

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS ORGÂNICO-INORGÂNICOS MACROPOROSOS PARA O SENSORIAMENTO DE H₂O₂**Juliana L. Santos^a, Vinicius R. Gonçalves^{b,†}, Elaine P. Cintra^a e Susana I. Córdoba de Torresi^{b,*}**^aInstituto Federal de São Paulo, 01109-010 São Paulo – SP, Brasil^bDepartamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05513-970 São Paulo – SP, Brasil

Recebido em 24/06/2014; aceito em 30/10/2014; publicado na web em 11/02/2015

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MACROPOROUS ORGANIC-INORGANIC COMPOSITES FOR H₂O₂ SENSING. Electrodes modified with poly(5-amino-1-naphthol)/Prussian blue (poly(5-NH₂-1-NAP)/PB) hybrid films are able to electrochemically reduce H₂O₂ in medium containing an excess of Na⁺ cations. This is an important advantage for biosensing applications over electrodes in which only conventionally (electro) deposited Prussian blue is present. Consequently, the aim of this work was to examine the application of templates of ordered arrays of colloidal poly(styrene) spheres (800, 450 and 100 nm in diameter) to produce inverse opal structures of poly(5-NH₂-1-NAP)/PB hybrid platforms, in an effort to study the influence of the increase in surface area/volume ratio and higher exposition of the mediator active sites on material performance during H₂O₂ determination employing the different sized porous structures. Moreover, since the accentuated hydrophilic character of poly(5-NH₂-1-NAP)/PB also allows H₂O₂ electrochemical reduction in inner active sites, issues concerning the amount of mediator electrodeposited on the electrode were also reflected in the observed results.

Keywords: Prussian blue; organic-inorganic composite; hydrogen peroxide; opal inverse structure; poly(5-amino-1-naphthol).

INTRODUÇÃO

O monitoramento dos níveis de H₂O₂ tem grande importância na medicina moderna, no monitoramento ambiental e em diversos ramos da indústria. Na medicina, o H₂O₂ é o marcador mais valioso para o estresse oxidativo, reconhecido como um dos principais fatores de risco na progressão de doenças fisiopatológicas relacionadas às complicações em diabetes, arteriosclerose, doenças renais, envelhecimento, entre outras.¹

No campo dos biossensores, o monitoramento do H₂O₂ é importante, pois ele é o subproduto de uma série de reações catalisadas por enzimas oxidases, as quais ocorrem no nosso organismo. Portanto, a quantificação do H₂O₂ é capaz de fornecer informações a respeito da concentração inicial de certos substratos enzimáticos de interesse clínico, como por exemplo a colina,² a xantina,³ o lactato⁴ e a glicose.⁵ Entretanto, a oxidação do H₂O₂ diretamente na superfície de um eletrodo requer um sobrepotencial que é alto o suficiente para oxidar também outras espécies eletroativas, tais como ácido ascórbico, ácido úrico e paracetamol, que normalmente estão presentes em amostras reais. Assim, muitos estudos têm sido realizados com a finalidade de minimizar os problemas de sinais interferentes por meio da introdução de mediadores inorgânicos capazes de propiciar a determinação eletroquímica do H₂O₂ em menores potenciais. Dentre esta classe de materiais, o azul da Prússia (AP) apresenta uma boa estabilidade, alta sensibilidade, reprodutibilidade e capacidade de operar para essa finalidade em potenciais próximos a 0,0 V vs Ag/AgCl/KCl_{sat}.⁶⁻⁸ Porém, o AP convencionalmente (eletro)depositado, apesar de ser um excelente catalisador da redução de H₂O₂, não é eletroativo em meios contendo íons Na⁺, o que é uma desvantagem para sua aplicação em amostras biológicas. Estratégias que buscam solucionar esse problema podem ser encontradas em trabalhos que empregam materiais análogos ao AP, tais como o hexacianoferrato de níquel⁹ ou cobre.¹⁰ Em outros

trabalhos, soluções também têm sido encontradas formando o AP com uma estrutura que é aberta o suficiente para permitir a incorporação de íons Na⁺, seja por meio da formação de filmes amorfos,¹¹ da formação do AP por coordenação sequencial de íons^{12,13} ou da síntese do AP dentro de uma matriz orgânica de um polímero condutor.^{14,15} O presente trabalho avança nesse último exemplo, visto que trata sobre a incorporação do AP ao poli(5-amino-1-naftol) para formar o composto poli(5-NH₂-1-NAP)/AP, criando um material híbrido com características otimizadas em relação aos componentes individuais. Diferentemente de outros materiais híbridos empregados com a mesma finalidade, tais como o hexacianoferrato de cobre/poli(pirrol) (CuHCNFe/Ppy), o poli(5-NH₂-1-NAP)/AP apresenta uma estrutura mais hidrofílica e mais permeável ao H₂O₂, resultante da presença do polímero condutor rico em grupos hidroxilas. Consequentemente, não apenas sítios mais externos, mas também os sítios internos do material são capazes de interagir com o H₂O₂. Esse aspecto cria uma dependência da sensibilidade analítica com a quantidade de material presente no eletrodo, fato que já ocorre em eletrodos nos quais apenas o AP está presente. Entretanto, conforme realçado previamente, isso o diferencia de outros materiais híbridos formados por polímeros condutores menos hidrofílicos. A detecção de H₂O₂ pelo CuHCNFe/Ppy, por exemplo, é um fenômeno de superfície, e não depende do volume do material, pois o H₂O₂ não é permeável à estrutura híbrida, confinando a sua detecção principalmente aos sítios ativos externos.¹⁴

