da Microscopia Óptica sob Luz Polarizada. O diagrama está apresentado na Figura 52.

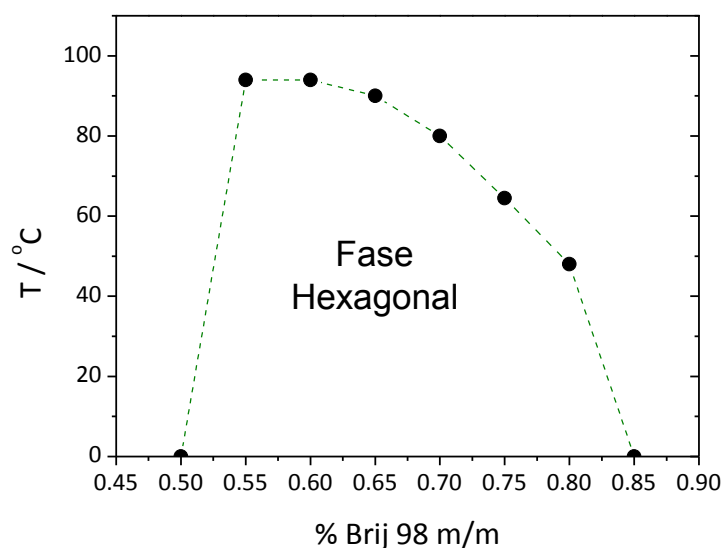


Figura 52 - Diagrama de fase construído para sistemas formados pelo surfactante Brij 98 e por soluções aquosas de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ + pirrol $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ + KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

Com o diagrama, é possível estabelecer a temperatura e a quantidade de surfactante envolvida na formação da fase hexagonal. Para tal, foi utilizado um surfactante comercial não iônico conhecido como Brij 98, o qual é um polioxietileno oleil éter de fórmula $\text{C}_{18}\text{H}_{35}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$, com $n \sim 20$. A composição escolhida para a síntese do Ppy dopado com íons $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (primeira etapa eletroquímica para a síntese do CuHCNFe/PPy) apresentou 65% em massa de surfactante e 35% em massa da solução aquosa, uma vez que no centro do diagrama existe uma melhor formação da fase hexagonal. O resultado obtido está apresentado na Figura 53.

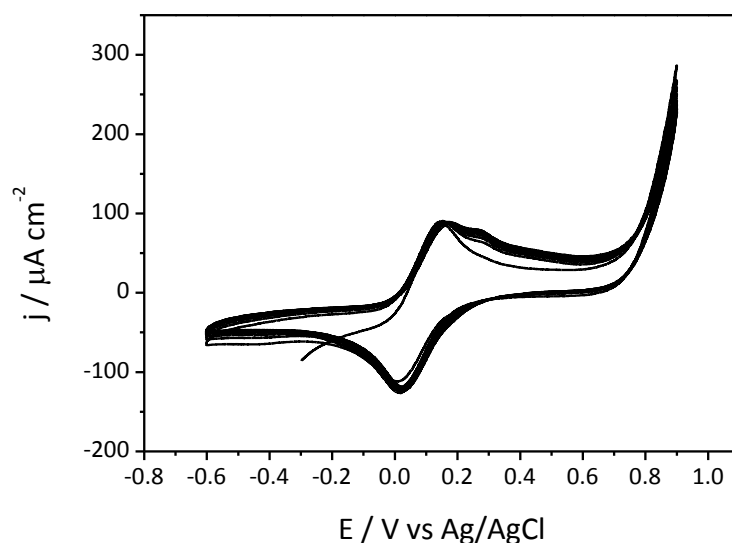


Figura 53 – Perfis j/E obtidos durante a síntese do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Ppy}$ em um sistema contendo 65% m/m Brij 98 e 35% m/m solução aquosa de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, pirrol $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e KCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ e $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Pela Figura 53 é possível perceber que não existe um aumento da corrente redox proveniente do par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ conforme a ciclagem. Isso significa que a espécie está se oxidando e reduzindo na superfície do eletrodo, mas não está participando da formação de um filme. Isso ocorre porque o pirrol não está se polimerizando na superfície do eletrodo, fato que é evidenciado pela falta de incremento na corrente em torno de +0,60 V. Como o sistema 65% m/m Brij 98 e 35% m/m solução é bastante viscoso, foram realizadas tentativas que poderiam melhorar a difusão do pirrol até a superfície do eletrodo, tais como diminuição da velocidade de varredura, deposição por cronoamperometria com altos tempos de deposição e aumento de temperatura. Entretanto, em nenhum dos casos foi possível observar a formação do Ppy. Um dos motivos especulados é que o monômero de pirrol, devido a sua estrutura, possa ficar “preso” na interface da micela do surfactante e não consiga se difundir até a superfície do eletrodo.

Uma vez que não foi possível sintetizar um mediador com essas características, uma alternativa veio com a síntese de um eletrodo mesoporoso que poderia ser utilizado para a imobilização de um mediador capaz de ser utilizado na detecção do H₂O₂. O eletrodo em questão é um ITO modificado com um filme de TiO₂ mesoporoso através do processo de “*dip-coating*”. Para tal, o ITO foi imerso em um sistema líquido cristalino em fase cúbica contendo o surfactante Pluronic F127 e uma solução etanólica anidra de TiCl₄ na razão molar 5,0 x 10⁻⁵ mol de surfactante/1,0 x 10⁻² mol de TiCl₄. Posteriormente, foram adicionados 1,0 x 10⁻¹ mol de água no sistema para causar a hidrólise do precursor inorgânico. O ITO foi então removido do sistema, sendo o processo conduzido em uma câmara com umidade controlada. A velocidade utilizada e a umidade relativa são parâmetros importantes para a formação de um filme adequado. A velocidade ótima de imersão é de 1,5 mm s⁻¹ e o processo foi conduzido, inicialmente, com 30% de umidade relativa. Posteriormente, o eletrodo foi envelhecido por 2 dias em uma câmara com umidade controlada entre 50% e 60%. Ao final dessa etapa, o precursor inorgânico hidrolisado do TiO₂ foi formado em fase cúbica segundo a Figura 54.

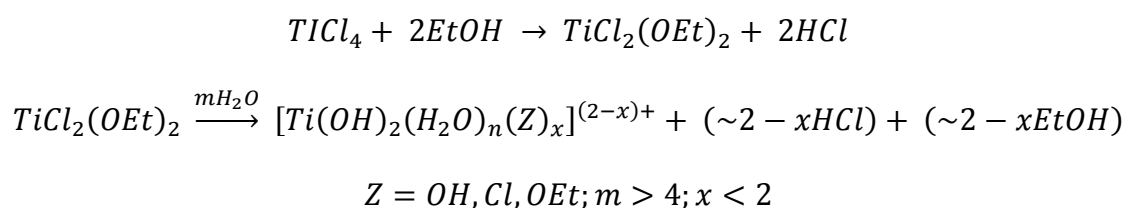


Figura 54 – Hidrólise do precursor inorgânico do TiO₂ em um sistema líquido cristalino em fase cúbica. Reações extraídas de Crepaldi e col. [116]

Conforme detalhado na Parte Experimental, o sistema também foi submetido a uma série de tratamentos térmicos necessários para a formação da fase micelar hexagonal a partir da cúbica e para a formação do filme de TiO₂. O aumento da temperatura também possibilitou a

remoção das micelas de surfactante por decomposição térmica. [116] O filme de TiO_2 mesoporoso resultante do processo foi caracterizado por MEV e o resultado está apresentado na Figura 55A. Já a Figura 55B mostra a distribuição média dos diâmetros de poros obtidos.

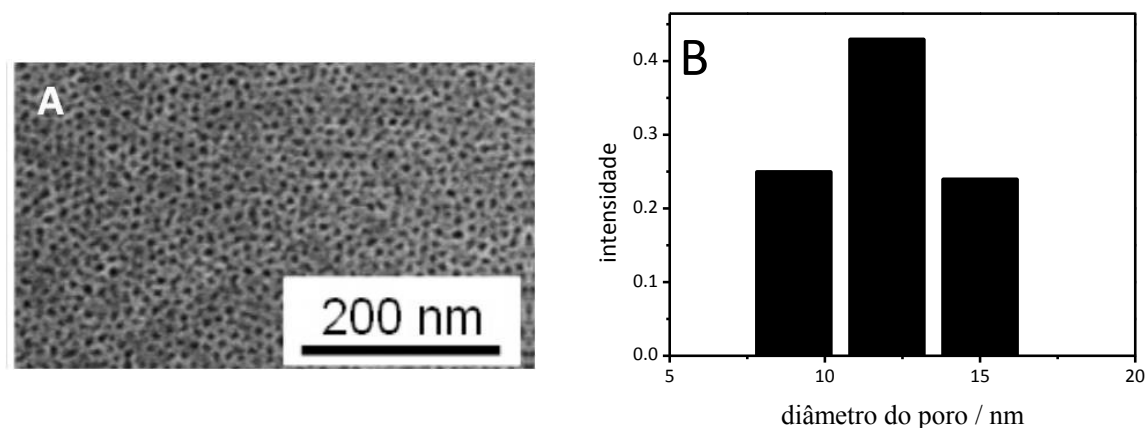


Figura 55 – (A) Imagem de MEV de um filme de $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ e (B) perfil intensidade/diâmetro de poro obtido com o $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. Imagens extraídas de Malfatti e col. [117]

O filme apresenta arranjos porosos com 13 nm de diâmetro e, além disso, as condições empregadas no processo de “*dip-coating*” possibilitaram a formação de um filme com 130 nm de espessura, conforme caracterizado por Malfatti e col. por Refletividade por Difração de Raios-X e Elipsometria. Essas plataformas serão denominadas como $\text{TiO}_2(d-e)$, onde “d” é o diâmetro do poro e “e” é a espessura do filme de TiO_2 .

Após a síntese, os filmes de $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ foram modificados com o ligante 1,10-fenantrolina-5,6-diona, cuja fórmula estrutural é apresentada na Figura 56.

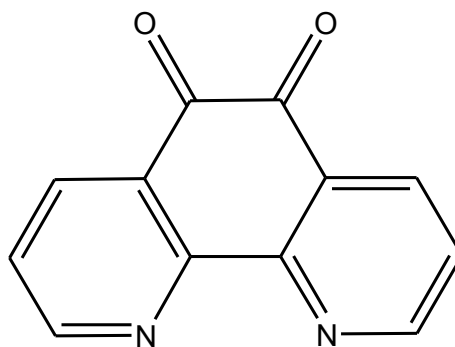


Figura 56 – Fórmula estrutural da 1,10-fenantrolina-5,6-diona

Quando dissolvidos em solventes como o etanol ou a acetona, os átomos de oxigênio de compostos derivados de grupos diona são capazes de se ligar irreversivelmente a sítios superficiais de Ti^{4+} , gerando uma plataforma de $TiO_{2(13nm-130nm)}$ modificada com uma monocamada bastante estável de 1,10-fenantrolina-5,6-diona. [143] Outra vantagem de se trabalhar com esse composto está relacionada com o fato do mesmo ser um ligante bidentado, sendo que os átomos de nitrogênios da extremidade oposta dos grupos diona se mantêm livres para coordenar outras espécies, como por exemplo cátions de metais de transição. Conseqüentemente, quando o filme de $TiO_{2(13nm-130nm)}$ modificado com o ligante 1,10-fenantrolina-5,6-diona é exposto a uma solução aquosa contendo íons Fe^{2+} , os mesmos se coordenam aos dois átomos de nitrogênio da molécula orgânica (Figura 57A). Uma vez que a esfera de coordenação do Fe^{2+} suporta seis ligantes, ainda é possível utilizar os quatro sítios restantes para a coordenação com átomos de nitrogênio oriundos de uma segunda espécie. Para tal, o eletrodo $TiO_{2(13nm-130nm)}$ modificado com 1,10-fenantrolina-5,6-diona- Fe^{2+} foi imerso em uma solução aquosa contendo $Fe(CN)_6^{3-}$ (Figura 57B). Após essa etapa, foi possível observar a formação de uma coloração azulada na superfície do eletrodo, característica do complexo azul da Prússia ($FeHCNFe$). Esse processo de imersão nas soluções contendo íons Fe^{2+} e $Fe(CN)_6^{3-}$ gerou uma monocamada de $FeHCNFe$ sobre o $TiO_{2(13nm-130nm)}$ (Figura 57C). Tal processo pode ser repetido diversas vezes, sendo que cada

repetição é capaz de formar uma monocamada de azul da Prússia sobre a camada anterior (Figura 57D). Esses materiais serão denominados como $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, onde “n” é o número de camadas de mediador presente no eletrodo modificado.

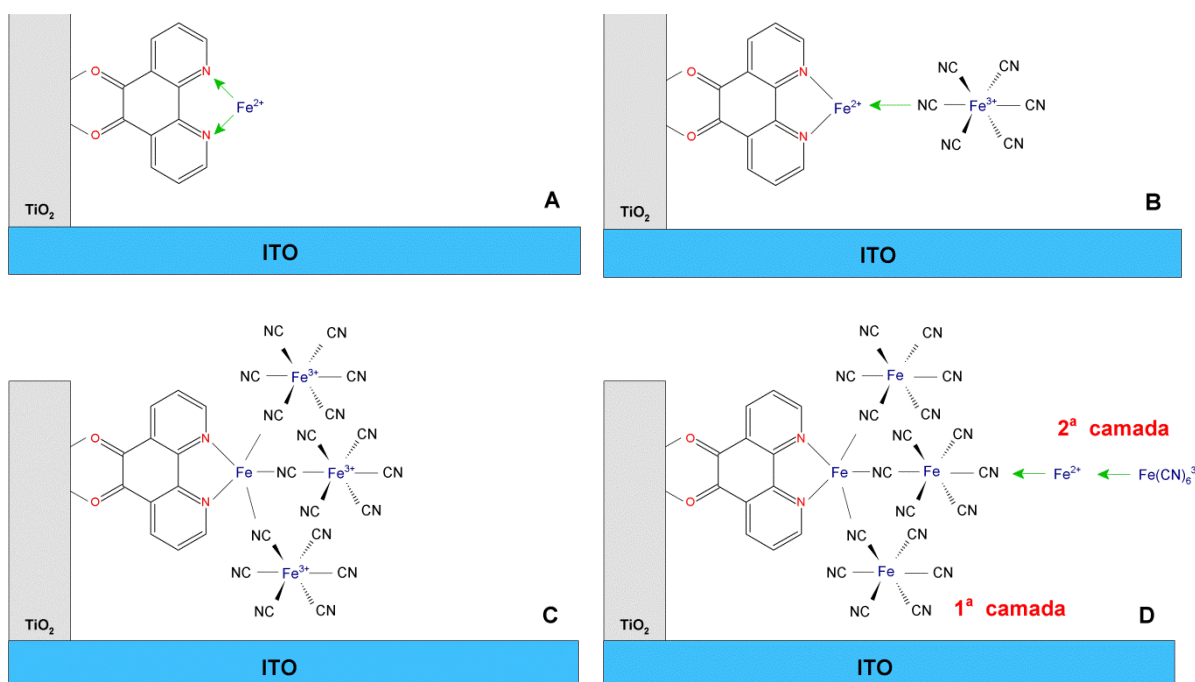


Figura 57 – Representação esquemática da imobilização das camadas de azul da Prússia sobre o $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ modificado com o ligante 1,10-fenantrolina-5,6-diona.

A Figura 58 apresenta os perfis j/E obtidos com os filmes $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 6) em $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, onde é possível perceber que a quantidade de mediador eletroativo aumenta em função do número de camadas de azul da Prússia imobilizadas. O eletrólito KCl foi escolhido porque o raio iônico hidrodinâmico do K^+ é capaz de acessar as vacâncias estruturais do azul da Prússia e realizar a compensação de carga entre a forma reduzida $\text{K}_2\text{Fe}^{\text{II}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ e oxidada $\text{KFe}^{\text{III}}[\text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6]$ do mediador.

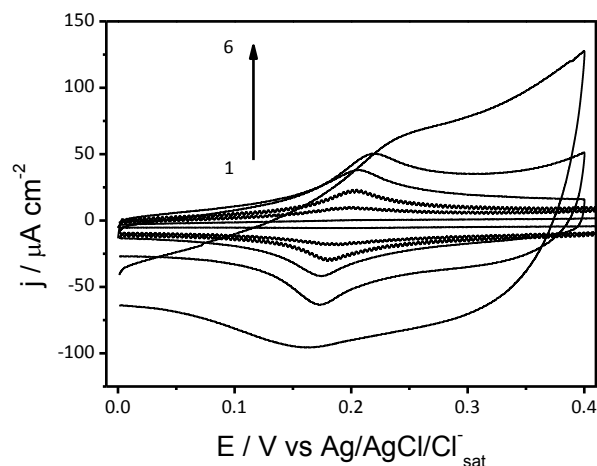


Figura 58 – Perfis j/E obtidos em $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ com os filmes $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 6). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

Esse mesmo eletrólito foi utilizado para os experimentos de detecção de H_2O_2 , o qual foi realizado por cronoamperometria a $0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$. As sensibilidades obtidas com os filmes $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 6) estão apresentadas na Figura 59A.

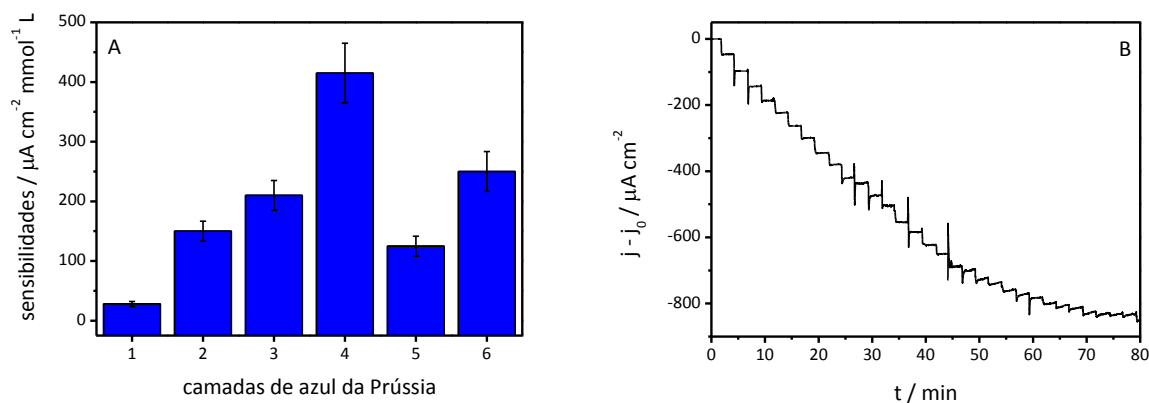


Figura 59 – (A) sensibilidades obtidas durante a detecção de H_2O_2 com os filmes $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 6). Número de amostras = 7. (B) cronoamperograma obtido com o $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ durante a adição de alíquotas de $5 \mu\text{L}$ de $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $E = 0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$

É possível observar na Figura 59A que existe um comportamento bastante peculiar da variação das sensibilidades em função do número de camadas de azul da Prússia immobilizadas sobre o $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. Inicialmente, a sensibilidade aumenta até a quarta camada, onde atinge o valor máximo de $(41 \pm 5) \times 10 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. Entretanto, ao se aumentar a quantidade de azul da Prússia presente no eletrodo em função da imobilização da quinta camada, é possível perceber que a sensibilidade diminui para $(12 \pm 2) \times 10 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. Por fim, também é possível notar que a imobilização da sexta camada aumenta a sensibilidade novamente para $(25 \pm 3) \times 10 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$.

