



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

WESLEY BRUNO DA SILVA MACHINI

**APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA DE COMPLEXOS OXO-
MANGANÊS BIOMIMETIZADORES DE CENTROS ATIVOS
ENZIMÁTICOS NA DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE
ANALÍTICO**

**São José do Rio Preto
2015**

WESLEY BRUNO DA SILVA MACHINI

**APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA DE COMPLEXOS OXO-
MANGANÊS BIOMIMETIZADORES DE CENTROS ATIVOS
ENZIMÁTICOS NA DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE
ANALÍTICO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira

São José do Rio Preto
2015

Machini, Wesley Bruno da Silva.

Aplicação eletroanalítica de complexos oxo-manganês biomimetizadores de centros ativos enzimáticos na determinação de espécies de interesse analítico / Wesley Bruno da Silva Machini. -- São José do Rio Preto, 2015

127 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Marcos Fernando de Souza Teixeira

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Química analítica. 2. Eletroquímica. 3. Eletrodos. 4. Compostos de manganês. 5. Detectores eletroquímicos. I. Teixeira, Marcos Fernando de Souza. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 541.13

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

WESLEY BRUNO DA SILVA MACHINI

**APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA DE COMPLEXOS OXO-
MANGANÊS BIOMIMETIZADORES DE CENTROS ATIVOS
ENZIMÁTICOS NA DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE
ANALÍTICO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira
UNESP – Presidente Prudente
Orientador

Prof. Dr. André Luiz dos Santos
UFU – Ituiutaba

Prof^a. Dr^a. Ivana Cesarino
UNESP – Botucatu

São José do Rio Preto
17 de abril de 2015

DEDICATÓRIA

Aos meus pais José Maurício e Juvenil, exemplos de amor incondicional, honestidade e dedicação, a minha irmã Beatriz, que me incentiva a ser melhor, e a minha avó Noélia (*in memoriam*), que mesmo tendo partido antes do combinado se faz presente sempre em minha vida, dedico mais essa etapa vitoriosa. O sonho que sonhamos juntos!

AGRADECIMENTOS

Mais uma etapa está por se findar e eu não poderia deixar de agradecer a todos aqueles que fizeram parte. Sendo assim, agradeço:

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pelo discernimento a cada nova decisão, pela sabedoria semeada a cada estudo e pela paciência a cada intempérie.

À minha família, em especial aos meus pais, José Maurício e Juvenil que, mesmo pouco sabendo de Química ou da importância de um artigo, me apoiam, incentivam e vibram a cada conquista e, principalmente, propiciam-me a melhor educação possível, à minha irmã Beatriz, pelas conversas, apoio e entusiasmo, e ao Augusto, por ter me acolhido em sua vida como família, oportunizando que eu aprendesse, para além da ciência, o significado de amor, amizade, companheirismo, cumplicidade e paciência.

Ao Prof. Dr. Marcos Fernando de Souza Teixeira, pela orientação ao decorrer dos seis anos de parceira, desde minha Iniciação Científica, e por ter compartilhado muito de seus conhecimentos em eletroquímica/eletroanalítica, os quais possibilitaram que eu me tornasse o cientista/pesquisador que hoje sou.

Ao Prof. Dr. Homero Marques Gomes, pelas contribuições como minha banca de qualificação e pelas inúmeras discussões no decorrer deste trabalho, além do exemplo de profissionalismo, sempre com prontidão, respeito, paciência e dedicação.

À Profa. Dra. Ana Maria Pires, pelas contribuições e discussões como minha banca de qualificação, pelos auxílios, carinho e atenção. Também, ao Laboratório de Luminescência em Materiais e Sensores, principalmente ao Airton, pelas medidas de luminescência.

Ao Prof. Dr. André Luiz dos Santos e à Profa. Dra. Ivana Cesarino por terem aceitado o convite e por todas as estimadas colaborações como membros da banca de Defesa.

Aos professores que participaram da minha graduação e pós-graduação em Química na FCT/UNESP e fizeram com que eu aprendesse para além da vida profissional. Aos docentes, técnicos e funcionários do Departamento de Física, Química e Biologia da FCT/UNESP, em especial ao Murillo, à Juvanir e à D. Margarida, por todo auxílio e atenção. Também, ao Escritório de Pesquisa da FCT/UNESP, sobretudo à Tamae, por toda atenção, auxílio e pronta disponibilidade.

Aos meus amigos do Grupo de Pesquisa em Eletroanalítica e Sensores (GPES), Amanda, André, Cafer, Danielle, Diego, Kaio, Nátaly e Tone, por terem contribuído de alguma forma para meu crescimento científico e pessoal, pelas conversas, risadas e comemorações, e ainda mais a aqueles que me deram a oportunidade de coorientá-los. Não

deixaria de mencionar a Profa. Dra. Patrícia que, com muito carinho e alegria, sempre me recebeu em sua casa para os momentos de descontração.

Também, aos companheiros que passaram pelo GPES e deixaram além de suas histórias, ensinamentos e contribuições científicas em minha vida: Codorna, Denilson, Paulo, Ranulfo, entre outros. Em especial, às minhas amigas de coração Camila Proença e Thaísa, por toda amizade, carinho, respeito e incansável apoio nos momentos difíceis.

Ao meu amigo e irmão de república, mestrado e vida, Tone, com quem pude aprender a compartilhar não só um espaço em um apartamento, mas também um espaço no coração, sempre com muito carinho, cumplicidade e respeito, os quais propiciaram ocasiões e sentimentos que levarei para sempre comigo e jamais poderão ser dispersos ainda que o tempo passe.

Aos amigos que fiz durante o mestrado, em especial, as vizinhas e agregadas mais fantásticas de todas, Carol, Edilene e Malu, pelos jantares e saídas de sábado, assim como os incríveis almoços de domingo.

Às minhas amigas e irmãs de coração do período de graduação em Química por terem participado, umas mais, outras menos, desta nova etapa: Cá, Flá, Nati, Tali, e principalmente, Dani, as quais serei sempre grato por todos os memoráveis momentos que vivemos ao longo destes sete anos juntos. Também, ao meu grande amigo e irmão Diego, por todo apoio, amizade, cumplicidade e incansáveis alegrias compartilhadas.

Aos meus amigos de longa data que, souberam compreender minha ausência e mesmo assim continuaram a me amar e me respeitar como sempre: Cássio, Dessa, Helda, Maila e, especialmente, Pri.

Por fim, agradeço a FAPESP (2013/10469-6), por acreditar no potencial científico deste trabalho e apoiar seu desenvolvimento em todos os sentidos, especialmente no financeiro.

Além do sentimento de gratidão, expressei meu amor em seu sentido pleno e sublime a cada um de vocês. Hoje, partimos para uma nova etapa, uma nova história, um novo sonho... Mais uma vez, muito obrigado!

Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, e não tivesse amor, seria como o metal que soa ou como o sino que tine. E ainda que tivesse o dom de profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência, [...] e não tivesse amor, eu nada seria. Agora, pois, permanecem a fé, a esperança e o amor, estes três, porém o maior destes é o amor (1 Coríntios 13:1-2, 13).