Devido ao grande campo de aplicação, muitos estudos têm sido realizados para o desenvolvimento de técnicas que produzam filmes poliméricos micro/nanoestruturados.¹⁶⁻¹⁸ As plataformas preparadas a partir de partículas esféricas coloidais podem ser utilizadas como *template* para a produção de materiais com poros interligados,¹⁹⁻²² com diâmetros desde poucos nanômetros até alguns micrometros. Estes filmes porosos, dependendo da aplicação eletroquímica de interesse, podem apresentar propriedades únicas que surgem por causa da elevada área superficial em relação ao volume do material ou pela maior facilidade de acesso aos sítios ativos mais internos. Com o controle adequado das condições é possível obter um *template* de alta

*e-mail: storresi@iq.usp.br

†e-mail alternativo: vromero@iq.usp.br

qualidade, no que se refere à presença das esferas de poli(estireno) em arranjos hexagonais perfeitamente empacotados. Conforme destacado na literatura, a eletrodeposição de materiais nos interstícios das esferas de poli(estireno) garante uma maior fidelidade à estrutura do *template* utilizado, em comparação com métodos de deposição química,²³ visto que não há encolhimento do material quando o *template* é removido por imersão em solventes orgânicos e não há necessidade de procedimentos complexos para a obtenção da estrutura porosa.^{24,25} Desta forma, o tamanho dos poros no filme é determinado diretamente pelo tamanho das esferas utilizadas como *template*.

Atualmente, os desafios na área de sensores e biossensores eletroquímicos abrangem aspectos relacionados ao aperfeiçoamento da imobilização do material biológico e também à otimização da etapa de transdução do sinal químico em sinal elétrico. Esse trabalho tem como objetivo, então, a aplicação de plataformas macroporosas de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP na detecção de H₂O₂, com o intuito de estudar como o aumento da relação área superficial/volume e a consequente exposição de um maior número de sítios ativos do mediador pode afetar o desempenho do material em função da presença de uma estrutura opala inversa com poros de distintas dimensões.

EXPERIMENTAL

Materiais

Todos os reagentes foram manuseados conforme recebidos, sem purificação adicional. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura (Elga System UHQ 18 MΩ cm). Acetona, HCl, FeCl₃·6H₂O, KCl, NaCl e K₃Fe(CN)₆ foram adquiridos na Synth. H₂O₂ (30% solução aquosa) e o monômero 5-NH₂-1-NAP foram adquiridos pela Aldrich. As esferas de poli(estireno) foram adquiridas da Thermo Scientific com diâmetros especificados de 799 ± 9 (nominal 800 nm), 453 ± 9 (nominal 450 nm) e 102 ± 3 nm (nominal 100 nm) na forma de suspensões coloidais aquosas 1% em massa.

Instrumentação

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em um potenciostato/galvanostato PGSTAT30 dirigido pelos softwares GPS versão 4.9.005 e NOVA versão 1.6.013. Utilizou-se como eletrodo de referência Ag/AgCl/KCl_{sat} e uma folha de platina como eletrodo auxiliar. Foram utilizados como eletrodos de trabalho placas de ouro previamente polidas com aluminas de 1.0, 0.3 e 0.05 μm, nesta ordem. Em seguida, a placa foi colocada em banho de ultrassom por 1,5 h em álcool isopropílico, e por mais 5 min em água purificada. Um tratamento eletroquímico também foi realizado em uma solução aquosa de H₂SO₄ 5,0 × 10⁻² mol L⁻¹, numa faixa de potencial de -0,3 a 1,8 V, em um total de 15 ciclos, com velocidade de varredura de 150 mV s⁻¹. Esse tratamento foi realizado para remover possíveis resíduos do polimento ou outros contaminantes.

As análises de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas em um equipamento JEOL (FESEM, JSM-7401F).