A compreensão desse comportamento pode ser obtida com auxílio da Espectroscopia na Região do Visível e da Microscopia Eletrônica de Varredura. Para tal, a Figura 60 apresenta o monitoramento do espectro de absorção no visível para os filmes $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 6).

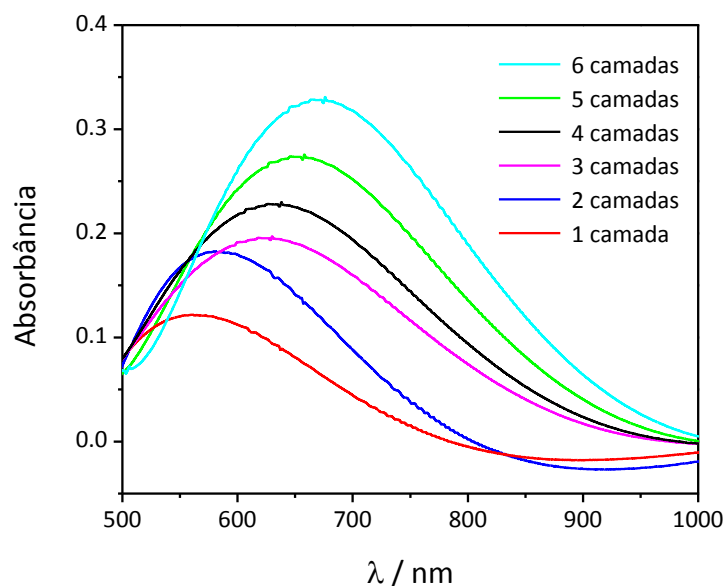


Figura 60 - Espectros na região do visível dos mediadores $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ com “n” de 1 a 6.

O azul da Prússia apresenta uma intensa coloração em função de um processo de transferência de carga em sistemas inorgânicos de valência mista. Tal material apresenta, caracteristicamente, uma banda de absorção centrada em $\lambda = 690$ nm. [144] Entretanto, pela Figura 60, é possível notar que a energia da transição eletrônica envolvida na coloração do azul da Prússia está deslocada para comprimentos de onda menores em filmes com menor quantidade de mediador imobilizado. À medida que mais camadas são depositadas, além do aumento da intensidade da absorbância, é possível notar que a energia da transição se desloca mais para a região do vermelho, ou seja, fica mais similar à energia encontrada na transição eletrônica de um filme de azul da Prússia maciço ($\lambda = 690$ nm).

Esse deslocamento pode estar associado a uma mudança estrutural do composto inorgânico em função do número de camadas de mediador imobilizadas. Em função desse aspecto, foram obtidas imagens de MEV para os filmes $(\text{FeHCNFe})_2/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. As imagens estão apresentadas nas Figuras 61A, B e C, respectivamente.

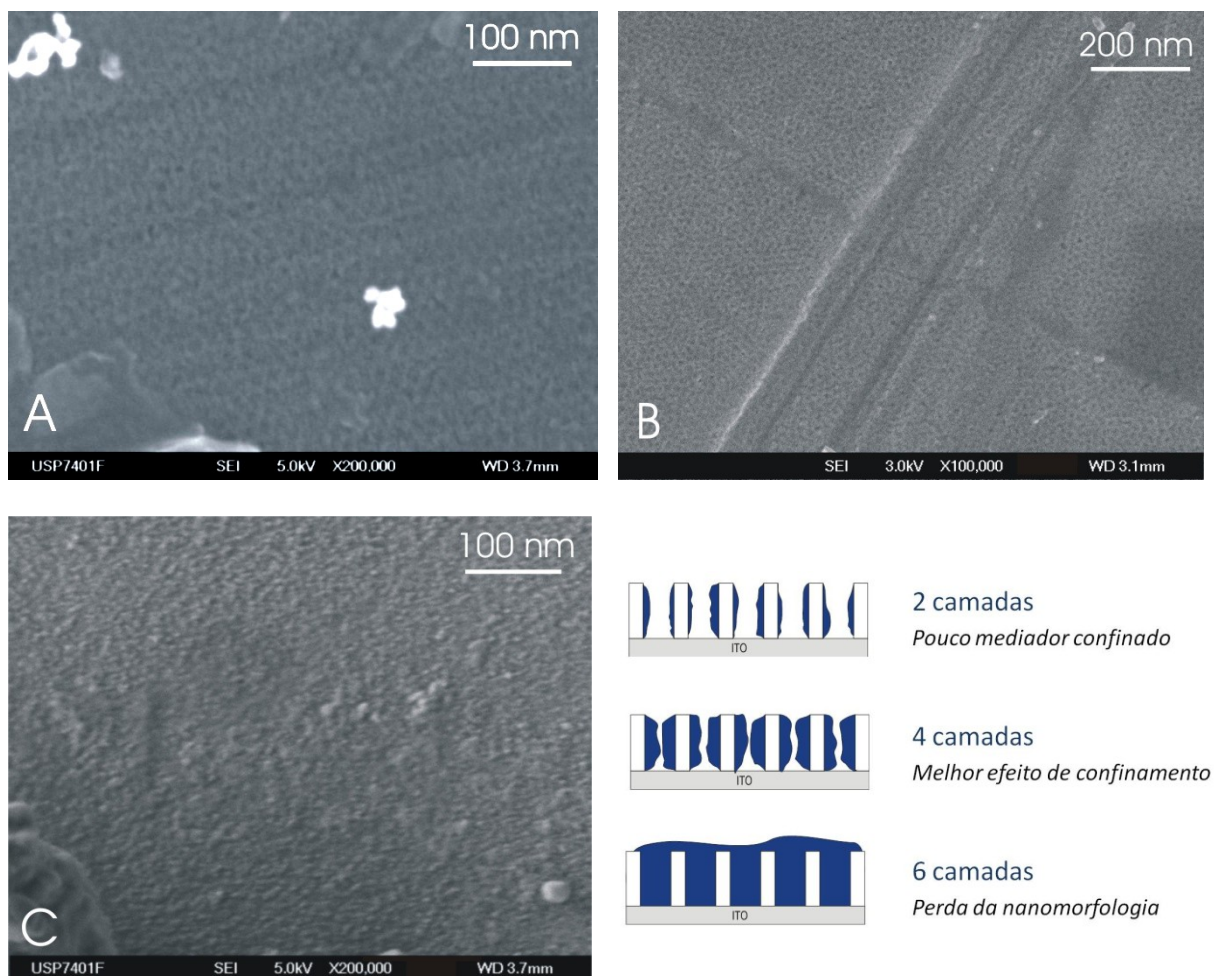


Figura 61 – Imagens de MEV obtidas com os mediadores (A) $(\text{FeHCNFe})_2/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, (B) $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ e (C) $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. A Figura também apresenta uma representação esquemática da variação do efeito de confinamento em função do número de camadas de mediador depositado.

Pela Figura 61A é possível perceber que a imobilização de duas camadas de azul da Prússia na plataforma de TiO_2 não foi capaz de ocasionar a perda da estrutura mesoporosa do filme. Isso significa que todo o mediador foi imobilizado dentro dos mesoporos de TiO_2 , conforme ilustrado na representação esquemática da Figura 61. A manutenção dessa nanomorfologia também pode ser observada na Figura 61B, onde quatro camadas de azul da Prússia estão confinadas dentro dos mesoporos do TiO_2 . O aumento da quantidade de mediador acarreta no aumento da sensibilidade, uma vez que existe um número maior de

sítios ativos disponíveis para a reação com o H_2O_2 . Além disso, os espectros na região do visível mostram que as bandas de absorção dos filmes $(\text{FeHCNFe})_2/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ estão deslocadas para valores menores que 690 nm, o que é um indício da presença de defeitos estruturais na rede. A presença desses defeitos é importante porque aumenta a reatividade do mediador. Entretanto, ao se imobilizar a quinta camada, existe a diminuição da sensibilidade obtida. Esse resultado é bastante interessante porque é uma indicação direta do efeito de confinamento do mediador dentro dos mesoporos de TiO_2 . Com a deposição da quinta camada, existe o preenchimento total dos poros e um prejuízo significativo da acessibilidade dos sítios ativos. A perda desse efeito de confinamento é mantida para todas as camadas de azul da Prússia imobilizadas posteriormente. Conforme observado na Figura 61C, os poros estão completamente preenchidos no $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, sendo encontrada uma morfologia granular típica do azul da Prússia formado por coordenação sequencial de íons. [29] Entretanto, o aumento da sensibilidade em relação ao $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ existe porque o filme de azul da Prússia é permeável ao H_2O_2 , sendo que a sua redução não ocorre apenas em sítios superficiais. [21] Mesmo assim, a relação acessibilidade dos centros reativos/volume não é mais tão favorável como era no caso do $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. Mais ainda, a adição de um maior número de camadas de azul da Prússia acarreta em uma aproximação da banda de absorção exibida pelo material maciço ($\lambda_{\text{max}} = 685 \text{ nm}$), o que é um indício da diminuição do número de defeitos reativos encontrados na rede. Tal fato faz com que o filme $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ seja estruturalmente mais parecido com um filme de azul da Prússia maciço.

Resumidamente, o desempenho analítico do FeHCNFe no presente caso está diretamente relacionado à presença de defeitos estruturais em sua rede e ao efeito de confinamento gerado pela estrutura mesoporosa do TiO_2 . Entretanto, como se trata de um sistema poroso, os

experimentos de ângulo de contato são importantes para a investigação da acessibilidade dos sítios internos por parte da solução aquosa utilizada como eletrólito durante os experimentos de detecção de H_2O_2 . A Figura 62 apresenta o resultado obtido quando uma gota de $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foi posicionada sobre o $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$.

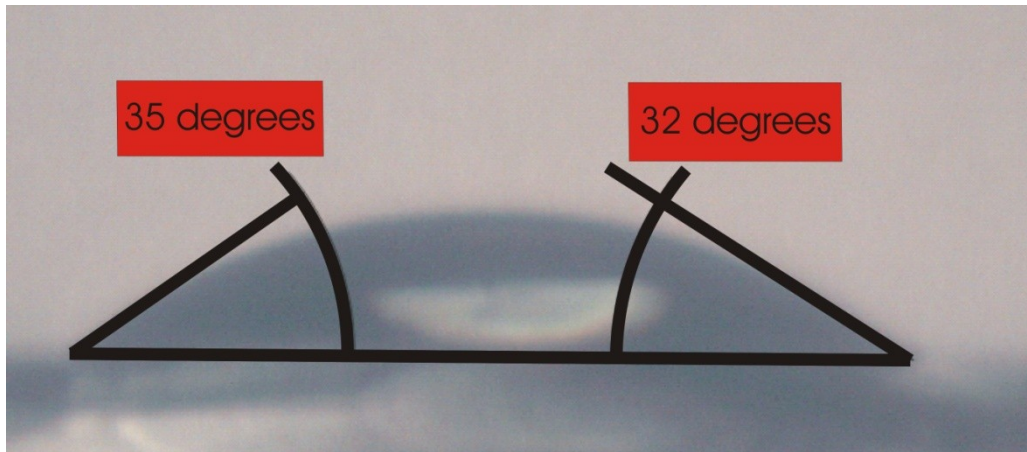


Figura 62 – Mediadas de ângulo de contato obtidas quando uma gota contendo solução de $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foi posicionada sobre o $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$.

Os ângulos observados estão entre 30° e 35° , o que realça o caráter hidrofílico da superfície. Portanto, diferentemente do $\text{CuHCNFe}/\text{PPy}$ macroporoso, os mediadores mesoporosos de azul da Prússia apresentam uma boa molhabilidade em sistemas aquosos.

Os resultados apresentados até agora para os mediadores mesoporosos fazem alusão às plataformas $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. Entretanto, a espessura dos filmes pode ser aumentada através do emprego de diferentes condições experimentais no processo de “*dip-coating*”. Por exemplo, o processo de imersão/emersão utilizado para a formação dos filmes de 130 nm pode ser feito duas vezes, imobilizando-se um sistema líquido cristalino sobre o molde de micelas fixado previamente. Esse procedimento foi capaz de gerar filmes de TiO_2 mesoporosos com 260 nm de espessura. Outra possibilidade consistiu na diminuição da

velocidade de imersão/emersão utilizada na primeira abordagem, o que alterou a espessura do molde imobilizado e possibilitou a síntese de filmes com 200 nm de espessura. As plataformas mais espessas são interessantes porque elas possibilitam o confinamento de um maior número de sítios ativos acessíveis dentro do TiO₂ mesoporoso. Como o diâmetro de 13 nm foi preservado para as diferentes espessuras, manteve-se o número de 4 camadas de azul da Prússia para o estudo da influência da profundidade do filme na sensibilidade obtida durante a detecção do H₂O₂. A Figura 63 apresenta os resultados obtidos para as plataformas (FeHCNFe)₄/TiO₂(13nm-130nm), (FeHCNFe)₄/TiO₂(13nm-200nm) e (FeHCNFe)₄/TiO₂(13nm-260nm).

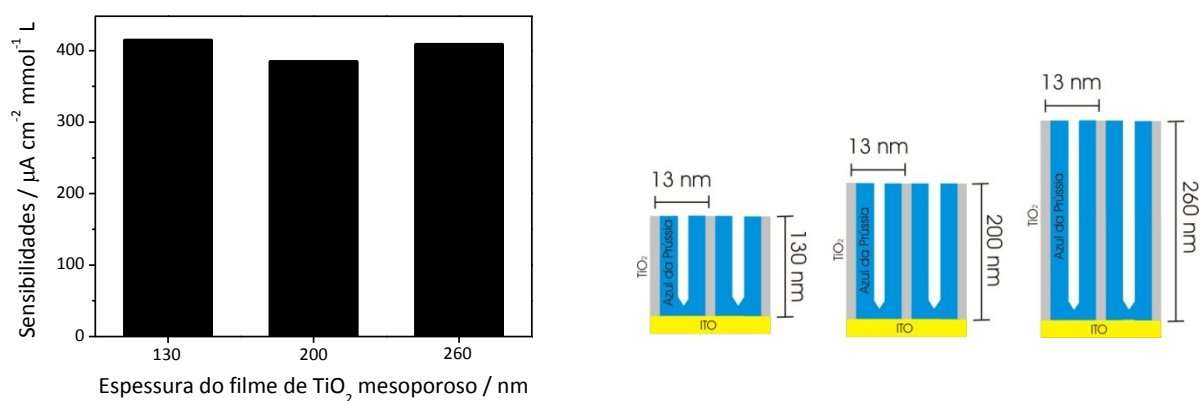


Figura 63 - Sensibilidades obtidas durante a detecção de H₂O₂ com os mediadores

(FeHCNFe)₄/TiO₂(13nm-130nm), (FeHCNFe)₄/TiO₂(13nm-200nm) e (FeHCNFe)₄/TiO₂(13nm-260nm).

Solução eletrolítica contendo KCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ + HCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹. E = 0,00 V vs Ag/AgCl/Cl⁻_{sat}.

Pela Figura 63, é possível perceber que as sensibilidades obtidas foram bastante similares independentemente da espessura do mediador poroso utilizado. Vale ressaltar que, assim como no caso do CuHCNFe/Ppy, o azul da Prússia também é um catalisador da redução do H₂O₂. Esse resultado é interessante quando ponderamos que a cinética rápida da reação pode

estar fazendo com que apenas o mediador localizado em regiões superiores do canal fique responsável pela redução do H_2O_2 , mesmo tratando-se de um mediador mais permeável ao analito do que o CuHCNFe/Ppy.

Conforme descrito na Parte Experimental, outra abordagem está relacionada com a variação do tamanho dos poros dos filmes de TiO_2 , os quais podem ter o seu diâmetro de 13 nm aumentado em função da adição de agentes capazes de inflar as dimensões das micelas de surfactante presente no sistema líquido cristalino, tais como o tetrahidrofurano e o polipropilenoglicol. Isso possibilitou a síntese filmes de TiO_2 com espessura de 130 nm e diâmetros de poros de 20 e 40 nm, conforme apresentados na Figura 64A e 64C, respectivamente. A Figura 64B apresenta a distribuição média dos poros obtida para o $TiO_2(20nm-130nm)$ e a Figura 64D para o $TiO_2(40nm-130nm)$.

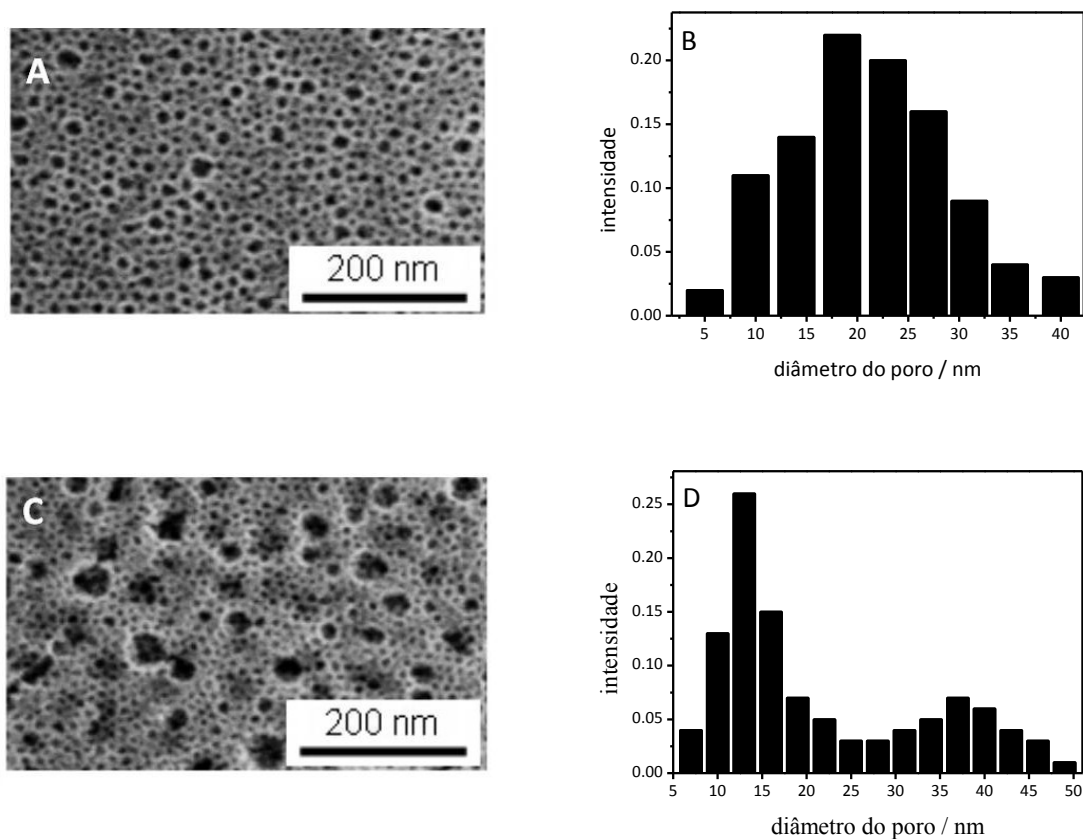


Figura 64 – Imagem de MEV e perfis intensidade/diâmetro de poro obtidos com (A,B) $TiO_2(20nm-130nm)$ e (C,D) $TiO_2(40nm-130nm)$. Imagens extraídas de Malfatti e col. [117]

Conforme observado na Figura 64, as plataformas de $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e $\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ não apresentam uma estrutura porosa tão uniforme quanto a encontrada para os filmes de $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. No caso do sistema $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$, a maior parte do filme apresenta cavidades entre 15 e 25 nm, sendo também possível encontrar poros com diâmetros acima ou abaixo desses valores. Já no caso do sistema $\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$, o que se encontra de fato são algumas cavidades entre 35 e 40 nm cercadas por uma série de poros com 13 nm de diâmetro.

