

INCORPORAÇÃO DE LÍQUIDOS IÔNICOS E NANOPARTÍCULAS METÁLICAS NA CONSTRUÇÃO DE SENSORES ELETROQUÍMICOS

Ana Cristina Franzoi, Daniela Brondani, Eduardo Zapp, Sally Katiuce Moccelini, Suellen Cadorin Fernandes e Iolanda Cruz Vieira*

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, CP 476, 88040-970 Florianópolis - SC, Brasil

Jairton Dupont

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

Recebido em 17/8/10; aceito em 27/12/10; publicado na web em 29/3/11

INCORPORATION OF IONIC LIQUIDS IN THE CONSTRUCTION OF ELECTROCHEMICAL SENSORS. The most relevant advances on analytical applications of ionic liquids (IL) as binder in the construction of electrochemical sensors and biosensors based on carbon paste are presented. This new class of solvents – the IL – has received great attention in electroanalytical researches due to the excellent physical and chemical properties of these materials, such as high conductivity, low toxicity, good stability, large electrochemical window and catalytic ability. Recently, the interest in electrodes modified with IL, especially when combined with metallic nanoparticles, has increased expressively due to improve the sensitivity and others advantages discussed in this review.

Keywords: ionic liquid; metallic nanoparticle; sensor.

INTRODUÇÃO

Breve história do desenvolvimento dos líquidos iônicos

Para o desenvolvimento de novos materiais, o solvente onde serão sintetizados é de grande importância e a substituição dos tradicionais solventes orgânicos vem sendo implementada. Por muito tempo, a maioria das reações químicas foi realizada em solventes moleculares,^{1,2} entretanto, uma nova classe de solventes constituída apenas por íons, porém com fraca interação inter-iônica, baixa energia de retículo cristalino, baixas temperaturas de fusão e baixa pressão de vapor, foi introduzida. Estes compostos foram chamados de sais orgânicos líquidos à temperatura ambiente, ou simplesmente líquidos iônicos (LI), como são atualmente conhecidos.¹⁻⁴

Yoke e colaboradores, em 1963,⁵ produziram um composto iônico oleoso não volátil a temperatura ambiente, baseado no ânion clorocuprato, CuCl_2^- , e no cátion trietilamônio, obtido pela mistura de cloreto cuproso (CuCl) e cloreto de trietilamônio ($\text{N}_{222}\text{H.Cl}$). Posteriormente, foi publicada a aplicação do benzoato de tetra-hexilamônio (N_{666}B) como um tipo diferente de solvente.⁶ O N_{666}B foi denominado como um sal líquido a 25 °C e um solvente apropriado para estudos eletroquímicos, devido a propriedades como miscibilidade com a maioria dos solventes orgânicos, condutividade intrínseca e inércia eletroquímica sob uma ampla faixa de potencial.

Osteryoung⁷⁻⁹ foi um dos pioneiros no desenvolvimento de LI contendo o cátion piridínio e o ânion cloroaluminato, produzidos a partir de misturas de cloreto de alumínio (III) e *N*-alquilpiridínio. O LI com composição molar 2:1 de tricloreto de alumínio:brometo de etilpiridínio ($\text{AlCl}_3:\text{EPy.Br}$) demonstrou ser um ótimo solvente para estudo eletroquímico de compostos organometálicos e alquil-aromáticos.⁷

No início da década de 80 foram introduzidos os LI obtidos pela reação do cloreto de 1,3-dialquilimidazólio com AlCl_3 ,⁸ com

temperaturas de fusão inferiores e janela eletroquímica de potencial superior aos seus análogos contendo o cátion alquilpiridínio. Por exemplo, o composto formado a partir da mistura de cloreto de 1-etil-3-metilimidazólio (EMI.Cl) e AlCl_3 apresentou ponto de fusão de -80 °C, comparado à mistura de cloreto de etilpiridínio (EPy.Cl) e AlCl_3 cujo ponto de fusão foi de -40 °C.

Entretanto, os LI baseados em haletos de alumínio são extremamente reativos frente à água e ao oxigênio e, deste modo, devem ser manuseados sob condições inertes. Wilkes e Zaworotko^{10,11} descobriram uma nova classe de LI, baseados no conhecido cátion EMI^+ e em ânions como o tetrafluorborato (BF_4^-), nitrato (NO_3^-) e sulfato (SO_4^{2-}), que permitem o uso mais difundido desses líquidos como eletrólitos e como meio reacional. Em adição, são resistentes à umidade mostrando claramente que os LI à temperatura ambiente não estão limitados aos sais haloaluminatos.

Propriedades e aplicações dos LI

Os LI, ou sais fundidos, constituem uma área emergente e que está em franco crescimento atualmente. Basicamente, são eletrólitos formados pela combinação de um cátion assimétrico volumoso com um ânion fracamente coordenante, que pertencem a uma classe de solventes com pontos de fusão abaixo de 100 °C e reúnem um conjunto de características interessantes, tais como, líquidos sob uma ampla faixa de temperatura, densidades elevadas, negligenciável pressão de vapor, desprezível inflamabilidade, baixa toxicidade (solvente “verde”), boa estabilidade química e térmica, habilidade catalítica e alta condutividade iônica e ampla janela eletroquímica de potencial (>7,0 V, em alguns casos).¹² Na Figura 1 e Tabela 1 estão representados alguns cátions e ânions comumente utilizados na formação dos LI.

Os LI, em particular os derivados do cátion dialquilimidazólio, apresentam uma grande variação nas suas propriedades físico-químicas em função do ânion e dos substituintes presentes no anel imidazólio e também das interações fracas presentes. Tais LI não podem ser vistos como espécies iônicas isoladas: a estrutura destes

*e-mail: iolanda@qmc.ufsc.br



Figura 1. Estruturas de cátions em LI (R , R_1 , R_2 , R_3 e R_4 = cadeias alquílicas)

Tabela 1. Nome e abreviação dos ânions presentes em LI^{1,2,12}

Ânions	Nome	Abreviação
Cl^-	Cloreto	.Cl
Br^-	Brometo	.Br
BF_4^-	Tetrafluorborato	.BF ₄
PF_6^-	Hexafluorofosfato	.PF ₆
NO_3^-	Nitrato	.NO ₃
$\text{AlCl}_4^-/\text{Al}_2\text{Cl}_7^-$	Cloroaluminato	.AlCl ₄ /.Al ₂ Cl ₇
CH_3CO_2^-	Acetato	.Ac
CF_3CO_2^-	Trifluoroacetato	.TfA
CH_3SO_4^-	Metilsulfato	.MeSO ₄
CF_3SO_3^-	Trifluorometilsulfonato	.TfO
$(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$	bis(trifluorometilsulfonil)imida	.NTf ₂
$(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$	bis(perfluorometilsulfonil)imida	.Pf ₂ N

compostos é dominada basicamente por ligações de hidrogênio fracas entre cátion e ânion, interações do tipo empilhamento π entre os anéis aromáticos e interações do tipo van der Waals entre as cadeias alifáticas.¹

No entanto, o conhecimento sobre suas propriedades físicas e químicas é ainda limitado e o grande número de diferentes combinações de cátions e ânions intensifica ainda mais o problema. Propriedades como ponto de fusão, densidade, viscosidade, condutividade iônica e miscibilidade em água podem ser ajustadas pela variação dos cátions e ânions para se encontrar um ótimo solvente, ou seja, um solvente com as propriedades físico-químicas requeridas para determinada aplicação.¹²

A miscibilidade dos LI em água é fortemente dependente dos ânions.^{12,13} À temperatura ambiente, Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , CH_3CO_2^- (Ac^-) e CF_3CO_2^- (TfA^-) são ânions que os tornam miscíveis em água (hidrofílicos), já LI contendo ânions como PF_6^- e $(\text{CF}_3\text{SO}_2)_2\text{N}^-$ (NTf_2^-) são imiscíveis em água (hidrofóbicos). Porém, LI contendo ânions como BF_4^- e CF_3SO_3^- (TfO^-) estão posicionados entre os miscíveis e imiscíveis em água. Dependendo do comprimento da cadeia carbônica catiônica, os LI baseados nesses ânions serão miscíveis em água, como o tetrafluorborato de 1-etil-3-metilimidazólio (EMI.BF_4) e de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.BF_4) ou formarão sistemas bifásicos ($\text{C}_n\text{MI.BF}_4$, $n > 4$).