Autodeposição do molde de poli(estireno) por fluxo assistido

Esferas de poli(estireno) com diâmetros de 800, 450 e 100 nm foram utilizadas como *template* para formação de filmes macroporosos do híbrido poli(5-NH₂-1-NAP)/AP. O *template* de partículas coloidais foi depositado sobre a placa de ouro a partir de uma suspensão aquosa das esferas de poli(estireno) diluída para 0,05% em massa de esferas. Antes disso, a suspensão foi deixada em banho de ultrassom por 2 minutos. A placa foi fixada paralelamente à parede de um béquer de 5 mL de modo que não encostasse no fundo deste, a solução foi

adicionada e um fluxo de ar comprimido foi posicionado do lado oposto à placa sem que encostasse na solução. O sistema foi deixado em repouso até que toda água tivesse evaporado. Após a autodeposição do *template*, uma área geométrica de 0,49 cm² (0,7 cm × 0,7 cm) foi isolada em todos os sistemas com auxílio de uma resina acrílica para a condução dos experimentos eletroquímicos.

Síntese do poli(5-NH₂-1-NAP)/AP usando o *template* de partículas coloidais de poli(estireno)

O híbrido poli(5-NH₂-1-NAP)/AP foi sintetizado ao redor do *template* de esferas de poli(estireno) em duas etapas eletroquímicas, conforme descrito previamente por Limachi *et al.*¹⁴ Resumidamente, íons Fe³⁺ foram inicialmente incorporados à matriz do poli(5-NH₂-1-NAP) por meio de uma solução contendo FeCl₃ 1,5 mmol L⁻¹, HCl 1 mol L⁻¹, KCl 1 mol L⁻¹ e o monômero 5-NH₂-1-NAP 2 mmol L⁻¹. Para eletrodeposição do filme foram feitas duas ciclagens numa faixa de potencial de 0,0 V a 0,9 V e 48 ciclos num potencial de 0,0 V a 0,75 V, com velocidade de 50 mV s⁻¹ e sem interrupção do procedimento para alteração da janela de potencial. A janela de potencial foi diminuída após o início da polimerização para se evitar o processo de superoxidação das cadeias formadas, o que acarretaria na perda de condutividade elétrica do material. Entretanto, antes de realizar a primeira etapa eletroquímica, a placa de ouro com as esferas de poli(estireno) permaneceu imersa na solução por 30 minutos, para que o banho permeasse pelos interstícios das partículas coloidais e alcançasse a superfície do eletrodo de trabalho. A segunda etapa consistiu na inserção do eletrodo modificado poli(5-NH₂-1-NAP)/Fe³⁺ em uma solução contendo K₃Fe(CN)₆ 1,5 mmol L⁻¹ e HCl 1 mol L⁻¹ por 2 horas. Após este tempo, 100 ciclos voltamétricos foram realizados na mesma solução. A faixa de potencial foi de 0,0 V a 0,75 V com velocidade de 50 mV s⁻¹. Ao final da segunda etapa eletroquímica o eletrodo foi deixado sob agitação por 15 minutos em THF, para a dissolução do *template* de poli(estireno).

Determinação do H₂O₂

Os filmes de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP macroporosos de 800, 450 e 100 nm foram utilizados para experimentos de detecção de H₂O₂ pelo método de cronoamperometria. Utilizou-se 5 mL de uma solução contendo NaCl 0,1 mol L⁻¹ e HCl 1,0 mol L⁻¹ sob agitação magnética. Inicialmente, aplicou-se um potencial de 0,0 V aos eletrodos modificados por 30 minutos para estabilizar a corrente de fundo. Posteriormente, alíquotas de 5 μL de uma solução de H₂O₂ 0,1 mol L⁻¹ foram adicionadas sucessivamente para obter uma curva amperométrica. Cada adição de H₂O₂ correspondeu a um incremento de 0,1 mmol L⁻¹ na concentração do analito.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de auto-deposição por fluxo assistido permite a formação de um *template* de esferas de poli(estireno) contendo dezenas de camadas de esferas em um arranjo hexagonal compacto. De acordo com Cadernartiri *et al.*,²⁶ a utilização de um fluxo de gás comprimido nesta técnica é fundamental, pois acelera a evaporação da água da solução contendo as esferas e provoca oscilações no menisco, que são responsáveis por gerar uma maior organização das esferas sobre o substrato. A Figura 1 apresenta um esquema do sistema montado para realizar a deposição de multicamadas de esferas de poli(estireno) sobre uma placa de ouro.

Essa foi a estratégia utilizada para a imobilização dos diferentes tamanhos de esferas de poli(estireno) empregadas como *template* no trabalho, sendo possível visualizar os depósitos obtidos com o auxílio

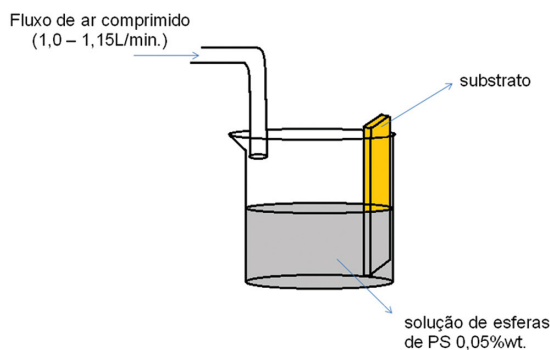


Figura 1. Representação esquemática do sistema montado para realizar a deposição de multicamadas de esferas de poli(estireno). O substrato representa uma placa de ouro

da microscopia eletrônica de varredura, conforme exemplificado para as esferas de 800 nm na Figura 2.

