

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

Planejamento e construção de plataformas de óxido de nióbio nanoestruturado e protoporfirina de Co (II) para a detecção do antibiótico tetraciclina.

Guilherme Oliveira Teixeira

Dissertação de Mestrado
Porto Alegre, Janeiro de 2022.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

**Planejamento e construção de plataformas de óxido de nióbio nanoestruturado e
protoporfirina de Co (II) para a detecção de tetraciclina**

Guilherme Oliveira Teixeira

Dissertação realizada sob a orientação da Prof^ª Dra. Leliz Ticona Arenas, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Porto Alegre, Janeiro de 2022

CIP - Catalogação na Publicação

Teixeira, Guilherme Oliveira
Planejamento e construção de plataformas de óxido de nióbio nanoestruturado e protoporfirina de Co (II) para a detecção de tetraciclina / Guilherme Oliveira Teixeira. -- 2022.
52 f.
Orientadora: Leliz Ticona Arenas.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Física, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, Porto Alegre, BR-RS, 2022.

1. Tetraciclinas. 2. Protoporfirinas de Co(II). 3. Sensor eletroquímico. 4. Óxido de Nióbio. 5. FTO. I. Arenas, Leliz Ticona, orient. II. Título.

*Dedico este trabalho a Deus e a minha Família
por todo carinho, paciência e incentivo.*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde para concluir o trabalho com êxito mesmo com a pandemia e pela sabedoria.

A minha esposa Katia Meyer Krauspenhar pela parceria, apoio e incentivo nos momentos difíceis e por compartilhar os momentos felizes também, aos meus filhos Miguel e Ísis por serem o combustível para seguir sempre em frente nas adversidades, aos meus pais pela vida e apoio sempre que solicitado.

A minha orientadora Prof^a Dra. Leliz Ticona Arenas por todo apoio, dedicação, ensinamentos e amizade durante estes anos.

A todos os professores do Laboratório de Sólidos e Superfícies o meu muito obrigado por todo ensinamento e companheirismo.

Aos meus colegas de laboratório, em especial a Gabriela, Danielle e Karine por todo apoio e pelos momentos que compartilhamos o laboratório.

E por fim, agradeço UFRGS pela infraestrutura usufruída que permitiram o desenvolvimento deste trabalho e a CAPES pelo auxílio financeiro.

Lista de Trabalhos produzidos durante o Mestrado

Trabalhos publicados em eventos científicos (Online)

Guilherme O. Teixeira, Leliz T. Arenas. **Obtenção de Protoporfirina IX de Co (II) para modificação de plataformas eletroquímicas.** VI Mostra do CNANO – UFRGS, 19 e 20 de Abril de **2021**.

Guilherme Oliveira Teixeira, Lucas Eduardo Sasso, Tania Maria Haas Costa , Edilson Valmir Benvenuti , Leliz Ticona Arenas. **Electrochemical platform based on thin film of nanostructured Nb₂O₅ for Tetracycline detection.** XIX SBPMat, 30 de Agosto a 03 de Setembro de **2021**.

Lucas Eduardo Sasso , Ana Paula da Silva Bitelo , **Guilherme Oliveira Teixeira** , Tania Maria Haas Costa , Leliz Ticona Arenas. **Device based in films of glucose oxidase/gold nanoparticles/Nb₂O₅ deposited on FTO: An alternative for electrochemical glucose detection.** XIX SBPMat, 30 de Agosto a 03 de Setembro de **2021**.

Artigo Submetido

Souza, L.V., Virgili, A.H., **Teixeira, G.O.**, Hinrichs, R., Bianchini, D., Costa, T. M. H., Arenas, L. T., Benvenuti, E. V., de Menezes, E. W., **Mesoporous structured silica modified with niobium oxide and cobalt hematoporphyrin applied to the simultaneous electrochemical evaluation of oxalic and uric acids.** *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2021**.

Resumo

Neste trabalho, filmes finos nanoestruturados de óxido de nióbio foram depositados na superfície do vidro condutor FTO usando a técnica de *dip-coating* e posteriormente a protoporfirina X de Co(II) foi imobilizada na superfície dos filmes, a plataforma obtida foi utilizada para detectar o antibiótico tetraciclina (TET). Para a preparação dos filmes pela técnica de *dip-coating*, preparou-se inicialmente uma suspensão coloidal de NbO_x, a partir da reação do pentacloreto de nióbio dissolvido em metanol e uma solução aquosa de H₂O₂ a 2°C. A reação foi realizada em diferentes tempos em 0, 3 e 6h, e os filmes obtidos com essas suspensões foram denominados FTO/Nb-0h, FTO/Nb-3h e FTO/Nb-6h respectivamente, esses tempos foram utilizados considerando que as partículas coloidais crescem ao longo do tempo, nessa etapa as plataformas foram mergulhadas 3, 6 e 10 vezes na suspensão coloidal. Em seguida, os filmes foram tratados termicamente a 450 °C. Finalmente, a protoporfirina X de Co(II) (PPCo) foi imobilizada na superfície dos filmes sendo denominados como FTO/Nb-0h/PPCo, FTO/Nb-3h/PPCo e FTO/Nb-6h/PPCo. Os filmes foram caracterizados utilizando técnicas de XPS, EDS, UV-Vis, microscopia eletrônica de varredura e perfilometria óptica. O filme FTO/Nb-6h obtido com 10 mergulhos apresentou uma morfologia diferente observando-se partículas de aproximadamente 50 nm dispersas na superfície do vidro FTO. As plataformas obtidas foram avaliadas por voltametria cíclica na presença de TET, o filme realizado com 10 mergulhos FTO/Nb-6h/PPCo apresentou maior resposta na oxidação da TET. Através de voltametria linear, este filme, apresentou uma resposta linear na faixa de 19,96 μmol. L⁻¹ a 99 μmol L⁻¹, com sensibilidade de 0,00756 μA μmol⁻¹ L e limite de detecção de 0,27 μmol L⁻¹ mostrando-se promissor para aplicação como sensor para detecção de tetraciclina.

Abstract

In this work, nanostructured thin films of niobium oxide were deposited on the surface of FTO conductive glass using the dip-coating technique and later the protoporphyrin X of Co(II) was immobilized on the surface of the films, the obtained platform was used to detect the tetracycline antibiotic (TET). For the preparation of the films by the dip-coating technique, a colloidal suspension of NbOx was initially prepared, from the reaction of niobium pentachloride dissolved in methanol and an aqueous solution of H₂O₂ at 2 °C. The reaction was carried out at different times at 0, 3 and 6h, and the films obtained with these suspensions were named FTO/Nb-0h, FTO/Nb-3h and FTO/Nb-6h respectively, these times were used considering that the particles colloidal substances grow over time, in this step the number of dips 3, 6 and 10 dips in the colloidal suspension was considered. Then the films were heat treated at 450 °C. Finally, Co(II) protoporphyrin X (PPCo) was immobilized on the surface of the films being named as FTO/Nb-0h/PPCo, FTO/Nb-3h/PPCo and FTO/Nb-6h/PPCo. The films were characterized using XPS, EDS, UV-Vis, scanning electron microscopy and optical profilometry techniques. The FTO/Nb-6h film obtained with 10 dips showed a different morphology, observing particles of approximately 50 nm dispersed on the surface of the FTO glass. The platforms obtained were evaluated by cyclic voltammetry in the presence of TET, the film made with 10 dips FTO/Nb-6h/PPCo showed the highest response in the oxidation of TET. Through linear voltammetry, this film showed a linear response in the range of 19.96 μmol L⁻¹ to 99 μmol L⁻¹, with sensitivity of 0.00756 μA μmol⁻¹ L and detection limit of 0.27 μmol L⁻¹, showing promise for application as a sensor for tetracycline detection.

Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura molecular da Tetraciclina ⁶	14
Figura 2: Esquema adaptado de uma célula eletroquímica com três eletrodos idêntica a utilizada no trabalho. ⁵²	16
Figura 3: Estrutura geral da Porphirina com a diferença entre seus substituintes. Imagem adaptada da literatura ²⁸	19
Figura 4: Equipamento <i>Dip-coating</i> utilizado	23
Figura 5: Esquema sugestivo de como ficou os filmes de nióbio depositados sobre o vidro FTO	24
Figura 6: Espectroscopia de UV-Vis da metalação da protoporfirina IX.	26
Figura 7: Esquema da reação de metalação da protoporfirina IX e a imobilização na superfície do vidro condutor FTO.	27
Figura 8: Espectroscopia UV-Vis dos vidros FTO após modificações.	28
Figura 9: Espectro de XPS Survey para a amostra FTO/Nb-6h/PP-Co.	29
Figura 10: Espectro de XPS 2p do Co para a amostra FTO/Nb-6h/PP-Co.	30
Figura 11: a) Espectro EDS da amostra FTO/Nb-6h, b) imagem de microscopia eletrônica de varredura da amostra FTO/Nb-6h.	30
Figura 12: Imagens de MEV das amostras FTO/Nb-0h(A), FTO/Nb-3h (B) e FTO/Nb-6h (C), ambos com 10 mergulhos.	31
Figura 13: Imagens de MEV das amostras de FTO/Nb-6h com mergulhos de 3x(A), 6x(B) e 10x(C).	32
Figura 14: Imagem 2D da amostra FTO/Nb-6h/PPCo interface Nb-FTO.	33
Figura 15: Imagem 2D da amostra FTO/Nb-6h/PPCo nterface Nb-PPCo.	33
Figura 16: Imagens 3D da amostra PPCo/Nb2O5(6hrs)/FTO interface Nb-FTO.	34
Figura 17: Imagens 3D da amostra PPCo/Nb2O5(6hrs)/FTO interface Nb-PPCo.	34
Figura 18: Voltamogramas cíclicos dos eletrodos, vidro FTO puro, FTO/Nb-3h/PPCo e FTO/Nb-6h/PPCo na presença de $566 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TET tampão PBS, pH 2,01, KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v=20 \text{ mV s}^{-1}$	36
Figura 19: Voltamogramas cíclicos do eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo preparado com 3, 6 e 10 mergulhos, na presença de $566 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TET em tampão PBS, pH 2,01, KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v=20 \text{ mV s}^{-1}$	37
Figura 20: Voltametria cíclica do eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo em diferente pH em tampão PBS, KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de $566 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TET, $v= 20 \text{ mV s}^{-1}$	38

Figura 21: Relação da intensidade de pico em função do pH da solução tampão obtido da Figura 20	39
Figura 22: Voltamogramas realizados para curva de calibração do eletrodo PPCo-Nb-6h/FTO.	40
Figura 23: Regressão Linear obtida da curva de calibração	41

Lista de Abreviaturas

HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
FTO	<i>fluorine doped tin oxide</i>
TET	Tetraciclina
ETE	Estação de Tratamento de Efluentes
pKa	Constante de acidez
WE	<i>working electrode</i> / Eletrodo de trabalho
RE	<i>reference electrode</i> / Eletrodo de referência
PBS	<i>phosphate buffer solution</i> / Solução tampão fosfato de sódio
CV	Voltametria cíclica/voltamogramas cíclicos
TCO	Óxidos condutores transparentes
CBMM	Companhia Brasileira de Mineração e Metalurgia
THF	Tetraidrofurano
UV-Vis	Ultravioleta-visível
PP-Co	Protoporfirina de Co(II)
MEV	Microscopia eletrônica de Varredura
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X
EDS	Espectroscopia com Dispersão em Energia
LOD	Limite de detecção

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1	Antibiótico tetraciclina	13
2.2	Sensores Químicos	14
2.3	Metodos voltamétricos de análises	16
2.4	Óxido de nióbio	17
2.5	Porfirinas	19
2.6	Vidros condutores FTO	20
3	OBJETIVOS	20
3.1	objetivos específicos	21
4	PARTE EXPERIMENTAL	21
4.1	Materiais	21
4.2	Métodos	21
4.2.1	Metalação da Protoporfina	21
4.2.2	Filmes finos de óxido de nióbio na superfície de um vidro condutor	22
4.2.3	Imobilização da protoporfirina de Co(II) na superfície dos vidros FTO modificados com óxido de nióbio	23
4.3	Técnicas de caracterização	24
4.3.1	Espectroscopia de UV-Vis	24
4.3.2	Perfilometria Óptica	25
4.3.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	25
4.3.4	XPS	25
4.3.5	Testes Eletroquímicos	25
5	RESULTADOS E DISCUSÃO	25
5.1	Caracterização estrutural e morfológica dos filmes	25

5.2	Comportamento eletroquímico da tetraciclina na superfície dos filmes óxido niobio/protoporfirina de cobalto	35
6	CONCLUSÃO	43
7	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

Os antibióticos foram uma descoberta muito importante para o combate de doenças e infecções desde seu descobrimento. Dentre os vários tipos de antibióticos existentes podemos classificar as Tetraciclina como uma importante classe de antibióticos por tratar bactérias e infecções de bactérias de amplo espectro tanto na saúde humana quanto saúde animal.¹⁻⁶ Este antibiótico também é utilizado como aditivo alimentar para animais de corte e de produção como por exemplo gados de produção de leite.⁶⁻⁸ Seu uso indiscriminado pode causar sérios problemas de saúde no consumidor final do produto como alergias, mudança de coloração nos dentes e criar genes resistentes a este antibiótico e assim gerando um grave problema de saúde pública.⁹⁻¹²

Para evitar que tenhamos um consumo desnecessário da tetraciclina, mesmo que em quantidades mínimas, é necessário um rigoroso controle de qualidade nos alimentos para identificar o antibiótico e assim diminuir os riscos para a saúde.^{13,14}

A tetraciclina pode ser identificada por métodos analíticos mais robustos como HPLC.^{13,15} No caso de análise de produtos alimentícios, o tratamento de amostras para análise em equipamentos mais complexos, acaba tornando seu preço mais caro e com a necessidade de altos investimentos em qualificação pessoal e também de equipamentos.¹⁶ Pensando nisso, se torna indispensável novos métodos analíticos mais baratos e de fácil operação, e preferencialmente, com sensibilidade e seletividade consideráveis.

Os sensores eletroquímicos oferecem vantagens consideráveis na análise de amostras, como a capacidade de detectar ou quantificar o analito de uma maneira simples e rápida ou sem a necessidade de realizar tratamentos complexos delas. Também é importante destacar que eles permitem a detecção simultânea de vários analitos em uma única análise.¹⁷ Tudo isso torna os sensores uma ferramenta analítica útil para realizar análises de rotina na indústria agroalimentar, permitindo satisfazer as necessidades industriais em termos de qualidade e segurança.

As pesquisas em obter novos materiais ou aperfeiçoar os já existentes utilizados para esta tecnologia têm crescido exponencialmente nos últimos anos, visando melhorar a sensibilidade, seletividade e resposta dos sensores.

Atualmente também é observado que a obtenção de porfirinas metaladas para a modificação de eletrodos tem crescido significativamente, pois elas apresentam elevada capacidade de eletrocatalisar reações de oxidação e redução de vários analitos, de tal maneira que os eletrodos construídos acabam se tornando mais seletivos e mais sensíveis.¹⁸⁻²⁰

Entretanto, existe dificuldade no processo de imobilização destas macromoléculas nos eletrodos devido a sua pouca afinidade com os suportes. Entre as alternativas propostas estão em funcionalizar tanto as porfirinas como os suportes tornando-as, mas reativas e assim a interação porfirina suporte seja mais forte.²¹

Desde a descoberta do eletrocromismo do óxido de nióbio por Reichman e Bard²² o material vem sendo estudado e aparece como um material eletrocromico promissor para aplicação em dispositivos devido a sua excelente estabilidade química e resistência à corrosão em meio ácido e básico.²³⁻²⁹ Por apresentar uma estrutura favorável ao movimento de elétrons ele apresenta alta estabilidade química, transparência próximo ao infravermelho e alta constante dielétrica³⁰ o Nb₂O₅ ganha cada vez mais atenção na aplicação de matérias especialmente em forma de filmes. Este óxido tem afinidade por grupos carboxílicos presentes em protoporfirinas formando ligações bem estáveis.

