

PLANEAMIENTO EXPERIMENTAL PARA LA PRODUCCIÓN DE ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO

F.C.S.S.Mihos^{*}, B.A. Pinto, A.J.T. Bosco, V.P.S, dos Santos, E.S.Ribeiro, L.M.C. Silva,
A.M. Salgado

Escola de Química - EQ
(Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ)

Av. Horácio Macedo, 2030, Edifício do Centro de Tecnologia, Bloco E.
Cidade Universitária - CEP: 21941-909) Rio de Janeiro – RJ – Brasil

E-mail: franciscamihos@gmail.com

Resumen. El trabajo propuesto tiene como finalidad el desarrollo de un electrodo de pasta de carbono, con el objetivo de aplicación como transductor en biosensor amperométrico. Para esto fue confeccionado un electrodo de pasta de carbono para la inmovilización de la enzima peroxidasa en óxidos de silicio y titanio, el cambio de aceite mineral y la adición de ftalocianina. El rendimiento del electrodo de trabajo se evaluó en solución $K_3Fe(CN)_6 / K_4Fe(CN)_6$, 6,0 mM, la corriente generada en la transferencia de electrones fue detectada por voltimetría cíclica. El sistema se compone de un electrodo de trabajo, que consta de un electrodo de pasta

de carbono, electrodo de referencia Ag|AgCl(KCl_{sat}) y contra electrodo de platino. La influencia de óxidos y de ftalocianina sobre la respuesta del electrodo fue estudiada por medio de un diseño experimental de mezclas, donde fueron evaluadas las interacciones entre variables: porcentaje de masa de óxido silicio y titanio, grafito y de ftalocianina. La planificación de las mezclas se hizo utilizando software Statistica 8.

Palabras clave: Biosensor, electroquímica, planeamiento experimental

1.Introducción

Las técnicas electro analíticas vienen siendo objeto de estudio cada vez mayor de lo que se dice respecto al perfeccionamiento de transductores, mostrando una mayor sensibilidad de señal analítico de interés (Katz et al., 1994; Ni et. al 1990; Nagy et al. 1995, Dominguez El al. 1993). Esos transductores pueden ser definidos como dispositivos que convierten información de un dominio no eléctrico en eléctrico, y vice versa (Holler,F.H, Skoog, D.A.,Crouch,S.R.,2009), y pueden actuar como amperométricos, potenciométricos, conductimétricos, entre otros, (Sethi, R. S,1994; Grieshaber,D. et al.,2008; Luppá, P., B. et al. 2001; Constructor A.Q., et al, 1994; Ramanathan, K. et al. , 1995; Homola, J. et al.1999; Ramanathan , K. et al. 2001).

Muchos estudios están siendo realizados utilizando pasta de carbono actuando como transductores. La pasta se obtiene de la mezcla de grafito en polvo u otro material carbonáceo en un líquido orgánico, generalmente aglutinante lo que favorece la compactación de la pasta, posibilitando su fijación al electrodo. (Piovesa, J.V.,2014)

Una de las principales ventajas de utilizar la pasta de carbono para la construcción de sensores y la posibilidad de modificación de este material, a diferencia de lo que ocurre con electrodos sólidos convencionales, es que la modificación ocurre apenas en la superficie del electrodo, (Fungaro, D.A.; Brett.C.M.A.,2000; Wong A.;

Bohi T.C.; Sotomayor M.D.P.T., 2009; Franzoi A.C.; Brondani D.; Zapp E., Moccelini. S.K, Fernandes S.C., Vieira I.C.; Dupont J., 2011).

Entre otras ventajas se destaca la versatilidad, bajo costo, baja corriente de fondo, facilidad de renovación de la superficie, amplio rango de potencial de trabajo y fácil construcción (Kalcher, K.; Kauffman, J.-M.; Wang, J.; Švancara, I.; Vytras, K.; Neuhold, C.; Yang, Z., 1995.) Sin embargo, su uso como transductor orientado al área de electroquímica necesita aún ser perfeccionado, principalmente en lo referente a la estabilidad y la reproductibilidad de estos electrodos. (Mullor, S. G.; Sánchez-Cabezudo, M.; Ordieres, A. J. M.; Ruiz, B. L.; 1996)

Los óxidos mixtos han atraído considerablemente la atención de los investigadores como nuevos materiales, catalizadores heterogéneos y soporte de catalizadores. La adición de titanio promueve interacciones de sitios ácidos en la superficie no encontrados en los óxidos puros. (Wang, S.W., Guo, J.K., Huang, X.X., Li, B.S.S.; 1995).

