

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JESSICA VIVIANA HINOSTROZA RAMOS

Material híbrido bioinorgânico à base de sílica e quitosana aplicado no desenvolvimento de sensor eletroquímico para determinação de paracetamol na presença de dopamina

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Porto Alegre, Abril de 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JESSICA VIVIANA HINOSTROZA RAMOS

Material híbrido bioinorgânico à base de sílica e quitosana aplicado no desenvolvimento de sensor eletroquímico para determinação de paracetamol na presença de dopamina

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química

Profa. Dra. Leliz Ticona Arenas
Orientadora

Porto Alegre, Abril de 2013

A presente dissertação foi realizada inteiramente por mim, Jessica Viviana Hinostroza Ramos, exceto as colaborações as quais são devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre abril de 2011 e abril de 2013, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob orientação da Professora Doutora Leliz Ticona Arenas. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Caciano Zelaya Zapata Noreña



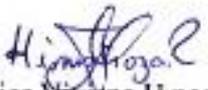
Prof. Dr. Éder Claudio Lima



Prof. Dra. Leandra Franciscato Campo



Prof. Dra. Orientador Leliz Ticona Arenas



Mestranda Jessica Viviana Hinostroza Ramos

DEDICATORIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que de alguma forma me ajudaram em concluir essa etapa da minha vida.

Especial dedicação a minha amada mãe Rosa por ser meu melhor exemplo de mulher e mãe lutadora, também pelo seu infinito apoio, confiança e por sempre acreditar em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e à Virgem Maria por sempre iluminar meu caminho e permitir que eu nunca perca a fé e a constância nas coisas que faço. Sinto-me uma pessoa abençoada.

Agradeço a minha orientadora a Profa. Leliz por ter me dado a oportunidade de ser sua primeira orientanda de mestrado, sua paciência e seu completo apoio na minha realização como mestranda.

Ao professor Edilson meu infinito agradecimento por ter me recebido com os braços abertos e sua confiança, nunca poderei esquecer sua ajuda desde antes de iniciar o mestrado e ao longo desta caminhada. Muito obrigada por ter me ajudado a cumprir um dos meus sonhos.

À professora Tania pela sua sempre disposição a ajudar-me, sua consideração e estimação.

A todos os membros do grupo de Laboratório de Sólidos e Superfícies (LSS) pela convivência nestes dois anos, agradeço especialmente a Eliana, Andrea, Geraldo, Elisângela, Michael, Andressa, Jaqueline e Marina. Levo-me algo aprendido de cada um de vocês.

Agradeço especialmente às alunas de iniciação científica Franciele e Carol pelo companheirismo e troca de conhecimentos neste tempo. Obrigada também pela ajuda.

Agradeço infinitamente a toda minha família, especialmente a meus queridos pais Rosa e José Luis, e meu irmão Denis que mesmo desde longe sempre me davam alegria e me mandavam suas boas vibrações.

Aos meus conterrâneos, gente simpática que logrei conhecer neste tempo. Além do mestrado, ganhei uns verdadeiros amigos que fizeram mais alegres estes dois anos. Sempre lembrarei os bons momentos juntos. Gracias amigos.

Agradeço especialmente a meu querido Thibault pelo apoio, compreensão e carinho nestes últimos meses. Conhecer-te foi um presente ao final desta etapa. Merci beaucoup.

À UFRGS pela oportunidade, os conhecimentos transmitidos, a disposição de equipamentos e tudo que contribuiu na realização do trabalho. E Finalmente à Capes pela bolsa outorgada.

LISTA DE TRABALHOS GERADOS

Resumos de trabalhos em congressos

RAMOS, J.V.H.; MORAWSKI, F.M.; DIAS, S.L.P.; BENVENUTTI, E.V.; COSTA, T.M.H.; ARENAS, L.T.; *Determinação Voltamétrica de paracetamol usando a ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada immobilizada na superfície de um híbrido sílica-quitosana. I Workshop em Materiais Híbridos Multifuncionais (Híbridos 2013)*, 2013, Porto Alegre, RS, Brasil. Pt- 06.

BUENO, C.V.; RAMOS, J.V.H.; CALDAS, E.M.; BENVENUTTI, E.V.; COSTA, T.M.H.; ARENAS, L.T.; *Síntese e caracterização de um híbrido bioinorgânico mesoporoso a base de sílica e quitosana. 35^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, 2012, Águas de Lindóia, SP, Brasil. MAT-023.

RAMOS, J.V.H.; BUENO, C.V.; COSTA, T.M.H.; BENVENUTTI, E.V.; ARENAS, L.T.; *Imobilization of copper (II) tetrasulphophthalocyanine on hybrid sílica-chitosan mesoporous material. Encontro da SBPMAT, MRS Meeting*, 2012, Florianópolis, SC, Brasil. OS-G36.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	xii
Abreviaturas.....	xiii
Resumo.....	xv
Abstract.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO GERAL.....	6
2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
3.1. Materiais Híbridos Organo-Inorgânicos.....	8
3.2. Materiais Híbridos Bioinorgânicos.....	9
3.2.1. Polissacarídeos.....	9
3.2.1.1. Quitosana.....	10
3.2.2. Híbridos Bioinorgânicos mesoporosos à base de sílica.....	12
3.2.3. O Método Sol-Gel de síntese.....	12
3.2.4. Híbridos bioinorgânicos à base de sílica-quitosana e o método sol-gel.....	14
3.3. Sensores Eletroquímicos.....	15
3.3.1. Eletrodo de Pasta de Carbono.....	16
3.3.2. Eletrodo Carbono Cerâmico.....	16
3.4. Paracetamol.....	17
3.5. Dopamina.....	18
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	19
4.1. Materiais.....	20
4.2. Preparação dos híbridos.....	20
4.1.1. Preparação do híbrido bioinorgânico sílica-quitosana (SiO ₂ /QT).....	20
4.1.2. Preparação do híbrido bioinorgânico carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite.....	21
4.3. Imobilização de espécies eletroativas.....	22
4.3.1. Imobilização da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada no híbrido SiO ₂ /QT.....	22
4.3.2. Imobilização do ácido ferroceno carboxílico no híbrido carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite.....	22
4.4. Técnicas de caracterização.....	23

4.4.1. Análise elementar C, H e N.....	23
4.4.2. Isotermas de adsorção e dessorção dos híbridos.....	23
4.4.3. Análise termogravimétrica.....	24
4.4.4. Espectroscopia na região do infravermelho.....	24
4.4.5. Espectroscopia no Ultravioleta-Visível por refletância difusa.....	24
4.4.6. Microscopia eletrônica de varredura.....	24
4.4.7. Espectroscopia de dispersão de energia eletrônica.....	25
4.5. Estudo eletroquímico.....	25
4.5.1. Preparação dos eletrodos.....	25
4.5.1.1. Preparação do eletrodo de pasta de carbono com o híbrido SiO ₂ /QT/CuTsPc ⁴⁻	25
4.5.1.2. Preparação do eletrodo carbono cerâmico com o híbrido SiO ₂ /QT/C- grafite e SiO ₂ /QT/C-grafite/Fc.....	25
4.5.2. Preparação do tampão Britton-Robinson (B-R).....	26
4.5.3. Medidas eletroquímicas.....	26
4.5.4. Estudo eletroquímico da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada imobilizada no híbrido SiO ₂ /QT.....	27
4.5.4.1. Medidas de voltametria cíclica para a determinação de paracetamol.....	27
4.5.4.2. Medidas de voltametria de pulso diferencial para a determinação de paracetamol e dopamina.....	27
4.5.5. Estudo eletroquímico por voltametria cíclica para o eletrodo carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite.....	28
4.5.6. Estudo eletroquímico por voltametria cíclica para o eletrodo carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite/Fc.....	28
4.5.6.1. Medidas de voltametria cíclica para a determinação de paracetamol.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	29
5.1. Caracterização e estrutura do híbrido sílica-quitosana.....	30
5.2. Propriedades e aplicação do híbrido sílica-quitosana.....	36
5.2.1. Imobilização da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada no híbrido SiO ₂ /QT.....	36
5.2.2. Propriedades electrocatalíticas do híbrido SiO ₂ /QT/CuTsPc ⁴⁻ na determinação de paracetamol e dopamina.....	38

5.2.2.1. Medidas de voltametria cíclica para a determinação de paracetamol.....	38
5.2.2.2. Medidas de voltametria de pulso diferencial para a determinação de paracetamol.....	43
5.2.2.3. Determinação simultânea de paracetamol e dopamina mediante voltametria de pulso diferencial e voltametria cíclica.....	45
5.3. Caracterização e estrutura do híbrido carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite.....	53
5.4. Propriedades e aplicação do híbrido carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite.....	55
5.4.1. Imobilização do ácido ferroceno carboxílico no híbrido SiO ₂ /QT/C-grafite.....	57
5.4.2. Estudo de voltametria cíclica para o eletrodo carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite/Fc.....	59
6. CONCLUSÕES.....	61
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (a) Representação da estrutura da QT, sendo DA o grau médio de acetilação da QT e (b) representação de uma cadeia repetitiva da QT.....	10
Figura 2. Processo de desacetilação da quitina.....	11
Figura 3. Esquema das etapas seguidas no processo sol-gel.....	14
Figura 4. Reação de oxidação do paracetamol a <i>N</i> -acetil- <i>p</i> -benzoquinona-imina.....	17
Figura 5. Reação de oxidação da dopamina a dopamina-quinona.....	18
Figura 6. Esquema do sistema utilizado para a imobilização do ácido ferroceno carboxílico no híbrido SiO ₂ /QT/C-grafite.....	23
Figura 7. Esquema dos eletrodos de trabalho usados nas medidas eletroquímicas.....	26
Figura 8. Cella eletroquímica de três eletrodos utilizada nas medidas eletroquímicas.....	27
Figura 9. Representação hipotética do híbrido sílica-quitosana. R: unidade repetitiva da QT	30
Figura 10. Espectros no infravermelho das amostras SiO ₂ /QT-R obtidos após tratamento térmico a 110 °C sob vácuo (a) 0,5% SiO ₂ /QT-R, (b) 1,0% SiO ₂ /QT-R, (c) 2,0% SiO ₂ /QT-R e (d) 4,0% SiO ₂ /QT-R.....	31
Figura 11. Espectros no infravermelho da amostra 4,0% SiO ₂ /QT-R submetida a diferentes temperaturas de tratamento térmico sob vácuo.....	32
Figura 12. Curvas termogravimétricas das amostras do híbrido sílica-quitosana. (a) 0,5% SiO ₂ /QT-R, (b) 1,0% SiO ₂ /QT-R (c) 2,0% SiO ₂ /QT-R e (d) 4,0% SiO ₂ /QT-R. Figura inserida: TGA da QT.....	32
Figura 13. Derivada da curva termogravimétrica (DTG). (a) 0,5% SiO ₂ /QT-R, (b) 1,0% SiO ₂ /QT-R, (c) 2,0% SiO ₂ /QT-R e (d) 4,0% SiO ₂ /QT-R. Figura inserida: DTG da QT.....	33
Figura 14. Isotermas de adsorção e dessorção das amostras do híbrido sílica-quitosana à temperatura de N ₂₍₁₎ (-196 °C) (a) sem tratamento térmico e (b) com tratamento térmico prévio à lavagem.....	35
Figura 15. Curvas de distribuição de tamanho das amostras do híbrido sílica-quitosana (a) sem tratamento térmico e (b) com tratamento térmico prévio à lavagem.....	35
Figura 16. Micrografias obtidas por MEV das amostras (a) 0,5% SiO ₂ /QT-R, (b) 1,0% SiO ₂ /QT-R, (c) 2,0% SiO ₂ /QT-R e (d) 4,0% SiO ₂ /QT-R, com ampliação de 20.000X.....	36
Figura 17. Esquema hipotético da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada imobilizada no híbrido SiO ₂ /QT.....	37

Figura 18. Espectros UV-Vis por refletância difusa das amostras do híbrido sílica-quitosana (a) 0,5% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ , (b) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ , (c) 2,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (d) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	37
Figura 19. (a) Voltamogramas cíclicos para os eletrodos 1,0% SiO ₂ /QT-R e 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) voltamogramas cíclicos com os eletrodos 0,5% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ , 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ contendo 0,118 mmol.L ⁻¹ de paracetamol. Velocidade de varredura de 20 mV.s ⁻¹	38
Figura 20. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ na faixa de 0,039 a 0,458 mmol.L ⁻¹ de paracetamol em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ e a 20 mV.s ⁻¹	39
Figura 21. Relação linear entre a corrente anódica e a concentração de paracetamol para o eletrodo 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	39
Figura 22. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ , variando a velocidade de varredura de 5 a 100 mV.s ⁻¹ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ e 0,384 mmol.L ⁻¹ de paracetamol.....	40
Figura 23. Gráficos de I _{pa} e I _{pc} em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para os eletrodos (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	40
Figura 24. Voltamogramas cíclicos obtidos variando pH na faixa de 4 a 9 para os eletrodos (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ em 25 mL de tampão B-R , KCl 0,1 mol.L ⁻¹ contendo 0,079 mmol.L ⁻¹ de paracetamol e a 20 mV.s ⁻¹	41
Figura 25. Gráficos da dependência do pH com o potencial meio (E _{1/2}) e I _{pa} e I _{pc} : (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ Figura 24. Mecanismo de reação da oxidação do paracetamol variando pH. (a) pH 4, (b) pH 5-8 e (c) pH 9.....	41
Figura 26. Mecanismo de reação da oxidação do paracetamol variando pH: (a) pH 4, (b) pH 5 a 8 e (c) pH 9.....	42
Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial para os eletrodos (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ em presença de paracetamol na faixa de 0,0199 a 0,385 mmol.L ⁻¹ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ a 10 mV.s ⁻¹ e amplitude 50 mV.....	43
Figura 28. Gráficos da [Paracetamol] (mmol.L ⁻¹) em função da I _p (μA) para os eletrodos (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	44

Figura 29. Voltametria cíclica para o eletrodo 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ em 25 mL de tampão B-R a pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ na presença de 0,568 mmol.L ⁻¹ de dopamina e 0,275 mmol.L ⁻¹ de paracetamol. Velocidade de varredura 5 mV.s ⁻¹	46
Figura 30. Voltametria de pulso diferencial para os eletrodos: (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ com 0,196 mmol.L ⁻¹ de paracetamol.Velocidade de varredura 10 mV.s ⁻¹ e amplitude 50 mV.....	47
Figura 31. Gráficos da [Paracetamol] (mmol.L ⁻¹) em função da I _p (μA) para os eletrodos: (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	48
Figura 32. Voltametria de pulso diferencial para os eletrodos: (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ com 0,385 mmol.L ⁻¹ de DP. Velocidade de varredura 10 mV.s ⁻¹ e amplitude 50 mV.....	48
Figura 33. Gráficos da [Paracetamol] (mmol.L ⁻¹) em função de I _p (μA) para os eletrodos: (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	49
Figura 34. Voltametria de pulso diferencial para os eletrodos: (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ na determinação simultânea de paracetamol e dopamina em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L ⁻¹ . Velocidade de varredura 10 mV.s ⁻¹ e amplitude 50 mV.....	51
Figura 35. Gráficos da [Concentração] (mmol.L ⁻¹) dos analitos em função de I _p (μA) para os eletrodos: (a) 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e (b) 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	51
Figura 36. (a) Curvas termogravimétricas (TGA) das amostras 50% G-QT e 60% G-QT (b) derivada da curva termogravimétrica. Figura inserida: DTG da QT pura.....	53
Figura 37. Micrografias obtidas por MEV das amostras (a) 50% G-QT, (b) 60% G-QT, com ampliações de 20.000X.....	54
Figura 38. Isotermas de adsorção e dessorção das amostras 50%G-QT e 60%G-QT à temperatura de N _{2(l)} (-196 °C). Figura inserida: Curva de distribuição de tamanho de poro dos materiais.....	54
Figura 39. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos 50% G-QT e 60% G-QT, em 25 mL de uma solução de K ₃ [Fe(CN) ₆]/K ₄ [Fe(CN) ₆] 1 mmol.L ⁻¹ e KCl 0,1 mol.L ⁻¹ a 5 mV.s ⁻¹	55
Figura 40. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo 50% G-QT variando a velocidade de varredura de 5 a 90 mV.s ⁻¹ em 25 mL de uma solução de K ₃ [Fe(CN) ₆]/K ₄ [Fe(CN) ₆] 1 mmol.L ⁻¹ e KCl 0,1 mol.L ⁻¹	56
Figura 41. Gráfico de I _{pa} e I _{pc} em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo 50% G-QT.....	57

Figura 42. Estrutura do ácido ferroceno carboxílico (Fc).....	57
Figura 43. Imagens por MEV das amostras. (a) 50% G-QT e 60% G-QT (b) Perfil de distribuição EDS obtido ao longo da linha diagonal da superfície das amostras 50% G-QT e 60% G-QT, e (c) imagens da distribuição do carbono (C), silício (Si), ferro (Fe) e nitrogênio (N) na superfície do híbrido 60% G-QT.....	58
Figura 44. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos 50% G-QT/Fc e 60% G-QT/Fc. Usando como eletrólito suporte 25 mL de KCl 0,1 mol.L ⁻¹ . Velocidade de varredura 5 mV.s ⁻¹	59
Figura 45. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo 60% G-QT/Fc em presença de (a) 0,385 mmol.L ⁻¹ e (b) 0,741 mmol.L ⁻¹ de paracetamol, usando como eletrólito suporte 25 mL de KCl 0,1 mol.L ⁻¹ , velocidade de varredura 5 mV.s ⁻¹	60

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Quantidade de quitosana utilizada na preparação do híbrido sílica-quitosana.....	21
Tabela II. Parâmetros da síntese do híbrido carbono cerâmico SiO ₂ /QT/C-grafite.....	22
Tabela III. Análise elementar do híbrido sílica-quitosana, sem tratamento térmico (SiO ₂ /QT) e com tratamento térmico (SiO ₂ /QT-R) prévio à lavagem dos xerogeis.....	31
Tabela IV. Porcentagem da perda de massa orgânica na faixa de temperatura de 250 a 600 °C.....	33
Tabela V. Área específica (S _{BET}), volume e diâmetro de poro das amostras do híbrido sílica-quitosana.....	34
Tabela VI. Medidas de sensibilidade e limite de detecção (LD) de paracetamol por VPD para os eletrodos 1,0% SiO ₂ /QT/CuTsPc ⁴⁺ e 4,0% SiO ₂ /QT/CuTsPc ⁴⁺	44
Tabela VII. Parâmetros analíticos de alguns eletrodos para a determinação de paracetamol.....	45
Tabela VIII. Interferência da dopamina, medidas de sensibilidade e limite de detecção (LD) da dopamina por VPD para os eletrodos 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ com 0,196 mmol.L ⁻¹ de paracetamol.....	48
Tabela IX. Interferência do paracetamol, medidas de sensibilidade e limite de detecção (LD) do paracetamol por VPD para os eletrodos 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e 4,0%SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ com 0,385 mmol.L ⁻¹ de dopamina.....	50
Tabela X. Medidas de sensibilidade e limite de detecção pó VPD para os eletrodos 1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ e 4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺ na determinação de paracetamol na presença e ausência de dopamina como interferente.....	52
Tabela XI. Análise elementar do híbrido SiO ₂ /QT/C-grafite.....	53
Tabela XII. Valores das correntes anódica (I _{pa}) e catódica (I _{pc}), relação I _{pa} /I _{pc} , ΔE e área eletroativa para os eletrodos 50%G-QT e 60% G-QT, obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos.....	56

ABREVIATURAS

QT- Quitosana

SiO₂/QT- Híbrido bioinorgânico sílica-quitosana

CuTsPc⁴⁻ - Ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada

Fc- Ácido ferroceno carboxílico

SiO₂/QT/CuTsPc⁴⁻ - Híbrido bioinorgânico sílica-quitosana com a ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada imobilizada

SiO₂/QT/C-grafite- Híbrido bioinorgânico carbono cerâmico a base de sílica, quitosana e grafite

G-QT/Fc- Híbrido bioinorgânico sílica/quitosana/C-grafite com o ácido ferroceno carboxílico imobilizado

SiO₂/QT-R- Híbrido bioinorgânico sílica/quitosana com tratamento térmico prévio à lavagem dos xerogeis

TEOS- *Triethoxysilane*

EPC- Eletrodo de pasta de carbono

CCE- Eletrodo carbono cerâmico

AC- Acetaminofenol

DP- Dopamina

BET- Brunauer, Emmett e Teller

BJH- Barret, Joyner e Halenda

IV- Infravermelho

UV-Vis- Ultravioleta-Visível

MEV- Microscopia eletrônica de varredura

TGA- *Thermogravimetric analysis*

DTG- *Derivative Thermogravimetric Analysis*

EDS- *Energy dispersive spectroscopy*

VC- Voltametria cíclica

VPD- Voltametria de pulso diferencial

ECS- Eletrodo calomelano saturado

LD- Limite de detecção

I- Intensidade de corrente

I_{pa}- Intensidade de corrente do pico anódico

I_{pc}- Intensidade de corrente do pico catódico

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

I_p- Intensidade de corrente de pico

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

E- Potencial aplicado

ΔE_p- Diferencia de potenciais anódico e catódico

E_{1/2}- Potencial de pico médio

m/m- massa/massa

R²: Coeficiente de determinação

NADH- Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo na forma reduzida

RESUMO

Neste trabalho foram obtidas quatro amostras de um híbrido bioinorgânico de sílica-quitosana (SiO_2/QT) usando-se TEOS como precursor e variando a concentração da QT, de 0,5 a 4,0% (m/m). Os materiais obtidos foram devidamente caracterizados e os resultados mostraram que são mesoporosos com diâmetro de poro na faixa de 6,2 a 7,3 nm. Os materiais apresentam estabilidade térmica e foi possível impregnar maior teor de QT no híbrido com o incremento de sua concentração na preparação. Na superfície do material híbrido foi imobilizada a ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada e foi utilizada como matriz para a construção de eletrodo de pasta de carbono. Este eletrodo foi avaliado mediante técnicas de voltametria cíclica e de voltametria de pulso diferencial, como um novo sensor eletroquímico de paracetamol na presença da dopamina como interferente, visto que esta espécie pode causar interferências durante a detecção de paracetamol em meios biológicos. O material se mostrou altamente sensível ($173 \mu\text{A.L mmol}^{-1}$) e seletivo para a determinação de paracetamol, permitindo uma boa separação e definição de picos de oxidação do paracetamol (0,30 V) e da dopamina (0,11V). O eletrodo contendo 1,0% de QT mostrou melhores resultados. Também foram obtidas amostras de um material carbono cerâmico $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite variando-se a concentração de grafite de 50% a 60% (m/m). Os resultados mostraram que são materiais mesoporosos, apresentam propriedades texturais semelhantes, com 6,6 nm de diâmetro de poro, e são estáveis termicamente. Um estudo do comportamento eletroquímico do ferricianeto e ferrocianeto de potássio utilizando esses materiais são apresentados. Na superfície dos materiais compósitos foi imobilizado o ácido ferroceno carboxílico. Medidas de voltametria cíclica mostraram que o eletrodo construído com este material na presença de paracetamol mostrou picos de oxidação pouco definidos em 0,35 V e atribuído à oxidação do paracetamol.

ABSTRACT

In this work, a silica based bioinorganic hybrid containing chitosan (SiO_2/QT) was prepared using TEOS as precursor and varying the concentration of chitosan, from 0,5% to 4,0% (w/w). The obtained materials were properly characterized, the results showed that are mesoporous with pore size between 6,2 to 7,3 nm. The materials present adequate thermal stability and higher amount of chitosan was possible to impregnate on hybrid with the increase of its concentration on synthesis. Copper (II) tetrasulfonated phthalocyanine was immobilized on surface of hybrid and used as matrix for the construction of carbon paste electrode. By cyclic voltammetry and differential pulse it was assessed as a new electrochemical sensor of acetaminophen, being highly sensitive ($173 \mu\text{A.L mmol}^{-1}$) and selective for determination of acetaminophen in the presence of dopamine as interference, because this species can cause interference during the detection of acetaminophen in biological means. The results showed a good separation and definition of oxidation peaks of acetaminophen (0.30 V) and dopamine (0.11 V). The electrode containing 1,0% chitosan showed the best results. It was also prepared a bioinorganic hybrid carbon ceramic $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -graphite material varying the concentration of graphite, from 50 to 60% (m/m). The results showed that they are mesoporous materials and present similar textural properties, with 6.6 nm pore size and are thermally stable. A study of the electrochemical behavior of potassium ferricyanide and ferrocyanide using these materials are presented. On the surface of the composites materials was immobilized ferrocene carboxylic acid. Measurements by cyclic voltammetry showed that the electrode development with this material for acetaminophen showed oxidation peaks no definite at 0.35 V and attributed to the oxidation of paracetamol.