Atualmente as pesquisas estão voltadas em obter nanoestruturas de óxido de nióbio com a finalidade de aumentar a área eletroativa dos eletrodos construídos.³¹⁻³⁸

Nesse contexto, com este projeto pretende-se obter um sistema a base de porfirina metalada e óxido de nióbio nanoestruturados, este sistema será imobilizado na superfície de um vidro condutor FTO (óxido de estanho dopado com flúor). A nova plataforma obtida foi utilizada como sensor eletroquímico para a determinação do antibiótico tetraciclina.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ANTIBIÓTICO TETRACICLINA

Antibióticos são medicamentos utilizados para tratamento de diversas doenças humanas e também em animais.¹⁻⁵ Dentro dos antibióticos, as tetraciclina (TET) são amplamente utilizadas na veterinária pois apresentam atividade contra uma ampla gama de bactérias aeróbicas Gram-Positivas e Gram-Negativas e também em bactérias anaeróbicas.⁶ As tetraciclina também são utilizados como aditivos para ração animal de gado, ovelha, aves, porco e peixe.⁶⁻⁸ Por estar presente como tratamento de doenças e também como aditivo para melhoramento de animais de corte e de produção, o uso indiscriminado deste antibiótico pode haver resquícios do antibiótico em alimentos, alguns estudos já mostraram que este antibiótico pode ser apresentado em alimentos como a própria carne, mel e leite.⁶ A ingestão indevida deste antibiótico pode trazer alguns efeitos colaterais para os humanos como alergias, descoloração de dentes, danos ao fígado e também ao surgimento de genes cada vez mais resistentes ao combate das tetraciclina.⁹⁻¹² Na saúde humana as tetraciclina são

utilizadas para combater diversas infecções, podemos listar as infecções do trato respiratório, acne grave e uretrite como exemplos.⁸

Alguns trabalhos mostram também a presença de tetraciclina em sistemas aquáticos mesmo passando por todas as etapas de tratamento de uma Estação de Tratamento de Efluentes (ETE).³⁸⁻⁴³ A detecção da tetraciclina pode ser feita de maneira analítica utilizando equipamentos de análises como HPLC e outras técnicas analíticas complexas.^{13,15} Estas análises exigem um grande investimento financeiro e de mão de obra especializada para operar equipamentos e realizar as análises. Os sensores eletroquímicos podem ser uma alternativa mais simples e baratas comparadas às técnicas mais convencionais.¹⁶

Na Figura 1 podemos ver a estrutura molecular da tetraciclina. Este composto possui 3 pKas, são eles 3.30, 7.68, e 9.69.⁴⁴ A sua determinação por técnicas eletroquímicas geralmente é realizado na faixa ácida.^{6,45}

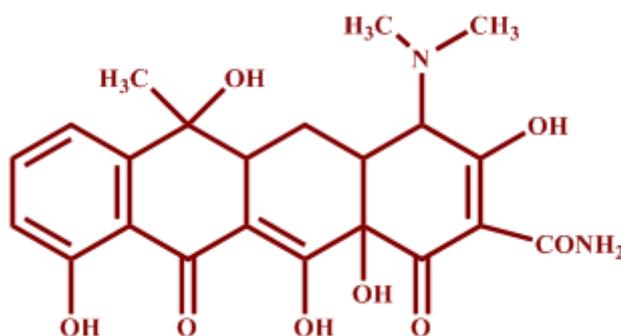


Figura 1: Estrutura molecular da Tetraciclina⁶

Visando todo problema de saúde pública que o consumo inapropriado de Tetraciclina, mesmo que em baixas concentrações, pode causar, torna-se indispensável a detecção desta substância em concentrações baixas e com rapidez. Neste trabalho vamos propor uma forma alternativa de plataforma eletroquímica para detecção do antibiótico tetraciclina.

2.2 SENSORES QUÍMICOS

Os sensores químicos são dispositivos que conseguem informar continuamente o ambiente em que se encontram, eles são capazes de transformam sinais químicos (reações de oxidação e redução) em sinal analítico e assim nos possibilita relacionar este sinal com a quantidade da espécie química de interesse em uma amostra.

Os sensores químicos basicamente são constituídos de um receptor e um transdutor onde o receptor é o componente quimicamente seletivo onde responde à composição química da amostra, isolando a resposta do analito do seu ambiente. Já o transdutor é responsável por

transformar as mudanças das propriedades do receptor em um sinal capaz de ser detectado e medido.⁴⁷⁻⁵⁰

Ao comparar os sensores eletroquímicos com outros métodos clássicos como por exemplo HPLC e Cromatografia gasosa, podemos observar que eles ocupam uma posição de destaque, isto acontece pelo fato deles possuírem propriedades relevantes como por exemplo sua alta sensibilidade, confiança de uma resposta sem muitas variações a longo prazo, serem altamente precisos, serem de fácil manuseio e utilização pelo operador, possibilidade de miniaturização, terem um baixo custo e também produzirem respostas mais rápida. Os sensores eletroquímicos possuem uma gama enorme de aplicações importantes em muitas áreas essenciais para nós, como por exemplo na indústria em geral, setor ambiental, análises clínicas, e na agricultura.^{46-48,50}

Os sensores eletroquímicos são classificados de acordo com o princípio de medição utilizado, sendo assim, podem ser classificados em potenciométricos, amperométricos ou condutométricos. As técnicas potenciométricas envolvem as medidas de potencial de um eletrodo a partir do equilíbrio local estabelecido na interface do sensor, sendo assim, podemos obter informações sobre a composição da amostra em análise a partir da diferença de potencial entre dois eletrodos. Nas técnicas amperométricas é explorado a aplicação de um potencial entre eletrodo de referência e eletrodo de trabalho, com isto, se deseja causar a oxidação ou a redução de uma espécie eletroativa e a corrente resultante é medida. As técnicas condutométricas envolvem a medida de condutividade da amostra teste em uma série de frequências. Para termos um sensor eletroquímico tradicional é necessário um equipamento de potencial controlado (Potenciostato) e uma célula eletroquímica que pode conter dois ou três eletrodos imersos em um eletrólito suporte adequado. Nas medidas envolvendo três eletrodos, o eletrodo de trabalho (WE) é aquele que a reação de interesse acontece na solução que está sendo investigada. O eletrodo de referência (RE) mantém o potencial constante sob as condições prevalentes na medição eletroquímica, ou seja, fornece um potencial conhecido e constante comparado ao WE.^{47,51}

Na Figura 2 podemos observar o esquema de uma célula eletroquímica idêntica a utilizada neste trabalho

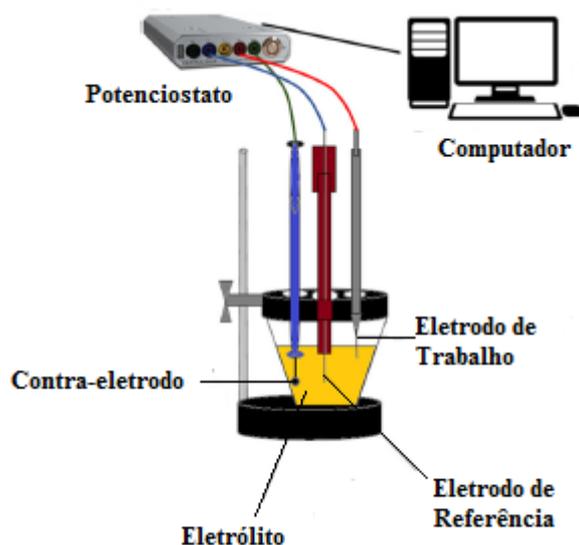


Figura 2: Esquema adaptado de uma célula eletroquímica com três eletrodos idêntica a utilizada no trabalho.⁵²

Os eletrodos de referência mais utilizados são, normalmente, o eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl) e o de calomelano saturado (Hg/HgCl_2). Por fim, o último eletrodo que compõem a célula eletroquímica é um eletrodo auxiliar, também chamado de contra-eletródo. Este eletrodo é feito de um material inerte, como por exemplo platina. A função deste eletrodo é realizar o transporte da corrente elétrica que flui através do circuito elétrico da célula. Além dos três eletrodos descritos anteriormente, também é necessário a utilização de um eletrólito suporte em experimentos que são realizados em potencial controlado, pois com ele podemos eliminar os efeitos de corrente migratória, minimizar os efeitos da resistência da solução eletrolítica (queda ôhmica) e manter a força iônica da solução constante. Os eletrólitos suporte que são utilizados mais comumente são as soluções de tampão fosfato de sódio ou potássio (PBS), Britton-Robinson e acetato, no qual podem ser acompanhados dos sais cloreto de potássio, nitrato de sódio ou sulfato de sódio.^{47,51} Também é comumente utilizados solução de KCl e soluções de alguns ácidos como eletrólito suporte além dos indicados anteriormente.

2.3 METODOS VOLTAMÉTRICOS DE ANÁLISES

Um dos primeiros registros da utilização de métodos voltamétricos é observado a quase cem anos com a utilização da polarografia onde era utilizado um eletrodo de mercúrio como eletrodo de trabalho. Este método utilizado era muito próximo com o que hoje chamamos de voltametria de varredura linear.^{49,53}

A voltametria cíclica (CV) pode ser considerada a técnica eletroanalítica mais comum, simples, rápida e mais direta das técnicas para conseguir informações qualitativas e quantitativas sobre uma espécie eletroativa. Com ela conseguimos informações sobre reversibilidade, termodinâmica e cinética das reações que ocorrem na superfície do eletrodo. A CV normalmente é a primeira técnica experimental utilizada nos estudos, pois oferece uma localização dos potenciais de oxidação e redução das espécies eletroativas de forma rápida e dá uma avaliação conveniente do efeito do meio reacional nos processos redox das espécies estudadas.^{49,51,53,54}

Na CV é aplicado no eletrodo de trabalho uma varredura linear de potencial com uma taxa constante, este processo ocorre a partir de um potencial negativo para um positivo e também pode ser feito da forma contrária, sendo que posteriormente é realizada a varredura na direção reversa. A corrente resultante na superfície do eletrodo é medida em cada potencial aplicado, por isso, a CV é uma técnica amperométrica.^{53,54}

De acordo com o que se necessita, podem ser usados ciclos únicos ou múltiplos. É importante saber que a taxa de varredura deve ser suficientemente longa para permitir que as reações químicas ocorram em uma quantidade significativa no sistema. Os resultados são vistos em forma de gráficos plotados como corrente vs tensão, este gráfico chamamos de voltamograma.^{53,54}

A corrente que é obtida em um CV é resultante da combinação das correntes faradáica e capacitiva. Elas se originam de processos que acontecem na superfície do eletrodo. A corrente faradáica está relacionada a corrente gerada obedecendo a Lei de Faraday, onde a quantidade de carga elétrica que passa na interface eletrodo/soluto é diretamente proporcional ao fluxo de elétrons de uma reação química.⁵⁴⁻⁵⁶ Assim, a corrente faradaica pode ser atribuída a transferência de elétrons originadas de uma reação química que ocorreu na superfície do eletrodo. Já a corrente capacitiva não segue a Lei de Faraday e pode ser relacionada com a corrente gerada no processo de polarização da dupla camada elétrica na superfície do eletrodo. Este processo é essencial ao sistema, pois uma vez que se aplica uma diferença de potencial entre dois eletrodos, sempre irá ocorrer a passagem de uma corrente na solução resultante da separação de cargas.⁵⁴⁻⁵⁶

2.4 ÓXIDO DE NIÓBIO

Nos últimos anos o óxido de nióbio vem despertando muito interesse para sua imobilização em suportes eletroquímicos,⁵⁷⁻⁶⁰ isto vem acontecendo pois apresenta propriedades muito promissoras, como alto índice de refração, *band gap* (entre 3,53 e 3,9 eV),

estabilidade química e resistência à corrosão.²³ O óxido de nióbio também é aplicado como catalisador em inúmeras reações químicas como por exemplo a desidratação, hidratação, esterificação, hidrólise, condensação, desidrogenação, polimerização e reações de oxidação.²⁴²⁹ Além de apresentar todas estas características, o óxido apresenta afinidade em adsorver espécies moleculares que apresentam grupos carboxílicos em sua estrutura. Graças a esta característica, a nióbia vem sendo proposta como alternativa de ancoragem de espécies que apresentam estes grupos funcionais como por exemplo as porfirinas carboxiladas, composto que vem sendo amplamente utilizado no desenvolvimento de sensores eletroquímicos.^{24,29}

O nióbio por ser um metal de transição apresenta quatro estados de cargas diferentes (0, +2, +4 e +5). O pentóxido de nióbio possui estrutura cristalina baseado no octaedro NbO_6 regular, em que seis átomos de oxigênio circundam um átomo de nióbio. O cristal do Nb_2O_5 é um octaedro regular através do compartilhamento de canto ou de borda.⁶¹ Esta característica faz com que o Nb_2O_5 tenha um bom movimento de íons, o que contribui para as propriedades do material.

Novas formas de obtenção do pentóxido de nióbio nanoestruturado, com morfologia variada e área superficial considerável vêm sendo estudadas. Para obtenção do Nb_2O_5 podemos citar as seguintes rotas: tratamento hidrotérmico de um precursor Nb_2O_5 amorfo com ácido oxálico e peróxido de hidrogênio³¹; método de micela inversa baseado em sol-gel³²; tratamento hidrotérmico assistido por ligantes de ponte³³; revestimento controlado através de controle cinético³⁴; uso de sólido iônico como agente direcionador de estrutura³⁵; síntese álcool-térmica de esferas porosas de nióbio³⁶; deposição eletroforética de filmes de Nb_2O_5 em FTOs.³⁷ As metodologias utilizando peróxido de hidrogênio auxiliam na formação de nanoestruturas de nióbio, isto ocorre pois o sal de nióbio quando dissolvido com água tende a formar precipitado rapidamente, já a dissolução do sal com o peróxido de hidrogênio a baixas temperaturas ($\approx 2^\circ\text{C}$) permite a formação de um intermediário mais estável que auxiliam na formação de estruturas mesoporosas.⁴

O pentóxido de nióbio nanoestruturado traz a vantagem de aumentar a atividade eletrocatalítica em sensores, isto acontece pela sua afinidade de ligação com ácidos carboxílicos.^{23,28,29} Dentre as rotas de obtenção do óxido de nióbio podemos destacar a que utiliza como precursor o peróxido de hidrogênio que auxilia na formação de complexos estáveis possibilitando a formação de partículas coloidais.⁴ A sua combinação com a porfirina metalada ainda não teria sido utilizada como modificadora de plataformas eletroquímicas. Neste trabalho foi utilizada uma adaptação de uma rota química para obtenção do óxido de

nióbio como precursor o peróxido de hidrogênio e pentacloroeto de nióbio em diferentes tempos.

2.5 PORFIRINAS

As porfirinas são compostos macrocíclicos fotossensíveis que são observados amplamente na natureza e desempenham um papel importante em muito processos biológicos. Estes compostos também são encontrados na hemoglobina atuando no transporte de oxigênio e na clorofila, onde atuam no processo de transferência de elétrons. Além de possuir aplicação em sistemas biológicos, estudos vem mostrando que também podem ser aplicados como catalisadores,⁶³ sensores^{29,64,65,67} entre outros. A porfirina possui na sua estrutura denominada de macrociclo com estrutura de anel contendo 4 nitrogênios na parte central. A presença destes nitrogênios possibilita a coordenação com metais de transição. Dentro das porfirinas encontramos duas subclassificações importantes que são as hematoporfirinas⁶⁶ e as protoporfirinas.⁶² Na figura 3 podemos observar a estrutura geral das porfirinas e os respectivos substituintes característico de cada substância

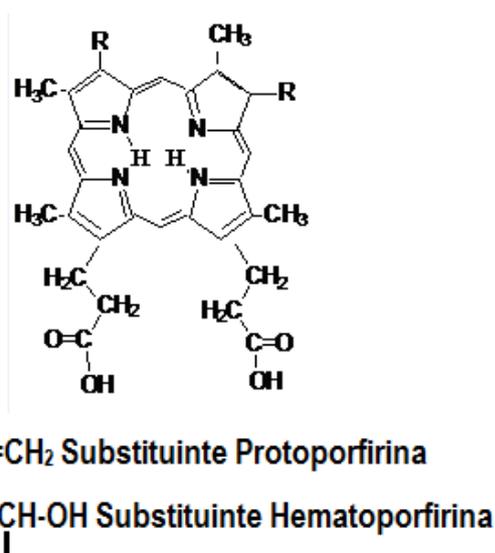


Figura 3: Estrutura geral da Porphirina com a diferença entre seus substituintes. Imagem adaptada da literatura²⁸

As propriedades eletroquímicas das porfirinas podem ser controladas através da coordenação de diferentes metais. As porfirinas que possuem um metal coordenado no centro do anel são denominadas de metaloporfirinas.⁶⁶ As metaloporfirinas têm sido amplamente estudadas como catalisadores de oxidação seletiva homogênea e hidroxilação de hidrocarbonetos. As porfirinas apresentam algumas limitações importantes, como a dificuldade de recuperação e instabilidade devido a degradação oxidativa do anel, isto ocorre

pelo fato do macrociclo ser fotossensível.⁶⁶ A imobilização em sólidos torna a porfirina mais resistente as degradações e permite a reutilização destas moléculas⁶⁶. Portanto, essas espécies eletroativas imobilizadas na superfície de plataformas eletroquímicas tem recebido atenção especial como novos materiais para fabricar sensores eletroquímicos.^{28,29,67} Elas também tem recebido uma atenção especial no desenvolvimento de novas plataformas eletroquímicas por causa de algumas características, como por exemplo a baixa solubilidade em água e suas propriedades eletrocatalíticas.^{82,83} Por isto, se torna indispensável que as protoporfirinas sejam imobilizadas em um suporte sólido como por exemplo os FTO e outras estruturas que suportem essas macromoléculas.

