Universidade de São Paulo

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**“ Caracterização eletroquímica de metaloporfirinas e
imobilização em filmes de pirrol eletropolimerizados:
Preparação e aplicação.”**

Valéria Priscila de Barros

Dissertação apresentada à Faculdade de
Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da
USP, como parte das exigências para a obtenção
do título de Mestre em Ciências, Área: **Química**.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marilda das Dores Assis

RIBEIRÃO PRETO -SP

2003

“Sabedoria não consiste em armazenar conhecimento, mas em saber fazer uso do que possui. Por isso mesmo, é muito comum encontrarmos sábios que não são cientistas e cientistas que não são sábios.”

Olga B.C. de Almeida

Dedico esta dissertação aos meus pais, Lucia e Adelson, que não mediram esforços para que pudesse realizar meus sonhos, e que sempre estiveram do meu lado em todos os momentos, apesar de minhas numerosas ausências e falhas.

Ao meu irmão Adelson Jr. e a minha sobrinha Lívia, pela presença em todas as minhas conquistas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente as Prof^{as}. **Marilda das Dores Assis** (orientadora) e **Maria Valnice B. Zanoni** (coorientadora, ainda que não oficial), pelos ensinamentos, dedicação, pela constante presença durante todas as etapas do trabalho e a quem atribuo o meu aprimoramento científico e elaboração desta dissertação.

Ao Prof. **Nelson R. Stradiotto**, pela orientação na iniciação científica e por me ensinar o prazer da pesquisa.

Ao Prof. **Herenilton**, por ceder seu equipamento para realização dos experimentos e disponibilidade em me ajudar.

Aos meus amigos de laboratório: **Ádamo, André Faria, André Guedes, Carol, Débora, Juvenal, Ricardo, Tatiana e Zanatto**, obrigada pelo apoio e momentos de alegria.

A minha amiga **Daniela**, que sempre esteve do meu lado e pela amizade de tantos anos e a sua família que sempre me recebeu muito bem.

Ao meu amigo **Alessandro**, pelo carinho e a amizade.

A minha amiga **Keith**, pela amizade que continua apesar da distância.

As minhas companheiras de apartamento: **Ana Rosa, Andréia** (irmã), **Ana Paula e Ana P. Garcia**, pela bagunça de final de semana, churrasco, por me aturarem nos momentos de stress e pela amizade.

Aos amigos: Jeane, Fabiana, Prof. Jair, Rogério, Soninha, J. Olavo, Aline, Eduardo (loro), Janaína e Adriana.

A todos do Laboratório da Prof^a. Valnice - UNESP de Araraquara.

A todos os professores e funcionários do Depto de Química e da F.F.C.L.R.P.
que contribuíram para minha formação e realização deste trabalho.

À CAPES pela bolsa concedida.

Lista de notações	8
Resumo	10
Abstract	12
I. Introdução	14
I – 1. Aspectos gerais	14
I – 2. Citocromo P-450	16
I – 3. Ciclo catalítico do citocromo P-450	18
I – 4. Metaloporfirinas como modelos biomiméticos	20
I – 5. Espectros UV/Vis de metaloporfirinas	21
I – 6. Eletrodos quimicamente modificados	25
I – 7. Eletrodos quimicamente modificados e metaloporfirinas	28
I – 8. Corante reativo azo e citocromo P450	29
II. Objetivo	33
III. Materiais e métodos	35
III – 1. Materiais.....	35
III – 2. Inserção de manganês na $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$	37
III – 3. Inserção de manganês na $[H_2(T2APP)]$	37
III – 4. Caracterização das metaloporfirinas por espectroscopia UV/Vis	38
III – 5. Caracterização das metaloporfirinas por voltametria cíclica e espectroeletroquímica	39
III – 6. Filme obtido pela polimerização de pirrol e $[Mn(T4MpyP)]^{5+}$	39

III – 7. Estudo da interação do filme da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ com corante vermelho reativo 120	39
III – 8. Filme obtido pela polimerização de pirrol-2-carboxi-ácido e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$	40
III – 9. Estudo da interação do filme de pirrol-2-carboxi-ácido e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ com o corante vermelho reativo 120	40
IV. Resultados e discussão	42
IV – 1. Inserção de manganês na $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$ e $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$	42
IV – 2. Caracterização da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ por espectroscopia UV/Vis	43
IV – 3. Comportamento voltamétrico da $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$	46
IV – 4. Espectroeletroquímica da $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$	52
IV – 5. Comportamento voltamétrico da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$	55
IV – 6. Espectroeletroquímica da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$	60
IV – 7. Eletrodos modificados por polipirrol e $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$	61
IV – 8. Interação do corante vermelho reativo 120 com o filme de polipirrol/ $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$	67
IV – 9. Comportamento voltamétrico da $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$	
IV – 10. Comportamento voltamétrico da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$	76
IV – 11. Eletrodos modificados por pirrol-2-carboxi-ácido/ $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$	81
IV – 12. Interação do corante vermelho reativo 120 com o filme de pirrol-2- carboxi-ácido/ $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$	84

V. Conclusão	90
VI. Referências Bibliográficas	92
VII. Bibliografia	106

v	Velocidade de varredura
λ	Comprimento de onda
ε	Coeficiente de absorvidade molar
Acn	Acetonitrila
CCD	Cromatografia em camada delgada
CH_3Cl	Clorofórmio
Dcm	Diclorometano
Dmf	N,N' - Dimetilformamida
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
EQM	Eletrodo Quimicamente Modificado
H_2P	Porfirina base livre
i_{pa}	Corrente de pico anódica
i_{pc}	Corrente de pico catódica
MeOH	Metanol
MnAc	Acetato de manganês II tetrahidratado
MnP	Manganêsporfirina
MnTPP ⁺	5,10,15,20-tetrafenilporfirina manganês (III)
$[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$	cloreto de 5, 10, 15, 20-tetrakis(2'-aminofenil)porfirinamanganês(III)
$[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$	hexafluorofosfato de 5, 10, 15, 20-tetrakis(4'-metilpiridil)porfirinamanganês(III)
NO	Óxido nítrico
P-450	Citocromo P-450
PhIO	Iodosilbenzeno

PTBA	Perclorato de tetrabutilamônio
Py	pirrol
Py	4-metil-piridil
PyCOOH	Pirrol-2-carboxi-ácido
RR120	Corante vermelho reativo 120
UV/Vis	Ultravioleta/visível

Este trabalho descreve a preparação e caracterização de eletrodos modificados com metaloporfirinas e sua utilização para a redução e/ou oxidação de compostos orgânicos.

As metaloporfirinas utilizadas foram a hexafluorofosfato de 5, 10, 15, 20–tetrakis(4'-metilpiridil)porfirinamanganês(III) - $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ e cloreto de 5, 10, 15, 20–tetrakis(2'-aminofenil)porfirinamanganês(III) - $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$. Estas manganêsporfirinas (MnP) foram obtidas a partir das reações das porfirinas base livres comerciais: cloreto de 5, 10, 15, 20–tetrakis(4'-metilpiridil)porfirina - $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$ e 5, 10, 15, 20–tetrakis(2'-aminofenil)porfirina - $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$, com o sal de manganês (II).

A $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ foi purificada por recristalização em metanol e clorofórmio e a $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ foi purificada por cromatografia em coluna de sílica usando como eluente a mistura diclorometano/metanol (1%). As manganêsporfirinas foram caracterizadas por espectroscopia UV/Vis, voltametria cíclica e espectroeletroquímica.

Para a modificação do eletrodo utilizou-se 2 diferentes métodos dependendo da manganêsporfirina: a) pré-eletropolimerização do pirrol seguido pela adsorção da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ e b) polimerização do pirrol-2-carboxi-ácido na presença da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$; ambos sobre eletrodo de carbono vítreo.

Os resultados obtidos mostraram que filmes de polipirrol/ $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ obtidos por eletropolimerização do pirrol seguido de imersão em uma solução da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em meio tamponado (tampão fosfato, pH=7,4), exibem forte retenção na superfície do eletrodo, com alta estabilidade do sinal voltamétrico em potencial de $-0,37 \text{ V}$ vs Ag/AgCl, atribuído à redução $\text{Mn(III)} / \text{Mn(II)}$. Para comprovar a presença da manganêsporfirina no filme preparou-se um filme

semelhante sobre eletrodo de vidro/ITO. Neste eletrodo modificado foi possível observar, por espectroscopia UV/Vis, a presença da banda Soret em 466 nm, característica desta manganêsporfirina. Deste modo, observou-se que eletrodos modificados por polipirrol podem ser utilizados para incorporação do cátion $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$, formando filmes estáveis, utilizando-se o ânion fosfato como contra-íon na formação do filme. Este EQM/MnP foi investigado quanto à sua capacidade de catalisar a redução eletroquímica do corante têxtil RR120 (vermelho reativo 120). Embora tenha sido observado um aumento na corrente referente à redução $\text{Mn(III)}/\text{Mn(II)}$ do filme, esta variação não apresenta potencialidade de aplicação analítica, devido à baixa sensibilidade, traduzida pelo pequeno incremento de corrente em relação ao sinal da manganêsporfirina retida no filme.

Para a $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ observou-se que o melhor método para a modificação do eletrodo foi por polimerização direta do pirrol-2-carboxi-ácido na presença desta manganêsporfirina. Estudos referentes à capacidade eletrocatalítica deste EQM/MnP foram realizados para a redução eletroquímica do corante têxtil RR120. Uma variação significativa na corrente foi observada, apresentando assim potencial de aplicação na análise deste corante.

This work describes the preparation and characterization of metalloporphyrin-modified electrodes and their application in the reduction or/and oxidation of organic compounds.

The studied metalloporphyrins were 5,10,15,20-tetrakis(4'-methylpyridyl)porphyrinmanganese(III)hexafluorophosphate, $[\text{Mn}(\text{T4MPyP})](\text{PF}_6)_5$, and 5,10,15,20-tetrakis(2'-aminophenyl)porphyrinmanganese(III)chloride, $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$. These manganese porphyrins (MnP) were obtained through the reaction of commercial free base porphyrins: 5,10,15,20-tetrakis(4'-methylpyridil)porphyrinchloride, $[\text{H}_2(\text{T4MPyP})]\text{Cl}_4$, and 5,10,15,20-tetrakis(2'-aminophenyl)porphyrin, $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$, with the manganese(II) salt.

$[\text{Mn}(\text{T4MPyP})]^{5+}$ was purified by recrystallization in methanol/chloroform and $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ was purified by column chromatography on silica using dichloromethane/methanol (1%) as eluent. The manganese porphyrins were characterized by UV/Vis spectroscopy, cyclic voltammetry and spectroelectrochemistry.

The modified electrodes were prepared using two different methods depending on the manganese porphyrin: a) pre-electropolymerization of pyrrole followed by adsorption of $[\text{Mn}(\text{T4MPyP})]^{5+}$ and b) polymerization of pyrrole-2-carboxylic acid in the presence of $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$. In both methods, vitreous carbon disk was used as electrode.

The results have shown that polypyrrole/ $[\text{Mn}(\text{T4MPyP})]^{5+}$ films obtained through electropolymerization of pyrrole followed by immersion in $[\text{Mn}(\text{T4MPyP})]^{5+}$ solution in phosphate buffer (pH=7.4) are strongly adsorbed on the electrode surface. They present high stability of the voltammetric signal in $-0,37\text{ V}$ vs. Ag/AgCl , due to $\text{Mn}(\text{III})/\text{Mn}(\text{II})$ reduction. In order to prove the presence of the manganese porphyrin on the film, a similar film was prepared on the ITO electrode. It was possible to

observe the characteristic manganese porphyrin Soret band in 466 nm in this modified electrode. Therefore, polypyrrole modified electrodes can incorporate the $[\text{Mn}(\text{T4MPyP})]^{5+}$ cation, giving rise to stable films. The phosphate ions probably act as counter-ions during film formation. This EQM/MnP was investigated as catalyst for the electrochemical reduction of the textile dye RR120 (red reactive 120). Although an increase in the current was observed due to $\text{Mn(III)}/\text{Mn(II)}$ reduction, this was not significant enough for analytical purposes. This probably happens due to its smaller sensitivity if compared to the film current itself.

The $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ modified electrode was prepared by direct polymerization of pyrrole-2-carboxylic acid in the presence of this manganese porphyrin. The electrocatalytic activity of this EQM/MnP was investigated for the electrochemical reduction of the RR120 dye. A significant increase in the current was observed, which enabled its use for analytical purposes in the case of this dye.

Keywords: Metallorhorphyrins, Modified electrodes, Procion Red HE-3B

I – 1. ASPECTOS GERAIS

A explicação de Lavoisier para o fenômeno da combustão em 1774 marcou o fim da teoria do flogístico e o advento da era moderna na química. Lavoisier estudou os processos de oxidação biológica e, baseando-se em estudos quantitativos com humanos, concluiu que a respiração é uma combustão lenta de vários nutrientes, como gorduras e açúcares. Ele definiu oxidação como a adição de átomos de oxigênio a um substrato e redução como a retirada destes (Reação 1) [Sheldon (1994); Schiavon (1998)].

O desenvolvimento de reações de oxidação seletivas de moléculas orgânicas continua sendo de extrema importância para a obtenção de novas substâncias e novos materiais, tanto na indústria química como na indústria farmacêutica [Davoras & Coutsolelos (2003); Cunningham et al. (2002); Liu et al. (2002)]. Atingir esse objetivo é uma tarefa difícil uma vez que essas reações são freqüentemente acompanhadas pela formação de radicais livres, fazendo com que a baixa seletividade seja uma das suas principais características [Li & Xia (2003); Diab & Schuhmann (2001); Smith (1975)]. Consequentemente, há uma grande necessidade em projetar catalisadores que controlem ou evitem a formação dessas espécies altamente reativas.

A natureza soluciona este problema através de enzimas de oxigenação capazes de conduzir reações de oxidação seletivas à temperatura ambiente, sob pressão atmosférica. Uma classe de enzimas muito estudada são as

monooxigenases, como o citocromo P-450, hemeproteínas capazes de oxidar seletivamente uma grande diversidade de substratos, incluindo substratos inertes como os hidrocarbonetos [Guo & Peng (2003); Guo et al. (2003b); Mohajer & Rezaeifard (2002); Montellano (1986)].

Uma das estratégias adotadas nas últimas décadas para o aproveitamento do potencial catalítico das enzimas na química fina consiste no desenvolvimento de novos catalisadores sintéticos capazes de mimetizar o comportamento destes sistemas biológicos. Metaloporfirinas sintéticas têm despertado grande interesse por ser o grupo prostético de hemeproteínas como as monooxigenases (citocromo P-450), as catalases, as peroxidases e as ligninases [Mohajer & Rezaeifard (2002); Cosnier et al. (2000); Rocha et al. (2002); Schiavon et al. (2001); Meunier (1992)].

As hemeproteínas diferem umas das outras pela cadeia polipeptídica, em alguns casos pela estrutura do grupo heme, estado de oxidação do íon de ferro (+2 ou +3) e principalmente pelo ligante axial [Dolphin et al. (1997); Meunier (1992)]. A ferroprotoporfirina IX (Figura 1) constitui o sítio ativo de hemeproteínas que apresentam importantes papéis biológicos, como por exemplo o transporte e armazenamento de oxigênio (hemoglobina e mioglobina), transferência de elétrons (citocromos) e a oxidação catalítica de compostos orgânicos (citocromo P-450) [Sheldon (1994)] (Figura 1). Na hemoglobina e mioglobina a ferroporfirina se liga a proteína através da coordenação do ferro ao imidazol de um resíduo histidínico e no citocromo P-450 ao tiolato de um resíduo de cisteína. A mudança do ligante axial imidazol para tiolato, provoca uma alteração na função da hemeproteína de ligar-se reversivelmente ao O_2 (hemoglobina e mioglobina) para sua ativação no citocromo P-450 [Sheldon (1994)].

Figura 1: Hemeproteínas e seus papéis biológicos [Sheldon (1994)].

I – 2. CITOCROMO P-450

Os citocromos P-450 estão presentes em todos os organismos vivos, de plantas a mamíferos. Nos mamíferos eles estão presentes em vários tecidos e órgãos, principalmente no fígado [Montellano (1986)]. Aproximadamente quinhentos citocromos P-450 de várias espécies já foram clonados e sequenciados. Os citocromos são os principais representantes das monooxigenases, sendo capazes de catalisar seletivamente uma grande diversidade de reações de oxidação, incluindo substratos inertes como os hidrocarbonetos [Guo & Peng (2003); Guo et al. (2003); Mohajer & Rezaeifard (2002); Montellano (1986)].

Essas enzimas usam dois elétrons do NADPH para ativar o oxigênio molecular e transferir um átomo do oxigênio para substratos lipofílicos, conforme mostrado na reação 2 [Werck-Reichhart et al. (2002); Montellano (1986)].

Essa reação catalítica é inibida pelo monóxido de carbono, CO, o qual apresenta alta afinidade pelo sítio ativo da enzima, competindo com o oxigênio. Quando na forma reduzida com o monóxido de carbono, P-450-Fe(II)-CO, o complexo absorve luz fortemente em 450 nm, sendo a principal característica desses complexos e que dão nome à essa família de enzimas (P-450 significa “pigmento que absorve em 450 nm”) [Werck-Reichhart et al (2000); Halkier (1996); Montellano (1986)].

Essas enzimas foram nomeadas incorretamente como citocromos, quando identificadas pela primeira vez, devido à similaridade de seu espectro eletrônico e de suas propriedades magnéticas com os citocromos b [Montellano (1995)].

A superfamília das enzimas citocromo P-450 é composta por mais de 500 diferentes enzimas, purificadas e sequenciadas, provenientes de bactérias, fungos, plantas, insetos, peixes e mamíferos [Halkier (1996)]. A nomenclatura utilizada atualmente corresponde a uma revisão proposta por *Nelson et al*, 1996 [Nelson et al. (1996)] na qual as seqüências de genes são chamadas de CYP (para “cytochrome” P-450), seguido pelo número que indica a família, subfamília e isoforma, respectivamente. Uma vez que a nomenclatura é baseada na similaridade total da seqüência, nenhuma informação relacionada à função do P-450 pode ser assumida nessa classificação. Atualmente a superfamília é composta por 70 famílias, com 127 subfamílias e o número de sequenciamento cresce rapidamente [Weck-Reichhart et al. (2000); Newcomb et al. (2000); Scott (1999)].

O grande interesse nesta enzima baseia-se na notável característica dessas monooxigenases que corresponde a grande variação na especificidade de substrato dos diferentes P-450. Como exemplo, CYP1A1 pode metabolizar mais de 20 substratos, enquanto CYP7A1 tem apenas um substrato conhecido. Alguns P-450 têm uma coincidente especificidade por um determinado substrato, que pode ser metabolizado por múltiplos P-450. Alguns P-450 produzem somente um metabólito para um dado substrato enquanto outros podem produzir uma diversidade de metabólitos [Halkier (1996)].

I – 3. CICLO CATALÍTICO DO CITOCROMO P-450

Todos os citocromos P-450 descritos têm como sítio ativo uma ferroprotoporfirina IX ligada à proteína através de um ligante proximal cisteinato.

Figura 2: Ciclo catalítico proposto para o citocromo P-450 na oxidação de substratos orgânicos [Berger & Sligar (1992)].

As enzimas diferem entre si na natureza do ambiente protéico que está próximo ao heme e que é capaz de ligar substratos seletivamente e mantê-los próximo ao sítio ativo.

Apesar da grande diversidade de substratos oxidados pelos vários tipos de P-450, todos eles parecem ter um ciclo catalítico comum para ativação do oxigênio molecular (Figura 2) [Groves et al. (2000); Berger & Sligar (1992)]. O ciclo catalítico descrito é baseado em vários estudos da monooxigenase de cânfora, da *Pseudomonas putida* [Milgrom (1997)].

Em seu estado de repouso, o citocromo P-450 existe sob a forma de dois complexos de Fe^{III} em equilíbrio. O **complexo 1** corresponde ao ferro hexacoordenado baixo spin com dois ligantes axiais, os quais são um resíduo de cisteína proveniente da proteína e um grupo OH ou molécula de água. O **complexo 2** é um complexo pentacoordenado alto spin tendo como ligante axial apenas o resíduo de cisteína. A ligação do substrato no sítio protéico próximo ao heme leva a um deslocamento do equilíbrio em direção ao complexo pentacoordenado. O complexo alto spin P-450-substrato é então reduzido por um elétron através do NADPH via uma cadeia de transferência de elétrons [Berger & Sligar (1992)]. O **complexo 3**, resultado dessa etapa, liga-se ao oxigênio molecular, dando origem ao **complexo 4**, hexacoordenado baixo spin, relativamente estável.