Este trabajo tiene como objetivo desarrollar un electrodo de pasta de carbono, para aplicación como un transductor en un bio-sensor amperométrico utilizando polvo de grafito, óxidos de silicio y titanio, aceite mineral y ftalocianina. A fin de utilizarlo como un bio-sensor posterior a la inmovilización con la enzima peroxidasa, en estudios posteriores.

2. Metodología:

2.1 Planeamiento experimental de mezcla

Fueron realizados dos planeamientos experimentales separados, a fin de obtener las composiciones óptimas de entre grafito y aceite, y posteriormente entre grafito, óxido de silicio y titanio y ftalocianina. Los planeamientos de mezcla fueron realizados utilizando el Software *Statistica* 8. Para la composición de aceite en un electrodo de pasta de carbono, fueron generados cinco experimentos en triplicado y para el de ftalocianina, grafito y óxido de silicio y titanio fueron generados tres experimentos en triplicado.

Ambos planeamientos tuvieron los electrodos de pasta de carbono confeccionados a partir del pesaje de los materiales líquidos y sólidos individualmente en una báscula de la marca Shimadzu/AUX 220, la homogeneización de los componentes fue hecha con

ayuda de un grado de 60 mL en su respectivo pistilo. Después de obtener una masa homogénea, 46 mg de esa masa fueron introducidas en el electrodo de trabajo, estando ahora listo para ser utilizado en los análisis posteriores.

El desempeño de esos electrodos para los dos experimentos fue evaluado en solución de $K_3Fe(CN)_6$ / $K_4Fe(CN)_6$, 6,0 mM, por la corriente generada en la transferencia de electrones, detectada por voltimetría cíclica. El sistema fue compuesto por un electrodo de pasta de carbono, electrodo de referencia $Ag|AgCl(KCl_{sat})$ y contra-electrodo de platino.

2.2 Evaluación del efecto de la adición de aceite mineral a pasta de carbono

La influencia del aceite mineral de la pasta de carbono en la respuesta del electrodo fue estudiada por medio de un planeamiento experimental de mezclas usando el Software Statistica 8, donde fueron evaluadas las interacciones entre las variables: porcentual en masa de grafito y de aceite. Las variables independientes determinadas fueron: pasta de carbono que varió entre 10-90% y el aceite mineral con variación entre 0 y 10. Las variables dependientes fueron las corrientes de pico anódico y catódico generados por la voltimetría cíclica en las siguientes velocidades de barradura: 20, 50, 100, 150, 200 e 300 mV/s.

2.3 Evaluación del efecto de la adición de óxidos y ftalocianina a pasta de carbono

La influencia de los óxidos y de la ftalocianina en la respuesta del electrodo fue estudiada por medio de un planeamiento experimental de mezclas, donde fueron evaluadas en las interacciones entre las variables: porcentual en masa de óxido de silicio y titanio, grafito y ftalocianina. Las variables independientes, determinadas por el programa fueron: pasta de carbono que varió entre 0-99 %, óxido variando entre 0-99 % y la ftalocianina que varió entre 1 e 5 %. Las variables dependientes fueron las corrientes de picos anódicos y catódicos, generados por la voltimetría cíclica en 50 mV/s, mejor corriente de pico determina en el análisis de la influencia de la concentración de aceite mineral. Fue utilizada una proporción de 5 % (m/m) de aceite mineral como agente aglutinante de la pasta de carbono para todos los electrodos en este experimento.

3. Resultados y discusión:

La evaluación de los resultados del planeamiento de aceite mineral fue realizada utilizando Excel 2007, donde fueron observados que los voltamogramas que presentaron mayores picos de corrientes más bien definidos ($1.47 \cdot 10^{-4} \mu\text{A}$ con desvío padrón de $1.96 \cdot 10^{-4}$) fueron los resultantes por el electrodo compuesto por 5 % de aceite mineral y 95 % de pasta de carbono. Así, estas proporciones de mezcla/aceite fueron mantenidas fijas para la confección del electrodo de trabajo para las demás etapas de análisis.

De entre las velocidades de barradura estudiadas, la que presentó mejor carácter de reversibilidad fue de 50 mV/s, presentando corriente de pico anódica/corriente de pico catódica con un valor de 1,46981 con desvío padrón de 0,73462, esa velocidad fue mantenida para todos los experimentos posteriores.