1. INTRODUÇÃO

O uso de polímeros naturais para aplicações diversificadas têm sido de vital importância para o avanço da ciência e da tecnologia por que apresentam várias vantagens como ser de fácil obtenção, biocompatível e biodegradável¹. A quitosana (QT) é um biopolímero natural proveniente da desacetilação da quitina, o segundo polissacarídeo mais abundante encontrado na natureza depois da celulose, que se encontra principalmente nas carapaças dos crustáceos^{2,3}. Diferente da celulose, que apresenta predominantemente grupos hidroxilas, a QT possui hidroxilas e também grupos amino que podem ser facilmente protonados em meio ácido, ampliando assim a possibilidade de sua aplicação.

A QT vem sendo extensamente utilizada em diversas áreas, por exemplo, tratamento de águas como floculante, adsorvente de íons metálicos e outros contaminantes, e principalmente na área biomédica como carreadores de fármacos⁴. Adicionalmente, a QT é considerada como suporte ideal para imobilização de diversas espécies eletroativas, proteínas e enzimas com propriedades oxido-redutoras para a construção de sensores e biossensores eletroquímicos⁵⁻⁷. Com a finalidade de expandir ainda mais sua aplicação, recentemente a comunidade científica tem mostrado bastante interesse no desenvolvimento de híbridos bioinorgânicos a base de sílica e QT, principalmente devido a seu potencial uso na imobilização de enzimas e sua aplicação no desenvolvimento de sensores eletroquímicos^{8,9}. Atualmente, procura-se desenvolver híbridos a base de QT e sílica com propriedades texturais adequadas como elevada área específica e diâmetro de poros na faixa de mesoporos para dar maior versatilidade na aplicação^{1,7,8,10}.

O método sol-gel, baseado em reações de hidrólise e condensação de precursores moleculares é uma excelente estratégia para a imobilização de grupos orgânicos na rede da sílica, surgindo assim os denominados híbridos organo-inorgânicos a base de sílica. Híbridos bioinorgânicos obtidos pelo método sol gel têm recebido especial atenção dos pesquisadores por conta da possibilidade na incorporação de polímeros orgânicos em matrizes inorgânicas, com formação de novos materiais que conservem as propriedades de cada componente¹¹. A baixa temperatura de processamento, geralmente à temperatura ambiente, permite a incorporação de diversas moléculas orgânicas e até mesmo biomoléculas na rede inorgânica¹²⁻¹⁴. Assim também como a mistura dos precursores é realizada em um nível nanométrico ou molecular, em uma solução ou dispersão inicial, permite-se uma alta dispersão entre o componente orgânico e inorgânico, portanto, materiais obtidos por este método geralmente são homogêneos, outra vantagem é a possibilidade do controle das características físico-químicas do material a partir das condições experimentais de preparação¹⁵.

Por outro lado, esses materiais apresentam baixa condutividade elétrica, mas a adição de um material condutor como pó de carbono (grafite)¹⁶ ou outra espécie condutora na estrutura do material torna possível sua aplicação como sensor eletroquímico. A obtenção de materiais carbono cerâmicos pelo método sol-gel permite conseguir materiais com uma boa rigidez mecânica devido à rede inorgânica e um alto grau de dispersão do carbono, possibilitando desta maneira que o material apresente condutividade¹⁶⁻¹⁸.

Materiais carbono cerâmicos são considerados como uma excelente alternativa para a o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos devido ao fato de apresentarem boa reprodutibilidade, sensibilidade e, sobretudo fácil renovação de superfície dos eletrodos construídos¹⁹⁻²¹. É possível encontrar na literatura sensores baseados nestes materiais e modificados com espécies eletroativas mediadoras de elétrons^{17,19} para a determinação de diferentes tipos de moléculas como ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina, peróxido de hidrogênio, paracetamol entre outros analitos. Por tanto, sua aplicação em determinações eletroquímicas é de atual interesse.

Dois dos medicamentos mais usados na indústria farmacêutica e presentes em meios biológicos são o paracetamol (acetaminofenol ou *N*-acetil-*p*-aminofenol) e a dopamina (3,4-di-hidroxifeniletilamina). O paracetamol é amplamente utilizado como analgésico²² e a dopamina é um neurotransmissor do cérebro. Níveis anormais destes compostos podem ocasionar distúrbios no sistema nervoso central²³, devido a estas possibilidades suas determinações são importantes. Visto que o paracetamol e a dopamina podem ser eletroquimicamente oxidados, suas determinações usando sensores eletroquímicos tem recebido considerável importância nas últimas décadas, principalmente porque determinações de paracetamol podem sofrer interferências pela presença de dopamina^{26,27}. Na atualidade se utilizam diferentes tipos de eletrodos de carbono para a determinação de paracetamol tais como: carbono vítreo, pasta de carbono, microeletrodos de fibra de carbono, filmes de carbono, eletrodos de diamante dopado com boro e nanotubos de carbono^{25,28,29}.

Embora existam registrados na literatura de estudos envolvendo eletrodos para determinação de paracetamol, ainda existem aspectos que necessitam de aperfeiçoamento como o desenvolvimento de eletrodos com novos materiais que permitam obter uma alta sensibilidade de resposta, baixos limites de detecção e uma boa seletividade para determinações de paracetamol na presença de interferentes.

Nesse sentido, o presente trabalho descreve a obtenção e caracterização de um híbrido bioinorgânico mesoporoso à base de sílica e quitosana (SiO_2/QT). A preparação foi realizada pelo método sol-gel, utilizando como precursores inorgânico e orgânico, o ortosilicato de tetraetila (TEOS) e a QT, respectivamente. Foram obtidas quatro amostras do híbrido variando-se a proporção orgânico/inorgânico e as propriedades texturais destas amostras foram caracterizadas. A espécie eletroativa ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada foi imobilizada na superfície do híbrido, resultando o material $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{CuTsPc}^{4-}$. Um estudo do comportamento eletroquímico mostrou que este material pode ser utilizado como sensor eletroquímico para a detecção de paracetamol, na ausência e presença da dopamina como interferência.

Na sequência, também é apresentada a obtenção e caracterização de um material carbono cerâmico a base de sílica, quitosana e grafite. Neste caso, o grafite foi incorporado durante a preparação do híbrido SiO_2/QT , resultando o material compósito $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite. Um estudo do comportamento eletroquímico do ferricianeto e ferrocianeto de potássio também é apresentado. O ácido ferroceno carboxílico como espécie eletroativa foi imobilizado no híbrido carbono cerâmico, resultando no material G-QT/Fc; sua caracterização eletroquímica é mostrada e um estudo eletroquímico do seu comportamento na determinação de paracetamol é apresentado.

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um material híbrido bioinorgânico a base de sílica e quitosana, e estudar a viabilidade de sua utilização na construção de dispositivos eletroquímicos.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar amostras de um híbrido SiO_2/QT , com poros na região de mesoporos mediante o processo sol-gel.
- Caracterizar e estudar as propriedades físico-químicas do híbrido SiO_2/QT .
- Desenvolver um híbrido carbono cerâmico $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite a partir do híbrido SiO_2/QT obtido e caracterizar suas propriedades físico-químicas.
- Imobilizar a ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada nas amostras do híbrido SiO_2/QT e avaliar a potencialidade eletroanalítica como eletrodos para a determinação de paracetamol na presença de dopamina como interferente.
- Imobilizar o ácido ferroceno carboxílico no híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite e avaliar seu comportamento eletroquímico como eletrodo em determinações eletroanalíticas de espécies.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. MATERIAIS HÍBRIDOS ORGANO-INORGÂNICOS

Há mais de uma década que os materiais híbridos organo-inorgânicos estão recebendo importante atenção pelos pesquisadores devido a suas excelentes propriedades, eficiência, versatilidade e suas promissoras aplicações em uma ampla gama de áreas como na biotecnologia, farmácia e medicina^{8,30,31}.

A origem dos híbridos não é uma invenção das últimas décadas, um exemplo disso se remonta a milhares de anos atrás com a mistura de pigmentos orgânicos e componentes inorgânicos para o desenvolvimento de tintas brilhantes e coloridas. No entanto, só no final do século XX e inícios do século XXI foi tomando importância pelos cientistas o conceito de híbrido organo-inorgânico, em particular por causa da disponibilidade de novos métodos físico-químicos de caracterização; também o campo da nanociência abriu muitas perspectivas em abordar materiais mais sofisticados³².

A introdução de um grupo orgânico em suportes ou matrizes inorgânicas representa um aporte importante no desenvolvimento de novos materiais. A dispersão dos componentes orgânico e inorgânico em nível molecular ou nanométrico permite obter um material que apresente sinergia nas suas propriedades³³. A matriz inorgânica proporciona a propriedade de dureza, estabilidade mecânica, térmica e química do híbrido, enquanto que o componente orgânico permite a tenacidade, flexibilidade e uma reatividade específica própria do grupo orgânico incorporado^{3,5,10}.

Nesse contexto, importantes desenvolvimentos têm sido feitos na obtenção de materiais nanoestruturados organicamente funcionalizados com apropriado tamanho e volume de poro, sendo possível de serem controladas as propriedades do híbrido mediante a variação relativa da quantidade de cada componente, assim como do método de preparação usado. Estes materiais têm apresentado aplicações potenciais na óptica³⁴, no desenvolvimento de sensores³⁵, biossensores³⁶ e membranas⁷, assim como suporte de catalisadores³⁷.

No entanto, apesar da importância que os híbridos organo-inorgânicos representam em diversas áreas, que vão desde a nanoquímica à biotecnologia, sua síntese muitas vezes apresenta uma desvantagem econômica, não sendo viável sua produção em escala industrial por serem na sua maioria materiais sintéticos. Este é um dos motivos pelo que surgiu o desenvolvimento de um tipo de materiais denominado híbridos bioinorgânicos.

3.2. MATERIAIS HÍBRIDOS BIOINORGÂNICOS

Na procura de uma ciência nova e de tecnologia verde; aparece o desenvolvimento de novos materiais híbridos. A mistura à escala nanométrica de espécies moleculares ou poliméricas de origem biológicas com substratos inorgânicos, representa a base para a preparação de materiais híbridos bioinorgânicos.

A interação do componente biológico e o inorgânico tem um efeito de sinergia que permite obter materiais híbridos com melhor resistência mecânica, melhor estabilidade térmica e química, biocompatibilidade e em alguns casos com propriedades funcionais^{8,38}. Sua obtenção representa uma área emergente na preparação de novos materiais que envolvem a nanotecnologia e são interessantes devido à versatilidade de sua aplicação em áreas como a medicina. Suas melhores propriedades funcionais e estruturais representam uma alternativa ecológica frente aos convencionais nanocompósitos de polímeros. As propriedades biodegradáveis dos biopolímeros utilizados garantem que os materiais produzidos sejam ecológicos e renováveis, um típico exemplo são os bionanocompósitos obtidos da mistura de um polissacarídeo como a celulose ou ácido poliláctico (PLA) com micropartículas de sólidos, também denominados como nanocompósitos verdes ou bioplásticos³⁸. É assim, que na atualidade vários trabalhos envolvem o uso de fontes naturais, substituindo-se os reagentes sintéticos por polímeros naturalmente disponíveis.

Uma família de biopolímeros com potencial campo de pesquisa são os polissacarídeos, devido à sua disponibilidade, baixo custo, biocompatibilidade, funcionalidade química e entre outras propriedades^{3,39}. Nesse sentido, o uso dos polissacarídeos na obtenção de híbridos bioinorgânicos está sendo amplamente pesquisado na atualidade.

3.2.1. Polissacarídeos

Polissacarídeos naturais como os alginatos, carragenana e quitosana (derivado da quitina) apresentam algumas propriedades importantes como a biocompatibilidade e não toxicidade, o que os tornam interessantes para o desenvolvimento de biomateriais^{8,40}. Desde o ponto de vista físico químico, esses polissacarídeos têm a especial capacidade de interagir em contacto com cátions (alginato e carragenana) e anions (quitosana) sob condições muito brandas de obtenção. Assim também resultam atrativos na preparação de híbridos com óxidos metálicos inorgânicos, mediante a dispersão do óxido na matriz do polissacarídeo⁵⁶.

3.2.1.1. Quitosana

A quitosana (QT) é um biopolímero natural obtido da desacetilação da quitina, a qual é extraída a partir das carapaças dos crustáceos e moluscos, como camarões e caranguejos. A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante ao lado de celulose, é produzida em aproximadamente cem bilhões de toneladas por ano, estando localizada no Japão a maioria das indústrias que produzem quitina e quitosana^{3,5,41}. A QT é considerada um copolímero, pois na sua estrutura contém unidades glucosamina e unidades de acetilglucosamina como pode ser visto na Figura 1.

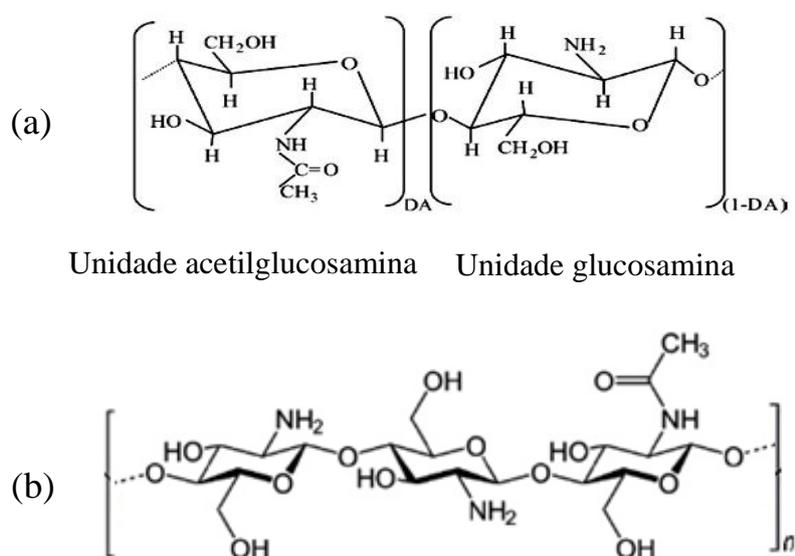


Figura 1. (a) Representação da estrutura da QT, sendo DA o grau médio de acetilação da QT e (b) representação de uma cadeia repetitiva da QT.

A QT possui grupos aminos primários (-NH₂) e um pKa de aproximadamente 6,3, a presença desse grupo faz que apresente propriedades diferenciadas frente aos outros biopolímeros: (a) seu comportamento catiônico em soluções ácidas, com a protonação do grupo amino gerando o íon NH₃⁺, e (b) sua afinidade com íons metálicos, que pode ocorrer através de mecanismos de quelação de cátions metálicos em soluções quase neutras ou por atração eletrostática e troca iônica com anions em soluções ácidas⁴².

Por outro lado, essas duas unidades presentes na estrutura da QT são originadas durante a desacetilação da quitina como pode ser observado na Figura 2. A hidrólise parcial dos grupos acetamida forma um produto que apresenta diferentes conteúdos residuais de

unidade acetiladas e desacetiladas. Dependendo do grau de desacetilação, as propriedades físicas e químicas da QT variam, tais como suas propriedades de acidez e basicidade, e de solubilidade⁵.

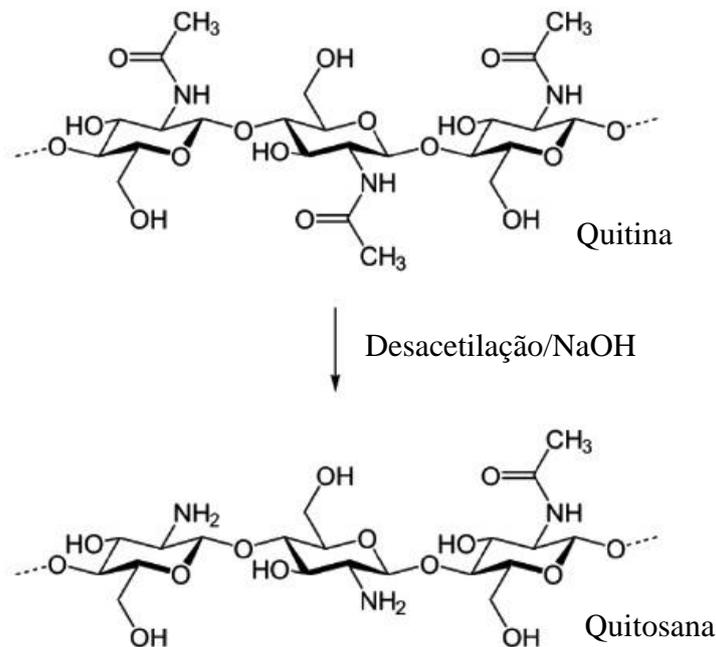


Figura 2. Processo de desacetilação da quitina.

As propriedades mais atraentes da QT estão relacionadas com sua biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade⁹. Além disso, destaca-se sua alta resistência mecânica, hidrofiliabilidade (presença de grupos -OH e -NH₂) e susceptibilidade à modificação química. Por outro lado, suas diferentes formas como pó, hidrogéis, membranas e fibras colocam à QT como um bom suporte na imobilização de outras espécies como enzimas ou proteínas^{5,6}. Sua natureza catiônica também favorece a formação de nano arquiteturas com base nas interações camada-por-camada de quitosana com diferentes poliânions³.

Por esses motivos, a pesquisa sobre híbridos baseados em QT e suas aplicações se tornam importantes no desenvolvimento sustentável. Tanto do ponto de vista econômico devido ao seu baixo custo como do ponto de vista ecológico ao reduzir o impacto ambiental mediante sua utilização^{3,5}.

3.2.2. Híbridos bioinorgânicos mesoporosos à base de sílica

Sólidos inorgânicos misturados no nível molecular ou nanométrico com biomoléculas geram híbridos bioinorgânicos com propriedades diferenciadas, que dependem da composição química, estrutura, textura, entre outras características que os componentes apresentem. Diferentes componentes como metais de transição, carbono, óxidos metálicos, sílica, silicatos, carbonatos e fosfatos, são típicos componentes inorgânicos usados na síntese de híbridos bioinorgânicos. No entanto, a afinidade entre as duas partes, o caminho e parâmetros de síntese são os que determinam a estabilidade do híbrido resultante³⁸.

Matrizes inorgânicas mesoporosas a base de sílica ou carbono possuem uma estrutura porosa altamente regular com diâmetro de poro definidos na faixa de 2-50 nm, sua elevada área específica, volume de poro e diâmetro de poro de grandes dimensões os tornam atrativos para sua aplicação como suporte catalítico e na imobilização de grandes biomoléculas^{3,39,43}. Nesse contexto, híbridos bioinorgânicos a base de sílica são indicados na literatura como adequados para a preparação de membranas, revestimentos, o encapsulamento de moléculas bioativas como as enzimas, anticorpos, etc., e para o desenvolvimento de biossensores e sensores eletroquímicos^{38,44,45}. Trabalhos com híbridos bioinorgânicos utilizando a quitosana como biopolímero indicam que a incorporação de biopolímeros que possuem preferencialmente grupos amino, amida e hidroxila permitem a formação de híbridos geralmente estabilizados por fortes ligações intramoleculares de hidrogênio com a matriz inorgânica de sílica^{5,43,44}.

Um método amplamente empregado para a síntese deste tipo de híbridos a base de sílica é o método sol-gel, principalmente devido a sua facilidade de manipulação e as condições moderadas de temperaturas de síntese durante a incorporação das biomoléculas, que evitam sua decomposição e permitem conservar sua característica funcional⁴⁶.

3.2.3. O Método Sol-Gel de síntese

Durante as últimas décadas o processo sol-gel tem recebido significativo interesse como método no desenvolvimento de novos materiais, pois permite obter híbridos com um alto grau de homogeneidade e pureza em um nível molecular, mantendo as propriedades de cada componente. É possível obter materiais com propriedades físicas e químicas diferenciadas para determinadas aplicações^{10,41}.

O método sol-gel descrito por primeira vez em 1930, continua recebendo importância, pois é um dos métodos mais simples para desenvolver materiais modificados^{13,32} e se caracterizam pela durabilidade e estabilidade que estes apresentam, muito deles opticamente transparentes¹⁵. Atualmente o método sol-gel está sendo amplamente usado no desenvolvimento de materiais mesoporosos, membranas e materiais híbridos organo inorgânicos a base de sílica^{10,15}. Uma das características mais importantes é a possibilidade de realizar modificações durante o processo sol-gel, como a modificação por incorporação de compostos orgânicos, enzimas e biopolímeros em matrizes inorgânicas de sílica^{5,44}.

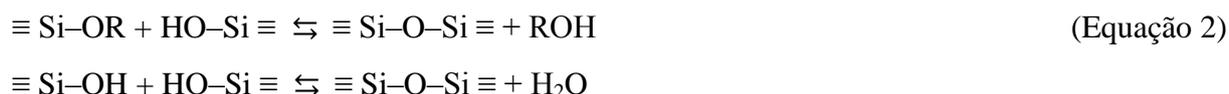
A química do processo sol-gel baseia-se em reações de polimerização inorgânica por meio de uma reação que envolve duas etapas¹⁴:

1) A hidrólise do precursor inorgânico geralmente um alcóxido $\text{Si}(\text{OR})_4$ (R: um grupo orgânico) leva à formação de grupos reativos do tipo silanol e o álcool correspondente. Entre os precursores mais frequentemente empregados está o ortosilicato de tetraetil (TEOS)⁴⁷.

A reação de hidrólise está descrita na equação 1:



2) Em seguida, ocorre a condensação entre o grupo não hidrolisado do alcóxido e um silanol ou entre duas hidroxilas, como é descrito na equação 2:



Em termos gerais o processo sol-gel inclui primeiro a formação de uma dispersão de pequenas partículas coloidais (dimensão entre 1 e 1000 nm) denominada sol, governado por forças de curto intervalo tais como atrações de Van der Waals; em seguida essas partículas se ligam formando pequenas cadeias tridimensionais, gerando uma fase rígida e reticulada que retém o solvente, chamada gel^{13,14}. Posteriormente, a secagem do gel pela evaporação do solvente, sob condições normais de temperatura e pressão, originam o xerogel. Uma representação do processo sol-gel se mostra na Figura 3.

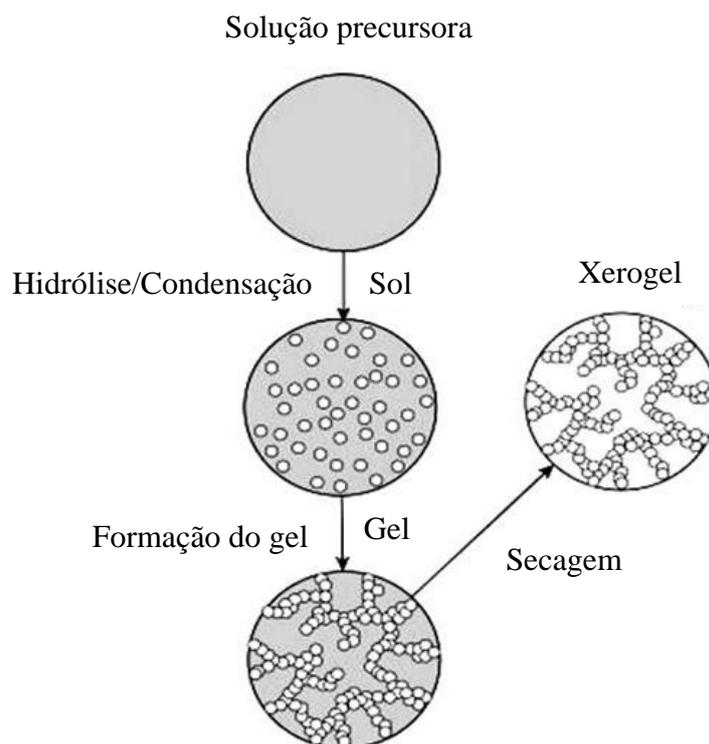


Figura 3. Esquema das etapas seguidas no processo sol-gel.

As propriedades estruturais do xerogel resultante como a morfologia, porosidade, área específica, tamanho de poro e sua distribuição, entre outras propriedades, dependem dos parâmetros de reação empregados^{13,46}, tais como: a) os precursores usados na hidrólise, b) a proporção de água e precursor, c) a natureza do catalisador usado, d) o solvente, e) o pH, f) a temperatura e g) o posterior modo de lavagem e secagem do xerogel. Todos esses parâmetros influenciam nas propriedades do xerogel.

3.2.4. Híbridos bioinorgânicos à base de sílica-quitosana e o método sol-gel

Polissacarídeos como a quitosana e celulose são os principais biomacromoléculas envolvidas na obtenção de híbridos biopolímero/sílica e alguns dos precursores inorgânicos já empregados na sua síntese são o ácido silícico, silicato de sódio, alcóxidos de sílica e polisiloxanos³⁸.