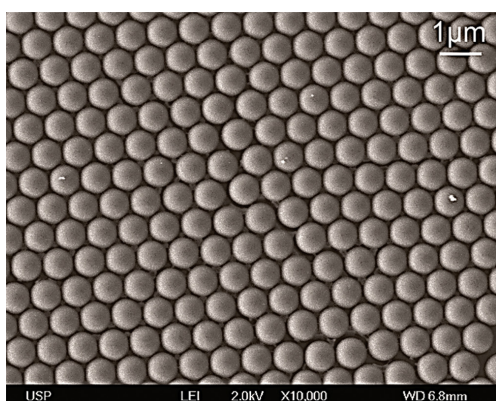


Figura 2. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para esferas de poli(estireno) de 800 nm de diâmetro imobilizadas sobre a placa de ouro

Observa-se nas imagens que este método é capaz de possibilitar a formação de um depósito de alta qualidade em um arranjo hexagonal compacto das partículas, propiciando vantagens quanto à organização quando comparado a eletrodos nos quais o *template* de esferas de poli(estireno) é imobilizado por *drop coating*.²¹ Posteriormente, os substratos de ouro modificados com o *template* de 800, 450 e 100 nm de diâmetro foram utilizados para a formação dos filmes de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP macroporosos a partir de duas etapas eletroquímicas já discutidas anteriormente,¹⁴ obtendo-se os perfis voltamétricos apresentados na Figura 3.

Tanto o polímero condutor quanto o AP apresentam eletroatividade em meio ácido dentro da janela de 0,00 a +0,35 V vs Ag/AgCl/KCl_{sat}. Para o material inorgânico, o processo é caracterizado pela reação $MFe^{III}Fe^{II}(CN)_6 + M^+ + e^- \rightleftharpoons M_2Fe^{II}Fe^{II}(CN)_6$, na qual M⁺ representa o cátion que suporta a atividade eletroquímica do AP. Já o poli(5-NH₂-1-NAP) é um polímero condutor obtido por meio da oxidação de um monômero bifuncional, o 5-amino-1-naftol. Conforme estudado por Pham *et al.*,²⁷ a polimerização em meio ácido ocorre por meio dos grupos amino e gera uma estrutura polimérica com atividade redox similar a da poli(anilina), envolvendo a formação de pólarons e bipolarons.^{28,29} Consequentemente, a interpretação dos picos voltamétricos dos compostos orgânico-inorgânicos apresentados na Figura 3 não é uma tarefa simples e envolve interações eletrônicas entre o polímero condutor e o hexacianoferrato metálico, conforme demonstrado em experimentos espectroscópicos realizados por Limachi *et al.*¹⁴ Na Figura 3, apesar dos três filmes gerados apresentarem pares redox em regiões de potencial relativamente similares, nota-se que

o diâmetro do *template* utilizado afeta drasticamente a quantidade de material eletroativo depositado, mesmo mantendo-se condições idênticas de síntese em todos os casos.

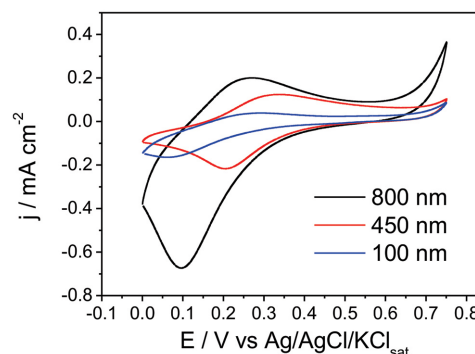


Figura 3. Perfis voltamétricos obtidos para filmes de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP eletrodepositados ao redor das esferas de poli(estireno) de 800 (preto), 450 (vermelho) e 100 nm (azul) de diâmetro

Após a formação dos distintos filmes porosos, o *template* foi dissolvido em THF e as placas de ouro modificadas foram levadas ao microscópio eletrônico de varredura para verificação do crescimento do material ao redor das partículas coloidais, conforme apresentado na Figura 4.