RESUMO

Os complexos multinucleados de manganês têm ganhado notoriedade pela possibilidade de mimetizar o mecanismo do complexo de evolução de oxigênio do fotossistema II, além da grande importância catalítica com processos de transferência eletrônica de multietapas. Estas propriedades dos complexos multinucleados tornam interessante estudar os processos eletroquímicos em eletrodos modificados para aplicações como sensores químicos. Dessa forma, este trabalho de dissertação teve como objetivo sintetizar e caracterizar complexos oxo-manganês contendo diferentes ligantes ($[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ e $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$) buscando características estruturais, cinéticas e catalíticas semelhantes à complexos biomimetizadores de centros ativos enzimáticos para posterior aplicação eletroanalítica no desenvolvimento de sensores biomiméticos e determinação de espécies de interesse analítico. Primeiramente, os estudos com o complexo oxo-manganês-Schiff $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ deram-se através da síntese do ligante precursor *Salpn* e do complexo. Estes por sua vez foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de absorção na região do UV-Visível, Infravermelho e luminescência. Diferentes técnicas eletroquímicas foram utilizadas a fim de investigar e compreender qualitativamente o comportamento eletroquímico do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução. A construção de um eletrodo modificado baseado no $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ -Nafion[®]/Pt foi realizada, porém, os estudos eletroquímicos não se mostraram promissores, devido a perda de sinal analítico por consequência da baixa solubilidade do complexo na etapa de imobilização. Por fim, a atividade eletrocatalítica e biomimética do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução frente a redução de peróxido de hidrogênio pôde ser investigada com sucesso oportunizando importantes parâmetros cinéticos relacionados a biomimetização de centros ativos enzimáticos das enzimas *catalase* contendo manganês. O complexo oxo-manganês-fenantrolina $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ foi sintetizado e caracterizado por espectrofotometria de absorção na região do UV-Visível. Posteriormente, o complexo sintetizado foi utilizado na construção de um eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado. Estudos do comportamento eletroquímico do EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ foram realizados e, através destes, pôde-se avaliar e compreender os processos e mecanismos relacionados ao material investigado, para que pudesse então ser aplicado como sensor eletroquímico na determinação de uma substância utilizada no doping. O sensor eletroquímico baseado no EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ demonstrou propriedades eletrocatalíticas na eletrooxidação de acetazolamida, permitindo a detecção de baixos níveis e alta sensibilidade, além de características biomiméticas, as quais foram investigadas de acordo com o modelo de Michaelis-Menten. Por fim, a determinação de acetazolamida pelo sensor biomimético foi avaliada em três diferentes fluidos biológicos sintéticos (plasma, saliva e urina) com interesse na aplicação em amostras reais. A análise do controle de doping por ACTZ pelo EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em amostras de urina real mostrou-se viável, sugerindo uma nova e promissora plataforma a ser utilizada nestas análises.

Palavras-chave: Complexo oxo-manganês, Biomimetizador enzimático, Eletrodo modificado, Sensor biomimético, Sensor eletroquímico.

ABSTRACT

Multinucleate manganese complexes have gained notoriety due its ability to mimic the mechanism of oxygen evolution complex of photosystem II, besides the great catalytic importance with processes of electronic transfer of multistage. These properties of multinucleated complexes make them interesting to study the electrochemical processes in modified electrodes for applications such as chemical sensors. In this way, this dissertation aimed to synthesize and characterize oxo-manganese complexes containing different ligands ($[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ and $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$) looking for structural, kinetic and catalytic characteristics similar to biomimicking complexes of enzymatic active center for subsequent electroanalytical application in the development of biomimetic sensors and determining species of analytical interest. First, studies with oxo-manganese-*Schiff* complex $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ is given through the synthesis of the *Salpn* ligand and then of the complex. These in turn were characterized with efficiency by scanning electron microscopy, UV-Vis spectrophotometry, infrared spectroscopy and luminescence. Different electrochemical techniques were used to investigate and qualitatively understand the electrochemical behavior of $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ complex in solution. The construction of a modified electrode based on $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ -Nafion[®]/Pt was performed, however, the electrochemical studies were not promising, due to loss of analytical signal as consequence of the low solubility of complex in the immobilizing step. Finally, the electrocatalytic and biomimicking activity of $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ complex in solution compared to the reduction of hydrogen peroxide could successfully be investigated providing promising results in biomimicking enzymatic active centers of the Mn-containing catalase enzyme. The oxo-manganese-phenanthroline complex $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ was efficiently synthesized and characterized by absorption spectrophotometry in the UV-Visible region. Subsequently, the synthesized complex was used in the construction of a chemically modified carbon paste electrode. Studies of the electrochemical behavior of the CPEM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ were conducted and through these could be evaluated and understand the processes and mechanisms related to the investigated material, so that it could then be applied with an electrochemical sensor for the determination of a substance used in doping. The electrochemical sensor based on CPEM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ shown electrocatalytic properties in the electrooxidation of acetazolamide, allowing the detection of low and high sensitivity, as well as biomimicking characteristics, which were investigated according to the Michaelis-Menten model. Finally, the determination of acetazolamide at the biomimetic sensor was evaluated in three different synthetic biological fluids (plasma, saliva and urine) with an interest in application to real samples. The analysis of doping control for ACTZ by CPEM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ in real urine samples revealed viable, suggesting a new and promising platform to be used in these analysis.

Keywords: Oxo-manganese complex, Enzymatic biomimicking, Modified electrode, Biomimetic sensor, Electrochemical sensor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação estrutural do polímero de troca-iônica Nafion [®]	24
Figura 2 - Estruturas dos complexos binucleares oxo-manganês de alta valência do tipo a) di- μ -oxo, b) di- μ -oxo μ -carboxylato, c) μ -oxo di- μ -carboxylato e d) tri- μ -oxo.	26
Figura 3 - Representação estrutural do <i>N</i> -[5-(Aminosulfonil)-1,3,4-tiadiazol-2-il]acetamida (ACTZ).	30
Figura 4 - Representação estrutural do ligante <i>N,N'</i> -bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano. .	38
Figura 5 - Representação estrutural do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(IV)- <i>N,N'</i> -bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano.....	39
Figura 6 - Representação esquemática da célula eletroquímica com três eletrodos. ER = eletrodo de referência, ET = eletrodo de trabalho e EA = eletrodo auxiliar.	41
Figura 7 - Representação esquemática da construção do eletrodo modificado [Mn ^{IV} (μ -O)(<i>salpn</i>)] ₂ -Nafion [®] /Pt.	42
Figura 8 - Mecanismo reacional para a formação do ligante <i>Salpn</i>	43
Figura 9 - Representação estrutural em 3D do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(IV)- <i>N,N'</i> -bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano, onde Mn = cinza, O = vermelho, N = azul, C = ciano e H = branco.	44
Figura 10 - Representação esquemática para a formação do complexo [Mn ^{IV} (μ -O)(<i>salpn</i>)] ₂	45
Figura 11 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura para o ligante <i>Salpn</i> em 10 μ m (esquerda) e 100 μ m (direita).	45
Figura 12 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura para o complexo [Mn ^{IV} (μ -O)(<i>salpn</i>)] ₂ em 10 μ m (direita) e 100 μ m (esquerda).....	46
Figura 13 - Espectros de absorção obtidos para $1,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ do ligante <i>Salpn</i> diluído em etanol.	47
Figura 14 - Espectros de absorção obtidos para $1,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ do complexo [Mn ^{IV} (μ -O)(<i>salpn</i>)] ₂ diluído em etanol.	48
Figura 15 - Espectros vibracionais referentes ao ligante <i>Salpn</i> (linha preta) e ao complexo metálico [Mn ^{IV} (μ -O)(<i>salpn</i>)] ₂ (linha vermelha) obtidos através de pastilhas de KBr na proporção de 1:100 (Amostra:KBr) em um intervalo espectral de 4000 cm ⁻¹ a 400 cm ⁻¹ com resolução de 4 cm ⁻¹	49
Figura 16 - Espectro de emissão para o ligante <i>Salpn</i> dissolvido em CH ₂ Cl ₂ em diferentes concentrações: $1,0 \times 10^{-5}$ (linha preta), $1,0 \times 10^{-6}$ (linha vermelha) e $1,0 \times 10^{-7}$ mol L ⁻¹ (linha azul).	50