2.6 VIDROS CONDUTORES FTO

Os vidros condutores FTO são materiais pertencentes ao grupo do TCO (óxidos condutores transparentes). Os TCO são condutores e opticamente transparentes, por essas características são muito importantes em diversas aplicações devido à procura por materiais com estas propriedades. As principais aplicações dos TCO são em fabricação de células solares, sensores^{30,68,69,70} biossensores, entre outros.⁷¹ Os vidros condutores FTO quando comparados com outros TCO apresentam melhor estabilidade química e térmica, são melhores condutores elétricos, apresentam melhor transmitância óptica e resistência à abrasão física.^{72,73}

O FTO possui a característica de bom condutor devido ao óxido de estanho ser dopado com flúor, onde o oxigênio é substituído pelo flúor de modo intersticial e substitucional atuando como um doador de elétrons, com isto, ele torna-se um semiconductor degenerado do tipo-n. A estabilidade química e térmica não é afetada mesmo em altas temperaturas porque o material não é depende somente do oxigênio como portador de carga, os fluoretos intersticiais e substitucionais também tem este papel.⁷³

Devido às suas características os vidros condutores vêm sendo empregados como eletrodo de trabalho para detecção eletroquímica de inúmeros analítos e com uma gama de modificações, entre elas temos os eletrodos funcionalizados com filmes de óxido de nióbio.

3 OBJETIVOS

Desenvolver um sensor eletroquímico altamente sensível para a determinação do antibiótico tetraciclina em solução e baixas concentrações.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estabelecer metodologia para formação de filmes finos de Nb₂O₅ com textura e morfologia planejada sobre a superfície de um vidro condutor FTO.
- Obtenção das porfirinas metaladas com Cobalto (II).
- Estabelecer metodologia para imobilização do sistema porfirina metalada com Cobalto (II) na superfície de vidro condutor modificado com o filme Nb₂O₅.
- Caracterizar estruturalmente e morfologicamente os filmes obtidos
- Estudar atividade eletrocatalítica das plataformas obtidas frente ao antibiótico Tetraciclina, com a finalidade de avaliar a sua seletividade e sensibilidade, assim como, o mecanismo envolvido no processo.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS

Neste trabalho foram utilizados os seguintes materiais: **pentacloroeto de nióbio**(Companhia Brasileira de Mineração e Metalurgia (CBMM)), **acetato de cobalto** (Synth), **protoporfirina IX** ($\geq 95\%$, Sigma-Aldrich), **cloridrato de tetraciclina** ($\geq 95\%$, Sigma-Aldrich), **vidro condutor FTO** (Sigma-Aldrich, *Fluorine doped Tin Oxide coated glass slide*), **tetrahidrofurano (THF) P.A.** (Merck), **clorofórmio P.A.** (Merck), **hexano P.A.**, **peróxido de oxigênio** (30%, Merck), **acetato de etila** (99,5%, NEON), **etanol** (Merck), **metanol** (Merck), **ácido acético glacial P.A.**(Dinâmica)

4.2 MÉTODOS

Será demonstrado nesta seção a forma que ocorreram as sínteses da metalação da protoporfirina com o Cobalto, síntese do Óxido de nióbio e a construção das plataformas eletroquímicas.

4.2.1 Metalação da Protoporfirina

A metalação da protoporfirina foi realizada segundo método descritos por Falk⁷⁴ e Zahavy⁷⁵ com modificações.

Em um balão de 3 bocas com fundo redondo de 150 mL, com atmosfera inerte, refluxo e aquecimento de 75°C, foi adicionado 7 mL de tetrahidrofurano (THF) e 5 mL de Clorofórmio. Logo após, foi adicionado 0,0500g de Protoporfirina IX até sua dissolução no sistema. Em um Becker de 20 mL foi dissolvido 0,0500g de acetato de cobalto em 5 mL de

ácido acético glacial. Após a total dissolução do acetato de cobalto, a solução foi adicionada ao balão de 3 bocas. Foi contado um tempo de 22 minutos até que a reação de metalação ocorresse, para evidenciar a formação do produto desejado, foi feito um espectro de UV-Vis para observação das bandas características da metalação da protoporfirina de Co (II). Depois do tempo de 22 minutos, o refluxo foi desligado e mantido temperatura entre 60 e 70°C e fluxo de atmosfera inerte. A solução foi mantida nestas condições por 24 horas para evaporação do solvente.

O próximo passo da reação é a retirada do excesso de acetato de cobalto que ainda pode estar na solução. Para isto, foi preparada uma solução 1:8 de ácido acético glacial e acetato de etila, a solução foi preparada em capela de exaustão. Após pronta, a solução é adicionada ao balão de 3 bocas contendo a solução anteriormente preparada e mantido em agitação magnética por 30 minutos, após o tempo podemos observar a formação de um precipitado. A solução contendo o precipitado formado foi separada em tubos falcon e centrifugado por cerca de 20 minutos a 2,5 x1000 rpm. O sobrenadante dos tubos foi reservado em um balão e adicionado 32 mL de hexano. A solução foi mantida em geladeira por 2 dias e ao abrigo da luz. Posterior o tempo em geladeira, é observado um precipitado no balão. O solvente é evaporado em atm inerte e uma temperatura de 40°C por aproximadamente 20 minutos.

Após a secagem total do precipitado, a protoporfirina IX de Co(II) (PP-Co) foi redissolvida em uma solução 1:9 de THF e Etanol para posterior formação de filmes na superfície do eletrodo.

4.2.2 Filmes finos de óxido de nióbio na superfície de um vidro condutor

Primeiramente as placas do vidro FTO foram cortadas com dimensões de 1,0 cm de largura, 5,0 cm de altura e 2,3 mm de espessura e limpas com uma solução de detergente neutro 5% em ultrassom por 15 minutos, após é retirado o excesso da solução com água destilada e deixado mais 15 minutos em ultrassom submerso com água destilada. Após esta etapa, é retirada a água e os vidros mergulhados em Álcool etílico P.A. por mais 15 minutos em ultrassom. Finalmente, os vidros são secos em estufa a 100°C por 1 hora.⁷⁶ Após o procedimento, as lâminas de FTO foram calcinadas a 450°C durante 1 hora.

O procedimento para a formação de filmes finos de Nb₂O₅ foi adaptado de Kumar et. al.⁴

Foi preparado um sistema com balão de 3 bocas de 150 mL, banho de gelo, agitação e atmosfera inerte para a reação, a temperatura do sistema é mantida a 2°C. No balão foram

adicionados 4 mL de metanol e 0,135 g de NbCl_5 . Após a total dissolução do NbCl_5 , foi adicionado 96 mL de solução de H_2O_2 0,052 mol L^{-1} e mantido sob agitação nos tempos de 3 horas e 6 horas a temperatura ambiente.

Alíquotas de aproximadamente 5 ml após os tempos pré-determinados de reação (0, 3 e 6h) foram retiradas da solução coloidal e foram utilizadas para formação dos filmes finos na superfície dos vidros condutores FTO através da técnica *dip-coating*, o equipamento utilizado é mostrado na Figura 4. Os vidros FTO foram mergulhados nas soluções coloidais de óxido de nióbio 10 vezes por 30 segundos e posteriormente secos a 100°C por 1 hora e calcinados a 450°C por 1 hora. Os filmes foram chamados como FTO/Nb-0h, FTO/Nb-3h e FTO/Nb-6h respectivamente.



Figura 4: Equipamento *Dip-coating* utilizado

4.2.3 Imobilização da protoporfirina de Co(II) na superfície dos vidros FTO modificados com óxido de nióbio

O próximo passo foi a imobilização da protoporfirina metalada com Co(II). Os vidros previamente modificados com filmes de óxido de nióbio, FTO/Nb-0h, FTO/Nb-3h e FTO/Nb-

6h foram colocados em contato com solução de protoporfirina de Co(II) por 24 horas a temperatura ambiente e agitação. Posterior esta etapa os vidros foram secos a vácuo a 80°C por 1 hora. Finalmente, após a imobilização da protoporfirina, a lâmina de FTO foi guardada em local escuro e a temperatura ambiente. As amostras foram denominadas como FTO/Nb-0h/PPCo, FTO/Nb-3h/PPCo e FTO/Nb-6h/PPCo respectivamente.

Na Figura 5 podemos ver um esquema dos filmes de óxido de nióbio e protoporfirina metalada imobilizados na superfície do vidro condutor FTO.

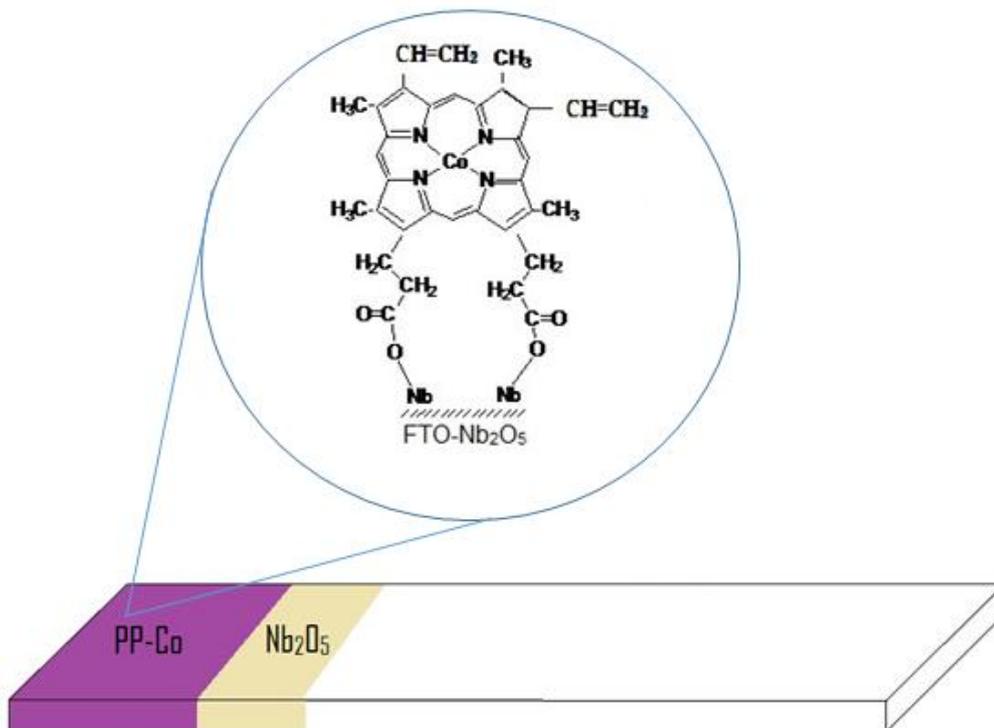


Figura 5:Esquema sugestivo de como ficou os filmes de nióbio depositados sobre o vidro FTO

4.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

4.3.1 Espectroscopia de UV-Vis

As análises por espectroscopia UV-Vis foram obtidas utilizando o equipamento *Varian Cary 50 Conc*, na janela espectral de 400 a 700 nm, e água destilada como amostra de referência.

4.3.2 Perfilometria Óptica

As medidas perfilométricas foram realizadas no equipamento *Bruker Contour-GT*, com lente 5X, luz monocromática (533 nm) e o software utilizado para processamento de dados foi o *Vision64*.

4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) foram realizadas no microscópio modelo *Inspect – F50* da FEI no Laboratório Central de Microscopia e Microanálise da PUCRS

4.3.4 Espectroscopia de Fotoelétrons por Raios X (XPS)

As medidas de XPS foram realizadas em um equipamento *Ômicron (CHA – Concentric Hemispherical Analyser)* modelo *EA 125*, utilizando radiação Al/Ka (1486,6 eV) e ânodo operado a 15 kV, 15 mA e 255W. O espectro de varredura (Survey) foi obtido com uma energia de passagem de 50 eV e passo de 1 eV. As regiões específicas de interesse foram obtidas em uma resolução maior, energia de passagem de 10 eV e passo de 0.1 eV. As amostras foram aderidas sobre fita de cobre em porta amostras de molibdênio e transferidas sob atmosfera para a pré-câmara. A pressão na câmara de análise foi de 1×10^{-9} mbar.

4.3.5 Testes Eletroquímicos

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato com a marca *Palmsens4*, utilizando uma cela eletroquímica convencional de três eletrodos. Um eletrodo de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl , $\text{NaCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) foi utilizado como eletrodo de referência. O eletrodo auxiliar (contra-eletrodo) utilizado foi um fio de Platina. Foi utilizado como eletrodo de trabalho o vidro condutor FTO previamente modificado. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente (20°C). Para tratamento dos dados foi utilizado o software *PSTrace5.8*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E MORFOLOGICA DOS FILMES

A figura 6 mostra o espectro de UV-Vis da protoporfirina IX (Azul) e o espectro da protoporfirina de Co(II) (laranja). Podemos observar que no espectro azul as 4 bandas características da protoporfirina IX em aproximadamente 500, 530, 575 e 625 nm, após o tempo de reação da metalação com acetato de cobalto, é notória que apenas duas bandas em

aproximadamente 525 e 560 nm aparecem. O desaparecimento das bandas de 500 e 625 nm é dado pelo resultado da metalação do anel porfirínica da protoporfirina com Co (II) cuja simetria local muda de D_{2h} para D_{4h} , com isto, é possível sugerir que houve a formação da protoporfirina metalada após os 20 minutos de reação.^{28,77}

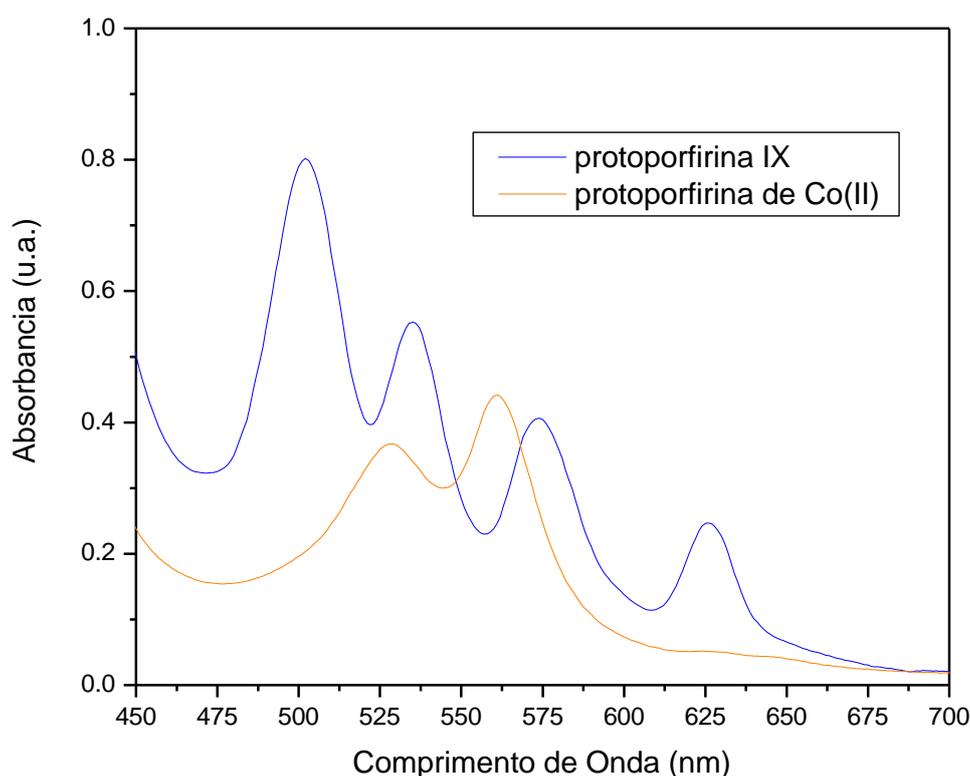


Figura 6: Espectroscopia de UV-Vis da metalação da protoporfirina IX.