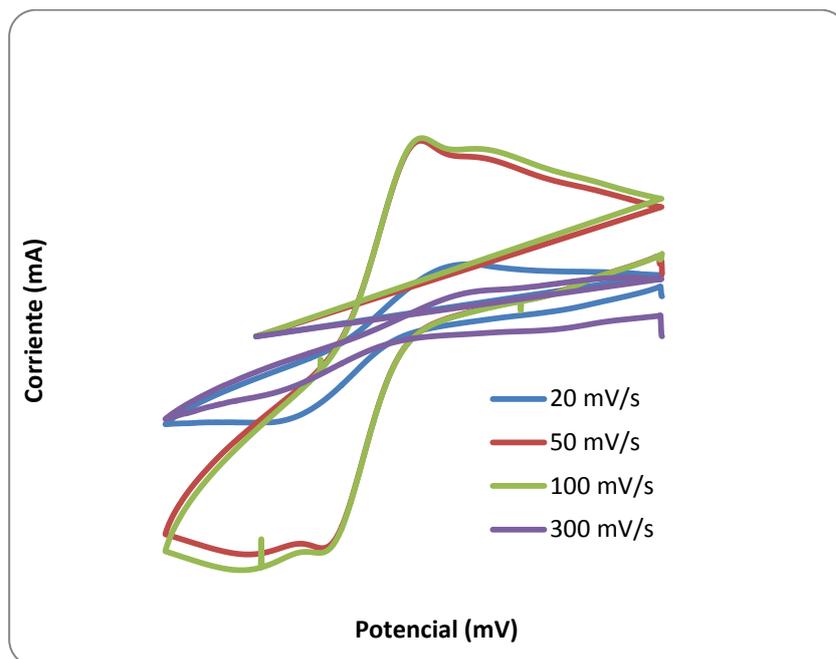


Fig. 1. Voltamogramas cíclicos obtenidos para el electrodo con masa de 95% de grafito y 5% de aceite mineral en solución conteniendo $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 10 mM en KCl 3 M vs. Ag/AgCl .

Se verificaron los voltamogramos y el que presentó los picos mayores y más definidos fueron los resultantes por el electrodo con 95 % (m/m) de grafito y 5 % de aceite mineral, concordando con la composición estimada por el planeamiento experimental. Por lo tanto, esa proporción fue seleccionada para el procedimiento del trabajo. Fue determinada la velocidad de barradura de potencial que proporcionó el mayor carácter de reversibilidad del sistema, que de acuerdo con la Tabla 1 tal velocidad fue de 50 mV/s, pues de entre las velocidades analizadas, esa es la que presenta el módulo de la razón entre la corriente de pico anódica (I_{pa}) y la corriente de pico catódica (I_{pc}) más próxima de 1, lo que caracteriza que el sistema presenta el mayor carácter de reversibilidad en esta velocidad, estando de acuerdo con Diao e Zhang (1996).

Tabla 1: Valores de corrientes de pico catódico, pico anódico y su razón en función de la velocidad de barradura frente al electrodo.

v(mV/s)	I_{pa} (mV)	I_{pc} (mV)	I_{pa}/I_{pc}
20	2,45 E-04	6,6707E-05	3,68
50	4,40 E-04	1,20471E-04	36,5
100	5,87E-01	9,97407E-04	588,60
150	8,57E-04	1,99295E-04	4,30
200	3,88E-04	9,5131E-05	4,08
300	5,52E-04	8,0691E-05	63,56

Basado en los parámetros presentados en la Tabla 1 fue elaborada la gráfica que correlaciona las corrientes de picos (catódicas y anódicas) con la raíz cuadrada de la velocidad de barradura (Figura 2) proporcionada por el electrodo con 95 % de grafito y 5 % de aceite mineral, también con el objetivo de confirmar el carácter de reversibilidad del sistema.