A quitosana é um importante biopolímero para a síntese de híbridos bioinorgânicos a base de sílica devido a suas particulares propriedades como alta resistência mecânica, alta hidrofiliabilidade, boa capacidade na formação de filmes⁸ entre outras propriedades já detalhadas previamente. Alguns dos precursores inorgânicos empregados na síntese sol-gel do

híbrido a base de sílica e quitosana são o aminopropiltriétoxissilano⁷ (APTES), tetrametoxissilano^{50,45} (TMOS) e o ortossilicato de tetraetila^{10,5} (TEOS).

Sílica-quitosana tem-se destacado como um material híbrido de promissora aplicação, apresentando excelentes propriedades térmicas, mecânicas óticas e de adsorção^{10,48}. O híbrido bioinorgânico é formado *in situ* na solução da quitosana mediante a auto-organização das partículas do sol geradas durante a hidrólise do TEOS e as reações de policondensação já apresentadas nas equações 1 e 2, formando uma rede tridimensional porosa. A afinidade entre a sílica e a quitosana reside nas hidroxilas e os grupos aminos presentes na estrutura da quitosana, os quais têm facilidade na formação de ligações ponte de hidrogênio com os grupos silanóis ($\equiv\text{Si-OH}$) da rede tridimensional formada pela hidrólise e condensação do precursor TEOS⁴⁸. Estes híbridos a base de sílica e quitosana têm recebido atenção pelo fato de serem materiais porosos, na escala nanométrica sendo crucial em aplicações como em catálise ou na imobilização de grandes moléculas para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos^{49, 50}.

3.3. SENSORES ELETROQUÍMICOS

O desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos têm despertado grande interesse na comunidade científica devido a seu grande potencial em determinações analíticas. O uso de diferentes espécies mediadoras de elétrons, lhes confere capacidade de aplicação em diversas áreas como a medicina, indústria e também no monitoramento ambiental^{51,52}.

Um sensor é definido como um dispositivo que permite o reconhecimento de um elemento usando um transdutor de sinal; no caso do sensor electroquímico o eletrodo é utilizado como elemento transdutor. A modificação da superfície eletroativa deste dispositivo com material biológico de reconhecimento molecular é conhecido como biossensor eletroquímico.

O desenvolvimento dos eletrodos quimicamente modificados tem como objetivo controlar a natureza físico-química da interfase eletrodo-solução com a finalidade de modificar sua reatividade, seletividade e sensibilidade⁵⁴, tornando-o atrativo para diversas aplicações^{54,55}. Atualmente, se está despertando crescente interesse na síntese de novos tipos de matrizes para o desenvolvimento de eletrodos quimicamente modificados. As matrizes inorgânicas mais utilizadas são de sílica⁵⁶, zeólitas^{57,58} e óxidos mistos obtidos pelo processo sol-gel^{54,59}. Matrizes orgânicas, como a celulose⁵⁴ e quitosana⁵⁰ conferem características

específicas ao eletrodo, devido aos grupos funcionais que apresentam. Algumas espécies eletroativas usadas na modificação dos eletrodos são as porfirinas⁵⁴, ftalocianinas⁶⁰, enzimas⁸ e corantes orgânicos⁵⁶, estas espécies são imobilizadas na superfície da matriz mediante ligações covalente, adsorção ou electrodeposição.

3.3.1. Eletrodo de Pasta de Carbono

O primeiro eletrodo de pasta de carbono (EPC) se desenvolveu em 1958, na tentativa de preparar um eletrodo de carbono renovável para ser usado em uma ampla faixa de potenciais positivos, nos quais o eletrodo de mercúrio metálico não é aplicável devido a sua oxidação^{61,62}.

A pasta de carbono é uma mistura de pó de grafite e aglutinante. O pó de grafite deve ter tamanho uniforme, o qual deve apresentar um tamanho de partícula menor a 20 μm ⁶³, alta pureza química com baixa capacidade de adsorção de oxigênio e impurezas eletroativas. O aglutinante é geralmente um líquido orgânico quimicamente inerte, de baixa volatilidade, livre de impurezas, eletroinativo, imiscível com a solução do analito. A regeneração da superfície é feita através da renovação da pasta localizada na ponta do eletrodo^{61,63}.

Nos últimos anos, um considerável avanço na preparação de eletrodos quimicamente modificados a base de pasta de carbono foi observado, devido à facilidade de sua construção, baixo custo, ampla janela de operação de voltagem em solução aquosa, baixa corrente de fundo e baixo limite de detecção, convertendo-se em uma boa matriz para a incorporação de diferentes materiais^{56,62}. Entretanto, apresentam algumas desvantagens como instabilidade quando submetidos a um longo período de uso e falta de reprodutibilidade nas medidas devido à variação na pasta de carbono^{64,65}.

3.3.2. Eletrodo Carbono Cerâmico

Em 1994, Lev e colaboradores desenvolveram o eletrodo carbono cerâmico (CCE) preparado pelo processo sol-gel, através da dispersão do pó de carbono (grafite) em uma matriz de sílica gel²⁰. A bibliografia indica que no processo de síntese também é possível incorporar outras espécies condutoras diferentes ao grafite, tais como partículas de ouro⁶⁶, carbono vítreo⁶⁷ ou nanotubos de carbono^{19,68} para a obtenção de materiais compósitos cerâmicos.

Eletrodos carbono cerâmico à base de sílica SiO_2/C -grafite está sendo extensamente pesquisado, pois apresenta varias vantagens como ser de baixo custo, ter uma alta estabilidade mecânica proporcionada pela matriz inorgânica, são condutores, tem uma ampla janela operacional de voltagem, são de fácil preparação, apresentam durabilidade e a renovação de sua superfície pode ser realizada com o simples polimento^{19,20}. Além disso, é possível de modificar sua superfície com espécies mediadoras de elétrons por adsorção ou também no corpo do eletrodo durante a sua preparação⁶⁹.

3.4. PARACETAMOL

O paracetamol, também chamado acetaminofenol (AC) ou *N*-acetil-*p*-aminofenol, representado na Figura 4 é um neurotransmissor vastamente utilizado como analgésico e antipirético na indústria farmacêutica^{22,28}. Foi inicialmente utilizado na medicina em 1893 por Von Mering e converteu-se em uma alternativa adequada para as pessoas sensíveis à aspirina⁷⁰. Apesar de suas propriedades farmacológicas, uma "overdose" de paracetamol pode causar sérias lesões hepáticas e insuficiência renal. A bibliografia nos relata o uso de diferentes técnicas para sua determinação tanto em meios biológicos como em medicamentos, destacam-se os métodos volumétricos⁷¹, cromatográficos⁷², espectrofotométricos⁷³ e voltamétricos^{24,69}.

No entanto, alguns procedimentos como os espectrofotométricos e cromatográficos, envolvem procedimentos prévios a sua determinação, os que podem chegar a ser demorados. Nesse sentido, os métodos eletroquímicos mostraram vantagens na detecção do paracetamol, como a de obter uma resposta rápida, ter um custo relativamente baixo, possuir instrumentação simples, uma alta sensibilidade na resposta e ser reprodutíveis; conseqüentemente, na atualidade métodos voltamétricos estão sendo constantemente aplicados para a determinação de paracetamol^{26,74}.

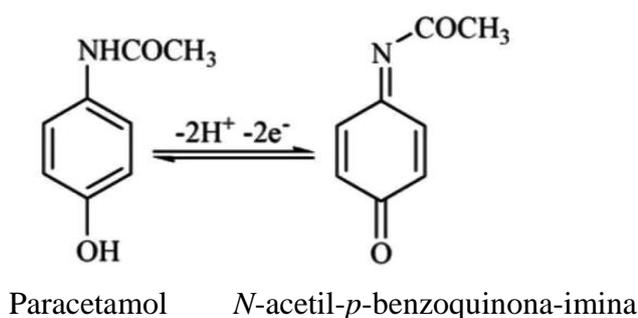


Figura 4. Reação de oxidação do paracetamol a *N*-acetil-*p*-benzoquinona-imina.

3.5. DOPAMINA

Dopamina (DP) (3,4-di-hidroxifenetilamina), representada na Figura 5 é um dos mais importantes neurotransmissores de catecolamina presente no cérebro. Foi sintetizada em 1910 por George Barger e James Ewens, pertence à família de neurotransmissores químicos excitatório e desempenha um papel muito importante na função do sistema nervoso central, sistemas cardiovascular, renal e hormonal^{23,75}. No entanto, níveis anormais de dopamina podem levar a distúrbios cerebrais tais como as doenças de Parkinson e esquizofrenia; a medicação intravenosa de dopamina atua sob o sistema nervoso simpático chegando a produzir efeitos, como aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial^{75,76}.

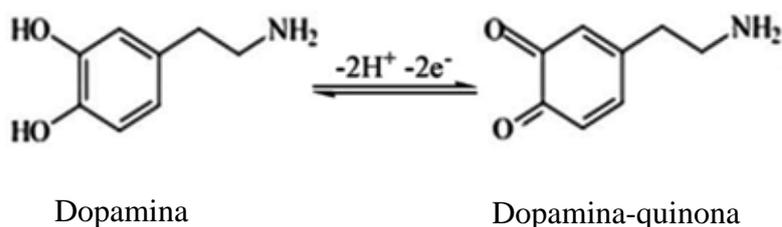


Figura 5. Reação de oxidação da dopamina a dopamina-quinona.

As catecolaminas, como a dopamina, estão presentes em alta quantidade em vários medicamentos; é então que se procura o desenvolvimento de procedimentos analíticos simples, rápidos e precisos para sua determinação. A literatura faz referência aos métodos espectrofotométricos⁷⁷, cromatográficos⁷⁸, de quimiluminescência⁷⁹ e eletroquímicos^{21,23} como os mais usados na sua determinação em amostras biológicas e farmacêuticas.

A determinação eletroquímica da dopamina tem atraído muito interesse, pois em amostras de fluidos biológicos além de dopamina, existem outros componentes, entre eles o paracetamol. Ambos apresentam potencial redox de oxidação em uma faixa muito estreita, o qual pode causar interferências no momento de suas determinações^{23,80}. Nesse sentido, encontrar métodos seletivos para a determinação de dopamina e paracetamol é um tema de interesse; alguns dos métodos mais empregados são a modificação química de eletrodos^{21,29} e a fabricação de membranas seletivas⁸¹.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. MATERIAIS

Para a realização deste trabalho foram usados os seguintes reagentes: quitosana 95% desacetilada (Sigma Aldrich), ortosilicato de tetraetila 98% (Sigma Aldrich), etanol absoluto P.A. (Merck), ácido clorídrico 37% (Merck), ácido fluorídrico 49% (Vetec), formamida P.A. (Vetec), ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada, sal de sódio P.A. (Sigma Aldrich), ácido ferroceno carboxílico P.A. (Sigma Aldrich). Nas medições eletroquímicas as soluções foram preparadas usando-se paracetamol P.A. (Sigma Aldrich) e dopamina P.A. (Sigma Aldrich), que foram dissolvidas em água previamente destilada. Para a preparação dos eletrodos de pasta de carbono e carbono cerâmico se usou grafite de grau analítico (Sigma Aldrich, grau 99,99%).

4.2. PREPARAÇÃO DOS HÍBRIDOS

4.2.1. Preparação do híbrido bioinorgânico sílica-quitosana (SiO_2/QT)

A obtenção do híbrido foi realizada pelo método sol-gel de síntese. Foram preparadas 4 amostras do material híbrido utilizando-se diferentes quantidades de quitosana 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0% em massa em relação à quantidade de TEOS. A preparação de cada amostra foi realizada em duas etapas:

Etapa 1: Dissolução da quitosana

Inicialmente, a quitosana foi dissolvida em 1,3 mL de água, 0,050 mL de HCl 37% e, após total dissolução, foram adicionados 0,15 mL de HF 49% e foi deixada sob agitação por 10 min. Essa solução foi denominada como **solução A**. Na Tabela I se encontram especificadas as quantidades de quitosana na preparação das quatro amostras.

Etapa 2: Hidrólise do precursor ortosilicato de tetraetila

Foi realizada a hidrólise do TEOS misturando-se 5,0 mL de TEOS, 2,5 mL de etanol, 0,30 mL de água e 0,050 mL de HCl 37%. Esta solução foi deixada sob agitação magnética constante durante uma hora, depois, foram adicionados 3,0 mL de formamida mantendo-se sob agitação por mais 15 min. Posteriormente, a esta solução foi adicionada lentamente a **solução A**. O sistema permaneceu por mais 10 min sob agitação e foi mantido em repouso durante 40 dias, à temperatura de 45 °C e, após esse período o xerogel obtido em forma de monólito foi dividido em duas frações sendo uma fração triturada e lavada com etanol, água e éter etílico. Posteriormente o sólido resultante foi seco em vácuo a 90 °C por 2 h. As

amostras do material híbrido foram designadas como 0,5% SiO₂/QT, 1,0% SiO₂/QT, 2,0% SiO₂/QT e 4,0% SiO₂/QT, indicando a percentagem de quitosana adicionada a cada amostra.

Para fins de estudo comparativos a outra fração do xerogel obtido foi tratada termicamente a 90 °C por 2 h sob vácuo, para logo ser triturada e lavada com etanol, água e éter etílico. Seguidamente, o sólido resultante foi seco em vácuo a 90 °C . As amostras do material híbrido que receberam este tratamento foram designadas como 0,5% SiO₂/QT-R, 1,0% SiO₂/QT-R, 2,0% SiO₂/QT-R e 4,0% SiO₂/QT-R.

Tabela I. Quantidade de quitosana utilizada na preparação do híbrido sílica-quitosana.

Amostra	% QT (m/m)	Massa de QT (mg)
0,5 % SiO ₂ /QT	0,5	6,60
1,0% SiO ₂ /QT	1,0	13,2
2,0% SiO ₂ /QT	2,0	26,4
4,0% SiO ₂ /QT	4,0	52,8

4.2.2. Preparação do híbrido bioinorgânico carbono cerâmico SiO₂/QT/C-grafite

Foram preparadas duas amostras do híbrido SiO₂/QT/C-grafite contendo 50% e 60% de grafite. As amostras foram designadas como 50% G-QT e 60% G-QT respectivamente. A síntese foi realizada em duas etapas como descrito a seguir:

Etapa 1: Dissolução da quitosana

Quitosana (39,60 mg) foi dissolvida em 3,90 mL de água e 0,10 mL de HCl 37%. Depois de ter obtido uma solução homogênea foi adicionado 0,15 mL de HF 49%. A mistura resultante foi deixada em constante agitação durante 10 min.

Etapa 2: Hidrólise do precursor ortosilicato de tetraetila

Em 15 mL de TEOS foram adicionados 7,5 mL de etanol, 0,90 mL de água e 0,15 mL de HCl 37%, deixando-se uma hora em constante agitação. Depois foram adicionados 9,0 mL de formamida e agitado por mais 15 min.

Posteriormente, a quitosana dissolvida foi adicionada lentamente à solução resultante da hidrólise do TEOS em constante agitação. À solução resultante foi adicionado o grafite

conforme especificado na Tabela II, sendo deixada sob agitação por mais 15 min. As amostras foram submetidas ao ultrassom, em um banho-maria a 50 °C, até gelificação. Em seguida foram deixadas em recipientes fechados, mas não vedados, na temperatura de 45 °C, durante 45 dias. Os sólidos resultantes foram secos em vácuo por 1h a 90 °C e lavados com etanol e éter etílico. Finalmente, os sólidos foram novamente secos à vácuo a 90 °C por 2 h.

Tabela II. Parâmetros da preparação do híbrido carbono cerâmico SiO₂/QT/C-grafite.

Amostra	Massa QT (mg)	Volume TEOS (mL)	% Grafite (m/m)	Massa grafite (g)
50% G-QT	39,6	15	50	1,97
60% G-QT	39,6	15	60	2,36

4.3. IMOBILIZAÇÃO DE ESPÉCIES ELETROATIVAS

4.3.1. Imobilização da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada no híbrido SiO₂/QT

Em 20 mL de água foram dissolvidos 5,0 mg de ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada (CuTsPc⁴⁻) e a essa solução foram adicionados 200 mg do híbrido SiO₂/QT-R. A suspensão obtida teve agitação esporádica e depois foi deixada em repouso durante uma noite. A seguir a suspensão foi centrifugada a (150 rotações/min) e o sólido foi lavado várias vezes com água e etanol até visualmente obter-se um líquido de lavagem transparente. O sólido resultante foi seco em estufa a 70 °C por 3h. O procedimento foi realizado com cada uma das quatro amostras e foram designadas como 0,5% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻, 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻, 2,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

4.3.2. Imobilização do ácido ferroceno carboxílico no híbrido carbono cerâmico SiO₂/QT/C-grafite

Em 50 mL de uma solução de etanol e água (1:1) foram dissolvidos 0,115 g do ácido ferroceno carboxílico (Fc) (C₁₁H₁₀FeO₂) e essa solução foi submetida à agitação mecânica, conforme representado na Figura 6. A esta solução, foram adicionados 1,86 g da amostra 50% G-QT ou 60% G-QT. A mistura permaneceu sob agitação por 3h a 60 °C. Posteriormente, o sobrenadante foi decantado e o sólido resultante foi lavado em um sistema extrator de Soxhlet por 4 h, usando-se 250 mL de etanol. Por último o material foi seco sob vácuo por 4 h a uma temperatura de 90 °C. As amostras foram designadas como 50% G-QT/Fc e 60% G-QT/Fc.

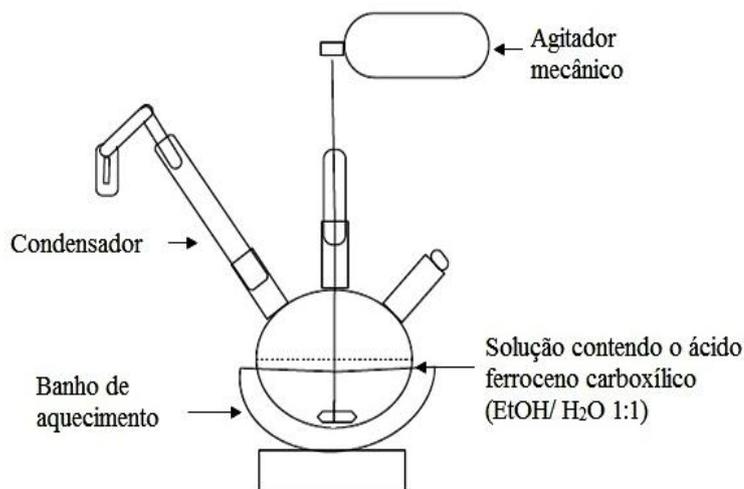


Figura 6. Esquema do sistema utilizado para a imobilização do ácido ferroceno carboxílico no híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite.

4.4. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

4.4.1. Análise elementar C, H e N

A quantidade da porcentagem de C, H e N das amostras foram determinadas utilizando-se um analisador CHN Perkin Elmer M CHNS/O Analyser 2400. As amostras foram previamente aquecidas a $100\text{ }^\circ\text{C}$ durante uma hora sob vácuo e as medidas foram feitas por triplicado.

4.4.2. Isotermas de adsorção e dessorção dos híbridos

A obtenção de isotermas de adsorção e dessorção dos materiais foi realizada na temperatura do nitrogênio líquido ($-196\text{ }^\circ\text{C}$), o equipamento utilizado foi um Tristar Krypton 3020 Micromeritics. As amostras (*ca.* 100 mg) foram previamente tratadas a temperatura de $120\text{ }^\circ\text{C}$, sob vácuo durante, durante 8 h. A área específica dos materiais foi calculada pelo método BET^{82,83} que se baseia na determinação de nitrogênio adsorvido a diferentes pressões na temperatura de nitrogênio líquido e a distribuição do tamanho de poros foi obtida usando-se o método BJH⁸⁴.

4.4.3. Análise termogravimétrica

Os materiais obtidos foram submetidos à análise termogravimétrica, realizada em atmosfera de nitrogênio com fluxo de $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando-se entre 3,0-5,0 mg de amostra. O equipamento usado foi TGA Q5000IR da *TA Instruments*. As amostras foram aquecidas desde a temperatura de ambiente até $800 \text{ }^\circ\text{C}$ com uma taxa de aquecimento de $20 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. Foi também usado o método de Análise Termogravimétrica Derivativo (DTG) aplicando a primeira derivada da porcentagem de perda de massa em função da temperatura⁸⁵.

4.4.4. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Para a análise da espectroscopia na região do infravermelho, foram preparadas pastilhas finas de aproximadamente 2,5 cm de diâmetro e 100 mg de massa. Cada uma destas pastilhas foi aquecida a tratamento térmico às temperaturas, 110, 200 e $300 \text{ }^\circ\text{C}$ sob vácuo (10^{-3} torr) por 1 h, usando-se de uma cela de quartzo desenvolvida no Laboratório de Sólidos e Superfícies⁸⁶. Essa cela permite obter espectros no infravermelho dos materiais, à temperatura ambiente, sem exposição à atmosfera externa. O equipamento utilizado foi o FTIR Shimadzu, modelo 8300, com 4 cm^{-1} de resolução e com 100 varreduras.

4.4.5. Espectroscopia de absorção molecular no Ultravioleta-Visível por refletância difusa

Os espectros no UV-Vis usando o modo de refletância difusa das amostras sólidas de material híbrido foram realizadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV 450PC, usando-se BaSO_4 para a obtenção da linha base.

4.4.6. Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia das amostras do material híbrido foi investigada através das imagens obtidas com um microscópio eletrônico de varredura. A amostra foi dispersa em um suporte de alumínio sobre uma fita condutora de cobre, depois foi coberta com um filme de ouro com a ajuda de um metalizador. O equipamento utilizado foi um JEOL JSM 5800, usando-se 20 kV e um aumento de 20.000X.

4.4.7. Espectroscopia de dispersão de energia eletrônica

Esta técnica foi empregada para determinar o conteúdo de ferro imobilizado na superfície do híbrido carbono cerâmico, e também para obter o perfil de distribuição do Fe, Si, C e N na superfície do híbrido. O equipamento empregado foi o microscópio JEOL JSM 5800, acoplado com um detector de energia dispersiva de raios X (EDS) da NORAN, com 20 kV de aceleração e na faixa de 1.000 a 3.000X de ampliação.

4.5. ESTUDO ELETROQUÍMICO

4.5.1. Preparação dos eletrodos

4.5.1.1. Preparação do eletrodo de pasta de carbono com o híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{CuTsPc}^{4-}$

O eletrodo de pasta de carbono foi preparado⁵⁶ misturando-se 0,01 g da amostra $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{CuTsPc}^{4-}$, com 0,01 g de grafite grau analítico e 1 gota de óleo mineral (nujol) como aglutinante, resultando uma pasta homogênea. Posteriormente a pasta foi colocada em uma cavidade na extremidade de um tubo de vidro (10 cm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno) de 2 mm de profundidade, em contato com um disco de platina fixado ao tubo de vidro, o contato elétrico foi realizado mediante um fio de cobre como mostra a Figura 7.

4.5.1.2. Preparação do eletrodo carbono cerâmico com o híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite e $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite/Fc

Amostra de $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite (0.03 g), foi homogeneamente moída e posteriormente prensada a 400 kPa durante 3 min, utilizando-se uma prensa mecânica PIKE Technologies-Crush IR. Seguidamente, o disco obtido com 6 mm de diâmetro ($\sim 0,2 \text{ cm}^2$ de área geométrica) foi colado em um tubo de vidro (10 cm de comprimento e 6 mm de diâmetro). Posteriormente este tubo foi preenchido com grafite grau analítico e se colocou um fio de cobre para obter o contato elétrico¹⁷. De forma similar foi realizado a construção do eletrodo com a amostra de $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite/Fc, o esquema do eletrodo formato disco é mostrado na Figura 7.

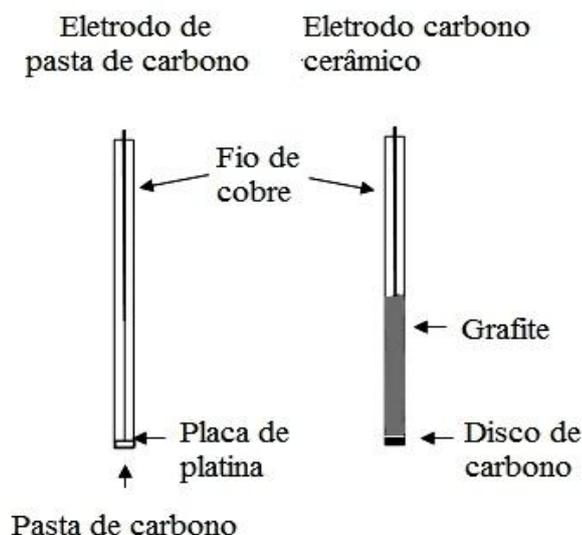


Figura 7. Esquema dos eletrodos de trabalho usados nas medidas eletroquímicas.

4.5.2. Preparação do tampão Britton-Robinson (B-R)

Foram preparadas soluções contendo $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido fosfórico P.A. (H_3PO_4) (Avetec), $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido bórico P.A. (H_3BO_3) (Merck), $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ de ácido acético P.A. (CH_3COOH) (Avetec) e $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de cloreto de potássio P.A. (KCl) (Merck). As soluções foram misturadas e o pH foi ajustado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) e ácido clorídrico (HCl) conforme a necessidade.