A Figura 7 mostra o esquema de reação da metalação da protoporfirina X com o acetato de cobalto e sua posterior imobilização no filme de óxido de nióbio formado na superfície do vidro condutor FTO. Sabemos que para a imobilização da protoporfirina em plataformas eletroquímicas não são facilmente possíveis e para isso devemos funcionaliza-las. O processo de imobilização é realizado através da reação do grupo carboxílico R-COOH da porfirina com o grupo Nb-OH existente no óxido de nióbio.

Para ocorrer a ativação dos grupos Nb-OH após a calcinação, foi deixado os vidros Nb-3h e Nb-6h sob atmosfera de água a 60°C por 45 min.

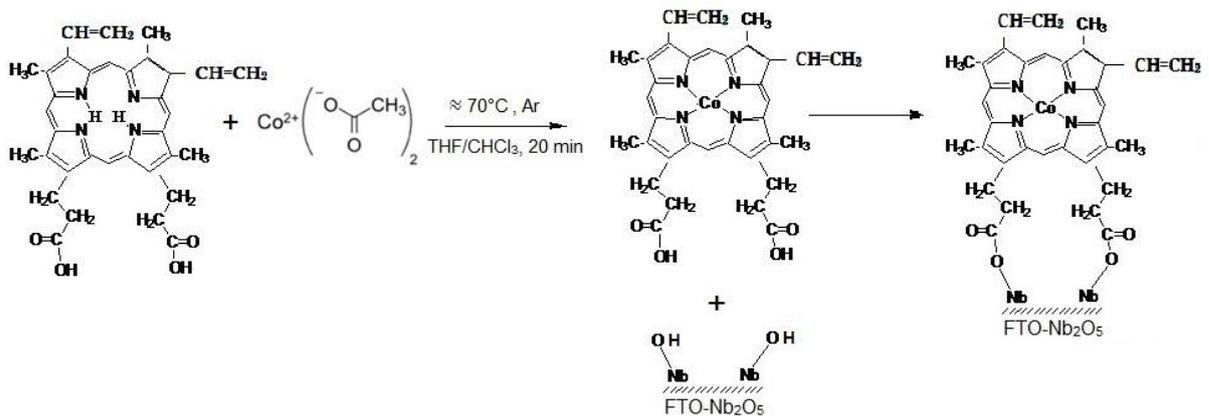


Figura 7: Esquema da reação de metalação da protoporfirina IX e a imobilização na superfície do vidro condutor FTO.

Foram realizados também espectros UV-VIS nos vidros posterior imobilização com PPCo na superfície dos filmes de óxido de nióbio a fim de identificar se a mesma teria ocorrido. Na Figura 8 podemos observar os espectros das amostras FTO/Nb-0h/PP-Co, FTO/Nb-3h/PP-Co e FTO/Nb-6h/PP-Co. Também foi realizado análise de um vidro FTO sem nenhuma modificação e com apenas a imobilização do filme de óxido de nióbio a 6 horas (FTO/Nb-6h). Podemos observar que nos vidros onde há a imobilização de PP-Co, as duas bandas de menor intensidade em aproximadamente 540 nm e 575 nm características da PPCo são observadas. O fato de observarmos um deslocamento dessas bandas com respeito a o espectro de PPCo em solução pode se dever a formação de agregado de PPCo.⁸³

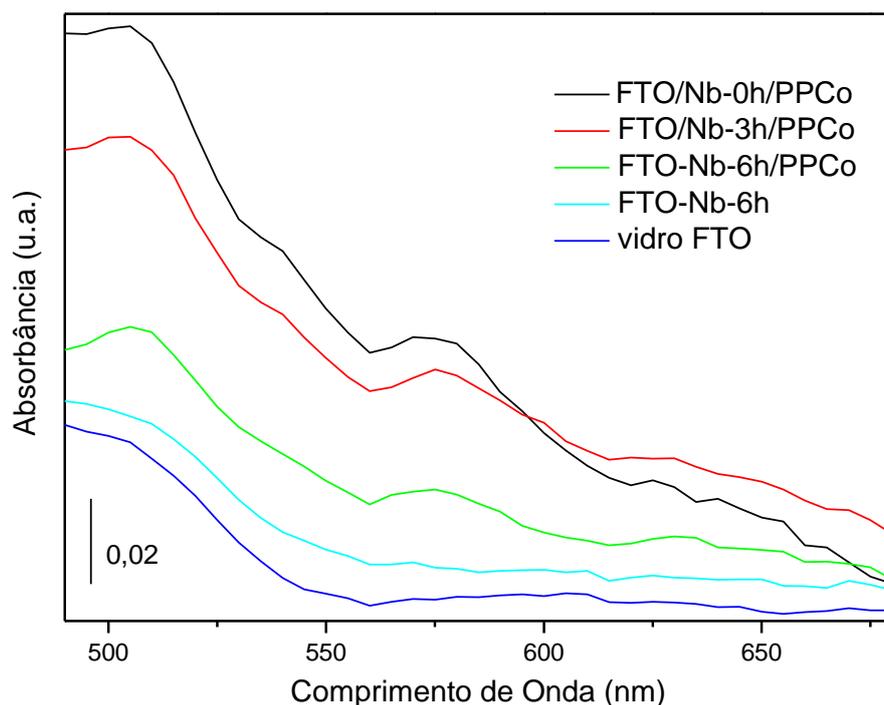


Figura 8: Espectroscopia UV-Vis dos vidros FTO após modificações.

Com o objetivo de identificar os elementos presentes e as ligações na superfície dos filmes, foi realizada a análise de XPS na amostra FTO/Nb-6h/PP-Co. A Figura 9 mostra o espectro *Survey* onde é possível identificar os picos com energia de ligação em 782, 532 e 285 eV atribuídos a Co 2p, O 1s e, C 1s respectivamente⁷⁹. O espectro do nível 2p do Co é mostrada na Figura 10 os picos com energias de ligação em 797,2 e 781,2 eV correspondem aos componentes spin orbita do Co 2p_{1/2} e Co 2p_{3/2} respectivamente, os elementos encontrados e os valores das energias são próximas aos valores de porfirinas metaladas com Co(II)⁸⁰, portanto é indicativo que a PPCo foi imobilizado na superfície do filme de óxido de nióbio. Adicionalmente no espectro *Survey* foi observado o pico em 103 eV atribuído ao Si 2p. A presença deste elemento pode ser explicada pelo fato da amostra ter sido cortada com uma caneta com ponta de diamante e com o procedimento, parte do material do vidro que é composto também por silicato, pode ter ficado na superfície do vidro sendo identificada pelo XPS. O fato do não aparecimento da energia de ligação do nióbio no espectro pode ser devido à espessura do filme de PP-Co ser superior a profundidade do XPS atinge que é aproximadamente 1 a 10 nm⁸¹ a porcentagem atômica de Co encontrado por esta técnica foi de 2,66%.

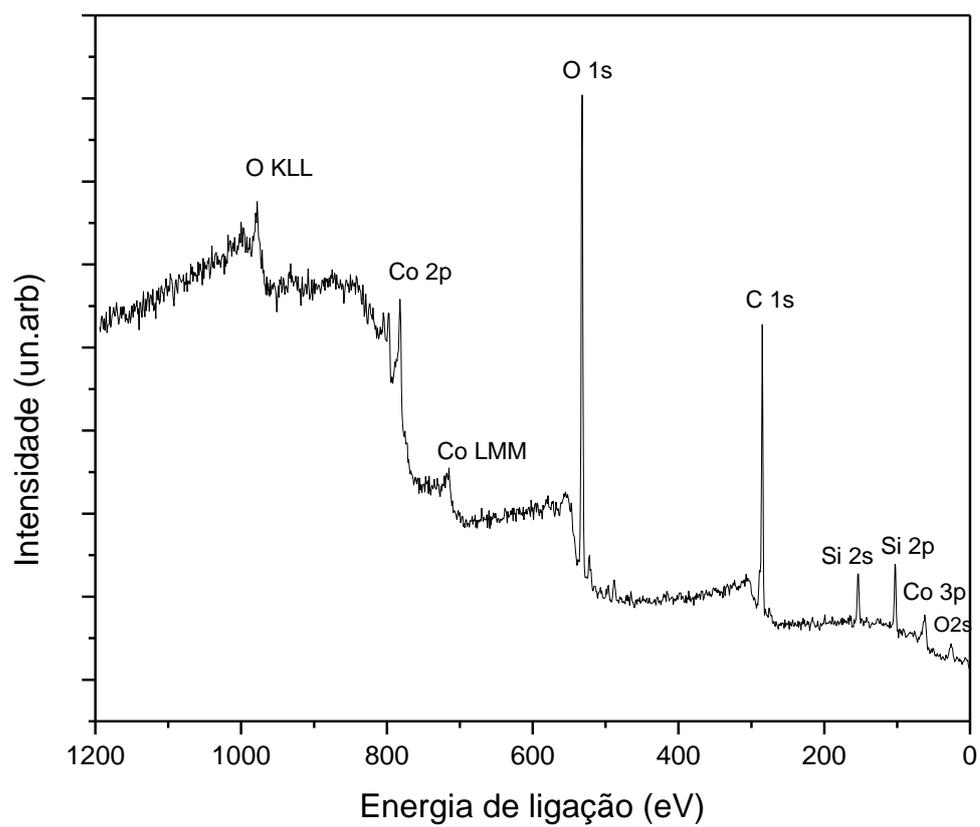


Figura 9: Espectro de XPS *Survey* para a amostra FTO/Nb-6h/PP-Co.

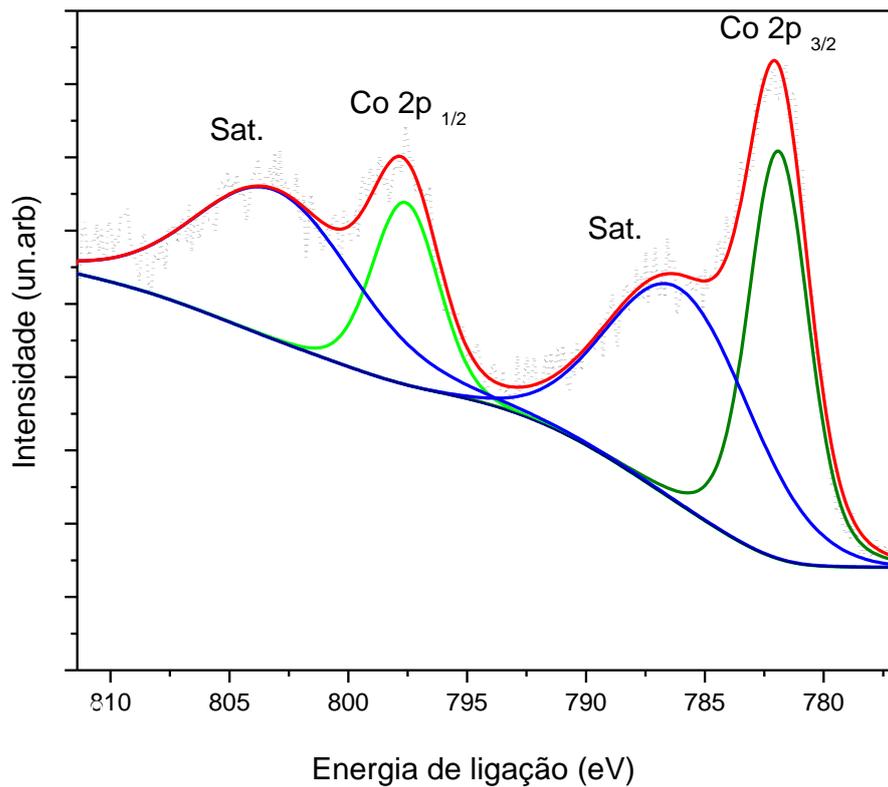


Figura 10: Espectro de XPS 2p do Co para a amostra FTO/Nb-6h/PP-Co.

A Figura 11A mostra o espectro EDS da amostra FTO/Nb-6h e a Figura 11B mostra sua respectiva imagem MEV. É possível observar a presença de Nb, Sn, Si e O. A presença de Nb nesta amostra foi de 1,39%. Os elementos Sn, Si e O podem ser provenientes da dopagem do vidro condutor FTO.

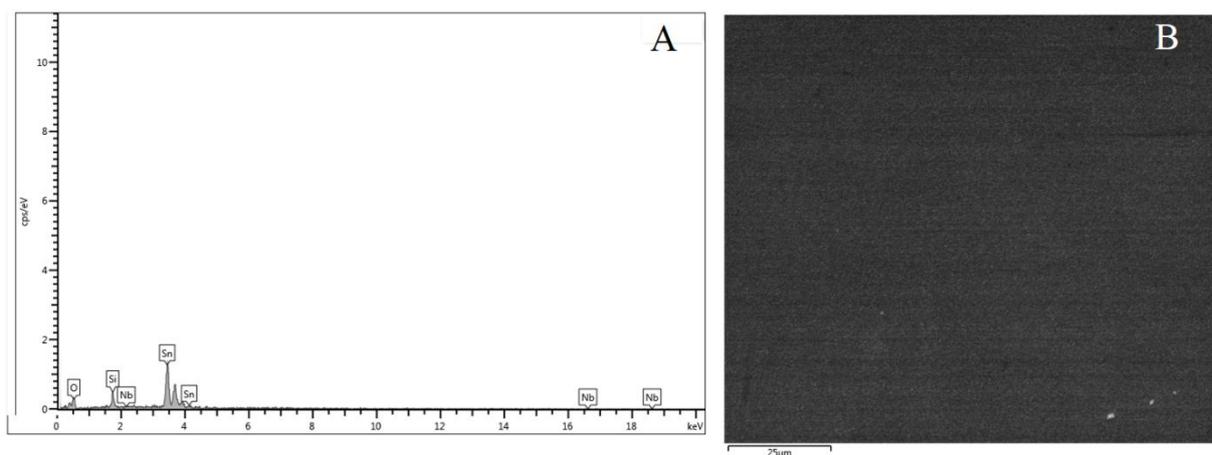


Figura 11: A) Espectro EDS da amostra FTO/Nb-6h, B) imagem de microscopia eletrônica de varredura da amostra FTO/Nb-6h.

Foram feitas imagens de MEV a fim de observar a morfologia dos filmes de óxido de nióbio. Na Figura 12 temos as imagens dos filmes de nióbia das amostras FTO/Nb-0h, FTO/Nb-3h e FTO/Nb-6h, todos filmes realizados com a quantidade de 10 mergulhos e sem a imobilização da PPCo. As imagens escolhidas foram com uma magnificação de 40.000× para a amostra FTO/Nb-0h e 50.000× para as outras duas amostras. Podemos observar que nas amostras de 0 horas e 3 horas não existe ou há pouco recobrimento da superfície, com a imagem mostrando um perfil característico da superfície do FTO puro^{78,79}. Porém, na amostra de 6 horas é visível a diferença da superfície sendo possível a visualização de um recobrimento maior da superfície (Figura 12C). Observa-se que existe a presença de partículas pequenas com diâmetro aproximado de 50 nm uniformemente espalhadas por toda a superfícies e alguns aglomerados pontuais.