Apesar do *template* inicial consistir em uma estrutura com diversas camadas de esferas de poli(estireno), os resultados da Figura 4 indicam que, na maior parte dos casos, o filme de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP cresceu menos que o suficiente para recobrir a metade da primeira camada de esferas do *template*. De fato, a visualização do eletrodo de ouro é possibilitada em todas as imagens de MEV apresentadas na Figura 4, iniciando a fina película de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP passível de ser eletrodepositada. Tal fenômeno fica evidenciado observando-se inicialmente a Figura 4^a. O filme de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP foi depositado tomando-se como *template* as esferas de poli(estireno) de 800 nm de diâmetro. Entretanto, conforme apresentado pelo histograma que acompanha a imagem, o filme poroso resultante apresentou poros de (330 ± 30) nm. O mesmo aconteceu com as esferas de 450, conforme evidenciado na Figura 4B, a qual mostra que o diâmetro dos poros foi de (230 ± 20) nm. Já o *template* de 100 nm, conforme destacado na Figura 4C, foi o único que cresceu o suficiente para recobrir exatamente metade da primeira camada de esferas utilizadas como *template*, evidenciado pelo valor de (110 ± 10) nm obtido a partir do histograma levantado com os dados da imagem de microscopia eletrônica de varredura.

Conforme destacado anteriormente, a quantidade de poli(-5-NH₂-1-NAP)/AP depositado na superfície do eletrodo é um fator que afeta o desempenho obtido durante a determinação do H₂O₂. Portanto, tanto o diâmetro final resultante quanto a quantidade de material depositada na superfície do eletrodo são parâmetros que devem ser analisados para a interpretação dos resultados obtidos. Por conta disso, a Figura 5 apresenta as curvas analíticas e os cronoamperogramas obtidos com os reais diâmetros determinados e também normalizados para a quantidade de mediador presente no eletrodo. Dessa maneira, o efeito ocasionado pela presença dos poros tanto no que se refere à exposição de sítios externos quanto à maior facilidade de acesso aos sítios internos que também participam da reação pode ser analisado.

Os resultados apresentados na Figura 5 evidenciam a tendência do aumento da efetividade da determinação de H₂O₂, em termos de melhoria de sensibilidade, devido à diminuição do diâmetro dos poros do filme de poli(5-NH₂-1-NAP)/AP.