A estrutura do cátion é um fator que influencia a viscosidade dos LI. Mantendo-se o mesmo ânion, a elongação da cadeia alquílica causa um aumento na viscosidade dos LI com cátions 1-alkil-3-metilimidazólio. Este aumento foi relacionado com o aumento das interações do tipo van der Waals entre as cadeias alquílicas. Com relação aos ânions, por exemplo, os fluoretados BF_4^- e PF_6^- formam LI muito mais viscosos (forte interação H-F) do que aqueles formados pelo ânion fracamente básico NTf_2^- (onde a carga negativa está deslocalizada sobre os dois grupos sulfóxido). Assim, quanto maior a intensidade das interações do tipo ligação de hidrogênio, as espécies estarão mais fortemente coordenadas. Isto implica em uma

maior dificuldade de difusão das espécies ao longo da rede cristalina, fazendo com que a viscosidade aumente.^{1,14,15}

Ao longo dos últimos anos, pesquisas e aplicações de LI têm aumentado exponencialmente. Um grande interesse na utilização desses materiais está baseado nos princípios da Química Verde, visando processos químicos ambientalmente mais limpos e tendo como uma das preocupações a substituição de solventes orgânicos que são geralmente bastante voláteis e nocivos, especialmente os organo-halogenados.^{4,16} Uma importante vantagem de sua utilização como meio reacional é que características como elevada densidade e baixa pressão de vapor facilitam o processo e isolamento dos compostos orgânicos, que são normalmente pouco solúveis no meio. Os LI estão sendo substituídos promissores para solventes orgânicos comuns em inúmeras reações orgânicas, em processos de extração, em cromatografia e em estudos eletroquímicos, bem como têm se mostrado eletrólitos ideais para dispositivos eletroquímicos como baterias e capacitores.^{4,12,14,17-29}

Dentre os inúmeros LI, destacam-se aqueles derivados do cátion imidazólio associado com ânions como BF_4^- , PF_6^- , TfO^- e NTf_2^- . A aplicação destes líquidos tem ganhado notável espaço na química analítica especialmente, em eletroanalítica, como modificadores químicos de sensores e biossensores. Trabalhos recentes têm mostrado a incorporação de LI em eletrodos à base de pasta de carbono, especialmente em biossensores enzimáticos. A substituição total ou parcial dos tradicionais aglutinantes tem se mostrado uma alternativa atrativa e eficiente devido às excelentes propriedades físico-químicas destes LI, que implicam em um aumento na sensibilidade e estabilidade dos sensores resultantes.³⁰⁻³⁵ Cabe ainda ressaltar a possibilidade de uso destes eletrólitos como agentes estabilizadores de nanopartículas metálicas³⁶⁻³⁸ e posterior aplicação deste material combinado como aglutinante em diferentes sensores eletroquímicos.³⁹⁻⁴¹

LÍQUIDOS IÔNICOS COMO AGLUTINANTES EM ELETRODOS À BASE DE PASTA DE CARBONO

O primeiro eletrodo de pasta de carbono (EPC) foi construído por Adams, em 1958, na tentativa de desenvolver um eletrodo de carbono renovável para aplicação em uma faixa de potenciais mais positivos, nos quais o eletrodo de mercúrio não podia ser aplicado devido à sua oxidação.⁴² Durante as últimas cinco décadas, a pasta de carbono (uma mistura de grafite em pó e um agente aglutinante) tem se tornado um dos mais populares materiais eletródicos utilizados para a preparação laboratorial de vários sensores e biossensores.⁴³⁻⁴⁶

Os eletrodos preparados à base de pasta de carbono oferecem versatilidade, baixa corrente de fundo, baixo ruído, ampla faixa de potencial de trabalho, baixo custo e facilidade de renovação da superfície. Além disso, esses eletrodos possibilitam a modificação interna do material eletródico, diferentemente do que ocorre com eletrodos sólidos convencionais (por exemplo, eletrodo de ouro e eletrodo de carbono vítreo) em que a modificação ocorre apenas na superfície. Devido a essas propriedades, os EPC têm sofrido um intenso desenvolvimento desde sua invenção, seguindo o progresso da eletroquímica e eletroanalítica, o que justifica seu extensivo uso nessas áreas.^{47,48}

Pastas de carbono tradicionais contêm líquidos orgânicos que unem mecanicamente as partículas de grafite, preenchendo os interstícios entre essas partículas e formando uma pasta compacta e consistente que possibilita sua fixação ao eletrodo. Esses líquidos orgânicos, denominados de aglutinantes, devem apresentar algumas propriedades requeridas, tais como, ser uma substância quimicamente inerte, eletroinativa e imiscível em soluções aquosas, além de possuir alta viscosidade, baixa volatilidade e elevada pureza. Dentre os aglutinantes mais frequentemente utilizados na preparação de pastas

de carbono estão o nujol e a parafina líquida, sendo que esses óleos minerais são materiais não condutores.

Em busca do desenvolvimento de sensores e biossensores com melhor desempenho analítico, pesquisadores têm utilizado diferentes materiais obtidos através de novas tecnologias para a modificação dos tradicionais EPC.⁴⁵⁻⁴⁹ Recentemente, a nova classe de materiais conhecida como LI tem atraído a atenção em pesquisas eletroanalíticas devido às excelentes propriedades físico-químicas desses materiais, especialmente sua alta condutividade.^{12,50-53} A aplicação de LI na construção de eletrodos à base de pasta de carbono teve início nos últimos anos, mas vem ganhando um espaço expressivo dentro da vasta família de EPC modificados. Os eletrodos à base de pasta de carbono contendo como aglutinante apenas o LI são conhecidos como eletrodos de carbono e líquido iônico (ECLI), já quando há somente uma substituição parcial do aglutinante tradicional por LI, pode-se denominar simplesmente de EPC modificado com LI (EPC-LI). Vários trabalhos publicados recentemente na literatura especializada^{30-32,52-80} apresentam estudos da aplicação de diferentes LI no desenvolvimento de sensores à base de pasta de carbono. As primeiras investigações foram realizadas por Liu e colaboradores,³⁰ seguido logo pelo grupo de Opallo³⁰ e, especialmente, pelo grupo de Maleki e Safavi.^{52,55-60} Desde então, outros grupos de pesquisa têm realizado trabalhos nesta área⁶¹⁻⁸⁰ visando a construção de sensores e biossensores com performance analítica superior ao EPC tradicional.

Liu e colaboradores,³⁰ em uma investigação pioneira, desenvolveram um EPC à base do LI hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.PF₆) para avaliar a redução de nitrito, utilizando polioxomolibdato PMo₁₂O₄₀³⁻ (PMo₁₂) como mediador. Os autores ressaltam as vantagens da aplicação do LI, tais como a alta condutividade e capacidade catalítica do LI BMI.PF₆, que pode atuar como ligante hidrofóbico, podendo acumular substratos menos solúveis da solução na superfície do eletrodo através de interações hidrofóbicas, e também constitui um meio condutor que pode estabelecer uma ponte de transferência de carga, facilitando a redução do mediador usado e, especialmente, aumentando a resposta analítica do sensor em comparação a um EPC não modificado.

A Figura 2 apresenta um estudo morfológico obtido por microscopia eletrônica de varredura (MEV) de um ECLI construído com o LI BMI.PF₆ (Figura 2A) e um EPC tradicional construído com nujol (Figura 2B), sendo a mesma proporção (em massa) de aglutinantes em ambos os eletrodos. Conforme as imagens mostradas, diferenças significativas podem ser observadas entre as superfícies dos eletrodos estudados. O EPC (Figura 2B) é caracterizado por uma superfície composta por flocos de carbono irregulares e isolados e cada camada pode ser claramente distinguida. Não existe um meio de condução apropriado entre as camadas no EPC, e cargas são dificilmente transferidas devido à presença do aglutinante não condutor. Já no ECLI (Figura 2A) não se observa separação entre as camadas de carbono, sendo sua superfície mais uniforme e compacta. Além de funcionar como um aglutinante, o LI atua como uma fonte de íons transportadores de cargas entre as camadas de carbono. Assim, a resposta do eletrodo contendo LI é superior devido às contribuições dos dois materiais condutores, grafite e LI. Morfologias semelhantes foram observadas em diversos trabalhos relatados na literatura.^{31,33,40,56,77}

Sun et al.⁶⁶ investigaram o comportamento eletroquímico da hidroquinona através de voltametria cíclica, utilizando um ECLI construído com o LI hexafluorofosfato de butilpiridínio (BPy.PF₆). Nesse estudo, os voltamogramas cíclicos da hidroquinona obtidos com um EPC tradicional e com o ECLI proposto foram comparados. De acordo com os pesquisadores, foi observada uma diminuição da separação entre os potenciais de pico catódico e anódico (ΔE_p), indicando uma supressão do sobrepotencial, ao mesmo tempo em que as correntes de pico também sofreram um significativo aumento,