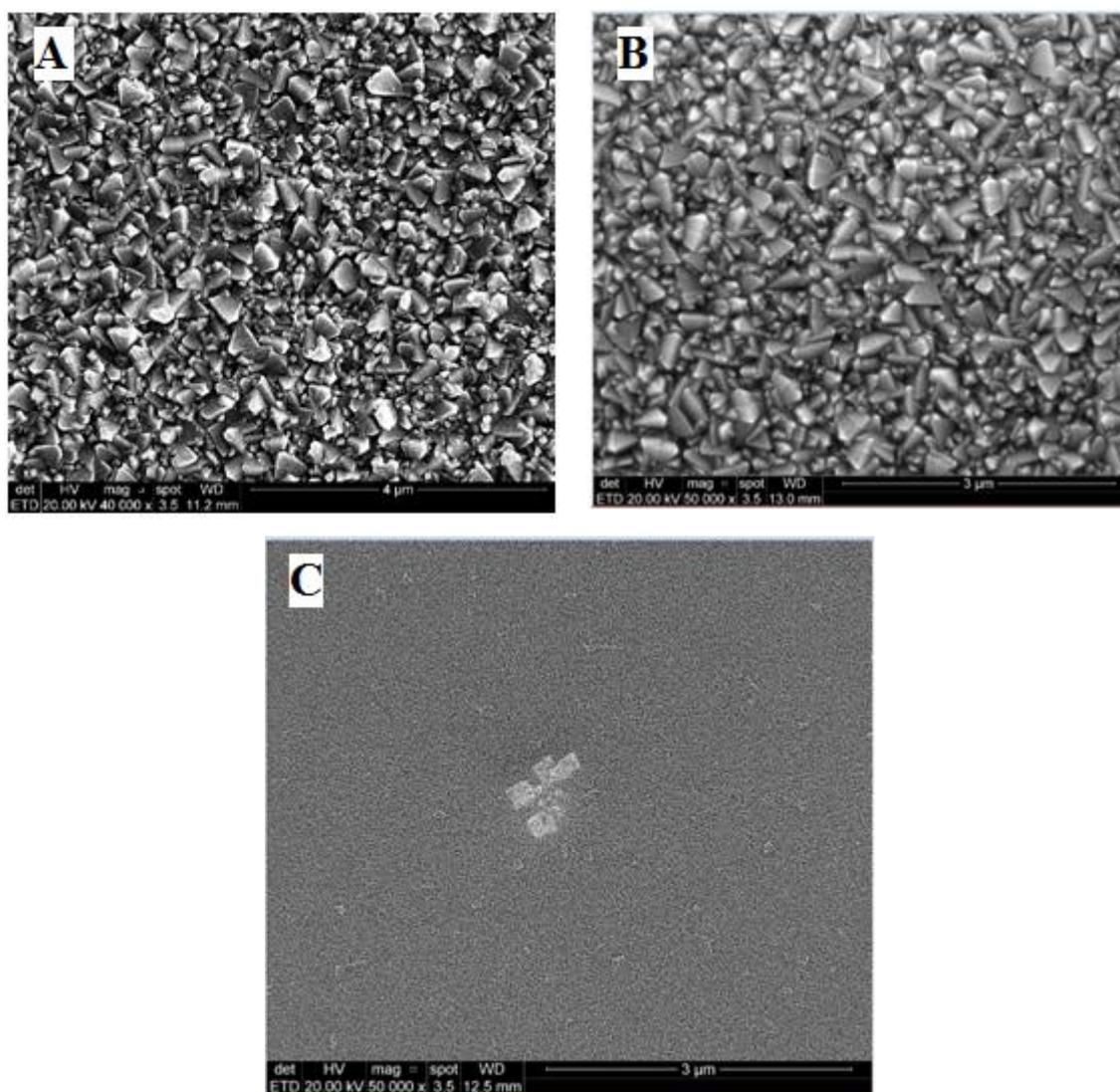


Figura 12: Imagens de MEV das amostras FTO/Nb-0h(A), FTO/Nb-3h (B) e FTO/Nb-6h (C), ambos com 10 mergulhos.

Imagens de MEV foram realizadas para a amostra FTO/Nb-6h, com quantidades de mergulhos diferentes, a fim de aperfeiçoar e escolher a melhor quantidade de mergulhos realizados pelo *dip-coating* na solução que ficou em reação por 6 horas. Na figura 13 estão as imagens de MEV obtidas com magnificação de 20000x das amostras de FTO/Nb-6h com 3, 6 e 10 imersões sucessivas em solução de óxido de nióbio no tempo de 6 horas.

Como podemos observar, aparentemente uma quantidade menor de mergulho não surge efeito em questão de recobrimento do FTO, pois apresenta a mesma morfologia que o vidro FTO sem nenhum recobrimento⁷⁹, entretanto é observado uma mudança significativa na superfície do vidro FTO com 10 mergulhos, com isto, por apresentar a presença de partículas pequenas e bem distribuídas sobre a superfície, a amostra com 10 mergulhos foi a escolhida para medidas eletroquímicas.

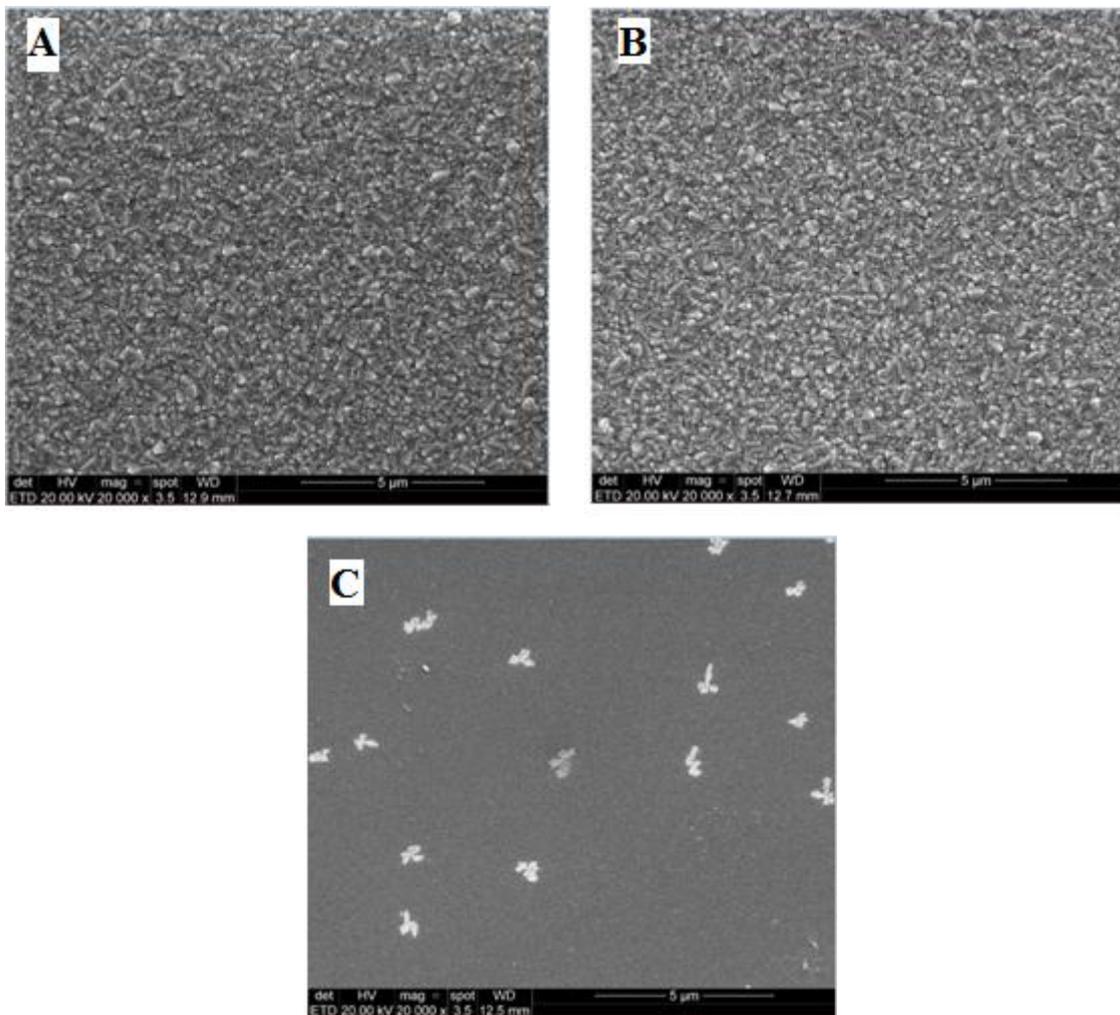


Figura 13: Imagens de MEV das amostras de FTO/Nb-6h com mergulhos de 3x(A), 6x(B) e 10x(C).

Foram realizados os ensaios de perfilometria óptica nas amostras a fim de identificar a espessura (Δ) e simetria dos filmes formados. Foram medidas as interfaces entre o filme de pentóxido de nióbio e o FTO e também a interface entre o filme de nióbia e o filme de PPCo. Estas medidas foram feitas na amostra FTO/Nb-6h/PPCo, com 10 mergulhos na solução coloidal de NbOx. Na Figura 14 temos a imagem em 2D dos filmes na interface nióbia-FTO e na Figura 15 temos a imagem 2D da interface nióbia-PPCo da amostra FTO/Nb-6h/PPCo. Na Figura 16 temos a imagem em 3D dos filmes na interface nióbia-FTO e na Figura 17 temos a imagem em 3D dos filmes na interface nióbia-PPCo da amostra FTO/Nb-6h/PPCo. A Tabela 1 mostra os resultados obtidos com os experimentos.

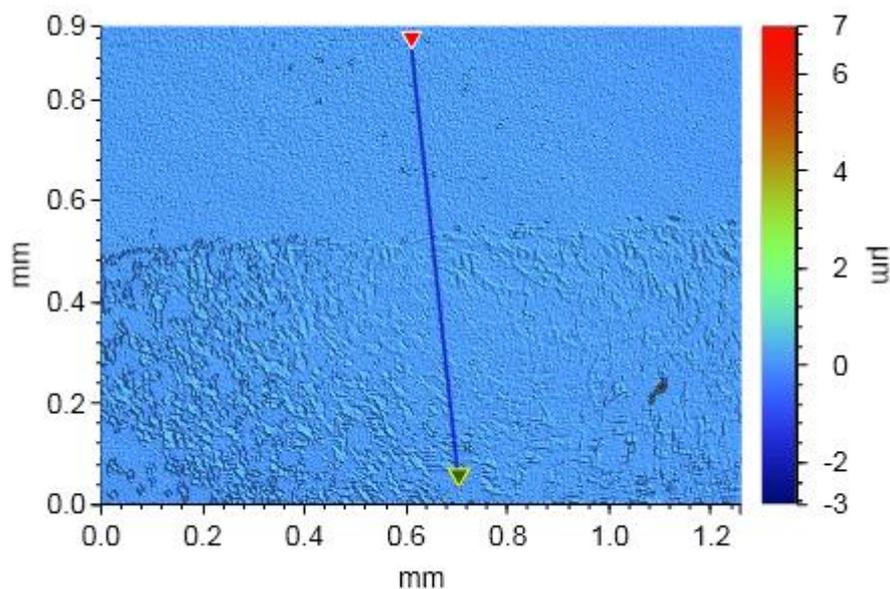


Figura 14: Imagem 2D da amostra FTO/Nb-6h/PPCo interface Nb-FTO.

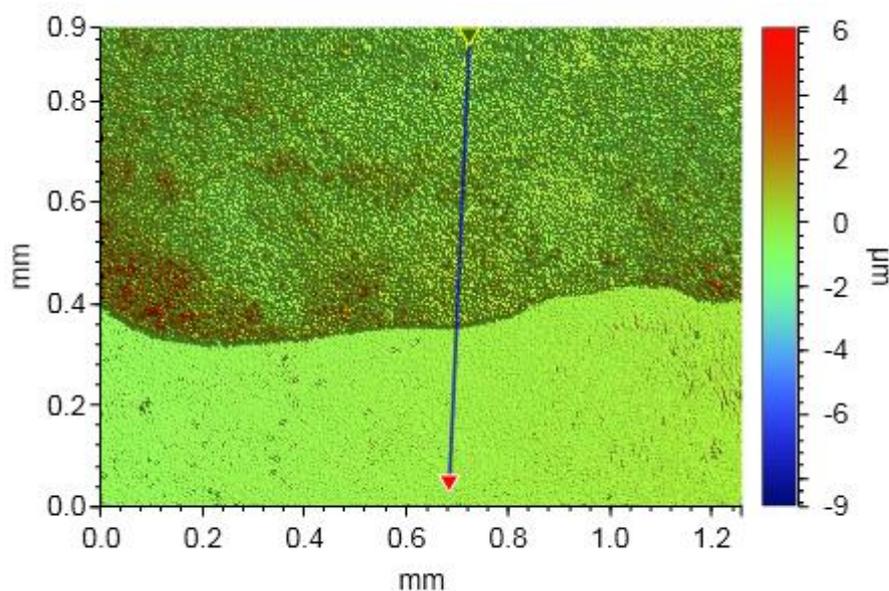


Figura 15: Imagem 2D da amostra FTO/Nb-6h/PPCo interface Nb-PPCo.

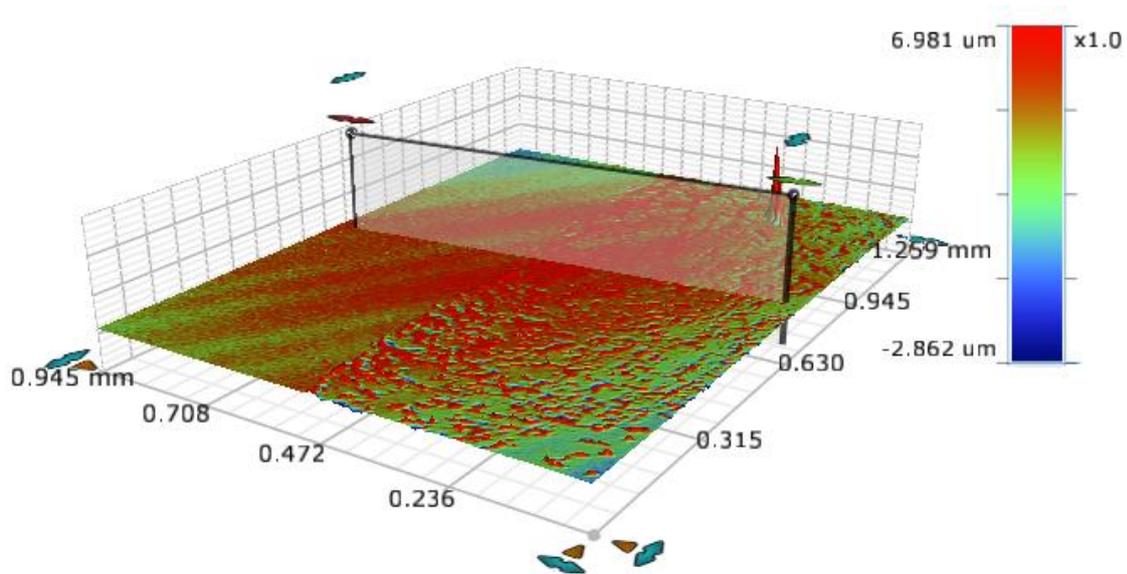


Figura 16:Imagens 3D da amostra PPCo/Nb₂O₅(6hrs)/FTO interface Nb-FTO.