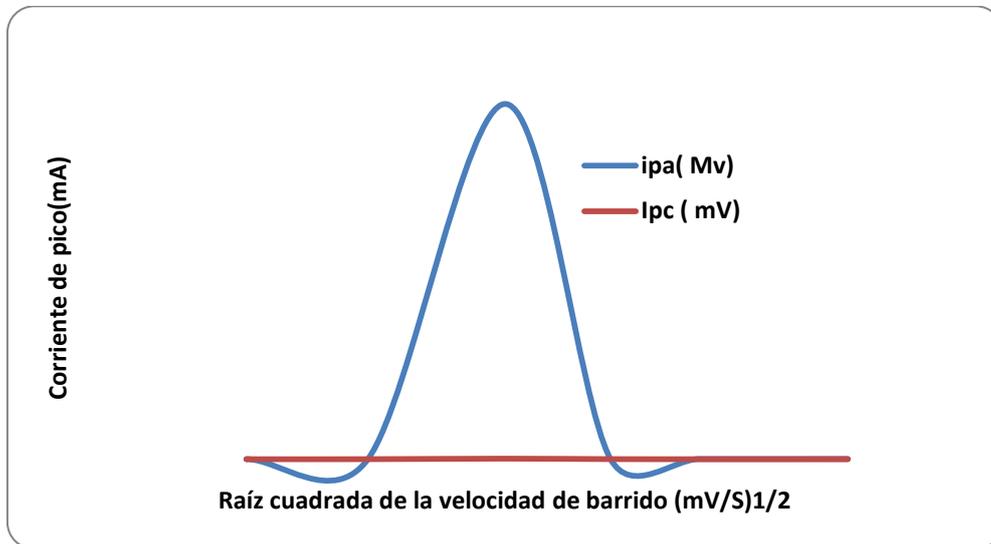


Fig. 2. Curvas de co-relación entre las corrientes de pico catódicas (I_{pc}) y anódicas (I_{pa}) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barradura $(V/s)^{1/2}$ proporcionadas por el electrodo E.

Se observó que no hubo linealidad entre las corrientes de pico catódica y anódica en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barradura, indicando la no reversibilidad del sistema. De esa forma fue necesario tomar estrategias para alcanzar tal linealidad priorizando el desempeño del electrodo, que será efectuado en el futuro.

La evaluación de los resultados del experimento con óxidos y ftalocianina obtenidos por el software demostró que, en relación al pico anódico, se puede extrapolar el porcentaje ideal de los componentes que constituyen la pasta de carbono, siendo que el modelo matemático generado presenta tendencia lineal. Los resultados obtenidos fueron representados por un gráfico ternario (figura 3), conteniendo regiones donde las interacciones entre las variables estudiadas presentan mayor importancia. En este diagrama ternario fue posible identificar que la proporción de 5 % de ftalocianina y 95 % de polvo de grafito sugiriendo que las interacciones entre los componentes favorecen

la obtención de mejor respuesta de corriente. En esta proporción fue obtenida la corriente de pico anódico de $1,65 \times 10^{-4}$ mA, con desvío padrón de $1,2 \times 10^{-4}$ mA. En relación al pico catódico, no fue generado un modelo estadístico que pueda evaluar la viabilidad de las mezclas en relación a este parámetro.

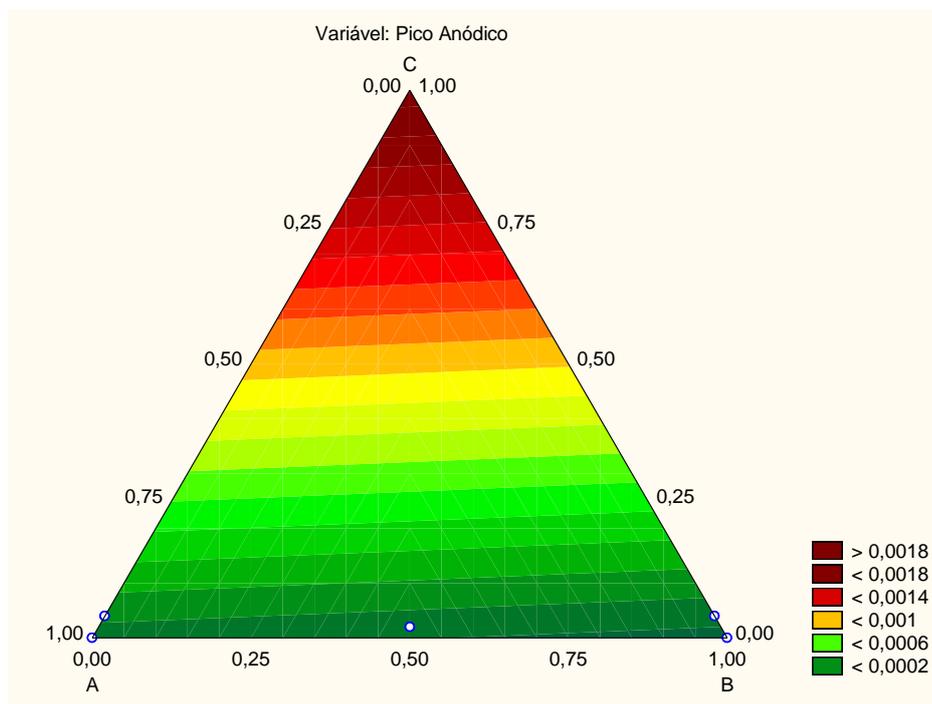


Fig.3. Diagrama ternario resultado del planeamiento experimental con óxido de silicio y titanio(A), polvo de grafito(B) y fitalocianina(C).