- Figura 17** - Espectro de emissão para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ dissolvido em CH_2Cl_2 em diferentes concentrações: $1,0 \times 10^{-5}$ (linha preta), $1,0 \times 10^{-6}$ (linha vermelha) e $1,0 \times 10^{-8}$ (linha azul) mol L^{-1} 51
- Figura 18** - Diagrama de cromaticidade obtido a partir dos espectros de emissão do ligante *Salpn* (esquerda) e do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ (direita). 51
- Figura 19** - Voltamograma cíclico para complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução de CH_2Cl_2 contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de $-0,8$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} 52
- Figura 20** - Dependência das correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) com a raiz da velocidade de varredura. 53
- Figura 21** - Voltamograma de pulso diferencial para complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução de CH_2Cl_2 contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de $-0,8$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 50 mV , sendo a) sentido anódico e b) sentido catódico. 54
- Figura 22** - Valores de constante de comproporcionamento e energia de Gibbs padrão calculados para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução em função da velocidade de varredura aplicada na voltametria de pulso diferencial. 59
- Figura 23** - Voltamograma cíclico obtido para o $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ -Nafion[®]/Pt em solução aquosa de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,2) em um intervalo de potencial de $-0,4 \text{ V}$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ utilizando uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} na ausência de oxigênio dissolvido. 60
- Figura 24** - Voltamograma de pulso diferencial para o $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ -Nafion[®]/Pt em solução aquosa de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,2) em um intervalo de potencial de $-0,4$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ utilizando uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 50 mV na ausência de oxigênio dissolvido, sendo a) sentido anódico e b) sentido catódico. 61
- Figura 25** - Representação estrutural do tipo “micelar invertida” para o Nafion[®]. 62
- Figura 26** - Imobilização do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ nos clusters esféricos de Nafion[®]. 62
- Figura 27** - Voltamograma cíclico para complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução de CH_2Cl_2 /PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de $-0,8$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} na ausência (linha preta) e presença de $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (linha vermelha), $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (linha verde) e $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 (linhas azul). 64
- Figura 28** - Ampliação da região catódica de Tafel para a redução de a) $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, b) $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e c) $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$. 64

Figura 29 - Relação de Tafel para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ na redução de H_2O_2 com concentração de a) $5,00 \times 10^{-7}$, b) $1,00 \times 10^{-6}$ e c) $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	65
Figura 30 - Representação do logaritmo da corrente <i>versus</i> o logaritmo da concentração de H_2O_2 de acordo com o potencial aplicado.	66
Figura 31 - Voltamogramas lineares para $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução de CH_2Cl_2 contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de $-0,3$ a $-0,8 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} na ausência (linha vermelha) e presença (linhas pretas) de diferentes concentrações de H_2O_2	67
Figura 32 - Relação da resposta de corrente de pico catódica com a concentração de H_2O_2 ..	67
Figura 33 - Mecanismo catalítico de redução de H_2O_2 pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ [74].	68
Figura 34 - Representação do método de Lineweaver-Burke através do inverso da corrente de pico catódica com o inverso da concentração de H_2O_2	70
Figura 35 - Representação estrutural do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(III,IV)-tetraquis-1,10-fenantrolina.....	78
Figura 36 - Representação esquemática da célula eletroquímica com três eletrodos. ER = eletrodo de referência, ET = eletrodo de trabalho e EA = eletrodo auxiliar.	79
Figura 37 - Representação esquemática da construção do EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$	80
Figura 38 - Representação estrutural em 3D do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(III,IV)-tetraquis-1,10-fenantrolina, onde Mn = cinza, O = vermelho, N = azul, C = ciano e H = branco.	81
Figura 39 - Espectro de absorção obtido para $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em acetonitrila.....	81
Figura 40 - Voltamograma cíclico para complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução de CH_3CN contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de platina em um intervalo de potencial de $0,05$ a $0,65 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1}	82
Figura 41 - Voltamograma de pulso diferencial para o complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em CH_3CN contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de platina em um intervalo de potencial de $0,1$ a $0,6 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} e pulso de 50 mV , sendo A) sentido anódico e B) sentido catódico.	83
Figura 42 - Voltamograma cíclico para o EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,76) na presença de oxigênio utilizando um intervalo de potencial de $0,0$ a $1,2 \text{ (V) vs. ECS}$ com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1}	84

Figura 43 - Voltamograma cíclico obtido para o EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em solução tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,76) em um intervalo de potencial de 0,5 V a 0,95 V vs. ECS utilizando uma velocidade de varredura de 15 mV s ⁻¹ na ausência (linha vermelha) e presença (linha preta) de oxigênio dissolvido.	85
Figura 44 - Estudo da velocidade de varredura para o EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em solução tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,76) na presença de oxigênio dissolvido variando a velocidade de 5 a 200 mV s ⁻¹	86
Figura 45 - Dependência das correntes de pico anódica (<i>I</i> _{pa}) e catódica (<i>I</i> _{pc}) com a raiz da velocidade de varredura.....	87
Figura 46 - Voltamogramas cíclicos para o EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,76) na ausência (linha vermelha) e presença (linhas pretas) de 1,00 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ , 2,50 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ e 5,00 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de ACTZ utilizando um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s ⁻¹	88
Figura 47 - Mecanismo para eletrooxidação de ACTZ para valores de a) pH < 7,0 e b) pH > 7,0.	89
Figura 48 - Estudo da velocidade de varredura em solução tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 4,76) contendo 1,00 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de ACTZ na presença de oxigênio dissolvido para o EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ variando a velocidade de 5 mV s ⁻¹ a 200 mV s ⁻¹	90
Figura 49 - Dependência das correntes de pico anódica (<i>I</i> _{pa}) e catódica (<i>I</i> _{pc}) com a raiz da velocidade de varredura.....	90
Figura 50 - Influência do pH no potencial redox (<i>E</i> _{p/2}) do EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ na determinação de ACTZ.	91
Figura 51 - Mecanismo de oxidação da acetazolamida mediada pelo EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃	93
Figura 52 - Variação do potencial em função do pH na determinação de ACTZ pelo EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃	93
Figura 53 - Relação da corrente relativa para a detecção de ACTZ na presença de interferentes, onde AA = ácido ascórbico, AC = ácido cítrico, AU = ácido úrico, CF = cafeína, DIP = dipirona, GLI = glicose e PAR = paracetamol.	94
Figura 54 - Voltamogramas cíclicos para o EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) na ausência (linha vermelha) e com sucessivas adições (linhas pretas) no intervalo de 5,0 × 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ a 7,5 × 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de ACTZ utilizando uma janela de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s ⁻¹	95
Figura 55 - Dependência dos valores de corrente de pico anódica em função da concentração de 5,0 × 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ a 7,5 × 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹ de ACTZ.....	96

Figura 56 - Voltamogramas cíclicos para o EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) na ausência (linha vermelha) e com sucessivas adições (linhas pretas) no intervalo de 1,0 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ a 1,0 × 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de ACTZ utilizando uma janela de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s ⁻¹	96
Figura 57 - Dependência dos valores de corrente de pico anódica em função da concentração de 1,0 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ a 1,0 × 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ de ACTZ.....	97
Figura 58 - Voltamogramas lineares para o EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) na ausência (linha vermelha) e com sucessivas adições (linhas pretas) de ACTZ utilizando um intervalo de potencial de 0,1 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s ⁻¹	98
Figura 59 - Dependência dos valores de corrente de pico anódica em função da concentração de 5,00 × 10 ⁻⁹ mol L ⁻¹ a 7,00 × 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹ de ACTZ.....	99
Figura 60 - Análise de Michaelis-Menten em termos dos gráficos de a) Lineweaver-Burke, b) Eadie-Hofstee e c) Hanes-Woolf baseado nos resultados da Figura 57.....	103
Figura 61 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) para a determinação de ACTZ contendo a amostra de plasma sintético contaminado (linha vermelha) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas pretas) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s ⁻¹	105
Figura 62 - Curva por adição múltipla de padrão para a determinação de ACTZ em uma amostra de plasma sintético.....	105
Figura 63 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) para a determinação de ACTZ contendo a amostra de saliva sintética contaminada (linha vermelha) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas pretas) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s ⁻¹	106
Figura 64 - Curva por adição múltipla de padrão para a determinação de ACTZ em uma amostra de saliva sintética.....	106
Figura 65 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) para a determinação de ACTZ contendo a amostra de urina sintética contaminada (linha vermelha) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas pretas) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s ⁻¹	107
Figura 66 - Curva por adição múltipla de padrão para a determinação de ACTZ em uma amostra de urina sintética.....	107
Figura 67 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn ^{III/IV} (μ-O)(phen) ₂] ₂ (ClO ₄) ₃ em tampão acetato 0,1 mol L ⁻¹ (pH 5,6) para a análise de doping por ACTZ contendo a amostra (prova) de urina (linha vermelha) e com sucessivas adições de	

padrão de ACTZ (linhas pretas) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹ 109