A segunda redução por um elétron leva à formação da espécie ferro(III)hidroperóxido (**complexo 5**), cuja clivagem heterolítica proporciona a formação da espécie de alta valência ferro-oxo (**complexo 6**). Tal complexo é considerado a espécie ativa oxidante, aceita atualmente como o radical ferril porfirina

π -cátion, $\text{Fe}^{\text{IV}}(\text{O})\text{P}^{+\bullet}$. Esta espécie apresenta dois equivalentes oxidativos acima do ferro (III) e é reativa o bastante para abstrair átomos de hidrogênio de hidrocarbonetos, levando ao álcool correspondente e retornando ao estado inicial [Berger & Sligar (1992)].

Na metade da década de 70, vários grupos demonstraram que os citocromos P-450 podem catalisar a hidroxilação de hidrocarbonetos saturados na presença de doadores simples de oxigênio, como por exemplo, PhIO , H_2O_2 , NaClO , sem a presença de um corredutor (NADPH) ou a presença das proteínas transferidoras de elétrons. Este caminho foi chamado de “desvio do peróxido” ou “ciclo catalítico curto” do citocromo P-450 (Figura 2) [Berger & Sligar (1992)].

I – 4. METALOPORFIRINAS COMO MODELOS BIOMIMÉTICOS

A descoberta do “desvio do peróxido” ou “ciclo catalítico curto do citocromo P-450” e as dificuldades ao se trabalhar com enzimas, como por exemplo a regeneração dos co-fatores, levaram ao desenvolvimento de sistemas modelo para o P-450, inaugurando uma nova área química denominada “Química Biomimética” [Meunier (1992)].

As metaloporfirinas sintéticas são análogas ao grupo prostético do P-450 e têm sido estudadas há mais de 30 anos como catalisadores de uma variedade de reações de oxidação de hidrocarbonetos com vários doadores de oxigênio, na busca de catalisadores com maior seletividade, rendimento, velocidade e estereoespecificidade para oxidações orgânicas [Mansuy & Battioni (1989); Mansuy (1993); Mansuy & Battioni (1994)]. As reações catalisadas por esses complexos incluem hidroxilação, epoxidação, N-oxidações e clivagem de 1,2-diols.

Uma grande quantidade de metaloporfirinas com Mn(III) , Fe(III) , Ru(III) ou Cr(III) foram sintetizadas e estudadas. As Mn(III)P aparecem como as preferidas em termos de rendimentos e eficiência. Os complexos contendo Mn(III) , Fe(III) e Ru(III)

são capazes de catalisar epoxidações e hidroxilações enquanto os de Cr(III) são eficientes apenas para epoxidação [Cunningham et al (2001); Cunningham et al (2002)].

Grande quantidade de oxidantes têm sido usados como doares de oxigênio incluindo iodosilbenzeno (PhIO), peroxiácidos, hipocloritos, cloretos, hidroperóxidos, N-óxidos, H_2O_2 , monoperoxifitalato, monopersulfato de potássio e O_2 na presença de um agente redutor. PhIO foi um dos primeiros oxidantes utilizados em consequência de ter apenas 1 átomo de oxigênio e, assim, seu mecanismo é mais facilmente entendido quando comparado com os outros oxidantes [Mansuy & Battioni (2000)].

Em geral, a espécie ativa nas oxidações por metaloporfirinas é a espécie metal-oxo de alta valência gerado pela reação do complexo metal(III)porfirina com o átomo de oxigênio do oxidante, mimetizando o “ciclo curto do P-450” ou “desvio do peróxido”.

I – 5. ESPECTROSCOPIA UV/VIS DE METALOPORFIRINAS

A espectroscopia eletrônica de absorção é a técnica mais adequada para o estudo das MeP [Boucher (1972); Ochiai (1985)]. O espectro eletrônico de porfirinas base livre mostra uma banda B (Soret) na região de 380-450 nm. Acima de 450 nm são observadas 4 bandas (Q). Estas absorções são devidas a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da porfirina [Gouterman (1978)]. Este espectro é explicado pelo modelo dos quatro orbitais, que trata a porfirina como um polieno cíclico e enfatiza a transição entre os orbitais moleculares ligantes ocupados de maior energia (HOMO), a_{1u} e a_{2u} , e os orbitais moleculares antiligantes vazios de menor energia (LUMO), e_g^* . As transições $a_{1u} \rightarrow e_g^*$ e $a_{2u} \rightarrow e_g^*$ são degeneradas em energia. As porfirinas bases livres por sua vez pertencem ao grupo D_{2h} e este abaixamento de simetria de D_{4h} resulta no desdobramento da transição $e_g \rightarrow a_{2u}$ em duas novas transições, resultando em 4 bandas no espectro [Gouterman (1978); Ochiai (1985)].

As frequências das bandas Soret e Q das metaloporfirinas variam muito pouco para uma grande variedade de íons metálicos [Boucher (1972)]. Este fato é tomado como evidência de que os orbitais π do metal e os orbitais π da porfirina interagem muito fracamente. No entanto, o espectro de Mn(III)P apresenta as maiores exceções quando comparados com o espectro das outras metaloporfirinas. Um espectro típico de Mn(III)P (Figura 3) apresenta duas bandas na região das bandas Q (bandas III e IV), mas não é observado a banda B. Além disso, duas novas bandas de alta intensidade são observadas na região de 500 a 330 nm (bandas V e VI) e uma banda fraca (Va) é observada entre elas. São ainda observadas duas novas bandas na região do infravermelho próximo (bandas I e II) [Boucher (1972); Sacco (1999)].

Figura 3: Espectro eletrônico de absorção da MnTPP⁺ [Gouterman (1978)]

A geometria mais favorável para o recobrimento dos orbitais $d\pi$ do manganês e da porfirina ocorre quando o metal está no plano da porfirina. Isto leva a uma forte interação σ entre o metal e os quatros nitrogênios pirrólicos da porfirina, que é a interação mais importante nas metaloporfirinas. Todavia, a concentração de cargas no átomo metálico (resultante da doação σ) é aliviada por “back bonding π ” do metal

para a porfirina. Assim a ligação metal-porfirina é consideravelmente fortalecida. Cálculos teóricos predizem que os orbitais d do metal terão energia similar aos dos níveis π da porfirina nos metais da primeira série de transição, especialmente o manganês e o ferro. A Figura 4 mostra um diagrama qualitativo da mistura dos níveis de energia dos orbitais moleculares para as Mn(III)P e as Fe(III)P. Mn(III)P podem apresentar fortes misturas de orbitais $e_g(\pi)$ do metal e $e_g^*(\pi)$ da porfirina. O orbital $e_g(d_{xz}, d_{yz})$ do Mn(III) é adequado em energia e simetria para interagir com o orbital $e_g^*(\pi)$ da porfirina. Desta forma os orbitais e_g do Mn(III) perturbam o sistema π da porfirina, provocando as anomalias observadas nos espectros de Mn(III)P. O modelo descrito a seguir é baseado nestas interações [Boucher (1972); Milgrom (1997)].

Como todas as Mn(III)P possuem configuração d^4 alto spin, os quatro orbitais **d** de menor energia são ocupados por 1 elétron cada, e o orbital antiligante b_{1g} permanece vazio. Como consequência desta mistura de orbitais π do metal e da porfirina, não apenas o espectro $\pi \rightarrow \pi^*$ pode ser alterado, mas também bandas de transferência de carga podem ganhar intensidade e serem observadas no espectro. Estas bandas de baixa energia são bandas de transferência de carga da porfirina para o metal (TCPM). O espectro da Figura 3 mostra também as bandas da porfirina $a_{1u}, a_{2u} \rightarrow e_g^*$ [Boucher (1972); Milgrom (1997)].

No diagrama dos níveis de energia da Figura 4 são atribuídas as bandas observadas no espectro UV-Vis das MnP. A banda de menor energia I é designada como a componente de menor energia da transição de transferência de carga $a_{1u}, a_{2u} \rightarrow e_g^*$. A componente de maior energia do par de transição que são misturadas por interações de configuração é a banda III. A banda V pode ser designada como o componente de menor energia da transferência de carga $a_{2u}, b_{2u} \rightarrow e_g$. As bandas de menor intensidade, II e Va, são devidas às transições de transferência de carga $a_{2u} \rightarrow d_z^2$ e $a'_{2u} \rightarrow d_z^2$. A banda VI não possui atribuição, mas pode ser devida

aos componentes de alta energia de a_{1u} , $a_{2u} \rightarrow e_g^*$ e do componente de alta energia de a'_{2u} , $b_{2u} \rightarrow e_g$. As duas transições seriam de mesma energia e acoplar-se-iam para gerar a banda larga observada [Boucher (1972); Milgrom (1997)].

A banda V é a que apresenta uma maior sensibilidade quanto ao contra-íon ou ligante axial presente na porfirina [Boucher (1972)], e neste trabalho será denominada de banda Soret, apesar de não ser devida a uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$ da porfirina.

$\text{--- } b_{1g} (d_{x^2-y^2})$ $\text{--- } e_g^* (\pi)$ $\text{1 } a_{1g} (d_z^2)$ $\text{11 } e_g (d_{xz}, d_{yz})$ $\text{1 } b_{2g} (d_{xy})$ $\text{11 } a_{2u} (\pi)$ $\text{11 } a_{1u} (\pi)$ $\text{11 } b_{2u} (\pi)$ $\text{11 } a'_{2u} (\pi)$	<p>Banda I</p> <p>$a_{2u}, a_{1u} \rightarrow e_g$</p> <p>Banda II</p> <p>$a_{2u} \rightarrow a_{1u}$</p> <p>Banda III</p> <p>$a_{2u}, a_{1u} \rightarrow e_g$</p> <p>Banda IV</p> <p>$a_{2u}, a_{1u} \rightarrow e_g^*$</p> <p>Banda V</p> <p>$b_{2u}, a'_{2u} \rightarrow e_g$</p> <p>Banda Va</p> <p>$a'_{2u} \rightarrow a_{1g}$</p> <p>Banda VI</p> <p>$a_{2u}, a_{1u} \rightarrow e_g^*$</p> <p>$b_{2u}, a'_{2u} \rightarrow e_g$</p>
--	--

Figura 4: Diagrama qualitativo dos níveis de energia dos orbitais moleculares e atribuições das bandas de absorção para as Mn(III)P. [Boucher (1972)].

I – 6. ELETRODOS QUÍMICAMENTE MODIFICADOS (EQM's)

A imobilização de microestruturas químicas na superfície de eletrodos é uma área de pesquisa da eletroquímica que tem apresentado notável crescimento nas últimas décadas. Eletrodos quimicamente modificados (EQM's) resultam da imobilização intencional de um agente modificador sobre a superfície do eletrodo através de reações químicas, quimiossorção, formação de compostos ou camadas de polímeros. Comparado a um eletrodo convencional, um maior controle das características e reatividade na superfície de um eletrodo modificado podem ser alcançados, pois a imobilização transfere as propriedades físico-químicas do modificador para a superfície do eletrodo [Castro (2000); Brett & Brett (1996); Bard & Faulkner (1980)].

O interesse nesta área é motivado por diversas aplicações. Exemplos incluem o desenvolvimento de sistemas eletrocatalíticos que apresentam grande seletividade e reatividade química; revestimentos em semicondutores como fotossensibilizador e propriedades anticorrosivas; mostradores de eletrocromismo; aparelhos microeletrônicos muito empregados no campo da eletrônica molecular e sensores eletroquímicos. O maior benefício de sua utilização no campo da eletroanálise tem sido a possibilidade de minimizar as quantidades de reagentes de alto custo, aceleração de reações de transferência de cargas, acúmulo preferencial ou permeação seletiva de analitos em membranas superficiais. Estas propriedades podem melhorar a seletividade, reatividade ou estabilidade de métodos analíticos baseados no seu emprego como sensor amperométrico, o qual tem sido extensivamente revisto nos últimos anos [Wang & Du (2003); Oni et al (2003); Stone et al. (2003); Nakamura et al (2003); Ge & Lisdat (2002); Ignatov et al (2002); Shumyantseva et al (2001)].

Uma forma conveniente de incorporação de um modificador na superfície de um eletrodo pode ser simplesmente utilizar uma camada de um filme polimérico.

Muitos polímeros são aplicados para revestir superfícies eletródicas simplesmente pela combinação de propriedades de adsorção, atração eletrostática e baixa solubilidade na solução eletrolítica, ou ainda através da utilização de polímeros pré-funcionalizados ou obtidos através de polimerização eletroquímica [Hanks et al. (2001); Manriquez et al. (1999); Ballarin et al. (1998); Sun et al. (1998); Deronzier & Moutet (1996); Deronzier et al. (1992); Deronzier & Latour (1987)].

A estratégia de revestimento da superfície de um eletrodo com um polímero é similar ao princípio do método “stripping” voltamétrico” ([Hanks et al. (2001); Manriquez et al. (1999)]. Esta técnica usa eletrodos sólidos revestidos com uma fina camada do polímero que permite uma etapa rápida de pré-concentração e detecção amperométrica simultânea do íon analito redox. Se o modificador apresenta propriedades de seletividade, é possível determinar analitos redox em níveis de traços (metais, compostos fármacos e biológicos). Filmes com modificadores tais como poliestireno, polivinil, poliacrílico e polivinilpiridina tem atraído particular atenção [Takashima et al. (2003); Hosono et al. (2003); Jisrawi et al. (2002)]. O agente de pré-concentração pode atuar também como um revestimento permissivo, oferecendo seletividade por exclusão de um constituinte não desejado da superfície, enquanto permite o transporte do analito [Sasso et al. (1990)], lipídeos hidrofílicos [Wang & Lu (1990)], ou filmes de Nafion [Nagy et al. (1985)].

Polímeros eletronicamente condutores, como polipirrol, politiofeno e polianilina, têm atraído considerável interesse devido à sua habilidade de incorporar ou expelir espécies iônicas durante eletropolimerização oxidativa de seus monômeros. Uma vasta literatura concernente a investigação fundamental e aplicações deste polímeros tem sido revista [Pereira et al. (2003); Piantadosi & Allen (2003); Jisrawi et al. (2002); Fedurco (2000); Arrigan (1994)].

Diferentes tipos de filmes inorgânicos, tais como óxidos metálicos, argilas, zeólitas e filmes de hexacianoferratos (azuis da Prússia), podem ser formados na superfície de um eletrodo. O interesse por estes tipos de filmes reside no fato de que os mesmos freqüentemente apresentam estruturas bem definidas, são térmica e quimicamente estáveis, usualmente baratos e de fácil disponibilidade. Finas camadas destes materiais, como o azul da Prússia e correlatos, podem ser formados na superfície de um eletrodo e apresentam propriedades interessantes [Ricci et al. (2003); Castro et al. (2001); Oliveira et al. (2000); Itaya et al. (1986)].

O sucesso da determinação eletroquímica de um analito sobre um eletrodo modificado começa com a escolha do polímero e da variedade de técnicas disponíveis para detecção, tais como: voltametria de varredura linear, de onda quadrada e pulso diferencial e voltametria de redissolução utilizando-se eletrodo rotatório e outras [Fungaro & Brett (2000)]. A escolha do polímero leva em consideração principalmente a facilidade de se obter filmes estáveis e reprodutíveis sobre a superfície eletródica. A deposição do filme pode ser obtida de diferentes maneiras. O procedimento mais simples é baseado na adição do polímero sobre a superfície eletródica, seguida de lenta evaporação do solvente. Outro método bastante eficiente é a preparação envolvendo eletropolimerização, baseada principalmente na oxidação de precursores monoméricos eletroativos [Hanks et al. (2001); Diab & Schuhmann (2001); Biesaga et al. (2000); Cosnier et al. (2000)]. Algumas vezes a estabilidade da camada polimérica é melhorada utilizando-se reações inter cruzadas através de adição de contra-íons ou irradiação.

As características da camada polimérica sobre o eletrodo e o conhecimento da interação específica com uma determinada espécie eletroativa ou classe de compostos influenciam diretamente na seletividade e sensibilidade do eletrodo modificado. Uma ampla revisão sobre a avaliação físico-química de eletrodos poliméricos pode ser encontrada na literatura [Patel & Karan (2003); Shamsipur et al.

(2003a,b); Malinowska et al. (2002)]. Apesar do comportamento eletroquímico de eletrodos modificados ter sido bastante investigada, a aplicação destes sistemas para determinação de compostos farmacêuticos tem sido muito limitada [Ragehy et al. (2000); Yun et al. (1999); Dai et al. (1999)].

I – 7. ELETRODOS QUÍMICAMENTE MODIFICADOS E METALOPORFIRINAS

Por três décadas o desenvolvimento de EQM's, principalmente eletrodos com enzimas, foi motivo de crescentes esforços na pesquisa, devido à sua elevada seletividade em meios complexos e à possibilidade de desenvolvimento de analisadores compactos e portáteis [Kauffmann & Guilbault (1992)]. Os biossensores eletroquímicos miniaturizados exibem atrativa aplicação na análise clínica e no controle ambiental. Entretanto, a maioria destes dispositivos analíticos sofrem limitações severas tais como o custo das macromoléculas biológicas e a instabilidade operacional e de armazenamento devido ao componente biológico. Além disso, a atividade da enzima imobilizada pode ser rapidamente suprimida pelos processos de inibição ou desnaturação da proteína em altas temperaturas [Brett & Brett (1996)].

Uma alternativa consiste na imobilização de complexos organometálicos que imitam a estrutura e/ou a atividade catalítica dos grupos prostéticos da enzima no eletrodo. Estes compostos biomiméticos devem ser mais estáveis do que as enzimas em meio aquoso ou orgânico. Entre os vários análogos das enzimas, as metaloporfirinas sintéticas aparecem como uma das classes mais aceitas de modelos biomiméticos, devido às suas funções como mediadores redox, catalisadores ou centro seletivo via ligante axial. Por exemplo, tetrafenilporfirinas de níquel(II), cobalto(II) e manganês(III) e hemina (ferroprotoporfirina IX) tem aplicação na oxidação de álcoois, poluentes orgânicos, histidina e peróxido de hidrogênio respectivamente [Cosnier et al. (2000)].

Entre os procedimentos convencionais de imobilização de metaloporfirinas, o depósito eletroquímico oferece a possibilidade da eletrogeração do filme em eletrodo de superfície pequena e de geometria complexa. Em adição, a eletropolimerização fornece uma densa camada do monômero que facilita o processo de salto do elétron entre os sítios da metaloporfirina. Além disso, o uso de polímeros condutores funcionalizados com metaloporfirinas permite o controle da espessura na formação do filme.

Sensores baseados em eletrodo modificados com metaloporfirinas e polímeros têm sido desenvolvidos para determinação de NO, apresentando bons resultados quanto à estabilidade, rapidez na determinação e seletividade [Diab & Schuhmann (2001)]. Filmes de metaloporfirinas funcionalizadas com polímeros condutores foram estudados e mostram bons resultados na oxidação de drogas e preparação de seus metabólicos oxidados [Jego-Evanno et al. (2000); Cauquis et al. (1993)]. Bedioui et al. (1996) utiliza eletrodo de carbono vítreo modificado pela eletropolimerização de manganêsporfirinas funcionalizadas com pirrol para a oxidação de álcoois, epoxidação de estireno e outras olefinas. Diferentes trabalhos têm sido encontrados na literatura utilizando várias metaloporfirinas substituídas, diversos eletrodos e solventes [Amini et al. (2003); Bedioui et al. (1997); Volf et al. (1999); Shamsipur et al. (2003); Oh et al. (2001)].

I – 8. CORANTES AZO E CITOCROMO P-450

Os corantes correspondem à estruturas moleculares complexas contendo grupos cromóforos, responsáveis pela cor dos compostos. Vários grupos cromóforos como antraquinona, nitro, trifenilmetano, quinacridona, ftalocianinas, xanteno, são utilizados na síntese de corantes [Guaratini & Zanoni (2000); Kunz et al. (2002)]. No entanto, o grupo mais representativo e largamente empregado pertence à família dos azocorantes (Figura 5), que se caracterizam por apresentarem um ou mais

grupamentos $-N=N-$ ligados a sistemas aromáticos [Hager et al. (2001); Kunz et al. (2002); Stradins & Glezer (1973)]. Os azocorantes representam cerca de 60 % dos corantes atualmente utilizados no mundo, sendo extensivamente empregado no tingimento de fibras têxteis.

Figura 5: Estrutura química característica de um grupo cromóforo de um azocorante [Kunz et al. (2002)].

Estudos biocinéticos têm mostrado evidências de que corantes azo solúveis em água, se oralmente administrados, são metabolizados na microflora intestinal e excretados mais rapidamente do que os compostos menos solúveis. Por outro lado, os corantes insolúveis em água poderiam ser biodegradados no fígado, formando conjugados solúveis em água que seriam então transportados para o intestino e sujeitos a reduções por bactérias da flora normal. A biotransformação destes corantes pode ser responsável pela formação de aminas, benzidinas e outros intermediários com potencialidade carcinogênica e mutagênica [Ress et al. (2002); Zbaida et al. (1989)].

