

## AZUL DE METILENO IMOBILIZADO NA CELULOSE/TiO<sub>2</sub> E SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>: PROPRIEDADES ELETROQUÍMICAS E PLANEJAMENTO FATORIAL

Rodrigo Scotti, Eder C. Lima, Edilson V. Benvenuti, Clarisse M. S. Piatnicki e Sílvio L. P. Dias\*

Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, CP 15003, 91501-970 Porto Alegre - RS

Yoshitaka Gushikem e Lauro T. Kubota

Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, 13084-971 Campinas - SP

Recebido em 10/12/04; aceito em 23/6/05; publicado na web em 20/1/06

METHYLENE BLUE IMMOBILIZED IN CELLULOSE/TiO<sub>2</sub> AND SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>: ELECTROCHEMICAL PROPERTIES AND FACTORIAL DESIGN. The electrochemical properties of methylene blue immobilized on cellulose/TiO<sub>2</sub> and mixed oxide SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub> matrices were investigated by means of cyclic voltammetry. The electron mediator property of the methylene blue was optimized using a factorial design, consisting of four factors in two levels. The experimental observations and data analyses on the system indicate that the lowest peak separation occurs for SiI/TiOAM, 1.0 mol L<sup>-1</sup> KCl solution and 20 mV s<sup>-1</sup> scan rate, while values of current ratio closest to unity were found for CeI/TiOAM independent of electrolyte concentration, 0.2 or 1.0 mol L<sup>-1</sup>, and scan rate, 20 mV s<sup>-1</sup> or 60 mV s<sup>-1</sup>.

Keywords: factorial design; cyclic voltammetry; methylene blue.

### INTRODUÇÃO

O azul de metileno é um corante orgânico redox fenotiazínico descoberto por Heinrich Caro em 1876, que inicialmente ganhou prestígio como corante citológico<sup>1,2</sup> e como indicador de óxido-redução<sup>3</sup>. Devido às suas propriedades fotoquímicas, têm sido desenvolvidos estudos visando sua aplicação na inativação de bactérias e vírus<sup>4,5</sup>, em células fotogalvânicas<sup>6,7</sup> e, mais recentemente, na preparação de eletrodos quimicamente modificados<sup>8-10</sup>.

As propriedades eletroquímicas do corante são bem conhecidas em fase aquosa desde que seu potencial formal, E<sup>0</sup>, que se situa na faixa entre -0,1 e -0,4 V (vs. ECS) em soluções com pH entre 3 e 11<sup>10</sup>. Este potencial redox encontra-se muito próximo do potencial redox de várias espécies biomoleculares e eletrodos modificados quimicamente baseados no corante têm sido bastante utilizados como sistemas mediadores para acelerar processos de transferência de elétrons entre enzimas e superfícies de eletrodo<sup>11</sup>. Nos últimos anos, um considerável avanço foi observado na preparação de eletrodos quimicamente modificados, com destaque para os eletrodos de pasta de carbono devido à facilidade de construção, baixo custo, baixa corrente de fundo e possibilidade de incorporação de diferentes materiais<sup>12-14</sup>. Dentre estes materiais destacam-se matrizes inorgânicas, como sílica<sup>15</sup>, zeólitas<sup>16</sup>, argilas<sup>17</sup>, óxidos mistos obtidos pelo processo sol-gel<sup>18</sup> e matrizes orgânicas, como celulose<sup>19</sup> e derivados<sup>20</sup>, as quais conferem características específicas ao eletrodo<sup>21</sup>.

Os materiais obtidos pelo processo sol-gel, tais como os óxidos mistos SiO<sub>2</sub>/M<sub>x</sub>O<sub>y</sub>, combinam as propriedades mecânicas da matriz de sílica com as propriedades químicas dos óxidos metálicos. O processo sol-gel permite obter um sólido com porosidade controlada, alta resistência mecânica e química, além de se ter o óxido metálico altamente disperso na matriz de sílica. Estas características permitem que uma maior concentração de mediador seja incorporada no eletrodo<sup>22</sup>.

A celulose é um biopolímero relativamente inerte, que apre-

senta algumas vantagens tais como baixo custo, razoável porosidade, facilidade de manuseio, biodegradabilidade, estabilidade em uma ampla faixa de pH (3-13), razoável resistência mecânica e química, área superficial e capacidade de resistir à lavagem alcalina<sup>19</sup>. A preparação de óxidos metálicos dispersos como monocamadas ou como agregados isolados sobre a superfície da celulose tem apresentado um crescente interesse nos últimos anos, devido à possibilidade destes grupamentos hidroxilas superficiais, -OH, reagirem com haletos e alcóxidos metálicos<sup>19</sup>.