4.5.3. Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato da Ivium interfaciado a um computador para controle de potencial, aquisição e tratamento de dados. Utilizou-se uma cela eletroquímica de três eletrodos, o eletrodo de trabalho foi o eletrodo confeccionado com a pasta de carbono ou de disco; o contra eletrodo, um fio de platina, e o eletrodo de referência, o eletrodo calomelano saturado (ECS); como eletrólito suporte se usou 25 mL de uma solução tampão de Britton-Robinson $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$, contendo $\text{KCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. O esquema da cela eletroquímica empregada se observa na Figura 8.

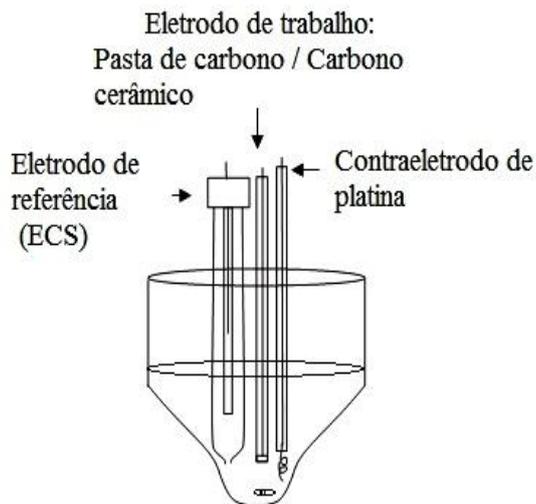


Figura 8. Cella eletroquímica de três eletrodos utilizada nas medidas eletroquímicas.

4.5.4. Estudo eletroquímico da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada imobilizada no híbrido SiO₂/QT

4.5.4.1. Medidas de voltametria cíclica para a determinação de paracetamol

A resposta do eletrodo SiO₂/QT/CuTsPc⁴⁻ para paracetamol foi testado usando-se a técnica de voltametria cíclica na faixa de potencial de -0,10 a 0,60 V *vs* ECS e uma velocidade de varredura de 20 mV.s⁻¹. Na cela eletroquímica contendo 25 mL de tampão B-R, pH 7 e KCl 0,1 mol.L⁻¹, foram adicionados 300 uL de paracetamol de uma solução 10,00 mmol.L⁻¹.

4.5.4.2. Medidas de voltametria de pulso diferencial para a determinação de paracetamol e dopamina

Os voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos na faixa de potencial de -0,20 V a 0,80 V *vs* ECS com uma amplitude de 50 mV e uma velocidade de barredura de 10 mV.s⁻¹. Para a obtenção da curva de calibração foi preparada uma solução de paracetamol 10,00 mmol.L⁻¹ e na cela eletroquímica contendo 25 mL de tampão B-R, pH 7, KCl 0,1 mol.L⁻¹, foram adicionadas sucessivas alíquotas de 50 µL da solução de paracetamol 10,00 mmol.L⁻¹, sob agitação de 2 min. Foram realizadas medidas de pulso diferencial em três etapas no estudo de interferência da dopamina durante a reação de oxidação do paracetamol. Usando-se uma cela contendo 25 mL de tampão B-R, pH 7 e KCl 0,1 mol.L⁻¹.

Etapa 1: Interferência da dopamina durante a detecção de paracetamol

A 500 μL de paracetamol $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ foram realizadas adições sucessivas de 100 μL de dopamina $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ sob agitação de 2 min.

Etapa 2: Interferência de paracetamol durante a detecção de dopamina

A 1000 μL de dopamina $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ foram realizadas adições sucessivas de 50 μL de paracetamol $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ sob agitação de 2 min.

Etapa 3: Detecção simultânea de paracetamol e dopamina

Foram adicionados 50 μL de paracetamol $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ e 150 μL de dopamina $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$; posteriormente foram colocadas simultaneamente alíquotas sucessivas de 50 μL de paracetamol $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ e 100 μL de $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ sob agitação de 2 min.

4.5.5. Estudo eletroquímico por voltametria cíclica para o eletrodo carbono cerâmico $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de potencial $-0,25$ a $0,60 \text{ V vs ECS}$ e uma velocidade de varredura de 20 mV.s^{-1} . As medidas foram realizadas em uma cela eletroquímica contendo 25 mL de uma solução de ferricianeto de potássio e ferrocianeto de potássio $1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$, e $\text{KCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Assim também foi feito um estudo de variação da velocidade de varredura na faixa de 5 a 100 mV.s^{-1} .

4.5.6. Estudo eletroquímico por voltametria cíclica para o eletrodo carbono cerâmico $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite/ Fc

As medidas por voltamogramas cíclica foram realizadas utilizando-se uma cela eletroquímica contendo 25 mL de uma solução de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, em uma faixa de potencial de $-0,25$ a $0,60 \text{ V vs ECS}$ e uma velocidade de varredura de 20 mV.s^{-1} .

4.5.6.1. Medidas de voltametria cíclica para a determinação de paracetamol

A resposta do eletrodo $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite/ Fc para paracetamol foi testada por voltametria cíclica na faixa de potencial de $-0,10$ a $0,50 \text{ V vs ECS}$. Na cela eletroquímica contendo 25 mL de uma solução de $\text{KCl } 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foram adicionadas alíquotas de 1,0 e 2,0 mL de paracetamol $10,00 \text{ mmol.L}^{-1}$ sob agitação de 2 min.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. CARACTERIZAÇÃO E ESTRUTURA DO HÍBRIDO SÍLICA-QUITOSANA

Uma representação hipotética do híbrido sílica-quitosana (SiO_2/QT) obtido pelo método sol-gel é proposta na Figura 9. O meio ácido usado no procedimento de obtenção do híbrido faz com que a quitosana apresente os grupos amino protonados (NH_3^+). Estes grupos conjuntamente com as hidroxilas da quitosana, permitem que o biopolímero fique preso à rede inorgânica de sílica mediante ligações intermoleculares de hidrogênio das hidroxilas e grupos NH_3^+ da quitosana com os grupos silanóis da superfície da sílica^{10,87}.

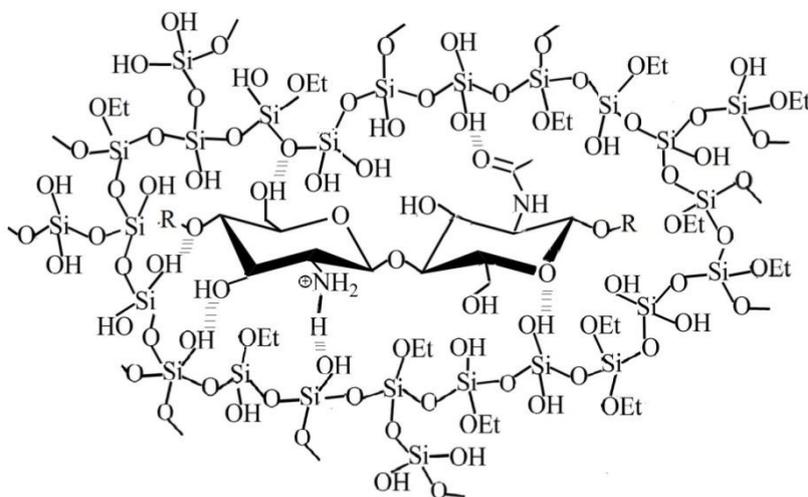


Figura 9. Representação hipotética do híbrido sílica-quitosana. R: unidade repetitiva da QT.

Na Tabela III são mostrados os resultados da análise elementar das amostras do híbrido sílica-quitosana. As amostras sem tratamento térmico prévio à lavagem dos xerogéis (0,5% SiO_2/QT , 1,0% SiO_2/QT , 2,0% SiO_2/QT e 4,0% SiO_2/QT) apresentam um maior conteúdo de carbono quando comparadas às amostras submetidas ao tratamento térmico prévio à lavagem (0,5% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$, 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$, 2,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$ e 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$). Esta diferença pode ser atribuída à reação de condensação incompleta do precursor $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_4$ nas amostras que não sofreram tratamento térmico prévio, onde possivelmente restaram grupos etoxila ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$) livres que não sofreram condensação total, sem a formação de ligações Si-O-Si. Por outro lado, nas amostras com tratamento térmico prévio, a quantidade de carbono aumenta com o conteúdo da QT incorporada no híbrido. Este resultado é indicativo de que uma maior quantidade de QT foi incorporada na estrutura do híbrido com o aumento do teor da QT adicionada. O tratamento térmico prévio também favoreceu no fortalecimento das ligações do híbrido, ajudando à incorporação da QT na rede da sílica.

Tabela III. Análise elementar do híbrido sílica-quitosana, sem tratamento térmico (SiO₂/QT) e com tratamento térmico (SiO₂/QT-R) prévio à lavagem dos xerogeis.

Amostra	SiO ₂ /QT			SiO ₂ /QT-R		
	% C	%H	%N	% C	%H	% N
0,5 %	8,17	0,96	0,13	0,81	0,83	0,28
1,0 %	4,38	0,91	0,15	0,81	0,97	0,32
2,0 %	1,7	0,88	0,35	1,43	1,01	0,11
4,0 %	2,05	1,17	0,60	1,79	1,12	0,14

A presença dos componentes orgânico e inorgânico no híbrido pode ser identificada pela análise no infravermelho. Os espectros obtidos das amostras do híbrido sílica-quitosana tratadas termicamente a 110 °C sob vácuo, são mostradas na Figura 10. O componente orgânico pode ser identificado pela banda em 1685 cm⁻¹, atribuída ao estiramento C=O da amida e a banda em 1529 cm⁻¹ correspondente à deformação angular simétrica -NH₂. Observa-se que a área sob as bandas aumenta com o incremento do teor da QT no híbrido. As bandas entre 2963-2963 cm⁻¹ podem ser atribuídas ao estiramento C-H da QT⁴⁵. Em 1870 cm⁻¹ aparece a banda correspondente aos sobretons da sílica da parte inorgânica do híbrido⁸⁸ e a banda larga em 3440 cm⁻¹ é atribuída ao estiramento O-H. Estes resultados obtidos confirmam que foi possível incorporar uma maior quantidade de QT na estrutura do híbrido com o aumento do teor da QT adicionada, como já foi observado na análise CHN.

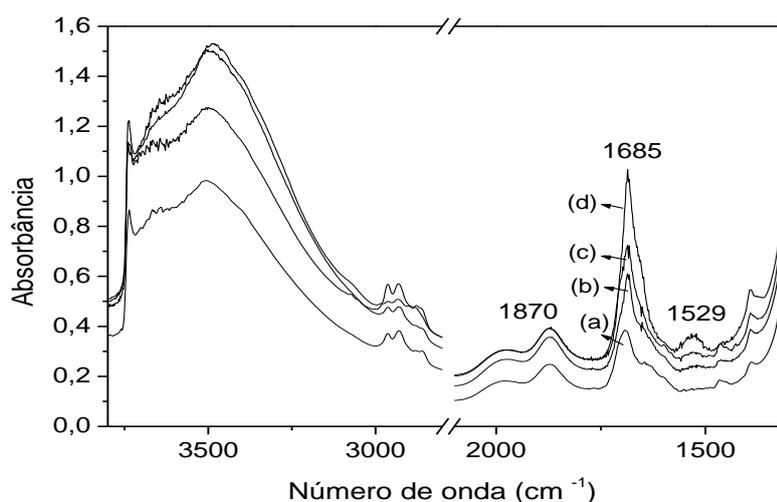


Figura 10. Espectros no infravermelho das amostras SiO₂/QT-R obtidos após o tratamento térmico a 110 °C sob vácuo (a) 0,5% SiO₂/QT-R, (b) 1,0% SiO₂/QT-R, (c) 2,0% SiO₂/QT-R e (d) 4,0% SiO₂/QT-R.

Continuando com o estudo da estabilidade térmica do híbrido sílica-quitosana na Figura 11 são mostrados os espectros no infravermelho após o tratamento térmico a 110, 200 e 300 °C, para a amostra 4,0% SiO₂/QT-R. Pode ser observado que o aumento da temperatura de aquecimento faz que diminua a área sob a banda em 1685 cm⁻¹. Entretanto, a banda em 1529 cm⁻¹ não apresenta variação significativa na área da banda com o aumento da temperatura.

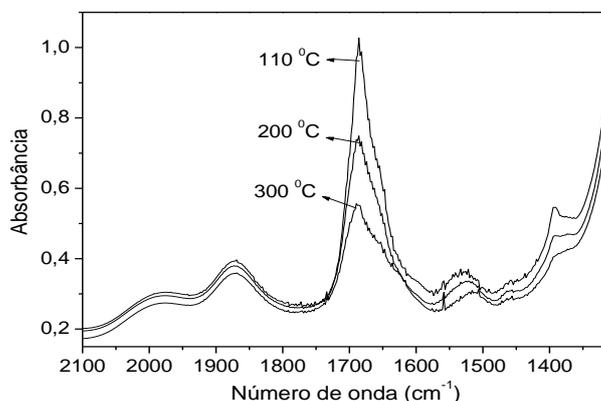


Figura 11. Espectros no infravermelho da amostra 4,0% SiO₂/QT-R submetida a diferentes temperaturas de tratamento térmico sob vácuo.

As curvas termogravimétricas são mostradas na Figura 12. Observa-se uma primeira perda de massa até 110 °C que pode ser atribuída à perda de água adsorvida no material, a segunda perda de massa entre 110 e 800 °C devido à dessorção e decomposição da QT, assim como à desidroxilação dos silanóis da sílica⁸⁸. Uma quantificação em porcentagem da perda de massa orgânica na faixa de temperatura de 250 a 600 °C se mostra na Tabela IV. Note-se o incremento na perda de orgânico com o aumento do teor da QT no híbrido, os resultados são coerentes, pois uma maior porcentagem da QT é incorporada no híbrido como foi visto anteriormente.

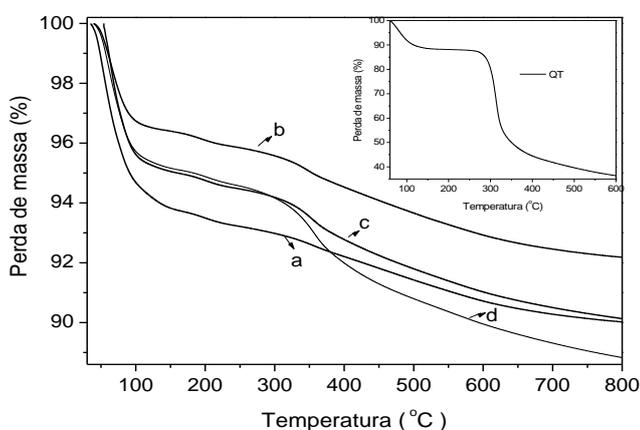


Figura 12. Curvas termogravimétricas das amostras do híbrido sílica-quitosana (a) 0,5% SiO₂/QT-R, (b) 1,0% SiO₂/QT-R, (c) 2,0% SiO₂/QT-R e (d) 4,0% SiO₂/QT-R. Figura inserida: TGA da QT.

Tabela IV. Porcentagem da perda de massa orgânica na faixa de temperatura de 250 a 600 °C.

Amostra (% SiO ₂ /QT-R)	Perda massa QT (%)
0,5	2,7
1,0	3,2
2,0	3,7
4,0	4,9

Uma análise mais detalhada pode ser feita pela derivada das curvas do TGA, na Figura 13 são mostradas as curvas termogravimétricas derivativas. É possível observar que a temperatura de decomposição do híbrido sílica-quitosana varia ligeiramente com o aumento da QT, sendo mais estáveis as amostras 2,0% SiO₂/QT-R e 4,0% SiO₂/QT-R cujas temperaturas de decomposição foram de 357 °C, maior do que a temperatura de decomposição da QT pura que foi de 312 °C (Figura inserida). A incorporação da sílica e sua interação com a QT incrementou a resistência térmica do híbrido, conseqüentemente foi observado um aumento da temperatura de decomposição da QT no híbrido⁴⁸. De acordo aos resultados obtidos no TGA e no estudo da estabilidade térmica mediante espectros no infravermelho (Figura 11) é possível atribuir a diminuição da área sob a banda em 1685 cm⁻¹ (de 110 a 300 °C) à perda dos restos de solvente formamida⁸⁹ empregado na síntese do híbrido, visto que a formamida também possui grupos carbonila na sua estrutura e que conforme o TGA as amostras do híbrido são estáveis até 357 °C. De acordo às curvas termogravimétricas derivativas o pico que aparece em 200 °C pode ser atribuído à perda de massa da formamida restante nas amostras do híbrido.

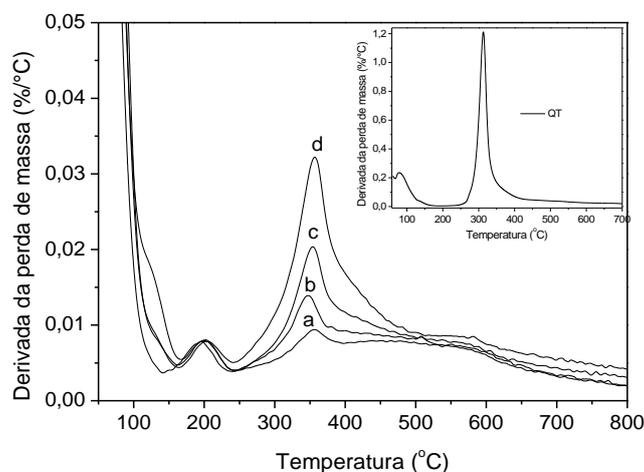


Figura 13. Derivada da curva termogravimétrica (DTG). (a) 0,5% SiO₂/QT-R, (b) 1,0% SiO₂/QT-R, (c) 2,0% SiO₂/QT-R e (d) 4,0% SiO₂/QT-R. Figura inserida: DTG da QT.

Na Tabela V encontram-se os resultados de área específica (S_{BET}) e volume de poro das amostras com e sem o tratamento térmico prévio à lavagem das amostras. Observa-se que apresentaram uma elevada área específica que varia entre 400 a 472 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, estes valores obtidos são próximos aos de alguns híbridos SiO_2/QT encontrados na literatura⁹⁰, os quais se encontram na faixa de 417 a 430 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, no entanto apresentam um tamanho de poro de 3,8 nm, muito menor do que o conseguido neste trabalho. Por outro lado, observa-se que o teor orgânico quase não altera a área específica e o volume de poro que variou na faixa de 0,80 a 0,96 $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$.

Tabela V. Área específica (S_{BET}), volume de poro das amostras do híbrido sílica-quitosana.

Amostra	S_{BET} ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	Volume de poro ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)
0,5% SiO_2/QT	405	0,89
1,0 % SiO_2/QT	433	0,92
2,0 % SiO_2/QT	472	0,90
4,0 % SiO_2/QT	406	0,80
0,5 % $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$	402	0,92
1,0 % $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$	450	0,96
2,0 % $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$	446	0,92
4,0 % $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$	409	0,82

As isotermas de adsorção e dessorção das amostras SiO_2/QT e $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$ são apresentadas na Figura 14 (a) e 14 (b), respectivamente. As amostras apresentam isotermas do tipo IV de acordo à classificação da IUPAC, típico dos materiais mesoporosos⁸². É possível observar na Figura 15 (a) e 15 (b) que as amostras apresentam um perfil de distribuição de tamanho de poros semelhante. Todas as amostras mostraram-se mesoporosas, com distribuição estreita de mesoporos e pode-se perceber um leve efeito do tratamento térmico prévio à lavagem dos xerogeis (amostras $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$), visto que apresentam uma faixa de diâmetro de poro de 7,3 a 6,5 nm ligeiramente maior quando comparada à faixa de 6,5 a 6,9 nm de diâmetro de poro obtida com as amostras SiO_2/QT .

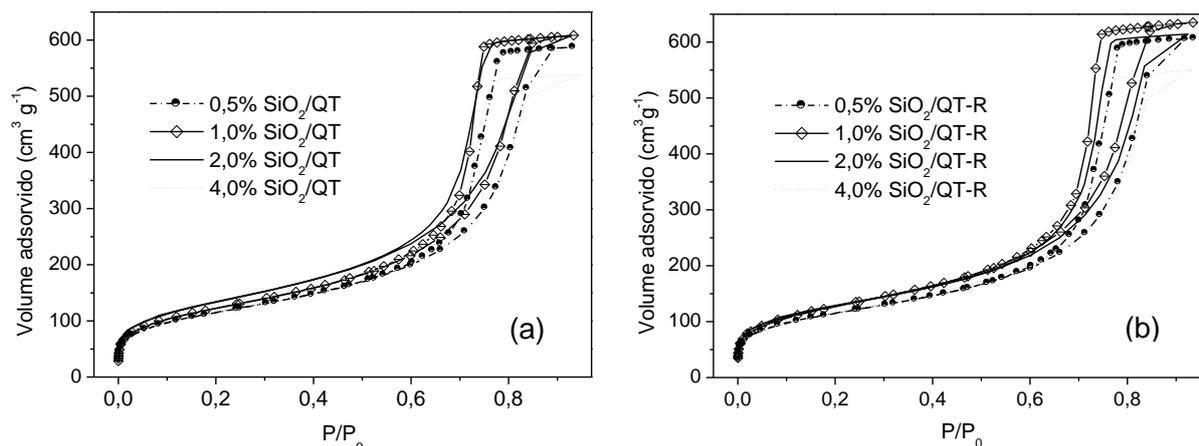


Figura 14. Isothermas de adsorção e dessorção das amostras do híbrido sílica-quitosana à temperatura de $N_{2(l)}$ ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$) (a) sem tratamento térmico e (b) com tratamento térmico prévio à lavagem.

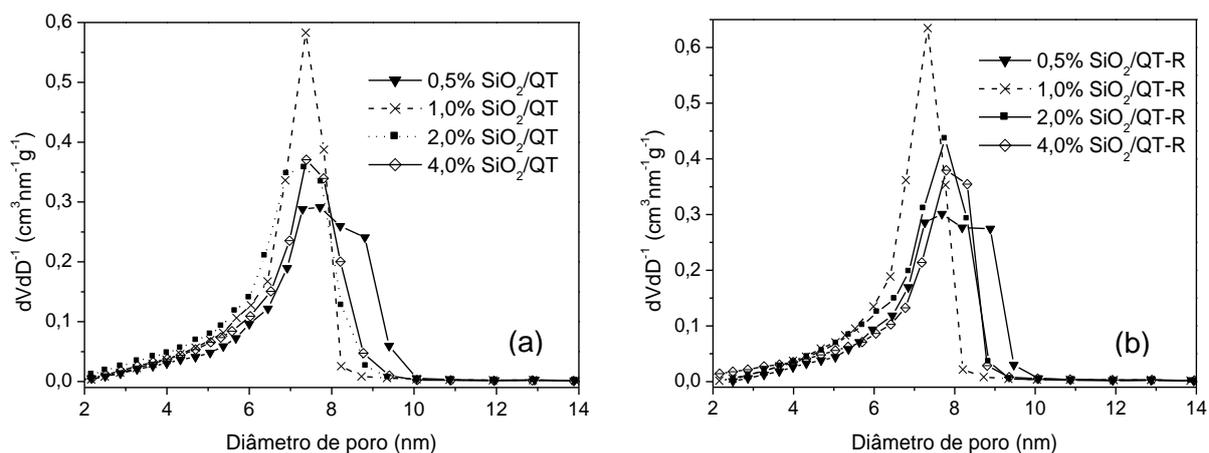


Figura 15. Curvas de distribuição de tamanho de poros das amostras do híbrido sílica-quitosana (a) sem tratamento térmico e (b) com tratamento térmico prévio à lavagem.

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com amplificação de 20.000X são apresentadas na Figura 16. As amostras $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$ apresentam uma superfície quase compacta. A presença de partículas poucas definidas não mostram diferenças morfológicas com respeito ao teor de quitosana incorporada, visto que a quantidade de quitosana é muito menor em relação à quantidade sílica (TEOS)⁹⁰.