As plataformas $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e $\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ foram utilizadas para a imobilização de diferentes camadas de azul da Prússia seguindo o mesmo protocolo aplicado para os filmes de $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. Após a imobilização do mediador, os eletrodos foram utilizados para a detecção de H_2O_2 em eletrólitos contendo $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. As sensibilidades obtidas estão apresentadas na Figura 65A, enquanto a Figura 65B mostra a curva analítica obtida com o $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$.

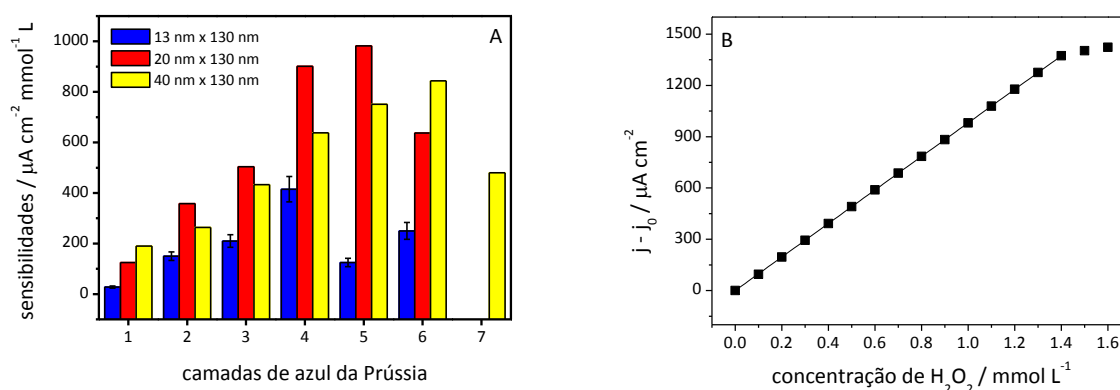


Figura 65 – (A) sensibilidades obtidas durante a detecção de H_2O_2 com os filmes $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 6) e $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 7). O gráfico também recapitula os valores de sensibilidades obtidos para o $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ (com “n” de 1 a 6). (B) curva analítica obtida com o $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ durante a adição de alíquotas de $5 \mu\text{L}$ de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. $E = 0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$

Seguindo o mesmo comportamento dos sistemas $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ discutidos anteriormente, as sensibilidades dos mediadores $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ também aumentaram até um número específico de camadas imobilizadas e, posteriormente, decaíram consideravelmente. Entretanto, é possível notar que o número de camadas que podem ser imobilizadas antes da perda da sensibilidade varia em função do diâmetro dos poros presentes na plataforma de TiO_2 . Para as plataformas $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ foi possível aumentar a exposição de sítios ativos confinados dentro dos mesoporos até 4 camadas, quando a sensibilidade alcançou um valor médio de $(41 \pm 5) \times 10 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. Para os mediadores $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$, a sensibilidade aumentou até a imobilização de 5 camadas, quando alcançou o valor de $981 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. A possibilidade de se aumentar o número de camadas de mediador que podem ser imobilizadas antes de se perder o efeito de confinamento está relacionada com o fato do $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ apresentar poros com diâmetros maiores do que os sistemas $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$. Entretanto, o resultado se torna ainda mais interessante quando lembramos que as plataformas de $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ apresentam uma área superficial disponível para a imobilização do mediador maior do que as plataformas de $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$. Consequentemente, o comportamento analítico obtido pode estar relacionado a uma maior facilidade de acesso da solução eletrolítica pelo $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ em relação ao $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, uma vez que a plataforma apresenta poros com maiores dimensões. Esse fenômeno pode facilitar tanto a permeabilidade do H_2O_2 aos sítios ativos mais internos do mediador mesoporoso quanto à compensação de carga entre a forma oxidada e reduzida do azul da Prússia localizado dentro dos poros. A comprovação que uma maior quantidade de mediador eletroativo está disponível na situação ótima de operação para as plataformas $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ em relação aos sistemas $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ pode ser evidenciada na Figura 66.

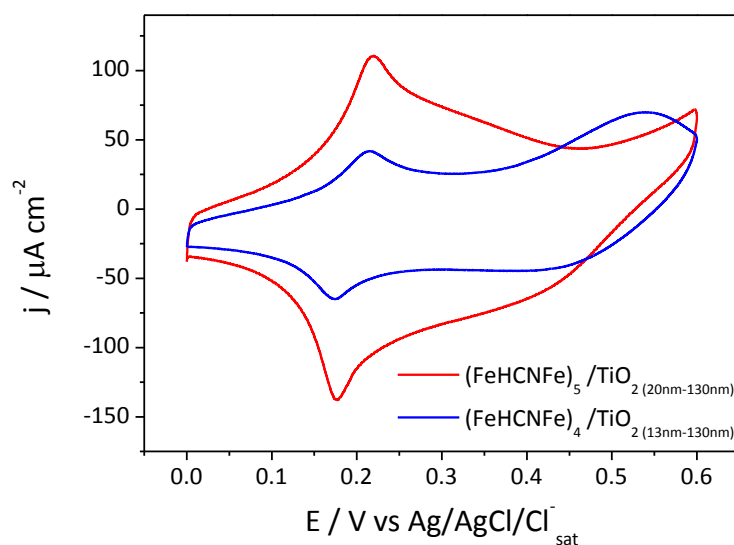


Figura 66 - Perfis j/E obtidos em $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ com os filmes $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$.

Pela Figura 65, também é possível observar que as plataformas $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ tiveram os valores de sensibilidades aumentadas até a imobilização de 6 camadas de azul da Prússia antes de terem seus poros preenchidos. Esse comportamento é mais complexo porque os poros de 40 nm estão cercados por poros de 13 nm, mas também pode ser interpretado em função da presença de cavidades maiores do que as duas plataformas discutidas anteriormente. Mesmo assim, a melhor performance obtida pelo mediador $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ registrou uma sensibilidade de $844 \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$. Tal valor é menor do que o exibido pelo mediador $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$, o que indica que o ganho na acessibilidade pelos sistemas $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ em relação aos mediadores $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ não está melhorando o desempenho do sensor durante a detecção de H_2O_2 . Tal resultado sugere que o comportamento dos sistemas mesoporosos apresentados aqui é controlado por uma relação entre quantidade de mediador imobilizado e acessibilidade do H_2O_2 aos centros reativos desses materiais. Plataformas de $\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ permitem, em teoria, a imobilização de uma quantidade maior de mediador.

Entretanto, a acessibilidade desses sistemas não é tão vantajosa quanto a dos sistemas de $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$. Já as plataformas de $\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ também possuem uma acessibilidade favorecida. Entretanto, são capazes de imobilizar menos material do que os sistemas $\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$.

Conforme realçado na seção introdutória, o azul da Prússia é eletroativo na presença de cátions K^+ ou de outros cátions cujos raios iônicos hidrodinâmicos sejam menores do que as vacâncias apresentadas pela estrutura do material. Conseqüentemente, cátions como o Na^+ , H^+ , Li^+ e todos os cátions da família dos alcalinos terrosos possuem raios iônicos hidrodinâmicos grandes o suficiente para bloquear facilmente a atividade do azul da Prússia. [27] Para fins ilustrativos, a Figura 67 apresenta os perfis j/E obtidos em eletrólitos contendo K^+ e Na^+ em $\text{pH} = 1$. Como eletrodo de trabalho, foi utilizado um ITO modificado com um filme de azul da Prússia maciço, o qual foi depositado convencionalmente por cronoamperometria.

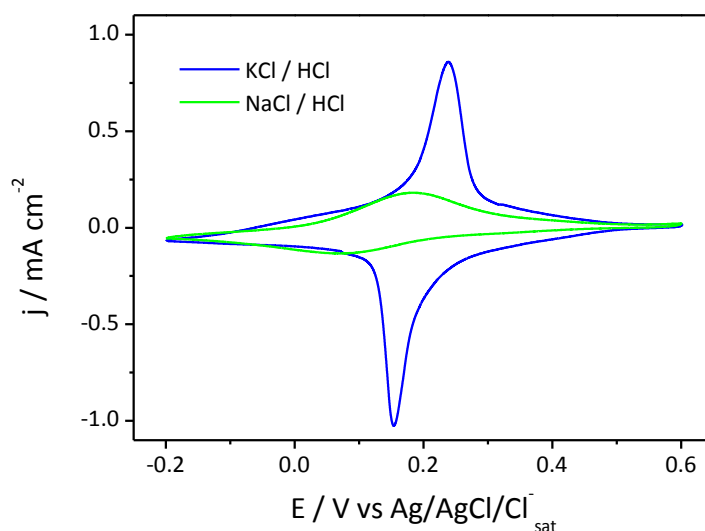


Figura 67 – Perfis j/E obtidos com um filme de azul da Prússia maciço em eletrólitos contendo $\text{KCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

Conforme discutido anteriormente, uma alternativa para esse problema consiste na substituição do azul da Prússia por um análogo que apresente vacâncias maiores em sua estrutura, como o CuHCNFe. Tal mediador pode apresentar eletroatividade reprodutível em meios contendo cátions bloqueadores do azul da Prússia. Com essa proposta, análogos de cobre foram preparados utilizando os filmes de TiO₂ mesoporosos como plataformas. A metodologia consistiu na imobilização inicial do ligante 1,10-fenantrolina-5,6-diona e, posteriormente, o eletrodo mesoporoso modificado com o ligante foi imerso em uma solução aquosa contendo CuCl₂, para coordenação dos cátions Cu²⁺. Por fim, o eletrodo foi colocado em uma solução de K₃Fe(CN)₆ para a coordenação dos ânions Fe(CN)₆³⁻.

Assim como no caso da construção do azul da Prússia mesoporoso, as imersões nas soluções de cobre e ferricianeto de potássio puderam ser repetidas com o intuito de se controlar o número de camadas de CuHCNFe presentes na estrutura mesoporosa do TiO₂. Para tal, foram construídas eletrodos de (CuHCNFe)₄/TiO₂(13nm-130nm), (CuHCNFe)₅/TiO₂(20nm-130nm) e (CuHCNFe)₆/TiO₂(40nm-130nm). Esse número de camadas de CuHCNFe presentes nas distintas plataformas foi o máximo possível de ser imobilizado antes da perda da nanomorfologia do mediador mesoporoso.

Os mediadores mesoporosos de CuHCNFe foram utilizados para a detecção de H₂O₂ em eletrólitos contendo NaCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ + HCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ e os resultados de sensibilidade obtidos estão apresentados na Figura 68A. Para fins comparativos, o gráfico também traz as sensibilidades dos sistemas (FeHCNFe)₄/TiO₂(13nm-130nm), (FeHCNFe)₅/TiO₂(20nm-130nm) e (FeHCNFe)₆/TiO₂(40nm-130nm) obtidas no eletrólito contendo apenas cátions bloqueadores da atividade do azul da Prússia. Já a Figura 68B apresenta as curvas analíticas obtidas em NaCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ + HCl 1,0 x 10⁻¹ mol L⁻¹ com o azul da Prússia maciço e com as plataformas (CuHCNFe)₄/TiO₂(20nm-130nm) e (FeHCNFe)₄/TiO₂(20nm-130nm).

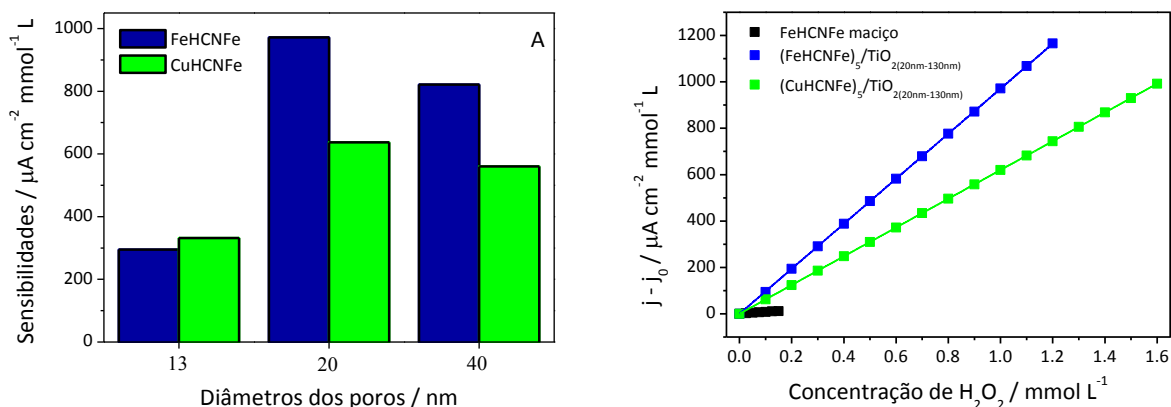


Figura 68 – (A) Sensibilidades obtidas com os mediadores $(\text{CuHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, $(\text{CuHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$, $(\text{CuHCNFe})_6/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$, $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ em $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. (B) Curvas analíticas obtidas com o $(\text{CuHCNFe})_4/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e com o $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ durante a adição de alíquotas de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1} + \text{HCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. Para o FeHCNFe maciço, as alíquotas adicionadas foram de H_2O_2 $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. $E = 0,00 \text{ V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$

As sensibilidades alcançadas com os mediadores $(\text{CuHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, $(\text{CuHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{CuHCNFe})_6/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ em meios contendo Na^+ e H^+ foram bastante satisfatórias, especialmente quando comparadas às sensibilidades já reportadas na literatura. Por exemplo, um filme de CuHCNFe maciço possui sensibilidade de $0,14 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$ [34], enquanto sistemas com nanopartículas de CuHCNFe podem apresentar sensibilidade de $30,6 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. [138]

Entretanto, um resultado ainda mais chamativo faz alusão aos desempenhos dos mediadores $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$, $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$ em meios contendo Na^+ . Assim como em meios contendo íons K^+ , o mediador $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ apresentou melhor performance que as exibidas

pelos mediadores $(\text{FeHCNFe})_4/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ e $(\text{FeHCNFe})_6/\text{TiO}_2(40\text{nm}-130\text{nm})$, alcançando uma sensibilidade de $971 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. Isso significa que a plataforma apresenta uma sensibilidade bastante similar em meios contendo tanto K^+ como Na^+ . Tal resultado é bastante interessante, principalmente quando comparado ao desempenho do FeHCNFe maciço descrito na Figura 68B. Nesse caso, a sensibilidade obtida em Na^+ foi de apenas $82 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$ e a faixa linear foi apenas até $1,5 \times 10^{-4} \text{mol L}$ (uma ordem de grandeza a menos que a exibida pelo $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$).

Portanto, os resultados obtidos sugerem que o azul da Prússia imobilizado sobre o TiO_2 mesoporoso apresenta uma estrutura diferente daquela exibida pelos mediadores maciços. Os espectros na região do visível apresentados anteriormente na Figura 60 (pág. 119) corroboram essa hipótese, uma vez que a transição eletrônica do $(\text{FeHCNFe})_n/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ está deslocada para comprimentos de onda menor e quando comparada à exibida pelo filme maciço de Azul da Prússia.

Além da sensibilidade de $971 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$, outros parâmetros analíticos foram obtidos com o $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ em meios contendo NaCl e HCl . Entre eles, o limite de detecção foi de $5,5 \times 10^{-7} \text{mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade), o tempo de resposta foi de 10 s (90% da variação da corrente) e a faixa linear até $1,2 \times 10^{-3} \text{mol L}^{-1}$.

Como conclusão desse trabalho, foi possível sintetizar mediadores mesoporosos através da imobilização de camadas de azul da Prússia e de CuHCNFe dentro da estrutura de filmes de TiO_2 depositados ao redor de micelas de surfactantes. Os resultados obtidos demonstraram a possibilidade de se modular o desempenho dos sensores mesoporosos em função do número de camadas de mediador imobilizadas. Nesse sentido, a imobilização de diferentes camadas do mediador possibilitou estudar o efeito de confinamento desse material dentro dos poros, uma vez que o desempenho do sensor caiu consideravelmente após o total preenchimento das

nanoestruturas. Também foi possível estudar o efeito da espessura (130, 200 e 260 nm) e do diâmetro dos eletrodos de TiO₂ mesoporosos (13, 20, 40nm) em função do desempenho eletroanalítico obtido após a imobilização do azul da Prússia nessas plataformas. Por fim, a união dos resultados de espectroscopia na região do visível e de cronoamperometria em meios contendo íons Na⁺ e H⁺ possibilitou concluir que o azul da Prússia formado através da presente metodologia apresenta uma estrutura mais aberta e mais reativa, sendo capaz de operar de maneira otimizada frente a um filme de azul da Prússia maciço.

A construção do diagrama de fase apresentado aqui foi realizada em conjunto com a Prof^a. Dr^a. Maria Regina Alcântara, no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo.

As plataformas de TiO₂ mesoporosas foram produzidas na Unidad de Actividad Química do Centro Atómico Constituyentes, localizado em Buenos Aires e sob coordenação do Prof. Dr. Galo J. A. A. Soler-Illia. A metodologia para a imobilização do azul da Prússia e de seus análogos na superfície do TiO₂ mesoporoso foi desenvolvida durante o doutorado de Martín H. Gaitán no laboratório coordenado pelo Prof. Dr. Luis M. Baraldo, situado na Facultad de Ciencias Exactas y Naturales da Universidad de Buenos Aires.

Martín H. Gaitán realizou dois estágios no Laboratório de Materiais Eletroativos, coordenado pela Prof^a. Susana I. Córdoba de Torresi e pelo Prof. Roberto Manoel Torresi, no Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo. Já o presente aluno esteve por um mês nos laboratórios coordenados pelo Prof. Dr. Luis M. Baraldo e pelo Prof. Dr. Galo J. A. A. Soler-Illia. Os resultados apresentados aqui são frutos dessa parceria.