Já resultados quantificados na Tabela 1 corroboram que filmes

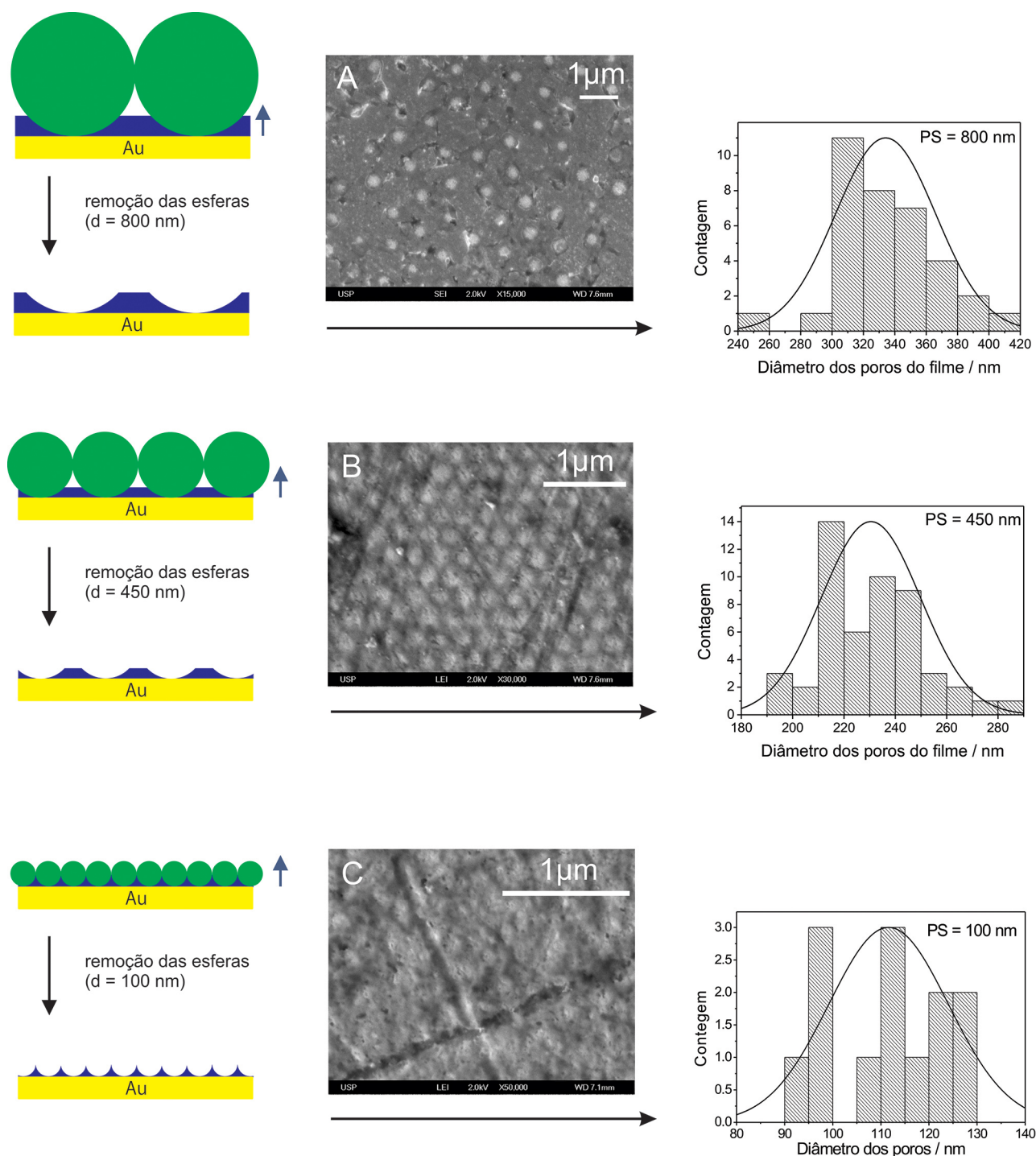


Figura 4. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e respectivos histogramas para os eletrodos de ouro com poli(5-NH₂-1-NAP)/AP sintetizados ao redor dos templates de partículas coloidais de (A) 800, (B) 450 e (C) 100 nm. Esferas de poli(estireno) já removidas em THF nas imagens de MEV

com poros de menores diâmetros tendem a expor uma maior quantidade de sítios ativos superficiais aptos a participar do processo de redução do H_2O_2 . Além disso, a maior área da interface com a solução também pode possibilitar uma maior efetividade tanto do acesso do analito quanto dos contra-íons às estruturas mais internas que formam as paredes do filme poroso. A Figura 4 evidencia que a espessura da parede (distância entre os poros) diminui acentuadamente em função da utilização de esferas de menores diâmetros como *template*. Tal resultado é ainda mais atraente quando comparado aos dados obtidos em um estudo similar,¹³ no qual filmes porosos de hexacianoferrato de cobre/polipirrol foram depositados

utilizando-se *templates* de poliestireno de 800, 600, 460 e 300 nm de diâmetro. Na ocasião, independentemente do diâmetro do *template* utilizado, todos os filmes porosos apresentaram exatamente a mesma performance durante a determinação do H_2O_2 nas mesmas condições. É importante salientar que ambos materiais híbridos consistem na combinação entre um hexacianoferrato metálico capaz de catalisar a redução do H_2O_2 e um polímero condutor. Entretanto, enquanto o poli(5-NH₂-1NAP)/AP forma filmes hidrofílicos de espessuras nanométricas (menos de 1/2 camada porosa), o CuHCNFe/PPy forma mediadores hidrofóbicos de espessuras que atingem a escala micrométrica, sendo formados por 2 1/2 camadas porosas em

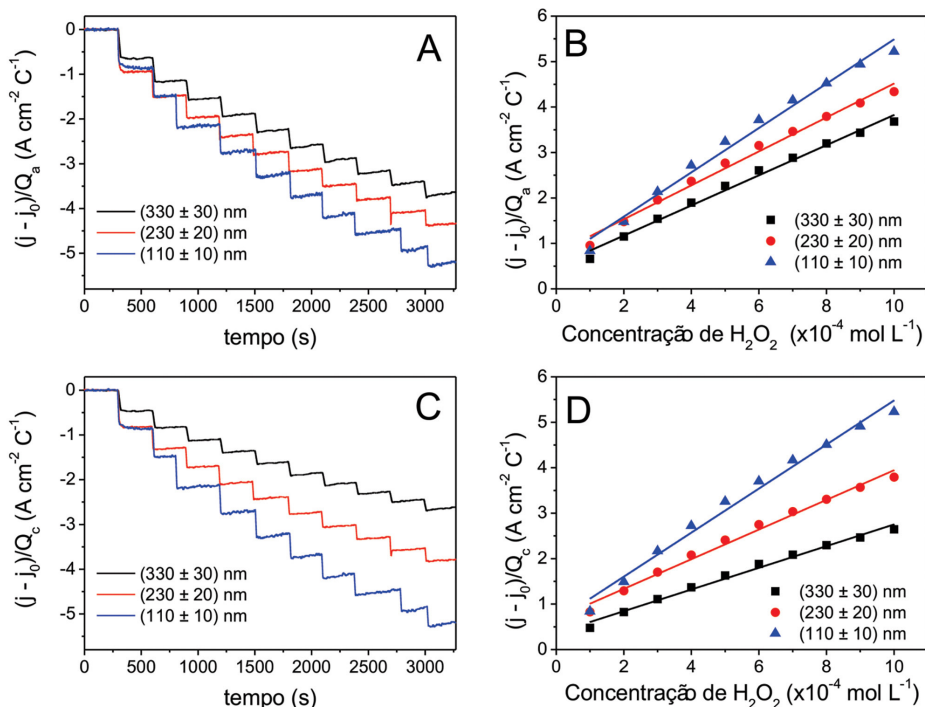


Figura 5. Cronoamperogramas e curvas analíticas obtidos através da determinação de H_2O_2 a 0,0 V vs $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}_{\text{sat}}$ em meio contendo NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + HCl 1 mol L^{-1} com os filmes porosos de poli(5- NH_2 -1-NAP)/AP apresentados na Figura 4. Densidades de corrente normalizadas pela (A,B) carga anódica e (C,D) carga catódica obtidas através dos voltamogramas dos filmes porosos