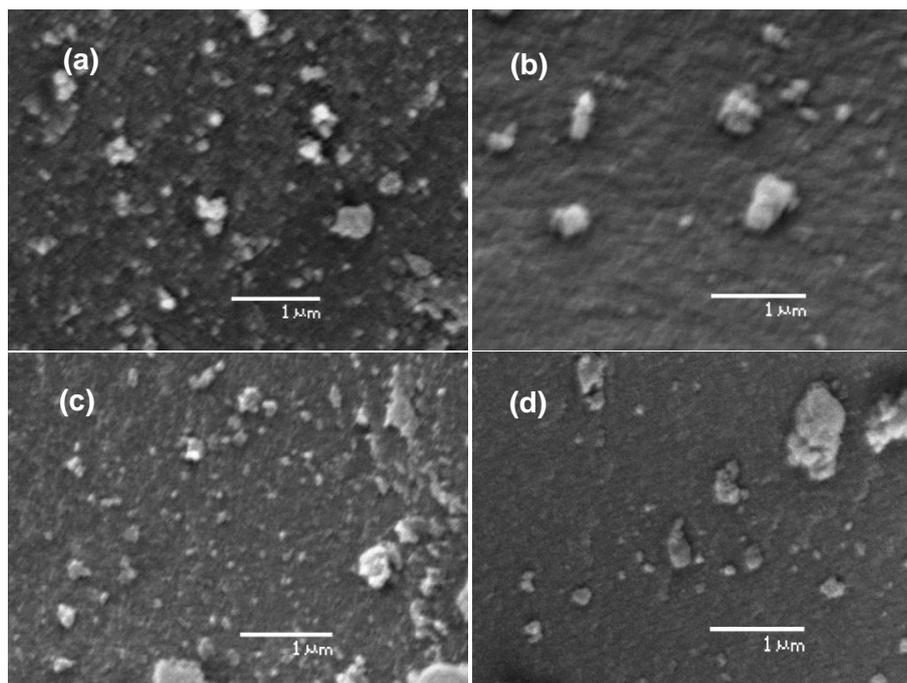


Figura 16. Micrografias obtidas por MEV das amostras (a) 0,5% SiO₂/QT-R, (b) 1,0% SiO₂/QT-R, (c) 2,0% SiO₂/QT-R e (d) 4,0% SiO₂/QT-R, com ampliação de 20.000X.

5.2. PROPRIEDADES E APLICAÇÃO DO HÍBRIDO SÍLICA-QUITOSANA

5.2.1. Imobilização da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada no híbrido SiO₂/QT

A ftalocianina cobre (II) tetrassulfonada CuTsPc⁴⁻ pertence à família das metalofalocianinas (MPc, M: metal de transição), uma família de moléculas orgânicas complexas. Algumas das propriedades que apresentam são uma alta estabilidade química, térmica, mecânica e uma alta reatividade redox; propriedades que permitem sua aplicação na eletrocatalise e fotocatalise^{49,91}. A imobilização destas espécies eletroativas em suportes porosos está sendo amplamente pesquisado no desenvolvimento de sensores eletroquímicos, visto que podem atuar como catalisadores em várias reações eletroquímicas^{60,91,92}.

Neste trabalho, a CuTsPc⁴⁻ foi imobilizada na superfície do híbrido SiO₂/QT devido às interações eletrostáticas⁴⁹ entre os grupos carregados NH₃⁺ da quitosana ácida e os grupos SO₃⁻ da CuTsPc⁴⁻. Um esquema hipotético que representa a imobilização da CuTsPc⁴⁻ na superfície do híbrido é apresentado na Figura 17.

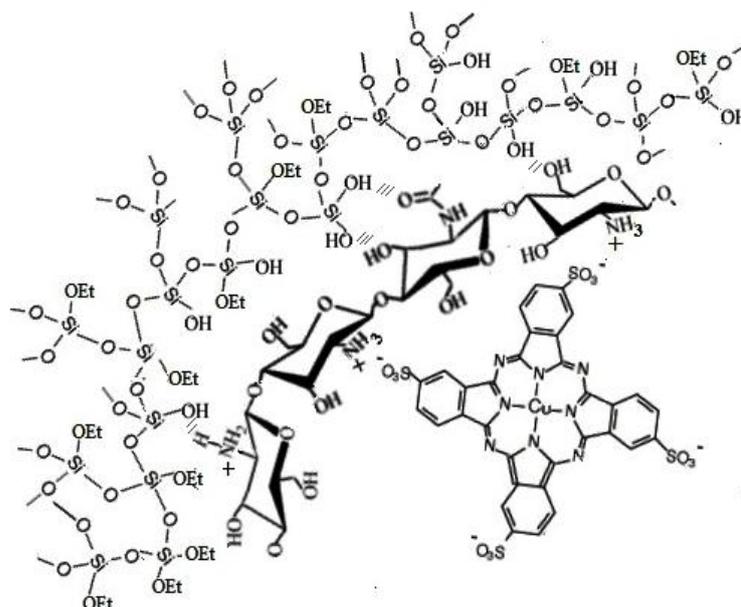


Figura 17. Esquema hipotético da ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada immobilizada no híbrido SiO₂/QT.

Na Figura 18 se mostram os espectros no UV-Visível por refletância difusa do híbrido sílica-quitosana contendo a CuTsPc⁴⁻ immobilizada, observa-se dois picos com máximos em 598 e 686 nm. A bibliografia nos relata que eles aparecem em 610 e 690 nm para a CuTsPc⁴⁻ pura e que podem ser atribuídas às duas transições $\pi-\pi^*$ ($a_{1u} \rightarrow e_g$), das bandas Q do Cu (II) com simetria D_{4h} ligeiramente distorcida da ftalocianina confinada nos poros da matriz^{49,93}. Por outro lado, as bandas que aparecem na faixa de 200 a 400 nm são atribuídas à banda B ou Soret, também correspondente às transições $\pi-\pi^*$ ($a_{2u} \rightarrow e_g$) nos orbitais do anel da ftalocianina⁶⁰.

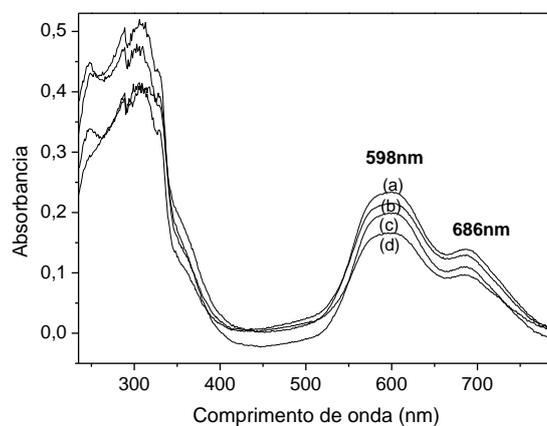


Figura 18. Espectros UV-Vis por refletância difusa das amostras do híbrido sílica-quitosana (a) 0,5% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻, (b) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻, (c) 2,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e (d) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

5.5.2. Propriedades electrocatalíticas do híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{CuTsPc}^{4-}$ na determinação de paracetamol e dopamina

5.5.2.1. Medidas de voltametria cíclica para a determinação de paracetamol

A Figura 19 (a) mostra os voltamogramas cíclicos para o eletrodo de pasta de carbono preparado com a amostra 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$ antes e depois de ser imobilizado com a CuTsPc^{4-} na presença de uma solução 0,118 mmol.L^{-1} de paracetamol. Pode-se observar, um par de picos anódico e catódico, E_{pa} e E_{pc} , respectivamente, bem definidos com um potencial de pico médio, $E_{1/2}$ [$E_{1/2} = (E_{pa} + E_{pc})$] de 0,28 V utilizando o eletrodo 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$ e 0,25 V utilizando o eletrodo 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, sendo estes picos atribuídos à oxidação e redução do paracetamol²². As intensidades de corrente dos picos aumentam significativamente utilizando o eletrodo 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, este resultado é um indicativo da atividade electrocatalítica da CuTsPc^{4-} imobilizada na superfície do híbrido SiO_2/QT . Por outro lado o potencial de oxidação do paracetamol obtido a 0,38 V é relativamente menor frente a outros eletrodos encontrados na literatura como o eletrodo feito com nanotubos de carbono⁹⁴ com potencial de oxidação do paracetamol a 0,60 V. A Figura 19 (b) exhibe os voltamogramas cíclicos para os eletrodos 0,5% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, pode-se evidenciar que os eletrodos 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ apresentam uma melhor definição picos e resposta electroquímica na determinação do paracetamol. No entanto, o eletrodo 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ apresenta uma menor separação de picos e uma ligeira maior resposta de corrente.

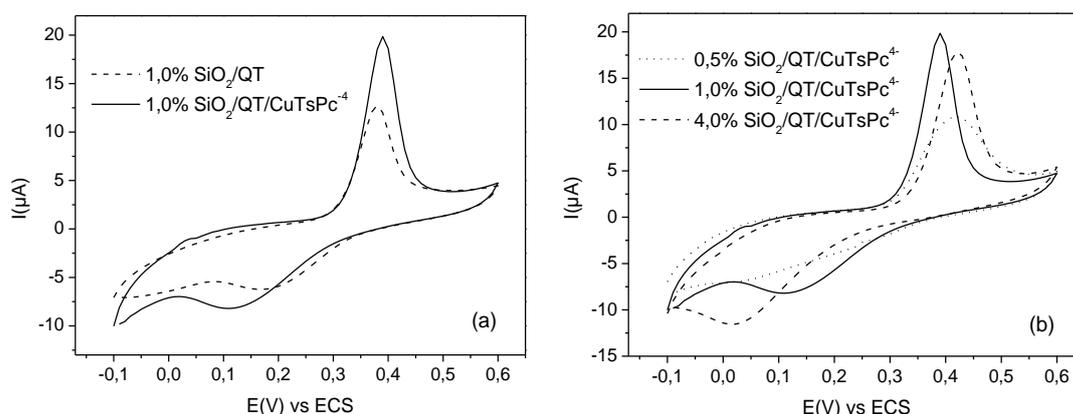


Figura 19. (a) Voltamogramas cíclicos para os eletrodos 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}$ e 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e (b) voltamogramas cíclicos com os eletrodos 0,5% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, em 25 mL de tampão B-R a pH 7, KCl 0,1 mol.L^{-1} contendo 0,118 mmol.L^{-1} de paracetamol. Velocidade de varredura 20 mV.s^{-1} .

A Figura 20 exibe as voltametrias cíclicas para o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ a diferentes concentrações de paracetamol. É possível notar na Figura 21 uma correlação linear entre o aumento da intensidade de corrente do pico anódico e a concentração de paracetamol contido na cela eletroquímica, representada pela equação $I(\mu\text{A}) = (1,2 \pm 0,8) + (146,1 \pm 2,8)[\text{Paracetamol}]/\text{mmol.L}^{-1}$ com R^2 0,996 na faixa de concentração compreendida entre 0,0390 e 0,458 mmol.L⁻¹ de paracetamol. A sensibilidade representada pela inclinação da reta (*slope*) foi de 146 $\mu\text{A.L mmol}^{-1}$ e o limite de detecção de 0,513 $\mu\text{mol.L}^{-1}$. Estes resultados são indicativos que este eletrodo poderia ser utilizado como sensor para a determinação de paracetamol. Para o cálculo do limite de detecção se usou a seguinte equação⁶³:

$$LD = \frac{3 \times \text{Desvio padrão do branco}}{\text{Slope}}$$

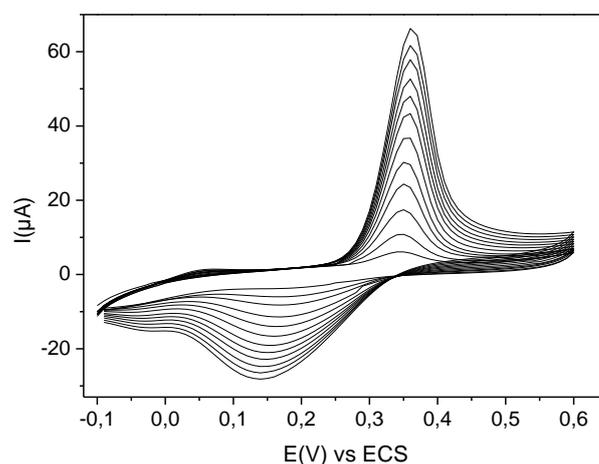


Figura 20. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ na faixa de 0,0390 a 0,458 mmol.L⁻¹ de paracetamol em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L⁻¹ e a 20 mV.s⁻¹.

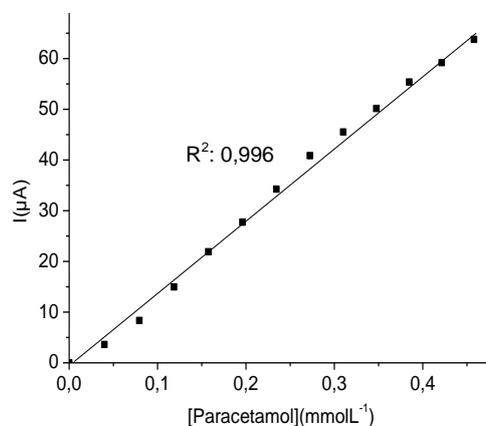


Figura 21. Relação linear entre a corrente anódica e a concentração de paracetamol para o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

Outra análise que foi realizada e que nos dá ideia do processo envolvido na interface eletrodo/solução é o comportamento do eletrodo a diferentes velocidades de varredura, que neste caso foi avaliado na faixa de 5 a 120 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, os voltamogramas obtidos se mostram na Figura 22. A modo comparativo estas medidas foram realizadas para os eletrodos 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ visto que esse último também apresentou boa resposta de intensidade de corrente na oxidação do paracetamol como anteriormente foi mostrado (Figura 19). Observa-se nas Figuras 23 (a) e (b) que existe uma correlação linear entre o incremento da intensidade de corrente do pico anódico e pico catódico com a raiz quadrada da velocidade de varredura (I_p vs $v^{1/2}$), indicando que o processo de oxidação do paracetamol está controlado por um processo de difusão do paracetamol à superfície do eletrodo^{51,69}.

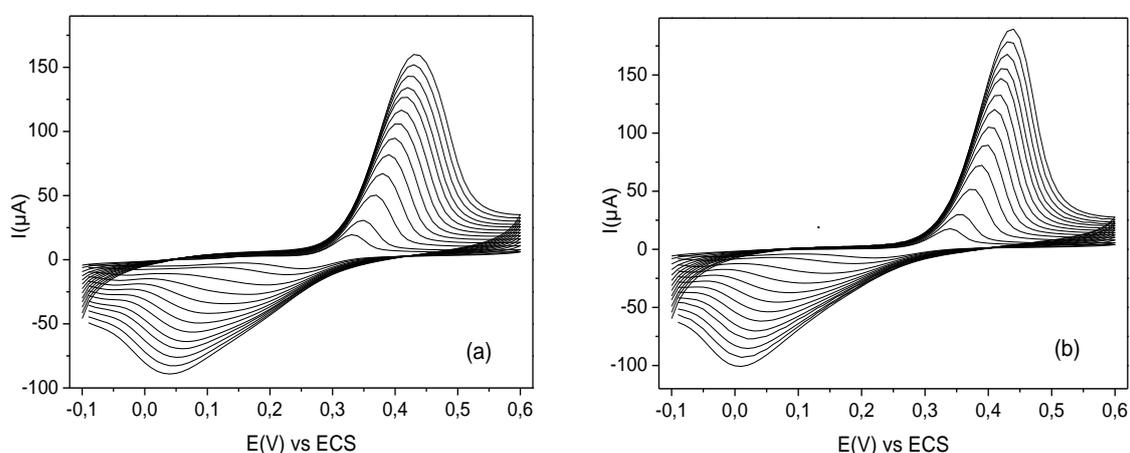


Figura 22. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos (a) 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e (b) 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, variando a velocidade de varredura de 5 a 100 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e 0,384 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de paracetamol.

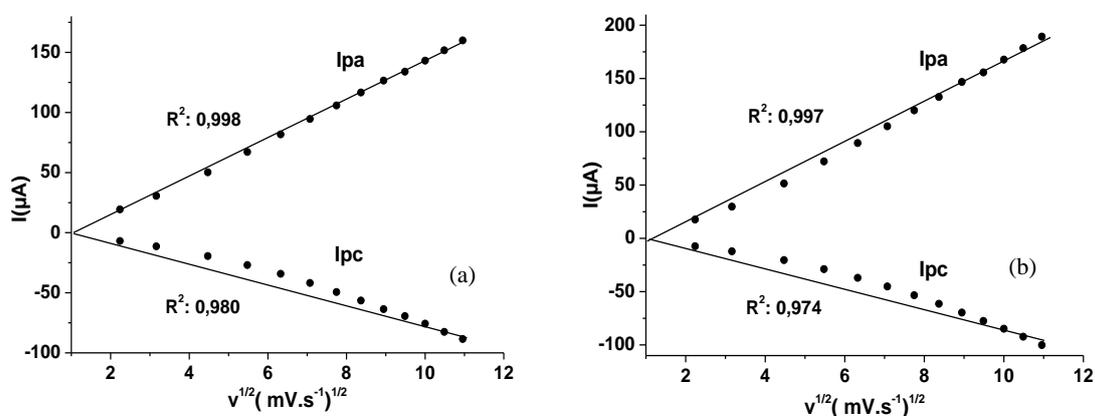


Figura 23. Gráficos de I_{pa} e I_{pc} em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para os eletrodos (a) 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e (b) 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$.

Um estudo do efeito do pH na determinação do paracetamol foi feito mediante medidas de voltametria cíclica na faixa de pH compreendida entre 4 e 9 e na presença de 0,0790 mmol.L⁻¹ de paracetamol, usando 25 mL de tampão B-R como eletrólito suporte. Na Figura 24 se mostram os voltamogramas cíclicos obtidos variando pH para os eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ ambos apresentam perfil semelhante, no entanto a resposta na intensidade de corrente com o eletrodo 1,0 SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ foi relativamente maior. Os voltamogramas mostraram que em pH 4 a oxidação do paracetamol é um processo pouco reversível, visto que ambos eletrodos apresentam pouca definição e baixa intensidade de corrente do pico de redução. No entanto subindo o pH é possível levar o potencial de oxidação do paracetamol para valores mais negativos, aumentar a intensidade de corrente do pico de redução e diminuir o potencial médio da separação de picos ($E_{1/2}$), conseguindo-se melhorar a reversibilidade da reação.

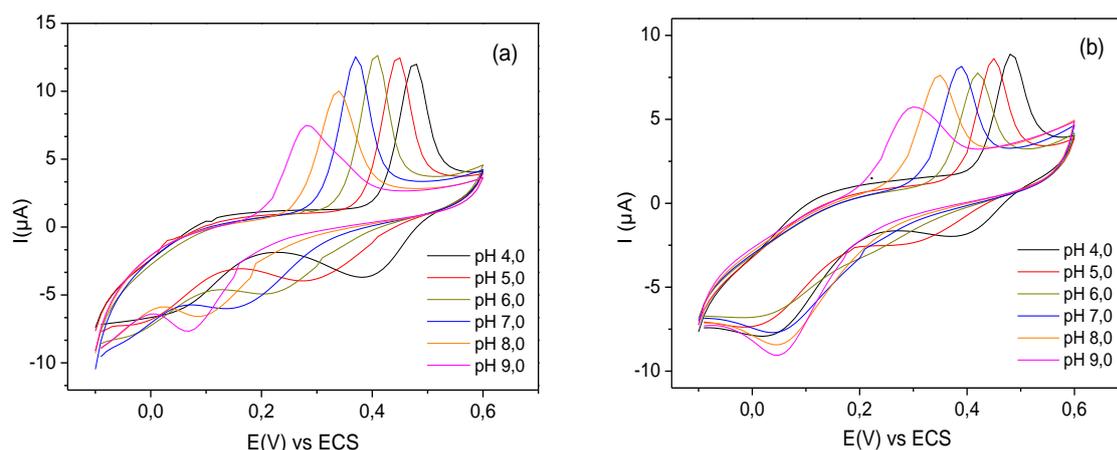


Figura 24. Voltamogramas cíclicos obtidos variando pH na faixa de 4 a 9 para os eletrodos (a) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e (b) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ em 25 mL de tampão B-R, KCl 0,1 mol.L⁻¹ contendo 0,0790 mmol.L⁻¹ de paracetamol e a 20 mV.s⁻¹.

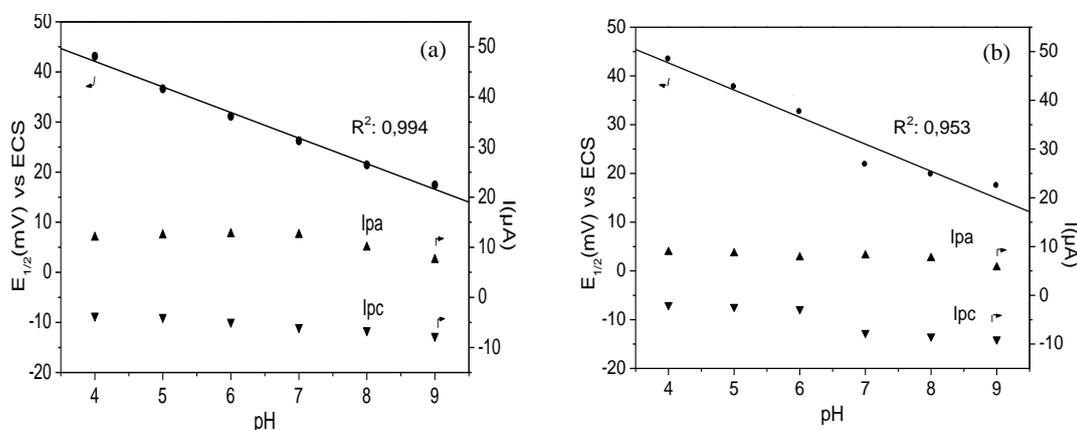


Figura 25. Gráficos da dependência do pH com o potencial meio ($E_{1/2}$) e I_{pa} e I_{pc} : (a) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e (b) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

A relação entre o pH e o mecanismo de oxidação do paracetamol é relatada na bibliografia²⁸, as reações são mostradas na Figura 26. O comportamento observado a pH 4 pode ser atribuído à consequente protonação da *N*-acetil-*p*-benzoquinona-imina obtida na oxidação do paracetamol gerando um processo pouco reversível. Em pH 5 a 8 é estável a molécula formada na oxidação do paracetamol permitindo uma melhor definição dos picos, no entanto a pH 9 vai tornando-se desfavorável a reação de oxidação pela presença dos grupos hidroxila que participam no mecanismo da reação e levam à formação da *p*-hidroxianilina.

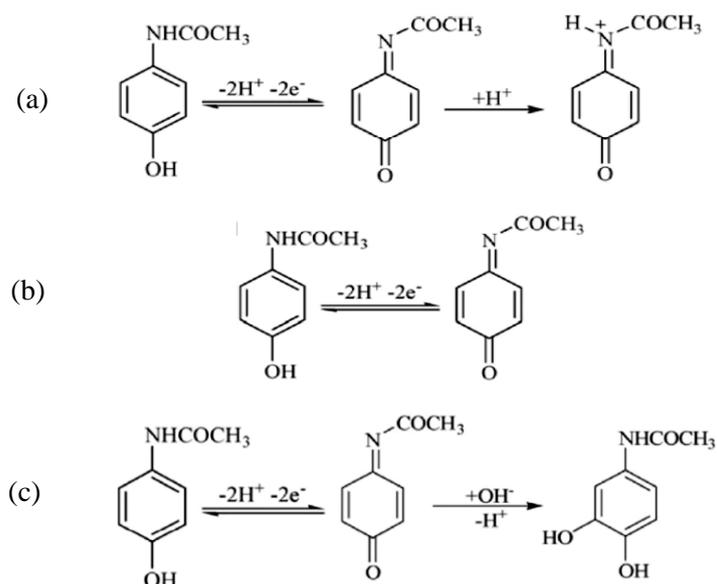


Figura 26. Mecanismo de reação da oxidação do paracetamol variando pH: (a) pH 4, (b) pH 5 a 8 e (c) pH 9.

Nas Figuras 25 (a) e (b) observa-se que a intensidade de corrente anódica e catódica, I_{pa} e I_{pc} , se mantiveram constantes na faixa de pH estudada, no entanto a ligeira diminuição a pH acima de 7 pode ser atribuído à adsorção de paracetamol na superfície do eletrodo⁹⁵. Por outro lado, foi obtido uma correlação linear entre o potencial de pico médio ($E_{1/2}$) e o pH, a equação obtida usando o eletrodo 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^4$ foi $E_{1/2}(\text{mV}) = (625,4 \pm 13,5) - (51,1 \pm 2,0)\text{pH}$ com $R^2 0,994$ e com o eletrodo 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^4$ foi obtida a equação $E_{1/2}(\text{mV}) = (648,7 \pm 41,6) - (55,5 \pm 6,2)\text{pH}$ com $R^2 0,953$, o que mostra que o potencial médio diminui em 51 mV e 56 mV por unidade de pH nos eletrodos usados; valores próximos ao valor de -59 mV/pH que de acordo à equação de Nernst é para processos redox onde a relação de elétron e próton é na relação 1:1 como neste caso, pois a oxidação do paracetamol envolve dois prótons e dois elétrons⁹⁶.

Percebe-se também nos voltamogramas cíclicos que na faixa de pH estudada, a pH 7 ambos eletrodos apresentam uma boa resposta de corrente, uma baixa corrente capacitiva e picos de oxidação e redução do paracetamol melhores definidos, particularmente quando se usa o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻, conseqüentemente o pH 7 foi selecionado para realizar as análises posteriores.