4.4. Aplicação dos diferentes mediadores na preparação de biossensores

A presente seção contém os resultados obtidos através do emprego dos diferentes mediadores apresentados no desenvolvimento de biossensores baseados em enzimas oxidases.

Inicialmente, um biossensor de glicose foi construído através da imobilização de enzimas GOx sobre o CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS utilizando a técnica de camadas automontadas. [145-149] Essa técnica foi proposta inicialmente por Decher e col. [150] e tem seu princípio baseado na imobilização eletrostática de compostos com cargas opostas. Nesse sentido, o CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS se comporta como um composto de densidade de carga superficial negativa em função dos defeitos estruturais presentes no material inorgânico. Portanto, a plataforma CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS pode ser utilizada para adsorver materiais que se comportem como polieletrólitos positivos, tais como o cloreto de polidialildimetil amônio (PDDA). A estrutura do PDDA está apresentada na Figura 69.

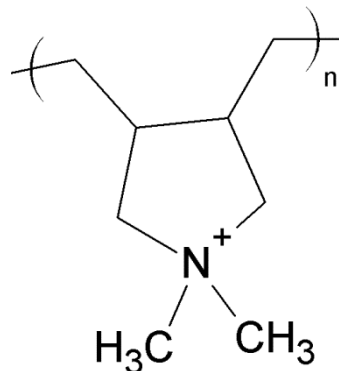


Figura 69 – Fórmula estrutural do PDDA.

O PDDA apresenta carga positiva em qualquer valor de pH, uma vez que apresenta um nitrogênio ligado a quatro carbonos em sua estrutura. Nesse sentido, todas as soluções utilizadas na imobilização da GOx foram preparadas através de um tampão PBS $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ pH = 7. Esse valor de pH também é vantajoso porque o ponto isoelétrico da GOx é

igual a 4,2. Conseqüentemente, as enzimas se comportam como compostos negativos no valor de pH utilizado durante a imobilização.

Portanto, o PDDA foi adsorvido sobre o eletrodo mergulhando-se o feltro/NTCCS modificado com CuHCNFe/Ppy em uma solução do polieletrólito positivo. Após essa etapa, o sistema foi lavado em solução tampão e mergulhado em outra solução contendo GOx negativamente carregada. Por fim, o eletrodo foi lavado novamente em solução tampão para remover as enzimas fracamente adsorvidas. O final desse ciclo deu origem a 1 bicamada de PDDA/GOx sobre o CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS. O processo foi repetido para dar origem à segunda bicamada e assim sucessivamente. Vale ressaltar a possibilidade de se modular a espessura do biossensor através do controle do número de bicamadas quando se utiliza a técnica de camadas automontadas. Uma esquematização de um biossensor construído através dessa metodologia está apresentada na Figura 70.

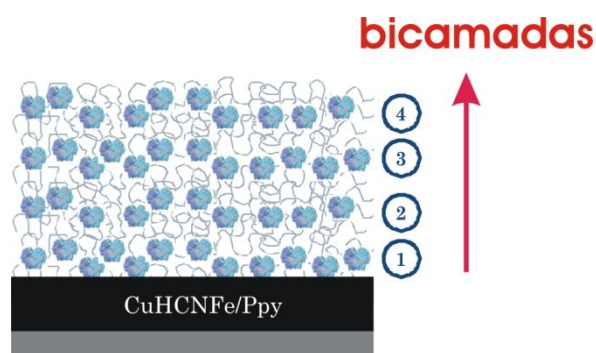


Figura 70 - Representação esquemática de um biossensor de glicose construído pela técnica de camadas automontadas.

O mediador CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS é uma interessante plataforma para esse fim, uma vez que existe uma grande área superficial disponível para a imobilização do polímero catiônico PDDA e, posteriormente, para a enzima. Essa tridimensionalidade do feltro é interessante porque permite a imobilização de uma maior quantidade de material biológico,

quando comparado a eletrodos bidimensionais modificados com mediadores. Além disso, a matriz CuHCNFe/Ppy é um interessante mediador para minimizar a interferência de produtos normalmente encontrados em amostras biológicas, tais como o ácido ascórbico e o paracetamol. A Tabela 5 apresenta uma comparação das correntes obtidas quando $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ destes compostos interferentes foram adicionados e quando houve a adição de H₂O₂ na mesma concentração.

Tabela 5 - Comparação da resposta de corrente obtida durante a adição de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de H₂O₂ e de compostos interferentes.

Analito	Corrente (μA)
	E = 0,00 V vs Ag/AgCl/Cl ⁻ _{sat}
Ácido Ascórbico	0,32
Paracetamol	0,28
Peróxido de Hidrogênio	20,44

Pela Tabela 5, é possível perceber que a corrente de interferência foi cerca de 1,5 % do valor obtido com a adição de H₂O₂. Esse fato pode ser explicado pelo baixo potencial de trabalho e pela estrutura zeolítica dos análogos de azul da Prússia, a qual só permite o acesso de moléculas de baixa massa molecular, tais como o O₂ e o H₂O₂.

A Figura 71A apresenta o aumento da sensibilidade frente à adição de glicose em função do número de bicamadas de PDDA/GOx immobilizadas sobre o CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS. A Figura 71B apresenta o cronoamperograma obtido durante a detecção de glicose usando o CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS modificado com um total de 15 bicamadas de PDDA/GOx. A sensibilidade obtida nesse caso foi de $3,9 \mu\text{A mg}^{-1} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$. A faixa linear obtida foi até $1,3 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção $4,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão da

corrente residual sem analito / sensibilidade) e um tempo médio de resposta de 14 s (90% da variação da corrente). Assim, a imobilização de bicamadas de PDDA/GOx no CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS possibilitou a criação de um biossensor de glicose com sensibilidades que puderam ser moduladas em função do número de bicamadas.

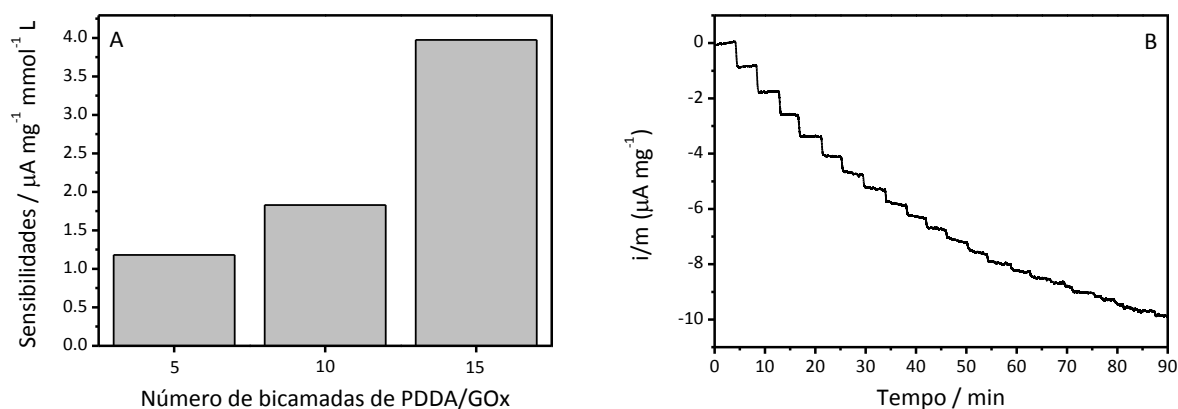


Figura 71 - (A) Sensibilidades obtidas durante a detecção de glicose com o CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS modificado com diferentes números de bicamadas de PDDA/GOx. (B) Cronoamperograma obtido com o CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS modificado com 15 bicamadas de PDDA/GOx durante a adição de alíquotas de 4 μL de glicose $2,5 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7) contendo NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. E = 0,00 V vs $\text{Ag/AgCl/Cl}^{-}_{\text{sat}}$

As Figuras 72C e D apresentam imagens de MEV obtidas após a imobilização da enzima. Em comparação com as imagens do CuHCNFe/Ppy-feltro/NTCCS recapituladas nas Figuras 72A e B, não é mais possível observar a morfologia típica do CuHCNFe/Ppy, mostrando que o mediador foi recoberto de maneira eficiente pelas bicamadas de PDDA/GOx.

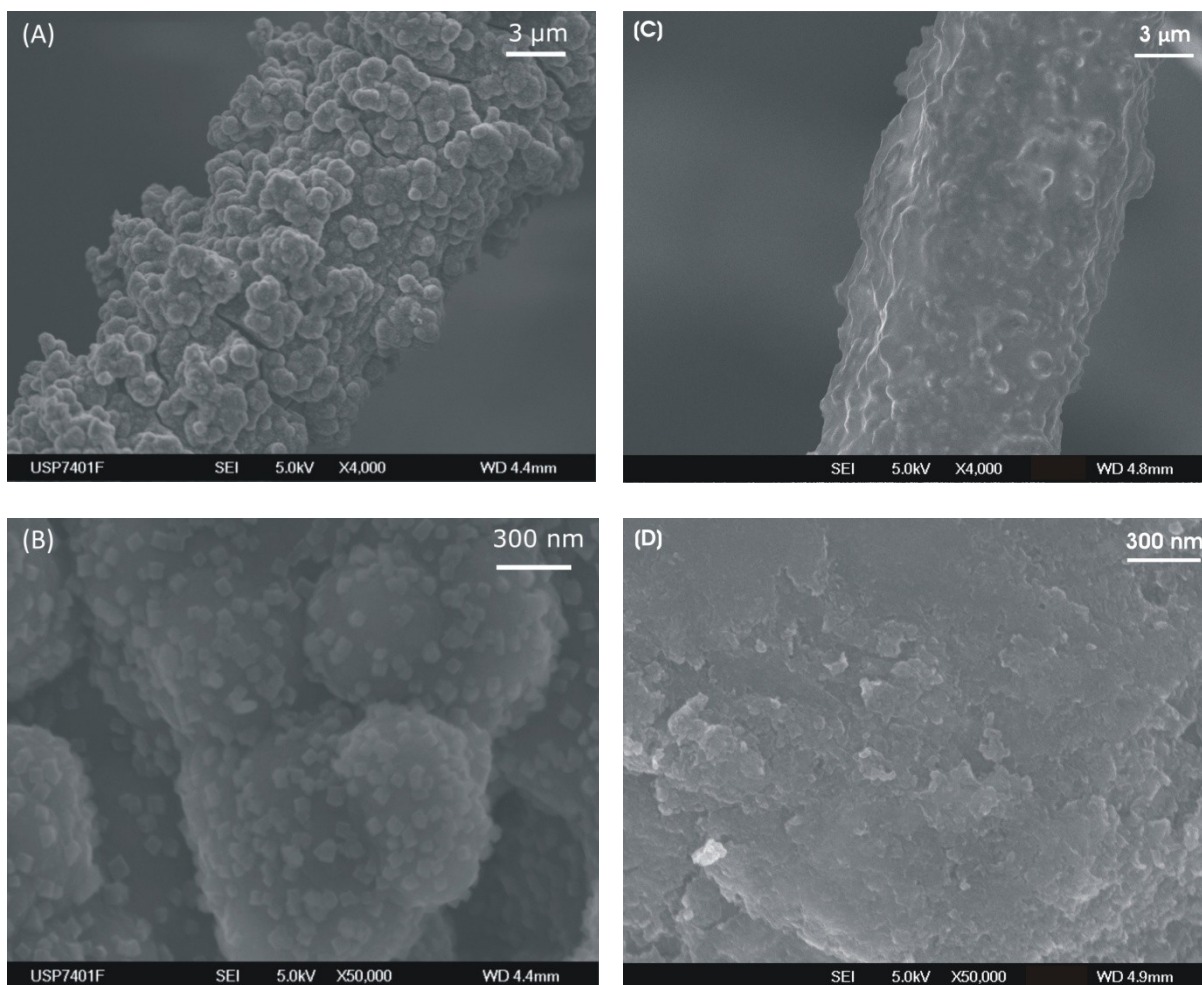


Figura 72 - (A) Imagem de MEV de uma das fibras do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy. (B) Imagem de MEV da dispersão do CuHCNFe sobre a matriz de Ppy sintetizada na presença dos NTCCS. (C) Imagem de MEV de uma das fibras do feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy recoberta com PDDA/GOx (D) Imagem de MEV em maior magnificação do sistema PDDA/GOx recobrindo as estruturas do CuHCNFe/Ppy.

A durabilidade do biossensor preparado com 15 bicamadas de PDDA/GOx foi monitorada através do estudo da variação da sensibilidade em função do tempo. Os resultados obtidos foram descritos na Tabela 6. Depois de um mês, a sensibilidade foi de $2,6 \mu\text{A mg}^{-1} \text{mmol}^{-1} \text{L}$, um valor 34% menor em relação ao desempenho obtido no primeiro dia. O biossensor foi estocado em uma solução tampão PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7) a 4°C .

Tabela 6 - Variação da sensibilidade do biossensor de glicose em função do tempo.

Dias	Sensibilidade($\mu\text{A mg}^{-1} \text{mmol}^{-1} \text{L}$)
1º	3,9
12º	3,7
19º	3,3
26º	2,9
33º	2,6

Portanto, os resultados apresentados mostraram que a eletrodeposição do CuHCNFe/Ppy sobre o feltro/NTCCS criou uma plataforma tridimensional passível de ser utilizada para a imobilização da GOx pelo método das camadas automontadas. Esse método também é vantajoso porque ele não envolve a formação de ligações covalentes com o material biológico, o que favorece a preservação da estrutura terciária da enzima.

Essa metodologia também foi utilizada para a imobilização da GOx sobre o CuHCNFe/Ppy macroporoso. Para tal, assim como no caso anterior, o biossensor de glicose foi criado utilizando-se o PDDA como polieletrólito positivo para a imobilização do material biológico. A Figura 73A apresenta o aumento da sensibilidade frente à adição de glicose em função do número de bicamadas de PDDA/GOx imobilizadas sobre o CuHCNFe/Ppy-460nm. A Figura 73B apresenta o cronoamperograma obtido durante a detecção de glicose usando o CuHCNFe/Ppy-460nm modificado com um total de 5 bicamadas de PDDA/GOx. A sensibilidade obtida nesse caso foi de $3,6 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. A faixa linear obtida foi até $3,1 \times 10^{-3} \text{mol L}^{-1}$, com um limite de detecção $3,5 \times 10^{-5} \text{mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade) e um tempo médio de resposta de 27 s (90% da variação da corrente).

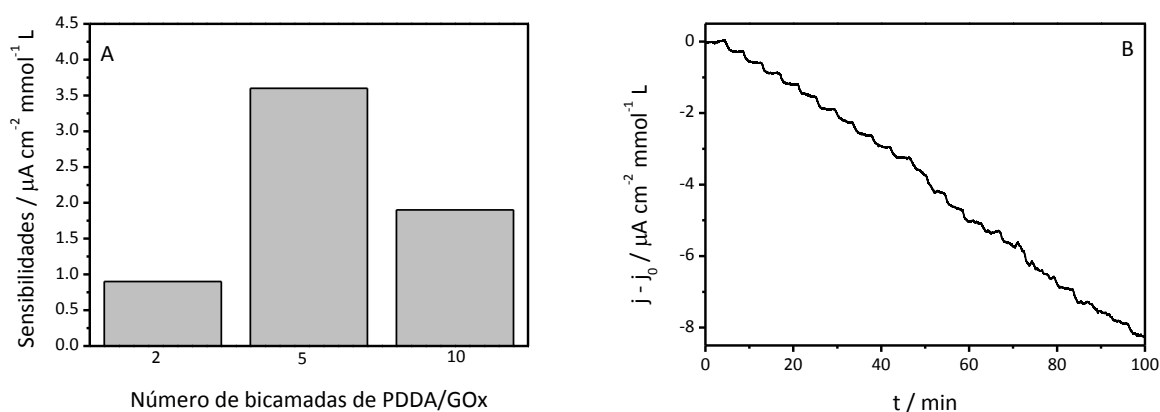


Figura 73 - (A) Sensibilidades obtidas durante a detecção de glicose com o CuHCNFe/Ppy-460nm modificado com diferentes números de bicamadas de PDDA/GOx. (B)

Cronoamperograma obtido com o CuHCNFe/Ppy-460nm modificado com 5 bicamadas de PDDA/GOx durante a adição de alíquotas de $2,5 \mu\text{L}$ de glicose $2,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7) contendo NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. E = 0,00 V vs Ag/AgCl/Cl_{sat}

Os resultados apresentados na Figura 73A mostram que a sensibilidade obtida com um biossensor formado por 10 bicamadas de PDDA/GOx foi menor do que a apresentada pelo sistema onde 5 bicamadas de PDDA/GOx estavam presentes sobre o CuHCNFe/Ppy-460nm. Esse resultado motivou a obtenção de imagens de MEV para investigar a morfologia do mediador poroso após a imobilização do material biológico. A Figura 74A recapitula a morfologia inicial do CuHCNFe/Ppy-460nm, enquanto a Figura 74B apresenta a imagem de um biossensor construído com 10 bicamadas de PDDA/GOx.

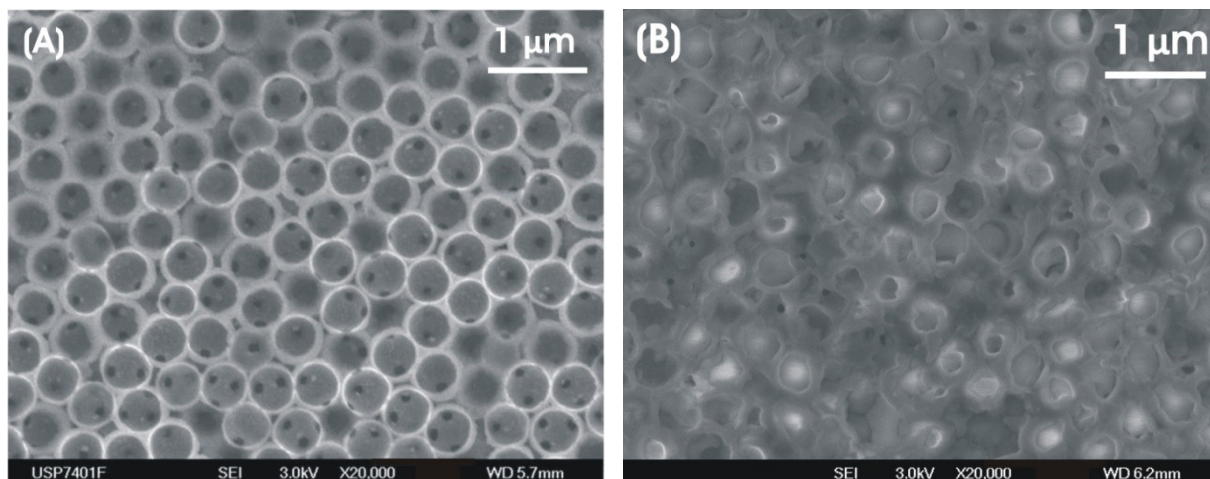


Figura 74 – Imagens de MEV obtidas com um filme de CuHCNFe/PPy-460nm (A) antes e (B) após a imobilização da glicose oxidase.