Os quatro principais mecanismos de biotransformação envolvendo este tipo de corante são baseados principalmente em modificações devido à processos de oxidação, hidrólise, conjugação e redução, cuja degradação é acelerada através de processos enzimáticos. Assim, reações tais como clivagem da ligação azo e formação de aminas nos processos de redução, hidroxilação da molécula ou parte dela em processos de oxidação, podem ocorrer rapidamente, sendo que as enzimas

são incapazes de diferenciar se os produtos gerados são nocivos ou não ao organismo. [Guaratini et al. (2001b); Guaratini et al. (2002)].

Vários corantes foram banidos da comercialização por serem potenciais produtores de benzidinas, o-toluidinas e anisidinas durante sua degradação, via biotransformação catalisada enzimaticamente pela azoredutase. Essa redução ocorre preferencialmente com corantes solúveis em água catalisados pelo sistema microsomal NADPH citocromo P-450, onde o NADPH funciona como doador de elétrons, sendo este sistema catalítico encontrado no fígado. O mecanismo de redução deste sistema enzimático envolve a transferência de 2 elétrons, conforme mostra o esquema da Figura 6.

Assim, considerando a periculosidade dos produtos gerados, via biotransformação, um dos testes mais importantes sobre a toxicidade do corante envolve a avaliação prévia das prováveis interações e produtos obtidos durante redução ou oxidação enzimática. Estes estudos poderiam dar subsídios para uma catalogação prévia do grau carcinogênico do corante.

Figura 6: Processo de redução metabólica de corante azo via citocromo P-450.

O estudo do comportamento eletroquímico dos corantes azo na presença de compostos modelos que mimetizam o sistema de degradação metabólica poderia

ser útil no diagnóstico de corantes nocivos, além de ser bastante vantajoso. Adicionalmente, o desenvolvimento de novos corantes tem sido constantemente estimulado para melhorar a reatividade, a estabilidade e minimizar as condições experimentais quanto à fixação, consequentemente ampliando, a cada dia, a vasta diversificação de corantes reativos, cada vez mais eficientes e também com forte efeito ecotóxico e genotóxico [Guaratini et al. (2002); Guaratini et al. (2001a)].

Metaloporfirinas têm sido estudadas como eficientes modelos biomiméticos da função oxidativa do citocromo P-450 [Meunier (1992); Ress et al. (2002)] e têm grande potencial para serem empregados também como modelos da função redutiva destas enzimas. O conhecimento das transformações estruturais de corantes azo via redução eletroquímica na presença de metaloporfirinas pode ser útil para avaliação prévia de interações durante sua biodegradação.

Este trabalho teve como objetivo geral a modificação de eletrodos com polímeros condutores e metaloporfirinas visando a preparação de catalisadores estáveis e seletivos para a eletroredução e/ou eletrooxidação de compostos orgânicos. Para atingir este objetivo selecionou-se o sistema pirrol como polímero condutor, manganêsporfirinas comerciais como catalisadores e um corante têxtil como substrato. Foram usadas duas estratégias para a modificação dos eletrodos:

(a) polimerização direta de polímeros condutores na presença de metaloporfirinas comerciais; (b) pré-polimerização de polímeros condutores seguida da adsorção de metaloporfirinas comerciais.

As metaloporfirinas utilizadas nestes estudos foram: cloreto de 5, 10, 15, 20-tetrakis(2'-aminofenil)porfirinamanganês(III) - $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ e hexafluorofosfato de 5, 10, 15, 20-tetrakis(4'-metilpiridil)porfirinamanganês(III) - $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ (Figura 7 e 8 respectivamente), preparadas por inserção do íon manganês (III) nas porfirinas base livres correspondentes.

Figura 7: $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$

Figura 8: $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$

Como substrato foi utilizado o corante têxtil do tipo azo, Procion Red HE-3B, comercialmente conhecido como RR120, que é um corante reativo contendo duas funções azo e dois grupos clorotriazina, cuja estrutura molecular é mostrada na Figura 9.

Figura 9: Estrutura molecular do corante reativo Procion Red HE-3B.

III – 1. Materiais

Eletrodo de vidro ITO

O eletrodo de vidro ITO de área de $1,0 \text{ cm}^2$ foi limpo em uma solução de sulfocrômica e água destilada.

Espectroeletroquímica

As medidas de espectroeletroquímica foram obtidas utilizando o potenciostato/galvanostato da AUTOLAB modelo PGSTAT 30 e o espectrofotômetro HP8452.

As medidas foram realizadas em uma cubeta de quartzo de 5 mL com três eletrodos: eletrodo de trabalho: fio de ouro, eletrodo de referência: Ag/AgCl (em solução de KCl saturada) e eletrodo auxiliar: fio de platina. Os eletrodos de trabalho e auxiliar foram polidos com suspensão de alumina $0,050 \mu\text{m}$ e lavados com água e acetona em banho de ultrassom antes de cada medida.

Espectroscopia eletrônica

Os espectros de absorção na região do visível foram registrados em um espectrofotômetro HP8452. Foram empregadas células de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. Os espectros foram registrados em vários solventes.

Medidas de pH

As medidas de pH foram realizadas utilizando o pHmetro ORION modelo 410A.

Outros Equipamentos

- Balança analítica - Metter Toledo AG245
- Rotaevaporador - BUCHER R-114
- Ultrassom - Odontobrás 1440D – 40KHz

Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes empregados foram sempre de grau analítico, e utilizados sem purificação adicional. Os reagentes e solventes são de procedência:

HCl, acetona - Synth

DMF, ACN, MeOH, DCM, tampão fosfato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) - Mallinckrodt

PyCOOH, PTBA, pirrol, MnAc – Acros

NH_4PF_6 - Aldrich

Porfirinas base livre – Mid Century

Voltametria cíclica

As análises de voltametria cíclica foram realizadas utilizando-se um potenciostato/galvanostato da AUTOLAB modelo PGSTAT 30. Utilizou-se para isso uma cela eletrolítica com três eletrodos:

- eletrodo de trabalho: carbono vítreo, $A = 3,1 \text{ mm}^2$,
- eletrodo de referência: Ag/AgCl (em solução de KCl saturada)
- eletrodo auxiliar: fio de platina

Os eletrodos de trabalho e auxiliar foram polidos com suspensão de alumina $0,050 \mu\text{m}$ e lavados com água e acetona em banho de ultrassom antes de cada medida.

III – 2. Inserção de manganês na $[H_2(T4MpyP)]Cl$

A reação de inserção de manganês na porfirina base livre, $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$, foi realizada usando água como solvente e acetato de manganês(II) tetrahidratado como sal fornecedor do íon metálico [Adler et al. (1964)].

Em um balão de três bocas com capacidade para 50 mL foram adicionados 200 mg (0,25 mmol) de $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ e 35 mL de água e levados a refluxo sob agitação magnética, em atmosfera de argônio e ausência de luz. Adicionou-se o acetato de manganês (II) tetrahidratado (5,0 mmol). A mistura foi deixada em refluxo por 24 horas. O final da reação foi acompanhado pela perda da fluorescência vermelha característica da porfirina base livre sob luz ultravioleta e pelo monitoramento por espectroscopia de absorção na região do visível. A reação foi interrompida pelo resfriamento do balão.

A MnP foi purificada pela adição do sal de hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6) no meio reacional até se observar a precipitação da metaloporfirina [Vinhado et al. (2002)]. A $[Mn(T4MpyP)](PF_6)_5$ obtida foi centrifugada e lavada por 3 vezes com água mili-Q gelada. A purificação ocorreu por recristalização em uma solução de MeOH/clorofórmio.

III – 3. Inserção de manganês na $[H_2(T2APP)]Cl$

A porfirina base livre, $[H_2(T2APP)]$, foi metalada com íons de Mn (II), usando DMF como solvente aprótico e acetato de manganês (II) tetrahidratado como sal fornecedor do íon metálico [Adler et al. (1970)].

Em um balão de três bocas com capacidade para 25 mL foram adicionados 40 mg ($3,8 \cdot 10^{-5}$ mol) de $[H_2(T2APP)]$ e 15 mL de DMF e levados a refluxo sob agitação magnética, em atmosfera de argônio e ausência de luz. Adicionou-se o acetato de manganês (II) tetrahidratado ($7,6 \cdot 10^{-4}$ mol) A mistura foi deixada em refluxo, por 8 horas. O final da reação foi acompanhado pela perda da fluorescência

vermelha característica da porfirina base livre sob luz ultravioleta, pelo monitoramento por espectroscopia de absorção na região do visível e análises através de cromatografia em camada delgada (CCD), em sílica, usando DCM/MeOH (1 %) e porfirina base livre para comparação. A reação foi interrompida pelo resfriamento do balão, e eliminação do solvente por rotoevaporação. Lavou-se a manganêsporfirina com uma solução de HCl 0,10 mol.L⁻¹ em DMF. A MnP foi purificada por cromatografia preparativa em coluna utilizando como fase estacionária sílica gel. O eluente utilizado para a purificação da manganêsporfirina foi uma mistura de DCM/MeOH (1 %). Inicialmente foi eluída uma pequena quantidade de porfirina base livre, seguida da manganêsporfirina. O excesso do sal de manganês ficou retido no topo da coluna.

III – 4. Caracterização das metaloporfirinas por espectroscopia UV/Vis

Os espectros UV/Vis das porfirinas base livre e metaloporfirinas foram registrados nos solventes adequados a cada composto:

➤ [H₂(T4MpyP)]Cl₄ e [Mn(T4mpyP)](PF₆)₅: tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹, pH= 7,4) / ACN 1:2 (v:v)

➤ [H₂(T2APP)] e [Mn(T2APP)]Cl: DMF.

O ϵ da banda Soret da [Mn(T4MpyP)](PF₆)₅ e [Mn(T2APP)]Cl foram determinados em seus respectivos solventes, utilizando-se as soluções de cada MnP nas concentrações:

[Mn(T4MpyP)](PF₆)₅: 13; 27; 40; 53 e 67 μ mol.L⁻¹

[Mn(T2APP)]Cl: 21; 25; 29; 31; 36 e 42 μ mol.L⁻¹

Em seguida foram registrados os espectros UV/Vis destas soluções. Os valores de ϵ foram obtidos através da inclinação da reta no gráfico absorbância x concentração de MnP.

III – 5. Caracterização das metaloporfirinas por voltametria cíclica e espectroeletroquímica

Para os estudos de voltametria cíclica e espectroeletroquímica das H₂P e MnP, preparou-se uma solução de concentração 1,0 mmol.L⁻¹ e 3,5 μmol.L⁻¹, respectivamente, em seus solventes:

- [H₂(T4MpyP)]Cl₄ e [Mn(T4MpyP)]⁵⁺: tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹, pH= 7,4) / ACN 1:2 (v:v)
- [H₂(T2APP)] e [Mn(T2APP)]Cl: DMF/PTBA (0,10 mol/L⁻¹).

III – 6. Filme obtido pela polimerização de pirrol e [Mn(T4MpyP)]⁵⁺

O eletrodo de carbono vítreo ou ITO, previamente limpo, foi imerso em uma solução contendo tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹ e pH= 7,4) e pirrol (0,25 mol.L⁻¹). Borbulhou-se nitrogênio na solução por 15 minutos. Varreduras sucessivas de potencial no intervalo de – 0,50 a 1,5 V (100 ciclos) a velocidade de 100 mV.s⁻¹ foram registradas.

O eletrodo foi lavado com água e transferido para uma solução de MeP previamente desairada com nitrogênio por 15 minutos, em tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹ e pH= 7,4) / ACN 1:2 (v:v), sendo deixado sob agitação na solução por 1 hora. Após este intervalo o eletrodo foi limpo e transferido para célula voltamétrica contendo apenas o eletrólito suporte previamente desairado.

Foi feita a caracterização eletroquímica do filme.

III – 7. Estudo da interação do filme da [Mn(T4MpyP)]⁵⁺ com o corante vermelho reativo 120.

Para o estudo do corante RR-120, fez-se a prévia limpeza do eletrodo de carbono vítreo, em seguida este foi imerso em uma solução de 1 mmol.L⁻¹ do corante RR120 em ACN desaerada por 15 minutos com nitrogênio. Varreduras de

potencial no intervalo de $-1,5$ a $1,5$ V vs Ag/AgCl ($v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$) foram realizadas. Após a verificação da ausência de picos no intervalo de trabalho, preparou-se o filme de pirrol com a $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ sobre o eletrodo de carbono vítreo. Em seguida o eletrodo foi imerso em uma solução de tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH} = 7,4$) previamente desaerada com nitrogênio e o voltamograma cíclico foi registrado.

Voltamogramas cíclicos do corante RR-120 em várias concentrações ($1,0 \cdot 10^{-6}$ a $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) em tampão fosfato foram registrados com o eletrodo de carbono vítreo modificado com pirrol/ $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ no intervalo de potencial de $-1,0$ a $1,0$ V vs Ag/AgCl.

III – 8. Filme obtido pela polimerização de pirrol-2-carboxi-ácido e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$.

O eletrodo de carbono vítreo previamente limpo foi colocado em uma solução contendo PyCOOH, MnP, PTBA ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$) e DMF. Borbulhou-se nitrogênio na solução por 15 minutos e submeteu-se o eletrodo a varreduras sucessivas de potencial no intervalo de $-0,50$ a $1,5$ V sob velocidade de varredura de 100 mV.s^{-1} durante 100 ciclos.

A seguir o eletrodo foi lavado com DMF e transferido para célula voltamétrica contendo apenas o eletrólito suporte DMF/PTBA ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$).

Foi feita a caracterização eletroquímica do filme.

III – 9. Estudo da interação do filme de pirrol-2-carboxi-ácido e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ com o corante vermelho reativo 120.

O eletrodo de carbono vítreo sem e com modificação prévia por filmes de pirrol e pirrol/ $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ foi imerso em uma solução de DMF/PTBA ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$) e registrado o voltamograma cíclico.

Soluções estoque do corante RR120 em DMF/PTBA ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$) foram preparadas entre concentrações de $8,0.10^{-6}$ a $1,0.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, e os respectivos voltamogramas cíclicos para cada concentração do corante registrados com o eletrodo de carbono vítreo modificado com o PyCOOH/ $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$.

IV – 1. Inserção de manganês na [H₂(T4MpyP)]Cl₄ e [H₂(T2APP)]

A inserção de íon manganês nestas porfirinas foi realizada como descrito por Adler et al [Adler et al. (1964)], utilizando DMF para a [H₂(T2APP)] e H₂O para a [H₂(T4MpyP)]Cl₄ como solventes e acetato de manganês(II) como sal fornecedor do íon metálico (reação 2).

O uso de Mn (II) deve-se ao fato de que, quanto maior a carga do metal, mais lentamente ele irá reagir devido à atração eletrostática pelo ânion. Assim, usando íon metálico no seu estado de oxidação mais baixo evita-se aquecimentos prolongados. Após o final da reação o íon metálico é facilmente oxidado ao estado 3+ pelo oxigênio do ar [Ochiai (1985); Smith (1975)] .

A escolha de água ou DMF como solvente para a reação foi baseada na solubilidade da porfirina e do sal metálico. A DMF, além de bom solvente para a maioria das porfirinas e sais carregadores de íon metálico, é um solvente aprótico, sendo pouco coordenante e não compete com a porfirina pelo sítio metálico. Ainda uma outra vantagem da DMF como meio de reação é seu alto ponto de ebulição (153 °C), a alta temperatura de refluxo aumenta a velocidade de reação [Adler et al. (1964)].

A [Mn(T4MpyP)](PF₆)₅ foi purificada pela adição do sal NH₄PF₆ no meio reacional, para promover a precipitação da MnP e garantir os íons hexafluorofosfato (PF₆⁻) como contra-íons, seguida de lavagens com água gelada, para garantir a

retirada do excesso de sal [Vinhado et al. (2002)]. Em seguida a MnP foi recristalizada em MeOH/CHCl₃, com um rendimento final de 86%.

Além da espectroscopia UV/Vis, discutida no item a seguir, foi possível confirmar que houve metalação para a [Mn(T2APP)]Cl pela diferença de R_f entre a porfirina base livre e manganês porfirina. O eluente utilizado foi a mistura de solventes DCM/MeOH (1%). Nesta mistura em que predomina o solvente menos polar (DCM) a porfirina base livre tem um R_f de 0,50 e a [Mn(T2APP)]Cl um R_f de 0,090, demonstrando que a porfirina base livre possui um caráter polar menos acentuado. A MnP foi purificada em coluna cromatografica utilizando sílica como fase estacionária e como eluente a mesma mistura de solventes utilizada para CCD.

IV – 2 Caracterização da [Mn(T4MpyP)](PF₆)₅ e [Mn(T2APP)]Cl por espectroscopia UV/Vis

A espectroscopia UV/Vis é o método mais conveniente e sensível para se detectar a inserção do metal nas MnP. Isto é devido ao fato de que as H₂P e MnP têm espectros eletrônicos característicos. As H₂P possuem simetria D_{2h} e geralmente o seu espectro eletrônico apresenta uma banda Soret bastante intensa na região de 380 a 450 nm e entre 450 e 700 nm são observadas 4 bandas de menor intensidade [Ochiai (1985)]. Como discutido no item I–5, dentre os espectros UV/Vis de metaloporfirinas, a Mn^{III}P apresenta as características mais peculiares [Boucher (1972); Gouterman (1978)]. Um espectro típico das Mn^{III}P apresenta duas bandas na região das bandas Q (bandas III e IV), mas não é observada a banda Soret. Além disso, são observadas duas novas bandas de alta intensidade na região de 500 a 330 nm (bandas V e VI) e uma banda fraca (Va) é observada entre elas. Tanto a [Mn(T4MpyP)](PF₆)₅ como a [Mn(T2APP)]Cl apresentam espectros UV/Vis com estas características (Figura 10 e 11 respectivamente) e similares aos espectros UV/Vis destas MeP descritos na literatura [Boucher (1972); Gouterman

(1978); Ochiai (1985)]. Neste trabalho as bandas mais intensas em 462 nm e 470 nm para a $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})(\text{PF}_6)_5]$ e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$, respectivamente, serão assumidas como bandas Soret.

Figura 10: Espectro UV/Vis da $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$ e $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ em ACN/tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, $\text{pH}=7,4$) 1:2 (v:v).

Figura 11: Espectro UV/Vis da $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$ e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em DMF e PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$.

O coeficiente de absortividade molar ϵ da banda Soret das MnP, 462 nm e 470 nm respectivamente para a $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$, foi determinado a partir da absorbância destas bandas para as várias soluções de concentração conhecida da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ e $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$, como mostram as Figuras 12 e 13, respectivamente. Os valores de ϵ encontrados estão mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Valores do coeficiente de absortividade molar (ϵ) da banda Soret das MnP.

MnP	λ_{max} (nm)	ϵ ($\text{mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$)
$[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$	462	$1,47.10^4$
$[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$	470	$3,42.10^4$

Figura 12: Curva de Beer para determinação do ϵ da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})](\text{PF}_6)_5$ em ACN/tampão fosfato (pH=7,4) 1:2 (v:v).

Figura 13: Curva de Beer para determinação do ϵ da $[Mn(T2APP)]Cl$ em DMF e PTBA 0,10 mol.L⁻¹.

IV – 3 Comportamento voltamétrico da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$

O comportamento voltamétrico da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ (1,0 mmol.L⁻¹) em ACN/tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹ e pH=7,4), pode ser observado na Figura 14 e 15. Nenhum pico é observado no voltamograma cíclico do branco (ACN/tampão fosfato, 0,10 mol.L⁻¹ e pH=7,4) na região de -2,0 V a 2,0 V. Entre 0 a - 2,0 V o voltamograma exibe três picos (pico I, II e III) em potenciais de -0,079 V; -0,21 V e -1,0 V, respectivamente. Na região de potencial entre 0 a 2,5 V, observa-se apenas 1 pico de oxidação em potencial de 1,6 V (pico IV).

Figura 14: Voltamograma cíclico correspondente à redução de 1,0 mmol.L⁻¹ de $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2 ; v:v), $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, vs. Ag/AgCl, sobre eletrodo de carbono vítreo.

Figura 15: Voltamograma cíclico correspondente à oxidação de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ de $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$ em ACN/tampão fosfato, $\text{pH}=7,4$ (1:2 ; v:v), $v=100 \text{ mV.s}^{-1}$, vs. Ag/AgCl, sobre eletrodo de carbono vítreo.

O efeito da velocidade de varredura sobre os voltamogramas cíclicos correspondentes à cada etapa de redução do composto pode ser observado na Figura 16 (Curva A e B). A análise destas curvas mostram a total ausência de pico na varredura inversa de potencial em qualquer velocidade de varredura investigada, sugerindo que o processo não se caracteriza por uma transferência de carga reversível. Isto pode ser melhor constatado pela análise dos respectivos parâmetros voltamétricos obtidos destes voltamogramas e mostrados na Tabela 2.