5.2.2.2. Medidas de voltametria de pulso diferencial para a determinação de paracetamol

Com a finalidade de demonstrar a potencialidade de utilização do eletrodo SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ como sensor eletroquímico para a determinação de paracetamol, foram realizados estudos empregando uma técnica eletroquímica mais sensível, neste caso se usou a voltametria de pulso diferencial. As Figuras 27 (a) e (b) apresentam as voltametrias cíclicas de pulso diferencial para os eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ respectivamente, a diferentes concentrações de paracetamol. O potencial de oxidação do paracetamol aparece a 0,31 V para os dois eletrodos, percebe-se um aumento da intensidade de corrente correspondente ao aumento da concentração de paracetamol.

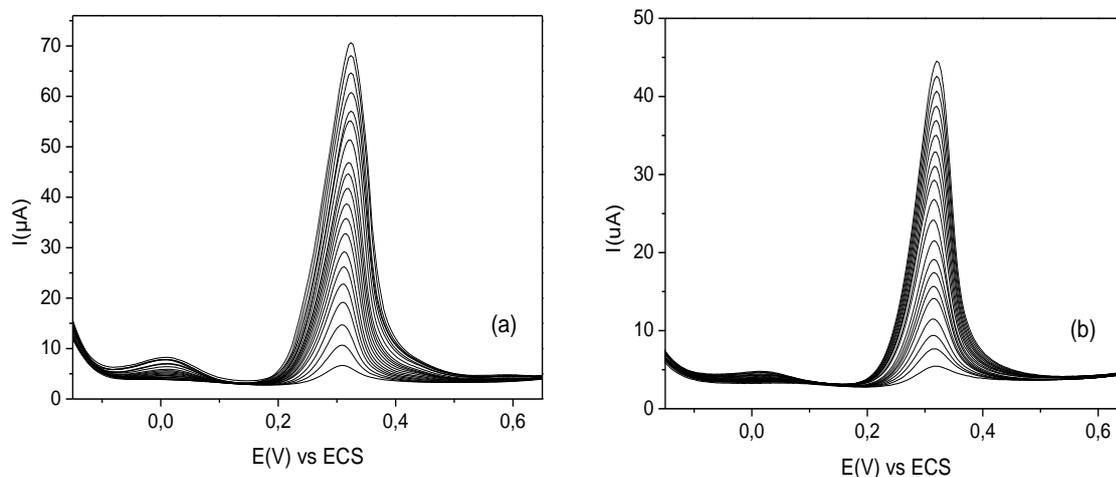


Figura 27. Voltamogramas de pulso diferencial para os eletrodos (a) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e (b) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ em presença de paracetamol na faixa de 0,0199 a 0,385 mmol.L⁻¹ em 25mL de tampão B-R pH7, KCl 0,1 mol.L⁻¹, velocidade de varredura 10 mV.s⁻¹ e amplitude 50 mV.

Nas Figuras 28 (a) e (b) se mostra que existe uma correlação linear entre o aumento de corrente e a concentração de paracetamol em uma faixa de concentração compreendida entre 0,0199 a 0,385 mmol.L⁻¹. Assim também, foram obtidas intensidades de corrente mais altas

usando o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ quando comparado ao eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

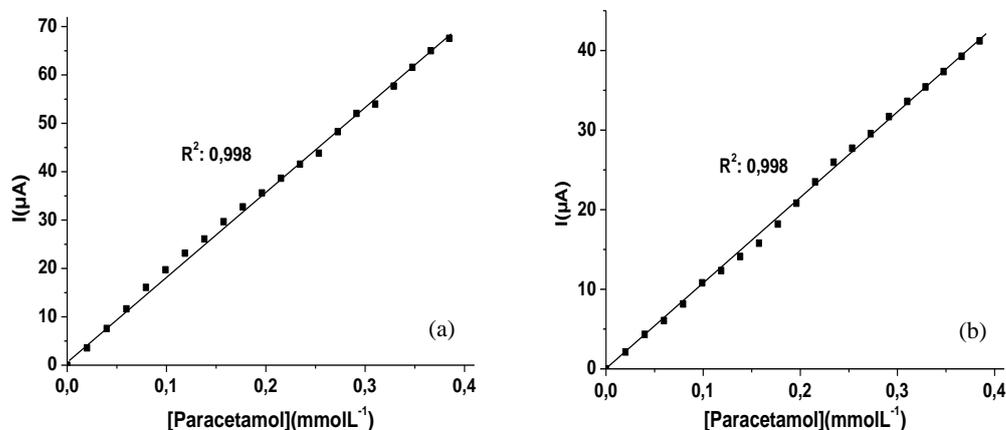


Figura 28. Gráficos da [Paracetamol] (mmol.L⁻¹) em função da I_p (μA) para os eletrodos (a) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e (b) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

A correlação linear foi demonstrada pelas equações obtidas, para o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ a equação obtida foi $I(\mu A) = (1,4 \pm 0,4) + (172,6 \pm 1,6)[\text{Paracetamol}] / \text{mmol.L}^{-1}$ com R² 0,998 e $I(\mu A) = (0,3 \pm 0,2) + (108,6 \pm 0,83) [\text{Paracetamol}] / \text{mmol.L}^{-1}$ com R² 0,998 a equação obtida para o eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻. Na Tabela VI se mostram os valores obtidos de sensibilidade e limite de detecção para os dois eletrodos. Observa-se que os dois eletrodos são bem sensíveis, no entanto o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ é mais sensível e permite detectar uma menor concentração de paracetamol quando comparado ao eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

Tabela VI. Medidas de sensibilidade e limite de detecção (LD) de paracetamol por VPD para os eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

Eletrodo	Faixa linear (μmol.L ⁻¹)	Sensibilidade (μA.L mmol ⁻¹)	LD (μmol.L ⁻¹)
1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁻	19,9-385	173	0,564
4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁻		109	1,29

Estes valores obtidos são considerados satisfatórios, pois podemos observar na Tabela VII que o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ apresenta uma maior sensibilidade de resposta e

um baixo limite de detecção quando comparado aos outros sensores de paracetamol encontrados na literatura. Sendo assim, o presente eletrodo apresenta potencial para ser utilizado como um sensor eletroquímico de paracetamol.

Tabela VII. Parâmetros analíticos de alguns eletrodos para a determinação de paracetamol.

Eletrodo (modificado)	Técnica eletroquímica	Faixa linear ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A.L mmol}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Ref
MWNT _s /GC ^(a)	VC	10-1000	—	2	[95]
C ₆₀ /GC ^(b)	VPD	50-1500	13,04	50	[97]
SPE/PEDOT ^(c)	VC	10-1000	—	3,71	[98]
	VPD	4-400	—	1,39	
C-Ni/GC ^(d)	VPD	2-230	—	0,6	[99]
GNM/CPE ^(e)	VPD	0,05-270	34,9	0,014	[100]
GC/Cu(II) complexo ^(f)	VC	20-5000	16,5	5	[101]
4-SO ₃ H-P/GC	VC	2-1490	14,04	1,27	[102]
1,0% SiO ₂ /QT/ CuTsPc ⁴⁻	VC	39,8-458	146	0,513	Neste trabalho
	VPD	19,9-385	173	0,564	

^(a) Eletrodo carbono vítreo modificado com multicamadas de nanotubos de carbono.

^(b) Eletrodo carbono vítreo modificado com C₆₀.

^(c) Eletrodo *screen-printed* modificado com poly(3,4-etilenodioxitiofeno).

^(d) Eletrodo carbono vítreo modificado com nanopartículas de níquel.

^(e) Eletrodo de pasta de carbono modificado com nanopartículas de ouro.

^(f) Eletrodo carbono vítreo modificado com polímero condutor/Cu (II).

5.2.2.3. Determinação simultânea de paracetamol e dopamina mediante voltametria de pulso diferencial e voltametria cíclica

Visto que os eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ podem ser usados como sensores para a determinação de paracetamol, foi estudado mediante

voltametria de pulso diferencial o comportamento da oxidação do paracetamol na superfície dos eletrodos na presença da dopamina (DP), esta molécula presente em meios biológicos pode interferir nas determinações do paracetamol.

A Figura 29 mostra o voltamograma cíclico obtido com o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ na presença de 0,275 mmol.L⁻¹ de paracetamol e 0,568 mmol.L⁻¹ de dopamina. O potencial de oxidação da dopamina foi de 0,15 V e do paracetamol 0,33 V; mediante o voltamograma pode-se perceber que o eletrodo apresenta uma boa separação entre os potenciais de pico dos dois analitos.

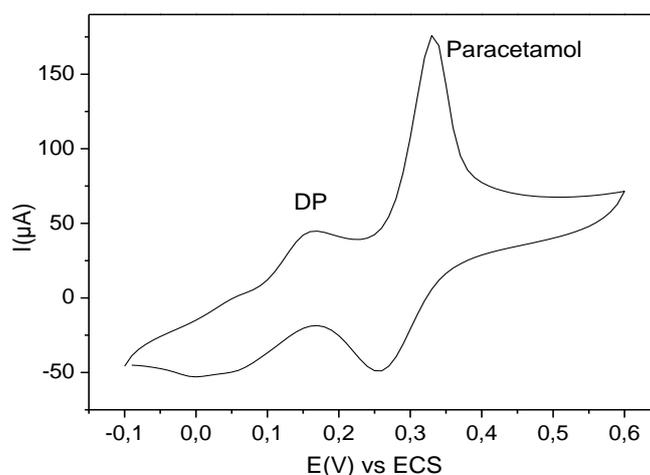


Figura 29. Voltametria cíclica para o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ em 25 mL de tampão B-R a pH 7, KCl 0,1 mol.L⁻¹ na presença de 0,568 mmol.L⁻¹ de dopamina e 0,275 mmol.L⁻¹ de paracetamol. Velocidade de varredura 5 mV.s⁻¹.

Na Figura 30 (a) e (b) se exhibe a resposta dos eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ por voltametria de pulso diferencial na presença de paracetamol 0,196 mmol.L⁻¹ e dopamina na faixa de concentrações de 0,0390 a 0,377 mmol.L⁻¹ em tampão B-R a pH 7. Percebe-se que o potencial de oxidação da dopamina aparece em 0,10 V e na faixa de concentrações estabelecido a dopamina não interfere na intensidade de corrente e no potencial de oxidação (0,31 V) do paracetamol. Nas Figuras 31 (a) e (b) se mostra que existe uma correlação linear entre o aumento da intensidade de corrente de oxidação da dopamina e sua concentração na faixa de estudo.

Para o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ se observa que a curva de calibração apresenta dois segmentos de linearidade, o primeiro de 0,0390 a 0,116 mmol.L⁻¹ e o segundo segmento de 0,116 a 0,377 mmol.L⁻¹, este último tem a equação $I(\mu\text{A})=$

$(15,2\pm 1,5)+(161,1\pm 5,4)$ [Dopamina]/mmol.L⁻¹ com R² 0,995; a presença de esses dois segmentos pode ser atribuído a uma inicial adsorção da dopamina na superfície do eletrodo, devido à provável formação de uma sub-monocamada na primeira faixa e de uma monocamada na segunda faixa¹⁰³. Em concentrações de dopamina maiores a 0,377 mmol.L⁻¹ pode ser observado que a intensidade não varia com a concentração de dopamina e permanece quase constante, esse comportamento pode ser ocasionado pela saturação do eletrodo. Similar comportamento se observou com o eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺, existe uma primeira faixa de linearidade de 0,0390 a 0,116 mmol.L⁻¹ e a segunda faixa de 0,116 a 0,556 mmol.L⁻¹ representada pela equação $I(\mu\text{A})=(2,4\pm 0,4)+(65,3\pm 1,2)$ [Dopamina]/mmol.L⁻¹ com R² 0,996; assim também percebe-se que a partir da concentração 0,556 mmol.L⁻¹ começa a ser constante a intensidade de corrente, possivelmente está acontecendo também a saturação do eletrodo, no entanto o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺ se estaria saturando de dopamina mais rápido do que o eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺.

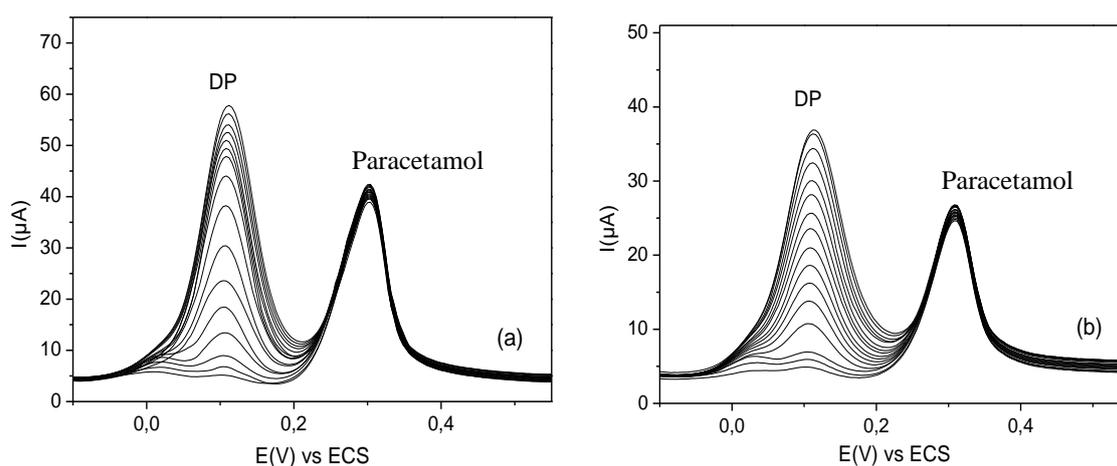


Figura 30. Voltametria de pulso diferencial para os eletrodos: (a) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺ e (b) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L⁻¹ com 0,196 mmol.L⁻¹ de paracetamol. Velocidade de varredura 10 mV.s⁻¹ e amplitude 50 mV.

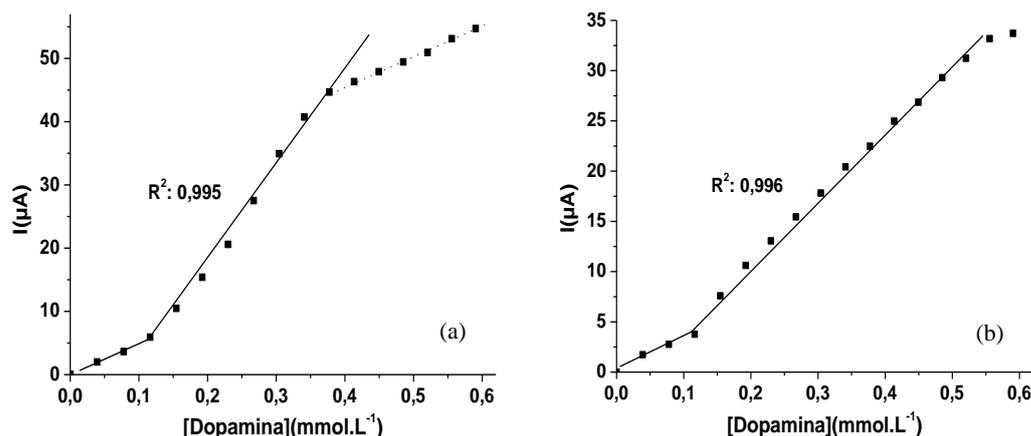


Figura 31. Gráficos da [Paracetamol] (mmol.L^{-1}) em função da I_p (μA) para os eletrodos: (a) 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e (b) 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$.

Na Tabela VIII se mostram os valores obtidos de sensibilidade e limite de detecção para os dois eletrodos em presença de $0,196 \text{ mmol.L}^{-1}$ de paracetamol. Observa-se que o eletrodo 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ apresenta uma maior sensibilidade e menor limite de detecção de dopamina do que o eletrodo 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$, no entanto possui uma menor faixa de linearidade.

Tabela VIII. Interferência da dopamina, medidas de sensibilidade e limite de detecção (LD) da dopamina por VPD para os eletrodos 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ com $0,196 \text{ mmol.L}^{-1}$ de paracetamol.

Eletrodo	Faixa linear ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Sensibilidade ($\mu\text{A.L mmol}^{-1}$)	LD ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$	116-377	161	0,614
4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$	116-556	65,3	1,69

De forma semelhante foi realizado um estudo variando a quantidade da concentração de paracetamol na faixa de $0,0191$ a $0,370 \text{ mmol.L}^{-1}$ e na presença de $0,385 \text{ mmol.L}^{-1}$ de dopamina em 25 mL de tampão B-R a $\text{pH } 7$. Na Figura 32 (a) e (b) se observa a resposta dos eletrodos 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ por voltametria de pulso diferencial, note-se que nessa faixa a corrente de oxidação da dopamina e o potencial de oxidação a $0,10 \text{ V}$ não é afetada pelas adições sucessivas de paracetamol. Nas Figuras 33 (a) e

(b) é possível observar que existe uma correlação linear entre o aumento da intensidade de corrente de oxidação do paracetamol e sua concentração na faixa de concentração estudada.

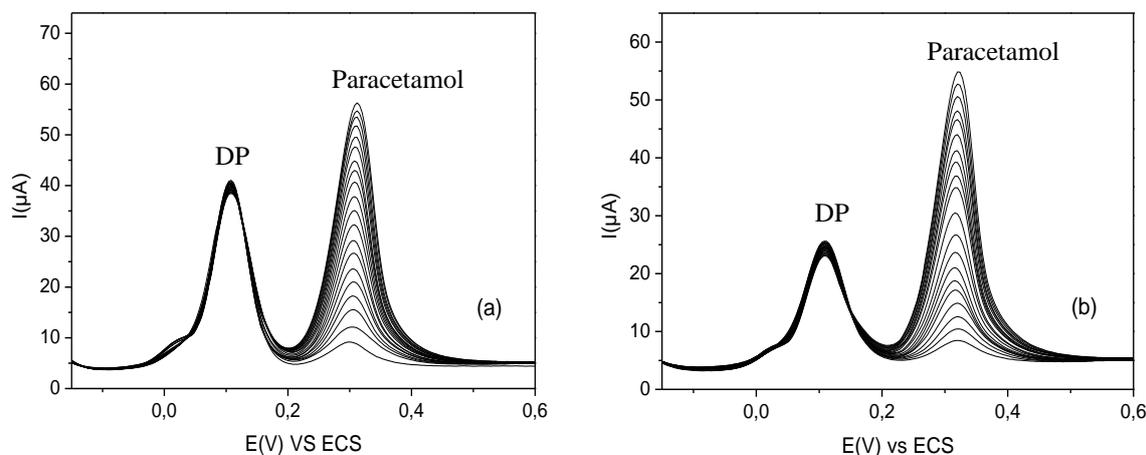


Figura 32. Voltametria de pulso diferencial para os eletrodos: (a) 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e (b) 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl $0,1 \text{ mL L}^{-1}$ com $0,385 \text{ mmol.L}^{-1}$ de DP. Velocidade de varredura 10 mV.s^{-1} e amplitude 50 mV.

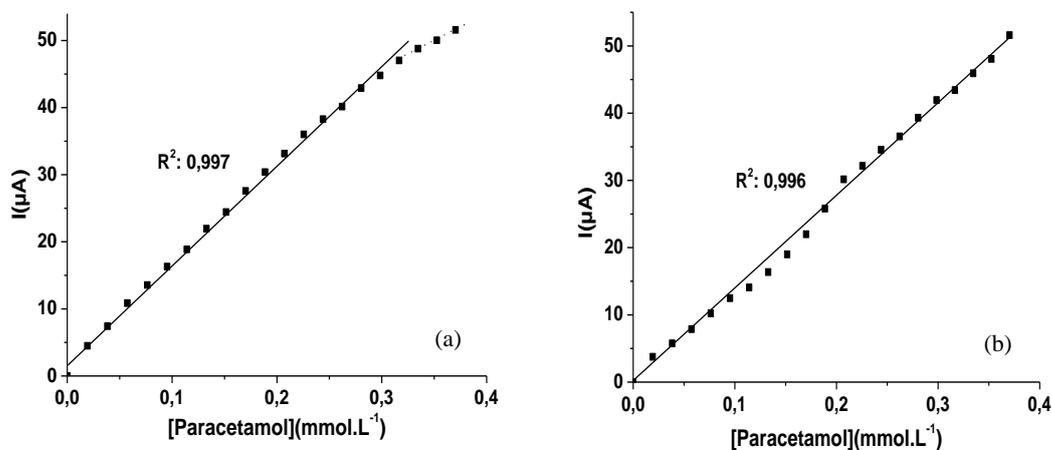


Figura 33. Gráficos da $[\text{Paracetamol}] (\text{mmol.L}^{-1})$ em função de $I_p (\mu\text{A})$ para os eletrodos: (a) 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ e (b) 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$.

Para o eletrodo 1,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ foi obtida uma linearidade na faixa de concentrações de $0,0191$ a $0,317 \text{ mmol.L}^{-1}$ de paracetamol e representada pela equação $I(\mu\text{A}) = (1,9 \pm 0,4) + (146,8 \pm 1,9) [\text{Paracetamol}]/\text{mmol.L}^{-1}$ com R^2 0,997. É possível observar que a concentrações de paracetamol maiores a $0,317 \text{ mmol.L}^{-1}$ a intensidade de corrente do paracetamol começa a ser constante possivelmente devido à saturação de paracetamol na superfície do eletrodo. Com o eletrodo 4,0% $\text{SiO}_2/\text{QT-R}/\text{CuTsPc}^{4-}$ foi obtida uma maior faixa

de linearidade, compreendida entre 0,0191 a 0,370 mmol.L⁻¹ de paracetamol e descrita pela equação $I(\mu A) = (0,4 \pm 0,4) + (139,4 \pm 1,9) [\text{Paracetamol}]/\text{mmol.L}^{-1}$ com R² 0,996.

Na Tabela IX são apresentados os valores de sensibilidade e limite de detecção obtidos para os dois eletrodos na presença de 0,385 mmol.L⁻¹ de dopamina. Observa-se que o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺ possui uma maior sensibilidade e menor limite de detecção de paracetamol do que o eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺.

Tabela IX. Interferência do paracetamol, medidas de sensibilidade e limite de detecção (LD) do paracetamol por VPD para os eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺ com 0,385 mmol.L⁻¹ de dopamina.

Eletrodo	Faixa linear (μmol.L ⁻¹)	Sensibilidade (μA.L mmol ⁻¹)	LD (μmol.L ⁻¹)
1,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	19,1-317	147	0,604
4,0% SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁺	19,1-370	139	0,710

Estes valores obtidos de sensibilidade e limite de detecção para o paracetamol com o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁺ são muito similares aos obtidos durante a determinação individual do paracetamol por voltametria de pulso diferencial (Tabela VI), o qual nos indica que o eletrodo apresenta resposta semelhante na determinação de paracetamol com o sem a dopamina como interferente.

Seguidamente mediante voltametria de pulso diferencial foi realizado um estudo da resposta de intensidade de corrente incrementando simultaneamente a concentração de ambos analitos. Na Figura 34 (a) e (b) se exibem os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para os eletrodos 1,0% SiO₂/QT/CuTsPc⁴⁺ e 4,0% SiO₂/QT/CuTsPc⁴⁺ em 25 mL de tampão B-R a pH 7 e na faixa de concentração de 0,0198 a 0,275 mmol.L⁻¹ de paracetamol e 0,0595 a 0,568 mmol.L⁻¹ de dopamina, é possível observar que eles apresentam uma boa definição de picos de oxidação a 0,30 V e 0,11 V, correspondentes à oxidação do paracetamol e dopamina, respectivamente. Também existe uma boa separação de picos de 0,19 V principalmente comparando-os a valores já encontrados na literatura^{98,99} para o potencial de oxidação do paracetamol 0,52 V e 0,34 V dopamina.

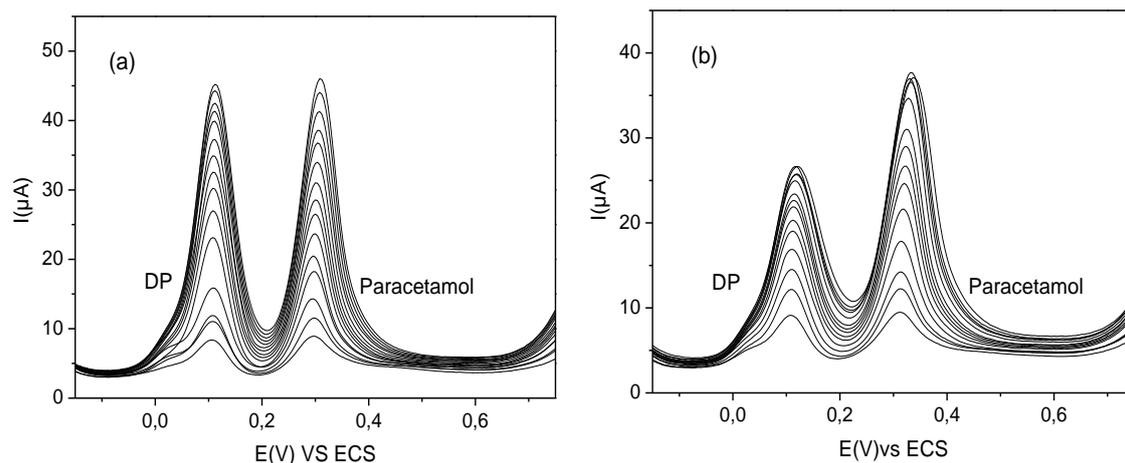


Figura 34. Voltametria de pulso diferencial para os eletrodos: (a) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e (b) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ na determinação simultânea de paracetamol e dopamina em 25 mL de tampão B-R pH 7, KCl 0,1 mol.L⁻¹, 10 mV.s⁻¹ e amplitude 50 mV.