Métodos estatísticos de planejamento experimental e otimização, tais como planejamento fatorial e análise de superfície de resposta, têm sido aplicados em diversos sistemas, devido à capacidade de extrair informações relevantes de sistemas que requerem um número pequeno de experimentos<sup>23-27</sup>. Neste trabalho, foi investigado o comportamento eletroquímico do azul de metileno immobilizado na superfície dos materiais celulose e sol-gel, ambos modificados com dióxido de titânio e incorporados em eletrodos de pasta de carbono. Na otimização deste sistema procurou-se investigar as melhores condições de reversibilidade do mediador, utilizando um planejamento fatorial de quatro variáveis em dois níveis.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Preparação da matriz SiI/TiO<sub>2</sub>

O óxido binário foi preparado pelo processo sol-gel, de acordo com procedimento descrito na literatura<sup>28</sup>. Um volume de 0,1 mL de HF concentrado foi adicionado a uma solução contendo 5,0 mL de tetraetóxiortossilano TEOS (Aldrich), 5,0 mL de etanol absoluto e 0,8 mL de H<sub>2</sub>O desionizada. A solução resultante foi deixada sob agitação mecânica por 20 min à temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados a esta solução, 0,6 mL de isopropóxido de titânio (IV) (Aldrich), 1,0 mL de água desionizada e novamente deixada sob agitação mecânica durante 20 min à temperatura ambiente. Para promover a geleificação e posterior solidificação do material, a solução foi deixada em repouso por 1 semana. O sólido obtido foi triturado e peneirado, resultando em partículas com tamanho médio

\*e-mail: silvio@iq.ufrgs.br

de 0,25 mm. O sólido foi lavado com etanol absoluto, filtrado e seco a 150 °C, sendo designado de Sil/TiO<sub>2</sub>.

### Preparação da matriz Cel/TiO<sub>2</sub>

O material Cel/TiO<sub>2</sub> foi preparado através da reação de uma solução de butóxido de titânio IV com fibras de celulose suspensas em heptano anidro. Cerca de 10,0 g de fibras de celulose foram suspensos sob agitação em 250 mL de heptano. A esta suspensão adicionou-se 6 mL de butóxido de titânio IV. A preparação foi realizada com agitação mecânica constante por 1 h, em atmosfera de nitrogênio seco e à temperatura ambiente. A amostra foi, então, totalmente seca em linha de vácuo de 10<sup>-3</sup> torr por 5 h. Em seguida, o material seco foi submetido a uma atmosfera de amônia gasosa por 10 min, seguida de lavagem com água desionizada e filtrada sob vácuo. Finalmente, o material Cel/TiO<sub>2</sub> foi seco em estufa a 60 °C por 1 h<sup>29</sup>.

### Imobilização do corante azul de metileno nas matrizes Sil/TiO<sub>2</sub> e Cel/TiO<sub>2</sub>

Em 25 mL de solução aquosa de azul de metileno, 1,0 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> em pH 6,0, foram adicionados separadamente 0,5 g de Sil/TiO<sub>2</sub> e 0,5 g de Cel/TiO<sub>2</sub>. As misturas foram agitadas por 30 min e os sólidos resultantes foram filtrados, lavados várias vezes com água desionizada e secos em estufa por 30 min a 60 °C. A concentração de azul de metileno imobilizado em cada um dos suportes foi determinada por análise elementar baseada no resultado do nitrogênio (N). Ambos materiais resultaram em um produto final de coloração azul e foram designados de Sil/TiOAM e Cel/TiOAM.

### Análise química

A análise química do material Sil/TiO<sub>2</sub> foi realizada adicionando-se lentamente solução de HF 40% v/v até completa dissolução do sólido. A solução resultante foi diluída com 100 mL de água desionizada e, então, foi adicionado NH<sub>3</sub> concentrada até precipitação do óxido de titânio. A concentração de óxido de titânio incorporado na matriz de sílica foi determinada em triplicata por análise gravimétrica, onde a queima do material ocorreu a 900 °C por 3 h e posterior pesagem do resíduo como TiO<sub>2</sub>. O resultado obtido foi 10,2% de TiO<sub>2</sub>.

A concentração de óxido de titânio incorporado na matriz de celulose foi determinada em triplicata por análise gravimétrica, onde a queima do material ocorreu a 900 °C por 3 h e posterior pesagem do resíduo como TiO<sub>2</sub>. O resultado obtido foi 10,9% de TiO<sub>2</sub>.

### Medidas eletroquímicas

Os eletrodos de pasta de carbono dos materiais Sil/TiO<sub>2</sub>, Cel/TiO<sub>2</sub>, Sil/TiOAM e Cel/TiOAM foram preparados pela mistura de grafite de grau analítico (Fluka, grau 99,9%) na proporção 1:1 (m/m) utilizando uma gota de óleo mineral (Nujol), resultando em uma massa de pasta homogênea de aproximadamente 20 mg. A pasta foi colocada dentro de uma cavidade na extremidade de um tubo de vidro cuja profundidade é de 0,2 cm e que possui internamente um disco de platina, selada para contato elétrico, com 3 mm de diâmetro interno.