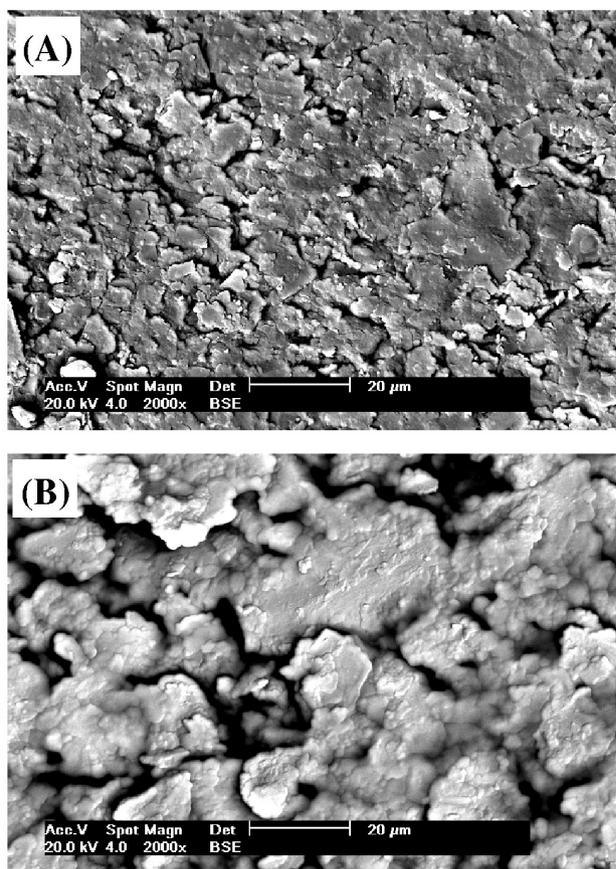


Figura 2. Imagens de MEV da superfície de um (A) ECLI construído com o LI BMI.PF₆ e (B) EPC não modificado

quando utilizado o ECLI em comparação ao EPC, apesar da presença de uma corrente de fundo acentuada na resposta do ECLI, a qual os autores atribuíram ser devida à capacitância do eletrodo. Com base nos resultados obtidos, puderam ser comprovadas as vantagens que estes novos materiais proporcionam à pasta modificada, atuando não apenas como um aglutinante tradicional, mas preenchendo completamente os interstícios vazios entre as partículas de grafite, formando uma ponte condutora que proporciona uma reação electrocatalítica com taxas de transferência de elétrons mais rápidas, ou seja, aumentando a reversibilidade e melhorando a sensibilidade do sensor.

Maleki e colaboradores⁵⁶ também realizaram um estudo para avaliar a contribuição do uso de LI como aglutinantes na construção de EPC modificados. Diferentes tipos de LI, tais como BMI.PF₆, hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio (OMI.PF₆) e hexafluorofosfato de octilpiridínio (OPy.PF₆), foram testados para a preparação de ECLI, sendo relatado um melhor desempenho para o eletrodo construído com OPy.PF₆. Eletrodos com uma razão de grafite/OPy.PF₆ variando de 95 a 50% (m/m) foram preparados e testados. Todos apresentaram aproximadamente a mesma resistência elétrica, no entanto, o eletrodo preparado com uma razão de 50% (m/m) de grafite/OPy.PF₆ ofereceu menor corrente de fundo. Os autores também relatam que a resistência do ECLI é muito menor do que a encontrada para o EPC. Para esta observação, outros quatro materiais foram testados, o hexafluorofosfato de piridínio (Py.PF₆), hexafluorofosfato de piperidina (Pip.PF₆), antraceno e hexafluorofosfato de tetra-*n*-butilamônio (TBA.PF₆), sendo selecionados com base na presença ou ausência de um sistema de elétrons- π . Os resultados indicaram que a utilização de Py.PF₆, antraceno e OPy.PF₆ produziu eletrodos com resistência favorável, semelhante ao carbono vítreo. Estas informações mostram que os compostos com sistemas de

elétrons- π , independentemente do seu caráter iônico, apresentam baixa resistência quando aplicados em eletrodos. Então, foi concluído que a condução de elétrons não é apenas devida à boa aderência das partículas de grafite, mas também devida à interação elétrons- π dos compostos acima citados com os elétrons- π do sistema eletrônico do grafite. Assim, o íon octilpiridínio (OPy^+) poderia interagir com grafite através de interações π - π .

Ainda neste mesmo trabalho, Maleki *et al.*⁵⁶ realizaram um estudo para avaliar o efeito do aquecimento de um ECLI. De acordo com os resultados obtidos, o aquecimento da pasta causou uma diminuição significativa da corrente capacitiva, além de melhorar as características físicas e eletroquímicas do ECLI. Além disso, a capacitância da dupla camada também foi estimada, mostrando-se maior no eletrodo contendo LI do que no tradicional EPC.

Um ECLI desenvolvido por Safavi *et al.*,⁵⁹ utilizando o LI OPy.PF_6 , foi empregado na investigação da oxidação eletroquímica de compostos fenólicos em meio ácido, usando as técnicas de voltametria cíclica, cronoamperometria e voltametria de onda quadrada. Os resultados indicaram que, ao contrário de muitos outros eletrodos (como os de carbono vítreo e o EPC), a oxidação de compostos fenólicos em ECLI é altamente estável e não resulta em um envenenamento do eletrodo. Conforme o mecanismo reacional proposto, o produto da oxidação do fenol não é polimerizado e nem depositado na superfície do ECLI e, portanto, não forma uma camada polimérica passivada. De acordo com os pesquisadores, a estabilidade do eletrodo é devida à presença do LI na superfície do eletrodo e sua polaridade, sendo que o LI parece dissolver os produtos da reação e mantê-los na superfície do eletrodo para redução e oxidação. Assim, em razão das suas propriedades, o ECLI pode ser aplicado em determinações quantitativas de baixas concentrações (ng mL^{-1}) de fenol e derivados.

Líquidos iônicos em biossensores

Um biossensor pode ser definido como um dispositivo analítico que incorpora um componente biológico, tal como enzima, tecido animal ou vegetal, micro-organismo, antígeno ou anticorpo, ácidos nucleicos, entre outros, com um transdutor analítico que produz um sinal proporcional à concentração analítica.⁸¹ O transdutor converte a reação entre o material biológico e o substrato de interesse em uma resposta mensurável como corrente, potencial ou absorção de luz.⁸² Após a primeira descrição de um biossensor, em 1962, por Leland C. Clark com o desenvolvimento de um eletrodo contendo enzima glicose oxidase, o interesse em biossensores vem crescendo substancialmente.

LI têm mostrado boa compatibilidade com biomoléculas, podendo melhorar a atividade e estabilidade térmica em comparação aos solventes orgânicos convencionais ou soluções aquosas. Supõe-se que a ligação de hidrogênio e a interação eletrostática entre o líquido iônico e a enzima resultam em uma alta barreira cinética para o desdobramento de enzimas. Portanto, a estrutura da enzima pode ser protegida de riscos de desnaturação.^{12,83,84}

Estudos na área de biossensores à base de pasta de carbono contendo LI é um campo de pesquisa ainda novo e a literatura a respeito ainda é escassa. Os trabalhos reportados na literatura procuram demonstrar a capacidade do aumento de estabilidade do material biológico na presença desses compostos e o significativo aumento da sensibilidade da técnica devido à alta condutividade dos LI, tornando essa associação muito promissora no campo analítico.

Li *et al.*³⁵ propuseram um biossensor de pasta de carbono contendo o LI BMI.PF_6 , utilizando mioglobina como material biológico, com a finalidade de investigar a eletrocatalise do ácido tricloroacético. Neste trabalho, após a construção de um eletrodo de pasta de carbono, uma solução contendo $10,0 \text{ mg mL}^{-1}$ de mioglobina foi depositada

sobre a superfície do eletrodo, onde posteriormente foi recoberto por uma solução contendo 0,5% de nafion com BMI.PF_6 (2:1; v/v) formando um filme estável. Resultados experimentais demonstraram que o biossensor proposto contendo biomoléculas de mioglobina e o LI BMI.PF_6 apresentou excelente atividade catalítica para a redução do ácido tricloroacético, obtendo-se uma curva de calibração com linearidade entre $2,0 \times 10^{-4}$ a $1,1 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção de $1,6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Em outro trabalho, nanotubos de carbono de parede simples e hemoglobina foram efetivamente depositados e imobilizados por Sun *et al.*,⁸⁵ na superfície de um eletrodo de pasta de carbono contendo BMI.PF_6 para a determinação de ácido tricloroacético através de voltametria cíclica. Membrana de nafion foi utilizada para a formação de um filme estável sobre a superfície do eletrodo. A faixa linear de 0,02 a $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ para o ácido tricloroacético com limite de detecção de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e a estabilidade de 1 mês foram atribuídas ao favorável microambiente de imobilização da hemoglobina que foi biocompatível com os nanotubos de parede simples.