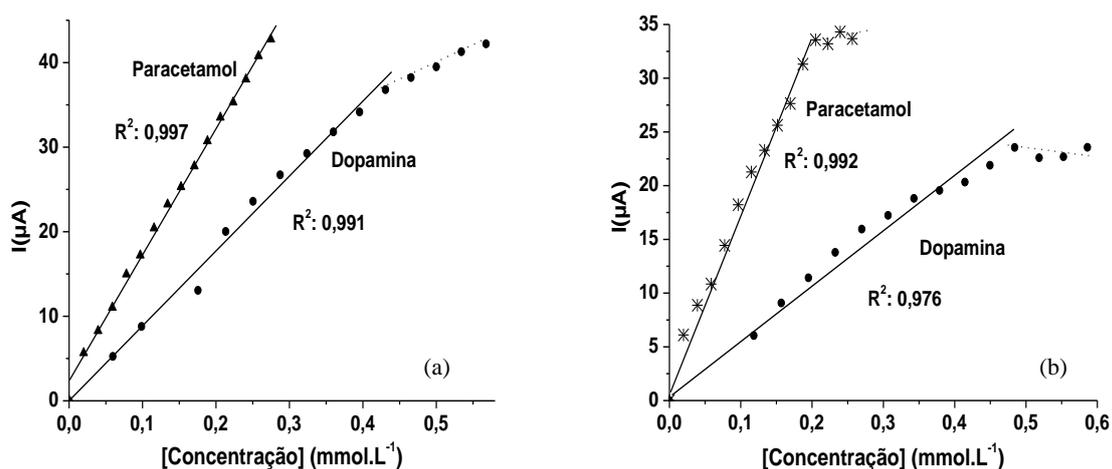


Figura 35. Gráficos da [Concentração] (mmol.L⁻¹) dos analitos em função de I_p (μA) para os eletrodos: (a) 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e (b) 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻.

As Figuras 35 (a) e (b) nos demonstram que existe uma correlação linear entre o incremento das concentrações dos analitos e suas respectivas intensidades de corrente de resposta. Com o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ a linearidade na determinação de paracetamol é representada pela equação $I(\mu A) = (2,3 \pm 0,4) + (149,9 \pm 2,4) [\text{Paracetamol}]/\text{mmol.L}^{-1}$ com R^2 0,997 na faixa de 0,0198 a 0,275 mmol.L⁻¹ de paracetamol. A equação obtida na determinação de dopamina foi $I(\mu A) = (0,2 \pm 0,8) + (87,8 \pm 2,8) [\text{Dopamina}]/\text{mmol.L}^{-1}$ com R^2 0,991 na faixa de 0,0595 a 0,431 mmol.L⁻¹ de dopamina, observa-se que a maiores concentrações a intensidade de corrente de oxidação da dopamina começa a ser quase

constante, devido à saturação da superfície do eletrodo com dopamina. Para o eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ a equação obtida na determinação de paracetamol foi $I(\mu A) = (2,1 \pm 0,5) + (156,3 \pm 4,5) [\text{Paracetamol}] / \text{mmol.L}^{-1}$ com R² 0,992 na faixa de 0,0197 a 0,205 mmol.L⁻¹ de paracetamol, a concentrações maiores a intensidade de corrente também é constante. A equação de linearidade para a dopamina foi $I(\mu A) = (1,5 \pm 0,7) + (47,8 \pm 2,4) [\text{Dopamina}] / \text{mmol.L}^{-1}$ com R² 0,976 na faixa de 0,118 a 0,484 mmol.L⁻¹ de dopamina.

Na Tabela X se apresenta um resumo das medidas de sensibilidade e limite de detecção, obtidas por voltametria de pulso diferencial para os dois eletrodos no estudo de interferência. As medidas colocadas em um quadro são as obtidas na determinação do paracetamol sem a presença de dopamina. Percebe-se que os dois eletrodos são sensíveis na determinação do paracetamol em faixas de concentração próximas, no entanto o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ apresenta uma maior sensibilidade e menor limite de detecção de paracetamol do que o eletrodo 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻, similarmente acontece na determinação de dopamina. Por outro lado, observa-se nos valores de sensibilidade e limite de detecção do paracetamol ressaltadas em cinza para o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻, esses valores obtidos na presença e ausência dopamina são bem próximos, o que demonstra que o eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ é um potencial sensor de paracetamol e possui uma boa seletividade na determinação de paracetamol independente da presença de dopamina.

Tabela X. Medidas de sensibilidade e limite de detecção por VPD para os eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ na determinação de paracetamol na presença e ausência de dopamina como interferente.

Eletrodo	Faixa linear ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)		Sensibilidade ($\mu\text{A.L mmol}^{-1}$)		LD ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	
	Paracetamol	DP	Paracetamol	DP	Paracetamol	DP
1,0%SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁻	19,9-385	—	173	—	0,564	—
	196	116-377		161		0,614
	19,1-317	385	147		0,604	
	19,8-275	59,5-431	150	87,8	0,646	1,09
4,0%SiO ₂ /QT-R/CuTsPc ⁴⁻	19,9-384,6	—	109	—	1,29	—
	196	116-556		65,2		1,69
	19,1-370	385	139		0,710	
	19,7-205	118-484	156	43,8	0,609	2,04

5.3. CARACTERIZAÇÃO E ESTRUTURA DO HÍBRIDO CARBONO CERÂMICO $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -GRAFITE

A partir dos resultados obtidos anteriormente, o material 1,0% SiO_2/QT -R apresentou uma melhor resposta eletroquímica na determinação de paracetamol, a este foi incorporado grafite em duas porcentagens diferentes, 50% e 60 % em massa em relação à quantidade de TEOS durante o processo de preparação do híbrido, com a finalidade de melhorar a condutividade eletrônica do material SiO_2/QT e avaliar sua aplicação na construção de um eletrodo carbono cerâmico. Na Tabela XI são mostrados os resultados da análise elementar das amostras do híbrido carbono cerâmico obtido, 50% G-QT e 60% G-QT.

Tabela XI. Análise elementar do híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite.

Amostra	%C	%H	%N
50% G-QT	24.77	0.79	0.52
60% G-QT	25.90	0.66	0.64

As curvas termogravimétricas das amostras de material híbrido 50% G-QT e 60% G-QT são mostradas na Figura 36 (a), pode-se observar que elas apresentam o mesmo perfil, sendo que a 150 °C tem-se a perda de massa atribuída à dessorção de água. Entre as temperaturas de 200 a 400 °C a perda de massa pode ser atribuída à dehidroxilação dos silanóis da sílica⁸⁸ assim como à dessorção e decomposição do grupo orgânico⁹ QT. Na derivada do TGA, Figura 36 (b) é possível observar que a as amostras 50% G-QT e 60% G-QT são estáveis a 363 °C, temperatura maior do que a de decomposição da quitosana pura que ocorre em 312 °C (figura inserida).

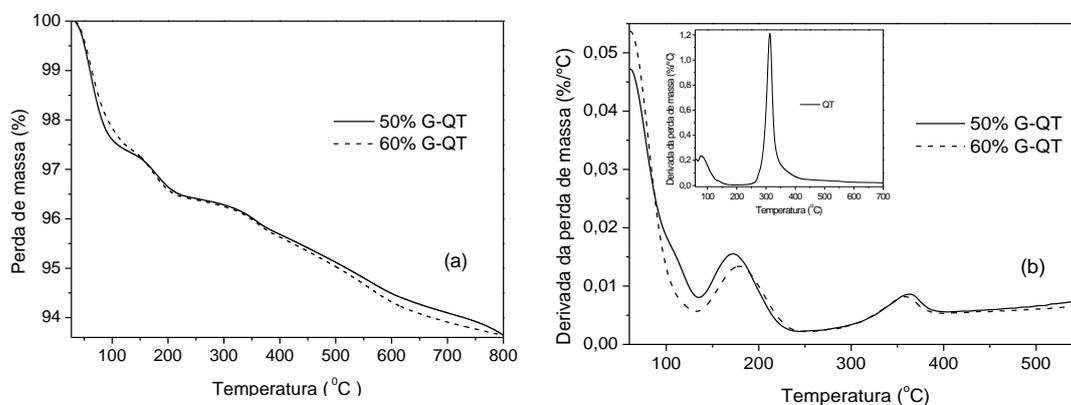


Figura 36. (a) Curvas termogravimétricas (TGA) das amostras 50%G-QT e 60%G-QT (b) derivada da curva termogravimétrica (DTG). Figura inserida: DTG da QT pura.

A Figura 37 ilustra as imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras. Observe-se que apresentam uma superfície compacta. A amostra 50% G-QT apresentou um valor de área específica de $348 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ligeiramente maior que a amostra 60% G-QT, $325 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, valores satisfatórios se comparamos com alguns valores de área específica obtidos da literatura^{91,93}, as quais variam na faixa de 150 a $356 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ para matrizes de SiO_2/C preparadas por sol-gel. Quanto ao volume de poro, as duas amostras apresentaram o mesmo valor de $0,74 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$.

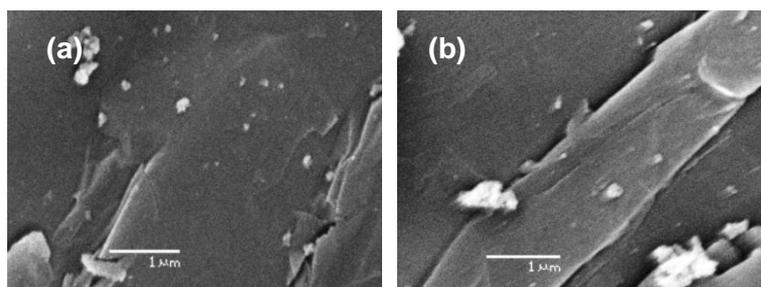


Figura 37. Micrografias obtidas por MEV das amostras (a) 50% G-QT, (b) 60% G-QT, com ampliações de 20.000X.

As isotermas de adsorção e dessorção de nitrogênio dos compósitos são mostradas na Figura 38. Segundo a classificação da IUPAC, a amostras apresenta isotermas do tipo IV com histerese, próprio dos materiais mesoporosos⁸². Mediante os gráficos de distribuição de tamanho dos poros obtidos pelo método BJH, mostrados na Figura inserida, pode-se observar que o compósito 50% G-QT apresentou poros com máximo de $6,9 \text{ nm}$ de diâmetro, ligeiramente menor que o compósito 60% G-QT que possui poros com máximo de $7,4 \text{ nm}$ de diâmetro.

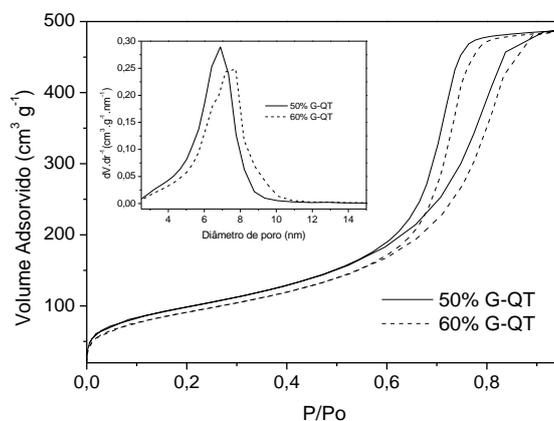


Figura 38. Isotermas de adsorção e dessorção das amostras 50% G-QT e 60% G-QT à temperatura de $\text{N}_2(\text{l})$ ($-196 \text{ }^\circ\text{C}$). Figura inserida: Curva de distribuição de tamanho de poro dos materiais.

5.4. PROPRIEDADES E APLICAÇÃO DO HÍBRIDO CARBONO CERÂMICO $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -GRAFITE

A caracterização eletroquímica dos compósitos foi realizada por voltametria cíclica utilizando como sonda uma solução $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1 mmol.L^{-1} em KCl 0.1 mol.L^{-1} . Na Figura 39 se exhibe o voltamograma cíclico obtidos com as amostras 50% G-QT e 60% G-QT respectivamente. Observam-se picos bem definidos nas varreduras direta e reversa, com potencial de oxidação em $0,22 \text{ V}$ e redução $0,13 \text{ V}$, correspondente ao par Fe(II)/Fe(III) . Nota-se que o voltamograma cíclico do eletrodo 50% G-QT apresenta melhor resposta que o eletrodo 60% G-QT, entretanto este compósito apresenta corrente capacitiva maior.

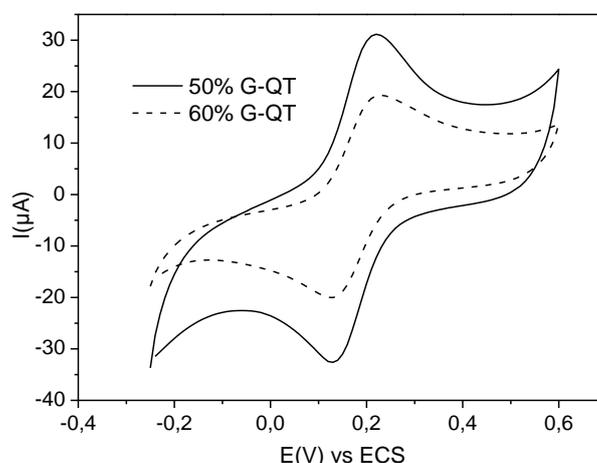


Figura 39. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos 50% G-QT e 60% G-QT em 25 mL de uma solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1 mmol.L^{-1} e KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Velocidade de varredura 5 mV.s^{-1} .

A Tabela XII mostra as intensidades de corrente do pico anódico e catódico, e também a diferença de potencial dos respectivos picos, considerando-se a reversibilidade de resposta do par Fe(II)/Fe(III) os dois eletrodos apresentaram processos reversíveis, pois a relação I_{pa}/I_{pc} é próximo da unidade¹⁰⁴. Quanto à separação de picos os dois eletrodos apresentaram valores de ΔE_p (diferença entre os potenciais de pico) 90 mV , que são mais elevados do esperado 59 mV para sistemas reversíveis segundo a equação de Nernst para sistemas que envolvem a transferência de um elétron¹⁰⁴, este resultado sugere que esses eletrodos apresentaram dificuldade na transferência de carga, um comportamento similar foi observado em outros compósitos à base de grafite²⁶. A área eletroativa foi calculada utilizando a equação de Randles-Sevcik⁵¹. O eletrodo 50% G-QT apresentou uma maior área eletroativa que o eletrodo 60% G-QT, este resultado é indicativo que o eletrodo 50% G-QT

possui uma melhor atividade catalítica e transferência de carga no sistema $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$.

Tabela XII. Valores das correntes anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}), relação I_{pa}/I_{pc} , ΔE e área eletroativa para os eletrodos 50%G-QT e 60% G-QT, obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos.

Eletrodo	Pico anódico $I_{pa}/ \mu A$	Pico catódico $I_{pc}/ \mu A$	I_{pa}/I_{pc}	ΔE (mV)	Área eletroativa (cm^2)
50% G-QT	31.4	-32.7	0.96	90	0,65
60% G-QT	19.3	-20.1	0.96	90	0,40

O efeito da velocidade de varredura na resposta de corrente para o eletrodo 50% G-QT em solução de $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ 1mmol.L^{-1} foi feito modificando a velocidade de varredura de 5 a 90 mV s^{-1} , os resultados são mostrados na Figura 40, observa-se um aumento na intensidade de corrente e um ligeiro deslocamento dos picos anódico e catódico, I_{pa} e I_{pc} , respectivamente, com aumento da velocidade de varredura, na Figura 41 se mostra que existe uma correlação linear entre a intensidade de corrente dos picos e a raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando que trata-se de um processo redox controlado por difusão⁵¹.

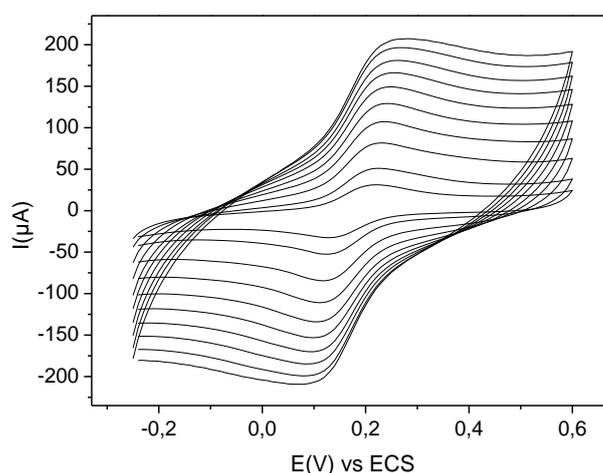


Figura 40. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo 50% G-QT variando a velocidade de varredura de 5 a 90 mV.s^{-1} em 25 mL de uma solução de $K_3[Fe(CN)_6]/K_4[Fe(CN)_6]$ 1 mmol.L^{-1} e KCl $0,1\text{ mol.L}^{-1}$. Velocidade de varredura 5 mV.s^{-1} .

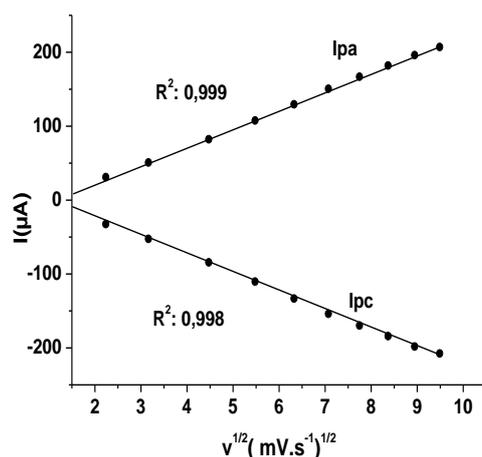


Figura 41. Gráfico de I_{pa} e I_{pc} em função da raiz quadrada da velocidade de varredura para o eletrodo 50% G-QT.

5.4.1. Imobilização do ácido ferroceno carboxílico no híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite

O ferroceno e seus derivados, particularmente o ácido ferroceno carboxílico (Fc) é uma espécie eletroativa usada como um mediador de elétron na determinação eletroquímica de diversas moléculas, como glicose¹⁰⁴, dopamina¹⁰³ a co-enzima NADH⁵⁴. A Figura 42 mostra a estrutura do Fc, a presença dos anéis aromáticos permite a transferência eletrônica ajudando à realização do processo redox¹⁰³. A imobilização do ácido ferroceno carboxílico no híbrido $\text{SiO}_2/\text{QT}/\text{C}$ -grafite se produz devido à grande quantidade de grupos aminos primários na QT, as que permitem o ataque nucleofílico à carbonila do ácido ferroceno carboxílico nas elevadas temperaturas na que se realizou a imobilização da espécie, assim também outra possibilidade é que o Fc esteja absorvido na superfície do híbrido mediante forças intermoleculares de hidrogênio entre os grupos hidroxila e carbonila do ácido ferroceno carboxílico e os grupos amino protonados e hidroxilas da QT. Os materiais obtidos foram denominados como 50% G-QT/Fc e 60% G-QT/Fc.

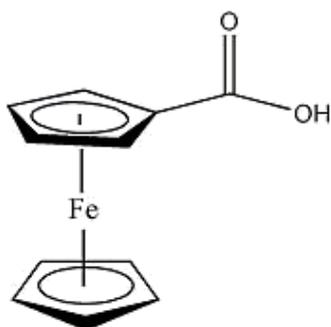


Figura 42. Estrutura do ácido ferroceno carboxílico (Fc)

Através da técnica de Microscopia eletrônica de varredura, observou-se a morfologia das amostras obtidas, Figura 43 (a). Os perfis de distribuição dos elementos por mapeamento ao longo da linha de varredura EDS são mostrados na Figura 43 (b), é possível observar uma boa dispersão dos componentes na Figura 43 (c), neste caso se considerou o carbono (C), silício (Si), nitrogênio (N) e ferro (Fe). Pode ser constatado que o ferroceno carboxílico se encontra imobilizado embora em pouca quantidade (0,20% de Fe em massa) de maneira uniforme.

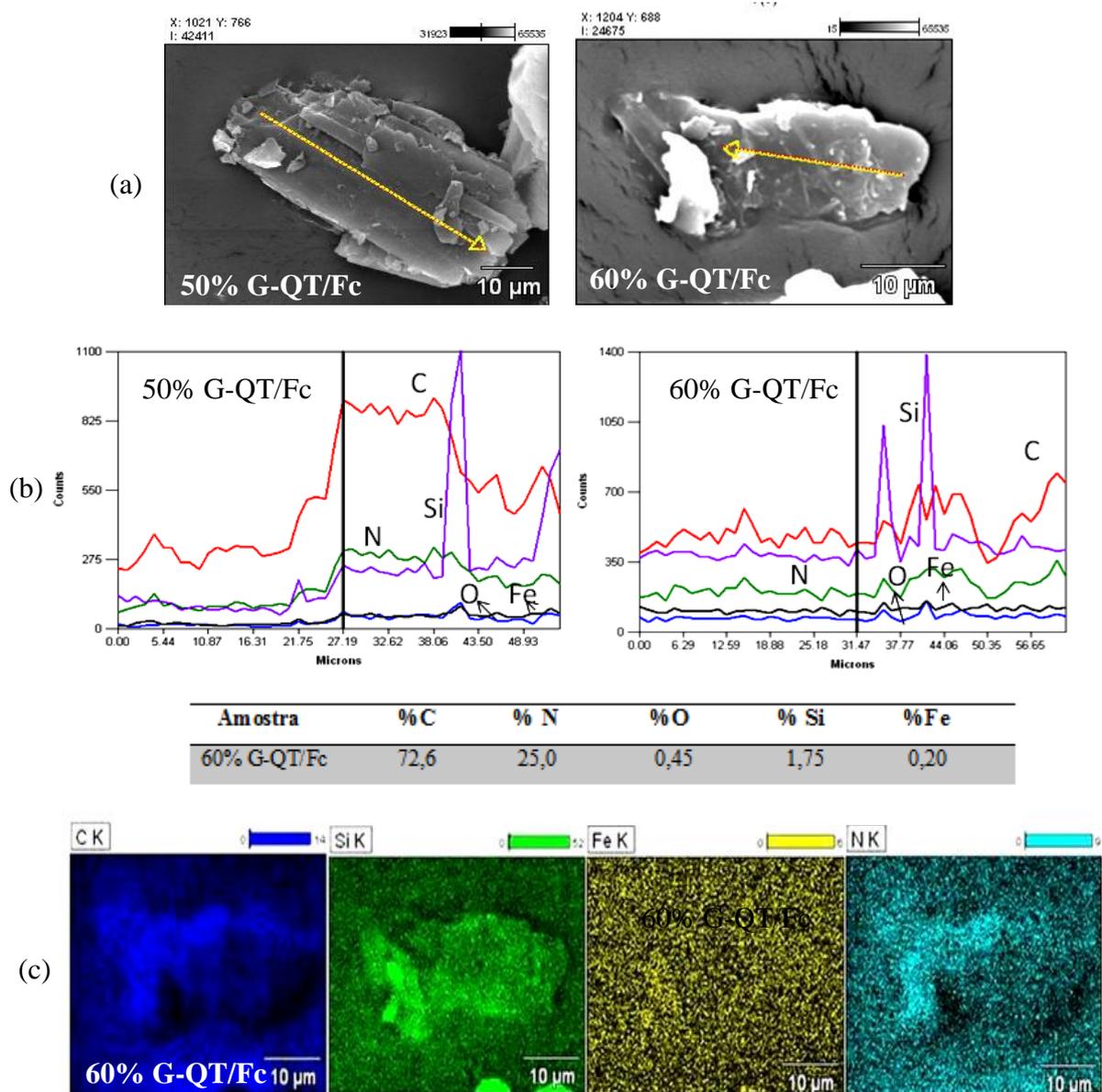


Figura 43. Imagens por MEV das amostras amplificação 3.000 X. (a) 50% G-QT e 60% G-QT (b) Perfil de distribuição e composição EDS obtido ao longo da linha diagonal da superfície das amostras 50% G-QT e 60% G-QT, e (c) imagens da distribuição do carbono (C), silício (Si), ferro (Fe) e nitrogênio (N) na superfície do híbrido 60% G-QT.