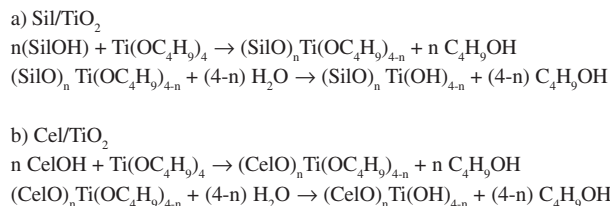
A pasta de carbono contendo o material preparado foi utilizada como eletrodo de trabalho, um fio de platina como contra-eletrodo e eletrodo calomelano saturado (ECS) como eletrodo de referência.

Os estudos voltamétricos e amperométricos foram realizados em um potenciostato-galvanostato da Autolab modelo PGSTAT 30 interfaciado a um microcomputador para controle do potencial,

aquisição e tratamento dos dados. A cela eletroquímica de trabalho continha 20 mL de solução do eletrólito KCl imerso em banho termostático a 25,0 ± 0,2 °C.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A reação de preparação dos materiais (a) Sil/TiO<sub>2</sub> e (b) Cel/TiO<sub>2</sub> pode ser representada respectivamente, pelas Equações:



A imobilização do azul de metileno na Sil/TiO<sub>2</sub> e Cel/TiO<sub>2</sub> foi realizada em pH 6,0, portanto, a forma de azul de metileno imobilizado é AM<sup>+</sup>. A estrutura do azul de metileno em diferentes valores de pH é mostrada na Figura 1.

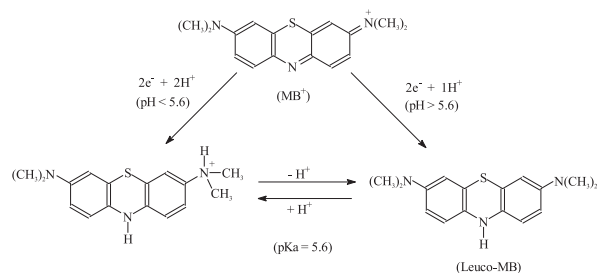
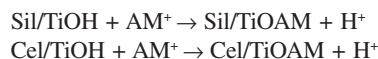


Figura 1. Esquema do comportamento do azul de metileno em diferentes valores de pH

A imobilização da forma oxidada do azul de metileno na superfície dos materiais Sil/TiO<sub>2</sub> e Cel/TiO<sub>2</sub> ocorre por reação de troca iônica, e pode ser observada pela coloração azul assumida por ambos os materiais, sendo representada pelas Equações:

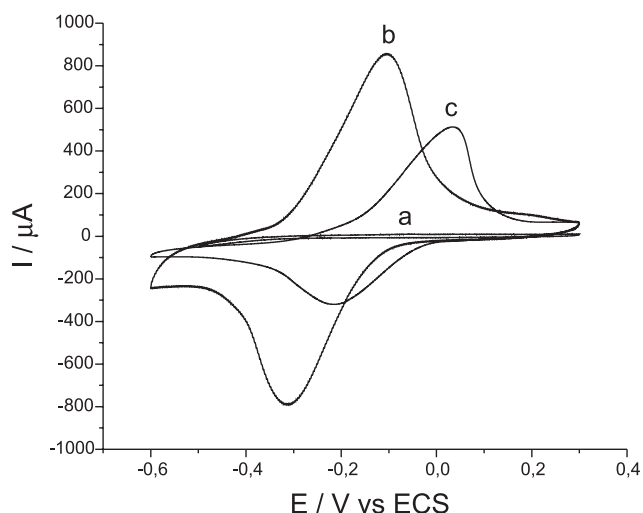


As concentrações de azul de metileno (AM<sup>+</sup>) adsorvidos na Sil/TiO<sub>2</sub> e Cel/TiO<sub>2</sub> foram determinadas por análise elementar C, H, N, resultando em 88 e 69 μmol g<sup>-1</sup>, respectivamente.

A Figura 2 mostra os voltamogramas cíclicos para Cel/TiO<sub>2</sub>, Cel/TiOAM e Sil/TiOAM, respectivamente. Os potenciais médios, E<sub>m</sub>, [E<sub>m</sub> = (E<sub>pa</sub> + E<sub>pc</sub>)/2], em que E<sub>pa</sub> e E<sub>pc</sub> são os potenciais de pico anódico e catódico, respectivamente, foram -89 mV para Sil/TiOAM e -210 mV para Cel/TiOAM, sugerindo que o corante apresenta maior interação com a matriz mais ácida Sil/TiO<sub>2</sub> que estabiliza o estado reduzido do corante com consequente mudança do potencial médio para valores mais positivos<sup>27</sup>.