Figura 16: Voltamogramas cíclicos correspondente à redução de $1,0 \text{ mmol}$ de $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$ em ACN/tampão fosfato, $\text{pH}=7,4$ (1:2 ; v:v), sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva A: 1ª, 2ª e 3ª etapa de redução; Curva B: 1ª e 2ª etapa de redução, $v=100 \text{ mV.s}^{-1}$.

Tabela 2: Parâmetros voltamétricos correspondentes à redução de 1,0 mmol.L⁻¹ da [H₂(T4MpyP)]Cl₄ em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2 ; v:v), sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura de potencial.

	Pico I			Pico II			Pico III		
v	-E	-i	-i.v ^{-1/2}	-E	-i	-i.v ^{-1/2}	-E	-i	-i.v ^{-1/2}
(mV.s ⁻¹) 1)	(V)	(μA)		(V)	(μA)		(V)	(μA)	
10	0,044	0,90	9,0	0,19	2,7	27	---	---	---
20	0,052	1,2	8,5	0,20	3,7	26	1,0	1,7	17
40	0,072	2,3	11	0,21	6,4	32	1,0	4,0	20
60	0,083	2,1	8,6	0,21	7,4	30	1,0	5,0	20
80	0,089	2,4	8,5	0,22	8,5	30	1,0	5,1	18
100	0,079	4,0	13	0,21	12	38	1,0	6,3	20

A análise da corrente dos picos I e II mostram valores de corrente que aumentam linearmente com $v^{1/2}$, conforme a equação a seguir: $-i_I (\mu A) = 0,21 + 0,98.v^{1/2} (mV^{1/2}.s^{-1/2})$, $n = 6$, $r = 0,995$ e $-i_{II} (\mu A) = 0,021 + 0,29.v^{1/2} (mV^{1/2}.s^{-1/2})$, $n = 6$ e $r = 0,987$, sugerindo um processo de redução controlado por difusão [Kadish et al. (2000a); Brett & Brett (1996); Fry (1989); Southampton (1985); Bard & Faulkner (1980)]. Entretanto, a análise do pico III mostra uma relação linear da corrente vs v , conforme a equação: $-i_{III} (\mu A) = 0,48 + 0,061.v (mV.s^{-1})$, $n = 6$, $r = 0,984$, sugerindo que a porfirina base livre é reduzida na forma adsorvida na última etapa [Southampton (1985); Bard & Faulkner (1980)]. Este comportamento é indicativo de que o produto eletroativo da redução da base livre reduzido em potencial mais negativo é suscetível à adsorção na superfície do eletrodo.

A análise da Tabela 2 mostra também um deslocamento do potencial dos picos I e II para valores mais negativos em função do aumento da velocidade de varredura, sugerindo que o processo eletródico caracteriza-se por uma transferência de carga irreversível ou a existência de reações químicas acopladas ao processo eletródico [Fry (1989)]. O pico III apresenta valores de potencial aproximadamente constantes em função do aumento da velocidade de varredura.

De acordo com a equação $|E_p - E_{p/2}| = 48 \text{ mV} \cdot \alpha^{-1} n^{-1}$ previsto na literatura, onde n = número de elétrons da etapa determinante e α = coeficiente de transferência, pode-se estimar os valores de n correspondentes aos processos redox [Kadish et al. (2000a); Brett & Brett (1996); Fry (1989); Bard & Faulkner (1980); Southampton (1985)]. A análise dos voltamogramas cíclicos correspondentes às etapas de redução I, II e III levam aos valores de $|E_p - E_{p/2}|$ iguais a 0,045 V; 0,033 V e 0,058 V, com $\alpha n = 1,2$ ($\alpha = 0,6$ e $n = 2$); 1,7 ($\alpha = 0,85$ e $n = 2$); e 1 ($\alpha = n = 1$) para as etapas I, II e III respectivamente. A ausência de pico anódico na varredura inversa e deslocamento de potencial de pico para valores mais negativos de potencial sugerem que provavelmente o mecanismo eletródico para a 1ª e 2ª etapa de redução envolve reações químicas acopladas. Os valores obtidos para a função corrente $i_p \cdot v^{-1/2}$ aumentam com o aumento da velocidade de varredura (Tabela 2), indicando que o processo de transferência de carga envolve reações químicas precedentes ou fraca adsorção do reagente. Essas reações se devem ao fato de que o solvente utilizado é um solvente prótico (H₂O), sendo comum reações de protonação neste meio, diminuindo assim a estabilidade do radical ânion formado [Kadish et al. (2000a); Fry (1989)]. A redução de uma porfirina base livre em meio aprótico ocorre geralmente como uma transferência de carga reversível, uma vez que não há prótons disponíveis para reagir com os radicais ânions e diânions [Bard & Faulkner (1980)].

Segundo a literatura, a $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ em DMF e PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ é reduzida num total de 6 elétrons, a redução do grupo 4-metil-piridil envolve duas reduções de 2 elétrons cada em intervalo de $-0,20$ a $-1,0 \text{ V}$, enquanto que o anel da porfirina é reduzido em uma única etapa de 2 elétrons. Não se observa nenhum processo na oxidação [Kadish et al. (1989); Caemelbecke et al. (1993); Neri & Wilson (1972); Neri & Wilson (1973); Fajer et al. (1970); Bettelheim & Kuwana (1979)].

Analizando todos estes parâmetros e de acordo com a literatura, os picos de redução I e II podem ser atribuídos à redução do substituinte 4-metil-piridil da porfirina, que é um grupo deficiente de elétrons e facilmente reduzido em intervalo de potencial entre $-0,2$ a $-1,0 \text{ V}$, o pico III pode ser atribuído à redução do anel porfirínico, na forma adsorvida sobre a superfície do eletrodo, conforme a reação:

A adsorção da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ em eletrodo de carbono vítreo foi confirmada pela diminuição da corrente de pico em voltamogramas cíclicos registrados sem limpeza do eletrodo.

A oxidação da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ pode ser melhor observada no voltamograma apresentado na Figura 17.

Figura 17: Voltamograma cíclico correspondente à oxidação de 1,0 mmol de $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2 ; v:v), sobre eletrodo de carbono vítreo, $v = 80 \text{ mV.s}^{-1}$.

A ausência de pico anódico na varredura inversa é observada em todo o intervalo de varredura de potencial investigado, sugerindo que o processo eletródico é irreversível ou envolve reações químicas rápidas subsequentes. Os respectivos parâmetros voltamétricos são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Parâmetros voltamétricos correspondentes à oxidação da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$, pico IV, em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2 ; v:v), sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura de potencial.

$v \text{ (mV.s}^{-1}\text{)}$	$-E \text{ (V)}$	$-i \text{ (}\mu\text{A)}$	$-i.v^{-1/2}$
10	1,6	3,5	1,1
20	1,5	4,7	1,0
40	1,6	6,4	1,0
70	1,6	7,6	0,91
80	1,6	8,2	1,0
100	1,6	12	1,1

O potencial correspondente à oxidação da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ é aproximadamente constante, assim como os valores de função corrente $i.v^{-1/2}$, em função do aumento da velocidade de varredura. A relação entre corrente e $v^{-1/2}$ é linear como mostra a equação a seguir: $i_{IV} \text{ (}\mu\text{A)} = 0,40 + 0,89.v^{1/2} \text{ (mV}^{1/2}.\text{s}^{-1/2}\text{)}$, $n = 6$, r

= 0,994, sugerindo um processo controlado por difusão. Valores constantes de $|E_p - E_{p/2}| = 43$ mV foram obtidos, com valores de $\alpha n = 1$ ($\alpha = n = 1$) indicando que provavelmente o anel da porfirina base livre é oxidado irreversivelmente através da transferência de 1 elétron.

Estudos de espectroeletroquímica foram realizados com objetivo de caracterizar os principais produtos gerados na redução e oxidação da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ e confirmar as atribuições feitas com base nos resultados de voltametria cíclica.

IV – 4 Espectroeletroquímica da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$

Estudos espectroeletroquímicos para a redução de $3,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ em solução de ACN/tampão fosfato (pH= 7,4, 1:2, v:v) sobre eletrodo de ouro foram realizados em potenciais de $-0,45$ V e $-1,3$ V, com o objetivo de confirmar a atribuição realizada anteriormente, uma vez que a discriminação entre os dois primeiros processos de redução foi dificultada devido à proximidade entre os referidos potenciais de pico. A oxidação da porfirina base livre foi monitorada em potencial de $1,8$ V. Estes potenciais foram escolhidos com base na redução da base livre sobre eletrodo de ouro, que apresentam comportamento semelhante ao observado previamente em eletrodo de carbono vítreo.

Oxidação e redução do anel porfirínico envolve retirar ou adicionar elétrons no orbital ocupado de maior energia, HOMO, e orbital vazio de menor energia, LUMO, respectivamente. Como a banda Soret das porfirinas é resultante de uma transição do orbital HOMO para o orbital LUMO, processos redox envolvendo o anel resultam em mudanças significativas no espectro desses compostos.

Como observado na Figura 18, os espectros de absorção na região UV/Vis registrados durante 1 hora de redução da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ sob potencial de $-0,45$ V não mostram qualquer deslocamento de bandas e a absorbância da banda

Soret (423 nm) varia muito pouco. Estes resultados confirmam que os picos I e II observados na redução deste composto envolvem apenas o grupo substituinte deficiente de elétrons (4-metil-piridil), o qual é mais facilmente reduzido que o respectivo anel porfirínico.

Figura 18: Espectros UV/Vis de $3,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ da $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$ em solução de ACN/tampão fosfato (pH=7,4, 1:2 ; v:v), sobre eletrodo de ouro, $E = -0,45 \text{ V}$ vs Ag/AgCl, durante 1 hora.

Figura 19: Espectros UV/Vis de $3,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ da $[\text{H}_2(\text{T4MpyP})]\text{Cl}_4$ em solução de ACN/tampão fosfato (pH=7,4, 1:2 ; v:v), sobre eletrodo de ouro, $E = -1,3 \text{ V}$ vs Ag/AgCl, durante 1 hora.

A Figura 19 mostra os espectros correspondentes à 1 hora de redução da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ sob potencial de $-1,3$ V, e monitoramento do sinal espectrofotométrico a cada 10 minutos. Como se pode observar, há um grande decréscimo da absorbância da banda Soret durante a eletrólise, comprovando que, em potenciais mais negativos (pico III), ocorre a redução do anel da porfirina, confirmando a atribuição feita previamente a partir dos resultados da voltametria cíclica.

Os espectros correspondentes à oxidação da porfirina base livre em potencial de $1,8$ V vs Ag/AgCl são mostrados na Figura 20. Como esperado, na eletrólise em potencial referente à oxidação do composto ($1,8$ V), observa-se uma acentuada diminuição da absorbância da banda Soret, confirmando que nesta região de potencial ocorre a oxidação do anel porfirínico.

Uma compilação dos principais resultados do estudo eletroquímico da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ estão na Tabela 4.

Figura 20: Espectros UV/Vis de $3,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ da $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ em solução de ACN/tampão fosfato (pH=7,4, 1:2 ; v:v), sobre eletrodo de ouro, $E = 1,8$ V vs Ag/AgCl, durante 1 hora.

Tabela 4: Redução e oxidação eletroquímica de 1,0 mmol.L⁻¹ da [H₂(T4MpyP)]Cl₄ em ACN/tampão fosfato (pH=7,4, 1:2 ; v:v).

Processo	E (V vs Ag/AgCl)	n ^o e ⁻	Atribuição
E _I	- 0,077	2	py ⁺ / py
E _{II}	- 0,24	2	py ⁺ / py
E _{III}	- 1,1	1	H ₂ P / H ₂ P ^{•-}
E _{IV}	1,7	1	H ₂ P / H ₂ P ^{•+}

Assim, é possível concluir que a redução eletroquímica da porfirina [H₂(T4MpyP)]Cl₄ ocorre inicialmente pelo ligante 4-metil-piridil e envolve a redução do anel apenas em regiões bastante negativas de potencial. A utilização do solvente misto água/ACN pode ser responsável por reações de protonação que extinguem a estabilidade dos principais radicais ânions e diânions envolvidos. Do mesmo modo, a oxidação do anel da porfirina é observado apenas em potenciais altamente positivos e os produtos também devem sofrer reações químicas rápidas.

IV – 5 Comportamento voltamétrico da [Mn(T4MpyP)]⁵⁺

A redução da [Mn(T4MpyP)]⁵⁺ em ACN/tampão fosfato pH=7,4 sobre eletrodo de carbono vítreo é mostrada na Figura 21. Observa-se que a redução caracteriza-se pela presença de pico em 0,13 V (pico I – Curva A), -0,31 V (pico II – Curva B) e -0,86 V (pico III – Curva B). No intervalo de 0,5 a 2,5 V a [Mn(T4MpyP)]⁵⁺ exibe um pico em potencial de 1,9 V (pico IV), como pode ser constatado na Figura 22 – Curva A. Entretanto, um pico em potencial de 0,32 V pode também ser observado se a varredura for realizada desde 0 V, como mostra a Figura 22 – Curva B.

Figura 21: Voltamograma cíclico correspondente à redução de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ de $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em ACN/tampão fosfato, $\text{pH}=7,4$ (1:2 ; v:v), vs. Ag/AgCl, sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva A: I etapa de redução; Curva B: II e III etapa de redução, $v=40 \text{ mV.s}^{-1}$.

Figura 22: Voltamograma cíclico correspondente à oxidação de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ de $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em ACN/tampão fosfato, $\text{pH}=7,4$ (1:2 ; v:v), vs. Ag/AgCl, sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva A: IV etapa de oxidação, Curva B: I etapa de redução, $v=40 \text{ mV.s}^{-1}$.

A análise da influência da velocidade de varredura sobre o pico I no intervalo de 20 a 100 mV.s^{-1} mostra a presença de pico na varredura inversa de potencial em qualquer velocidade investigada, podendo ser observado na Figura 23 e os parâmetros voltamétricos podem ser melhor observados na Tabela 5.

Figura 23: Voltamograma cíclico correspondente à redução de 1,0 mmol.L⁻¹ de [Mn(T4MpyP)]⁵⁺ em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2 ; v:v), vs. Ag/AgCl, sobre eletrodo de carbono vítreo, v= 20, 30, 40 e 50 mV.s⁻¹.

A análise do pico I mostra valores de corrente que aumentam linearmente com $v^{1/2}$ segundo a equação: $-i_l (\mu A) = 0,13 + 0,40 \cdot v^{1/2} (mV^{1/2} \cdot s^{-1/2})$, $n = 7$, $r = 0,995$, sugerindo um processo de redução controlado por difusão [Kadish et al. (2000a); Brett & Brett (1996); Bard & Faulkner (1980)]. No entanto, a análise da Tabela 5 mostra que os valores de $E_{pa}-E_{pc}$ são muito maiores que 56 mV, previsto para um processo reversível com a transferência de 1 elétron. A relação i_{pa}/i_{pc} aumenta de 0,25 em baixa velocidade de varredura para 0,50 em velocidades mais altas, indicando comportamento típico de processo de transferência de carga com reações químicas subsequentes que consomem o produto [Bard & Faulkner (1980)]. Este comportamento é confirmado pela leve diminuição nos valores da função corrente ($i_{pc} \cdot v^{-1/2}$) com o aumento da velocidade de varredura de potencial.

Tabela 5: Parâmetros voltamétricos correspondentes à redução da $[Mn(T4MpyP)]^{5+}$, pico I, em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2; v:v), sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura.

v (mV.s ⁻¹)	E_{pc} (V)	$-i_{pc}$ (μA)	E_{pa} (V)	i_{pa} (μA)	$E_{pa} - E_{pc}$	i_{pa}/i_{pc}	$i_{pc} \cdot v^{-1/2}$
20	0,18	2,0	0,32	0,50	0,14	0,25	14
30	0,15	2,6	0,32	0,73	0,17	0,28	15
40	0,16	2,7	0,32	1,3	0,16	0,48	13
50	0,13	3,0	0,32	1,3	0,19	0,43	13
80	0,12	3,6	0,33	1,8	0,21	0,50	13
100	0,10	4,1	0,33	2,1	0,23	0,51	13

O efeito da variação da velocidade de varredura sobre os picos II e III foram investigados no intervalo de 20 a 200 mV.s⁻¹, e os respectivos parâmetros são mostrados na Tabela 6. Não existem picos correspondentes na varredura inversa de potencial em qualquer velocidade investigada, mostrando que o processo global apresenta característica de processo não reversível. Observa-se ainda o deslocamento do pico II para valores mais negativos de potencial.

Tabela 6: Parâmetros voltamétricos correspondentes à redução da $[Mn(T4MpyP)]^{5+}$ em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2 ; v:v), sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura de potencial.

	Pico II			Pico III		
v (mV.s ⁻¹)	-E (V)	-i (μA)	-i.v ^{-1/2}	-E (V)	-i (μA)	-i.v ^{-1/2}
20	0,39	2,8	28	0,92	5,9	42
40	0,48	5,3	26	0,90	9,2	46
70	0,41	7,2	27	0,89	13	49
100	0,43	8,1	26	0,72	20	63
200	0,44	14	31	0,76	30	67

A relação entre valores de corrente e v para os picos II e III é expressa pelas respectivas equações: $-i_{II} (\mu A) = 1,5 + 0,070 \cdot v (mV.s^{-1})$, $n = 6$, $r = 0,980$ e $-i_{III} (\mu A) = 2,6 + 0,14 \cdot v (mV.s^{-1})$, $n = 6$, $r = 0,984$, observa-se que ocorre um aumento linear da corrente em função da v para os picos II e III, sugerindo que a porfirina metalada é reduzida via forma adsorvida. Este comportamento é indicativo de que a inserção de metal na base livre torna-a mais suscetível à adsorção na superfície do eletrodo. Comparando-se com a porfirina base livre e com dados da literatura para esta metaloporfirina, os picos II e III podem ser atribuídos respectivamente à redução do grupo 4-metil-piridil e subsequente processo de redução do anel porfirínico para o radical π -ânion, ambos processos ocorrendo em potenciais muito próximos na forma adsorvida sobre a superfície do eletrodo [Kadish et al. (1989); Smith (1975)].

A oxidação da $[Mn(T4MpyP)]^{5+}$ em ACN/tampão fosfato, pH=7,4 (1:2 ; $v:v$), sobre eletrodo de carbono vítreo ocorre em uma única etapa (pico IV). Comparando-se com o comportamento da porfirina base livre, observa-se que a oxidação do anel da metaloporfirina ocorre em potenciais mais positivos (1,9 V) que a base livre (1,6 V), mostrando que a introdução do metal torna o anel mais difícil de ser oxidado.

Como discutido previamente, não se observa nenhum pico de redução na varredura inversa de potencial e a relação entre i vs $v^{1/2}$ é linear, segundo a equação: $i_{VI} (\mu A) = 0,38 + 5,6 \cdot v^{1/2} (mV^{1/2}.s^{-1/2})$, $n = 7$, $r = 0,990$, sugerindo que o processo de oxidação é controlado por um processo difusional.

Deste modo, os resultados indicam que o comportamento voltamétrico da $[Mn(T4MpyP)]^{5+}$ difere daquele observado para a $[H_2(T4MpyP)]Cl_4$ principalmente pela ocorrência do pico I, atribuído à redução do Mn(III)/Mn(II) presente na MnP. O mesmo ocorre também na varredura de oxidação por se tratar de um processo reversível do par Mn(III)/Mn(II) na região de 0,0 a 0,5 V (vs Ag/AgCl).

Estudos de espectroeletroquímica foram realizados para confirmar esta atribuição.

IV – 6 Espectroeletroquímica da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$

Espectros UV/Vis obtidos durante 1 hora de eletrólise da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em meio de ACN/tampão fosfato (1:2 ; v:v, pH=7,4), sobre eletrodo de ouro em potencial de - 0,10 V são mostrados na Figura 24.

Figura 24: Espectros UV/Vis de $3,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em solução de ACN/tampão fosfato (pH=7,4, 1:2 ; v:v), sobre eletrodo de ouro, $E = -0,10 \text{ V}$ vs Ag/AgCl antes e após 1 hora de eletrólise.

Como pode ser observado, mesmo após 1 hora de eletrólise a absorbância da banda Soret (453 nm) permanece inalterada, indicando que neste potencial não ocorre nenhuma mudança no anel da porfirina como discutido no item IV – 4. Estes resultados confirmam que o pico catódico em potencial de 0,13 V é devido à redução do Mn(III) para Mn(II). A seguir investigou-se a possibilidade de imobilização da MnP sobre eletrodos modificados por polipirrol.

IV – 7 Eletrodos modificados por polipirrol e $[Mn(T4MpyP)]^{5+}$

A modificação de superfície eletródica por filmes de polipirrol é bastante conhecida na literatura [Brett & Brett (1996); Bedioui et al. (1997); Deronzier et al. (1992); Cosnier et al. (2000); Hanks et al. (2001)]. Muitos trabalhos têm sido realizados para elucidar os diferentes aspectos da eletroxidação do pirrol para produzir o polipirrol sobre eletrodos, entretanto, até o momento muitas etapas não estão completamente compreendidas [Yuan et al. (1999)].