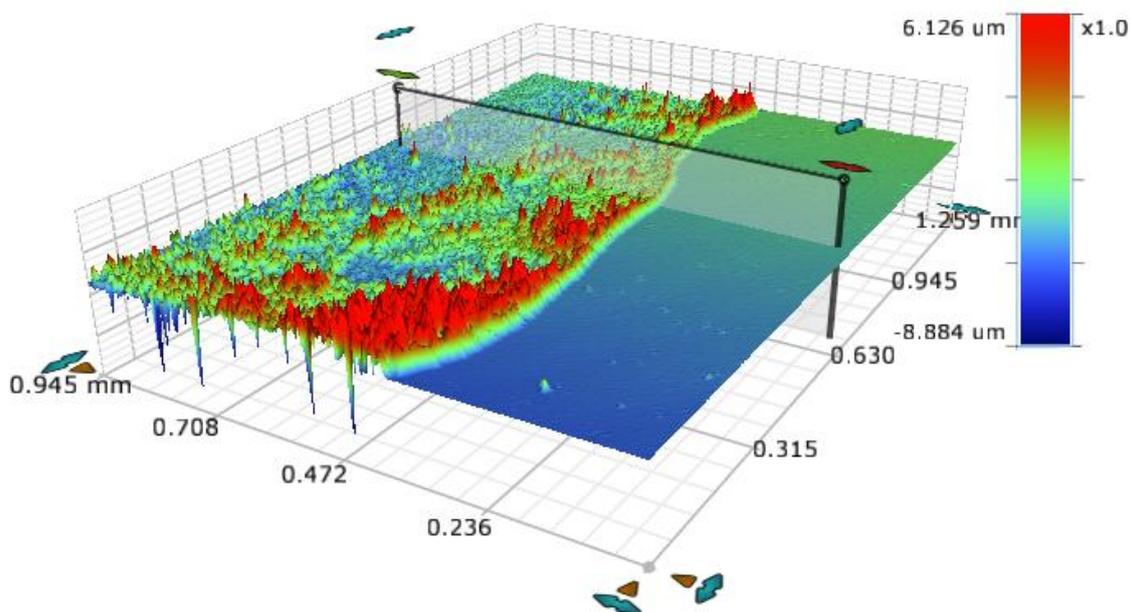


Figura 17: Imagens 3D da amostra PPCo/Nb₂O₅(6hrs)/FTO interface Nb-PPCo.

Tabela 1: dados de perfilometria óptica para a amostra FTO/Nb-6h/PPCo

	Sa (nm)	Ra (nm)	Sq (nm)	Sku	Ssk	Δ (nm)
Interface Nb-FTO	30,02	30,01	76,21	3335,47	44,44	20
interface Nb-PPCo	0,38	0,37	0,57	1,95	10,84	120

Sa- altura média dos picos, Sku-perfil da rugosidade, Ssk-aspereza, Δ - altura interfaces,

O equipamento tem limite de detecção de 10 nm, resultados abaixo deste valor possuem incerteza muito grande e são desconsiderados, porém conseguimos observar tendência na superfície analisada. Com base nos resultados obtidos podemos observar que os filmes formados não são uniformes na amostra FTO/Nb-6h/PPCo. Com este fato não conseguimos identificar uma espessura exata do filme no todo da amostra, mas sim, temos uma média de sua espessura. Isto pode ter ocorrido pela escolha da técnica utilizada para a formação dos filmes de nióbio. Porém é possível observar que com maior tempo de reação há formação de um filme de aproximadamente 120 nm na interface Nb-PPCo e de um filme de aproximadamente 20 nm na interface Nb-FTO. Podemos observar que os filmes de PPCo comparados com o de Nb₂O₅ possuem uma espessura maior. Isto pode ser explicado pela técnica de imobilização adotada, pois ao mergulharmos o FTO na solução e retirar, por gravidade, a solução tende a ficar na extremidade do vidro, fazendo assim que aconteça um acúmulo do filme nas extremidades.

Foi observado também que os filmes formados têm a tendência de serem rugosos e com superfícies pontiagudas (espinhos) em todos os testes realizados.

5.2 COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DA TETRACICLINA NA SUPERFÍCIE DOS FILMES ÓXIDO NIOBIO/PROTOPORFIRINA DE COBALTO

Inicialmente foi realizado teste de voltametria cíclica para identificação de informações importantes dos filmes, como quantos mergulhos na solução coloidal de óxido de nióbio apresentaria melhor resposta eletroquímica na oxidação da tetraciclina, assim como o tempo de reação para a formação da solução coloidal de óxido de nióbio seria a ideal para apresentar a melhor resposta eletroquímica.

Na Figura 18 temos os voltamogramas cíclicos do eletrodo vidro FTO puro sem nenhuma modificação, e dos eletrodos utilizando as amostras FTO/Nb-3h/PPCo e FTO/Nb-

6h/PPCo ambos com 10 mergulhos na solução coloidal de óxido de nióbio. Os testes foram realizados utilizando 20 mL de tampão PBS com pH 2,01, KCl 0,5 mol L⁻¹ e na presença de 566 μmol L⁻¹ de solução de TET.

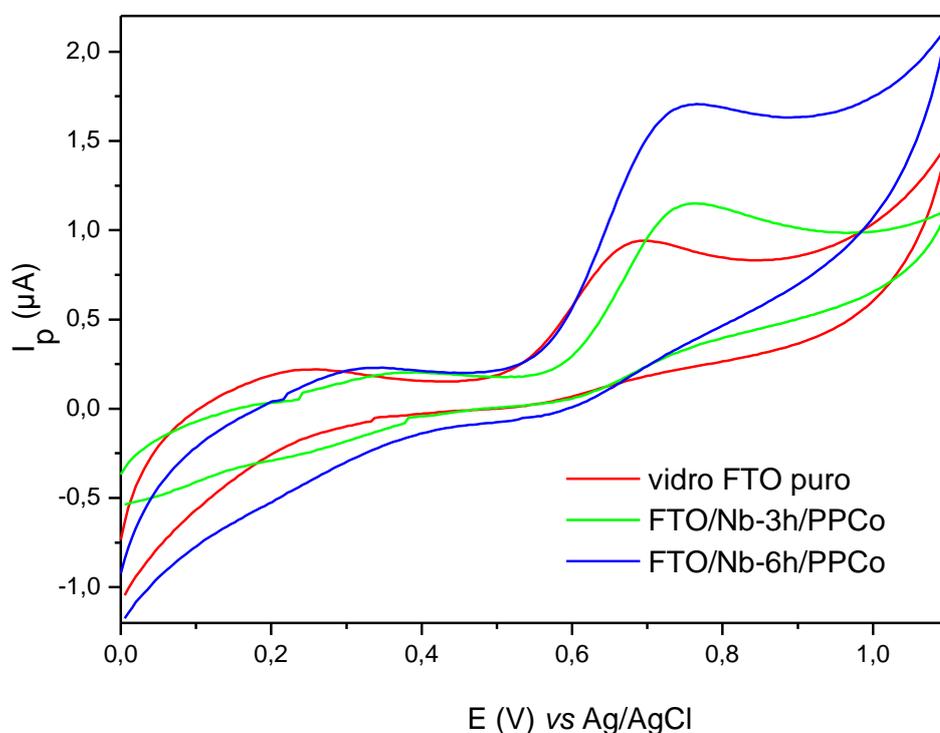


Figura 18: Voltamogramas cíclicos dos eletrodos, vidro FTO puro, FTO/Nb-3h/PPCo e FTO/Nb-6h/PPCo na presença de 566 μmol L⁻¹ de TET tampão PBS, pH 2,01, KCl 0,5 mol L⁻¹ e $v=20 \text{ mV s}^{-1}$

Podemos observar que o vidro FTO sem nenhuma modificação já responde a adição do analito em questão, observando-se um pico anódico irreversível em 0,75 V atribuído à oxidação de TET^{6,8}, porém nos eletrodos FTO/Nb-3h/PPCo e FTO/Nb-6h/PPCo foi observado um pico de oxidação em 0,74V com maior intensidade. Dentre esses dois eletrodos modificados, o que apresentou melhor resposta foi o eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo, como vimos na seção anterior esta amostra apresentou partículas menores que contribuíram com um aumento de área superficial que pode ter permitido maior adsorção do PPCo e, conseqüentemente, uma melhor resposta.

Na Figura 19 são apresentados os voltamogramas cíclicos do eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo realizado com 3, 6 e 10 mergulhos da solução coloidal de óxido de nióbio, as medidas foram realizadas na presença de 566 μmol L⁻¹ de TET. Podemos observar que no

eletrodo preparado com 3 mergulhos (3m) não foi observado pico de oxidação de TET, já os eletrodos preparados com uma maior quantidade de imersões (6 e 10 m) apresentaram pico de oxidação do TET, sendo mais definido com o eletrodo feito com 10 m.

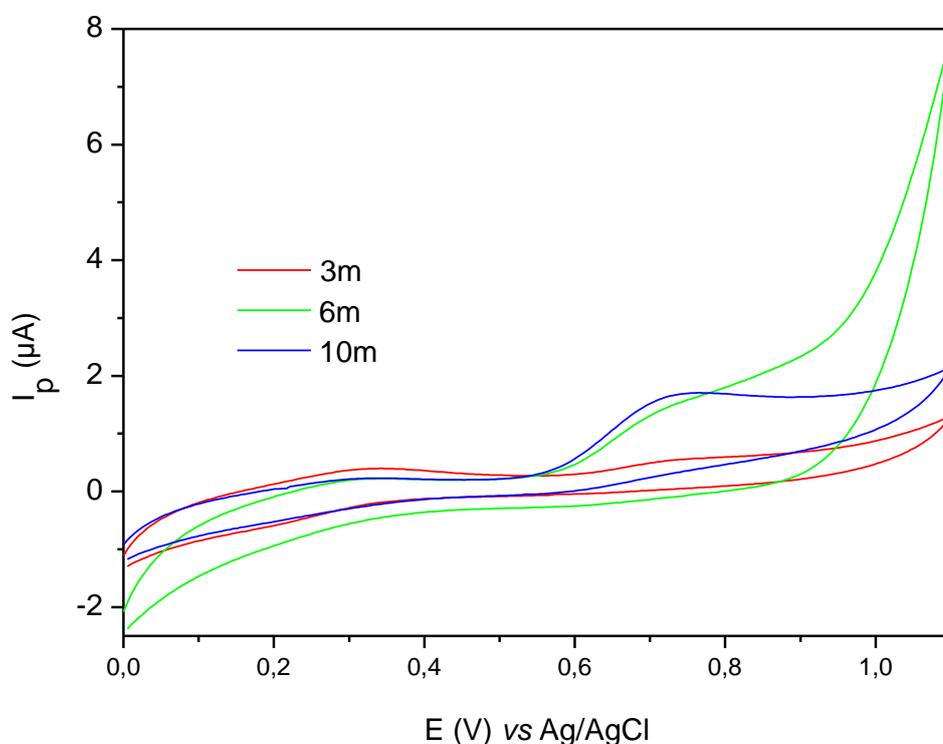


Figura 19: Voltamogramas cíclicos do eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo preparado com 3, 6 e 10 mergulhos, na presença de $566 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TET em tampão PBS, pH 2,01, $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $v=20 \text{ mV s}^{-1}$

Com objetivo de identificar qual seria a melhor condição para a detecção da TET foi realizado o estudo pH da solução do eletrólito suporte na faixa de pH de 2,0 a 5,0. Na Figura 20 temos os voltamogramas cíclicos obtidos utilizando o eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo com 10 mergulhos, na presença de $566 \mu\text{mol L}^{-1}$ de TET. Na Figura 21 é apresentado a relação da intensidade de pico em função do pH é possível observar que o eletrodo apresentou maior intensidade de pico em pH 3, também percebe-se que existe um deslocamento do potencial do pico para valores menores com o aumento de pH, no pH 4 e 5 quase não tem definição de pico.

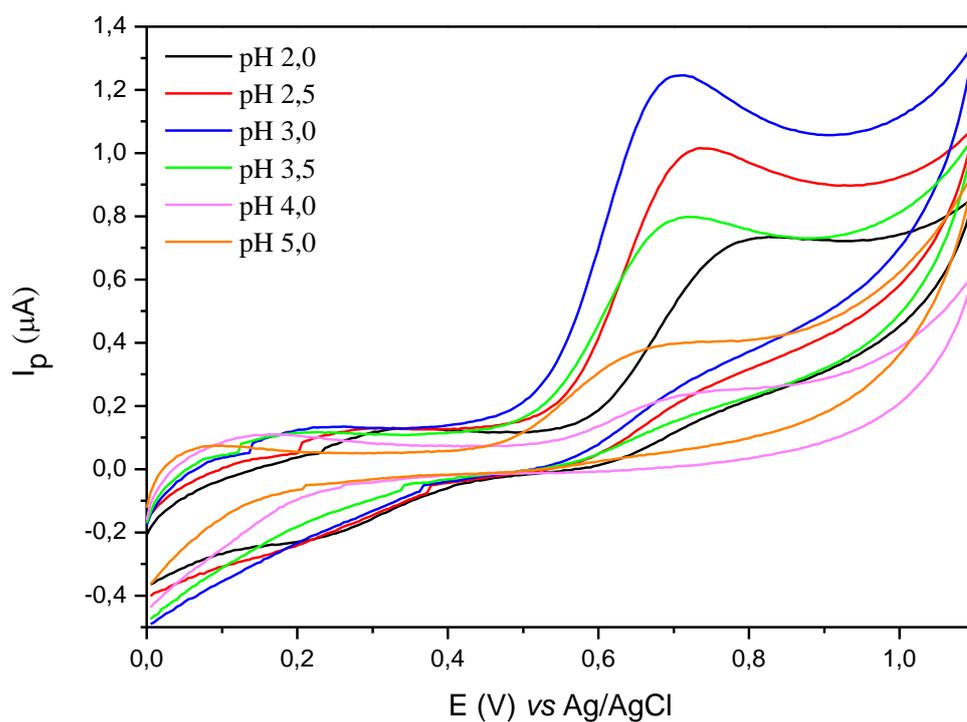


Figura 20: Voltametria cíclica do eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo em diferente pH em tampão PBS, KCl 0,5 mol L⁻¹ na presença de 566 μ mol L⁻¹ de TET, $v= 20$ mV s⁻¹

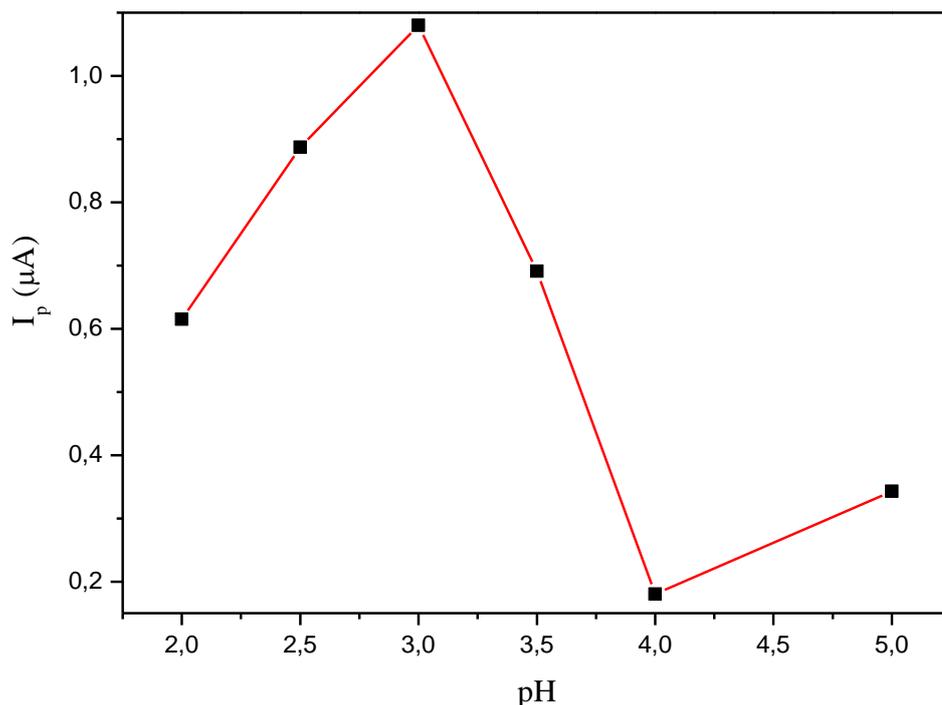


Figura 21: Relação da intensidade de pico em função do pH da solução tampão obtido da Figura 20

Para avaliar a performance eletroanalítica foi realizada curva de calibração do eletrodo PPCo-Nb-6h/FTO a fim de encontrar as figuras de mérito, limite de detecção, equação linear e sensibilidade do eletrodo. Para a realização da curva foi utilizada a técnica voltametria linear (LV), 20 mL de solução tampão PBS pH 3,0 e solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de TET, as adições foram feitas em alíquotas de $50 \mu\text{L}$ na cela contendo 20 mL de tampão PBS, agitação do eletrólito suporte por 2 min e repouso de 1 min. Na Figura 22 temos os voltamogramas obtidos. Podemos observar que na medida que é aumentado a concentração de TET na cela temos também um aumento na intensidade de pico, na Figura 23 é apresentado a relação entre a intensidade de pico e a concentração.