Desde que o corante pode ser lixiviado da superfície dos eletrodos durante vários ciclos de oxidação e redução, a estabilidade do eletrodo foi investigada na solução de eletrólito suporte, KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Foi observado que por volta de 100 ciclos as correntes de pico anódico e catódico permanecem praticamente constantes para ambos eletrodos, não ocorrendo lixiviação do corante da superfície dos materiais Sil/TiO<sub>2</sub> e Cel/TiO<sub>2</sub> nestes experimentos, independente se o pH é 4,0 ou 7,0.

A concentração de espécies eletroativas (AM<sup>+</sup>), Γ, que representa a quantidade de sítios ativos presentes na superfície do ele-



**Figura 2.** Voltamogramas cíclicos dos eletrodos de pasta de carbono contendo os materiais a) Cel/TiO<sub>2</sub>, b) Cel/TiOAM e c) Sil/TiOAM, obtidos em solução de KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, pH 7,0 e velocidade de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup>

trodo, expressa como carga por unidade de área, pode ser calculada pela aplicação da Equação

$$\Gamma = Q/(nFA)$$

onde  $Q$  é a carga integrada sobre a onda voltamétrica cíclica,  $F$  é a constante de Faraday,  $n$  é o número de elétrons envolvidos e  $A$  é a área do eletrodo. Os valores encontrados foram  $4,1 \times 10^{-8}$  e  $7,0 \times 10^{-8}$  mol cm<sup>-2</sup> para Sil/TiOAM e Cel/TiOAM, respectivamente. Portanto, as magnitudes de corrente para Cel/TiOAM são mais altas que para Sil/TiOAM. Os experimentos foram realizados com velocidade de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup>.

**Tabela 1.** Fatores, níveis, valores para  $\Delta E$  e  $|I_{pa}/I_{pc}|$  para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup>

| Experimentos | Ordem dos Experimentos | Fatores |   |   |   | $\Delta E/mV$ | $ I_{pa}/I_{pc} $ |
|--------------|------------------------|---------|---|---|---|---------------|-------------------|
|              |                        | 1       | 2 | 3 | 4 |               |                   |
| 1            | 9                      | -       | - | - | - | 279           | 0,926             |
| 2            | 1                      | +       | - | - | - | 179           | 0,791             |
| 3            | 13                     | -       | + | - | - | 122           | 1,147             |
| 4            | 5                      | +       | + | - | - | 87            | 0,793             |
| 5            | 11                     | -       | - | + | - | 274           | 1,027             |
| 6            | 3                      | +       | - | + | - | 181           | 0,803             |
| 7            | 15                     | -       | + | + | - | 126           | 1,013             |
| 8            | 7                      | +       | + | + | - | 74            | 0,673             |
| 9            | 10                     | -       | - | - | + | 354           | 0,817             |
| 10           | 2                      | +       | - | - | + | 266           | 0,655             |
| 11           | 14                     | -       | + | - | + | 190           | 0,994             |
| 12           | 6                      | +       | + | - | + | 158           | 0,669             |
| 13           | 12                     | -       | - | + | + | 340           | 0,878             |
| 14           | 4                      | +       | - | + | + | 259           | 0,720             |
| 15           | 16                     | -       | + | + | + | 197           | 0,893             |
| 16           | 8                      | +       | + | + | + | 154           | 0,581             |

|  | (-)                  | (+)                  |
|--|----------------------|----------------------|
| Fatores: 1 – Superfície modificada             | Cel/TiO <sub>2</sub> | Sil/TiO <sub>2</sub> |
| 2 – KCl/mol L <sup>-1</sup>                    | 0,2                  | 1,0                  |
| 3 – pH   | 4,0                  | 7,0                  |
| 4 – Velocidade de varredura/mV s <sup>-1</sup> | 20                   | 60                   |