No entanto, é conhecido que o processo de polimerização pode ser considerado como uma reação de condensação, onde prótons na posição α são eliminados (Esquema 1). O modelo de mecanismo para a eletropolimerização do pirrol proposto na literatura é análogo às reações de acoplamento de cátions radicais em compostos aromáticos [Yuan et al. (1999); Bartlett & Cooper (1996)]. De acordo com o esquema proposto, a primeira etapa consiste na oxidação do monômero para formar um radical dicátion. A segunda etapa envolve a dimerização do monômero pelo acoplamento radical-radical, sendo dois prótons eliminados do dihidrodímero e formação da espécie neutra correspondente. Como o dímero é mais facilmente oxidado do que o monômero, devido ao aumento do radical cátion formado, ele é reoxidado para o radical e sofre um acoplamento adicional com o radical cátion monomérico. Deste modo, o processo de eletropolimerização procede por meio de etapas eletroquímicas e químicas, sendo que o crescimento da cadeia só é interrompido quando o cátion radical de crescimento torna-se não reativo ou, mais comumente, quando o final reativo da cadeia torna-se estericamente bloqueado para reações posteriores [Yuan et al. (1999)].

Estudos utilizando a técnica de voltametria cíclica têm mostrado que o polímero produzido por ciclagens sucessivas de potencial ocorre segundo um estado condutor de oxidação e dopagem, cujas formas são mostradas no Esquema 2. Em adição, contra-íons do eletrólito suporte podem ser incorporados por difusão para dentro ou

para fora do polímero durante os processos de oxidação e redução, para garantir a eletroneutralidade do filme. Analiticamente o método é vantajoso, pois filmes de polipirrol assim preparados podem ser utilizados para construção de sensores eletroquímicos. A imobilização do analito de interesse na superfície do eletrodo pode ser obtida pela sua incorporação ao filme polimérico oxidado, que apresenta propriedades de troca iônica, ou por polimerização eletroquímica direta do analito, modificado pela adsorção de centros pirrólicos na estrutura da espécie de interesse, que forma filmes durante sua oxidação.

Esquema 1: Mecanismo de eletropolimerização do pirrol [Yuan et al. (1999)].

Esquema 2: Oxidação reversível do polipirrol [Yuan et al. (1999)].

Embora diversos métodos alternativos para a imobilização da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ sobre filmes de polipirrol os resultados foram insatisfatórios em processos de polimerização direta através da ciclagem em soluções contendo mistura de pirrol e $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$. Os voltamogramas obtidos não mostraram qualquer retenção da MnP, monitorados pela ausência de sinal voltamétrico. Este comportamento indica que, embora seja bastante conhecido que algumas MeP possam ser introduzidas durante o crescimento de filmes de polipirrol como contra íons (íons “dopantes”) no filme, a MnP em estudo, carregada positivamente, não é aprisionada no filme por ciclagem direta. No entanto, observou-se que filmes de polipirrol pré-eletropolimerizados, quando colocados em contato com solução da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em ACN/tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH}=7,4$), exibem forte retenção da MnP na superfície do eletrodo, com alta estabilidade do sinal voltamétrico.

A Figura 25 mostra o comportamento voltamétrico observado durante formação do filme de polipirrol pela oxidação do monômero em tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH}=7,4$), através de ciclagens sucessivas entre potenciais de $-0,50 \text{ V}$ a $1,5 \text{ V}$. Após transferência do eletrodo resultante para solução tampão fosfato ($\text{pH}=7,4$) o voltamograma cíclico obtido não apresentou nenhum pico de intensidade considerável no intervalo de $-0,50 \text{ V}$ a $1,5 \text{ V}$.

Após imersão do eletrodo modificado por prévia eletropolimerização do pirrol em solução de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ de $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH}=7,4$), sob agitação constante, durante 1 hora, o mesmo foi transferido para célula voltamétrica contendo apenas solução tampão fosfato ($\text{pH } 7,4$) e o voltamograma cíclico foi registrado (Figura 26).

Figura 25: Voltamograma cíclico representativo da formação do filme durante ciclagem sucessiva do eletrodo de carbono vítreo em $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ de pirrol em tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH}=7,4$), $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$ (100 ciclos).

Figura 26: Voltamograma cíclico correspondente à redução do filme de $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ /polipirrol sobre eletrodo de carbono vítreo em tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH}=7,4$), $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

Um par de picos bem definidos foi obtido em potenciais ao redor de $-0,37/-0,12 \text{ V}$, atribuídos à redução do íon metálico Mn(III)/Mn(II) da metaloporfirina. O ligeiro deslocamento de potencial em relação ao par de picos Mn(III)/Mn(II) verificado em solução ocorre devido à variação de pH. A redução da porfirina incorporada ao eletrodo não necessita do meio não aquoso de ACN para solubilização. Estes resultados demonstram que a $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ foi incorporada no filme de polipirrol, uma vez que os voltamogramas registrados para o eletrodo modificado sem metaloporfirina não apresenta nenhum pico nestas condições experimentais.

Voltamogramas cíclicos obtidos durante varreduras sucessivas de potencial na região correspondente à redução do Mn(III)/ Mn(II) no filme polimérico é apresentado na Figura 27. Observa-se um ligeiro decréscimo na intensidade de corrente de apenas 5,0 % após 10 ciclos, e 12 % após 30 ciclos ininterruptos, indicando que o sinal voltamétrico correspondente à redução do metal da MnP apresenta-se relativamente estável quando imobilizada na superfície do eletrodo de carbono vítreo modificado por polipirrol.

Figura 27: Voltamogramas cíclicos sucessivos correspondente à redução do filme de polipirrol/[Mn(T4MpyP)]⁵⁺, após 30 ciclos em tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹ e pH=7,4), $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

O efeito da velocidade de varredura foi investigado no intervalo entre 10 a 500 mV.s^{-1} . O voltamograma obtido para redução do íon metálico no filme de polipirrol caracteriza-se por um processo eletródico onde i_{pa}/i_{pc} é constante e aproximadamente 1, sugerindo que o processo de transferência eletrônica é totalmente reversível e possivelmente a velocidade de reações químicas presenciadas em solução são minimizadas no filme. A corrente de pico catódico aumenta linearmente com o aumento da velocidade de varredura, de acordo com a equação: $-i(\mu\text{A}) = -3,7 \cdot 10^4 + 6,2 \cdot 10^2 v \text{ (mV.s}^{-1}\text{)}$, $n = 5$, $r = 0,990$, características da

redução do metal na MnP no estado adsorvido sobre o filme de polipirrol [Brett & Brett (1996); Fry (1989); Bard & Faulkner (1980)].

Eletrodo de ITO modificado de maneira semelhante foi obtido para a caracterização espectrofotométrica do filme, com o objetivo de comprovar a interação entre o filme de polipirrol e a MnP em estudo.

Eletrodos de ITO foram recobertos por filmes de polipirrol através de ciclagens sucessivas de potencial entre -0,50 V a 1,5 V em tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹ e pH=7,4), seguidos de lavagem. O espectro deste filme na região do UV/Vis é mostrado na Figura 28A. A Figura 28B apresenta o espectro obtido após incorporação da [Mn(T4MpyP)]⁵⁺ nas mesmas condições experimentais sobre eletrodo de ITO modificado por filmes de polipirrol.

Figura 28: Espectro UV/Vis do eletrodo de ITO modificado por ciclagens em solução de pirrol em tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹, pH=7,4) – Curva A; e após incorporação da [Mn(T4MpyP)]⁵⁺ em ACN/tampão fosfato (0,10 mol.L⁻¹, pH=7,4; 1:2 (v:v)) – Curva B.

A ocorrência da banda característica da [Mn(T4MpyP)]⁵⁺ em 466 nm no espectro obtido para o eletrodo de ITO modificado por filmes de polipirrol e manganês porfirina (Figura 28 - Curva B) confirma que a MnP é retida na superfície

do eletrodo, provavelmente por interação eletrostática ou entre metal e grupos pirrólicos.

Deste modo, conclui-se que eletrodos modificados por polipirrol podem ser utilizados para incorporação da $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$, formando filmes estáveis utilizando-se o ânion fosfato como contra-íon na formação do filme.

A seguir investigou-se a possibilidade de se utilizar o filme de polipirrol/ $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ para a oxidação de corantes reativos.

IV – 8 Interação do corante vermelho reativo 120 com o filme de polipirrol/ $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$.

Os grupos cromóforos azo do corante reativo Procion Red HE-3B (RR120) são reduzidos ao hidrazo correspondente em potenciais ao redor de -0,50 V na forma adsorvida sobre eletrodo de mercúrio [Bechtold et al. (1997); Guaratini et al. (2002)]. Em potenciais mais negativos, ao redor de -1,0 V observa-se a redução dos grupos reativos clorotriazinas [Bechtold et al. (1997); Guaratini et al. (2001a); Guaratini et al. (2001b)]. No entanto, o corante não apresenta nenhuma onda de redução ou oxidação sobre eletrodo de carbono vítreo.

Os voltamogramas cíclicos correspondentes ao filme de polipirrol carregado com a $[\text{Mn}(\text{T4MpyP})]^{5+}$ em tampão fosfato é mostrado na Curva 1 da Figura 30. O efeito da adição sucessiva de $1,0 \cdot 10^{-5}$ e $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ em tampão fosfato do corante RR120 sobre os voltamogramas correspondentes à redução de Mn(III)/Mn(II) pode ser observado nas Curvas 2 e 3 da mesma Figura.

Observa-se, tanto na região anódica quanto na catódica, um aumento da corrente de pico de aproximadamente 6 μA , após adição de $1,0 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ do corante. Variações maiores de corrente são observadas na varredura inversa. Estudos realizados no intervalo de concentração do corante de $8,0 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹ a

$1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ mostram que há uma inibição do aumento de corrente na presença de concentração do corante acima de $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Como resultado, a variação de corrente não apresenta potencialidade analítica devido à baixa sensibilidade

deste pequeno incremento de corrente em relação ao sinal da MnP retida no filme.

Figura 30: Efeito da adição sucessiva de $1,0 \cdot 10^{-5}$ e $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ do corante RR120 sobre o filme de polipirrol/[Mn(T4MpyP)]⁵⁺ em tampão fosfato ($0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ e $\text{pH}=7,4$) $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$. Curva (1): eletrólito suporte; Curvas: (2) $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$; (3) $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ do corante RR120.

De acordo com a literatura [Bechtold et al. (1997)], processos catalíticos em eletroquímica usualmente ocorrem quando uma substância O é reduzida à R (Equação 3) e R regenera O por uma reação química com a substância Z (Equação 4), gerando um produto P de acordo com as equações abaixo.

Por analogia, na escala de tempo do experimento de voltametria cíclica correspondente à redução de Mn(III)/Mn(II) no filme formado, a variação do sinal de corrente anódico poderia ser atribuída à redução química do grupo azo do corante através do metal, de acordo com o seguinte esquema:

Embora a relação entre corrente e concentração observada para a redução catalítica do corante nos filmes da MnP seja muito pequena, o que torna o método analiticamente pouco sensível para determinação do mesmo, o comportamento voltamétrico da MnP indica que existem interações entre o metal da MnP e sítios ativos do corante.

Outros tipos de MnP foram testados com o intuito de ampliar estes estudos.

IV – 9 Comportamento voltamétrico da [H₂(T2APP)]

A redução e oxidação voltamétrica de 1,0 mmol de [H₂(T2APP)] em DMF e PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, podem ser observadas nas Figuras 31 e 32, respectivamente. A redução do composto ocorre em três etapas, nos potenciais -0,62 V (pico I); -0,95 V (pico II) e -1,4 V (pico III). Na região entre 0 a 2,5 V observa-se apenas 1 pico de oxidação em potencial de 1,5 V (pico IV), como mostra a Figura 32.

Figura 31: Voltamograma cíclico correspondente à redução de 1,0 mmol.L⁻¹ de [H₂(T2APP)] em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, vs. Ag/AgCl, sobre eletrodo de carbono vítreo.

Figura 32: Voltamograma cíclico correspondente à oxidação de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ de $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$ em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, vs. Ag/AgCl, sobre eletrodo de carbono vítreo.

A redução da $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$ caracteriza-se por apresentar, na varredura inversa de potencial, apenas dois picos em $-0,83 \text{ V}$ (pico II^*) e $-1,3 \text{ V}$ (pico III^*) correspondentes à reoxidação dos produtos formados após a segunda e terceira etapas de redução. Os voltamogramas correspondentes com potenciais de inversão após cada pico são mostrados na Figura 33 (curva A – C).

Figura 33: Voltamogramas cíclicos correspondentes à redução de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ da $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$ em $\text{DMF/PTBA } 0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$, vs. Ag/AgCl , sobre eletrodo de carbono vítreo. Curva A: pico I; Cuva B: pico II e Curva C: pico III.

Os estudos da influência da velocidade de varredura sobre os picos I, II e III foram realizados no intervalo de 20 a 500 mV.s^{-1} e os parâmetros correspondentes a cada pico são mostrados na Tabela 8, para velocidades entre 20 a 100 mV.s^{-1} .

Tabela 8: Parâmetros voltamétricos correspondentes à redução da [H₂(T2APP)] em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura de potencial.

	v (mV.s ⁻¹)	20	30	50	80	100
Pico I	- E _{pc} (V)	0,32	0,32	0,34	0,36	0,37
	- i _{pc} (μA)	7,4	12	16	24	28
	-E _{pa} (V)	0,18	0,18	0,19	0,18	0,18
	-i _{pa} (μA)	3,4	5,4	7,3	11	13
	i _{pa} /i _{pc}	0,38	0,34	0,45	0,46	0,46
	-i _{pc} .v ^{-1/2}	52	69	71	85	88
Pico II	- E _{pc} (V)	0,70	0,71	0,71	0,73	0,74
	- i _{pc} (μA)	16	17	25	29	32
	-E _{pa} (V)	0,57	0,57	0,57	0,55	0,54
	-i _{pa} (μA)	16	17	24	30	32
	i _{pa} /i _{pc}	1,0	1,0	0,96	1,0	1,0
	-i _{pc} .v ^{-1/2}	113	98	112	102	101
Pico III	- E _{pc} (V)	1,1	1,1	1,1	1,2	1,2
	- i _{pc} (μA)	16	25	27	31	36
	-E _{pa} (V)	1,0	1,0	0,98	0,98	0,97
	i _{pa} (μA)	17	25	28	30	35
	i _{pa} /i _{pc}	1,0	1,0	1,0	0,97	0,97
	-i _{pc} . v ^{-1/2}	113	144	121	110	114

O potencial correspondente à primeira etapa de redução da [H₂(T2APP)] (pico I) apresenta um deslocamento para valores mais negativos em função do aumento da velocidade de varredura (Tabela 8), e um pico de pequena intensidade na varredura inversa de potencial (I^{*}) cuja corrente aumenta com o aumento da

velocidade de varredura. A relação de i_{pa}/i_{pc} aumenta em função de v porém é sempre menor que 1, sugerindo a ocorrência de reações químicas acopladas. Também se observa que a relação entre corrente de pico catódico e v é linear, segundo a equação: $-i_l (\mu A) = 1,63 + 0,27 \cdot v (mV.s^{-1})$, $n = 6$, $r = 0,994$ e os valores da função corrente, $-i \cdot v^{-1/2}$, aumentam em função do aumento da velocidade de varredura, sugerindo que o processo é controlado por fraca adsorção na superfície do eletrodo [Bard & Faulkner (1980)]. Provavelmente este pico está associado à redução de um dos átomos de nitrogênio do pirrol, que poderia ocorrer se este se encontrar protonado, gerando novo radical, em analogia ao que ocorre a pirimidina [Elving et al. (1973); Lund (1983)].

A segunda e terceira etapas de redução da $[H_2(T2APP)]$ caracterizam-se por um pico anódico na varredura inversa e valores de i_{pa}/i_{pc} próximos da unidade, como mostra a Tabela 8. Os valores de potenciais de pico são aproximadamente constantes com valores de $E_{pa/2} - E_{pc/2}$ próximos de 52 mV, sugerindo que os processos eletródicos envolvem a transferência reversível de 1 elétron em cada etapa de redução.

A análise de corrente vs $v^{1/2}$ para os picos II e III, mostra uma relação linear para ambos os picos de acordo com as equações: $-i_{II} (\mu A) = 1,1 + 3,0 \cdot v^{1/2} (mV^{1/2}.s^{-1/2})$, $n = 6$, $r = 0,991$ e $-i_{III} (\mu A) = 1,7 + 3,2 \cdot v^{1/2} (mV^{1/2}.s^{-1/2})$, $n = 6$, $r = 0,990$ respectivamente, o que indica que ambos os processos são controlados por um transporte difusional [Kadish et al. (2000a); Kadish et al. (1989); Brett & Brett (1996); Fry (1989); Southampton (1985); Bard & Faulkner (1980)].

Segundo a literatura, a diferença entre o potencial da primeira redução e da primeira oxidação do anel porfírico é de $2,25 \pm 0,15$ V, referente à diferença de energia dos orbitais HOMO/LUMO; e a diferença de potencial para a remoção ou adição do primeiro elétron e a remoção ou adição do segundo elétron

respectivamente é de aproximadamente 0,30 V [Fuhrop (1975); Kadish et al. (2000a)]. Para a $[H_2(T2APP)]$ a diferença entre o pico II e o pico IV é de 2,45 V, indicando que estes picos podem ser atribuídos a primeira redução e primeira oxidação do anel, respectivamente e a diferença entre o pico II e o pico III é de 0,4 V, indicando que o pico III é correspondente à segunda etapa de redução do anel porfirínico, estando de acordo com os valores previstos na literatura [Kadish et al. (2000a); Kadish et al. (2000b); Bedioui et al. (1995)].

Analisando todos esses parâmetros, os picos de redução II e III correspondentes à base livre podem ser atribuídos à redução consecutiva do anel porfirínico, com transferência sucessiva de 1 elétron em cada etapa, de acordo com as equações abaixo [Betteheim & Kuwana (1987); Mouahid et al. (1997); Mouahid (1998); Kadish et al. (2000a)].

A oxidação de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ $[H_2(T2APP)]$ em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$ sobre eletrodo de carbono vítreo, pode ser melhor constatada na Figura 34.

Figura 34: Voltamograma cíclico correspondente à oxidação de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ da $[H_2(T2APP)]$ em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

A ausência de pico anódico na varredura inversa de potencial é observada em todo o intervalo investigado, sugerindo que o processo eletródico é irreversível ou envolve reações químicas rápidas subsequentes. Os respectivos parâmetros voltamétricos são mostrados na Tabela 9.

Tabela 9: Parâmetros voltamétricos correspondentes à oxidação da $[H_2(T2APP)]$, pico IV, em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura de potencial.

v (mV.s ⁻¹)	E (V)	i (μA)	$ E_p - E_{p/2} $	$i.v^{-1/2}$
20	1,5	14	0,10	99
30	1,5	18	0,10	104
50	1,5	22	0,10	98
80	1,5	31	0,10	110
100	1,5	41	0,10	130

O pico anódico apresenta valores de potencial aproximadamente constantes, porém os valores da função corrente ($i.v^{-1/2}$) aumentam com o aumento da velocidade de varredura. A relação entre corrente e v é linear segundo a equação: i_{IV} (μA) = 3,9 + 0,4. v (mV.s⁻¹), $n = 6$, $r = 0,982$, sugerindo processo envolvendo adsorção. De acordo com a literatura, a observação de um ombro em potenciais mais positivos é uma evidência de forte adsorção do reagente, que apresenta como característica a ocorrência de pós-onda em relação à onda principal [(Bard & Faulkner (1980))].

Uma compilação dos principais resultados do estudo eletroquímico da $[H_2(T2APP)]Cl$ estão na Tabela 10.

Tabela 10: Redução e oxidação eletroquímica de 1,0 mmol.L⁻¹ da [H₂(TAPP)] em DMF e PTBA 0,10 mol.L⁻¹.

Processo	E (V vs Ag/AgCl)	n ^o e ⁻	Atribuição
E _I	- 0,62	1	N ⁺ H _(pirrol) / N [•] _(pirrol) ?
E _{II}	- 0,95 / - 0,83	1	H ₂ P / H ₂ P ^{•-}
E _{III}	- 1,4 / -1,3	1	H ₂ P ^{•-} / H ₂ P ^{•-}
E _{IV}	1,5	1	H ₂ P / H ₂ P ^{•+}

IV – 10 Comportamento voltamétrico da [Mn(T2APP)]Cl

A redução e oxidação da [Mn(T2APP)]Cl (1,0 mmol.L⁻¹) em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo podem ser observadas nos voltamogramas cíclicos das Figuras 35 e 36 respectivamente.