Figura 68 - Curva por adição múltipla de padrão para análise de doping por ACTZ para a amostra real de urina (prova)..... 109

Figura 69 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂](ClO₄)₃ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) para a análise de doping por ACTZ contendo a amostra (contraprova) de urina (linha vermelha) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas pretas) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹ 110

Figura 70 - Curva por adição múltipla de padrão para análise de doping por ACTZ para amostra real de urina (contraprova)..... 110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes utilizados nos experimentos.....	36
Tabela 2 - Atribuição das bandas de absorção observadas nos espectro referente ao ligante <i>Salpn</i> e ao complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ dissolvido em etanol.....	48
Tabela 3 - Atribuição das principais bandas vibracionais observadas nos espectros vibracionais referente ao ligante <i>Salpn</i> e ao complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$	49
Tabela 4 - Comparação do potencial de meia de complexos binucleares de manganês(IV)...	53
Tabela 5 - Valores de potencial de meia onda obtidos nos voltamogramas de pulso diferencial para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em diferentes velocidades de varredura com relação ao primeiro par redox ($E_{1/2}^{(1)}$), ao segundo par redox ($E_{1/2}^{(2)}$), a variação entre eles ($\Delta E_{1/2}$) e a constante de comproporcionamento calculada.....	57
Tabela 6 - Valores de energias de Gibbs padrão calculadas utilizando a Equação 16 para as diferentes velocidades de varredura aplicadas.....	58
Tabela 7 - Parâmetros cinéticos para redução de H_2O_2 pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em diferentes concentrações do analito.....	65
Tabela 8 - Resultados obtidos para a ordem aparente de reação (q) de acordo com o potencial fixo.....	66
Tabela 9 - Parâmetros cinéticos de Michaelis-Menten calculados pelo método de Lineweaver-Burke aplicados à biomimetização da enzima <i>catalase</i> na redução de H_2O_2 pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$	70
Tabela 10 - Valores de K_M obtidos para complexos de manganês e enzimas catalase contendo manganês.....	71
Tabela 11 - Reagentes utilizados nos experimentos.....	74
Tabela 12 - Valores de potencial de pico anódico (E_{pa}) e catódico (E_{pc}), corrente de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}), potencial de meia ($E_{\text{p}/2}$) e separação dos potenciais de pico (ΔE_{p}) para as diferentes velocidades de varreduras aplicadas.....	86
Tabela 13 - Valores de potencial de meia e separação de potencial para as diferentes velocidades de varredura estudadas.....	91
Tabela 14 - Resultados obtidos na determinação de ACTZ pelo sensor EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ por meio de diferentes técnicas eletroquímicas.....	100
Tabela 15 - Comparação dos resultados analíticos com diferentes sensores para a determinação de ACTZ.....	100
Tabela 16 - Parâmetros cinéticos de Michaelis-Menten aplicados ao sensor biomimético EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$	104

Tabela 17 - Resultados da determinação de ACTZ em amostras sintéticas de urina, plasma e saliva utilizando o sensor EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃..... 108

Tabela 18 - Resultados obtidos na análise de doping por ACTZ pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃. 111

LISTA DE ABREVIATURAS

$\Delta E_{1/2}$	Variação do potencial de meia onda
ΔE_p	Variação do potencial de pico
ΔG°	Energia de Gibbs padrão
θ	Coefficiente angular
θ_{Tafel}	Coefficiente angular de Tafel
α_c	Coefficiente de transferência eletrônica
η	Sobrepotencial
Γ	Concentração de espécie eletroativa
A	Área
AA	Ácido ascórbico
AC	Ácido cítrico
ACTZ	Acetazolamida
AU	Ácido úrico
CF	Cafeína
COI	Comitê Olímpico Internacional
CV	Carbono vítreo
DIP	Dipirona
E	Potencial
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
$E_{p/2}$	Potencial de meia
EA	Eletrodo auxiliar
ECS	Eletrodo de calomelano saturado
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
EPC	Eletrodo de pasta de carbono
EPCM	Eletrodo de pasta de carbono modificado
EQM	Eletrodo quimicamente modificado
ER	Eletrodo de referência
ET	Eletrodo de trabalho
F	Constante de Faraday
FTIR	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

	com transformada de Fourier
GLI	Glicose
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
i_{max}	Corrente máxima catalítica
i_{SSC}	Corrente catalítica do estado estacionário
I	Corrente
I_{pa}	Corrente de pico anódico
I_{pc}	Corrente de pico catódico
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
k_{cat}	Constante catalítica
K_c	Constante de comproporcionamento
K_M	Constante de Michaelis-Menten
K_M^{app}	Constante aparente de Michaelis-Menten
K_s	Constante de especificidade
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
n	Número de elétrons envolvidos na reação
OEC	Complexo de evolução do oxigênio
PAR	Paracetamol
PSII	Fotossistema II
PTBA	Perclorato de tetrabutylamônio
q	Ordem de reação
Q	Carga
R	Constante dos gases reais
Salpn	<i>N,N'</i> -bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano
SE	Elétrons secundários
T	Temperatura
TCML	Transferência de carga metal-ligante
UV-Vis	Espectroscopia na região do Ultravioleta Visível
v	Velocidade de varredura
WADA	Agência Mundial Antidoping

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	22
1.1	ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS	22
1.1.1	<i>Eletrodos com filmes poliméricos de troca-iônica</i>	23
1.1.2	<i>Eletrodos compósitos de pasta de carbono</i>	24
1.2	COMPLEXOS MULTINUCLEADOS DE MANGANÊS	25
1.3	BASES DE <i>SCHIFF</i>	26
1.4	DOPING	28
1.4.1	<i>Deteção de substâncias usadas no doping: Acetazolamida</i>	29
1.5	SENSORES ELETROQUÍMICOS.....	31
1.6	SENSORES BIOMIMÉTICOS	32
2	OBJETIVOS GERAIS	34
3	SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ELETROCATALÍTICA DO COMPLEXO METÁLICO-<i>SCHIFF</i> BIS(μ-OXO)DIMANGANÊS(IV)-N,N'-BIS(SALICILIDENO)-1,3-DIAMINOPROPANO	35
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
3.2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	35
3.2.1	<i>Reagentes</i>	35
3.2.2	<i>Soluções</i>	37
3.2.3	<i>Sínteses</i>	38
3.2.4	<i>Caracterização do ligante Salpn e do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ sintetizados</i> ..	39
3.2.5	<i>Medidas eletroquímicas</i>	40
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
3.3.1	<i>Síntese do ligante Salpn</i>	42
3.3.2	<i>Síntese do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$</i>	43
3.3.3	<i>Caracterização morfológica do ligante Salpn e do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ por Microscopia Eletrônica de Varredura</i>	45
3.3.4	<i>Caracterização do ligante Salpn e do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível</i>	46
3.3.5	<i>Caracterização do ligante Salpn e do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ por Espectroscopia na Região do Infravermelho</i>	48
3.3.6	<i>Caracterização do ligante Salpn e do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ por Espectroscopia de Luminescência</i>	50
3.3.7	<i>Caracterização Eletroquímica do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ em solução</i>	51
3.3.8	<i>Comportamento eletroquímico do eletrodo de platina modificado com complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ imobilizado com Nafion®</i>	59
3.3.9	<i>Investigação eletroquímica do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ em solução na determinação de peróxido de hidrogênio</i>	63
3.4	CONCLUSÕES	72
4	APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA DO COMPLEXO BIS(μ-OXO)DIMANGANÊS(III,IV)-TETRAQUIS-1,10'-FENANTROLINA NA DETERMINAÇÃO DE UMA SUBSTÂNCIA USADA NO DOPING	73
4.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	73
4.2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	73
4.2.1	<i>Reagentes e Soluções</i>	73