**Tabela 2.** Principais efeitos e interações para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup>

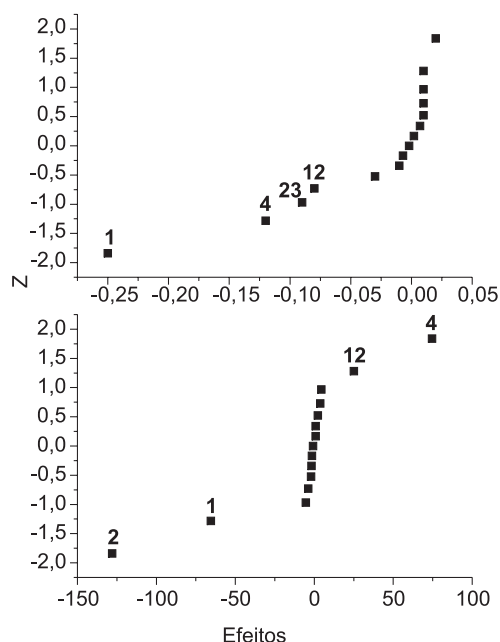
| Média                       | $\Delta E/mV$          | $ I_{pa}/I_{pc} $           |
|-----------------------------|------------------------|-----------------------------|
|                             | 202 ± 2                | 0,84 ± 0,02                 |
| Efeitos principais          |                        |                             |
| 1                           | -66 ± 3 <sup>a,*</sup> | -0,25 ± 0,03 <sup>b,*</sup> |
| 2                           | -128 ± 3               | 0,02 ± 0,03                 |
| 3                           | -4 ± 3                 | -0,03 ± 0,03                |
| 4                           | 74 ± 3                 | -0,12 ± 0,03                |
| Interação de dois fatores   |                        |                             |
| 12                          | 25 ± 3                 | -0,08 ± 0,03                |
| 13                          | -2 ± 3                 | -0,007 ± 0,03               |
| 14                          | 4 ± 3                  | 0,01 ± 0,03                 |
| 23                          | 2 ± 3                  | -0,09 ± 0,03                |
| 24                          | -2 ± 3                 | -0,002 ± 0,03               |
| 34                          | -1 ± 3                 | 0,01 ± 0,03                 |
| Interação de três fatores   |                        |                             |
| 123                         | -5 ± 3                 | 0,01 ± 0,03                 |
| 124                         | -2 ± 3                 | 0,002 ± 0,03                |
| 134                         | 1 ± 3                  | 0,01 ± 0,03                 |
| 234                         | 4 ± 3                  | 0,007 ± 0,03                |
| Interação de quatro fatores |                        |                             |
| 1234                        | 1 ± 3                  | -0,01 ± 0,03                |

Valores limites para avaliação da significância estatística do valor absoluto de cada efeito para  $t_{\alpha} = 2,306$ : a – 95% intervalo de confiança de  $\pm 7$  e b – 95% intervalo de confiança de  $\pm 0,07$ . \*O cálculo da estimativa conjunta da variância ( $s^2$ ) para os ensaios em duplicata (oito graus de liberdade) permite obter a variância associada a cada um dos ensaios experimentais. A partir do valor de  $s^2$  foi estimada a variância associada a um efeito ( $s_e^2$ ). A raiz quadrada de  $s_e^2$  resulta na estimativa do erro experimental do processo ou erro padrão de um efeito.

Para este estudo multivariado, foi utilizado um planejamento fatorial completo com quatro variáveis e dois níveis, com o objetivo de determinar a importância dos fatores, o tipo de superfície de material modificado, a concentração do eletrólito, o pH e a velocidade de varredura na otimização do processo redox do azul de metileno adsorvido nas superfícies dos materiais sol-gel e celulose modificada. As definições dos fatores e níveis usados no planejamento fatorial são apresentadas na Tabela 1.

A Tabela 1 também lista os resultados do planejamento fatorial 2<sup>4</sup> para o sistema. Os fatores escolhidos para o procedimento de otimização são aqueles que podem afetar a reversibilidade de transferência de elétrons, tais como tipo de matriz suporte para imobilizar o mediador, concentração do eletrólito, pH e velocidade de varredura. Duas propriedades foram estudadas: a separação do potencial de pico,  $\Delta E_p$ , [ $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$ ], e a razão de corrente  $|I_{pa}/I_{pc}|$  (onde  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  são as intensidades de corrente anódica e catódica, respectivamente). Os parâmetros foram analisados usando o programa FATORIAL<sup>23</sup>, que calcula os valores dos efeitos principais e de interação, apresentados na Tabela 2.

A significância estatística de todos os efeitos foi determinada pela representação gráfica dos valores dos efeitos no gráfico de probabilidade acumulada, conforme a Figura 3. Espera-se que os pontos correspondentes à curva de distribuição normal localizem-se na linha central ao redor da origem. Os efeitos representados por estes pontos não são significantes e correspondem às estimativas dos erros dos efeitos. Seus valores podem ser utilizados para calcular estimativas destes erros, bem como estimativas dos erros experimentais nos valores de  $\Delta E_p$  e  $|I_{pa}/I_{pc}|$ .