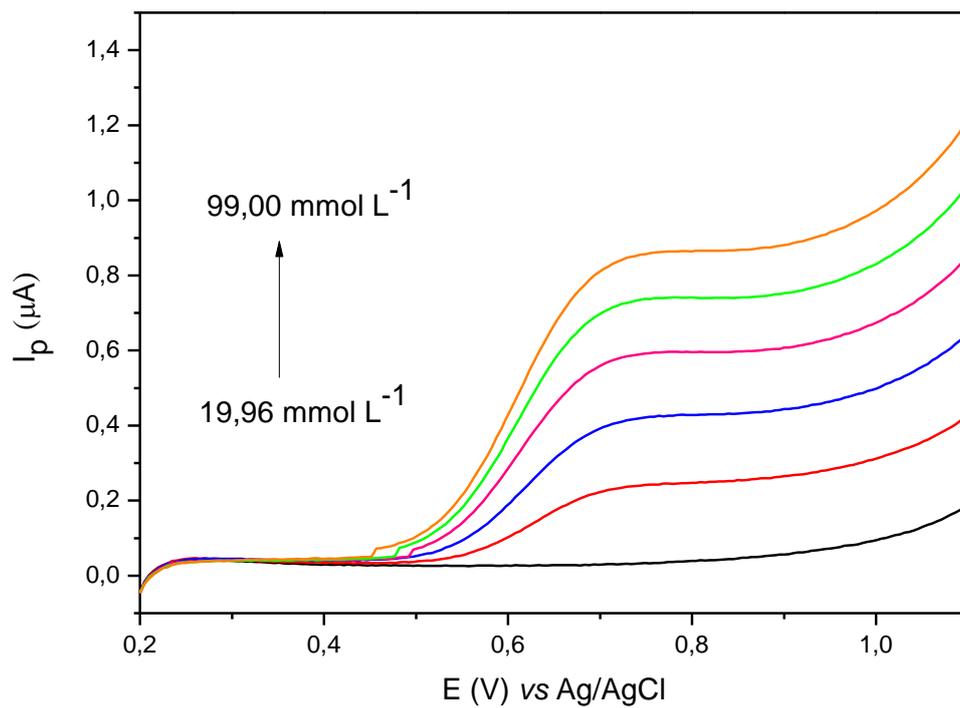


Figura 22: Voltamogramas realizados para curva de calibração do eletrodo PPCo-Nb-6h/FTO.

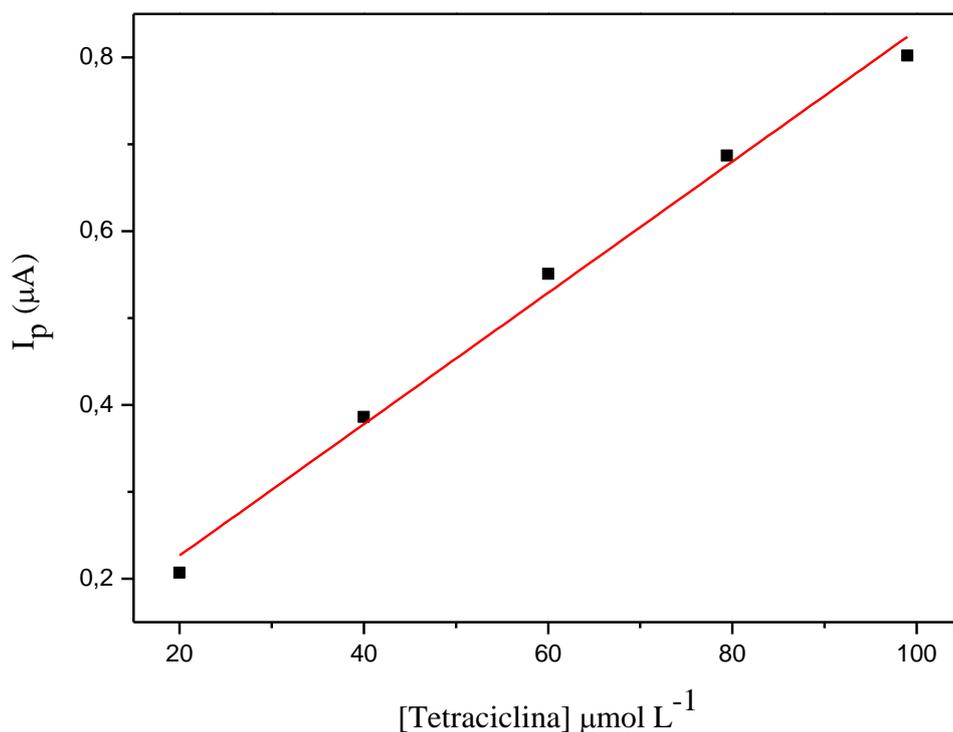


Figura 23:Regressão Linear obtida da curva de calibração

A equação linear foi dada pela equação abaixo:

Equação linear: I_p (μA) = 0,0756 ($\pm 0,02$) + 0,00756 ($\pm 0,0003$) [TET] (mol L^{-1}) com $R^2 = 0,9908$

A sensibilidade do eletrodo FTO/Nb-6h/PPCo é dada pelo coeficiente angular da regressão linear, sendo o valor de $0,00756 \mu\text{A } \mu\text{mol}^{-1} \text{L}$ obtido na faixa de $19,96 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $99 \mu\text{mol L}^{-1}$. O limite de detecção (LOD) é obtido pela equação abaixo, no qual o termo SD_{branco} representa o desvio padrão de medidas do branco. Considerando SD_{branco} para 10 medidas, obtêm-se um limite de detecção de $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Equação Limite de detecção (LOD):

$$LOD = \frac{3 \times SD_{\text{branco}}}{\text{Sensibilidade}}$$

Na tabela 2 temos um quadro comparativo com outros eletrodos utilizando técnicas eletroquímicas a fim de comparar os resultados obtidos com os já existentes na literatura para validar os resultados obtidos.

Tabela 2: Comparação com trabalhos já realizados para detecção da tetraciclina

Eletrodo	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Faixa de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Referência
FTO/Nb-6h/PPCo	0,27	19,96 – 99	Este trabalho
GR-L-Cys/GCE ^a	0,12	8–140	84
MWCNT-COOH-GO/CPE ^b	0,36	20–310	14
GCE (Fe/Zn-MMT) ^c	10	30–5200	85
MIP-Pt/Ti ^d	0,053	2–20	86
MWNTsGNPs ^e	0,083	0,2 –83	87
GCE (IL-MWNT) ^f	0,030	0,11–22	88
GPE ^g	2,6	4–22	7
ERGO-SPE ^h	12	20–80	89
PtNPs/C/GCE ⁱ	4,28	9,99–44	90

^a = Grafeno-L-cisteína/carbono vítreo

^b = Nanotubo de carbono multi paredes-óxido de grafeno/eletrodo de pasta de carbono

^c = Catalisador de montmorilonita (Fe/Zn-MMT) com troca catiônica de ferro/zinco em eletrodo de carbono vítreo(GCE)

^d = Aglomerado de micro-nano Pt depositado em folha de titânio (Pt/Ti)

^e = Eletrodo de nanopartículas de nanotubo de carbono modificado com polímero de impressão molecular

^f = Líquido iônico/nanotubos de carbono em eletrodo de carbono vítreo

^g = eletrodo composto de poliuretano de grafite

^h = óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente/eletrodo serigrafados

ⁱ = Nanopartículas de platina suportadas em carbono (PtNPs/C) revestidas em GCE.

Podemos observar que o eletrodo realizado obteve ótimos LOD e faixa de detecção para o analito proposto. Com isto observamos que a plataforma pode ser utilizada como uma alternativa para detecção do antibiótico tetraciclina.

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foram depositados filmes nanoestruturados de óxido de nióbio na superfície do vidro condutor FTO utilizando a técnica *dip-coating*. Na superfície dos filmes foi imobilizado a protoporfirina de Co(II). O filme realizado com a solução coloidal de 6 horas de reação e com 10 mergulhos apresentou significativa mudança na morfologia com excelentes resultados, possibilitando que estudos futuros desta plataforma ou variações dela sejam estudados para melhorar ainda mais os resultados obtido. Após a imobilização com PPCo, a plataforma obtida apresentou resposta linear na faixa de $19,96 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ a $99 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, com sensibilidade de $0,00756 \mu\text{A} \mu\text{mol}^{-1} \text{L}$ e limite de detecção de $0,27 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Esses resultados mostram que o material é promissor para aplicação no desenvolvimento de sensores eletroquímicos para detecção de tetraciclina, pois apresenta resultados significativos para o analito escolhido e abre um caminho para aprofundarmos mais os estudos desta plataforma para detecção deste e de outros antibióticos.

7 REFERÊNCIAS

- [1] Fritz, J.W., Zuo, Y., Simultaneous determination of tetracycline, oxytetracycline, and 4-epitetracycline in milk by high-performance liquid chromatography, *Food Chem.* **2007**, *105*, 1297–1301.
- [2] Arabsorkhi B. and Sereshti, H., *Microchem. J.*, **2018**, *140*, 241–247.
- [3] Devkota, L., Nguyen, L. T., Vu, T. T. and Piro, B., *Electrochim. Acta*, **2018**, *270*, 535–542.
- [4] Kumar, K., Gupta, S. C., Chander, Y. and Singh, A. K., *Advances in Agronomy*, Academic Press, **2005**, *87*, 1–54.
- [5] Zhou, T., Liu, J.-J., Xu, Y. and Wu, Z.-Y., *Microchem. J.*, **2019**, *145*, 703–707.
- [6] Kesavan, S.; Kumar, D.R.; Lee, Y. R.; Shim, J-J; Determination of tetracycline in the presence of major interference in human urine samples using polymelamine/electrochemically reduced graphene oxide modified electrode; *Sensors and Actuators B*; **2017**, *241*, 455-465.
- [7] Calixto, C.M.F.; Cavaleiro, É.T.G., Determination of tetracycline in bovine and breast milk using a graphitepolyurethane composite electrode, *Analytical Letters* **2017**, *50*, N° 14, 2323-2334
- [8] Faria, L.V.; Lima, A. P.; Araújo, F. M.; Lisboa, T. P., Matos, M. A. C.; Munoz, R. A. A.; Matos, R. C.; High-throughput amperometric determination of tetracycline residues in Milk and quality control of pharmaceutical formulations: flow-injection versus batch-injection analysis, *Anal. Methods*, **2019**, *11*, 5328-5336
- [9] Katzung, A.J., *Basic and Clinical Pharmacology*, McGraw-Hill, New York, **2006**.
- [10] Chopra, I., Roberts, M., Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **2001**, *65*, 232–260.
- [11] Deon, M., Kim, J., Paeng, K.J., Park, S.W., Paeng, I.R., Biotin-avidin mediated competitive enzyme-linked immunosorbent assay to detect residues of tetracyclines in milk, *Microchem. J.*, **2007**, *88*, 26–31.
- [12] Gwee, M.C., Can tetracycline-induced fatty liver in pregnancy be attributed
- [13] Kumar, A., Panda, A.K., Sharma, N., Determination of antibiotic residues in bovine milk by HPLC-DAD and assessment of human health risks in Northwestern Himalayan region, India *J. Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1007/s13197-021-04988-8>
- [14] Wong, A., Scontrì, M., Materon, E.M., Lanza, M.R.V., Sotomayor, M. D.P.T, Development and application of an electrochemical sensor modified with multi-walled carbon

nanotubes and graphene oxide for the sensitive and selective detection of tetracycline, *J. of Electroanal. Chem.*, **2015**, 757, 250–257

[15] Tasci.F., Canbay, H.S., Doganturk, M. Determination of antibiotics and their metabolites in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method, *Food Control*, **2021**, 127, 108147

[16] Mohsenzadeh, M. S.; Mohammadinejad, A.; Mohajeri, S.A.; *Food Additives& Contaminants Part A*, **2018**, 35, 10, 1959-1974

[17] Li. F., Wu, Y., Chen, D., Guo, Y., Wang, X., Sun, X., Sensitive dual-labeled electrochemical aptasensor for simultaneous detection of multi-antibiotics in Milk, *Inter. j. of hydrog. Energ.*, **2021**, 46, 23301-23309.

[18] Sousa, L. M.; Vilarinho, L.M.; Ribeiro, G.H.; Bogado, A. L.; Dinelli, L. R. *R.Soc. open sci.* **2017** Vol.4 170675

[19] He, B.; Mao, Y. L.; Zhang, Y.; Yin, W.; Hou, C. J.; Huo, D. Q.; Fa, H. B.; *NANO: Brief Reports and Reviews*, **2017**, Vol. 12, N°. 4 1750046 (9 pages) World Scientific Publishing Company DOI: 10.1142/S1793292017500461

[20] Fan, S.; Zhu, Y.; Liu, R.; Zhang, H.; Wang, Z.; Wu, H.; *Sens. Actuator B-Chem.*, **2016**, 233, 206–213.

[21] Montenegro, L. M. P.; De Souza, L. V.; Lima, K. O.; De Oliveira, H. P. M.; Fernandes, A. U.; Morawski, F. M.; Benvenuti, E. V.; Arenas, L. T.; Bianchini, D.; *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, **2018**, 28, 2518–2524.

[22] Reichman, B., Fan, F. R. F. and Bard, A. J., *J. Electrochem. Soc.*, **1980**, 127, 333

[23] Arenas, L.T., Villis, P.C.M., Arguello, J., Landers, R., Benvenuti, E.V. Gushikema, Y.; Niobium Oxide Dispersed On A Carbon–Ceramic Matrix, SiO₂/C/Nb₂O₅, Used As An Electrochemical Ascorbic Acid Sensor. *Talanta*. **2010**, 83 241–248.

[24] Ziolk, M., Sobczak, I.; The role of niobium component in heterogeneous catalysts, *Catal. Today*. **2016**, 285, 211-225.

[25] García-Sancho, C., Saboya, R.M.A., Cecilia, J.A., Sales, A.V., Luna, F.M.T., Rodríguez-Castellón, E. C., Cavalcante Jr., L.; Influence Of Pore Size And Loading For Nb₂O₅/SBA-15 Catalysts On Synthetic Ester Production From Free Fatty Acids Of Castor Oil., *Mol. Catal.* **2017**, 436, 267–275.

[26] Silva, A., Wilson, K., Lee, A.F., dos Santos, V.C., Bacilla, A.C.C., Mantovani, K.M. Nakagaki, S.; Nb₂O₅/SBA-15 Catalyzed Propanoic Acid Esterification. *App. Catal. B: Environ.* **2017**, 205, 498–504.