4.2.2	<i>Síntese do complexo metálico: bis(μ-oxo)dimanganês(III,IV)-tetraquis-1,10-fenantrolina</i> $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3 \cdot CH_3COCH_3$	78
4.2.3	<i>Caracterização do complexo</i> $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$ <i>por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível</i>	78
4.2.4	<i>Medidas Eletroquímicas</i>	79
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	80
4.3.1	<i>Síntese e caracterização do complexo</i> $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$ <i>por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível</i>	80
4.3.2	<i>Caracterização Eletroquímica do complexo</i> $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$ <i>em solução orgânica</i>	82
4.3.3	<i>Comportamento Eletroquímico do eletrodo de pasta de carbono modificado com complexo</i> $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$	84
4.3.4	<i>Oxidação Eletrocatalítica de Acetazolamida</i>	88
4.4	CONCLUSÕES	111
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	112
6	PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS	113
6.1	PARA O COMPLEXO $[Mn^{IV}(\mu-O)(SALPN)]_2$	113
6.2	PARA O SENSOR ELETROQUÍMICO EPCM- $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(PHEN)_2]_2(ClO_4)_3$	113
6.3	APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA DE OUTROS COMPLEXOS OXO-MANGANÊS.....	113
	REFERÊNCIAS	114

1 INTRODUÇÃO

1.1 Eletrodos quimicamente modificados

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) é definido, segundo a Divisão de Química Analítica da IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*), como eletrodo feito de um material condutor ou semicondutor que é recoberto com um filme monomolecular, polimolecular, iônico ou polimérico e apresenta por meio de reações faradaicas propriedades químicas, eletroquímicas e/ou ópticas referentes às espécies químicas incorporadas [1].

O marco da utilização desta denominação deu-se na década de 70 por Murray e colaboradores, referindo-se a eletrodos com espécies quimicamente ativas imobilizadas sob tais superfícies eletródicas [2]. Neste trabalho, Murray e seus colaboradores realizaram a modificação química da superfície de eletrodos de SnO₂ via organossilanos e os resultados obtidos demonstraram que as superfícies de SnO₂ exibem uma reatividade para com organossilanos muito análoga à de superfícies de sílica.

Além do controle do potencial do eletrodo a fim de obter uma fonte variável de energia [3], a modificação química de eletrodos visa pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução e impor e controlar sua reatividade e/ou seletividade [4], propiciando estabilidade química e mecânica, reprodutibilidade de medições, emprego de matrizes que permitem a imobilização de uma ou mais espécies catalíticas, ampla faixa dinâmica de trabalho, correntes de fundo relativamente baixas e estáveis, compatibilidade com meios orgânicos e aquosos, facilidade de preparação, entre outros [5].

A construção de eletrodos quimicamente modificados constitui uma área em constante desenvolvimento, por consequência, diferentes métodos de modificação da superfície de eletrodos têm sido descritos na literatura. Os métodos mais comuns de preparação dos eletrodos quimicamente modificados baseiam-se em:

- a) Adsorção ou quimisorção, que consiste na dissolução do agente modificador em um solvente apropriado e na exposição do eletrodo à esta solução [6];
- b) Formação de compósitos, onde simplesmente mistura-se o agente químico modificador com o material da matriz do eletrodo [7-9];
- c) Formação de Ligação Covalente, no qual espécies ativas são utilizadas para ligar covalentemente de uma a várias camadas monomoleculares do modificador químico à superfície do eletrodo [10-12] e;

d) Recobrimento com filmes poliméricos, que se fundamentam em filmes poliméricos condutores ou não condutores mantidos sob a superfície eletródica devido a alguma combinação de quimisorção e baixa solubilidade na solução de contato ou por ancoragem física em um eletrodo poroso [13-15].

O desenvolvimento de sensores baseados em eletrodos quimicamente modificados vem sendo muito explorado durante as últimas décadas, principalmente por ser uma área de grande interesse em estudos eletroquímicos e eletroanalíticos. Além das características já enunciadas, a versatilidade de modificações e a utilização de modificadores eletroquímicos propicia uma ampla aplicação desses materiais em análises de amostras ambientais, clínicas e industriais.

1.1.1 Eletrodos com filmes poliméricos de troca-iônica

As técnicas que utilizam filmes poliméricos são baseadas na imobilização de monocamadas da espécie ativa, sendo estas compostas por polímeros com sítios quimicamente ou eletroquimicamente ativos, condutores ou permeáveis ao eletrólito e a espécie de interesse, na superfície eletródica. Dentre os filmes poliméricos, os de troca-iônica começaram a ser utilizados na modificação de eletrodos no início dos anos 80 [16].

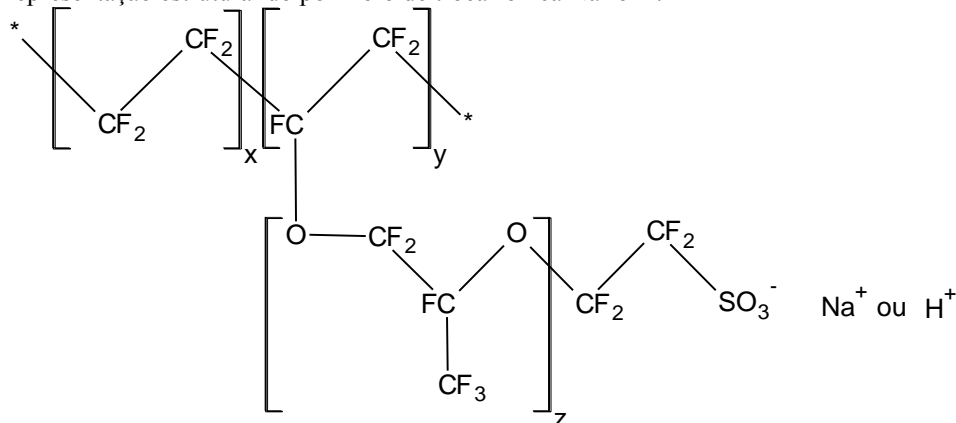
A utilização de ionômeros perfluorados e sulfonados é uma das possibilidades de formação de filmes poliméricos. Um ionômero é um polímero linear ou ramificado, com grupos ionizáveis covalentemente ligados. Dentre os mais comuns, o Eastman AQ[®], Nafion[®] e Tosflex[®] são caracterizados por massas equivalentes elevadas e um número baixo de sítios trocadores de íons interpostos entre longas cadeias orgânicas [16].

O Nafion[®] é o copolímero de ácido tetrafluoroetileno-perfluoro-3,6-dioxa-4-metil-7-octanosulfônico (Figura 1) sintetizado por copolimerização de tetrafluoretileno (TFE) e um derivado de perfluor(alquil, vinil éter) com ácido fluorsulfônico [17, 18]. Sua utilização tem sido amplamente explorada em indústrias químicas como membrana catalítica de troca iônica na fabricação de soda cáustica [19] e como separador em células eletrocatalíticas, eletrólito de polímero sólido em células combustíveis e baterias [20]. Além do mais, membranas de Nafion[®] têm sido aplicadas na remoção íons de metais alcalinos terrosos [21-23] e íons metálicos em águas residuais [17, 24].

Em eletroquímica e eletroanalítica, as membranas de Nafion[®] têm sido aplicadas na construção e desenvolvimento de biossensores e sensores químicos, devido suas propriedades

como anti-incrustação, biocompatibilidade, estabilidade térmica, inércia química, resistência mecânica [17, 25, 26].

Figura 1 - Representação estrutural do polímero de troca-iônica Nafion[®].



Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

1.1.2 Eletrodos compósitos de pasta de carbono

Os compósitos são basicamente formados pela junção de duas ou mais espécies de natureza diferente e características próprias, a fim de apresentar propriedades (físicas, químicas ou biológicas) novas em relação às espécies separadas. Devido as características condutoras da pasta de carbono, seus compósitos podem ser utilizados na construção de eletrodos e aplicados à eletroquímica [27]. Dentre os materiais que mais se destacam no preparo de compósitos, aqueles a base de carbono são amplamente utilizados, devido à formação de fases condutoras ideais.