A redução da [Mn(T2APP)]Cl (Figura 35) ocorre em quatro etapas na região entre 0 a -2,0 V, em potenciais de pico iguais a: -0,28 V (pico I); -0,60 V (pico II); -1,0 V (pico III) e -1,4 V (pico IV). A oxidação da [Mn(T2APP)]Cl (Figura 36) na região entre 0 a 2,5 V vs Ag/AgCl, apresenta apenas 1 pico em potencial de 1,8 V (pico IV).

Figura 35: Voltamograma cíclico correspondente à redução de 1,0 mmol.L⁻¹ de [Mn(T2APP)]Cl em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, v= 100 mV.s⁻¹.

Figura 36: Voltamograma cíclico correspondente à oxidação de $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ de $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, sobre eletrodo de carbono vítreo, $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

Os voltamogramas cíclicos de redução da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ são caracterizados por apenas dois picos na varredura inversa, com valores de potenciais em $-0,85 \text{ V}$ (pico III*) e $-1,3 \text{ V}$ (pico IV*), correspondentes à reoxidação dos produtos formados nas etapas III e IV respectivamente.

Comparando-se os voltamogramas cíclicos da $[\text{H}_2(\text{T2APP})]$ com a $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$, observa-se apenas um novo pico (pico I), em potencial menos negativo atribuído à redução do Mn(III)/Mn(II) , e o quase desaparecimento do pico II em potencial de $-0,60 \text{ V}$ (Figura 37), confirmando a atribuição anterior para este pico como sendo redução de um dos átomos de nitrogênio do pirrol, que agora se encontra ligado ao íon metálico. Com a ligação do átomo de nitrogênio ao metal esta redução é evitada. Neste caso, o pequeno pico ainda presente pode indicar uma pequena contaminação de porfirina base livre.

A variação da velocidade de varredura do pico I em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, mostra a total ausência de pico na varredura inversa de potencial (Figura 38).

Figura 37: Voltamograma cíclico correspondente à redução de 1,0 mmol.L⁻¹ de: (---) [H₂(T2APP)] e (—) [Mn(T2APP)]Cl, em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

Figura 38: Voltamograma cíclico correspondente à redução de 1,0 mmol.L⁻¹ de [Mn(T2APP)]Cl em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, $\nu = 80$ e 100 mV.s^{-1} .

Analisando a corrente do pico I, observa-se valores que aumentam linearmente com $\nu^{1/2}$ de acordo com a equação: $-i_l (\mu\text{A}) = 0,05 + 0,46.\nu^{1/2} (\text{mV}^{1/2}.\text{s}^{-1/2})$, $n = 6$, $r = 0,990$, sugerindo um processo de redução controlado por difusão [Bard & Faulkner (1980)].

A Tabela 11 mostra que valores de $E_p - E_{p/2}$ são muito maiores que 59 mV, previsto para um processo reversível com transferência de 1 elétron. A ausência de pico anódico na varredura inversa e deslocamento de potencial para valores mais negativos sugerem que o mecanismo eletródico envolve reações químicas acopladas. Este comportamento é confirmado pela diminuição nos valores da função

corrente com o aumento da velocidade de varredura [Bard & Faulkner (1980)]. Deste modo, é possível concluir que a redução do metal na MnP ocorre irreversivelmente devido à reações químicas rápidas subsequentes, provavelmente troca do ligante axial. O íon Cl^- tem grande tendência a coordenar no íon Mn(II) mas apresenta pouca afinidade pelo íon Mn(III) . Assim, o solvente (DMF) pode estar coordenado ao Mn(III) da porfirina e ser trocado pelo Cl^- após redução à Mn(II)P [Kadish et al. (2000)].

Tabela 11: Parâmetros voltamétricos correspondentes à redução da $[\text{Mn(T2APP)}]\text{Cl}$, pico I, em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura.

v (mV.s ⁻¹)	-E (V)	-i (μA)	$E_p - E_{p/2}$	$-i_{pc} \cdot v^{-1/2}$
10	0,24	2,0	0,082	20
20	0,27	2,2	0,080	16
30	0,27	2,4	0,081	14
50	0,29	2,9	0,082	13
80	0,30	3,6	0,082	13
100	0,30	4,0	0,081	12
200	0,32	5,2	0,081	12

Os efeitos da variação da velocidade de varredura sobre os processos catódicos III e IV foram investigados no intervalo de 10 a 200 mV.s⁻¹, e os respectivos parâmetros são mostrados na Tabela 12. O pico II apresenta pequena intensidade e não foi analisado.

Os picos III e IV estão associados à picos na varredura inversa de potencial, no caso do pico III este comportamento é observado somente em altas velocidades de varredura, mostrando que o processo global apresenta característica de processo reversível, sendo confirmado pela relação i_{pa}/i_{pc} a qual é próxima da unidade para

ambos os casos. A relação entre valores de corrente e $v^{1/2}$ para os picos III e IV é expressa pelas respectivas equações: $-i_{III} (\mu A) = 0,62 + 0,54 \cdot v^{1/2} (mV^{1/2} \cdot s^{-1/2})$, $n = 8$, $r = 0,990$ e $-i_{IV} (\mu A) = -0,15 + 0,62 \cdot v^{1/2} (mV^{1/2} \cdot s^{-1/2})$, $n = 8$, $r = 0,991$, um aumento linear de corrente é observado em função da $v^{1/2}$ para os picos III e IV, sugerindo que os processos são controlados por difusão.

Tabela 12: Parâmetros voltamétricos correspondentes à redução da $[Mn(T2APP)]Cl$ em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura.

$v (mV.s^{-1})$		10	20	30	50	80	100	200
1)								
Pico III	- E_p	0,97	1,0	1,0	1,0	0,96	0,96	0,97
	- i_{pc}	2,5	3,3	4,0	4,6	5,3	6,0	7,8
	- $i_{pc} \cdot v^{-1/2}$	---	---	---	---	19	19	17
	- E_{pa}	---	---	---	---	0,87	0,87	0,87
	$E_{pa/2}$	---	---	---	---	0,040	0,040	0,030
	$E_{pc/2}$							
	- i_{pa}	---	---	---	---	4,6	5,7	7,4
	i_{pa}/i_{pc}	---	---	---	---	0,87	0,95	0,95
Pico IV	- E_{pc}	1,3	1,4	1,3	1,3	1,4	1,4	1,4
IV	- i_{pcl}	1,8	3	3,2	3,4	5,5	6,1	8,7
	- $i_{pc} \cdot v^{-1/2}$	18	21	18	15	19	19	19
	- E_{pa}	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
	$E_{pa/2}$	0,060	0,070	0,060	0,080	0,070	0,070	0,080
	$E_{pc/2}$							
	i_{pa}	1,4	2,3	2,7	3,0	4,3	5,4	6,4
	i_{pa}/i_{pc}	0,78	0,77	0,84	0,88	0,86	0,88	0,73

A análise da influência da velocidade de varredura sobre a oxidação da MnP (pico V) em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, no intervalo de 10 a 200 mV mostra a total ausência de pico na varredura inversa de potencial em qualquer velocidade investigada. Entretanto, o pico é bem definido e não apresenta nenhuma presença de pós-pico, como verificado na oxidação da base livre.

Os parâmetros voltamétricos correspondentes são mostrados na Tabela 13.

Tabela 13: Parâmetros voltamétricos correspondentes à oxidação da [Mn(T2APP)]Cl, pico V, em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, sobre eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura.

v (mV.s ⁻¹)	E (V)	i (μA)	$i.v^{-1/2}$	$E_p-E_{p/2}$
10	1,7	62	620	0,13
20	1,8	75	530	0,15
30	1,8	84	485	0,13
50	1,9	102	456	0,14
80	1,9	123	435	0,15
100	1,9	134	424	0,17
200	2,0	191	427	0,17

IV – 11 Eletrodos modificados por pirrol-2-carboxi-acido/[Mn(T2APP)]Cl.

Como discutido previamente, a incorporação de metaloporfirinas em eletrodos recobertos por filmes de polipirrol foi investigada através de duas metodologias: introdução da metaloporfirina durante o crescimento de filmes de polipirrol como contra íons (íons “dopantes”), através de ciclagem de potencial do eletrodo em solução contendo o monômero e a manganêsporfirina; ou interação entre o filme de polipirrol pré-eletropolimerizado sobre o eletrodo e a manganêsporfirina em solução.

Inicialmente investigou-se a possibilidade de imobilização da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ sobre eletrodo de carbono vítreo previamente recoberto por filmes de polipirrol, gerados por pré-polimerização do pirrol-2-carboxi-ácido (PyCOOH) em varreduras sucessivas de potencial entre $-1,0\text{V}$ a $1,0\text{ V}$ em $\text{DMF/PTBA } 0,10\text{ mol.L}^{-1}$. A seguir o eletrodo modificado por filmes de PyCOOH foi transferido para solução $1,0\text{ mmol.L}^{-1}$ da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em $\text{DMF/PTBA } 0,10\text{ mol.L}^{-1}$, e mantido sob agitação durante 1 h . O eletrodo foi então lavado com DMF e imerso em solução de $\text{DMF/PTBA } 0,10\text{ mol.L}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos foram registrados e não mostraram nenhum sinal voltamétrico mensurável da MnP, indicando que não houve retenção da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ no filme formado por pré-eletropolimerização.

A seguir investigou-se a possibilidade de incorporação da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ como contra íon durante a eletropolimerização do PyCOOH . A Figura 39 mostra o comportamento voltamétrico observado durante a formação do filme de polipirrol, através de ciclagens sucessivas do eletrodo de carbono vítreo entre potenciais de $-1,0\text{ V}$ a $1,0\text{ V}$ vs Ag/AgCl , imerso em $0,25\text{ mol.L}^{-1}$ de PyCOOH e $1,0\text{ mmol.L}^{-1}$ da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em $\text{DMF/PTBA } 0,10\text{ mol.L}^{-1}$.

Figura 39: Voltamograma cíclico representativo da formação do filme durante ciclagem sucessiva do eletrodo de carbono vítreo em $0,25\text{ mol.L}^{-1}$ de PyCOOH e $1,0\text{ mmol.L}^{-1}$ da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em $\text{DMF/PTBA } 0,10\text{ mol.L}^{-1}$, $v = 100\text{ mV.s}^{-1}$ (100 ciclos).

Os voltamogramas exibem o crescimento de um pico em potencial ao redor de $-0,36\text{ V}$ e um pequeno par de picos ao redor de $0,15\text{ V}$, cuja intensidade aumenta até 100 ciclos, permanecendo constante em ciclagens posteriores.

Após a polimerização do PyCOOH com a $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$, o mesmo foi transferido para célula contendo apenas DMF/PTBA $0,10\text{ mol.L}^{-1}$ sob velocidade de varredura de 100 mV.s^{-1} , e o voltamograma cíclico obtido é mostrado na Figura 40. Através da comparação com as Figuras 35 e 38, referentes à redução da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$, concluiu-se que este par de picos corresponde ao processo Mn(III)P/Mn(II)P , que é imobilizado e reduzido irreversivelmente no filme via depósito sucessivo da MnP. A região de potencial investigada não envolve os outros picos correspondentes à redução do anel, que ocorre em potenciais mais negativos.

A seguir investigou-se a possibilidade de regeneração do filme após a primeira varredura de potencial, registrando-se voltamogramas cíclicos sucessivos para o eletrodo modificado por PyCOOH/ $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em DMF/PTBA $0,10\text{ mol.L}^{-1}$. Os valores das correntes de pico, obtidos após várias repetições (50 ciclos) foram semelhantes e o deslocamento de potencial foi negligenciável. O coeficiente de variação de corrente entre as medidas é igual a $4,0\%$. Este comportamento indica que o eletrodo de carbono vítreo modificado com filmes de PyCOOH/ $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ apresenta suficiente estabilidade para ser usado para fins analíticos.

Figura 40: Voltamograma cíclico correspondente à redução do filme de $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ de PyCOOH e $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$ da $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

IV – 12 Interação do corante vermelho reativo 120 com o filme de pirrol-2-carboxi-ácido/ $[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$

Como discutido previamente, o corante RR120 é muito empregado na indústria têxtil para tinturas de algodão e seda. Apesar de apresentar dois grupos azos como cromóforo e dois grupos diclorotriazina como grupos reativos, não apresenta nenhum pico de redução sobre eletrodo de carbono vítreo, provavelmente devido a sua estrutura planar complexa como mostra a Figura 41.

Figura 41: Estrutura molecular do corante reativo Procion Red HE-3B (RR120).

Por outro lado, é conhecido da literatura que estudos da interação entre estes corantes reativos e sistemas que mimetizam moléculas biológicas complexas é extremamente interessantes tanto para entender seus mecanismos de associação e

biodegradação como para o desenvolvimento de sensores específicos para sua determinação [Bechtold (1997); Guaratini (2001b); Guaratini (2002)].

Os resultados apresentados anteriormente mostram que eletrodos modificados por polipirrol/[Mn(T4MpyP)]⁵⁺ apresentam interação com o corante RR120, o qual pode ser catalicamente reduzido sobre estes eletrodos, embora nas condições experimentais investigadas apresente efeito limitado na corrente de pico, impedindo o seu uso para monitoramento em baixos níveis de concentração de corante.

Deste modo, investigou-se nesta etapa a redução do corante RR120 sobre eletrodos de carbono vítreo modificados por filmes de PyCOOH/Mn(T2APP)Cl. Com este objetivo, eletrodos modificados por filmes de PyCOOH/Mn(T2APP)Cl foram submetidos à reação com corante RR120, imergindo diretamente o eletrodo modificado em solução 1.10^{-4} mol.L⁻¹ do corante em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹.

Os voltamogramas cíclicos obtidos antes e após a presença de 1.10^{-6} mol.L⁻¹ do corante são mostrados nas curvas a e b da Figura 42.

Figura 42: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de carbono vítreo modificado por filme de pirrol-2-carboxi-ácido e [Mn(T2APP)]Cl em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹. Curva (a): eletrólito suporte; Curva(b) $1,0.10^{-6}$ mol.L⁻¹ do corante RR120.

Observa-se um intenso aumento da corrente catódica, sugerindo interação eletrocatalítica como a anteriormente discutida para filmes de

polipirrol/[Mn(T4MpyP)]⁵⁺. Além disso, observa-se que, na presença do corante RR120, há uma mudança na reversibilidade do processo, não observada anteriormente para a redução de Mn(III)/Mn(II) em filmes de PyCOOH ou para redução da [Mn(T2APP)]Cl em solução. O processo eletrocatalítico envolvendo o corante e os íons Mn(III)/Mn(II) no filme suprimem possíveis reações paralelas que consomem o produto gerado (Mn II) em outras condições experimentais em que o corante não está presente.

Os eletrodos modificados por filmes de PyCOOH/[Mn(T2APP)]Cl e carregados com o corante RR120 (15 ciclos) foram, a seguir, transferidos para solução contendo apenas DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, e os voltamogramas sucessivos assim obtidos são mostrados na Figura 43. Esta Figura mostra a ocorrência do pico em potencial de - 0,38 V, correspondente à redução do filme. Entretanto, a reversibilidade do processo sugere a presença do grupo azo no corante, uma vez que o comportamento voltamétrico é semelhante aquele observado previamente para o filme na presença do corante RR120, indicando que o filme carregado de PyCOOH/[Mn(T2APP)]Cl, além da interação eletrocatalítica em solução, também pode reter o corante, possivelmente por interação eletrostática.

Figura 43: Voltamogramas cíclicos com varredura sucessiva para eletrodos modificados por PyCOOH/[Mn(T2APP)]Cl carregados com 1,0.10⁻⁶ mol.L⁻¹ de corante RR120 em DMF/PTBA 0,10 mol.L⁻¹, $v=100 \text{ mV.s}^{-1}$.

A Figura 43 também mostra que, com exceção da primeira varredura, não se observa nenhuma modificação importante nas correntes de pico catódicas ou anódicas, demonstrando a boa estabilidade do sinal nestas condições experimentais.

O efeito da variação da velocidade de varredura (v) entre 10 a 200 mV.s^{-1} foi investigado. O gráfico de i vs $v^{1/2}$ é linear de acordo com a equação: $I_p = 2,687 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2}$ onde, n = número de elétrons, D = coeficiente de difusão, A = área do eletrodo e C = concentração, mostrando que o processo é controlado pela difusão do corante através do filme de $\text{PyCOOH}/[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ como mostra a Figura 44.

Figura 44: Influência da raiz quadrada da velocidade de varredura sobre a corrente de pico catódico obtida de voltamogramas cíclicos para redução do corante RR120 sobre eletrodo modificado por filme de $\text{PyCOOH}/[\text{Mn}(\text{T2APP})]\text{Cl}$ em $\text{DMF/PTBA } 0,10 \text{ mol.L}^{-1}$.

Investigou-se também a resposta do corante sobre o filme formado em diferentes concentrações do mesmo, os voltamogramas são mostrados na Figura 45. Observa-se que a resposta voltamétrica correspondente ao par $\text{Mn(III)}/\text{Mn(II)}$ incorporado no filme de PyCOOH aumenta em função da concentração do corante RR120 até concentração máxima de $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

Figura 45: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo modificado por PyCOOH/MnP na ausência (curva a) e presença (curva b) de: $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$; (c) $1,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$; (d) $5,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$; (e) $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$; (f) $5,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de corante RR120 em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

Curvas analíticas para o corante foram obtidas utilizando-se imersão direta do eletrodo modificado por filmes de PyCOOH/[Mn(T2APP)]Cl em soluções do corante no intervalo de concentrações de $1,0 \cdot 10^{-6}$ a $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Os resultados são mostrados na Figura 46.

Figura 46: Curva analítica obtida através de valores médios de corrente obtidos para voltamogramas cíclicos da redução do corante RR120 sobre eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de PyCOOH/[Mn(T2APP)]Cl em DMF/PTBA $0,10 \text{ mol.L}^{-1}$, $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

O gráfico apresenta relações lineares apenas em concentrações de corante menores que $8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Acima desta concentração as correntes apresentam valores aproximadamente constantes, indicando efeito de saturação da superfície do eletrodo, sugerindo que o processo eletrocatalítico é limitado provavelmente pela disponibilidade dos sítios ativos da mangânêsporfirina no filme de PyCOOH. Em baixas concentrações (curva a, Figura 45) a corrente é proporcional à concentração do corante segundo a equação: $I_p (\mu\text{A}) = 5,5 + 1,0 \cdot 10^5 \cdot C (\text{mol.L}^{-1})$; $r = 0,995$. Os resultados mostram que o eletrodo modificado apresenta grande sensibilidade para o corante, com limite de detecção de $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$, obtidos através de análise estatística envolvendo $3 \times p / \eta$ (p = desvio padrão do branco e η = inclinação da curva i_p vs C).

Os resultados obtidos demonstram que o eletrodo de carbono vítreo modificado por filmes de polipirrol/metaloportirina podem ser uma alternativa eficiente como sistemas miméticos para avaliar a possível redução do corante por moléculas mais complexas. Além disso, embora os resultados sejam preliminares, é possível observar que sensores eletroquímicos baseados nestes filmes oferecem um método sensível, rápido, versátil e confiável para o monitoramento do corante em solução aquosa, através da redução eletrocatalítica do corante via redução do metal Mn(III)/Mn(II) da [Mn(T2APP)]Cl incorporada em filmes de polipirrol.

Neste trabalho utilizou-se duas estratégias para a preparação de eletrodos quimicamente modificados com metaloporfirinas, visando a obtenção de catalisadores estáveis e seletivos para a eletroredução e/ou eletrooxidação de substratos orgânicos, exemplificados com o corante têxtil RR120.

A primeira estratégia envolveu a pré-eletropolimerização de pirrol sobre eletrodo de carbono vítreo, seguida da adsorção de uma manganêsporfirina catiônica, a $[Mn(TMpyP4)]^{5+}$. Esta se mostrou uma técnica adequada para preparação de eletrodos quimicamente modificados com metaloporfirinas catiônicas, uma vez que a manganês porfirina é fortemente retida na superfície do eletrodo pela interação eletrostática com o ânion fosfato, utilizado como contra-íon na formação do filme. O eletrodo é caracterizado pelo processo redox atribuído ao par $Mn(III)/Mn(II)$, e mostrou-se bastante estável, com um decréscimo na intensidade de corrente de apenas 5 % após 10 ciclos, e 12 % após 30 ciclos ininterruptos. Estudos visando a aplicação deste eletrodo para redução catalítica do corante RR120 nos filmes da MnP indicaram que, embora existam interações entre o metal da MnP e sítios ativos do corante, a relação entre corrente e concentração de corante é muito pequena, o que torna o método analiticamente pouco sensível para determinação do mesmo. Provavelmente este fato é devido à disponibilidade limitada de manganêsporfirina, que se mantém apenas na superfície do eletrodo.