A redução de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) também pôde ser acompanhada através da imobilização da hemoglobina na superfície de um eletrodo de pasta de carbono modificado com BMI.PF_6 . Após a deposição da proteína na superfície do eletrodo, uma suspensão de argila foi depositada sobre o biossensor contendo hemoglobina e, posteriormente, uma solução de polivinil álcool (PVA) foi adicionada para formar um filme. Medidas eletroquímicas e espectroscópicas indicaram que a hemoglobina mantém sua estrutura nativa no filme de argila e PVA, e a presença do LI eleva a velocidade de transferência de elétrons.⁸⁶ Outros trabalhos empregando a hemoglobina e o LI BMI.PF_6 para o desenvolvimento de biossensores para determinação de H_2O_2 também obtiveram resultados positivos, como boa seletividade, sensibilidade e estabilidade.^{79,87}

Outro método para imobilização de hemoglobina foi desenvolvido por Safavi e colaboradores⁶⁰ em um EPC contendo o LI cloreto de octilpiridínio (OPy.Cl). Neste trabalho o eletrodo foi imerso em 1,0 mL de solução contendo $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ de hemoglobina e $0,44 \text{ mol L}^{-1}$ do LI, durante 15 min. Os resultados obtidos pela técnica proposta indicaram a eficiência na imobilização de hemoglobina na presença do LI, sem a necessidade de mediadores de elétrons ou deposição de filmes na superfície do eletrodo. O biossensor proposto foi empregado na quantificação de H_2O_2 , apresentando uma faixa de trabalho de $1,0 \times 10^{-4}$ a $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ com limite de detecção de $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, utilizando a técnica de voltametria cíclica.

Um eletrodo para determinação de glicose em soro humano foi obtido por Shangguan e coautores⁸⁸ através da imobilização da enzima glicose oxidase diretamente sobre um EPC contendo LI BPy.PF_6 como aglutinante. O eletrodo proposto por Shangguan apresentou um excelente microambiente para a imobilização direta da glicose oxidase, sem a necessidade de filme para imobilização da enzima. A faixa linear para este eletrodo de glicose foi de $1,0 \times 10^{-7}$ a $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com estabilidade de até 20 dias.

Ding *et al.*³³ reportaram a construção de um EPC contendo o LI BPy.PF_6 , com subsequente deposição da enzima peroxidase (HRP) e cobertura por um filme de alginato de sódio na superfície do eletrodo. Diferenças significativas entre o eletrodo proposto e a pasta de carbono contendo LI ou enzima foram observadas por microscopia eletrônica de superfície. A superfície da pasta de carbono modificada contendo LI, HRP e alginato de sódio foi mais firme e uniforme. Assim, o aumento da condutividade do LI e o filme de alginato proporcionaram uma melhora do sinal analítico. Resultados experimentais indicaram que este biossensor apresentou bom limite de detecção, bioatividade, estabilidade e reprodutibilidade.

Nosso grupo vem desenvolvendo trabalhos na linha de biossensores contendo LI especialmente para determinação de compostos fenólicos,

utilizando enzimas oxirredutases obtidas de extratos brutos de vegetais. O uso de extratos brutos pode apresentar vantagens em relação aos métodos que utilizam enzimas purificadas, visto que estas enzimas naturalmente imobilizadas nas células destes materiais biológicos (habitat natural) são mais estáveis e possuem o seu cofator disponível.^{89,90}

Um homogenato de milho verde (*Zea mays* L.) foi obtido como fonte de peroxidase para a construção de um biossensor de pasta de carbono contendo LI BMI.PF₆. Essa enzima foi imobilizada em quitina previamente reticulada com carbodiimida e glicoxal para garantir maior estabilidade ao biossensor. Neste trabalho três biossensores foram construídos contendo diferentes proporções de nujol:BMI.PF₆ (100:0, 50:50 e 0:100%, m/m) e os autores verificaram um aumento na corrente elétrica de resposta do analito com a adição de LI na pasta até a proporção 50:50%, esse aumento da corrente de pico devido à adição de LI foi atribuída à diminuição da resistência à transferência de carga e aumento da taxa de transferência de elétrons. O eletrodo contendo somente LI como aglutinante apresentou uma menor resposta analítica devido à pronunciada corrente capacitiva apresentada. O biossensor contendo a quantidade adequada de LI foi selecionado para determinação de adrenalina em amostras farmacêuticas e apresentou uma faixa de trabalho de $9,89 \times 10^{-7}$ a $1,22 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de adrenalina com elevada detectabilidade (LD = $2,27 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹).⁹¹

Também foi obtida a enzima peroxidase de tecido vegetal de pinhão (*Araucaria angustifolia*), homogeneizado em quitosana reticulada ionicamente com citrato para o desenvolvimento de um biossensor de pasta de carbono contendo LI bis(trifluorometilsulfonyl) imida de 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.NTf₂) para determinação de ácido rosmarínico em extrato de plantas. Esse biossensor, proposto por Maguerroski et al.,⁹² foi usado para investigar o comportamento eletroquímico do ácido rosmarínico através de voltametria de onda quadrada e comparado a um eletrodo de pasta de carbono não modificado. A maior resposta foi observada para o biossensor contendo o BMI.NTf₂, confirmando as qualidades relatadas na literatura para este aglutinante.

Biossensores contendo lacase do fungo *Aspergillus oryzae* e LI BMI.PF₆ ou BMI.BF₄ foram construídos para a determinação de ácido rosmarínico em extrato de melissa (*Melissa officinalis* L.). O biossensor contendo BMI.PF₆ apresentou uma maior resposta para a redução da *o*-quinona do ácido rosmarínico quando comparado com a corrente de redução do biossensor contendo BMI.BF₄. Uma razão plausível para a melhor estabilidade e condutividade do eletrodo contendo BMI.PF₆ seria a presença do contra íon hidrofóbico (PF₆⁻), sendo que o íon BF₄⁻ é instável em soluções aquosas devido ao seu caráter hidrofílico.⁹³

O comportamento eletroquímico da adrenalina também foi investigado em biossensores contendo enzima lacase (*Aspergillus oryzae*) utilizando proporções de LI (BMI.NTf₂ ou BMI.PF₆) e nujol como aglutinante. Os LI facilitaram efetivamente a transferência de elétrons na superfície do biossensor e melhoraram a sensibilidade na determinação desta catecolamina em amostras injetáveis. Nesse estudo o ânion NTf₂⁻ é preferível como contra-íon para o cátion dialquilimidazólio por ser menos viscoso, mais estável em água, possuir boa condutividade eletroquímica e maior janela de potencial em soluções aquosas. Esse biossensor, proposto por Franzoi e colaboradores,⁹⁴ apresentou características analíticas favoráveis como alta sensibilidade, ampla faixa linear de calibração, baixo limite de detecção, resposta rápida, boa reprodutibilidade e estabilidade.

Biossensores contendo LI hidrofóbicos derivados do ânion NTf₂⁻ associado com três cátions imidazólio diferentes: 1-butil-3-metilimidazólio (BMI.NTf₂), 1-decil-3-metilimidazólio (DMI.NTf₂) e 1-tetradecil-3-metilimidazólio (TDMI.NTf₂), juntamente com lacase de *Aspergillus oryzae*, foram construídos e otimizados pelo nosso grupo para a determinação da rutina, conforme observado na Figura

3. A corrente de pico catódica da rutina aumentou de forma linear nos intervalos de concentração de $4,77 \times 10^{-6}$ a $4,62 \times 10^{-5}$, $5,84 \times 10^{-6}$ a $5,36 \times 10^{-5}$ e $5,84 \times 10^{-6}$ a $5,36 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ utilizando o (b) BMI.NTf₂-lacase, (c) DMI.NTf₂-lacase e (d) TDMI.NTf₂-lacase, respectivamente. Neste estudo o biossensor contendo BMI.NTf₂ apresentou maior resposta para a redução da *o*-quinona em um potencial de +0,31 V quando comparado com DMI.NTf₂-lacase e TDMI.NTf₂-lacase. Esse comportamento mostra que a estrutura do LI (comprimento da cadeia *N*-alquílica) é inversamente proporcional à condutividade, ou seja, o biossensor de TDMI.NTf₂ [(C_nMI)⁺, onde n=14 átomos de carbono] fornece a menor resposta para rutina.⁹⁵