O eletrodo de pasta de carbono (EPC) tem sido utilizado desde 1958, quando Adams [28] relatou sua tentativa de preparar um eletrodo gotejante de pasta de carbono renovável para ser utilizado em potenciais mais positivos que o eletrodo de mercúrio metálico. No entanto, sua tentativa sem sucesso, devido à alta resistência causada pelo componente líquido orgânico, oportunizou no desenvolvimento deste tipo de eletrodo.

Contrariamente aos eletrodos sólidos convencionais (carbono vítreo, platina, ouro, etc), a construção dos eletrodos de pasta de carbono possibilita a modificação interna do material. Além do mais, os eletrodos preparados à base de pasta de carbono oportunizam em baixa corrente de fundo, baixo custo, baixo ruído, grande intervalo de potencial de trabalho, facilidade de renovação da superfície e versatilidade nas aplicações.

Em 1964, Kuwana e French [29] relataram pela primeira vez a utilização de um eletrodo de pasta de carbono modificado (EPCM). Neste trabalho, os autores ao utilizarem um

composto orgânico como aglutinante notaram que esta modificação proporcionava ao eletrodo características eletroquímicas diferentes da pasta de carbono não modificada e semelhantes as do material utilizado. A partir de então, diversos trabalhos relatando a modificação de pasta de carbono para estudos eletroquímicos foram publicados.

1.2 Complexos multinucleados de manganês

O maior interesse em sintetizar complexos multinucleados de manganês deve-se, além de mimetizar propriedades de enzimas que possuem manganês em sua composição como cofator, como por exemplo, ligninase, Mn-*catalase*, Mn-*peroxidase*, Mn-*ribonucleótido redutase*, Mn-*superóxido dismutase*, Mn-*tiosulfato oxidase* [30-34], ao seu grande potencial electrocatalítico na oxidação fotolítica de água para produzir oxigênio pelo complexo de evolução de oxigênio (OEC) do fotossistema II (PSII) durante a fotossíntese [35-38].

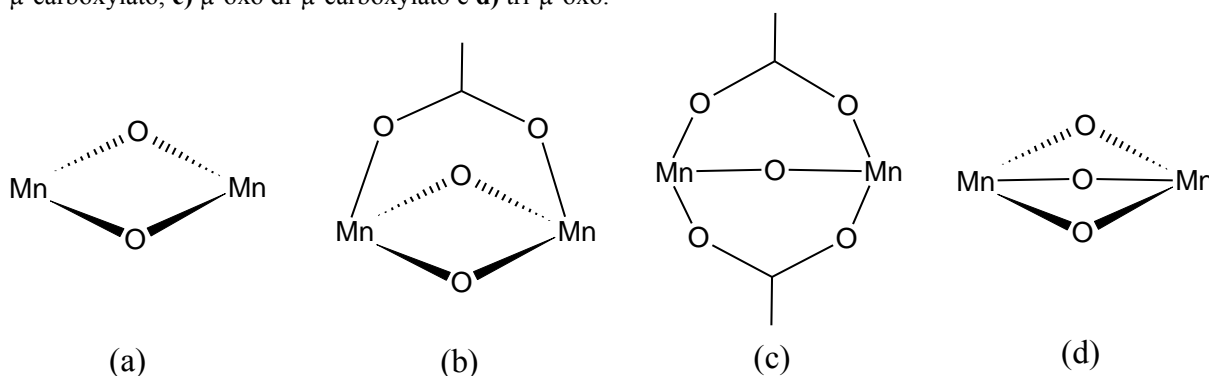
Os centros catalíticos do fotossistema II, denominado complexo de evolução do oxigênio, contém um complexo tetranuclear de manganês que interage com as proteínas que o rodeiam [39]. Os núcleos de manganês do complexo de evolução do oxigênio são conectados por pontes μ -oxo e ligantes carboxilatos e/ou *N*-doadores, que completam então a esfera de coordenação do íon metálico. Esta estrutura mencionada foi solucionada a partir de experimentos espectroscópicos e estruturais, como cristalografia, e ainda evidencia que o complexo de evolução do oxigênio envolve um íon cálcio além dos núcleos de manganês (quatro íons), que são oxidados via estados intermediários chamados de estados-S. A ligação O-O do oxigênio molecular é formada entre os átomos de oxigênio ligados aos de manganês mais oxidados, estado S₄ [40, 41].

Weatherburn e coautores relatam diversas possibilidades de obtenção de complexos de manganês com diferentes estados de oxidação e ligantes tendo propriedades estruturais características às evidenciadas para o complexo de evolução de oxigênio [42]. Ainda mais com o avanço das técnicas de síntese e caracterização, pesquisadores têm estudado extensivamente complexos com um número variável de núcleos, estados de oxidação, ligantes e pontes μ -O, que sejam capazes de mimetizar o sítio ativo do PSII e, por consequência, promover a compreensão de alguns aspectos da enzima nativa. Além do mais, o estudo de modelos para os sistemas biológicos oportuniza em um controle reacional, eliminação dos processos de extração e purificação de produtos naturais, simplificação do sistema e diminuição da ação de contaminantes naturais [43].

Em outra vertente, o estudo eletroquímico de complexos multinucleados de manganês têm recebido importantes contribuições por estes apresentarem processos de transferência eletrônica de multietapas, que resultam em boa estabilidade para altos estados de oxidação, e capacidade de troca de cargas entre íons manganês [44]. Sendo assim, vários complexos desenvolvidos têm sido aplicados como catalisadores e eletrocatalisadores para a oxidação de água [36, 45], álcoois [46, 47] e outros compostos orgânicos [48-51].

Melvin Calvin (1974) foi o pioneiro no estudo de complexos binucleares de manganês com atividade fotolítica [52, 53]. A partir de então, muitos materiais têm sido sintetizados. Com base nisto, os complexos binucleares oxo-manganês podem ser divididos dentro de quatro grandes categorias: (a) di- μ -oxo, (b) di- μ -oxo μ -carboxylato, (c) μ -oxo di- μ -carboxylato e (d) tri- μ -oxo, como representado na Figura 2.

Figura 2 - Estruturas dos complexos binucleares oxo-manganês de alta valência do tipo **a)** di- μ -oxo, **b)** di- μ -oxo μ -carboxylato, **c)** μ -oxo di- μ -carboxylato e **d)** tri- μ -oxo.



Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

Os complexos binucleares oxo-manganês de alta valência requerem considerável atenção por visarem principalmente à modelagem de sítios ativos de metaloenzimas [36, 42].

1.3 Bases de Schiff

Dentre a ampla gama de modificadores químicos, as bases de Schiff constituem uma importante classe de compostos com grandes potencialidades. As bases de Schiff foram reportadas inicialmente por Hugo Schiff em 1864 [54] e são denominados como compostos com um grupo funcional que contenha uma dupla ligação carbono-nitrogênio com o átomo de nitrogênio conectado a um grupo arila ou alquila, sendo representados pela forma genérica $R_3R_2C=NR_1$, onde os substituintes R_2 e R_3 podem ser um grupo alquila, arila, heteroarila ou até mesmo hidrogênio [55].

Estes compostos constituem uma classe de ligantes muito eficientes, devido à capacidade de coordenação bi, tri, tetra, penta ou polidentado, de acordo com as características de cada ligante, e pela possibilidade de um segundo grupo funcional próximo à função imina, geralmente um grupo hidroxila, o qual permite a formação de quelatos quando coordenados com cátions metálicos.