Pela Figura 74B é possível perceber que existe um preenchimento completo dos poros em relação ao material não modificado. É importante ressaltar que esses resultados ainda são preliminares, e experimentos precisam ser conduzidos com o intuito de verificar se o preenchimento dos poros ocorre por toda a espessura do filme ou apenas na camada porosa mais externa. Além disso, ainda é necessária a obtenção da imagem do CuHCNFe/PPy-460nm modificado com 5 bicamadas de PDDA/GOx. Caso os poros ainda permaneçam abertos nessa situação, esse seria um indicativo para explicar a melhor sensibilidade obtida.

O mediador macroporoso de CuHCNFe/PPy-460nm também foi utilizado como plataforma para a imobilização da colina oxidase (COx). Entretanto, como a atividade da COx (10000 U g^{-1}) é menor do que a da GOx (198000 U g^{-1}), foi escolhida uma metodologia de imobilização que possibilitasse a imobilização de uma grande quantidade de material biológico sobre o mediador. Tal metodologia consistiu na formação de ligações covalentes cruzadas entre os grupos $-\text{NH}_2$ presentes na estrutura protéica da enzima e os grupos $-\text{CHO}$ do glutaraldeído, conforme apresentado na Figura 75.

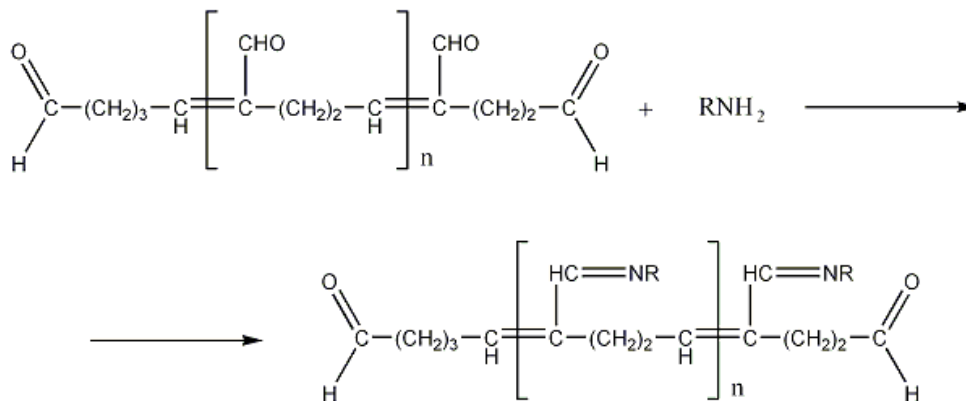


Figura 75 – Representação esquemática das ligações covalentes formadas entre a enzima e o glutaraldeído.

Diferentemente do método das camadas automontadas, não existe a possibilidade de se modular facilmente o desempenho do biossensor em função da quantidade de enzimas imobilizadas. Além disso, a formação de ligações covalentes com o material biológico pode alterar consideravelmente a estrutura terciária da enzima, ocasionando a perda de sua atividade biológica. Conseqüentemente, esse método é indicado apenas para um estudo inicial da aplicação do mediador.

A Figura 76A apresenta o cronoamperograma obtido durante a detecção de colina utilizando-se um biossensor onde a COx foi imobilizada pelo método das ligações covalentes sobre o CuHCNFe/Ppy-460nm. Já a Figura 76B mostra a curva analítica construída a partir do cronoamperograma obtido. Vale ressaltar que a determinação quantitativa de colina em amostras biológicas é de grande importância em análises clínicas, uma vez que é um componente essencial para o funcionamento normal de todas as células. Ela é utilizada, por exemplo, para a formação da fosfatocolina, o qual é um fosfolípido primário das membranas celulares. A colina também é precursora da acetilcolina, um dos compostos químicos cerebrais relacionados diretamente com a memória. Entretanto, a maior utilização da colina no corpo humano está relacionada com a produção da betaína, um importante

doador de radicais metil envolvido na prevenção de inúmeras doenças vasculares, cerebrais e hepáticas. [151]

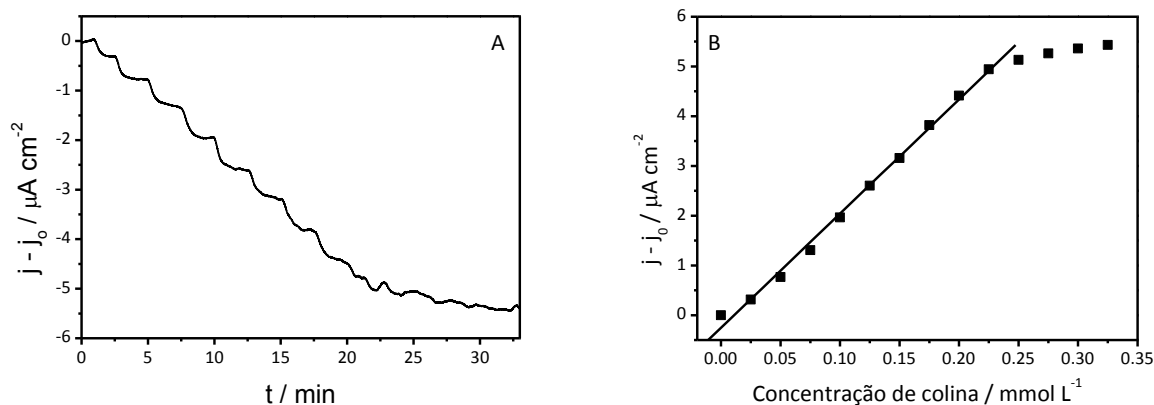


Figura 76 - Cronoamperograma obtido com a COx imobilizada sobre o CuHCNFe/Ppy-460nm durante a adição de alíquotas de 10 μL de cloreto de colina $1,25 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em 5 mL de PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 7) contendo NaCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. E = 0,00 V vs Ag/AgCl/ Cl^-_{sat} (B) Curva analítica construída através da variação de corrente observada durante as adições de alíquotas de $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de cloreto de colina.

A sensibilidade obtida nesse caso foi de $23 \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$. A faixa linear obtida foi até $2,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de detecção $2,8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade) e um tempo médio de resposta de 30 s (90% da variação da corrente).

Conforme apresentado anteriormente, a sensibilidade obtida com o CuHCNFe/Ppy-460nm durante o processo de detecção de H_2O_2 foi de $(19 \pm 3) \times 10 \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$. Portanto, com o intuito de se comparar o desempenho entre diferentes biossensores de colina, empregou-se a metodologia das ligações covalentes cruzadas para se imobilizar a COx sobre a plataforma mesoporosa de $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$. Entre os sistemas mesoporosos

testados, esse foi o que apresentou melhor desempenho analítico durante o sensoriamento do H_2O_2 . Nesse caso, a sensibilidade obtida foi de $971 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$.

A Figura 77A apresenta o cronoamperograma obtido durante a detecção de colina utilizando-se um biossensor onde a COx foi imobilizada sobre o $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$. Já a Figura 77B mostra a curva analítica construída a partir do cronoamperograma obtido.

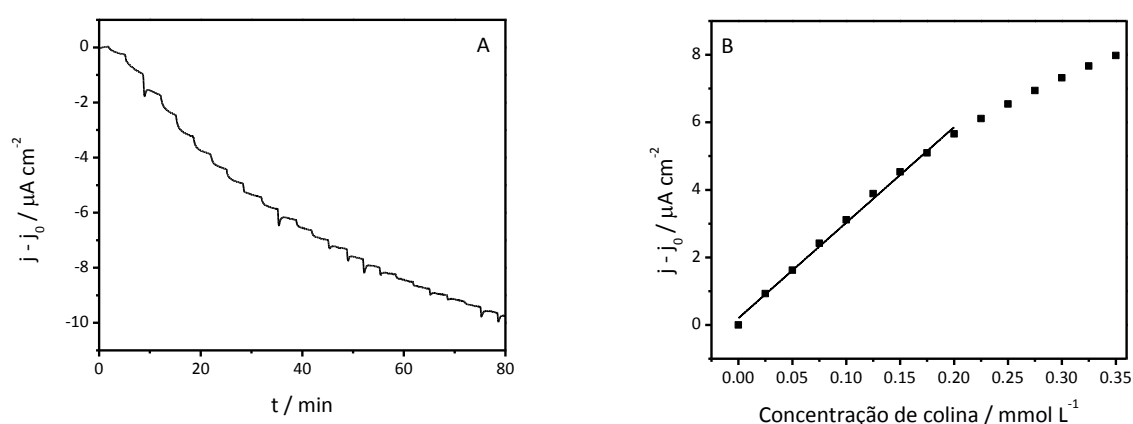


Figura 77 – Cronoamperograma obtido com a COx imobilizada sobre o $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ durante a adição de alíquotas de $10 \mu\text{L}$ de cloreto de colina $1,25 \times 10^{-2} \text{mol L}^{-1}$ em 5mL de PBS $1,0 \times 10^{-1} \text{mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 7$) contendo $\text{NaCl } 1,0 \times 10^{-1} \text{mol L}^{-1}$. $E = 0,00 \text{V vs Ag/AgCl/Cl}^-_{\text{sat}}$ (B) Curva analítica construída através da variação de corrente observada durante as adições de alíquotas de $2,5 \times 10^{-5} \text{mol L}^{-1}$ de cloreto de colina.

A sensibilidade obtida para esse biossensor foi de $28 \mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$. A faixa linear obtida foi até $2,00 \times 10^{-4} \text{mol L}^{-1}$, com um limite de detecção $1,2 \times 10^{-6} \text{mol L}^{-1}$ (3 vezes o desvio padrão da corrente residual sem analito / sensibilidade) e um tempo médio de resposta de 65s (90% da variação da corrente).

A utilização do $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ para a construção de um biossensor de colina foi vantajosa sobre o CuHCNFe/Ppy-460nm do ponto de vista do limite de detecção obtido, o

qual foi uma ordem de grandeza menor do que o da plataforma macroporosa. Esse comportamento pode estar relacionado às naturezas diferentes do mediador, tanto do ponto de vista químico quanto morfológico. Em compensação, o tempo médio de resposta alcançado com o $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(13\text{nm}-130\text{nm})$ foi o dobro do obtido com o $\text{CuHCNFe}/\text{Ppy}-460\text{nm}$. Esse resultado é bastante interessante e abre margem para uma investigação à respeito de como a enzima está posicionada sobre o mediador. A COx apresenta uma estrutura dímica com dimensões na ordem de $8,8 \times 7,0 \times 4,6 \text{ nm}$. [152] O mediador $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ apresenta cinco camadas de azul da Prússia confinadas em um poro de 20 nm de diâmetro. Uma vez que a imobilização da sexta camada acarreta no preenchimento do poro, é possível presumir que todo o material biológico esteja localizado acima do mediador, e não confinado dentro do poro. Já no caso do mediador $\text{CuHCNFe}/\text{Ppy}-460\text{nm}$, o poro é grande o suficiente para poder alocar a enzima pelo menos nas camadas mais externas, o que geraria um contato mais íntimo entre o mediador e o material biológico. Esse fato poderia estar relacionado com a grande diferença obtida no tempo de resposta dos biossensores.

Outra observação pode ser realizada comparando-se os valores de sensibilidades obtidos. O $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ apresenta uma capacidade de transdução do sinal do H_2O_2 aproximadamente 5 vezes maior do que a do $\text{CuHCNFe}/\text{Ppy}-460\text{nm}$. Em contrapartida, o desempenho do biossensor de colina construído com o $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ apresentou uma sensibilidade apenas 1,2 vezes maior do que aquele construído com o material híbrido. Assim como no caso da glicose, a metabolização da colina gera H_2O_2 como produto secundário, o qual precisa alcançar o mediador para ser detectado. O fato da COx não estar confinada dentro dos poros do $(\text{FeHCNFe})_5/\text{TiO}_2(20\text{nm}-130\text{nm})$ pode fazer com que o fluxo do H_2O_2 até o mediador seja mais difícil do que o existente quando a enzima está localizada, pelo menos, dentro dos poros mais externos do $\text{CuHCNFe}/\text{Ppy}-460\text{nm}$.

Portanto, como conclusão dessa seção, foi possível mostrar que todos os mediadores apresentados apresentam aplicabilidade para a construção de biossensores. É importante ressaltar que a otimização do desempenho do mediador através da síntese de nanoestruturas é apenas uma das etapas capazes de otimizar o desempenho de um dispositivo biológico. Outra gama muito grande de trabalho se abre no aperfeiçoamento da imobilização do material biológico sobre os mediadores. Essa etapa apresenta influência na preservação da estrutura protéica, na orientação do sítio ativo e também no processo de acesso do analito até o sítio enzimático e do produto secundário gerado na interação enzima/analito até o mediador depositado. Conseqüentemente, conforme elucidado por alguns experimentos iniciais apresentados aqui, tal aspecto é um fator crucial para o pleno aproveitamento dos mediadores miniaturizados.

Os resultados apresentados nessa seção foram obtidos em colaboração com o doutorando Martín H. Gaitán, aluno do Prof. Dr. Luis M. Baraldo da Facultad de Ciencias Exactas y Naturales da Universidad de Buenos Aires. Também contribuíram os alunos de Iniciação Científica Renan P. Salvador e David G. Moore. Na ocasião, David era aluno da University of Florida e estagiou no Laboratório de Materiais Eletroativos através do Programa Piloto de Intercâmbio em Pesquisa para Bolsistas de Iniciação Científica da Área de Química, fruto de uma parceria FAPESP-National Science Foundation.

Para finalizar a trabalho e facilitar o processo comparativo apresentado durante toda a tese, a Tabela 7 apresenta uma recapitulação das sensibilidades obtidas com as diferentes plataformas aplicadas na detecção de H₂O₂.

Tabela 7 – Sensibilidades obtidas durante a detecção de H₂O₂ com os diferentes mediadores.

Mediadores	Sensibilidade ($\mu\text{A mg}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$)	Sensibilidade ($\times 10 \mu\text{A cm}^{-2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$)
Feltro-CuHCNFe/Ppy	(30 \pm 5)	
Feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy	(42 \pm 3)	
CV-CuHCNFe/Ppy-maciço		(20 \pm 1)
CV-CuHCNFe/Ppy-300nm		20
CV-CuHCNFe/Ppy-460nm		(19 \pm 3)
CV-CuHCNFe/Ppy-600nm		(20 \pm 2)
CV-CuHCNFe/Ppy-800nm		(16 \pm 3)
FeHCNFe-maciço		(60 \pm 1)
(FeHCNFe) ₄ /TiO ₂ (13nm-130nm)		(41 \pm 5)
(FeHCNFe) ₅ /TiO ₂ (20nm-130nm)		98
(FeHCNFe) ₆ /TiO ₂ (40nm-130nm)		84
CuHCNFe-maciço		0,014
CuHCNFe-nanopartículas		3,1
(CuHCNFe) ₄ /TiO ₂ (13nm-130nm)		33
(CuHCNFe) ₅ /TiO ₂ (20nm-130nm)		64
(CuHCNFe) ₆ /TiO ₂ (40nm-130nm)		56

Já a Tabela 8 apresenta um resumo das sensibilidades obtidas quando alguns dos mediadores foram aplicados na preparação de biossensores para glicose e colina.

Tabela 8 - Sensibilidades obtidas quando as diferentes plataformas foram aplicadas na formulação de biossensores.

Mediadores	Imobilização da enzima	Sensibilidade ($\mu\text{A mg}^{-1} \text{mol}^{-1} \text{L}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A cm}^{-2} \text{mmol}^{-1} \text{L}$)
Feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy	PDDA/GOx (15 bicamadas)	3,9	
CV-CuHCNFe/Ppy-460nm	PDDA/GOx (5 bicamadas)		3,6
CV-CuHCNFe/Ppy-460nm	Glutaraldeído/COx		23
(FeHCNFe) ₅ /TiO ₂ (20nm-130nm)	Glutaraldeído/COx		28

5. Conclusões

A utilização da nanociência na síntese do azul da Prússia e do CuHCNFe/Ppy permitiu avanços no sentido de entender e controlar como a morfologia e a estrutura do mediador podem afetar a reatividade do mesmo durante o sensoriamento do H₂O₂. Essa foi a principal linha de investigação adotada nas três estratégias apresentadas no trabalho e possibilitou, de maneira geral, apontar vantagens obtidas com o nanomaterial frente ao mediador maciço.

Em relação à utilização dos NTCs, o maior aprendizado consistiu em mostrar que existem outros aspectos, além do aumento da área eletroativa, que são responsáveis pelo desempenho obtido com o feltro/NTCCS-CuHCNFe/Ppy. Entre tais aspectos, é possível destacar que a presença dos NTCCS favoreceu a dispersão do CuHCNFe na matriz do Ppy. Além disso, os resultados de espectroscopia Raman também mostraram uma interação eletrônica existente entre os cristais de CuHCNFe, o Ppy e os NTCCS. Em função das características morfológicas e do desempenho analítico obtido, essa plataforma se apresenta como um material de potencial aplicação para o desenvolvimento de biossensores baseados em enzimas oxidases. Além disso, em função da presença dos NTCCS, esse composto também é atrativo para a formação de biossensores de terceira geração, baseados na transferência eletrônica direta entre os sítios ativos enzimáticos e o eletrodo. Esse trabalho vem sendo desenvolvido pelo aluno de Iniciação Científica Marco Antônio de Oliveira Santos Minadeo, em parceria com o doutorando Filipe Braga Nogueira, com a Dr^a. Elaine Y. Matsubara e com os Professores Doutores José Maurício Rosolén e Roberto Manoel Torresi.

Já o trabalho envolvendo a utilização do molde de esferas de poliestireno para a formação dos filmes de CuHCNFe/Ppy macroporosos, apesar de ter sido o menos promissor quando comparado ao análogo maciço, possibilitou estudar e compreender vários aspectos que devem ser considerados quando se trabalha com essa classe de materiais. Entre tais aspectos, é possível citar a importância das propriedades termodinâmicas de superfícies curvas, da

molhabilidade de materiais porosos e da influência da cinética eletroquímica na utilização desses sistemas. Do ponto de vista pessoal, o desenvolvimento desse trabalho foi bastante importante para a formação do presente aluno, pois possibilitou compreender como um trabalho científico de pesquisa avança quando existe a necessidade de se buscar diferentes experimentos para comprovar ou refutar hipóteses utilizadas para explicar um resultado científico.

Por fim, os melhores desempenhos frente aos respectivos mediadores maciços foram obtidos através da utilização dos mediadores mesoporosos, o que torna essa plataforma a mais interessante para a aplicação de um sensor de H_2O_2 . Já o desenvolvimento de biossensores baseados em enzimas oxidases, conforme apresentado anteriormente, torna necessária a otimização da imobilização do material biológico com o intuito de verificar a possibilidade de se usufruir por completo toda a capacidade do mediador mesoporoso. Dentro dessa linha, o trabalho possibilitou compreender a importância do efeito de confinamento no desempenho dos mediadores. Além disso, dados espectroscópicos na região do visível foram fundamentais para relacionar a presença de defeitos estruturais com a reatividade do material.