Tabela 1. Sensibilidades normalizadas pelas cargas anódica e catódica para os filmes de poli(5- NH_2 -1-NAP)/AP sintetizados com poros de (330 ± 30) , (230 ± 10) e (110 ± 10) nm de diâmetro

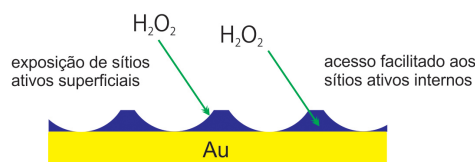
	Sensibilidade / Q_a ($\text{A cm}^{-2} \text{ mol}^{-1} \text{ L C}^{-1}$)	Sensibilidade / Q_c ($\text{A cm}^{-2} \text{ mol}^{-1} \text{ L C}^{-1}$)
(330 ± 30) nm	3316,4	2385,4
(230 ± 10) nm	3732,3	3262,4
(110 ± 10) nm	4875,3	4844,7

todos os diâmetros utilizados (Figura 6). A natureza mais hidrofóbica do PPy faz com que a determinação do H_2O_2 pelo $\text{CuHCNFe}/\text{PPy}$ seja um fenômeno confinado estritamente à superfície do filme, uma vez que o acesso aos sítios internos da parede do material acaba sendo dificultado pela presença desse polímero orgânico.¹⁵ Além disso, a própria cinética de eletrorredução do H_2O_2 pelo catalisador não permite que toda a estrutura porosa criada seja aproveitada, focalizando o processo de determinação do analito à $1/2$ camada externa mais exposta.³⁰ De maneira oposta, o poli(5- NH_2 -1-NAP)/AP é um material onde o componente polimérico apresenta uma hidrofobicidade mais acentuada que o Ppy,¹⁴ facilitando o acesso do H_2O_2 à estrutura interna do material. Além disso, a menor espessura faz com que o processo de catálise, diferentemente do $\text{CuHCNFe}/\text{Ppy}$, possa ocorrer em toda a estrutura porosa criada, fator que se mostrou fundamental para a correlação entre o tamanho dos poros criados e seu efeito na determinação do H_2O_2 .

CONCLUSÕES

A metodologia de autodeposição por fluxo assistido permitiu a formação de plataformas de esferas extremamente organizadas, em um arranjo hexagonal compacto. Tais plataformas foram utilizadas para a preparação de filmes porosos de poli(5- NH_2 -1-NAP)/AP com diâmetros de (330 ± 30) , (230 ± 20) e (110 ± 10) nm, apresentando

azul da Prússia / poli(5-amino-1-naftol)



hexacianoferrato de cobre / poli(pirrol)

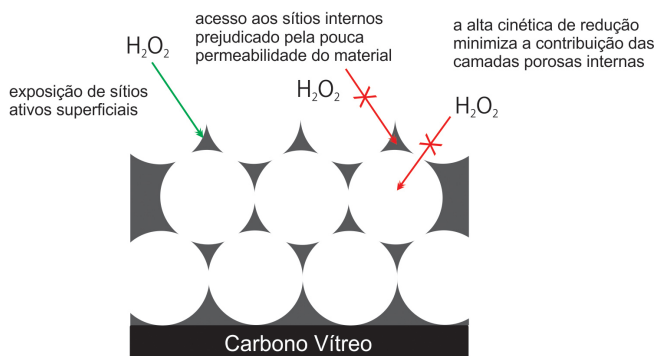


Figura 6. Representação esquemática comparando os processos de redução eletroquímica do H_2O_2 entre filmes híbridos macroporosos de azul da Prússia / poli(5-amino-1-naftol) e hexacianoferrato de cobre / poli(pirrol)

um aumento da efetividade da redução do H_2O_2 em função da diminuição do poro formado. A comparação desses resultados com um estudo similar realizado para filmes porosos de $\text{CuHCNFe}/\text{Ppy}$ possibilitou evidenciar, para o caso da redução eletroquímica do H_2O_2 , como aspectos relacionados à hidrofobicidade e a espessura do filme resultante podem afetar o aproveitamento de toda a estrutura porosa criada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP (2009/53199-3), ao CNPq e ao INCT Bioanalítica pelo apoio financeiro. J.L.S. agradece ao CNPq pela bolsa concedida. A. de O.P.B. e V.R.G. agradecem à FAPESP (10/08245-4, 05/59560-9 e 11/15159-0) pelas bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