A segunda estratégia de preparação de eletrodos quimicamente modificados com metaloporfirinas envolveu a polimerização direta do pirrol-2-carboxi-ácido na presença de uma manganêsporfirina tetra-aminosubstituída, a $[Mn(TAPP2)]Cl$. Os resultados mostraram que a $[Mn(TAPP2)]Cl$ é inserida durante a polimerização do pirrol-2-carboxi-ácido, resultando em um filme estável, o qual apresentou um coeficiente de variação de corrente de 4% entre as medidas.

Estudos de interação entre este filme e o corante RR120 mostraram que a relação entre corrente e concentração observada para a redução catalítica do corante no filme é satisfatória, tornando o método sensível para determinação do mesmo. Embora os resultados sejam preliminares, é possível observar que sensores eletroquímicos baseados nestes filmes oferecem um método sensível, rápido, versátil e confiável para o monitoramento do corante em solução aquosa, através da redução eletrocatalítica do mesmo via redução do metal Mn(III)/Mn(II) da [Mn(TAPP2)]Cl incorporada nos filmes de polipirrol.

Analisados em conjunto os resultados mostram que eletrodos de carbono vítreo,

modificados por filmes de polipirrol/metaloportirinas comerciais, podem ser uma alternativa eficiente como sistemas miméticos de moléculas mais complexas para avaliar o comportamento redox do corante RR120 e, provavelmente, de outros substratos orgânicos. Técnicas de preparação do eletrodo que permitem a incorporação da metaloportirina durante o crescimento do filme são mais eficientes uma vez que levam à maior concentração do metal ativo no filme e, conseqüentemente à melhor resposta eletrocatalítica. No entanto, a estratégia de preparação do eletrodo dependerá da metaloportirina utilizada.

ADLER, D.A.; LONGO, F.R.; SHERGALIS, W. Mechanistic Investigations of Porphyrin Syntheses. I. Preliminary Studies on ms-Tetraphenylporphin. J. American Chemical Society, v.86, n.15, p.3145-3149, 1964.

AMINI, M.K.; et al. Cobalt(II) salophen-modified carbon-paste electrode for potentiometric and voltammetric determination of cysteine. Analytical Biochemistry, v.320, n.1, p. 32-38, 2003.

ARRIGAN, D.W.M. Voltametric determination of trace metals and organics after accumulation at modified electrodes. Analyst, v.119, p.1953-1966, 1994.

BALLARIN, B. et al. Modification of electrodes with porphyrin-functionalised conductive polymers. J. Electroanalytical Chemistry, v. 449, p.173-180, 1998.

BARD, A.J.; FAULKNER, L.R. Electrochemical Methods. New York:John Wiley & Sons, 1980, 718p.

BARTLETT, P.N.; COOPER, J. Applications of electroactive polymers in bioelectrochemistry and bioelectronic. In: LYONS, M.E.G. Electroactive polymer electrochemistry-part 2. New York: Plenum Press, 1996, cap.9.

BAUMGARTEL, H.; RETZLAV, K.J. Heteroaromatic compounds. In: BARD, A.J.; LUND, H. Encyclopedia of electrochemistry of the elements. New York:Marcel Dekker, 1973, v.XV, cap.2, p.167-317.

BECHTOLD, T.; et al. Cyclic voltametric study of anthraquinone-2-sulfonate in the presence of acid yellow 9. Electrochimica Acta, v.43, n.23-24, p.3483-3487, 1997.

BEDIOUI, F.; DEVYNCK, J.; BIED-CHARRETON, C. Electropolymerized manganese porphyrin films as catalytic electrode materials for biomimetic oxidations with molecular oxygen. J. Molecular Catalysis, v.113, p.3-11, 1996.

BEDIOUI, F.; DEVYNCK, J.; BIED-CHARRETON, C. Immobilization of metalloporphyrins in electropolymerized films: Design and applications. *Accounts Chemical Research*, v.28, p.30-36, 1995.

BEDIOUI, F.; et al. Design and characterization of chemically modified electrodes with iron(III) porphyrinic-based polymers: Study of their reactivity toward nitrites and nitric oxide in aqueous solution. *Analytica Chimica Acta*, v.341, p.177-185, 1997.

BENNETT, J. E.; et al. Conductive polymeric films of tetrakis[2,2]-para-cyclophanyl-metalloporphyrins – spectroelectrochemistry and catalytic properties. *Inorganica Chimica Acta*, v.271, p.167-173, 1998.

BERGER, N.C.; SLIGAR, S.G. Catalytic mechanism of cytochrome P-450: evidence for a distal charge relay. *J. American Chemical Society*, v.114, n.22, p. 8742-8743, 1992.

BETTELHEIM, A.; KUWANA, T. Rotating ring-disc analysis of iron tetra(n-methylpyridyl)porphyrin in electrocatalysis of oxygen. *Analytical Chemistry*, v.51, n.13, p.2257-2260, 1979.

BIESAGA, M.; PYRZYNSKA, K.; TROJANOWICZ, M. Porphyrins in analytical chemistry. A review. *Talanta*, v.51, p.209-224, 2000.

BOUCHER, L.J. Manganese porphyrin complexes. *Coordination Chemistry Reviews*, v.7, n.3, p.289-329, 1972.

BRETT, A M. O; BRETT, C. M. A Eletroquímica. Princípios, métodos, e aplicações. Coimbra: Livraria Almeida, 1996, 470p.

CAEMELBECKE, E.V.; KUTNER, W.; KADISH, K.M. Electrochemical and spectroelectrochemical characterization of (5,10,15,20-tetrakis(1-methyl-4-pyridyl)porphinato)manganese(III) chloride, $[(\text{TMpyP})\text{Mn}^{\text{III}}\text{Cl}]^{4+}(\text{Cl})_4$, in dimethylformamide. *Inorganic Chemistry*, v.32, p.438-444, 1993.

CASTRO, S.S.L. Estudo do desenvolvimento de sensores amperométricos utilizando eletrodos quimicamente modificados com hexacianoferrato de metais. 2000. 124f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara.

CASTRO, S.S.L.; et al. Flow injection amperometric detection of ascorbic acid using a Prussian Blue film-modified electrode, *Talanta*, v.55, n.2, p.249-254, 2001.

CAUQUIS, G.; et al. Poly(pyrrole-manganese porphyrin): a catalytic electrode material as a model system for olefin epoxidation and drug metabolism with molecular oxygen. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.352, p.181-195, 1993.

COSNIER, S. et al. Poly(pyrrole-metallodeuteroporphyrin)electrodes: towards electrochemical biomimetic devices. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.488, n.2, p.83-91, 2000.

CUNNINGHAM, I.D., et al. Evidence for parallel destructive, and competitive epoxidation and dismutation pathways in metalloporphyrin-catalysed alkene oxidation by hydrogen peroxide. *Tetrahedron*, v.57,n. 31, p.6847-6853, 2001.

CUNNINGHAM, I.D., et al. Stability of various metalloporphyrin catalysts during hydrogen peroxide epoxidation of alkene. *J. Molecular Catalysis A*, v.185, p.25-31, 2002.

CURRAN, D.; GRIMSHAW, J.; PERERA, S.D. Poly(pyrrole) as a support for electrocatalytic materials. *Chemical Society Review*, v.20, p.391-404, 1991.

DAI, S.; et al. Bioanalytical applications of polyion-sensitive electrodes. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.19, n.1-2, p.1-14, 1999.

DAVORAS, E.M.; COUTSOLELOS, A.G. Efficient biomimetic catalytic epoxidation of polyene polymers by manganese porphyrins. *J. Inorganic Biochemistry*, v. 94, n.1-2 , p.161–170, 2003.

DERONZIER, A.; DEVAUX, R.; LIMOSIN, D. Poly(pyrrole-metallotetraphenylporphyrin) –

modified electrodes. J. Electroanalytical Chemistry, v.324, p.325-337, 1992.

DERONZIER, A.; LATOUR, J. A poly(pyrrole-nickel(II) pyridiniumporphyrin) – modified electrode. J. Electroanalytical Chemistry, v.224, p.295-301, 1987.

DERONZIER, A.; MOUTET, J. Polypyrrole films containing metal complexes: syntheses and applications. Coordination Chemistry Reviews, v.147, p.339-371, 1996.

DIAB, N.; SCHUHMANN, W. Electropolymerized manganese porphyrin/polypyrrole films as catalytic surfaces for the oxidation of nitric oxide. Electrochimica Acta, v.47, p.265-273, 2001.

DOLPHIN, D.; TRAYLOR, T. G; XIE, L. Y. Polyhaloporphyrins: unusual ligands for metals and metal-catalyzed oxidations. Accounts Chemical Research, v.30, p.251-259, 1997.

DOVIDAUSKAS, S.; et al. (5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphinato)manganese(III) acetate modified by four μ_3 -oxo-triruthenium acetate clusters: synthesis, characterization, electrochemical behavior and catalytic activity. Inorganica Chimica Acta, v.305, p.206-213, 2000.

ELVING, P.J.; et al. Electrochemical reduction of purine, pyrimidine, and imidazole in aqueous media. Kinetics and mechanisms. J. American Chemical Society, v.95, n.3, p.647-658, 1973.

FAJER, J.; et al. π -cation radicals and dications of metalloporphyrins. J. American Chemical Society, v.92, n.11, p.3451-3458, 1970.

FALK, J.E. Porphyrins and Metalloporphyrins. New York: Elsevier Scientific Publishing Company, 1964, 266p.

FEDURCO, M. Redox reactions of heme-containing metalloproteins: dynamic effects of self-assembled monolayers on thermodynamics and kinetics of cytochrome c electron-transfer reactions, Coordination Chemistry Reviews, v.209, n.1, p.263-331, 2000.

FRY, A. J. Synthetic Organic Electrochemistry. New York: John Wiley & Sons, 1989, 338p.

FUHRHOP, J.H. Reversible reactions of porphyrins and metalloporphyrins and electrochemistry. In: SMITH, K.; Porphyrins and metalloporphyrins. New York, Elsevier Scientific Publishing Company, 1975, cap.14, p.593-620.

FUNGARO, D.A.; BRETT, C.M.A. Eletrodos modificados com polímeros perfluorados e sulfonados: aplicações em análises ambientais. Química Nova, v.23, n.6, 2000.

GE, B.; LISDAT, F. Superoxide sensor based on cytochrome c immobilized on mixed-thiol SAM with a new calibration method. Analytica Chimica Acta, v.454, n. 1, p. 53-64, 2002.

GOUTERMAN, M. Optical spectra and electronic structure of porphyrins and related rings. In: DOLPHIN, D. The porphyrins. New York: Academic Press, 1978, v.3, cap.1, p.62-65.

GROVES, J.T.; SMITH, K.M.; GUILARD, R. Oxometalloporphyrins in oxidative catalysis. In: KADISH, K.M.; SMITH, K.M.; GUILARD, R. The porphyrins handbook, New York: Academic Press, 2000, v.4, cap.27, p.17-40.

GUARATINI, C.C.I.; FOGG, A.G.; ZANONI, M.V.B. Assessment of the application of cathodic stripping voltammetry to the analysis of diazo reactive dyes and their hydrolysis products. Dyes and Pigments, v.50, p.211-221, 2001b.

GUARATINI, C.C.I.; FOGG, A.G.; ZANONI, M.V.B. Cathodic stripping voltammetric detection and determination at a hanging mercury-drop electrode of dye contaminants in purified biomaterial: study of the human serum albumin and reactive dye 120 system. Microchemical Journal, v.71, p.65-72, 2002.

GUARATINI, C.C.I.; FOGG, A.G.; ZANONI, M.V.B. Studies of the voltammetric behavior and determination of diazo reactive dyes at mercury electrode. Electroanalysis, v.13, n.18, p.1535-1543, 2001a.

GUARATINI, C.C.I.; ZANONI, M.V.B. Corantes têxteis, Química Nova, v.23, n.1, p.71-78, 2000.

GUNTER, M.; TURNER, P. The role of the axial ligand in meso-tetraarylmetalloporphyrin models of the P-450 cytochromes. J. Molecular Catalysis, v.66, n.1, p.121-141, 1991.

GUO, C.; PENG, et al. Selective oxidation of ethylbenzene with air catalyzed by simple μ -oxo dimeric metalloporphyrins under mild conditions in the absence of additives. J. Molecular Catalysis A, v.192, n.1-2, p.295-302, 2003.

GUO, C.; et al. Effective catalysis of simple metalloporphyrins for cyclohexane oxidation with air in the absence of additives and solvents. Applied Catalysis A, v. 246, n.2, p.303-309, 2003.

HAGER, M. et al. Oxidation of azo dyes in oil-in-water microemulsions catalyzed by metalloporphyrins in presence of lipophilic acids. Colloids and surfaces A, v.183-185, p.247-257, 2001.

HALKIER, B.A. Catalytic reactivities and structure/function relationships of cytochrome P450 enzymes. Phytochemistry, v.43, n.1, p.1-21, 1996.

HANKS, T. W.; BERGMAN B.; DILLON, P. Design and synthesis of porphyrin-containing arrays on polypyrrole surfaces. Synthetic metals, v.121, p.1431-1432, 2001.

HOSONO, K.; et al. Structure and properties of plasma polymerized and 4-ethylbenzenesulfonic acid-doped polypyrrole films. Thin Solid Films, v. 441, n. 1-2, p. 72-75, 2003.

IGNATOV, S.; et al. Amperometric biosensor based on a functionalized gold electrode for the detection of antioxidants. Biosensors and Bioelectronics, v.17, n. 3, p.191-199, 2002.

ITAYA, K.; UCHIDA, I.; NEFF, V.D. Electrochemistry of polynuclear transition metal cyanides: Prussian blue and its analogues. Accounts Chemical Research, v.19, n.6, p.162-168, 1986.

JEGO-EVANNO, P.; MOINET, C.; SIMONNEAUX, G. Catalytic epoxidation of styrene

with molecular oxygen in a flow cell with a manganese porphyrin-modified graphite felt cathode. *Comptes Rendus de l' Académie des Sciences - Series IIC - Chemistry*, v.3, n.9, p.711-716, 2000.

JISRAWI, N.; et al. Metalloporphyrin/polysiloxane modified n-GaAs surfaces: effect on photoelectrochemical efficiency and surface stability, *J. Electroanalytical Chemistry*, v.527, n.1-2, p.47-55, 2002.

KADISH et al. Electrochemistry of metalloporphyrins in nonaqueous media. In: KADISH, K.M.; SMITH, K.M; GUILARD, R. *The porphyrins handbook*, New York: Academic Press, 2000a, v.8, cap.55, p.3-10.

KADISH et al. Metalloporphyrins in nonaqueous media: database of redox potentials. In: KADISH, K.M.; SMITH, K.M; GUILARD, R. *The porphyrins handbook*, New York: Academic Press, 2000b, v.9, cap.59, p.134.

KADISH, K.M.; et al. Electrochemical and spectral characterization of copper, zinc and vanadyl meso-tetrakis(1-methylpyridinium-4-yl)porphyrin complexes in dimethylformamide. *Inorganic Chemistry*, v.28, p.2528-2533, 1989.

KAUFFMANN, J.M.; GUILBAULT, G.G., *Bioanalytical Applications of Enzymes*, Wiley: New York, v.36, 1992.

KHORASANI, J.H.; et al. Manganese porphyrin derivatives as ionophores for thiocyanate-selective electrodes: the influence of porphyrin substituents and additives on the response properties. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v.87, n.3, p.448-456, 2002.

KUNZ, A. et al. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. *Química Nova*, v.25, n.1, p.78-82, 2002.

IABRUÑA, H.D. Coordination chemistry in two dimensions: chemically modified electrodes. *Coordination Chemistry Reviews*, v.86, p.135-189, 1988.

LI, Z.; XIA, C. Epoxidation of olefins catalyzed by manganese(III) porphyrin in a room temperature ionic liquid. *Tetrahedron Letters*, v.44, n.10 , p.2069-2071, 2003.

LIU, J.; et al. Oxidation of styrene by various oxidations with different kinds of metalloporphyrins. *J. Molecular Catalysis A*, v.187, p.163-167, 2002.

LUND, H. Electrolysis of heterocyclic compounds. In: BAIZER, M.M; LUND, H. *Organic Electrochemistry*. New York:Marcel Dekker, 1983, 2^a ed., cap. 18, p.533-577.

MALINOWSKA, E.; et al. Salicylate-selective membrane electrodes based on Sn(IV)- and O=Mo(V)-porphyrins: differences in response mechanism and analytical performance. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.514, n. 1-2, p.109-117, 2001.

MALINOWSKA, E.; et al. Zirconium(IV)-porphyrins as novel ionophores for fluoride-selective polymeric membrane electrodes. *Analytica Chimica Acta*, v.468, n.1, p.133-141, 2002.

MANRIQUEZ, J. et al. Electrocatalysis of the oxidation of alcohol and phenol derivative pollutants at vitreous carbon electrode coated by nickel macrocyclic complex-based films. *Analytica Chimica Acta*, v.378, p.159-168, 1999.

MANSUY, D. Activation of alkanes : the biomimetic approach. *Coordination Chemistry Reviews*, v. 125, n.1-2, p.129-142, 1993.

MANSUY, D.; BATTIONI, J.P. Chemical model systems for drug-metabolizing cytochrome-P-450-dependent monooxygenases. *European Journal Biochemistry*, v.184, p.267-285, 1989.

MANSUY, D.; BATTIONI, P. Cytochrome P450 model systems. In: SHELDON, R. A. *Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations*. New York:Marcel Dekker, 1994. cap.4, p.99-125.

MANSUY, D.; BATTIONI, P. Diversity of reactions catalyzed by heme-thiolate proteins. In: KADISH, K.M.; SMITH, K.M.; GUILARD, R. *The porphyrins handbook*, New York:

Academic Press, 2000, v.4, cap.26, p.1-14.

MESÁROS, S.; et al. Determination of nitric oxide saturated (stock) solution by chronoamperometry on a porphyrine microelectrode. *Analytica Chimica Acta*, v.339, p.265-270, 1997.

MEUNIER, B. Metalloporphyrins as versatile catalysts for oxidation reactions and oxidative DNA cleavage. *Chemical Reviews*, v.92, n.6, p.1411-1456, 1992.

MILGROM, L. R. *The colours of life*. New York: Oxford University Press, 1997, 248p.

MOHAJER, D.; REZAEIFARD, A. Efficient oxygenation of hydrocarbons with tetrabutylammonium monopersulfate catalyzed by manganese meso-tetraphenylporphyrin in the presence of imidazole. *Tetrahedron Letters*, v.43, n.10, p.1881-1884, 2002.

MOISY, P.; et al. Epoxidation of cis-cyclooctene by molecular oxygen electrocatalysed by polypyrrole-manganese porphyrin film modified electrodes. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.250, n. 1, p. 191-199, 1988.

MONTELLANO, P.R.O. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism and Biochemistry*. 2.ed. New York: Plenum Press, 1986. 556p.

MOSES, P.R.; WIER, L.; MURRAY, R.W. Chemically modified tin oxide electrode. *Analytical Chemistry*, v.47, p.1882-1886, 1975.

MOUAHID, O.E. et al. Electrocatalytic reduction of dioxygen at macrocycle conducting polymer electrodes in acid media. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.426, p.117-123, 1997.

NAGY, G.; et al. Ion exchange and transport of neurotransmitters in Nafion films on conventional and microelectrode surfaces. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.189, n.1, p.85-94, 1985.

NAKAMURA, T.; et al. NO_x decomposition mechanism on the electrodes of a zirconia-based amperometric NO_x sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v.93, n.1-3, p.214-220, 2003.

NELSON; D.R. et al. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. *Pharmacogenetics*, v.6, p.1-42, 1996.

NERI, B.P.; WILSON, G.S. Electrochemical reduction of some tetrapyrrolylporphyrins. *Analytical Chemistry*, v.45, n.3, p.442-445, 1973.

NERI, B.P.; WILSON, G.S. Electrochemical studies of meso-tetra(4-n-methylpyridyl)porphyrin in acid solution. *Analytical Chemistry*, v.44, n.6, p.1002-1009, 1972.

NEWCOMB, M. et al. Cytochrome P450- catalyzed hydroxylation of mechanistic probes that distinguish between radicals and cations. Evidence for cationic but not for radical intermediates. *J. American Chemical Society*, v.122, .12, 2000, p.2678-2686.

OCHIAI, E. *Química Bioinorgânica*. Barcelona: Editorial Reverté, 1985, p. 81-100.

OH, K. et al. The potentiometric behavior of polymer supported metalloporphyrins as anion-selective electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, v.506, p.42-47, 2001.

OLIVEIRA, M.F.; MORTIMER, R.J.; STRADIOTTO, N.R. Voltammetric determination of persulfate anions using an electrode modified with a Prussian blue film, *Microchemical Journal*, v.64, n.2, p.155-159, 2000.

ONI, J. et al. Detection of NO release from endothelial cells using Pt micro electrodes modified with a pyrrole-functionalised Mn(II) porphyrin. *Electrochimica Acta*, v.48, n.20-22, p.3349-3354, 2003.