Por fim, todos os mediadores apresentados foram utilizados para imobilização de um material biológico visando a construção de biossensores enzimáticos. Essa etapa apresenta influência na preservação da estrutura protéica, na orientação do sítio ativo e também no processo de acesso do analito até o sítio enzimático e do produto secundário gerado na interação enzima/analito até o mediador depositado. Conforme demonstrado, tal aspecto também é um fator crucial para o pleno aproveitamento dos mediadores nanoestruturados.

6. Referências

- [1] Janata, J. *Anal. Chem.* 64 (1992) 196R.
- [2] Lowinsohn, D. e Bertotti, M. *Quim. Nova* 29 (2006) 1318.
- [3] Hanrahan, G.; Patil, D.G. e Wang, J. *J. Environ. Monit.* 6 (2004) 657.
- [4] Thévenot, D.R.; Toth, K.; Durst, R.A. e Wilson, G.S. *Biosens. Bioelectron.* 16 (2001) 121.
- [5] Clark Jr., L.C. e Lyons, C. *Ann. NY Acad. Sci.* 102 (1962) 29.
- [6] Clark Jr., L.C. *US Patent* 33,539,455 (1970).
- [7] Wang, J. *Electroanal.* 13 (2001) 983.
- [8] Wang, J. *Chem. Rev.* 108 (2008) 814.
- [9] Updike, S.J. e Hicks, G.P. *Nature* 214 (1967) 986.
- [10] Guilbault, G.G. e Lubrano, G.J. *Anal. Chim. Acta* 64 (1973) 439.
- [11] Malitesta, C.; Palmisano, F.; Torsi, L. e Zambonin, P.G. *Anal. Chem.* 62 (1990) 2735.
- [12] Sasso, S.V.; Pierce, R.J.; Walla, R. e Yacynych, A.M.; *Anal. Chem.* 62 (1990) 1111.
- [13] Palmisano, F.; Centonze, D.; Guerrieri, A. e Zambonin, P.G. *Biosens. Bioelectron.* 8 (1993) 393.
- [14] Sternberg, R.; Bindra, D.S.; Wilson, G.S. e Thévenot, D.R. *Anal. Chem.* 60 (1988) 2781.
- [15] Moussy, F.; Jakeway, S.; Harrlson, D.J. e Rajotte, R.V. *Anal. Chem.* 66 (1994) 3882.
- [16] Wang, J. e Wu, H. *Anal. Chim. Acta* 283 (1993) 683.
- [17] Zhang, Y.; Hu, Y.; Wilson, G.S.; Moatti-Sirat, D.; Poitout, V. e Reach, G. *Anal. Chem.* 66 (1994) 1183.
- [18] Lowinsohn, D. e Bertotti, M. *J. Braz. Chem. Soc.* 19 (2008) 637.
- [19] Lowinsohn, D. e Bertotti, M. *Anal. Biochem.* 365 (2007) 260.
- [20] Karyakin, A.A.; Gitelmacher, O.V. e Karyakina, E.E. *Anal. Lett.* 27 (1994) 2861.
- [21] Karyakin, A.A.; Karyakina, E.E. e Gorton, L. *J. Electroanal. Chem.* 456 (1998) 97.

- [22] Karyakin, A.A.; Kuritsyna, E.A.; Karyakina, E.E. e Sukhanov, V.L. *Electrochim. Acta* 54 (2009) 5048.
- [23] Borisova, A.V.; Karyakina, E.E.; Cosnier, S. e Karyakin, A.A. *Electroanal.* 21 (2009) 409.
- [24] Karyakin, A.A.; Karyakina, E.E. e Gorton, L. *Electrochem. Commun.* 1 (1999) 78.
- [25] Buser, H.J.; Schwarzenbach, D.; Petter, W. e Ludi, A. *Inorg. Chem.* 16 (1977) 2704.
- [26] Itaya, K.; Ataka, T. e Toshima, S. *J. Am. Chem. Soc.* 104 (1982) 4767.
- [27] Ricci, F. e Palleschi, G. *Biosens. Bioelectron.* 21 (2005) 389.
- [28] Itaya, K.; Shoji, N. e Uchida, I. *J. Am. Chem. Soc.* 106 (1984) 3423.
- [29] Itaya, K. e Uchida, I. *Acc. Chem. Res.* 19 (1986) 162.
- [30] R. de Tacconi, N. e Rajeshwar, K. *Chem. Mater.* 15 (2003) 3046.
- [31] Luiz de Mattos, I. e Gorton, L. *Quim. Nova* 24 (2001) 200.
- [32] Luiz de Mattos, I.; Gorton, L.; Laurell, T.; Malinauskas, A. e Karyakin, A.A. *Talanta* 52 (2000) 791.
- [33] Bácskai, J.; Martinusz, K.; Czirók, E.; Inzelt, G.; Kulesza, P.J. e Malik, M.A. *J. Electroanal. Chem.* 385 (1995) 241.
- [34] Fiorito, P.A.; Brett, C.M.A. e Córdoba de Torresi, S.I. *Talanta* 69 (2006) 403.
- [35] Fiorito, P.A. e Córdoba de Torresi, S.I. *J. Electroanal. Chem.* 581 (2005) 31.
- [36] Yang, W.; Ratinac, K.R.; Ringer, S.P.; Thordarson, P.; Gooding, J.J. e Braet, F. *Angew. Chem. Int. Ed.* 29 (2010) 2114.
- [37] Kauffman, D.R. e Star, A. *Chem. Soc. Rev.* 37 (2008) 1197.
- [38] Maehashi, K. e Matsumoto, K. *Sensors* 9 (2009) 5368.
- [39] Ajayan, P.M. *Chem. Rev.* 99 (1999) 1787.
- [40] Hersam, M.C. *Nat. Nanotechnol.* 3 (2008) 387.
- [41] Hirsch, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002) 1853.

- [42] Iijima, S. *Physica B* 323 (2002) 1.
- [43] Gao, R.; Wang, Z.L. e Fan, S. *J. Phys. Chem. B* 104 (2000) 1227.
- [44] See, C.H.; Harris, A.T. *Ind. Eng. Chem. Res.* 46 (2007) 997.
- [45] Baughman, R.H.; Zakhidov, A.A. e de Heer Walt, A. *Science* 297 (2002) 787.
- [46] Odom, T.W.; Huang, J-L; Kim, P. e Lieber, C.M. *Nature* 391 (1998) 62.
- [47] Banks, C.E.; Davies, T.J.; Wildgoose, G.G. e Compton, R.G. *Chem. Commun.* (2005) 829.
- [48] Banks, C.E.; Crossley, A.; Salter, C.; Wilkins, S.J. e Compton, R.G. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 2533.
- [49] Dai, X.; Wildgoose, G.G. e Compton, R.G. *Analyst* 131 (2006) 901.
- [50] Jones, C.P.; Jurkschat, K.; Crossley, A.; Compton, R.G.; Riehl, B.L. e Banks, C.E. *Langmuir* 23 (2007) 9501.
- [51] Pumera, M. *Langmuir* 23 (2007) 6453.
- [52] Gong, K.; Chakrabarti, S. e Dai, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (2008) 5446.
- [53] Rubianes, M.D. e Rivas, G.A. *Electrochem. Commun.* 5 (2003) 689.
- [54] Zou, Y.; Sun, L-X e Xu, F. *Biosens. Bioelectron.* 22 (2007) 2669.
- [55] Li, Z.; Chen, J.; Li. W.; Chen, K.; Nie, L. e Yao, S. *J. Electroanal. Chem.* 603 (2007) 59.
- [56] Brumlik, C.J. e Martin, C.R. *J. Am. Chem. Soc.* 113 (1991) 3174.
- [57] Lakshmi, B.B.; Dorhout, P.K. e Martin, C.R. *Chem. Mater.* 9 (1997) 857.
- [58] Parthasarathy, R.V.; Phani, K.L.N. e Martin, C.R. *Adv. Mater.* 7 (1995) 896.
- [59] Possin, G.E. *Rev. Sci. Instrum.* 41 (1970) 772.
- [60] Martin, C.R. *Acc. Chem. Res.* 28 (1995) 61.
- [61] Bartlett, P.N. *The Electrochemical Society Interface (Winter)* 13 (2004) 28.
- [62] Walcarius, A. e Kuhn, A. *Trends in Analytical Chemistry* 27 (2008) 593.
- [63] Bardosova, M. e Tredgold, R.H. *J. Mater. Chem.* 12 (2002) 2835.

- [64] López, C. *Adv. Mater.* 15 (2003) 1679.
- [65] Braun, P.V. e Wiltzius, P. *Nature* 402 (1999) 603.
- [66] Bartlett, P.N.; Birkin, P.R. e Ghanem, M.A. *Chem. Commun.* (2000) 1671.
- [67] Bartlett, P.N.; Baumberg, J.J.; Birkin, P.R.; Ghanem, M.A. e Netti, M.C. *Chem. Mater.* 14 (2002) 2199.
- [68] Reculosa, S.; Heim, M.; Gao, F.; Mano, N.; Ravaine, S. e Kuhn, A. *Adv. Funct. Mater.* 21 (2011) 691.
- [69] Bartlett, P.N.; Dunford, T. e Ghanem, M.A. *J. Mater. Chem.* 12 (2002) 3130.
- [70] Sumida, T.; Wada, Y.; Kitamura, T. e Yanagida, S. *Chem. Lett.* (2001) 38.
- [71] Hu, J.; Abdelsalam, M.; Bartlett, P.; Cole, R.; Sugawara, Y.; Baumberg, J.; Mahajan, S. e Denuault, G. *J. Mater. Chem.* 19 (2009) 3855.
- [72] Sumida, T.; Wada, Y.; Kitamura, T. e Yanagida, S. *Chem. Commun.* (2000) 1613.
- [73] Bartlett, P.N.; Birkin, P.R.; Ghanem, M.A. e Toh, C.S. *J. Mater. Chem.* 11 (2001) 849.
- [74] Bartlett, P.N.; Baumberg, J.J.; Coyle, S.; Abdelsalam, M.E.; *Faraday Discuss.* 125 (2004) 117.
- [75] Zhukov, A.A.; Goncharov, A.V.; J. de Groot, P.A.; Bartlett, P.N. e Ghanem, M.A. *J. Appl. Phys.* 93 (2003) 7322.
- [76] Zhukov, A.A.; Goncharov, A.V.; J. de Groot, P.A.; Bartlett, P.N.; Ghanem, M.A.; Kupfer, H.; Pugh, R.J. e Tomka, G.J. *IEE Proc.-Sci. Meas. Technol.* 150 (2003) 257.
- [77] Bartlett, P.N.; Ghanem, M.A.; El Hallag, I.S.; de Groot, P. e Zhukov, A. *J. Mater. Chem.* 13 (2003) 2596.
- [78] Lal, N.N.; Soares, B.F.; Sinha, J.K.; Huang, F.; Mahajan, S.; Bartlett, P.N.; Greenham, N.C. e Baumberg, J.J. *Opt. Express* 19 (2011) 11256.
- [79] Johnson, R.P.; Mahajan, S.; Abdelsalam, M.E.; Cole, R.M.; Baumberg, J.J.; Russell, A.E. e Bartlett, P.N. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 13 (2011) 16661.

- [80] Zhukov, A.A.; Filby, E.T.; Ghanem, M.A.; Bartlett, P.N. e J. de Groot, P.A. *Physica C* 404 (2004) 455.
- [81] Orellana, M.; Ballesteros, L.; Del Río, R.; Grez, P.; Schrebler, R. e Córdova, R. *J. Solid State Electrochem.* 13 (2009) 1303.
- [82] Qiu, J-D.; Peng, H-Z; Liang, R-P e Xiong, M. *Electroanal.* 19 (2007) 1201.
- [83] Vanin, J.A. *Tese de Livre Docência, Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo* (1985) 4.
- [84] Luzzati, V.; Mustacchi, H. e Skoulios, A. *Nature* 180 (1957) 600.
- [85] Luzzati, V.; Mustacchi, H. e Skoulios, A. *Discuss. Farad. Soc.* 25 (1958) 43.
- [86] Mitchel, D.J.; Tiddy, G.J.D.; Waring, L.; Bostock, T. e McDonald, M.P. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* 79 (1983) 975.
- [87] Nelson, P.A.; Elliott, J.M.; Attard, G.S. e Owen, J.R. *Chem. Mater.* 14 (2002) 524.
- [88] Attard, G.S.; Bartlett, P.N.; Coleman, N.R.B.; Elliot, J.M. e Owen, J.R. *Langmuir* 14 (1998) 7340.
- [89] Attard, G.S.; Bartlett, P.N.; Coleman, N.R.B.; Elliot, J.M.; Owen, J.R. e Wang, J.H. *Science* 278 (1997) 838.
- [90] Lu, Y.; Ganguli, R.; Drewien, C.A.; Anderson, M.T.; Brinker, C.J.; Gong, W.; Guo, Y.; Soyez, H.; Dunn, B.; Huang, M.H. e Zink, J.I. *Nature* 389 (1997) 364.
- [91] Liu, C.; Wang, X.; Lee, S.; Pfefferle, L.D. e Haller, G.L. *Micropor. Mesopor. Mat.* 147 (2012) 242.
- [92] Elliott, J.M.; Attard, G.S.; Bartlett, P.N.; Coleman, N.R.B.; Merckel, D.A.S. e Owen, J.R. *Chem. Mater.* 11 (1999) 3602.
- [93] Whitehead, A.H.; Elliott, J.M. e Owen, J.R. *J. Power Sources* 81-82 (1999) 33.
- [94] Bartlett, P.N.; Birkin, P.N.; Ghanem, M.A.; de Groot, P. e Sawicki, M. *J. Electrochem. Soc.* 148 (2001) C119.

- [95] Bartlett, P.N.; Gollas, B.; Guerin, S. e Marwan, J. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 4 (2002) 3835.
- [96] Esterle, T.F.; Russell, A.E. e Bartlett, P.N. *Chem. Phys. Chem* 11 (2010) 2896.
- [97] Nandhakumar, I.; Elliott, J.M. e Attard, G.S. *Chem. Mater.* 13 (2001) 3840.
- [98] Bartlett, P.N. e Marwan, J. *Chem. Mater.* 15 (2003) 2962.
- [99] Franceschini, E.A.; Planes, G.A.; Williams, F.J.; Soler-Illia, G.J.A.A. e Corti, H.R. *J. Power Sources* 196 (2011) 1723.
- [100] Elliott, J.M.; Cabuché, L.M. e Bartlett, P.N. *Anal. Chem.* 73 (2001) 2855.
- [101] Zhang, J.; Xie, Z.; She, F.H.; Hoang, M.; Hill, A.J.; Gao, W.M. e Kong, L.X. *J. Appl. Polym. Sci.* 120 (2011) 1817.
- [102] Nelson, P.A. e Owen, J.R. *J. Electrochem. Soc.* 150 (2003) A1313.
- [103] Zhao, D-D; Bao, S-J; Zhou, W-J e Li, H-L. *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 869.
- [104] Wei, Z.; Feng, Z-X; Ze, L-X e Er, J.N. *J. Porous Mater.* 17 (2010) 253.
- [105] Birkin, P.R.; Elliott, J.M e Watson, Y.E. *Chem. Commun.* (2000) 1693.
- [106] Kucernak, A. e Jiang, J. *Chem. Eng. J.* 93 (2003) 81.
- [107] Evans, S.A.G.; Elliott, J.M.; Andrews, L.M.; Bartlett, P.N.; Doyle, P.J. e Denuault, G. *Anal. Chem.* 74 (2002) 1322.
- [108] Bartlett, P.N. e Guerin, S. *Anal. Chem.* 75 (2003) 126.
- [109] Park, S.; Chung, T.D. e Kim, H.C. *Anal. Chem.* 75 (2003) 3046.
- [110] Karyakin, A.A.; Puganova, E.A.; Budashov, I.A.; Kurochkin, I.N.; Karyakina, E.E.; Levchenko, V.A.; Matveyenko, V.N. e Varfolomeyev, S.D. *Anal. Chem.* 76 (2004) 474.
- [111] Puganova, E.A. e Karyakin, A.A. *Sensor Actuat. B-Chem.* 109 (2005) 167.
- [112] Matsubara, E.Y. *Tese de Doutorado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto* (2010) 47.
- [113] Kiema, G.K.; Aktay, M. e McDermott, M.T. *J. Electroanal. Chem.* 540 (2003) 7.

- [114] Lowinsoh, D.; Richter, E.M.; Angnes, L. e Bertotti, M. *Electroanal.* 18 (2006) 89.
- [115] Crepaldi, E.L.; Soler-Illia, G.J.A.A.; Grosso, D. e Sanchez, C. *New J. Chem.* 27 (2003) 9.
- [116] Crepaldi, E.L.; Soler-Illia, G.J.A.A.; Grosso, D.; Cagnol, F.; Ribot, F. e Sanchez, C. *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 9770.
- [117] Malfatti, L.; Bellino, M.G.; Innocenzi, P. e Soler-Illia, G.J.A.A. *Chem. Mater.* 21 (2009) 2763.
- [118] Varela, H.; Malta, M. e Torresi, R.M. *Quim. Nova* 23 (2000) 664.
- [119] A. de Paoli, M. e Menescal, R.K. *Quim. Nova* 9 (1986) 133.
- [120] Dutta, A.K. e Belfort, G. *Langmuir* 23 (2007) 3088.
- [121] Carpani, I.; Berrettoni, M.; Giorgetti, M.; Tonelli, D. *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 7265.
- [122] Drake, I.J.; Furdala, K.L.; Baxamusa, S.; Bell, A.T. e Tilley, T.D. *J. Phys. Chem. B* 108 (2004) 18421.
- [123] Rosolen, J.M.; Matsubara, E.Y.; Marchesin, M.S.; Lala, S.M.; Montoro, L.A. e Tronto, S. *J. Power Sources* 162 (2006) 620.
- [124] See, C.H. e Harris, A.T. *Ind. Eng. Chem. Res.* 46 (2007) 997.
- [125] Lee, S.H.; Teshima, K.; Jang, I.Y.; Yubuta, K.; Kim, Y.J.; Kim, Y.A.; Shishido, T.; Endo, M. e Oishi, S. *Chem. Commun.* 46 (2010) 2295.
- [126] Liu, Q.; Ren, W.; Chen, Z-G; Yin, L.; Li, F.; Cong, H. e Cheng, H-M. *Carbon* 47 (2009) 731.
- [127] Marmur, A. *Soft Matter* 2 (2006) 12.
- [128] Zhang, Y.; Wen, Y.; Liu, Y.; Li, D. e Li, J. *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 1180.
- [129] Forment-Aliaga, A.; Weitz, R.T.; Sagar, A.S.; Lee, E.J.H.; Konuma, M.; Burghard, M. e Kern, K. *Small* 4 (2008) 1671.