1. Karyakin, A. A.; Puganova, E. A.; Budashov, I. A.; Kurochkin, I. N.; Karyakina, E. E.; Levchenko, V. A.; Matveyenko, V. N.; Varfolomeyev, S. D.; *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 474.
2. Shi, H.; Yang, Y.; Huang, J.; Zhao, Z.; Xu, X.; Anzai, J.-I.; Osa, T.; Chen, Q.; *Talanta* **2006**, *70*, 852.
3. Liu, Y.; Nie, L.; Tao, W.; Yao, S.; *Electroanal.* **2004**, *16*, 1271.
4. Lowinson, D.; Bertotti, M.; *Anal. Biochem.* **2007**, *365*, 260.
5. Ricci, F.; Pallechi, G.; *Biosens. Bioelectron.* **2005**, *21*, 389.
6. Karyakin, A. A.; Kuritsyna, E. A.; Karyakina, E. E.; Sukhanov, V. L.; *Electrochim. Acta* **2009**, *54*, 5048.
7. Husmann, S.; Nossol, E.; Zarbin, A. J. G.; *Sens. Actuators, B* **2014**, *192*, 782.
8. Nossol, E.; Nossol, A. B. S.; Zarbin, A. J. G.; Bond, A. M.; *RSC Adv.* **2013**, *3*, 5393.
9. Fiorito, P. A.; Córdoba de Torresi, S. I.; *J. Electroanal. Chem.* **2005**, *581*, 31.
10. Gonçalves, V. R.; Salvador, R. P.; Alcântara, M. R.; Córdoba de Torresi, S. I.; *J. Electrochem. Soc.* **2008**, *155*, 140.
11. García-Jareño, J. J.; Sanmatias, A.; Vicente, F.; Gabrielli, C.; Keddad, M.; Perrot, H.; *Electrochim. Acta* **2000**, *45*, 3765.
12. Gaitán, M.; Gonçalves, V. R.; Soler-Illia, G. J. A. A.; Baraldo, L. M.; Córdoba de Torresi, S. I.; *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *26*, 890.
13. Gonçalves, V. R.; Gaitán, M. H.; Bragatto, A. de O. P.; Soler-Illia, G. J. A. A.; Baraldo, L. M.; Córdoba de Torresi, S. I.; *J. Electroanal. Chem.* **2013**, *706*, 48.
14. Limachi, D. G. B.; Gonçalves, V. R.; Cintra, E. P.; Córdoba de Torresi, S. I.; *Electrochim. Acta* **2013**, *21*, 389.
15. Borisova, A. V.; Karyakina, E. E.; Cosnier, S.; Karyakin, A. A.; *Electroanal.* **2009**, *21*, 409.
16. Zhang, J.; Xie, Z.; She, F. H.; Hoang, M.; Hill, A. J.; Gao, W. M.; Kong, L. X.; *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, *120*, 1817.
17. Sumida, T.; Wada, Y.; Kitamura, T. e Yanagida, S.; *Chem. Commun.* **2000**, 1613.
18. Bartlett, P. N.; Birkin, P. R.; Ghanem, M. A. e Toh, C. S.; *J. Mater. Chem.* **2001**, *11*, 849.
19. Walcarius, A.; Kuhn, A.; *Trends Anal. Chem.* **2008**, *27*, 593.
20. Qiu, J.-D.; Peng, H.-Z.; Liang, R.-P.; Xiong, M.; *Electroanal.* **2007**, *19*, 1201.
21. Gonçalves, V. R.; Massafra, M. P.; Benedetti, T. M.; Moore, D. G.; Córdoba de Torresi, S. I.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 663.
22. Bartlett, P. N.; Baumberg, J. J.; Birkin, P. R.; Ghanem, M. A.; Netti, M. C.; *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 2199.
23. Bartlett, P. N.; *Interface* **2004**, *13*, 28.
24. Bartlett, P. N.; Dunford, T.; Ghanem, M. A.; *J. Mater. Chem.* **2002**, *12*, 3130.
25. Bartlett, P. N.; Ghanem, M. A.; El Hallag, I. S.; de Groot, P.; Zhukov, A.; *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 2596.
26. Cademartiri, L.; Sutti, A.; Calestani, G.; *Langmuir* **2003**, *19*, 7944.
27. Pham, M.-C.; Mostefai, M.; Simon, M.; Lacaze, P.-C.; *Synth. Met.* **1994**, *63*, 7.
28. Barbero, C.; Haas, O.; Mostefai, M.; Pham, M.-C.; *J. Electrochem. Soc.* **1995**, *142*, 1829.
29. Mostefai, M.; Pham, M.-C.; Marsault, J.-P.; Aubard, J.; Lacaze, P.-C.; *J. Electrochem. Soc.* **1996**, *143*, 2116.
30. Szamocki, R.; Reculosa, S.; Ravaine, S.; Bartlett, P. N.; Kuhn, A.; Hempelmann, R.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1317.