A síntese de complexos metálicos de bases de *Schiff* tem sido realizada e estudada desde o século XIX. Os complexos metálicos derivados de bases de *Schiff* tetradentadas são extensivamente conhecidos por formar diversos compostos estáveis com metais de transição em uma variedade de estados de oxidação, onde a coordenação se dá através do conjunto de doadores N_2O_2 . Dentre as diversas aplicações, os complexos metálicos com bases de *Schiff* têm atraído atenção devido à notável atividade antibacteriana [56, 57], antifúngica [58] e antitumoral [59, 60], além de suas utilizações como catalisadores em síntese orgânica [61-64], eletrocatalisadores [65, 66] e cristais líquidos [67].

Em Química Biológica, o interesse em bases de *Schiff* deve-se a sua atuação como importantes intermediários em uma série de reações enzimáticas que envolvem a interação de enzimas com um grupo amino ou carbonil de um substrato. Já em Química Bioinorgânica, o interesse em complexos metálicos de bases de *Schiff* deriva da sua capacidade de fornecer modelos sintéticos para sítios ativos contendo metais em metaloproteínas. Dessa forma, as bases de *Schiff* e seus complexos metálicos exibem uma variedade de aplicações em diferentes áreas da ciência.

Entre os diversos complexos de manganês-*Schiff* com envolvimento no PSII [68-70] e aplicação em bioinorgânica e catálise [71-73], o complexo bis(μ -oxo)dimanganês(IV)-*N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano tem sido reportado por assemelhar-se estruturalmente com uma parte do complexo de evolução de oxigênio.

Em 1991, o Grupo de Pesquisa de Pecoraro¹ desenvolveu dentro do Projeto Manganês, que tinha por objetivo entender o papel de manganês em sistemas biológicos de forma mais completa, estudos com o complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$. Os estudos reportados evidenciaram que o complexo é um mimetizador *catalase* muito eficiente e disproporcionador catalítico de peróxido de hidrogênio [74]. Outro aspecto importante do presente sistema é a capacidade de protonar as oxo-pontes do complexo e, conseqüentemente, testar as alterações nas propriedades físicas do mesmo.

¹ “The Pecoraro Group” é coordenado pelo Dr. Vincent Pecoraro na Universidade de Michigan e suas pesquisas estão focadas em Química Inorgânica e Bioinorgânica.
(<http://www.umich.edu/~vlpecgrp/index.html>)

1.4 Doping

Em todos os Jogos Olímpicos lembra-se do valor da competição internacional do esporte como um meio de promoção da paz e compreensão mútua a nível mundial. Infelizmente, lembra-se também que há atletas que sacrificarão suas carreiras e violarão a confiança de seus compatriotas pelo uso de substâncias que melhoram o desempenho para dar-lhes uma vantagem competitiva.

A prática de aumentar o desempenho atlético utilizando substâncias “estranhas” é conhecida desde os primeiros Jogos Olímpicos. No entanto, apenas em 1967, o Comitê Olímpico Internacional (COI) estabeleceu uma Comissão Médica responsável pelo desenvolvimento de uma lista de substâncias e métodos proibidos [75].

O advento do uso de substâncias que melhoram o desempenho de atletas, seja como “drogas” ou compostos altamente purificados e potentes, acabou resultando na triagem sistemática para detectar e impedir o uso de tais substâncias, comumente referido como “doping”.

Em 1999, durante a Conferência Mundial sobre Doping no Esporte, criou-se a Agência Mundial Antidoping (*World Anti-Doping Agency – WADA*)², com base em representação paritária do movimento olímpico e autoridades públicas almejando harmonizar o código olímpico antidoping e desenvolver um único código aplicável e aceitável para todas as partes interessadas [75].

Atualizada frequentemente, a lista de substâncias e métodos é supervisionada pela Agência Mundial Antidoping e inclui atualmente [76, 77]:

- Três métodos proibidos (melhoria da transferência de oxigênio, manipulação física ou química de amostras e doping genético);
- Quatro categorias de substâncias proibidas durante a competição (estimulantes, narcóticos, canabinóides e corticóides) e,
- Cinco categorias de substâncias proibidas em todos os tempos (agentes anabolizantes, hormônios e substâncias relacionadas, beta-agonistas, agentes antiestrogênicos, e diuréticos e outros agentes mascarantes).

Os testes de controle de doping ou exames antidoping são realizados por meio da análise da urina, sangue, etc, dos três primeiros colocados de provas individuais e alguns

² Site oficial da Agência Mundial Antidoping: <https://www.wada-ama.org/>

atletas de equipes coletivas indicados por sorteio, ou ainda, a convocação de outros atletas sob suspeita. O material a ser analisado é colhido separadamente em dois frascos (prova e contraprova), numerado e enviado para um laboratório de análises.

Todas as amostras são analisadas exclusivamente por laboratórios credenciados pela WADA (32 laboratórios em todo o mundo, sendo apenas um na América do Sul – Colômbia) [78], os quais são obrigados a seguir as normas internacionais do Código Mundial Antidoping. Os métodos analíticos requeridos baseiam-se em [79]:

- Analisador hematológico e citômetro para parâmetros hematológicos e para detecção de transfusão de sangue;
- Cromatografia gasosa com combustão e espectrometria de massas de razão isotópica para distinção de esteróides endógenos e exógenos.
- Cromatografia gasosa com espectrometria de massas e espectrometria de massas em tandem para detecção de betabloqueadores, diuréticos, esteróides, estimulantes, narcóticos, etc.
- Cromatografia líquida com detecção via UV-Vis ou espectrometria de massas e espectrometria de massas tandem para diuréticos, estimulantes, glicocorticóides, narcóticos, etc.
- Ensaio fluométrico para detectar hormônios peptídicos;
- Ensaio imunoluminométrico para distinção pituitária e hormônio de crescimento recombinante;
- Focalização isoeletrica para análise de eritropoietina.

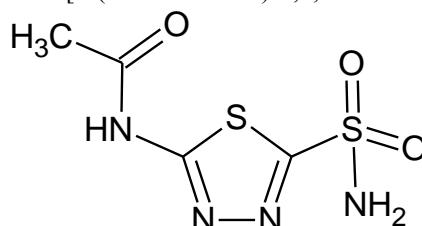
O resultado das análises, em envelope lacrado, é enviado ao presidente do Comitê Antidoping do COI, o qual é o único a ter a relação dos números das amostras com os nomes dos atletas. Sendo algum resultado positivo, o presidente encaminha ao laboratório o pedido para que a contraprova seja examinada e todo o processo se repete. Caso a contraprova confirme o resultado positivo, o nome do atleta é divulgado e punições são efetuadas imediatamente.

1.4.1 Detecção de substâncias usadas no doping: Acetazolamida

A acetazolamida (ACTZ), *N*-[5-(Aminossulfonil)-1,3,4-tiadiazol-2-il]acetamida (Figura 3), é um inibidor da enzima anidrase carbônica usada clinicamente no tratamento de glaucoma [80]. Também, é utilizado sozinho ou em associação com medicamentos

antiepiléticos para o tratamento de várias formas de epilepsia [81] e ainda, como fármaco para a profilaxia de doenças da altitude [82], hipertensão intracraniana idiopática [83], cistinúria, paralisia periódica [84], apnéia do sono central [85] e ectasia dural. De acordo com a lista de medicamentos essenciais da Organização Mundial de Saúde, a acetazolamida ou Diamox[®] (Genom) como é vendido comercialmente, é um dos medicamentos necessários no sistema básico de saúde.

Figura 3 - Representação estrutural do *N*-[5-(Aminosulfonil)-1,3,4-tiadiazol-2-il]acetamida (ACTZ).



Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

O mecanismo de ação da ACTZ baseia-se na inibição da enzima anidrase carbônica, reduzindo a concentração de prótons na medula renal e, conseqüentemente evitando a reabsorção de sódio, devido ao trocador de prótons por sódio localizado no túbulo proximal do néfron. Sua farmacocinética, absorção da droga, é rápida e atinge picos de concentração no plasma em aproximadamente 1-3 horas após a administração oral. Além do mais, cerca de 80% do medicamento é excretado pela secreção tubular das espécies aniônicas [86].