**Figura 3.** Gráfico de probabilidade acumulada para os valores dos efeitos (a)  $\Delta E_p$  e (b)  $|I_{pa}/I_{pc}|$  da Tabela 2, correspondendo ao planejamento fatorial  $2^4$

Para a separação de pico,  $\Delta E_p$ , os efeitos principais relacionados ao tipo de matriz modificada, à concentração do eletrólito e à velocidade de varredura, bem como um efeito de interação binário apresentam valores absolutos altos. O pH não está envolvido em qualquer efeito importante. Desde que o pH é uma variável inerte, o planejamento fatorial  $2^4$  para cada resposta pode ser tratado como um planejamento fatorial  $2^3$  para o tipo de superfície modificada, a concentração de eletrólito e a velocidade de varredura. Para a razão de corrente,  $|I_{pa}/I_{pc}|$ , os efeitos principais relacionados ao tipo de superfície modificada, à velocidade de varredura, bem como dois efeitos de interação binários, apresentam valores absolutos estatisticamente significativos em nível de 95% de confiança. Deve ser observado que a variável pH afeta brandamente a razão de corrente,  $|I_{pa}/I_{pc}|$ , através de um efeito de interação com a concentração do eletrólito.

Assim, os experimentos 1 e 5, na Tabela 1, podem ser tratados como um experimento em duplicata desde que o nível pH não afeta  $\Delta E_p$  e afeta muito pouco  $|I_{pa}/I_{pc}|$ . Cada par de resultados, 279 e 274 mV para  $\Delta E_p$  e 0,926 e 1,027 para  $|I_{pa}/I_{pc}|$ , podem ser usados como estimativas do erro experimental para as respostas separação de pico e razão de corrente. Outras estimativas de erro podem ser obtidas usando os resultados dos experimentos 2 e 6, 3 e 7, 4 e 8 e assim por diante. Agrupando os resultados, são obtidas as estimativas do erro experimental do processo  $\pm 3$  mV para a resposta de  $\Delta E_p$ . De modo semelhante é estimado o erro experimental do processo para  $|I_{pa}/I_{pc}|$  igual a 0,03.

Erros padrão e incertezas com intervalo de confiança de 95% para os valores dos efeitos, propagados a partir da estimativa do erro experimental estão incluídos na Tabela 2. A comparação dos valores dos efeitos com seus erros e incertezas mostra que somente os efeitos do tipo de matriz modificada, concentração do eletrólito e velocidade de varredura, bem como algumas de suas interações, são significativos.

Na Tabela 1 algumas tendências importantes podem ser observadas. A separação de pico,  $\Delta E_p$ , diminui com a mudança de matriz modificada do nível 1 (Cel/TiO<sub>2</sub>) para o nível 2 (Sil/TiO<sub>2</sub>) e isso é consistente com o valor do efeito principal negativo na Tabela 2 para a matriz modificada. Este comportamento pode ser atribuído

ao menor número de sítios ativos na superfície do material Sil/TiO<sub>2</sub>, fato observado pela análise elementar do material e que deve favorecer um processo de transferência de elétrons mais eficiente com uma menor separação entre os potenciais de pico e uma diminuição na razão de corrente. Também na Tabela 1, os valores de separação de pico são menores para a superfície de Sil/TiOAM que para a superfície de Cel/TiOAM. Isto também corresponde ao efeito principal negativo na Tabela 2 para o fator superfície modificada. Este processo pode ser favorecido pela menor resistência apresentada pelo Sil/TiOAM, o que favorece sistemas redox mais reversíveis<sup>24,25</sup>.

Comparando os pares de corridas que diferem no sinal do fator 2 na Tabela 1, como as corridas 1 e 3, 2 e 4, 5 e 7, 6 e 8 e assim por diante, pode ser observada uma tendência importante na separação do pico,  $\Delta E_p$ , que é a dependência da concentração do eletrólito. Com o aumento da concentração do eletrólito suporte para 1,0 mol L<sup>-1</sup> ocorre uma diminuição na separação do pico,  $\Delta E_p$ , e esta modificação é consistente com o valor do efeito principal negativo, na Tabela 2, para o efeito concentração. Este comportamento pode ser atribuído ao transporte de massa desde que com o aumento da concentração do eletrólito suporte se espera um processo de transporte de carga mais eficiente, que também favorece um aumento na razão de corrente e uma menor separação entre os potenciais de pico.

Comparando os pares de corridas que diferem no sinal do fator 4 na Tabela 1, corridas 1 e 9, 2 e 10, 3 e 11, 4 e 12 e assim por diante, pode ser observada uma importante tendência na separação do pico,  $\Delta E_p$ , que é a dependência com a velocidade de varredura. Pode ser observado que os maiores valores de separação do pico,  $\Delta E_p$ , ocorrem quando o fator 4 está em seu nível mais alto, sendo que este fator tem um efeito positivo. Os valores de separação do pico,  $\Delta E_p$ , aumentam com a mudança da velocidade de varredura de 20 para 60 mV s<sup>-1</sup>. Este fato é consistente com o valor positivo do efeito na Tabela 2, que indica que, com a mudança da velocidade de varredura de 20 para 60 mV s<sup>-1</sup>, se espera um aumento médio de 74 mV nos valores da separação do pico,  $\Delta E_p$ . Avaliando somente o valor do efeito principal 4, na Tabela 2, cujo comportamento observado é independente do pH, pode-se inferir que provavelmente este comportamento seja atribuído ao fato que a transferência de elétrons do mediador é lenta, favorecendo sistemas mais reversíveis em baixas velocidades de varredura.