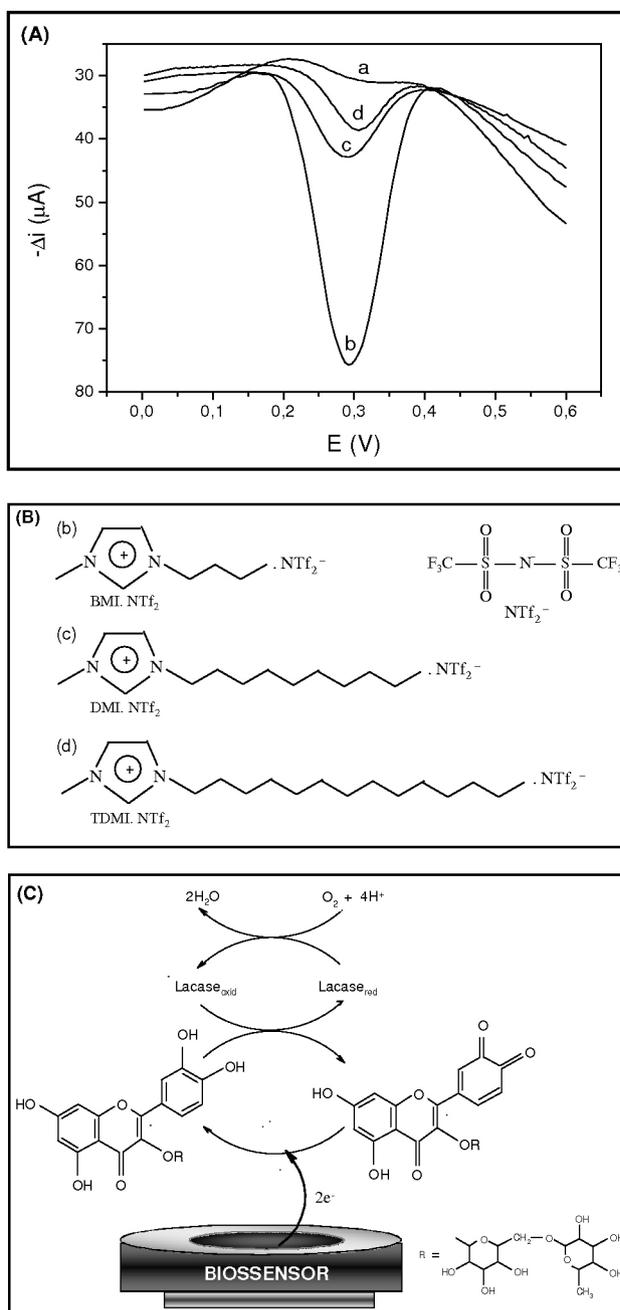


Figura 3. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos usando (a) EPC não modificado, (b) BMI.NTf₂-lacase, (c) DMI.NTf₂-lacase, (d) TDMI.NTf₂-lacase contendo $3,60 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ rutina em solução tampão acetato (0,1 mol L⁻¹; pH 5,0) e (B) estrutura dos LI derivados do ânion NTf₂⁻: BMI.NTf₂, DMI.NTf₂ e TDMI.NTf₂. (C) Reação de oxidação/redução da rutina na superfície dos biossensores

SENSORES CONSTRUÍDOS COM NANOPARTÍCULAS METÁLICAS E LÍQUIDOS IÔNICOS

Devido às propriedades químicas e eletrônicas únicas das nanopartículas metálicas (por exemplo, alta atividade catalítica e estabilidade química), elas têm representado um enorme potencial científico e tecnológico e têm atraído o interesse de pesquisadores de diversas áreas,⁹⁶ tais como catálise, fotocatálise, eletrônica, óptica e aplicações magnéticas.⁹⁷ Por isto, a síntese controlada e reprodutível de nanopartículas metálicas estáveis e definidas é de suma importância.⁹⁸

A alta atividade cinética das nanopartículas metálicas está relacionada à sua pequena dimensão (especialmente as partículas com diâmetro de 1-10 nm), promovendo maior interação com o substrato. No entanto, as nanopartículas são instáveis quando não se encontram estabilizadas e tendem a se aglomerar.⁹⁹ Os principais métodos utilizados para a estabilização de nanopartículas metálicas em solução envolvem proteção eletrostática ou estérica usando, por exemplo, polímeros solúveis em água, sais de amônio quaternário, surfactantes ou polioxoânions.¹⁰⁰

O emprego de LI para a síntese de nanopartículas emergiu como um novo interesse no campo da Química Verde. Materiais nanoestruturados têm sido sintetizados usando LI como eletrólitos verdes.³⁸ Além disso, devido às suas propriedades químicas e estruturais, LI surgiram como potenciais meios para a síntese de nanopartículas de metais de transição.³⁶ Isto é devido à adaptabilidade e flexibilidade únicas dos LI que nos fornecem uma nova e poderosa ferramenta para a fabricação de sofisticadas nanoestruturas através de abordagens químicas. O desenvolvimento recente da síntese de nanomateriais inorgânicos em LI mostra claramente que estes sais acrescentam grande valor para a área de nanomateriais inorgânicos. O desenvolvimento e a aplicação dos LI para a concepção e produção desses diferentes nanomateriais vêm beneficiando a comunidade científica.³⁷

Dupont e seus colaboradores¹⁰⁰ demonstraram que líquidos iônicos derivados do 1-*n*-butil-3-metilimidazólio são um meio excelente para a síntese e estabilização de nanopartículas de metais de transição. Esses LI produzem uma proteção eletrônica e estérica em torno das nanopartículas evitando sua agregação e decomposição, de modo que nenhuma molécula extra ou solvente orgânico seja necessária para estabilizá-las. Isso ocorre devido aos LI possuírem uma estrutura polimérica formada por interações fracas.^{36,101,102} Em adição, nos LI imidazólios (que têm baixíssima pressão de vapor) o tamanho e a forma das nanopartículas metálicas podem ser analisados por técnicas como a microscopia eletrônica de transmitância (MET).¹⁰³ Essas nanopartículas de metais de transição são estáveis no LI e têm boa atividade catalítica em diferentes tipos de reações químicas e podem ser aplicadas em catálises, sem a necessidade de um procedimento de ativação.^{104,105} Além disso, algumas reações catalisadas por nanopartículas exibem um padrão de seletividade desejado, mas não usual, quando realizadas em LI. Essas vantagens, juntamente com a intrínseca natureza verde dos LI, tornam esse campo atraente para se explorar.¹⁰⁶

A nanotecnologia também está revolucionando o desenvolvimento de sensores eletroquímicos.¹⁰⁷ A tecnologia das nanopartículas metálicas traz muitas possibilidades para a construção de biossensores e para o desenvolvimento de novos bioensaios eletroquímicos.¹⁰⁸ Os vários tipos de nanopartículas de diferentes tamanhos e composições estão disponíveis para facilitar suas aplicações nos mais variados tipos de biossensores.¹⁰⁹ Combinando biomoléculas com nanoestruturas pode-se produzir biointerfaces nanoestruturadas com propriedades e funções sinérgicas.¹¹⁰ Além disso, nanopartículas de metais podem ser utilizadas para aumentar a quantidade de biomoléculas imobilizadas na construção de um sensor.¹⁰⁷ O recente interesse na investigação do campo bioeletroquímico é focado no *design* avançado e preparação

dessas biointerfaces potenciais, bem como no entendimento fundamental dos processos bioeletroquímicos interfaciais dentro desses sistemas. Muitas nanoestruturas, especialmente as nanopartículas de metais de transição, têm excelentes propriedades catalíticas. Essas propriedades podem diminuir os altos potenciais de muitas reações bioeletroquímicas analiticamente importantes e até realizar a reversibilidade de algumas reações redox que são irreversíveis em eletrodos não modificados.¹¹⁰

Novos nanomateriais e nanoestruturas precisam ser explorados para uso em biossensores. Preferencialmente, os biossensores baseados em nanotecnologia poderão ser integrados dentro de biochips para manipulação e análise de amostras. Isso aumentará bastante a funcionalidade, através de dispositivos que são pequenos, portáteis, de fácil utilização, de baixo custo, descartáveis, e instrumentos de diagnósticos altamente versáteis.¹⁰⁷

Com base neste contexto, nosso grupo de pesquisa vem utilizando materiais desenvolvidos por Dupont e colaboradores para o desenvolvimento de biossensores de pasta de carbono como mostrado a seguir: Brondani *et al.*³⁹ produziram um biossensor baseado em nanopartículas de platina dispersas em LI BMI.PF₆ (Pt-BMI.PF₆) e a enzima lacase (*A. oryzae*) para determinação de adrenalina em formulações farmacêuticas. As técnicas de voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada foram usadas para avaliar o processo e quantificar a adrenalina. A adição de Pt-BMI.PF₆ no biossensor levou a um aumento na sensibilidade, provavelmente devido à alta condutividade do LI combinado com a transferência de elétrons facilitada pelas nanopartículas do metal. Assim, este biossensor demonstrou também seletividade apropriada, resposta rápida e boa reprodutibilidade e estabilidade.