- [130] Nossol, E. e Zarbin, A.J.G. *Adv. Funct. Mater.* 19 (2009) 39.
- [131] Zengin, H.; Zhou, W.; Jin, J.; Czerw, R.; Richard, S.; Dennis Jr., W.; Echegoyen, L.; Carroll, D.L.; Foulger, S.H. e Ballato, J. *Adv. Mater.* 14 (2002) 1480.
- [132] Baibarac, M.; Baltog, I.; Lefrant, S.; Mevellec, J.Y. e Chauvet, O. *Chem. Mater.* 15 (2003) 4149.
- [133] Szamocki, R.; Velichko, A.; Muucklich, F.; Reculusa, S.; Ravaine, S.; Neugebauer, S.; Schuhmann, W.; Hempelmann, R. e Kuhn, A. *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 2121.
- [134] Szamocki, R.; Velichko, A.; Holzapfel, C.; Muucklich, F.; Ravaine, S.; Garrigue, P.; Sojic, N.; Hempelmann, R. e Kuhn, A. *Anal. Chem.* 79 (2007) 533.
- [135] Cao, G. *Nanostructures and Nanomaterials: Synthesis, Properties & Applications.* Londres, Imperial College Press (2007) 15.
- [136] Gonçalves, V.R.; Massafera, M.P.; Benedetti, T.M.; Moore, D.G.; Córdoba de Torresi, S.I. e Torresi, R.M. *J. Braz. Chem. Soc.* 20 (2009) 663.
- [137] Fiorito, P.A.; Gonçalves, V.R.; Ponzio, E.A. e Córdoba de Torresi, S.I. *Chem. Commun.* (2005) 366.
- [138] Baioni, A.P.; Vidotti, M.; Fiorito, P.A. e Córdoba de Torresi, S.I. *J. Electroanal. Chem.* 622 (2008) 219.
- [139] Abdelsalam, M.E.; Bartlett, P.N.; Kelf, T. e Baumberg, J. *Langmuir* 21 (2005) 1753.
- [140] Checco, A.; Hofmann, T.; DiMasi, E.; Black, C.T. e Ocko, B.M. *Nano Lett.* 10 (2010) 1354.
- [141] Ghanem, M.A.; Bartlett, P.N.; de Groot, P. e Zhukov, A. *Electrochem. Commun.* 6 (2004) 447.
- [142] Szamocki, R.; Reculusa, S.; Ravaine, S.; Bartlett, P.N.; Kuhn, A. e Hempelmann, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 1317.

- [143] McNamara, W.R.; Snoeberger III, R.C.; Li, G.; Schleicher, J.M.; Cady, C.W.; Poyatos, M.; Schmuttenmaer, C.A.; Crabtree, R.H.; Brudvig, G.W. e Batista, V.S. *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 14329.
- [144] Mortimer, R.J. *Chem. Soc. Rev.* 26 (1997) 147.
- [145] Liu, G. e Lin, Y. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6 (2006) 948.
- [146] Yogeswaran, Y. e Chen, S-M. *Anal. Lett.* 41 (2008) 210.
- [147] Wang, Y.; Wang, X.; Wu, B.; Zhao, Z.; Yin, F.; Li, S.; Qin, X. e Chen, Q. *Sensor Actuat. B-Chem* 130 (2008) 809.
- [148] Zou, Y.; Xiang, C.; Sun, L. e Xu, F. *Electrochim. Acta* 53 (2008) 4089.
- [149] Shirsat, M.; Too, C.O. e Wallace, G.G.; *Electroanal.* 20 (2008) 150.
- [150] Decher, G. e Schmitt, J. *Progress in Colloid & Polymer Science, Trends Colloid Interface Sci.* VI 89 (1992) 160.
- [151] Wang, J.; Liu, G. e Lin, Y. *Analyst* 131 (2006) 477.
- [152] http://digitalarchive.gsu.edu/chemistry_diss/3
- [153] Jódar-Reyes, A.B.; Ortega-Vinuesa, J.L. e Martín-Rodríguez, A. *J. Colloid. Interf. Sci.* 282 (2005) 439.

7. Apêndice

7.1. Deposição do molde coloidal sobre o carbono vítreo

As esferas de poliestireno foram depositadas sobre um eletrodo de carbono vítreo com auxílio de moléculas anfifílicas do surfactante Triton X-100, o qual é um composto não iônico de polioxietileno p-t-octilfenol. O caráter anfifílico desse surfactante faz com que ele seja capaz de se adsorver nas esferas de poliestireno, em função de uma interação entre cadeia apolar do surfactante e as regiões hidrofóbicas do molde coloidal. [153] As esferas de poliestireno foram depositadas no carbono vítreo pelo método “*drop-coating*” e a utilização do surfactante foi importante para fazer com que o molde se espalhasse de maneira homogênea por toda área do eletrodo. Portanto, o primeiro passo para a deposição do molde de poliestireno consistiu na otimização da quantidade de Triton X-100 necessária para se alcançar o melhor depósito das esferas sobre o eletrodo de carbono vítreo. Para tal, foram preparadas três soluções 0,5% m/m das esferas de poliestireno com concentrações de Triton X-100 $1,0 \times 10^{-5}$, $1,0 \times 10^{-6}$ e $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹. A Figura 78 apresenta o depósito resultante da utilização de cada uma das soluções.

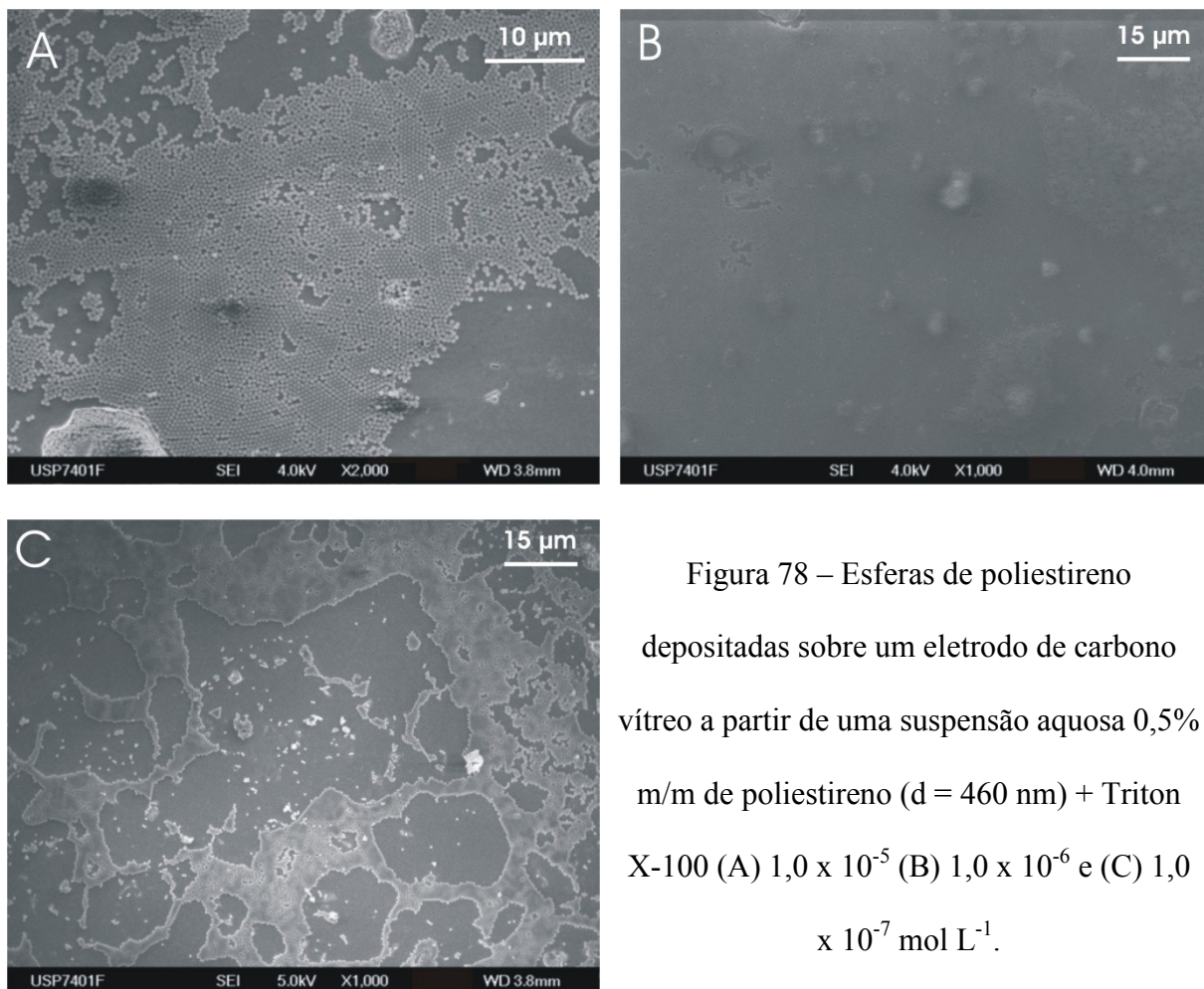


Figura 78 – Esferas de poliestireno depositadas sobre um eletrodo de carbono vítreo a partir de uma suspensão aquosa 0,5% m/m de poliestireno ($d = 460 \text{ nm}$) + Triton X-100 (A) $1,0 \times 10^{-5}$ (B) $1,0 \times 10^{-6}$ e (C) $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Pelas imagens, é possível observar que a suspensão de poliestireno com Triton X-100 $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ foi aquela que possibilitou o recobrimento de praticamente todo o eletrodo de carbono vítreo (Figura 78B). No caso da Figura 78A, a concentração de Triton X-100 $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ foi alta o suficiente para aglomerar as esferas de poliestireno, fazendo com que o depósito ficasse bastante irregular na superfície do eletrodo. Por fim, para a Figura 78C, também é possível notar uma série de espaços não recobertos na superfície do carbono vítreo, o que leva à constatação de que a concentração de surfactante $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ também não foi eficiente para estabilizar a deposição do molde coloidal. Nesse ponto, é importante ressaltar que a melhor concentração de Triton X-100 é bastante dependente da natureza do substrato. Por exemplo, quando o ITO é utilizado como eletrodo de trabalho, sua natureza

mais hidrofílica faz com que uma concentração de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de Triton X-100 seja necessária para homogeneizar o depósito das esferas de poliestireno.

Conseqüentemente, o molde coloidal foi depositado sobre os eletrodos de carbono vítreo pelo método “*drop-coating*” a partir de uma suspensão aquosa 0,5 % m/m de poliestireno com Triton X-100 $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. Após a adição, o eletrodo permaneceu em uma câmara de umidade saturada para possibilitar que o solvente evaporasse de forma bastante lenta, o que é desejável para melhorar a organização das esferas sobre o eletrodo de carbono vítreo. A Figura 79 apresenta uma obtida a partir de um eletrodo de carbono vítreo recoberto com o molde coloidal

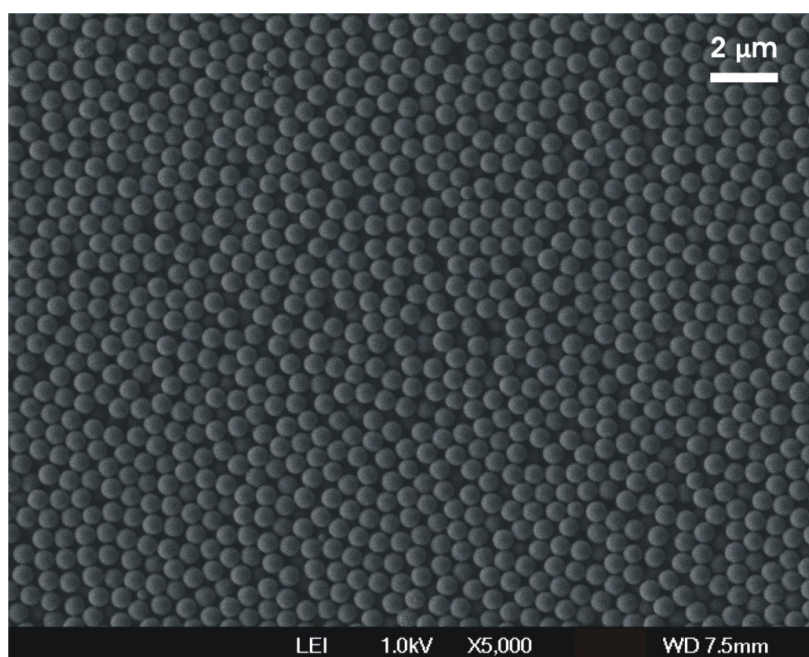


Figura 79 – Imagem de MEV, em maior magnificação que a Figura 78B, de um molde coloidal depositado a partir de uma suspensão aquosa 0,5 % m/m de poliestireno com Triton X-100 $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e deixado em repouso em uma câmara de umidade saturada.

Após a evaporação do solvente, o eletrodo de carbono vítreo com o molde de poliestireno foi alocado em uma estufa a 100 °C. Essa temperatura é ligeiramente maior que a temperatura de transição vítrea do poliestireno, o que ocasiona uma alteração nas propriedades viscoelásticas do polímero. Consequentemente, o tratamento térmico faz com que exista a criação de conexões entre as esferas vizinhas, conforme observado na comparação entre a Figura 80A (antes do tratamento térmico) e 80B (após o tratamento térmico).

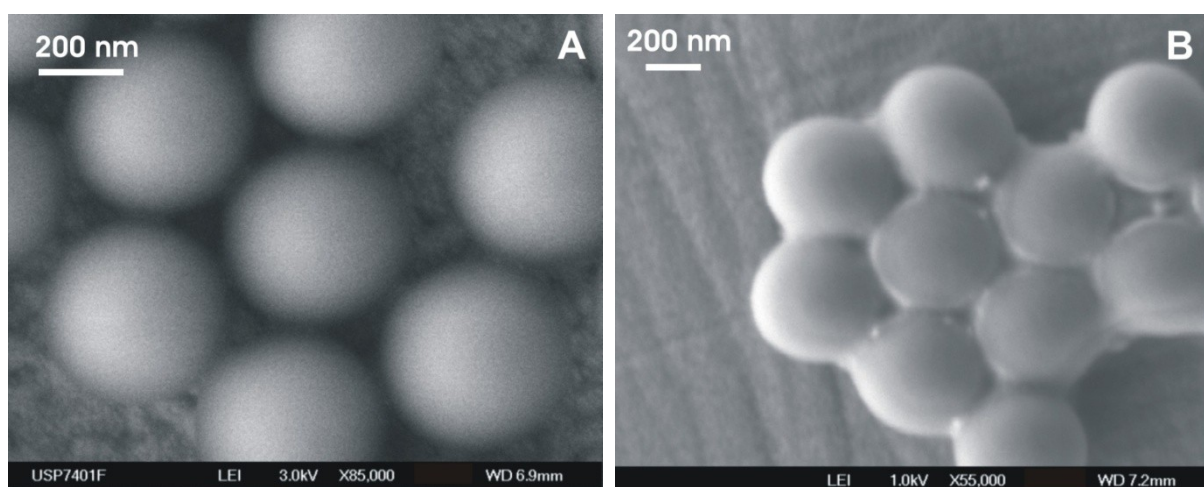


Figura ii – Esferas de poliestireno depositadas sobre um eletrodo de carbono vítreo (A) antes e (B) após o tratamento térmico.

Após o tratamento térmico, os eletrodos com os moldes coloidais já estão prontos para serem utilizados para a deposição do CuHCNFe/PPy. A formação das conexões apresentadas na Figura 80B ajudou a preservar a organização das esferas após o contato das mesmas com a solução de deposição.

Os resultados apresentados nessa seção foram obtidos em colaboração com o Prof. Dr. Pablo A. Fiorito, com a Dr^a. Mariana P. Massafra e com a Dr^a. Tânia M. Benedetti.

8. Súmula Curricular

Dados Pessoais

Nome Vinicius Romero Gonçalves

Nascimento 14/06/1983 – São Paulo/SP – Brasil

Endereço Universidade de São Paulo, Instituto de Química
Laboratório de Materiais Eletroativos
Profissional Av. Prof. Lineu Prestes, 748 – Bloco 5 Superior – Sala 577
CEP: 05508-900, São Paulo, SP – Brasil
Telefone: 11 30912350 Ramal: 22

Endereço eletrônico vromero@iq.usp.br
viniciusgoncales@gmail.com

Formação acadêmica

2006 – atual

Doutorado Direto em Química (Físico-Química)
Instituto de Química - Universidade de São Paulo
Título: Nanoestruturação de filmes finos para utilização em eletrodos enzimáticos
Orientador: Prof^a. Dr^a. Susana Inés Córdoba de Torresi
Bolsista: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. 05/59560-9)

2002 - 2005

Graduação em Química (Bacharel e Licenciatura)
Instituto de Química - Universidade de São Paulo

Estágios

08/2009 – 09/2009

Instituto de Química Física de los Materiales, Medio Ambiente y Energía – Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Trabalho desenvolvido: Síntese de plataformas mesoporosas de TiO₂ com diferentes diâmetros e profundidades. Influência da morfologia do TiO₂ mesoporoso no confinamento do Azul da Prússia e na detecção de H₂O₂

Professor Responsável: Prof. Dr. Luis Maria Baraldo

Formação complementar

2010 – Curso Teórico de Princípios Modernos em Bioeletroquímica. (Carga horária: 6h)
Sociedade Brasileira de Química

2008 – Curso Teórico de Nanomateriais e Nanotecnologia. (Carga horária: 32h)
Instituto de Química - Universidade de São Paulo

2008 – Curso Prático de Microscopia Eletrônica de Varredura. (Carga horária: 24h)
Instituto de Química - Universidade de São Paulo

2008 – Curso Teórico de Espalhamento de Luz e Raios-X aplicados à Química. (Carga: 6h).
Sociedade Brasileira de Química

2008 - Curso Teórico de Sistemas Modelo e Materiais Eletroquímicos. (Carga horária: 4h).
Sociedade Brasileira de Química

2008 – Curso Teórico de Preparação de Amostras para MEV e MET. (Carga horária: 3h).
Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais

2008 - Curso Teórico de Técnicas Eletroquímicas e XPS. (Carga horária: 6h).
Instituto de Química - Universidade de São Paulo

2007 – Curso Teórico de Dispositivos Eletroquímicos para Armazenamento de Carga (6h).
Sociedade Brasileira de Química

2007 – Curso Teórico sobre Propriedade Intelectual (Carga horária: 4h)
The Electrochemical Society, Inc.

2006 - Curso Teórico de Espectroscopia Vibracional (Carga horária: 40h).
Instituto de Química - Universidade de São Paulo

Atividades Acadêmicas

2003 – 2005

Iniciação Científica em Química (Físico-Química)

Instituto de Química - Universidade de São Paulo

Título: Síntese e caracterização de nanopartículas de azul da Prússia. Propriedades eletroquímicas e aplicação na construção de biossensores.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Susana Inés Córdoba de Torresi.