Tais tendências não são observadas para o fator pH do sistema aquoso, pois este fator não produz um efeito significativo.

O efeito de interação binária (12) envolvendo o efeito principal da matriz modificada e a concentração do eletrólito é sinérgico, isto é, a separação de pico torna-se maior ao redor de 25 mV quando ambos os fatores matriz modificada e concentração do eletrólito variam simultaneamente para seus níveis mais altos, quando comparados com a soma das diminuições na separação de pico para as variações isoladas destes fatores.

Os resultados obtidos para a razão de corrente  $|I_{pa}/I_{pc}|$  não são similares àqueles obtidos para a separação de pico e somente os efeitos principais da superfície de celulose modificada e da velocidade de varredura e dois efeitos de interação binária (12) e (23) influenciam a resposta da razão  $|I_{pa}/I_{pc}|$  significativamente.

A observação do diagrama do planejamento fatorial, na Figura 4, confirma este comportamento para os valores de  $\Delta E_p$  e  $|I_{pa}/I_{pc}|$ . O valor do efeito negativo - 66 mV indica que todos os valores de  $\Delta E_p$  para a matriz modificada Cel/TiO<sub>2</sub> (face do lado esquerdo do cubo) são 37,5 e 96,5 mV, mais altos que os valores correspondentes em Sil/TiO<sub>2</sub> (face do lado direito do cubo). Analogamente, o valor do efeito da matriz modificada é negativo, - 0,25, e isto é consequência do fato que as relações na face do cubo Cel/TiO<sub>2</sub> são todas maiores, ao redor de 0,16 a 0,35, que seus valores correspondentes na face

Sil/TiO<sub>2</sub>. Argumentos similares usando as faces do lado inferior e superior do cubo, correspondendo às concentrações de KCl 0,2 e 1,0 mol L<sup>-1</sup>, e as faces do lado anterior e posterior do cubo, para as velocidades de varredura de 20 e 60 mV s<sup>-1</sup>, respectivamente, podem ser usados para obter uma interpretação física do efeito principal da superfície para  $\Delta E_p$  e  $|I_{pa}/I_{pc}|$ .

A análise do diagrama fatorial para razão de corrente é mais simples que para separação de pico. Os valores de resposta da face esquerda do cubo são razoavelmente similares e mais próximos da unidade com relação aos valores correspondentes da face direita. Estas faces são perpendiculares ao eixo superfície modificada, indicando que a matriz apresenta um efeito importante para a razão de corrente resultante, provavelmente, do maior número de sítios ativos na superfície da matriz.

A análise dos valores das respostas é facilitada usando o diagrama do planejamento fatorial na Figura 4. Considerando a separação do pico,  $\Delta E$ , a melhor série de condições a partir do estudo fatorial é + + - (Sil/TiOAM, KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>, 20 mV s<sup>-1</sup>), mostrando que o fator pH não afeta o  $\Delta E_p$ . Valores de  $|I_{pa}/I_{pc}|$  próximos da unidade são encontrados na face correspondente à superfície modificada, Cel/TiOAM, para esta mesma série. Portanto, estas condições devem ser observadas para se obter um comportamento mais reversível para estes eletrodos.

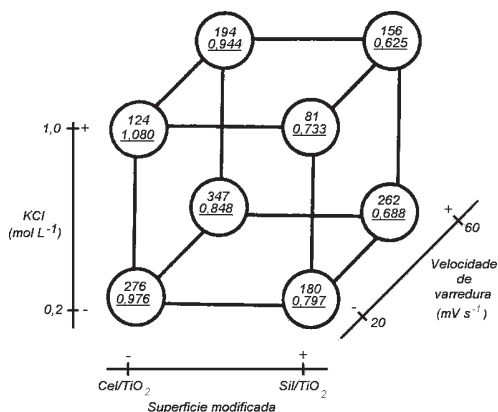


Figura 4. Diagrama do planejamento fatorial 2<sup>4</sup> para os valores de resposta de separação de pico (tipo arial) e razão de corrente (tipo itálico) expressos como valores médios de cada duplicata