Fernandes *et al.*⁴⁰ elaboraram um biossensor contendo LI BMI.PF₆ com nanopartículas de irídio. Nesse biossensor foi utilizada a enzima polifenol oxidase de fruta do conde imobilizada em quitosana ionicamente reticulada com oxalato de sódio. A Figura 4 mostra o esquema proposto para a imobilização adequada da polifenol oxidase no suporte biocompatível, juntamente com a “esfera protetora” formada pelo Ir-BMI.PF₆. O microambiente favorável formado em

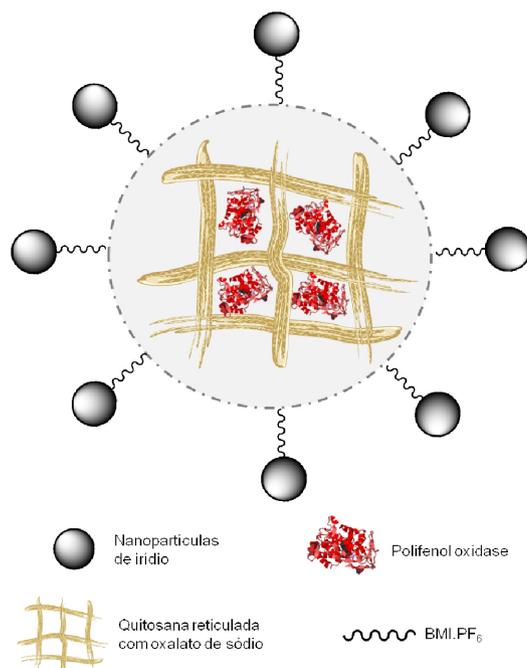


Figura 4. Esquema representativo da imobilização da enzima polifenol oxidase em quitosana reticulada com oxalato e a “esfera protetora” formada pelo líquido iônico contendo nanopartículas metálicas (Ir-BMI.PF₆)

Tabela 2. Biossensores de pasta de carbono contendo nanopartículas metálicas e LI

Biocomponente	LI	Nanopartícula	Ref.
Lacase	Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	Pt	39
Polifenol oxidase	Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	Ir	40
Hemoglobina	Etilsulfato de 1-etil-3-metilimidazólio	Au	41
Hemoglobina	Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	CdS	68
Lacase	Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	Ag e Au	111
Lacase	Bis(trifluorometilsulfonil)imida de 1-butil-3-metilimidazólio	Ag	112
Mioglobina	Tetrafluorborato de 1-etil-3-metilimidazólio	Co	113
DNA	Hexafluorofosfato de hexilpiridínio	V ₂ O ₅	114
Mioglobina	Brometo de 1-decil-3-metilimidazólio	Fe ₂ O ₃	115
α-Fetoproteína	Hexafluorofosfato de butilpiridínio	Au	116
Hemoglobina	Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	ZnO	117

torno da enzima torna esse método eficiente para a manutenção da estabilidade e do tempo de vida útil dessa biomolécula. O biossensor proposto foi empregado na determinação de ácido clorogênico em amostras de café descafeinado e café orgânico, e os resultados obtidos foram concordantes com o método de eletroforese capilar.

Franzoi e coautores¹¹¹ empregaram o LI BMI.PF₆ com nanopartículas de prata ou ouro na construção de biossensores para luteolina. Nestes biossensores foi utilizada a enzima lacase de *A. oryzae* imobilizada em quitosana reticulada quimicamente com cloreto cianúrico. Estes biossensores demonstraram suficiente sensibilidade para determinação de luteolina em amostras de chá de camomila. Mais uma vez, a inerente condutividade das nanopartículas metálicas dispersas em LI aliadas à enzima lacase imobilizada em quitosana covalentemente reticulada mostraram-se um excelente elemento na composição destes novos biossensores.

Franzoi e colaboradores¹¹² desenvolveram também um biossensor para determinação de quercetina, onde a enzima lacase foi imobilizada sobre ciclodextrina modificada com epiclorigrina e incorporada numa pasta de carbono com LI BMI.NTf₂ contendo nanopartículas de prata. A presença das nanopartículas de prata em LI como aglutinante na pasta de carbono aumentou a sensibilidade do biossensor e acredita-se ser também responsável pela estabilização da lacase imobilizada e reforço da transferência de elétrons na superfície do biossensor.

Além da utilização das nanopartículas dispersas em LI, elas também são usadas de várias outras maneiras juntamente com LI na construção de biossensores. Como exemplo, podemos citar o trabalho de Sun et al.⁴¹ que fabricaram um eletrodo de pasta de carbono com LI BMI.BF₄, no qual uma camada de nanopartículas de ouro foi eletrodepositada na sua superfície. Então, hemoglobina foi imobilizada sobre o eletrodo através de um filme de nafion. Os resultados experimentais indicaram que o processo de transferência direta de elétrons foi realizado sobre o eletrodo modificado, comprovando as vantagens das nanopartículas de ouro no sensor. Sun e coautores¹¹³ também construíram um biossensor baseado em uma pasta de carbono modificada com o LI EMI.BF₄ onde foram eletrodepositadas nanopartículas de cobalto. Em seguida, um filme de nafion foi utilizado para fixar mioglobina sobre a superfície do sensor. A eletroquímica direta da mioglobina no filme compósito foi atribuída à combinação sinérgica das nanopartículas de cobalto e do LI sobre a superfície do eletrodo. Sun e colaboradores¹¹⁴ produziram um biossensor de DNA, no qual nanofitas de óxido de vanádio, nanotubos de carbono, quitosana e o LI hexafluorofosfato de hexilpiridínio (HPy.PF₆) foram utilizados para a modificação da pasta de carbono. O uso de quitosana no compósito pode aumentar a estabilidade do filme na superfície do eletrodo, ao mesmo tempo em que os nanomateriais presentes no filme podem for-

mar uma estrutura porosa que fornece uma interface melhorada para a imobilização da sonda de DNA simples fita, aumentando a quantidade de DNA adsorvido na superfície do eletrodo. Essas vantagens aliadas à alta condutividade da pasta de carbono com LI resultou no correspondente aumento das respostas eletroquímicas. O biossensor desenvolvido foi aplicado para a detecção de uma sequência específica do gene de *Yersinia enterocolitica* obtida por amplificação circular isotérmica (*loop mediated isothermal amplification* – LAMP), com resultados satisfatórios, sugerindo que o biossensor tem potencial para a detecção da sequência de genes específicos.

A Tabela 2 mostra diversos biossensores desenvolvidos que utilizaram em sua composição LI e nanopartículas metálicas.^{39-41,68,111-117}

Além de biossensores, outros sensores foram desenvolvidos a partir de eletrodos de pasta de carbono modificados com LI e nanopartículas metálicas. Brondani e colaboradores¹¹⁸ desenvolveram um sensor de pasta de carbono que contém o complexo binuclear de níquel(II) ([Ni₂(HBPPAMFF)m-(OAc)₂(H₂O)]BPh₄) imobilizado sobre sílica funcionalizada. Juntamente ao complexo, foram incorporados na pasta de carbono nanopartículas de ouro dispersas em LI (Au-BMI.PF₆). O sensor otimizado foi então aplicado para determinação de fisetina em amostras de sucos de maçã. A eficiente performance analítica do sensor proposto foi atribuída à imobilização efetiva do complexo de níquel sobre sílica e à alta condutividade do LI combinada com a transferência de elétrons facilitada pelas partículas metálicas em escala nanométrica. Na Tabela 3, apresentamos esse e outros eletrodos de pasta de carbono modificados que têm como componentes LI e nanopartículas metálicas, juntamente com os analitos que foram utilizados.¹¹⁸⁻¹²²

Tabela 3. Eletrodos de pasta de carbono modificados com nanopartículas metálicas e LI

LI	Nanopartícula	Analito	Ref.
Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio	Au	Fisetina	118
Hexafluorofosfato de octilpiridínio	Ni(OH) ₂	Glicose	119
Hexafluorofosfato de octilpiridínio	Pd	Hidrazina	120
Hexafluorofosfato de octilpiridínio	Pd	Oxigênio	121
Hexafluorofosfato de octilpiridínio	Pd	Formaldeído	122

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O desenvolvimento de metodologias que permitam a detecção e quantificação de substâncias em níveis de concentração cada vez

menores é o grande desafio enfrentado atualmente pelos químicos analíticos, justificando o expressivo interesse na construção de dispositivos de análise empregando novos materiais tecnológicos. No contexto da eletroanalítica, os LI surgem como promissores compostos de múltiplas aplicações, devido às suas propriedades físicas e químicas únicas, resultado da peculiar organização estrutural destes sais fundidos. Dentre essas aplicações, destaca-se o uso de LI como aglutinante na modificação de eletrodos à base de pasta de carbono para o desenvolvimento de sensores e biossensores com alto desempenho analítico, visando principalmente um aumento de sensibilidade e estabilidade. Os resultados satisfatórios reportando o uso de LI em eletrodos contribuem para previsões cada vez mais otimistas da possibilidade de construção de sensores com elevada sensibilidade, reprodutibilidade e que forneçam resultados confiáveis aos níveis de concentração requeridos para as amostras analisadas.