- [27]. García-Sancho, C. Moreno-Tost, R. Mérida-Robles, J.M., Santamaría-González, J., Jiménez-López, A., Maireles-Torres, P.; Niobium-Containing MCM-41 Silica Catalysts For Biodiesel Production. *App. Catal. B: Environ.* **2011**, *108*, 161–167.
- [28] Pessoa, C.A., Gushikem, Y.; Cobalt(II) Metallated Hematoporphyrin IX And Protoporphyrin IX Immobilized On Niobium(V) Oxide Grafted On A Silica Gel Surface:Electrochemical Studies. *J Electroanal Chem.* **1999**, *477*, 158–163
- [29] Souza, L.V., Virgili, A.H., Teixeira, G.O., Hinrichs, R., Bianchini, D., Costa, T. M. H., Arenas, L. T., Benvenuti, E. V., de Menezes, E. W., Mesoporous structured silica modified with niobium oxide and cobalt hematoporphyrin applied to the simultaneous electrochemical evaluation of oxalic and uric acids. *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2021**.
- [30] Mujawar,S.H., Inamdar, A.I., Patil, S.B., Patil, P.S., Electrochromic properties of spray-deposited niobium oxide thin films, *Solid State Ionics*, **2006**, *177*, 3333–3338.
- [31]Do Prado, N. T.; Oliveira, L.C.A. Nanostructured niobium oxide synthesized by a new route using hydrothermal treatment: High efficiency in oxidation reactions. *App. Catal. B: Environ.*, **2016**, *29*, 481-488.
- [32]Rathnayake, D., Perera, I., Shirazi-amin, A., Kerns,P., Dissanayake, S., Suib, S. L. Mesoporous Crystalline Niobium Oxide with a High Surface Area: A Solid Acid Catalyst for Alkyne Hydration. *ACS Appl. Mater. Interfaces*,**2020**, 47389–47396.
- [33]Fuchigami, T., Kuroda, M. Nakamura, S., Haneda, M., Kakimoto, K., Spiky-shaped niobium pentoxide nano-architecture: highly stable and recoverable Lewis acid. *catalyst. Nanotechnology*, **2020**.
- [34]Du, Y., Héroguel, F. Nguyen, X. T., Luterbacher, J. S., Post-synthesis deposition of mesoporous niobic acid with improved thermal stability by kinetically controlled sol-gel overcoating. *J. of Materials Chem. A*, **2019**.
- [35] Bordin, I., Pedott, V. A., Oro, C. E. D., Junges, A., Dallago, R. M., Mignoni, M. L.. Nb-MCM-Type Mesoporous Material Synthesis Using Ionic Solid as Structure-Directing Agent for In Situ Lipase Immobilization. *App. Biochem. and Biotech.*, **2021**, *193*.
- [36]Kumabe, Y., Taga, H., Kan, K., Ohtani, M., Kobiuro, K., Porous niobia spheres with large surface area: alcothermal synthesis and controlling of their composition and phase transition behaviour. *RSC Advances*, **2020**.
- [37] Jha, G., Tran, T., Qiao, S., Ziegler, J. M., Ogata, A. F., Dai, S., Xu, M., Thai, M. L., Chandran, G. T., Pan, X., Penner, R. M., Electrophoretic Deposition of Mesoporous Niobium(V)Oxide Nanoscopic Films. *Chem. of Materials*,**2018**, *30*, 6549-6558.

- [38] Yang,G., Liang, Y., Xiong,Z., Yang,J., Wang, K., Zeng, Z., Molten salt-assisted synthesis of Ce₄O₇/Bi₄MoO₉ heterojunction photocatalysts for Photo-Fenton degradation of tetracycline: Enhanced mechanism, degradation pathway and products toxicity assessment, *Chem. Engin. J.*, **2021**, 425, 130689
- [39] Lian, J., Ouyang, Q., Tsang,P. E., Fang, Z., Fenton-like catalytic degradation of tetracycline by magnetic palygorskite nanoparticles prepared from steel pickling waste liquor, *App. Clay Science*, **2019**, 182, 105273.
- [40] Zhang,X., Ren,B., Li, X., Liu, B., Wang,S., Yu, P., Xu, Y., Jiang, G., High-efficiency removal of tetracycline by carbon-bridge-doped g-C₃N₄/ Fe₃O₄ magnetic heterogeneous catalyst through photo-Fenton process. *J. of Hazardous Mater.*, **2021**, 418, 126333
- [41] Zhang, Y., Shi, J., Xu, Z., Chen, Y., Song, D., Degradation of tetracycline in a schorl/H₂O₂ system: Proposed mechanism and intermediates, *Chemosphere*, **2018**, 202, 661-668.
- [42] Luo, T., Feng, H., Tang, L., Lu, Y., Tang, W., Chen, S., Yu, J., Xie, Q., Ouyang, X., Chen, Z., Efficient degradation of tetracycline by heterogeneous electro-Fenton process using Cu-doped Fe@Fe₂O₃: Mechanism and degradation pathway. *Chem. Engin. Journ.*, **2020**, 382, 122970.
- [43] Jiang, J., Wang, X., Liu, Y., Ma, Y., Li, T., Lin, Y., Xie, T., Dong, S., Photo-Fenton degradation of emerging pollutants over Fe-POM nanoparticle/porous and ultrathin g-C₃N₄ nanosheet with rich nitrogen defect: Degradation mechanism, pathways, and products toxicity assessment, *App. Catal. B: Environ.*, **2020**, 278, 119349.
- [44] Junior,W. S. F., Zaccarin, L. F., Oliveira, G. G., de Oliveira, P. R., Kalinke, C., Bonacin, J. A., Prakash, J., Janegitz, B. C., Electrochemical Sensor Based on Nanodiamonds and Manioc Starch for Detection of Tetracycline, *Journal of Sensors*, **2021**.
- [45] Chatten, L. G., Fleischmann, M., Pletcher D., THE ANODIC OXIDATION OF SOME TETRACYCLINES. *J. Electroanal. Chem.*, **1979**, 102, 407-413.
- [46]. Zhou, Y.; Kubota, L. T. Trends in Electrochemical Sensing. *ChemElectroChem* **2020**, 7.
- [47]. Stradiotto, N. R.; Yamanaka, H.; Zaroni, M. V. B. Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14.
- [48]. Zhang, X.; Ju, H.; Wang, J. *Electrochemical Sensors, Biosensors and Their Biomedical*, 1st ed.; Academic Press: San Diego, CA, **2008**.
- [49]. Bard, Allen J., Inzelt, György, Scholz, F. *Electrochemical Dictionary*, 2nd ed.; Bard, Allen J., Inzelt, György, Scholz, F., Ed.; Springer Science & Business Media: London New York, **2012**.

- [50]. Kaya, S. I.; Karabulut, T. C.; Kurbanoglu, S.; Ozkan, S. A. Chemically Modified Electrodes in Electrochemical Drug Analysis. *Curr. Pharm. Anal.* **2019**, *16*.
- [51]. Pingarrón, J. M.; Labuda, J.; Barek, J.; Brett, C. M. A.; Camões, M. F.; Fojta, M.; Hibbert, D. B. Terminology of Electrochemical Methods of Analysis (IUPAC Recommendations 2019). *Pure Appl. Chem.* **2020**, *92*.
- [52] Mohammad-Razdari, A., Ghasemi-Varnamkhasti, M., Rostami, S., Izadi, Z., Ensafi A. A., Siadat, M., Development of an electrochemical biosensor for impedimetric detection of tetracycline in Milk, *J. Food Sci. Technol.*, **2020**, *57(12)*, 4697–4706.
- [53]. Khalafi, L.; Rafiee, M. Cyclic Voltammetry. *Encyclopedia of Physical Organic Chemistry.*, **2017**, *9*.
- [54]. Wang, J. *Analytical Electrochemistry*, 3rd ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New Jersey, **2006**.
- [55]. Thomas, F. G.; Henze, G. *Introduction to Voltammetric Analysis: Theory and Practice*; Csiro publishing: Australia, **2001**.
- [56]. Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications*, Second ed.; JOHN WILEY & SONS, INC.: New York, **2000**
- [57] Zhu, S., Xu, P., Liu, J., Sun, J. Atomic layer deposition and structure optimization of ultrathin Nb₂O₅ films on carbon nanotubes for high-rate and long-life lithium ion Storage, *Electrochim. Acta*, **2020**, *331*, 135268.
- [58] Kurioka, N., Watanabe, D., Haneda, M., Shimanouchi, T., Mizushima, T., Kakuta, N., Ueno, A., Hanaoka, A., Sugita, Y., Preparation of Niobium Oxide Films as a Humidity Sensor *Catalysis Today*, **1993**, *16*, 495-501.
- [59] Gimón-Kinsel, M. E., Balkus, Jr., K. B., Pulsed laser deposition of mesoporous niobium oxide thin films and application as chemical sensors, *Micro. and Meso. Materials*, **1999**, *28*, 113–123.
- [60] Canevari, T. C., Arenas, L. T., Landers, R., Custodio, R. Gushikem, Y., Simultaneous electroanalytical determination of hydroquinone and catechol in the presence of resorcinol at an SiO₂/C electrode spin-coated with a thin film of Nb₂O₅, *Analyst*, **2013**, *138*, 315.
- [61] Schafer, I., Gruehn, R., Schulte, F., The Modifications of Niobium Pentoxide, *Angew. Chem. internat.*, **1966**, *1(5)*, 1.
- [62] Gushikem, Y.; Campos, E.A.; Cobalt(II) Hematoporphyrin IX Immobilized in a Cellulose Acetate Niobium(V) Oxide Composite Membrane: Preparation and Oxygen Reduction Study. *J. Braz. Chem Soc.*, **1998**, *9(3)*, 273-278.

- [63] Antonangelo, A.R., Bezzu, C.G., Mughal, S.S., Malewschik, T., McKeown, N.B., Nakagaki, S.; A Porphyrin-Based Microporous Network Polymer That Acts As An Efficient Catalyst For Cyclooctene And Cyclohexane Oxidation Under Mild Conditions. *Catal. Commun.* **2017**, *99*, 100-104.
- [64] Montenegro, L.M.P., de Souza, L.V., Lima, K.O., de Oliveira, H.P.M., Fernandes, A.U., Morawski, F.M., Benvenuti, E.V., Arenas, L.T., Bianchini, D.; Copper Porphyrin Immobilized on MCM-41 Surface by Using Aminopropyl as Coupling Agent and Its Use In Electrochemical Oxygen Determination. *J. Inorg. Organomet. Polym.* **2018**, *28*, 2518– 2524
- [65] Magna, G. Zor, S.D., Catini, A., Capuano, R. Basoli, F., Martinelli, E., Paolesse, R., Di Natale, C.; Surface Arrangement Dependent Selectivity Of Porphyrins Gas. *Sensors. Sens. Actuators.* **2017**, *251*, 524-532.
- [66] Lee, H., Hong, K.-I., Jang, W.-D.; Design and applications of molecular probes containing porphyrin derivatives. *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *354*, 46–73.
- [67] Tzepon, R. G., Raman, E., Toote, L. E., Wright, D. W., Gerdon, A. E., Signal Amplification with Co(III) Protoporphyrin IX Nanoparticles and Anodic Stripping Voltammetry, *Electroanal.*, **2021**, *33*, 1– 8.
- [68] Yu, C., Ma, D., Wang, Z., Zhu, L., Guo, H., Zhu, X., Wang, J., Solvothermal growth of Nb₂O₅ films on FTO coated glasses and their electrochromic properties, *Ceram. Inter.*, **2021**, *47*, 9651–9658
- [69] Gobel, G., Talke, A., Lisdat, F., FTO – an Electrode Material for the Stable Electrochemical Determination of Dopamine. *Electroanal.*, **2018**, *30*, 225 –229.
- [70] Li, S., Wang, T., Lian, J., Zhao, Y., Huang, Y., Qiu, J., Xu, H., Zhang, X., Li, H., Pseudocapacitive performance of binderfree nanostructured TT-Nb₂O₅/FTO electrode in aqueous electrolyte, *Nanotechnology*, **2019**, *30*, 025401.
- [71] Abdullahi, S., Moreh, A. U., Hamza, B., Sadiya, U., Abdullahi, Z., Wara, M. A., Kamaluddeen, H., Kebbe, M. A., Monsurat, M. F., Optical Characterization of Fluorine doped Tin Oxide (FTO) thin films deposited by spray pyrolysis technique and annealed under Nitrogen atmosphere, *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, **2014**, *9*, 947.
- [72] Tong, G.X., Li, Y., Wang, F., Huang, Y.Z., Fang, B.Y., Wang, X.H., Zhu, H.Q., Li, L., Shen, Y.J., Zheng, Q.X., Liang, Q., Yan, M., Qin, Y., Ding, J., Thermal oxidation-grown vanadium dioxide thin films on FTO (Fluorine-doped tin oxide) substrates, *Infrared Phys. Technol.*, **2013**, *61*, 37–41.

- [73] Russo, B., Cao, G.Z., Fabrication and characterization of fluorine-doped thin oxide thin films and nanorod arrays via spray pyrolysis, *Appl. Phys. a-Materials Sci. Process.*, **2008**, *90*, 311–315.
- [74] Falk, J. E. *J. Amer. Chem. Soc.*, **1964**, Vol. 2, 1154–1155
- [75] Zahavy, E.; Willner, I.; *J. Americ. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12499
- [76] More, V., Shivade, V., Bhargava, P., Effect of Cleaning Process of Substrate on the Efficiency of the DSSC, *Trans. Indian Ceram. Soc.*, **2016**, *75*, 59–62.
- [77] Ribeiro, E.S., Dias, S.L.P., Gushikem, Y., Kubota, L. T.; Cobalt (II) Porphyrin Complex Immobilized On The Binary Oxide SiO₂/Sb₂O₃: Electrochemical Properties And Dissolved Oxygen Reduction Study., *Electrochim. Acta.*, **2004**, *49*, 829–834
- [78] Sousa, C. S., Lima, K. C. M. S., Botelho, C. N., Pereira, N. M., Fernandes, R. N., Silva, G. G., Damos, F. S., Luz, R. C. S., Photoelectrochemical sensor for determination of naringin at low oxidation potential using a modified FTO electrode with cadmium sulfide and titanium dioxide sensitized with chloroporphyrin IX iron(III), *J. of Solid State Electrochem.*, **2020**, *24*, 1715–1726
- [79] Moholkar, A.V., Pawar, S.M., Rajpure, K.Y., Bhosale, C.H., Kim, J.H., Effect of fluorine doping on highly transparent conductive spray deposited nanocrystalline tin oxide thin films. *App. Surface Science*, **2009**, *255*, 9358–9364
- [80] Wang, A., Cheng, L., Zhao, W., Shen, X., Zhu, W., Electrochemical hydrogen and oxygen evolution reactions from a cobalt-porphyrin-based covalent organic polymer. *J. of Colloid and Interface Science*, **2020**, *579*, 598–606
- [81] Hofmann, S., Auger- and X-Ray Photoelectron Spectroscopy in Materials Science: A User-Oriented Guide, **2012**.
- [82] Gonçalves, J. M., Iglesias, B. A., Martins, P. R., Angnes, L., Recent advances in electroanalytical drug detection by porphyrin/phthalocyanine macrocycles: developments and future perspectives, *Analyst*, **2021**, *146*, 365.
- [83] Gidi, L., Honores, J., Ibarra, J., Arce, R., Aguirre, M. J., Ramírez, G., Study of the Hydrogen Evolution Reaction Using Ionic Liquid/Cobalt Porphyrin Systems as Electro and Photoelectrocatalysts, *Catalysts*, **2020**, *10*, 239
- [84] Sun, X. M., Ji, Z., Xiong, M. X., Chen, W., The electrochemical sensor for the determination of tetracycline based on graphene/l-cysteine composite film, *J. of the Electrochem. Soc.*, **2017**, *164*, B107–BB12.
- [85] Gan, T., Shi, Z., Sun, J., Liu, Y., Simple and novel electrochemical sensor for the determination of tetracycline based on iron/zinc cations-exchanged montmorillonite catalyst,

Talanta, **2014**, *121*, 187–193.

[86] Zhao, H., Wang, H., Quana, X., Tana, F., Amperometric sensor for tetracycline determination based on molecularly imprinted technique, *Procedia Environ. Sci.*, **2013**, *18*, 249–257.

[87] Wang, H. , Zhao, H., Quan, X., Chen, S., Electrochemical determination of tetracycline Using molecularly imprinted polymermodified carbon nanotube-gold nanoparticles electrode, *Electroanal.*,**2011**, *23*, 1863–1869.

[88] Guo, G., Zhao, F., Xiao, F., Zeng, B., Voltammetric determination of tetracycline by using multi-wall carbon nanotube – ionic liquid film coated glassy carbon electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*,**2009**, *4*, 1365–1372.

[89] Lorenzetti, A. S., Sierra, T., Domini, C. E., Lista, A. G., Crevillen, A. G., Escarpa, A., Electrochemically reduced graphene oxide-based screen-printed electrodes for total tetracycline determination by adsorptive transfer stripping differential pulse voltammetry, *Sensors*, **2020**, *20*.

[90] Kushikawa, R.T., Silva, M.R., Angelo, A.C.D., Teixeira, M.F.S., Construction of anelectrochemical sensing platform based on platinum nanoparticles supported on carbon for tetracycline determination, *Sens. Actuators, B*, **2016**, *228*, 207–213.