4. Conclusión:

Aun considerando que la adición de óxidos de silicio y titanio no se haya mostrado favorable electroquímicamente al electrodo, teniendo en cuenta que su función es estabilizar la especie sorbida, estudios están siendo desarrollados en el laboratorio de sensores biológicos, a fin de perfeccionar las mejores condiciones de análisis, objetivando la confección de un electrodo de pasta de carbono como base para la inmovilización de la peroxidasa.

Agradecimientos:

Al CNPQ por la beca de iniciación científica contemplada en este proyecto.

5. Referencias:

- Constructor A.Q., Sureshkumar T.N., Narayanan R., Sukeerthi S., Lal R., Srinivasa R.S.. *Conducting polymers based biosensors*. *Electrochim. Acta*. 1994, Vol. 39, p. 1321.
- Domínguez, E.; Lan, H. L.; Okamoto, Y.; Hale, P. D.; Skotheim, T. A.; Gorton, L.; Hahnagerdal, B.; *Biosens. Bioelectron.* 1993, 8, 229. *Electroanal. Chem.* 1994, 373, 189
- Franzoi A.C.; Brondani D.; Zapp E., Moccelini. S.K, Fernandes S.C., Vieira I.C.; Dupont J. *Incorporação de líquidos iônicos e nanopartículas metálicas na construção de sensores eletroquímicos* .2011. *Quim. Nova*, Vol. 34, No. 6, 1042-1050
- Fungaro, D.A.; Brett, C.M.A. *Eletrodos modificados com polímeros perfluorados e sulfonados: aplicações em análises ambientais*. *Química Nova*, v. 23, 2000.
- Grieshaber, D. et al. *Electrochemical biosensors - Sensor principles and architectures*. *Sensors*, v. 8, n. 3, p. 1400-1458, Mar 2008.
- Holler, F.H.; Skoog, D.A.; Crouch, S.R., *Principios de análise instrumental*. 6ª ed. Bookman, 2009, Porto Alegre.
- Homola, J. et al. *Surface plasmon resonance sensors: review*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, v. 54, n. 1-2, p. 3-15, Jan 25 1999.
- Kalcher, K.; Kauffman, J.-M.; Wang, J.; Švancara, I.; Vytras, K.; Neuhold, C.; Yang, Z. *Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: A review with particular emphasis on the period 1990-1993*. *Electroanalysis*, v.7, p. 5-22, 1995.
- Katz, E.; Lotzbeyer, T.; Schlereth, D. D.; Schuhmann, W.; Schmidt, H.-L.; *J. Electroanal. Chem.* 1994, 373, 189.
- Luppa, P., B.; Sokoll, L., J.; Chan, D., W.; *Immunosensors—principles and applications to clinical chemistry* *Clinica Chimica Acta* 314 Ž2001. 1–26
- Mullor, S. G.; Sánchez-Cabezudo, M.; Ordieres, A. J. M.; Ruiz, B. L.; *Talanta* 1996, 43, 779.
- Nagy, G.; Kapui, I.; Gorton, L.; *Anal. Chim. Acta* 1995, 305, 65.
- Ni, F.; Feng, H.; Gorton, L.; Cotton, T. M.; *Langmuir* 1990, 6, 66.
- Ramanathan, K. et al. *Application of polyaniline-Langmuir-Blodgett films as a glucose biosensor*. *Mater. Sci. Engg. C*. 1995, Vol. 3, p. 159.
- Ramanathan, K. et al. *Principles and applications of thermal biosensors*. *Biosensors & Bioelectronics*, v. 16, n. 6, p. 417-423, Aug 2001.
- Sethi, R. S. *Transducer aspects of biosensors*. *Biosensors & Bioelectronics*, v. 9, n. 3, p. 243-264, 1994
- Wang, S.W., Guo, J.K., Huang, X.X., Li, B.S.S.; *Mater Lett*. 1995, 25, 151.

Wong A.;Bohi T.C.; Sotomayor M.D.P.T. *Comprovação do caráter biomimético da enzima P450 pela bis(piridil)ftalocianina ferro(II) através da oxidação seletiva de captopril.* 33^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química