5.4.2. Estudo de voltametria cíclica para o eletrodo carbono cerâmico SiO₂/QT/C-grafite/Fc

A Figura 44 exibe os voltamogramas cíclicos obtidos com os eletrodos 50% G-QT/Fc e 60% G-QT/Fc em solução de KCl 0,1 mol.L⁻¹ como eletrólito suporte. Observam-se picos com potencial de oxidação em 0,23 V e redução 0,16 V atribuídos ao par redox ferroceno/ferrocênio (Fc/Fc⁺)¹⁰⁵, com diferença de potencial (ΔE) de 60 mV. Valor aceitável se comparado a ΔE 70 mV já relatado na literatura¹⁰³, com valores de potenciais de oxidação e redução mais positivos localizados em 0,40 V e 0,33 V, respectivamente. Foi obtido o potencial médio ($E_{1/2}$) 0,20 V com o eletrodo 50% G-QT/Fc e 0,19 V com o eletrodo 60% G-QT/Fc. Nota-se também uma melhor resposta de corrente para o eletrodo 60% G-QT/Fc.

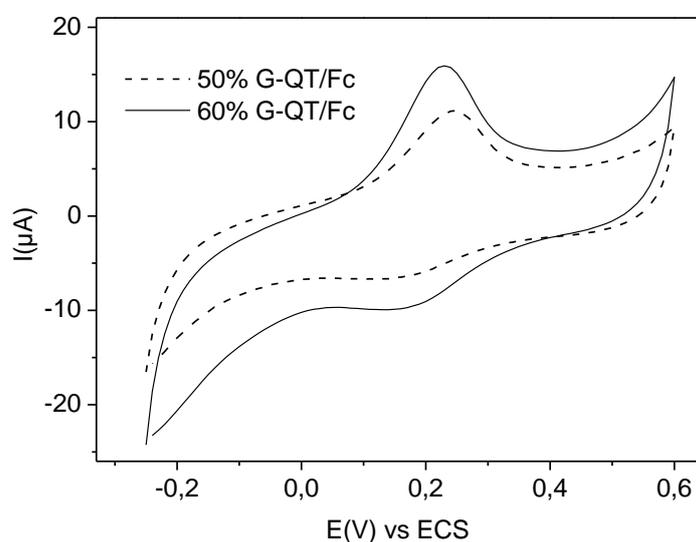


Figura 44. Voltamogramas cíclicos para os eletrodos 50% G-QT/Fc e 60% G-QT/Fc. Usando como eletrólito suporte 25 mL de KCl 0,1 mol.L⁻¹. Velocidade de varredura 5 mV.s⁻¹.

Considerando-se a melhor resposta de corrente obtida com o eletrodo carbono cerâmico 60% G-QT/Fc, avaliou-se sua aplicação na detecção de paracetamol. Já na literatura se relatam trabalhos que em sua maioria determinam dopamina¹⁰³, ácido ascórbico e ácido úrico usando eletrodos de carbono modificados com ácido ferroceno carboxílico^{107,108}, no entanto há trabalhos recentes que determinam paracetamol utilizando o ferroceno¹⁰⁹ como molécula mediadora de elétron. A diferença neste trabalho para a determinação de paracetamol está no uso do ácido ferroceno carboxílico além de aplicar um eletrodo com matriz bioinorgânica mesoporosa.

Mediante voltametria cíclica se estudou a resposta de corrente do paracetamol para o eletrodo 60% G-QT/Fc na presença de 0,385 mmol.L⁻¹ e 0,740 mmol.L⁻¹ em 25 mL de KCl 0,1 mol.L⁻¹, os voltamogramas são mostrados na Figura 45. Observa-se que além dos picos correspondentes à oxidação e redução do par ferroceno/ferrocênio (Fc/Fc⁺) aparece um terceiro pico pouco definido em 0,34 V, que pode ser atribuído à oxidação do paracetamol, percebe-se também que a intensidade da corrente do pico aumentou ligeiramente com o incremento de concentração de paracetamol.

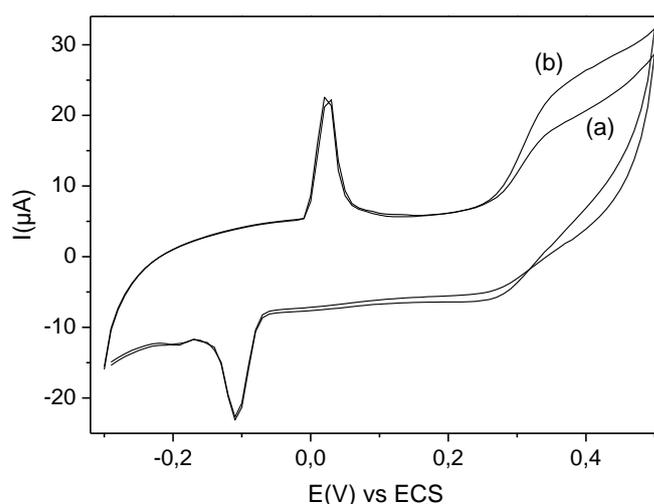


Figura 45. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo 60% G-QT/Fc em presença de (a) 0,385 mmol L⁻¹ e (b) 0,741 mmol.L⁻¹ de paracetamol, usando como eletrólito suporte 25 mL de KCl 0,1 mol.L⁻¹. Velocidade de varredura 5 mV.s⁻¹.

Algumas hipóteses, como a pouca quantidade do ácido ferroceno carboxílico (0,20% de Fe em massa) imobilizado no híbrido 60% G-QT/Fc explicaria a aparição do pico pouco definido. A possível presença de alguns amino protonados da quitosana teria diminuído a possibilidade destes grupos reagirem com a carbonila do Fc durante sua imobilização.

6. CONCLUSÕES

No presente estudo foi desenvolvido um híbrido bioinorgânico SiO₂/QT, usando-se o método sol-gel. As características texturais do híbrido não foram afetadas pela quantidade de quitosana adicionada. As amostras apresentaram uma área específica elevada na faixa de 400 a 472 m².g⁻¹ e distribuição de tamanho de mesoporos uniforme. O material híbrido mostrou estabilidade térmica até a temperatura de 357 °C, superior à temperatura de decomposição da quitosana pura que foi de 312 °C.

Foi possível imobilizar de forma eficiente a ftalocianina de cobre (II) tetrassulfonada na superfície do híbrido SiO₂/QT-R e o material resultante foi aplicado na construção de um eletrodo pasta de carbono SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ mostrando uma boa atividade eletrocatalítica para oxidação e redução do paracetamol. Estudos de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial mostraram que o eletrodo desenvolvido responde de forma linear à variação de concentração do paracetamol, o qual é indicativo que pode ser potencialmente utilizado como sensor para sua determinação.

Um estudo eletroquímico comparativo entre os eletrodos 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ e 4,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ demonstrou que ambos são bons sensores de paracetamol, no entanto com o eletrodo 1,0% é possível obter uma maior resposta de corrente, melhor sensibilidade e menor limite de detecção para a determinação de paracetamol.

Foi possível determinar paracetamol na presença de dopamina, conseguindo-se uma boa separação e definição dos picos de oxidação do paracetamol (0,30 V) e dopamina (0,11V). O eletrodo 1,0% SiO₂/QT-R/CuTsPc⁴⁻ mostrou melhor semelhança nos parâmetros analíticos de sensibilidade e limite de detecção de paracetamol obtidos independente da presença da dopamina. O eletrodo construído é sensível e seletivo com alta potencialidade para ser aplicado em determinações de paracetamol em amostras reais que possuam também dopamina.

Também se conseguiu obter um híbrido carbono cerâmico SiO₂/QT/C-grafite, com considerável área específica e poros na faixa de mesoporos. O material se mostrou promissor para ser utilizado como eletrodo para determinações eletroanalíticas. Foi possível imobilizar o ferroceno carboxílico no híbrido obtendo-se o material denominado como G-QT/Fc. Um estudo eletroquímico na determinação de paracetamol revelou que o eletrodo 60% G-QT/Fc não apresenta uma boa resposta eletrocatalítica na oxidação-redução do paracetamol.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Copello, G.J.; Mebert, A.M.; Raineri, M.; Pesenti, M.P.; Diaz, L.P.; *J. Hazard. Mater.* **2011**, 186, 932-939.
2. Wittoon, T.; Soponwit, T.; Puscharapon, K.; Ben, E.; Metta, C.; *J. Non-Cryst. Solids.* **2011**, 357, 3513-3519.
3. El Kadib, A.; Bousmina, M.; *Chem-Eur. J.* **2012**, 18, 8264-8277.
4. Zhao, Y.; Park, R-D.; Muzzarelli, R.A.; *Mar. Drugs.* **2010**, 8, 24.
5. Mendes, A.A.; Oliveira, P.C.; Castro, H.F.; Giordano, R.L.; *Quim. Nova.* **2011**, 34, 831-840.
6. Zhang, W.; Xie, G.; Li, S.; Lu, L.; Liu, B. *Appl. Surf. Sci.* **2012**, 258, 8222-8227.
7. Ruo Yuan, W.L.; Chai, Y.; Zhou, L.; Chen, S.; Li.; *J Biochem Biophys Meth.* **2008**, 70, 830-837.
8. Chernev, G.; Samuneva, B.; Djambaski, P.; Kabaivanova, L.; Emanuilova, E.; Salvado, I.M.M.; Fernandes, M.H.V.; Wu, A.; *Phys. Chem. Glasses: Eur. J. Glass Sci. Technol. B.* **2008**, 49, 11-14.
9. Martins, J.T.; Cerqueira, M.A.; Vicente, A.A.; *Food. Hydrocolloid.* **2012**, 27, 220-227.
10. Silva, G.S.; Oliveira, P.C; Giordani, D.S.; Castro, H.F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2011**, 22, 1407-1417.
11. Samuneva, B.; Djambaski, P.; Kashchieva, E.; Chernev, G.; Kaivanova, L.; Emanuilova, E.; Salvado, I.M.; *J. Non-Cryst. Solids.* **2008**, 354, 733-740.
12. Li, J.; Yuan, R.; Chai, X.; Che, X.; Li, W.; Zhong, X.; *Microchim. Acta.* **2011**, 172, 163-169.
13. Morosanova, E.I. *Talanta.* **2012**, 102, 114-122.
14. Brinker, C.J.; Scherer, G.W.; *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*; Academic Press: New York, 1990.
15. Benvenuti, E.V.; Moro, C.C.; Costa, T.M.; *Quim. Nova.* **2009**, 32, 1926-1933.
16. Rabinovich, L.; Lev, O.; *Electroanal.* **2001**, 13, 4, 265-275.
17. Arenas, L.T; Villis, P.C. M; Arguello, J; Landers, R; Benvenuti, E.V; Gushikem, Y., *Talanta.* **2010**, 83, 241-248.
18. Maroneze, C.M.; Arenas, L.T.; Luz, R.C.S.; Benvenuti, E.V.; Landers, R.; Gushikem, Y.; *Electrochim. Acta.* **2008**, 53, 4167-4175.
19. Zhu, L.; Tian, C.; Zhai, J.; Yang, R. *Sens. Actuators, B.* **2007**, 125, 254-261
20. Zhan, T.; Sun, X.; Wang, X.; Sun, W.; Hou, W. *Talanta.* **2010**, 82, 1853-1857.

21. Shankaran, D. R.; Uehara, N.; Kato, T. *Anal. Chim. Acta.* **2003**, 478, 321-327.
22. Fanjul, B.P.; Lamas, A.P. J.; Hernández, S.D.; Costa, G.A.; *Anal. Chim. Acta.* **2009**, 638, 133-138.
23. Keeley, G.P.; McEvoy, N.; Nolan, H.; Kumar, S.; Rezvani, E.; Holzinger, M.; Cosnier, S.; Duesberg, G.S.; *Anal. Methods.* **2012**, 4, 2048-2053.
24. Fan, Y.; Liu, J.H.; Lu, H.T.; Zhang, Q.; *Colloids Surf., B: Biointerfaces.* **2011**, 85, 289.
25. Dalmasso, P.R.; Pedano, M.L.; Rivas, G.A.; *Sens. Actuator. B.* **2010**, 732-736.
26. Chen, X.; Zhu, J.; Xi, Q.; Yang, W.; *Sens. Actuat. B-Chem.* **2012**, 161, 648-654.
27. Chandra, P.; Son, N.X.; Noh, H-B.; Goyal, R.N.; Shim, Y-B.; *Biosens Bioelectron.* **2013**, 39, 139-144.
28. Li, Y.; Chen, S-M.; *Int. J. Electrochem. Sci.* **2012**, 7 (3), 2175-2187.
29. Wu, Y.; Cui, L.; Liu, Y.; Lv, G.; Pu, T.; Liu, D.; He, X.; *Analyst.* **2013**, 138, 1204-1211.
30. Cong, H-P.; Yu, S-H.; *Curr. Opin. Colloid. In.* **2009**, 14, 71-80.
31. Portier, J.; Choy, J-H.; Subramanian, M.A.; *Int. J. Inorg. Mater.* **2001**, 581-592.
32. Kickelbick, G.; *Hybrid Materials: Synthesis, Characterization, and Applications*; Wiley-VCH: Weinheim, 2007.
33. Romero, G.P.; *Adv. Mater.* **2001**, 13, 3, 163-174.
34. Ferreira, R.A.S.; André, P.S.; Carlos, L.D.; *Opt. Mater.* **2010**, 32, 1397-1409.
35. Sánchez, A.; Zarcero, S.M.; Pérez, Q.D.; Hierro, I.; Sierra, I.; *J. Electroanal. Chem.* **2013**, 689, 76-82.
36. Mahadeva, S. K.; Kim, J. *Sens. Actuat. B-Chem.* **2011**, 157, 177-182.
37. Kamegawa, T.; Saito, M.; Watanabe, T.; Uchihara, K.; Kondo, M.; Matsuoka, M.; Anpo, M.; *J. Mater. Chem.* **2011**, 21, 12228-12231.
38. Ruiz-Hitzky, E.; Ariga, K.; Lvov, Y.; *Bio-inorganic Hybrid Nanomaterials: Strategies, Characterization and Application*; Wiley-VCH: Weinheim, 2008.
39. Ariga, K.; Vinu, A.; Miyahara, M.; *Curr. Nanosci.* **2006**, 2, 197-210.
40. Shi, J.; Liu, L.; Liu, X.; Sun, X.; Cao, S.; *Polym. Adv. Technol.* **2008**, 19, 1467-1473.
41. Tsigos, I.; Martinou, A.; Kafetzopoulos, D.; Bouriotis, V.; *Trends. Biotechnol.* **2000**, 18, 305-312.
42. Guibal, E.; *Prog. Polym. Sci.* **2005**, 30, 71-109.
43. Shchipunov, Y.A.; *J. Colloid. Interf. Sci.* **2003**, 268, 68-76.
44. Yiu, H.H.P.; *J. Mater. Chem.* **2005**, 15, 3690-3700.
45. Lee, E-J.; Shin, D-S.; Kim, H-E.; Koh, Y-H.; Jang, J-H.; *Biomaterials.* **2009**, 30, 743-750.
46. Löbmann, P.; *Curr. Nanosci.* **2007**, 3, 306-328.

47. Rios, X.; Moriones, P.; Echeverría, J.C.; Luquín, A.; Laguna, M.; Garrido, J.J.; *Adsorption*. **2011**, 17, 583-593.
48. Muslim, S.; Al-Sagheer, F. *J. Nanomater.* **2010**, 2010, 7.
49. Siqueira, J.R.; Gasparotto, L.H.; Crespilho, F.N.; Carvalho, A.J.; Zucolotto, V.; Oliveira, O.N.; *J. Phys. Chem. B*. **2006**, 110, 22690-22694.
50. Miao, Y.; Tan, S.N.; *Anal. Chim. Acta*. **2001**, 5437, 87-93.
51. Brett, A.M.O.; Brett, C.M.A.; *Eletroquímica-Princípios, Métodos e Aplicações*; Almeida: Coimbra. 1996.
52. Zhang, X.; Ju, Huangxian.; Wang, J.; *Eletrochemical Sensors, Biosensors and their Biomedical Applications*; Academic Press: San Diego, 2008.
53. Alegret, S.; Valle, M.; Merkoçi, A.; *Sensores Electroquímicos*; Servei de Publicacions: Catalunya, 2004.
54. Dias, S. L. P.; Gushikem, Y.; Ribeiro, E. S.; Benvenutti, E. V. *J. Electroanal. Chem.* **2002**, 523, 64-69.
55. Francisco, M.S.; Cardoso, W.S.; Gushikem, Y.; *J. Electroanal. Chem.* **2005**, 291-297.
56. Scotti, R.; Lima, E. C.; Benvenutti, E. V.; Piatnicki, C. M.; Dias, S. L. *Quim. Nova*. **2006**, 29, 208-212.
57. Zhang, J.; Li, X.; White, J.; Dutta, P.; *Sensors*. **2012**, 12, 13284-13294.
58. Ji, X.; Yao, W.; Peng, J.; Ren, N.; Zhou, J.; Huang, Y. *Sens. Actuat. B-Chem.* **2012**, 166, 50-55.
59. Pessôa, C.A.; Gushikem, Y.; Kubota, L.T.; *Electrochim. Acta*. **2001**, 46, 2499-2505.
60. Arguello, J.; Magosso, H.A.; Landers, R.; Gushikem, Y.; *J. Electroanal. Chem.* **2008**, 617, 45-52.
61. Vieira, I.C.; Lupetti, K.O.; Filho, O.F.; *Quim. Nova*. **2003**, 26, 39-43.
62. Švancara, I.; Vytřas, K.; Kalcher, K.; Walcarius, A.; Wang, J.; *Electroanal.* **2009**, 21, 7-28.
63. Wang, J.; *Analytical Electrochemistry*. Wiley-VCH: New York, 2001.
64. Švancara, I.; Walcarius, A.; Kalcher, K.; Vytřas, K.; *Cent. Eur. J. Chem.* **2009**, 7, 598-656.
65. Apetrei, C.; Apetrei, I.M.; Saja, J.A.; Rodriguez, M.L.M.; *Sensors*. **2011**, 11, 1328-1344.
66. Menezes, E.W.; Nunez, M.R.; Arenas, L.T.; Dias, S.L.P.; Garcia, I.T.S.; Gushikem, Y.; Costa, T.M.H.; Benvenutti, E.V.; *J. Solid. State. Chem.* **2012**, 16, 3703-3713.
67. Luo, L.; Li, F.; Zhu, L.; Ding, Y.; Zhang, Z.; Deng, D.; Lu, B.; *Colloid Surface B*. **2013**, 102, 307-311.

68. Ensafi, A.A.; Allafchian.; Mohammadzadeh.; *Mater. Sci. Eng.* **2013**, 33, 202-208.
69. Fioramonti, C.C.M; Cervini, P.; Gomes T,E.T.; *Quim. Nova.* **2008**, 31, 2194-2198.
70. Bosch, E.M.; Ruiz, R.A.J.; Sánchez, R.F.; Bosch, O.C.; *J. Pharmaceut. Biomed.* **2006**, 42, 291-321.
71. Kumar, K.G.; Letha, R.; *J. Pharmaceut. Biomed.* **1997**, 15, 1725-1728.
72. Ji, H.A.; Hwa, J.L.; Byung, H.; *J. Biomed. Chromatogr.* **2012**, 26, 1596-1604.
73. Kawabata, K.; Sugihara, K.; Sanoh, S.; Kitamura, S.; Ohta, S.; *J. Photoch. Photobio. A.* **2012**, 249, 29-35.
74. Bui, M-P.N.; Li, C.A.; Han, K.N.; Pham, X-H.; Seong, G.H.; *Sens. Actuat. B-Chem.* **2012**, 174, 318-324.
75. Rahim, A; Barros, S.B. A.; Arenas, L.T.; Gushikem, Y.; *Electrochim. Acta.* **2011.** 56, 1256-1261.
76. Staden, V.J. F; Standen, V.R. I.; *Talanta.* **2012**, 102, 34-43.
77. Park, J-Y.; Myung, S-W.; Kim, I-S.; Choi, D-K.; Kwon, S-J.; Yoon, S-H.; *Biol. Pharm. Bull.* **2013**, 36, 252-258.
- 78 Zhang, L.; Yagnik, G.; Jiang, D.; Shi, S.; Chang, P.; Zhou, F.; *J. Chromatogr. B.* **2012**, 911, 55-58.
79. Wabaidur, S.M.; Alothman, Z,A.; Alam, S.M.; Lee, S.H.; *Spectrochim Acta. A.* **2012**, 96, 221-225.
80. Li, J.; Wu, X.; Yu, Y.; Le, S.; *J. Solid. State. Eletrochem.* **2012**, 13, 1811-1818.
81. Fritzen, M.B.G.; Zoldan, V.C.; Oliveira, R.W.Z.; Soldi, V.; Pasa, A.A.; Creiczynski, T.B.P.; *Biotechnol Bioeng.* **2013**, 110, 374-382.
82. Sing, K.S.W.; Everett, D.H.; Haul, R.A.W.; Moscou, L.; Pierotti, R.A.; Rouquerol, J.; Siemieniewska, T.; *Pure Appl.Chem.***1985**, 57, 603.
83. Brunauer, S.; Emmett, P.H.; Teller, E.; *J. Amer. Chem. Soc.* **1938**, 60, 309.
84. Barrett, E.P.; Joyner, L.G.; Halenda, P.P.; *J. Amer. Chem. Soc.* **1951**, 73, 373.
85. Chiu, J.; *Anal. Chem.* **1967**, 39, 861-867.
86. Foschiera, J.L.; Pizzolato, T.M.; Benvenuti, E.V.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, 12, 159.
87. Wang, G.H.; Zhang, L.M.; *J. Phys Chem B.* **2006**, 110, 24864-24868.
88. Costa, T.M.H.; Gallas, M.R.; Benvenuti, E.V.; Jornada, J.A.H.; *J. Non-Cryst. Solids.* **1997**, 220, 195-201.
89. Khalil, K.M.S.; Makhlof, S.A.; *Appl. Surf. Sci.* **2008**, 254, 3767-3773.
90. Witoon, T.; Tepsarn, S.; Kittipokin, P.; Embley, B.; Chareonpaich, M.; *J. Non-Cryst. Solds.* **2011**, 357, 3513-3519.

91. Barros, S.B.A.; Ranhim, A.; Tanaka, A.A.; Arenas, L.T.; Landers, R.; *Eletrochim Acta*. **2013**, 87, 140-147.
92. Santos, L.S.S.; Landers, R.; Gushikem, Y.; *Talanta*.; **2011**, 85, 1213-1216.
93. Rahim, A.; Barros, S.B.A.; Kubota, L.T.; Gushiem, Y.; *Eletrochim Acta*. **2011**, 56, 10116-10121.
94. Bayandori, A.B.; Mohammadi, A.; Rayeji, D.; Dinarvand, R.; Baghi, M.; Walker, R.B.; *Microchim. Acta*. **2010**, 171, 377-384.
95. Hou, X.; Shen, L.; Meng, L.; Zhu, L.; Guo, M.; *Russ. J. Eletrochem*. **2011**. 47 (11). 1262-1267.
96. Miner, D. J.; Rice, J.R.; Riggan, R. M.; Kissinger, P. T.; *Anal. Chem*. **1981**, 53, 2258-2263.
97. Goyal, R.N.; Singh, S.; *Electrochim. Acta*. **2006**, 51, 308-3012.
98. Su, W-Y.; Cheng, S-H.; *Electroanal*. **2010**, 22 (6), 707-714.
99. Wang, S-F.; Xie, F.; Hu, R-F.; *Sens. Actuat. B*. **2007**, 123, 495-500.
100. Atta, N.F.; Galal, A.; Azab, S.; *Inter. J. Electrohem. Sc*. **2011**, 6, 5082-5096.
101. Boopathi, M.; Won, M-S.; Shim, Y-B.; *Anal. Chim. Acta*. **2004**, 512, 191-197.
102. Yang, G.; Wang, L.; Jia, J; Zhou, D.; *J. Solid. State. Electr*. **2012**, 16, 2967-2977.
- 103 Kachochoosangi, T.R.; Wildgoose, G.G.; Compton, R.G.; *Anal. Chim. Acta*. **2008**, 618, 54-60.
- 104 Bard, J.; Faulkner, L.; *Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications*. Wiley: New York, 2000.
103. Skeika, T. Zuconelli, C.R.; Fujiwara.; Pessoa, C.A.; *Sensors*. **2011**, 11, 1361-1374.
104. Koide, S.; Yokoyama, K.; *J. Eletroanal. Chem*. **1999**, 468, 193-201.
105. Ge, D.; Levicky, R.; K. *Chem. Commun*. **2010**, 46 (38), 7190-7192.
107. Ndamanisha, J.C.; Guo, L.; *Biosens Bioelectron*. **2008**, 23, 1680-1685.
108. Ndamanisha, J.C.; Guo, L.; Wang, G.; K. *Micropor. Misopor. Mat*. **2008**, 113, 114-121.
109. Chang, Z.; Gao, N.; Li, Y.; He, X.; *Anal. Methods*. **2012**, 4, 4037-4041.