Bolsista: Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento – PIBIC

2004

Vice-Presidente da Empresa Júnior do IQ-USP

Monitorias

2010 – Monitor da 5^a Escola de Eletroquímica

2009 – Monitor da 4^a Escola de Eletroquímica

2008 – Monitor da 3^a Escola de Eletroquímica

2008 – Monitor da Disciplina Semestral de Físico-Química Experimental

2008 – Monitor da Disciplina Semestral de Eletroquímica e Métodos Eletroanalíticos

2007 – Monitor da 2^a Escola de Eletroquímica

2007 – Monitor da Disciplina Semestral Físico-Química I

2007 – Monitor da Disciplina Semestral Físico-Química Experimental

2006 – Monitor da 1^a Escola de Eletroquímica

Outros Idiomas

Inglês – Compreende: Bem; Fala: Bem; Escreve: Bem; Lê: Bem

Espanhol – Compreende: Bem; Fala: Pouco; Escreve: Pouco; Lê: Bem

Artigos Publicados em Periódicos Científicos

1. V.R. Gonçalves, E.Y. Matsubara, J.M. Rosolen, S.I. Córdoba de Torresi. Micro/nanostructured carbon composite modified with a hybrid redox mediator and enzymes as a glucose biosensor. *Carbon* 2011, 49, 3039.
2. T.M. Benedetti, V.R. Gonçalves, D.F.S. Petri, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi. Macroporous MnO₂ electrodes obtained by template assisted electrodeposition for electrochemical capacitors. *J. Braz. Chem. Soc.* 2010, 21, 1704.
3. M. Gaitán, V.R. Gonçalves, G.J.A.A. Soler-Illia, L.M. Baraldo, S.I. Córdoba de Torresi. Structure effects of self-assembled Prussian blue confined in highly organized mesoporous TiO₂ on the electrocatalytic properties towards H₂O₂ detection. *Biosen. Bioelectron.* 2010, 26, 890.
4. V.R. Gonçalves, M.P. Massafra, T.M. Benedetti, D.G. Moore, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi. Nanostructured thin films obtained by electrodeposition over a colloidal crystal template: applications in electrochemical devices. *J. Braz. Chem. Soc.* 2009, 20, 663.
5. M. Vidotti, V.R. Gonçalves, V.S. Quartero, B. Danc, S.I. Córdoba de Torresi. Platinum nanoparticle-modified electrodes, morphologic, and electrochemical studies concerning electroactive materials deposition. *J. Solid State Electrochem.* 2009, 14, 675.
6. V.R. Gonçalves, R.P. Salvador, M.R. Alcântara, S.I. Córdoba de Torresi. On the template synthesis of nanostructured inorganic/organic hybrid films. Suitable platforms for biosensors. *J. Electrochem. Soc.* 2008, 155, K140-K145, 2008.
7. P.A. Fiorito, V.R. Gonçalves, E.A. Ponzio, S.I. Córdoba de Torresi. Synthesis, characterization and immobilization of Prussian blue nanoparticles. A potential tool for biosensing devices. *Chem. Commun.* 2005, 3, 366.

Citações

Web of Science

Total de trabalhos = 7

Total de citações = 85

Fator H = 3

Nome utilizado para pesquisa = goncales, vr

Data: 01/11/2011

Artigos Publicados em Periódicos Científicos Não-Indexados

1. V.R. Gonçalves, R.P. Salvador, M.R. Alcântara, S.I. Córdoba de Torresi.
Electrodeposition of a nanostructured hybrid copper hexacyanoferrate/polypyrrole film using liquid crystals and colloidal particles templates. Application to H₂O₂ detection. In: ECS Transactions: Sensors, Actuators, and Microsystems 2008, 11, 7.

Prêmios

- 2011** - Prêmio Qualidade em Publicação 2010, referente ao artigo M. Gaitán, V.R. Gonçalves, G.J.A.A. Soler-Illia, L.M. Baraldo, S.I. Córdoba de Torresi, Biosens. Bioelectron. 2010, 26, 890. Outorgado pelo Instituto de Química da Universidade de São Paulo.
- 2007** - Trabalho premiado no XVI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica para participar do 212th Electrochemical Society Meeting. Outorgado pela “The Electrochemical Society”.
- 2006** - Prêmio Lavoisier pelo desempenho no Curso de Bacharel em Química, referente à turma 2002/2005. Outorgado pelo Conselho Regional de Química.
- 2006** - Trabalho Premiado na 29^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Outorgado pela Sociedade Brasileira de Química.
- 2004** – 1^o lugar no Concurso de Painéis da XXI Semana da Química-IQUSP. Outorgado pelo Centro Acadêmico do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

Participação em Eventos Científicos

1. XVIII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica.
V.R. Gonçalves, A. de O.P. Bragatto, T.M. Benedetti, R.M. Torresi, S.I. Córdoba de Torresi
Síntese de mediadores macroporosos de hexacianoferrato de cobre/polipirrol. Influência do tamanho do poro na detecção de H₂O₂.
Apresentação oral, Bento Gonçalves, Brasil, 2011.
2. 9th Spring Meeting of the International Society of Electrochemistry.
V.R. Gonçalves, A. de O.P. Bragatto, T.M. Benedetti, R.M. Torresi, S.I. Córdoba de Torresi
Template synthesis of macroporous copper hexacyanoferrate/polypyrrole transducers. Influence of pore size on H₂O₂ detection.
Apresentação oral em inglês, Turku, Finlândia, 2011.

3. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
V.R. Gonçalves, E.Y. Matsubara, J.M. Rosolen, S.I. Córdoba de Torresi
Compósito feltro/nanotubos de carbono modificado com um mediador redox híbrido e com enzimas para a detecção de glicose.
Apresentação de painel, Águas de Lindóia, Brasil, 2010.
4. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
P. Ponce, V.R. Gonçalves, S. Kapelius, S.I. Córdoba de Torresi, A. Lugão
Utilização de amido como eletrólito para dispositivos eletrocromáticos.
Apresentação de painel, Águas de Lindóia, Brasil, 2010.
5. 2º Workshop do INCT Bioanalítica.
V.R. Gonçalves, M.P. Massafra, K.S. Galhardo, L.T. Silveira, S.I. Córdoba de Torresi
Relação geometria/tamanho/reactividade em materiais nanoestruturados aplicados a sensores e biosensores.
Apresentação oral, Águas de Lindóia, Brasil, 2010.
6. XIX Congreso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica.
V.R. Gonçalves, E.Y. Matsubara, J.M. Rosolen, S.I. Córdoba de Torresi
Biossensores de glicose construídos a partir de um compósito de feltros/nanotubos de carbono modificados com um mediador redox híbrido.
Apresentação oral, Alcalá de Henares, Espanha, 2010.
7. 216th Electrochemical Society Meeting.
V.R. Gonçalves, M.H. Gaitán, G.J.A.A. Soler-Illia, L.M. Baraldo, S.I. Córdoba de Torresi
Choline Biosensors based on mesoporous and macroporous Prussian Blue analogues. Size/confinement effects.
Apresentação oral em inglês, Viena, Áustria, 2009.
8. 216th Electrochemical Society Meeting.
P. Ponce, V.R. Gonçalves, A. Lugão, S.I. Córdoba de Torresi.
The performance of starch films electrolyte for bismuth electrodeposition devices.
Apresentação de painel em inglês, Viena, Áustria, 2009.
9. XVII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica.
V.R. Gonçalves, M.H. Gaitán, G.J.A.A. Soler-Illia, L.M. Baraldo, S.I. Córdoba de Torresi
Síntese template de plataformas nanoestruturadas para biossensores de colina.
Apresentação oral e de painel, Fortaleza, Brasil, 2009.
10. XVII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica.
A.S. Navarro, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi

- Síntese e caracterização de nanopartículas de hexacianoferrato de cobre para detecção de H_2O_2 . Potencial aplicação em biossensores.
Apresentação de painel, Fortaleza, Brasil, 2009.
11. 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
V.R. Gonçalves, E.Y. Matsubara, J.M. Rosolen, S.I. Córdoba de Torresi
Feltros de nanotubos de carbono modificados com análogos híbridos do Azul da Prússia.
Aplicação em Biossensores.
Apresentação de painel, Águas de Lindóia, Brasil, 2008.
12. The 59th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry.
V.R. Gonçalves, E.Y. Matsubara, J.M. Rosolen, S.I. Córdoba de Torresi
Carbon nanotube/felt composite electrode modified with Prussian Blue hybrid analogue.
Application in biosensors.
Apresentação oral em inglês, Sevilha, Espanha, 2008.
13. VII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
V.R. Gonçalves, D.G. Moore, E.Y. Matsubara, M.R. Alcântara, J.M. Rosolen, S.I. Córdoba de Torresi
Nanostructured platforms for biosensors.
Apresentação oral em inglês, Guarujá, Brasil, 2008.
14. 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
V.R. Gonçalves, R.P. Salvador, S.I. Córdoba de Torresi
Desenvolvimento de sistemas nanoestruturados por template de partículas de poliestireno com potencial aplicação em biossensores.
Apresentação de painel, Águas de Lindóia, Brasil, 2007.
15. 212th Electrochemical Society Meeting.
V.R. Gonçalves, R.P. Salvador, M.R. Alcântara, S.I. Córdoba de Torresi
Electrodeposition of a nanostructured hybrid copper hexacyanoferrate/polypyrrole film using liquid crystals and polystyrene templates. A device for H_2O_2 detection and potential applicability in biosensors.
Apresentação de painel em inglês, Washington, Estados Unidos, 2007.
16. XVI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica.
V.R. Gonçalves, M.R. Alcântara, S.I. Córdoba de Torresi
Eletrodeposição de filmes finos utilizando cristais líquidos liotrópicos como molde.
Apresentação oral e de painel, Águas de Lindóia, Brasil, 2007.
17. 29^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

- V.R. Gonçalves, M. Vidotti, P.A. Fiorito, S.I. Córdoba de Torresi
Otimização da conexão elétrica de nanopartículas de azul da Prússia. Aplicação na detecção de H_2O_2 .
Apresentação de painel, Águas de Lindóia, Brasil, 2006.
18. 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
V.R. Gonçalves, P.A. Fiorito, M. Vidotti, S.I. Córdoba de Torresi
Imobilização de nanopartículas de azul da Prússia e PEDOT/PSS através de camadas automontadas. Aplicações em sensores e dispositivos eletrocromáticos.
Apresentação de painel, Poços de Caldas, Brasil, 2005.
19. 13º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo.
V.R. Gonçalves, P.A. Fiorito, M. Vidotti, S.I. Córdoba de Torresi
Síntese e caracterização de nanopartículas de azul da Prússia. Aplicação na detecção de H_2O_2 .
Apresentação de painel, São Paulo, Brasil, 2005.
20. XV Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica.
V.R. Gonçalves, P.A. Fiorito, M. Vidotti, S.I. Córdoba de Torresi
Síntese e caracterização de nanopartículas de azul da Prússia. Aplicação na detecção de H_2O_2 .
Apresentação de painel, Londrina, Brasil, 2005.
21. 27ª Reunião Anual da SBQ e Congresso Latino Americano de Química.
V.R. Gonçalves, P.A. Fiorito, S.I. Córdoba de Torresi
Nanopartículas de azul da Prússia automontadas sobre eletrodos de ITO. Aplicação na detecção de H_2O_2 .
Apresentação de painel, Salvador, Brasil, 2004.
22. 21ª Semana da Química do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.
V.R. Gonçalves, P.A. Fiorito, S.I. Córdoba de Torresi
Nanopartículas de azul da Prússia automontadas sobre eletrodos de ITO. Aplicação na detecção de H_2O_2 .
Apresentação de painel, São Paulo, Brasil, 2004.
23. 12º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo.
V.R. Gonçalves, P.A. Fiorito, S.I. Córdoba de Torresi
Nanopartículas de azul da Prússia automontadas sobre eletrodos de ITO. Aplicação na detecção de H_2O_2 .
Apresentação de painel, São Paulo, Brasil, 2004.

Trabalhos Inscritos em Eventos Científicos e Apresentados por Outro Autor

1. 220th Electrochemical Society Meeting.
S.I. Córdoba de Torresi, V.R. Gonçalves, L.T. Silveira, E.Y. Matsubara, J.M. Rosolén, F.B. Nogueira, M. Minadeo
Micro/nanostructured carbon composite applied in second and third generation biosensors.
Apresentação oral em inglês realizada por S.I. Córdoba de Torresi, Boston, Estados Unidos, 2011.
2. I Semana da Química e V Semana da Ciência, Tecnologia e Inovação do IFSP-SP
D.G.B. Limachi, V.R. Gonçalves, E.P. Cintra, S.I. Córdoba de Torresi
Estudo do compósito $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ / poli(5-NH₂ 1-NAP) na elaboração de sensores para H₂O₂.
Painel apresentado por D.G.B. Limachi, São Paulo, Brasil, 2011.
3. XVIII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica
D.B. Limachi, V.R. Gonçalves, E.P. Cintra, S.I. Córdoba de Torresi
Sinergismo entre poli(5-amino 1-naftol) e azul da Prússia na elaboração de sensores para H₂O₂.
Apresentação oral realizada por E.P. Cintra, Bento Gonçalves, Brasil, 2011.
4. 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
T.T. Guaraldo, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi, M.V.B. Zanoni
Síntese, caracterização e aplicação de eletrodos bicomponentes nanoestruturados de W/WO₃/TiO₂ por template na degradação de corantes.
Painel apresentado por T.T. Guaraldo, Florianópolis, Brasil, 2011.
5. 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
D.G.B. Limachi, V.R. Gonçalves, E.P. Cintra, S.I. Córdoba de Torresi
Estudo do composto híbrido $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ / poli(5-NH₂ 1-NAP) como sensor de H₂O₂.
Painel apresentado por D.G.B. Limachi, Florianópolis, Brasil, 2011.
6. XIX Congreso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica.
M.H. Gaitán, V.R. Gonçalves, G.J.A.A. Soler-Illia, L.M. Baraldo, S.I. Córdoba de Torresi
Efeitos de tamanho/estrutura de azul de Prússia automontado confinado em TiO₂ mesoporoso altamente organizado sobre as propriedades electrocatalíticas para a detecção de H₂O₂.
Apresentação oral realizada por S.I. Córdoba de Torresi, Alcalá de Henares, Espanha, 2010.

7. 33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
A. de O.P. Bragatto, V.R. Gonçalves, T.M. Benedetti, R.M. Torresi, S.I. Córdoba de Torresi
Estudo da influência do tamanho do poro no desempenho dos mediadores.
Painel apresentado por A. de O.P. Bragatto, Águas de Lindóia, Brasil, 2010.
8. 33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
D.G.B. Limachi, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi, E.P. Cintra
Diferentes modos de imobilização do azul da Prússia utilizando o polímero condutor poli(5-amino-1-naftol) como mediador.
Painel apresentado por D.G.B. Limachi, Águas de Lindóia, Brasil, 2010.
9. 33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
T.M. Benedetti, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi
Obtenção de filmes macroporosos de MnO₂ com controle de tamanho de poro e caracterização eletroquímica em diferentes eletrólitos.
Painel apresentado por T.M. Benedetti, Águas de Lindóia, Brasil, 2010.
10. 61st Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry.
V.R. Gonçalves, E.Y. Matsubara, J.M. Rosolen, S.I. Córdoba de Torresi
Carbon nanotubes/felt composite modified with a hybrid redox mediator and enzymes for glucose biosensing.
Apresentação oral em inglês realizada por S.I. Córdoba de Torresi, Nice, França, 2010.
11. IX Encuentro Comisión Nacional de Energía Atómica.
M.H. Gaitán, V.R. Gonçalves, G.J.A.A. Soler-Illia, S.I. Córdoba de Torresi, L.M. Baraldo
Efectos del tamaño/estructura en Azules de Prusia autoensamblados sobre materiales mesoporos de TiO₂.
Apresentação oral em espanhol realizada por M.H. Gaitán, Bariloche, Argentina, 2009.
12. 60th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry.
M.H. Gaitán, V.R. Gonçalves, G.J.A.A. Soler-Illia, L.M. Baraldo, S.I. Córdoba de Torresi
Structure/size effects of self-assembled Prussian blue confined in highly organized mesoporous TiO₂ on the electrocatalytic properties towards H₂O₂ detection.
Apresentação oral em inglês realizada por S.I. Córdoba de Torresi, Beijing, China, 2009.
13. 216th Electrochemical Society Meeting.
T.M. Benedetti, V.R. Gonçalves, D. Petri, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi
Wettability effects on macroporous MnO₂ electrodes by hydrophobic or hydrophilic ionic liquids.

- Apresentação oral em inglês realizada por T.M. Benedetti, Viena, Áustria, 2009.
14. 11th International Conference on Advanced Materials and VIII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
T.M. Benedetti, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi
Wettability and electrochemical studies of macroporous MnO₂ films in hydrophobic and hydrophilic ionic liquids.
Apresentação oral em inglês realizada por T.M. Benedetti, Rio de Janeiro, Brasil, 2009.
15. XVII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica.
T.M. Benedetti, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi
Eletródese de MnO₂ sobre molde de partículas coloidais e caracterização eletroquímica em diferentes eletrólitos.
Apresentação oral e de painel realizada por T.M. Benedetti, Fortaleza, Brasil, 2009.
16. 31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.
C.P. Sousa, W.A. Alves, P.A. Fiorito, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi
Imobilização da glicose oxidase nas superfícies nanoestruturadas de ouro e nos filmes nanocristalinos de dióxido de titânio.
Painel apresentado por C.P. Sousa, Águas de Lindóia, Brasil, 2008.
17. VII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
T.M. Benedetti, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi, R.M. Torresi
MnO₂ nanostructured electrode prepared by electrodeposition over a colloidal crystal template as cathode for lithium battery.
Apresentação oral em inglês realizada por T.M. Benedetti, Guarujá, Brasil, 2009.
18. VII Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
M.P. Massafra, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi
Nanoestruturação de filmes de poli(pirrol) com aplicação em sensores de amônia.
Painel apresentado por M.P. Massafra, Águas de Lindóia, Brasil, 2007.
19. VI Encontro da Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais.
M.P. Massafra, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi
Template nanostructuring of poly(pyrrole) and poly(5-amine-1-naphtol) and its application to urea biosensor.
Apresentação oral em inglês realizada por M.P. Massafra, Natal, Brasil, 2007.
20. 15^a Reunião Anual de Usuários do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron.
P.A. Fiorito, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi

Nanopartículas de azul da Prússia automontadas sobre eletrodos de ITO. Aplicação na detecção de H_2O_2 .

Painel apresentado por P.A. Fiorito, Campinas, Brasil, 2005.

21. 2nd Spring Meeting of the International Society of Electrochemistry.

P.A. Fiorito, V.R. Gonçalves, S.I. Córdoba de Torresi

Enzymes and nanoparticles immobilized by electrostatic layer-by-layer deposition: a versatile tool for preparing biosensors.

Apresentação oral em inglês realizada por S.I. Córdoba de Torresi, Xiamen, China, 2004.