As tendências futuras para a incorporação de LI em sensores e biossensores concentram-se no desenvolvimento de dispositivos seletivos, sensíveis, rápidos e portáteis (inclusive em micro e nano escala). A construção desses detectores visa a realização de análises *in situ* e em tempo real para monitoramento de poluentes, controle de qualidade de alimentos e fármacos, bem como ensaios biomédicos sem a necessidade de transporte das amostras para um laboratório de análise. Em adição, a compilação das propriedades dos LI com os avanços da nanociência, biotecnologia e computação em uma única interface de reconhecimento possibilita a detecção dos mais diversos analitos com excelente sensibilidade. Além de oferecer uma infinidade de opções e desafios na busca de futuras soluções para diagnósticos de problemas ambientais e clínicos a respeito não somente da saúde humana, mas também de todos os organismos vivos.

REFERÊNCIAS

- Consorti, C. S.; de Souza, R. F.; Dupont, J.; Suarez, P. A. Z.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 830.
- Yang, Z.; Pan, W.; *Enzyme Microb. Technol.* **2005**, *37*, 19.
- Earle, M. J.; Seddon, K. R.; *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1391.
- Anderson, J. L.; Armstrong, D. W.; Wei, G. T.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 2892.
- Yoke III, J. T.; Weiss, J. F.; Tollin, G.; *Inorg. Chem.* **1963**, *2*, 1210.
- Swain, C. G.; Ohno, A.; Roe, D. K.; Brown, R.; Maugh, T.; *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2648.
- Chum, H. L.; Koch, V. R.; Miller, L. L.; Osteryoung, R. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 3264.
- Gale, R. J.; Gilbert, B.; Osteryoung, R. A.; *Inorg. Chem.* **1978**, *17*, 2728.
- Robinson, J.; Osteryoung, R. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 323.
- Wilkes, J. S.; Levisky, J. A.; Wilson, R. A.; Hussey, C. L.; *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 1263.
- Wilkes, J. S.; Zaworotko, M. J.; *J. Chem. Soc.: Chem. Commun.* **1992**, 965.
- Wei, D.; Ivaska, A.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *607*, 126.
- Seddon, K. R.; Stark, A.; Torres, M. J.; *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 2275.
- Buzzeo, M. C.; Evans, R. G.; Compton, R. C.; *Chem. Phys. Chem.* **2004**, *5*, 1106.
- Yoshida, Y.; Baba, O.; Saito, G.; *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 4742.
- Sharifi, A.; Barazandeh, M.; Abaee, M. S.; Mirzaei, M.; *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 1852.
- Moniruzzaman, M.; Nakashima, K.; Kamiya, N.; Goto, M.; *Biochem. Eng. J.* **2010**, *48*, 295.
- Olivier-Bourbigou, H.; Magna, L.; Morvan, D.; *Appl. Catal. A* **2010**, *373*, 1.
- Zlotin, S. G.; Makhova, N. N.; *Mendeleev Commun.* **2010**, *20*, 63.
- Stracke, M. P.; Migliorini, M. V.; Lissner, E.; Schrekker, H. S.; Dupont, J.; Gonçalves, R. S.; *Appl. Energy* **2009**, *86*, 1512.
- Guerfi, A.; Dontigny, M.; Charest, P.; Petitclerc, M.; Lagacé, M.; Vijn A.; Zaghbi, K.; *J. Power Sources* **2010**, *195*, 845.
- Saruwatari, H.; Kuboki, T.; Kishi, T.; Mikoshiba, S.; Takami, N.; *J. Power Sources* **2010**, *195*, 1495.
- Sun, G.; Li, K.; Sun, C.; *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, *128*, 56.
- Xu, B.; Wu, F.; Chen, R.; Cao, G.; Chen, S.; Yang, Y.; *J. Power Sources* **2010**, *195*, 2118.
- Andriyko, Y.; Andriiko, A.; Babushkina, O. B.; Nauer, G. E.; *Electrochim. Acta* **2010**, *55*, 1081.
- Sun, P.; Armstrong, D. W.; *Anal. Chim. Acta* **2010**, *661*, 1.
- Chiarotto, I.; Feeney, M. M. M.; Feroci, M.; Inesi, A.; *Electrochim. Acta* **2009**, *54*, 1638.
- Yao, C.; Anderson, J. L.; *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 1658.
- Ghilane, J.; Martin, P.; Fontaine, O.; Lacroix, J.-C.; Randriamahazaka, H.; *Electrochem. Commun.* **2008**, *10*, 1060.
- Liu, H.-T.; He, P.; Li, Z.-Y.; Sun, C.-N.; Shi, L.-H.; Liu, Y.; Zhu, G.-Y.; Li, J.-H.; *Electrochem. Commun.* **2005**, *7*, 1357.
- Shul, G.; Sirieix-Plenet, J.; Gaillon, L.; Opallo, M.; *Electrochem. Commun.* **2006**, *8*, 1111.
- ShangGuan, X.; Zhang, H.; Zheng, J.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *391*, 1049.
- Ding, C.; Zhang, M.; Zhao, F.; Zhang, S.; *Anal. Biochem.* **2008**, *378*, 32.
- Wei, D.; Ivaska, A.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *607*, 126.
- Li, X.; Zhao, R.; Wang, Y.; Sun, X.; Sun, W.; Zhao, C.; Jiao, K.; *Electrochim. Acta* **2010**, *55*, 2173.
- Fonseca, G. S.; Umpierre, A. P.; Fichtner, P. F. P.; Teixeira, S. R.; Dupont, J.; *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 3263.
- Li, Z.; Jia, Z.; Luan, Y.; Mu, T.; *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **2008**, *12*, 1.
- Tsai, T.-H.; Thiagarajan, S.; Chen, S.-M.; *Electroanalysis* **2010**, *22*, 680.
- Brondani, D.; Scheeren, C. W.; Dupont, J.; Vieira, I. C.; *Sens. Actuators, B* **2009**, *140*, 252.
- Fernandes, S. C.; Mocolini, S. K.; Scheeren, K. S.; Migowski, P.; Dupont, J.; Heller, M.; Micke, G. A.; Vieira, I. C.; *Talanta* **2009**, *79*, 222.
- Sun, W.; Qin, P.; Zhao, R.; Jiao, R.; *Talanta* **2010**, *80*, 2177.
- Adams, R. N.; *Anal. Chem.* **1958**, *30*, 1576.
- Crespilho, F. N.; Rezende, M. O. O.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 964.
- Gorton, L.; *Electroanalysis* **1995**, *7*, 23.
- Švancara, I.; Vytřas, K.; Kalcher, K.; Walcarius, A.; Wang, J.; *Electroanalysis* **2009**, *21*, 7.
- Švancara, I.; Walcarius, A.; Kalcher, K.; Vytřas, K.; *Cent. Eur. J. Chem.* **2009**, *7*, 598.
- Agüf, L.; Yáñez-Sedeño, P.; Pingarrón, J. M.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *622*, 11.
- Pereira, A. C.; Santos, A. S.; Kubota, L. T.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 1012.
- Zhang, X.; Guo, Q.; Cui, D.; *Sensors* **2009**, *9*, 1033.
- Baker, G. A.; Baker, S. N.; Pandey, S.; Bright, F. V.; *Analyst* **2005**, *130*, 800.
- Pandey, S.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *556*, 38.
- Maleki, N.; Safavi, A.; Tajabadi, F.; *Electroanalysis* **2007**, *19*, 2247.
- Musameh, M.; Wang, J.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *606*, 45.
- Musameh, M. M.; Kachoosangi, R. T.; Compton, R. G.; *Analyst* **2008**, *133*, 133.
- Maleki, N.; Safavi, A.; Sedaghati, F.; Tajabadi, F.; *Anal. Biochem.* **2007**, *369*, 149.
- Maleki, N.; Safavi, A.; Tajabadi, F.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 3820.
- Safavi, A.; Maleki, N.; Moradlou, O.; Tajabadi, F.; *Anal. Biochem.* **2006**, *359*, 224.
- Safavi, A.; Maleki, N.; Honarasa, F.; Tajabadi, F.; Sedaghatpour, F.; *Electroanalysis* **2007**, *19*, 582.