## CONCLUSÕES

Este estudo demonstrou que a aplicação de um método estatístico pode proporcionar um modo eficiente de extrair informações relevantes de um planejamento experimental envolvendo o corante azul de metileno (AM) imobilizado na superfície de dois materiais modificados, Sil/TiO<sub>2</sub> e Cel/TiO<sub>2</sub>, para otimização das características de reversibilidade do mediador adsorvido. O planejamento fatorial completo permitiu uma investigação simultânea de quatro fatores selecionados, executando-se somente dezesseis experimentos. Desde que o planejamento experimental mostrou que o pH não influencia a reversibilidade de transferência de elétrons, os erros experimentais podem ser estimados sem a realização de experimentos em duplicata. Deste modo, o planejamento fatorial multivariado é mais econômico que procedimentos univariados. Somente

a matriz modificada, a concentração do eletrólito e a velocidade de varredura são importantes para este sistema com eletrodo quimicamente modificado. As observações experimentais e a análise de dados para separação do pico,  $\Delta E_p$ , indicam que uma matriz à base de Sil/TiOAM, solução KCl 1,0 mol L<sup>-1</sup> e velocidade de varredura de 20 mV s<sup>-1</sup>, independente do pH do sistema, são as condições ótimas para este sistema enquanto que valores próximos da unidade para razão de corrente  $|I_{pa}/I_{pc}|$  são encontrados na face correspondente à Cel/TiOAM.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Propesq-UFRGS), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- Dresler, H.; *Z. Biol.* **1885**, 21, 41.
- Ehrlich, P.; *Deut. Med. Wochschr.* **1886**, 12, 49.
- Clark, W. M.; Cohen, B.; Gibbs, H. D.; *Public Health Rept. (U.S.)* **1925**, 40, 1131.
- Tuite, E. M.; Kelly, J. M.; *J. Photochem. Photobiol., B* **1993**, 21, 103.
- Nicolai, S. H. A.; *Tese de Doutorado*, Universidade de São Paulo, Brasil, 1998.
- Hay, D. W.; Martin, S. A.; Ray, S.; Lichtin, N. N.; *J. Phys. Chem.* **1981**, 85, 1474.
- Ohno, T.; Lichtin, N. N.; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 4636.
- Schiavo, D. A.; Perez, E. F.; Kubota, L. T.; *Quim. Nova* **2000**, 23, 832.
- Pessoa, C. A.; Gushikem, Y.; Kubota, L. T.; *Electroanalysis* **1997**, 9, 800.
- Ye, Y.; Baldwin, R.; *Anal. Chem.* **1988**, 60, 2263.
- Lin, X. Q.; Chen, J.; Chen, Z. H.; *Electroanalysis* **2000**, 12, 306.
- Gorton, L.; *Electroanalysis* **1995**, 7, 23.
- Kalcher, K.; Kauffmann, J. M.; Wang, J.; Svancara, I.; Vytras, K.; Neuhold, C.; Yang, Z.; *Electroanalysis* **1994**, 7, 5.
- Pessoa, C. A.; Gushikem, Y.; Kubota, L. T.; Gorton, L.; *J. Electroanal. Chem.* **1997**, 431, 23.
- Rosatto, S. S.; Kubota, L. T.; Oliveira Neto, G.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, 390, 65.
- Walcarius, A.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, 384, 1.
- Sosa, R. C.; Parton, R. F.; Neys, P. E.; Lardinois, O.; Jacobs, P. A.; Rouxhet, P. G.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1996**, 110, 141.
- Ferreira, C. U.; Gushikem, Y.; Kubota, L. T.; *J. Solid State Electrochem.* **2000**, 4, 298.
- Gushikem, Y.; Toledo, E. A. Em *Polymer Interfaces and Emulsions*; Esumi, K., ed.; Marcel Dekker Inc: New York, 1999, cap. 3.
- Borgo, C. A.; Lazzarin, A.; Gushikem, Y.; *Sens. Actuators, B* **2002**, 87, 498.
- Alemu, H.; Chandrasvanshi, B. S.; *Electroanalysis* **1998**, 10, 116.
- Castellani, A. M.; Gushikem, Y.; *J. Colloid Interface Sci.* **2000**, 230, 195.
- de Barros Neto, B.; Scarmínio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como fazer experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria*, Ed. da Unicamp: Campinas, 2001.
- Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S.; *Statistics for experiments. An introduction to design, data analysis and model building*, Wiley: New York, 1978.
- Liu, G.; Wie, B. J. V.; Leatzow, D.; Weyrauch, B.; Tiffany, T.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, 408, 21.
- Ensofi, A. A.; Khayamian, T.; Hemmateenejad, B.; *Anal. Lett.* **1999**, 32, 111.
- Rocha, R. F.; Rosatto, S. S.; Bruns, R. E.; Kubota, L. T.; *J. Electroanal. Chem.* **1997**, 433, 73.
- Alfaya, A. S.; Gushikem, Y.; Castro, S. C.; *Chem. Mater.* **1998**, 10, 909.
- Dias, S. L. P.; Gushikem, Y.; Ribeiro, E. S.; Benvenutti, E. V.; *J. Electroanal. Chem.* **2002**, 523, 64.