PATEL, H.; LI, X.; KARAN, H.I. Amperometric glucose sensors based on ferrocene containing polymeric electron transfer systems—a preliminary report. *Biosensors and Bioelectronics*, v.18, n.8, p.1073-1076, 2003.

PEREIRA, F.C.; FOGG, A.G.; ZANONI, M.V.B. Regeneration of poly-lysine modified

carbon electrodes in the accumulation and cathodic stripping voltammetric determination of the cromoglycate anion, *Talanta*, v.60, n. 5, p.1023-1032, 2003.

PIANTADOSI, C.A.; ALLEN, B.W. Electrochemical activation of electrodes for amperometric detection of nitric oxide, *Nitric Oxide*, v.8, n.4, p.243-252, 2003.

RAGEHY, N.A.; et al. Polymeric membrane electrodes for selective determination of the central nervous system acting drugs fluphenazine hydrochloride and nortriptyline hydrochloride. *Analytica Chimica Acta*, v. 418, n.1, p.93-100, 2000.

RESS, N.B.; et al. Micronucleus induction in mice exposed to diazoaminobenzene or its metabolites, benzene and aniline: implications for diazoaminobenzene carcinogenicity. *Mutation Research*, v.521, p.201–208, 2002.

RICCI, F.; et al. Prussian Blue based screen printed biosensors with improved characteristics of long-term lifetime and pH stability. *Biosensors and Bioelectronics*, v.18, n.2-3, p.165-174, 2003.

ROCHA, J.R.C. et al. Amperometric detection of nitrite and nitrate at tetra-ruthenated porphyrin-modified electrodes in a continuous-flow assembly. *Analytica Chimica Acta*, v.452, n.2, p.23–28, 2002.

RUBINSTEIN, I. The influence of the polymer structure on electrochemical properties of uncharged molecules in nafion films on electrodes, *J. Electroanalytical Chemistry*, v.189, n.1, p. 227-244, 1985.

SACCO, H.C. Atividade catalítica de manganêsporfirinas em sistemas homogêneos e heterogêneos. 1999. 171f. Tese (Doutorado em Química, Área: Química Inorgânica) – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Araraquara.

SASSO, S.V.; et al. Electropolymerized 1,2-diaminobenzene as a means to prevent interferences and fouling and to stabilize immobilized enzyme in electrochemical biosensors. *Analytical Chemistry*, v.62, n.11, p.1111-1117, 1990.

SCHIAVON, M. A. et al. Catalytic activity of nitro- and carboxy- substituted iron

porphyrins in hydrocarbon oxidation homogeneous solution and supported systems. J. Molecular Catalysis A, v.174, p.213-222, 2001.

SCHIAVON, M.A. Estudo de ferroporfirinas nitro e carboxi substituídas: síntese, caracterização e atividade catalítica na oxidação de hidrocarbonetos. 1998. 122f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área: Química) – Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SCOTT, J.G. Cytochromes P450 and insecticide resistance. Insect Biochemistry and Molecular Biology, v.29, n.9, p.757-777, 1999.

SHAMSIPUR, M.; et al. Polymeric membrane and coated graphite samarium(III)-selective electrodes based on isopropyl 2-[(isopropoxycarbothioyl)disulfanyl]ethanethioate. *Analytica Chimica Acta*, v. 486, n.1, p. 93-99, 2003a.

SHAMSIPUR, M; et al. Perchlorate selective membrane electrodes based on a phosphorus(V)–tetraphenylporphyrin complex. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v.89, n.1-2, p. 9-14, 2003b.

SHELDON, R.A. Metalloporphyrins in Catalytic Oxidations. New York: R.A.Sheldon, 1994, p.

SHUMYANTSEVA, V.V.; et al. Construction and characterization of bioelectrocatalytic sensors based on cytochromes P450. *J. Inorganic Biochemistry*, v.87, n. 4, p. 185-190, 2001.

SMITH, K. Porphyrins and metalloporphyrins. New York: Elsevier Scientific Publishing Company, 1975, p.34-160.

SOUTHAMPTON E.G. Potencial sweep techniques and cyclic voltammetry. In: *Instrumental methods in electrochemistry*. England: Ellis Horwood Limited, 1985. cap.6, p. 178-227.

STONE, C.G.; CARDOSI, M.F.; DAVIS, J. A mechanistic evaluation of the amperometric response of reduced thiols in quinone mediated systems. *Analytica Chimica Acta*, v.491,

n.2, p.203-210, 2003.

STRADINS, J.P.; GLEZER, V.T. Azo, azoxy, and diazo compounds. In: BARD, A.J.; LUND, H. Encyclopedia of electrochemistry of the elements. New York:Marcel Dekker, 1973, v.XIII, cap.4, p.164-202.

SUN, C.; et al. Fabrication of a multilayer film electrode containing porphyrin and its application as a potentiometric sensor of iodide ion. *Talanta*, v.46, p.15-21, 1998.

TAKASHIMA, W.; PANDEY, S.S.; KANETO, K. Cyclic voltammetric and electrochemomechanical characteristics of freestanding polypyrrole films in diluted media. *Thin Solid Films*, v.438-439, p.339-345, 2003.

TANG, W.Z.; CHEN, R.Z. Decolorization kinetics and mechanisms of commercial dyes by H₂O₂/iron powder system. *Chemosphere*, v.32, n.5, 947-958, 1996.

VINHADO, F.S.; et al. Supported iron(III) porphyrins pentafluorophenyl-derivatives as catalysts in epoxidation reactions by H₂O₂: the role of the silica-support and sulfonatophenyl residues in the activation of the bond. *J. Molecular Catalysis A*, v.188, p.141-151, 2002.

VOLF, R; et al. Potentiometric anion response of poly(5,15-bis(2-aminophenyl) porphyrin) electropolymerized electrodes. *Analytica Chimica Acta*, v.381, p.197-205, 1999.

WANG, J.; LU, Z. Highly stable phospholipid/cholesterol electrode coatings for amperometric monitoring of hydrophobic substances in flowing streams. *Analytical Chemistry*, v.62, n.8, p.826-829, 1990.

WANG, S.; DU, D. Preparation and electrochemical properties of Keggin-type phosphomolybdic anions in electrostaticly linked L-cysteine self-assembled monolayers. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v.94, n.3, p.282-289, 2003.

WERCK-REICHHART, D.; HEHN, A.; DIDIERJEAN, L. Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. *Trends in Plant Science*, v.5, n.3, p.116-123, 2000.

YOON, I. J.; et al. Potentiometric behavior of metalloporphyrin-based ion-selective electrodes: Use of silicone rubber matrix for serum chloride analysis. *Analytica Chimica Acta*, v.367, p.175-181, 1998.

YUAN, Y.J.; ADELOJU, S.B.; WALLACE, G.G. In-situ electrochemical studies on the properties of polypyrrole in aqueous solutions. *European Polymer Journal*, v.35, p.1761-1772, 1999.

YUN, J.H.; et al. Electrochemical sensors for polyionic macromolecules: development and applications in pharmaceutical research. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v.2, n. 3, p.102-110, 1999.

ZBAIDA, S.; STODDART, A.M.; LEVINE, W.G. Studies on the mechanism of reduction of azo dye carcinogens by rat liver microsomal cytochrome P-450. *Chemico-Biological Interactions*, v.69, n.1,p.61-71, 1989.

ALLINGER, N.L. et al. Organic Chemistry, 2 Ed, Worth Publishers, Inc., New York, 1976, p.692.

AMINI, M. K.; SHAHROKHIAN, S.; TANGESTANINEJAD, S. Thiocyanate-selective based on nickel and iron phthalocyanines, *Analytica Chimica Acta*, v.402, p.137-143, 1999.

ANZENBACHER, P.J.; et al. Porphyrins covalently bound to polystyrene II. Na efficient model of monooxygenase reactivity. *J. Molecular Catalysis A*, v.118, p.63-68, 1997.

ARRIGAN, D.W.M; GRAY, D.S. Electrochemical study of electroactive reagent retention in overoxidised polypyrrole films. *Analytica Chimica Acta*, v.402, p.157-167, 1999.

BEDIOUI, F.; et al. Electrochemistry of conducting polypyrrole films containing cobalt porphyrin. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.297, p.257-269, 1991.

BEDIOUI, F.; et al. Incorporation of anionic metalloporphyrins into poly(pyrrole-alkylammonium) films-part2. Characterization of the reactivity of the iron (III) porphyrinic-based polymer. *Electrochimica Acta*, v.38, n.17, p.2485-2492, 1993.

BEDIOUI, F.; MERINO, A.; DEVYNCK, J. Poly(pyrrole-manganese tetraphenylporphyrin) film electrodes in acetonitrile solution. *J. Electroanalytical Chemistry*, v. 239, p.433-439, 1988.

BENNETT, J. E.; et al. Conductive polymeric films of tetrakis[2,2]-para-cyclophanyl-metalloporphyrins – spectroelectrochemistry and catalytic properties. *Inorganica Chimica Acta*, v.271, p.167-173, 1998.

BETTELHEIM, A.; et al. Electrochemical polymerization of amino-, pyrrole-, and hydroxy-substituted tetraphenylporphyrins. *Inorganic Chemistry*, v.26, p.1009-1017, 1987

BOTTGER, B. et al. Catalytic electrodeposition of silver on glassy carbon electrodes

modified with films of cobalt phthalocyanine. J. Electroanalytical Chemistry, v.432, p.139-144, 1997.

CHEN, C.; CHENG, S.; SU, Y.O. Electrocatalytic oxidation of styrene by a high valent ruthenium porphyrin cation radical. J. Electroanalytical Chemistry., v.487, p.51-56, 2000.

CISZEWSKI, A.; Milczarek, G. Electrocatalytic oxidation of alcohols on glassy carbon electrodes electrochemically modified by conductive polymeric nickel(II) tetrakis(3-methoxy-4-hydroxyphenyl) porphyrin film. J. Electroanalytical Chemistry, v.413, p.137-142, 1996.

D'SOUZA, F. Recent advances in the electrochemistry of porphyrins and phthalocyanines. J. Porphyrin Phthalocyanines, v.6, p.285-288, 2002.

DAUM, P. et al. Diffusional charge transport through ultrathin films of radio frequency plasma polymerized vinyl ferrocene at low temperature. J. American Chemical Society, v.102, p.4649-4653, 1980.

DRYHURST, G.; McALLISTER, D.L. A simple, rapid electrochemical method for the determination of oxalic acid. Analytica Chimica Acta, v.72, p.209-214, 1974.

ENSLEIN, K.; BORGSTEDT, H.H. A QSAR model for the estimation of carcinogenicity: example application to an azo-dye, Toxicology Letters, v.49, n. 2-3, p. 107-121, 1989.

FERREIRA, V.F.; et al. Recent advances in the synthesis of pyrroles. Organic Preparations and Procedures International, v.33, p.411-454, 2001.

GIRAUDEAU, A. et al. Electrosynthesis, electrochemistry, and crystal structure of the tetracationic Zn-meso-tetraridiniumyl- β -octaethylporphyrin. J. Porphyrins Phthalocyanines, v.5, p.793-797, 2001.

GONSALVES, A.M.R.; VAREJÃO, J.M.T.B.; PEREIRA, M.M. Some new aspects related to the syntheses of meso-substituted porphyrins. J. Heterocyclic Chemistry, v.28, p.635-640, 1991.

GRANADOS, S.G.; BEDIQUI, F.; DEVYNCK, J. Electroanalytical study of the activation of dioxygen in acetonitrile solution by manganese porphyrin films deposited onto carbon electrodes. *Electrochimica Acta*, v.38, n.13, p.1747-1751, 1993.

GROVES, J.T. Key elements of the chemistry of cytochrome P450. *J. Chemical Education*, v.62, p.928-931, 1985.

HINMAN, A.S.; et al. Oxidative voltammetry of some tetraphenylporphyrins in the presence of nucleophiles leading to isoporphyrins. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.234, p.145-162, 1987.

HORWITZ, C.P.; CREAGER, S.E.; MURRAY, R.W. Electrocatalytic olefin epoxidation using manganese Schiff-base complexes and dioxygen. *Inorganic Chemistry*, v.29, n.5, p.1006-1011, 1990.

HUANG, X.; KOK, W.T. Conductive carbon element as electrode matrix for cobalt phthalocyanine modified electrodes for detection in flowing solutions. *Analytica Chimica Acta*, v.273, p.245-253, 1993.

HUNGER, K. On the toxicology and metabolism of azo dyes. *Chimia*, v.48, p.520-522, 1994.

JUNG, R.; STEINLE, D.; ANLIKER, R. A compilation of genotoxicity and carcinogenicity data on aromatic aminosulphonic acids, *Food and Chemical Toxicology*, v.30, n.7, p.559-668, 1992.

KAARET, T.W.; ZHANG, G.H.; BRUCE, T.C. Electrochemistry and the dependence of potentials on pH of iron and manganese tetraphenylporphyrins in aqueous solution. *J. American Chemical Society*, v.113, p.4652-4656, 1991.

KERR, J.B.; MILLER, L.L.; MARK, M.R.V. A poly-p-nitrostyrene on platinum electrode. Polymer charging kinetics and electrocatalysis of organic dihalide reductions. *J. American Chemical Society*, v.102, p.3383-3390, 1980.

LEADBEATER, N.E.; MARCO, M. Preparation of polymer-supported ligands and metal

complexes for use in catalysis. Chemical Reviews, v.102, p.3217-3274, 2002.

LEDUC, P.; et al. A biomimetic electrochemical system for the oxidation of hydrocarbons by dioxygen catalyzed by manganese-porphyrins and imidazole. Tetrahedron Letters, v.29, n.2, p.205-208, 1988.

LEE, T.; SU, Y.O. Electrocatalytic oxygenation of alkenes by a sterically hindered water-soluble iron porphyrin in aqueous solutions. J. Electroanalytical Chemistry, v.414, p.69-73, 1996.

LENNOX, J. C.; MURRAY, R. W. Binding and reversible electrochemistry of tetra(aminophenyl)porphyrin on glassy carbon. J. Electroanalytical Chemistry, v.78, p.395-401, 1977.

LI, H.; GUARR, T.F. Electrocatalytic oxidation of oxalic acid at electrodes coated with polymeric metallophthalocyanines. J. Electroanalytical Chemistry, v.317, p.189-202, 1991.

LIU, J. Y.; et al. Comparative study on heme-containing enzyme-like catalytic activities of water-soluble metalloporphyrins. J. Molecular Catalysis A, v.179, p.27-33, 2002.

LIU, M.; SU, Y.O. Electrocatalytic oxidation of alkenes by water-soluble manganese porphyrins in aqueous media: a comparison of the reaction products at different oxidation states. J. Electroanalytical Chemistry, v.426, p.197-203, 1997.

MAREE, S. E.; NYOKONG, T. Syntheses and photochemical properties of octasubstituted phthalocyaninato zinc complexes. J. Porphyrins and Phthalocyanines, v.5, p.782-792, 2001.

MOUAHID, O.E.; et al. A UV-visible study of the electropolymerization of CoTAPP at vitreous carbon and investigation of its catalytic activity towards the electroreduction of dioxygen. J. Electroanalytical Chemistry, v.455, p.209-222, 1998.

NANGO, M.; et al. Peroxide decoloration of azo dyes catalyzed by polyethylene glycol-linked manganese halogenated porphyrins. Langmuir, v.14, p.3272-3278, 1998.

NISHIHARA, H.; et al. Electrochemical olefin epoxidation with manganese meso-tetraphenylporphyrin catalyst and hydrogen peroxide generation at polymer-coated electrodes. *Inorganic Chemistry*, v.29, n.5, p.1000-1006, 1990.

ORDAZ, A.A.; BEDIQUI, F. The electrocatalytic reduction of organohalides by myoglobin and hemoglobin in a biomembrane-like film and its application to the electrochemical detection of pollutants. New trends and discussion. *Sensors and Actuators B*, v.59, p.128-133, 1999.

PARTON, R.F. et al. Membrane occluded catalysts: A higher order mimic with improved performance. *J. Molecular Catalysis A: Chemical*, v.113, n1-2, p.283-292, 1996.

PEDROSA, J.M.; et al. Application of the cyclic semi-integral voltammetry and cyclic semi-differential voltammetry to the determination of the reduction mechanism of a Ni-porphyrin. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.523, p.160-168, 2002.

PEERCE, P.J. e BARD, A.J. Polymer films on electrodes. Parte II. Film structure and mechanism of electron transfer with electrodeposited poly (vinylferrocene). *J. Electroanalytical Chemistry*, v.112, p.97-1185, 1980

RAVEH, O. et al. Determination of NO production in melanoma cells using an amperometric nitric oxide sensor. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, v.43, p.19-25, 1997.

ROCLIN, R.D.; MURRAY, R.W. Metallation of immobilized tetra(aminophenyl)porphyrin with manganese, iron, cobalt, nickel, copper and zinc, and electrochemistry of diprotonated tetraphenylporphyrin. *J. Electroanalytical Chemistry*, v.100, p.271-282, 1979.

SCHIAVON, M.A.; et al. Synthesis and characterization of a novel series of meso(nitrophenyl) and meso(carboxyphenyl) substituted porphyrins. *J. Brazilian Chemical Society*, v.11, n.5, p.458-466, 2000.

STRADIOTTO, N.R.; et al. Electrochemical Sensor: A powerful tool in analytical chemistry. J. Brazilian Chemical Society, v.14, n.2, 2003.

TONG, A.; DONG, J.; LI, L. Aqueous two-phase extraction system of sodium perfluorooctanoate and dodecyltriethylammonium bromide mixture and its application to porphyrins and dyes. Analytica Chimica Acta, v.390, p.125-131, 1999.

TREVIN, S.; BEDIOUI, F.; DEVERYNCK, J. New electropolymerized films. Application to the detection of nitric oxide in aqueous solution. J. Electroanal. Chem., v.408, p.261-265, 1996a.

TREVIN, S.; BEDIOUI, F.; DEVYNCK, J. Electrochemical and spectrophotometric study of the behavior of electropolymerized nickel porphyrin films in the determination of nitric oxide in solution. Talanta, v.43, p.303-311, 1996b.

TSANG, P.K.S.; SAWYER, D. Electron-transfer thermodynamics and bonding for the superoxide ($O_2^{\bullet-}$), dioxygen ($^{\bullet}O_2$), and hydroxyl ($^{\bullet}OH$) adducts of (tetrakis(2,6-dichlorophenyl)porphinato)iron, manganese, and cobalt in dimethylformamide. Inorganic Chemistry, v.29, n.15, p.2848-2855, 1990.

WANG, J.; GOLDEN, T. Metalloporphyrin chemically modified glassy carbon electrodes as catalytic voltammetric sensors. Analytica Chimica Acta, v.217, p.343-351, 1989.

WANG, J.; TAHA, Z. Catalytic oxidation and flow detection of carbohydrates at ruthenium dioxide modified electrodes. Analytical Chemistry, v.62, n.14, p.1413-1416, 1990.

WILLMAN, K.W.; et al. Electronic and photoelectron spectral studies of electroactive species attached to silanized C and Pt electrodes. J. American Chemical Society, v.102, n.26, p.7629-7634, 1980.

ZAGAL, J. et al. Electrocatalytic activity of metal phthalocyanines for oxygen reduction. J. Electroanalytical Chemistry, v.339, p.13-30, 1992.

ZAGAL, J.; FIERRO, C.; ROZAS, R. Electrocatalytic effects of adsorbed cobalt phthalocyanine tetrasulfonate in the anodic oxidation of cysteine. J. Electroanalytical

Chemistry, v.119, p.403-408, 1981.

ZAGAL, J.; LIRA, S.; ZANARTU, S.U. A mechanistic study of the electro-oxidation of hydrazine on phthalocyanines of VO, Cr, Mn, Ni, Cu and Zn attached to graphite electrodes. J. Electroanalytical Chemistry, v.210, p.95-110, 1986.

ZAGAL, J.; VILLAR, E.; ZANARTU, S.U. Electrochemistry of hydroxylamine on iron tetrasulfophthalocyanine adsorbed on a graphite electrode. J. Electroanalytical Chemistry, v.135, p.343-347, 1982.

ZAGAL, J.H.; SEN, R.K.; YEAGER, E. Oxygen reduction by Co(II) tetrasulfonatephthalocyanine irreversibly adsorbed on a stress-annealed pyrolytic graphite electrode surface. J. Electroanalytical Chemistry, v.83, p.207-213, 1977.

ZECEVIC, S. et al. Spectroscopic and electrochemical studies of transition metal tetrasulfonated phthalocyanines. Parte V. Voltametric studies of adsorbed tetrasulfonated phthalocyanines (MTsPc) in aqueous solutions. J. Electroanalytical Chemistry, v.196, p.339-358, 1985.

ZHUANG, Q. The mechanistic studies of the electrochemical in situ association of copper ions with 5,10,15,20-tetraphenyl-21H, 23H-porphyrin. Microchemical Journal, v.65, p.333-340, 2000.