59. Safavi, A.; Maleki, N.; Tajabadi, F.; *Analyst* **2007**, *132*, 54.
60. Safavi, A.; Maleki, N.; Moradlou, O.; Sorouri, M.; *Electrochem. Commun.* **2008**, *10*, 420.
61. Sun, W.; Yang, M.-X.; Gao, R.-F.; Jiao, K.; *Electroanalysis* **2007**, *19*, 1597.
62. Sun, W.; Wang, D.-D.; Gao, R.-F.; Jiao, K.; *Electrochem. Commun.* **2007**, *9*, 1159.
63. Sun, W.; Gao, R.-F.; Jiao, K.; *J. Phys. Chem. B* **2007**, *111*, 4560.
64. Sun, W.; Yang, M.-X.; Jiao, K.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389*, 1283.
65. Sun, W.; Li, Y.-Z.; Yang, M.-X.; Liu, S.-F.; Jiao, K.; *Electrochem. Commun.* **2008**, *10*, 298.
66. Sun, W.; Jiang, Q.; Yang, M.; Jiao, K.; *Bull. Korean Chem. Soc.* **2008**, *29*, 915.
67. Sun, W.; Li, Y.; Yang, M.; Li, J.; Jiao, K.; *Sens. Actuators, B* **2008**, *133*, 387.
68. Sun, W.; Wang, D.; Li, G.; Zhai, Z.; Zhao, R.; Jiao, K.; *Electrochim. Acta* **2008**, *53*, 8217.
69. Sun, W.; Yang, M.; Li, Y.; Jiang, Q.; Liu, S.; Jiao, K.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2008**, *48*, 1326.
70. Sun, W.; Jiang, Q.; Wang, Y.; Jiao, K.; *Sens. Actuators, B* **2009**, *136*, 419.
71. Sun, W.; Li, X.; Wang, Y.; Zhao, R.; Jiao, K.; *Electrochim. Acta* **2009**, *54*, 4141.
72. Sun, W.; Li, X.; Wang, Y.; Li, X.; Zhao, C.; Jiao, K.; *Bioelectrochemistry* **2009**, *75*, 170.
73. Zheng, J.; Zhang, Y.; Yang, P.; *Talanta* **2007**, *73*, 920.
74. Li, J.; Huang, M.-H.; Liu, X.-Q.; Wei, H.; Xu, Y.-H.; Xu, G.-B.; Wang, E.-K.; *Analyst* **2007**, *132*, 687.
75. Li, Y.; Liu, X.; Zeng, X.; Liu, Y.; Liu, X.; Wei, W.; Luo, S.; *Sens. Actuators, B* **2009**, *139*, 604.
76. Zhang, Y.; Zheng, J. B.; *Electrochim. Acta* **2007**, *52*, 7210.
77. Zhang, Y.; Zheng, J. B.; *Talanta* **2008**, *77*, 325.
78. Chernyshov, D. V.; Shvedene, N. V.; Antipova, E. R.; Pletnev, I. V.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *621*, 178.
79. Huang, K.-J.; Sun, J.-Y.; Niu, D.-J.; Xie, W.-Z.; Wang, W.; *Colloids Surf., B* **2010**, *78*, 69.
80. Ji, H.; Zhu, L.; Liang, D.; Liu, Y.; Cai, L.; Zhang, S.; Liu, S.; *Electrochim. Acta* **2009**, *54*, 7429.
81. Lei, Y.; Chen, W.; Mulchandani, A.; *Anal. Chim. Acta* **2006**, *568*, 200.
82. Fatibello-Filho, O.; Capelato, M. D.; *Quim. Nova* **1991**, *15*, 28.
83. Lu, X.; Zhang, Q.; Zhang, L.; Li, J.; *Electrochem. Commun.* **2006**, *8*, 874.
84. Sun, W.; Wang, D.; Zhong, J.; Jiao, K.; *J. Solid State Electrochem.* **2008**, *12*, 655.
85. Sun, W.; Li, X.; Zhai, Z.; Jiao, K.; *Electroanalysis* **2008**, *20*, 2649.
86. Hui, N.; Gao, R.-F.; Li, X.-Q.; Sun, W.; Jiao, K.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, *20*, 252.
87. Sun, W.; Gao, R.-F.; Li, X.-Q.; Wang, D.; Yang, M.; Jiao, K.; *Electroanalysis* **2008**, *20*, 1048.
88. Shanguan, X.; Zhang, H.; Zheng, J.; *Electrochem. Commun.* **2008**, *10*, 1140.
89. Vieira, I. C.; Fatibello-Filho, O.; Granato, A. C.; Lupetti, K. O.; *Eclat. Quim.* **2004**, *29*, 7.
90. Fatibello-Filho, O.; Vieira, I. C.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 455.
91. Brondani, D.; Dupont, J.; Spinelli, A.; Vieira, I. C.; *Sens. Actuators, B* **2009**, *138*, 236.
92. Maguerroski, K. S.; Fernandes, S. C.; Franzoi, A. C.; Vieira, I. C.; *Enzyme Microb. Technol.* **2009**, *44*, 400.
93. Franzoi, A. C.; Dupont, J.; Spinelli, A.; Vieira, I. C.; *Talanta* **2009**, *77*, 1322.
94. Franzoi, A. C.; Vieira, I. C.; Dupont, J.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 1451.
95. Franzoi, A. C.; Migowski, P.; Dupont, J.; Vieira, I. C.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *639*, 90.
96. Kamat, P. V.; *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 7729.
97. Besson, C.; Finney, E. E.; Finke, R. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8179.
98. Krämer, J.; Redel, E.; Thomann, R.; Janiak, C.; *Organometallics* **2008**, *27*, 1976.
99. Aiken III, J. D.; Finke, R. G.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1999**, *145*, 1.
100. Dupont, J.; Fonseca, G. S.; Umpierre, A. P.; Fichtner, P. F. P.; Teixeira, S. R.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4228.
101. Dupont, J.; De Souza, R. F.; Suarez, P. A. Z.; *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 3667.
102. Migowski P.; Dupont, J.; *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 32.
103. Scheeren, C. W.; Machado, G.; Dupont, J.; Fichtner, P. F. P.; Teixeira, R. S.; *Inorg. Chem.* **2003**, *42*, 4738.
104. Schrekker, H. S.; Gelesky, M. A.; Stracke, M. P.; Schrekker, C. M. L.; Machado, G.; Teixeira, S. R.; Rubim, J. C.; Dupont, J.; *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, *316*, 189.
105. Bruss, A. J.; Gelesky, M. A.; Machado, G.; Dupont, J.; *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2006**, *252*, 212.
106. Yan, N.; Xiao, C.; Kou, Y.; *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 1179.
107. Jianrong, C.; Yuqing, M.; Nongyue, H.; Xiaohua, W.; Sijiao, L.; *Bio-technol. Adv.* **2004**, *22*, 505.
108. Pumera, M.; Sánchez, S.; Ichinose, I.; Tang, J.; *Sens. Actuators, B* **2007**, *123*, 1195.
109. Escosura-Muñiz, A.; Ambrosi, A.; Merkoçi, A.; *Trends Anal. Chem.* **2008**, *27*, 568.
110. Chen, D.; Wang, G.; Li, J.; *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 2351.
111. Franzoi, A. C.; Vieira, I. C.; Dupont, J.; Scheeren, C. W.; De Oliveira, L. F.; *Analyst* **2009**, *134*, 2320.
112. Franzoi, A. C.; Vieira, I. C.; Scheeren, C. W.; Dupont, J.; *Electroanalysis* **2010**, *22*, 1376.
113. Sun, W.; Li, X.; Qin, P.; Jiao, K.; *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 11294.
114. Sun, W.; Qin, P.; Hao, H.; Li, G.; Jiao, K.; *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *25*, 1264.
115. Zhan, T.; Xi, M.; Wang, Y.; Sun, W.; Hou, W.; *J. Colloid Interface Sci.* **2010**, *346*, 188.
116. Ding, C.; Zhao, F.; Ren, R.; Lin, J.-M.; *Talanta* **2009**, *78*, 1148.
117. Sun, W.; Zhai, Z. Q.; Wang, D. D.; Liu, S. F.; Jiao, K.; *Bioelectrochemistry* **2009**, *74*, 295.
118. Brondani, D.; Vieira, I. C.; Piovezan, C.; da Silva, J. M. R.; Neves, A.; Dupont, J.; Scheeren, C. W.; *Analyst* **2010**, *135*, 1015.
119. Safavi, A.; Maleki, N.; Farjami, E.; *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24*, 1655.
120. Maleki, N.; Safavi, A.; Farjami, E.; Tajabadi, F.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *611*, 151.
121. Safavi, A.; Maleki, N.; Tajabadi, F.; Farjami, E.; *Electrochem. Commun.* **2007**, *9*, 1963.
122. Safavi, A.; Maleki, N.; Farjami, F.; Farjami, E.; *J. Electroanal. Chem.* **2009**, *626*, 75.