A Agência Mundial Antidoping classifica a ACTZ como uma substância proibida dentro e fora de competição [77], já que por agir como um diurético pode ser considerada como um agente “ocultador ou camuflador” de drogas ilegais específicas procuradas nos testes de doping. Os diuréticos podem ser ponderados como agentes “camufladores”, devido à diluição da urina, que resulta em níveis inferiores da substância banida segregada pelo corpo.

Dentre os casos de doping, em 2010 a fundista brasileira Maria Zeferina Baldaia foi advertida pela Comissão Disciplinar Nacional, primeira instância da Justiça Desportiva da Confederação Brasileira de Atletismo, após ter sido flagrada em exame antidoping para a substância ACTZ.

Dessa forma, muitas técnicas de detecção de ACTZ em amostras biológicas têm sido desenvolvidas: biossensores ópticos de matriz sol-gel [87], cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons [88], cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) [89-92], ensaios enzimáticos [93], polarografia [94] e sensores eletroquímicos [95-97].

O método mais utilizado na análise de diuréticos, e por consequência na detecção de ACTZ, baseia-se na utilização de técnicas cromatográficas. Dentre os relatos, Park e colaboradores [98] realizaram uma análise sistemática de substâncias proibidas nos exames antidoping, entre elas a ACTZ, por HPLC e a validação dos resultados obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa seguido por metilação, no qual obtiveram um intervalo linear de 0,2 a 20,0 $\mu\text{g/mL}$ com a curva de calibração e um limite de detecção de 0,2 $\mu\text{g/mL}$ em amostras de urina.

O primeiro trabalho envolvendo a utilização de sensores eletroquímicos na detecção e quantificação de ACTZ foi relatado em 2010 por Khodadadian e Ahmadi [95]. Neste, três polímeros molecularmente impressos foram projetados computacionalmente e então sintetizados para determinação seletiva em plasma humano, sendo obtidos os melhores resultados para a acrilamida. Aplicando a técnica de voltametria de pulso diferencial foram obtidos um limite de quantificação equivalente a $9,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de $2,70 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

O trabalho mais recente (2012) foi reportado por Shakibaian e Parvin [97], o qual investigou a eletrorredução de ACTZ utilizando um eletrodo de pasta de grafeno aplicando a técnica voltametria de pulso diferencial, tendo obtido um limite de quantificação e detecção de $7,30 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,20 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Ademais, a aplicabilidade do método proposto foi demonstrada pela análise de amostras reais de dois fluidos biológicos, soro e urina humana.

1.5 Sensores eletroquímicos

A maioria dos métodos utilizados para determinação de substâncias proibidas e seus metabólitos em amostras de urina de atletas em competições requer várias e demoradas etapas de manipulação, instrumentos sofisticados e treinamento especial. Por exemplo, geralmente as análises são realizadas utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, uma técnica que, embora extremamente eficaz, requer um grande pré-tratamento da urina, incluindo etapas de extração sólido-líquido ou líquido-líquido, hidrólise enzimática ou química, pré-concentração e derivatização. Dessa forma, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos surge como uma promissora alternativa.

Os sensores eletroquímicos são classificados como dispositivos capazes de fornecer informações do ambiente que estão inseridos por meio das propriedades redox do sistema [99-101]. Durante o desenvolvimento destes sensores, busca-se a obtenção de eletrodos que

oportunizem em maior sensibilidade, seletividade e maiores taxas de transferência eletrônica com relação a outros métodos ou aos eletrodos convencionais não modificados.

Complementarmente, aplicado ao controle de doping, as técnicas eletroanalíticas apresentam diversas vantagens em relação a outras técnicas, entre elas pode-se destacar a alta sensibilidade, baixo custo, capacidade de portabilidade, diminuição do uso de reagentes e resíduos poluentes, resposta rápida, simplicidade nas operações de determinações e possibilidade de análise *in situ*, sendo então uma alternativa mais econômica para análises preliminares do doping por substâncias ou métodos [102, 103].

Dessa forma, muitos sensores com interesse analítico no controle de doping têm sido desenvolvidos. Entre eles, sensores para antagonistas beta [104, 105], diuréticos [106, 107], estimuladores, como a norepinefrina [108, 109], e esteroides [110]. Recentemente, Moura e colaboradores estudaram a oxidação voltamétrica de testosterona (4-androsten-17 β -ol-3-one), um dos esteroides mais utilizados, empregando um eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de cobalto, obtendo um limite de detecção 0,16 μ M [111].

1.6 Sensores biomiméticos

A Química Bioinorgânica vem crescendo rapidamente nas últimas duas décadas e, conseqüentemente, suas descobertas e pesquisas têm trazido notoriedade à Ciência. Prova disso é o crescente número de artigos que mencionam a necessidade de íons metálicos em sistemas biológicos, assim como a presença de metais não essenciais incorporados na biologia humana para os diagnósticos de doenças e no tratamento das mesmas sob a ação de fármacos [112].

Simultaneamente, o desenvolvimento de sensores eletroquímicos baseados na utilização de análogos sintéticos de materiais biológicos, os compostos biomiméticos, vem sendo estudados devido sua melhoria de seletividade e sensibilidade, assim como as vantagens de simplificação do sistema, controle das condições de reação, diminuição de espécies interferentes presentes em amostras naturais e eliminação dos processos de extração e purificação de enzimas naturais [113].

Dentre os compostos mais utilizados, pode-se mencionar: as ciclodextrinas modificadas [114, 115], que imitam sítios de ligação enzimática; as monocamadas moleculares [116-118], que mimetizam membranas celulares; os polímeros impressos [119-123], que imitam receptores naturais, como anticorpos; e os complexos metálicos, os quais mimetizam sítios ativos enzimáticos. Sendo assim, a construção de um sensor biomimético é

promissora na área de desenvolvimento de procedimentos analíticos para determinação de diferentes espécies.

Por mimetizarem diferentes sítios ativos enzimáticos [30-34], os complexos de manganês tornam-se atrativos no desenvolvimento de sensores biomiméticos, como por exemplo, a construção de um sensor amperométrico para compostos fenólicos empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com ftalocianina de manganês e histidina, biomimetizador das enzimas *β-monooxigenase*, *peroxidase* e *tyrosinase* [124], um sensor eletroquímico baseado no complexo binuclear $[\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{II}}(\text{Ldtb})(\mu\text{-OAc})_2]\text{BPh}_4$, biomimetizador da enzima *peroxidase*, imobilizado em pasta de carbono para determinação de rutina [125], e recentemente, a utilização do complexo dinuclear oxo-manganês-fenantrolina incorporado em Nafion[®] sobre um eletrodo de carbono vítreo na determinação de diferentes espécies, sulfito e nitrito, e suas propriedades catalíticas na biomimetização das enzimas *sulfito* e *nitrito oxidase* [126, 127], respectivamente.

Na literatura há também relatos com a utilização de complexos de cobre(II) no desenvolvimento de sensores biomiméticos para determinação de catecolaminas (dopamina, levodopa, epinefrina e noraepinefrina) [128, 129], fenol [130, 131], ascorbato [132], sulfito [133], entre outros [134-139], complexos contendo ferro(II) aplicados à análise de captopril [140], paracetamol [141] e compostos fenólicos [142], entre outros complexos [143-145]. Sendo que, alguns destes apresentaram melhor e/ou comparável sensibilidade, seletividade e estabilidade quanto a sensores que utilizam componente biológico.

Quanto à utilização de complexos biomiméticos na determinação de substâncias consideradas proibidas no doping, recentemente, Ruy, Figueira e Taboada-Sotomayor [146] desenvolveram um sensor biomimético baseado no eletrodo de pasta de carbono modificado com complexo cobre(II)-ftalocianina (catalisador biomimético da enzima P450) para quantificação do diurético bumetanida. O sensor apresentou uma resposta linear entre $9,90 \times 10^{-7}$ e $8,30 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e limites de detecção e quantificação de $2,70 \times 10^{-7}$ e $9,00 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹, respectivamente.

2 OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se com este trabalho de dissertação sintetizar e caracterizar complexos oxo-manganês contendo diferentes ligantes buscando características estruturais, cinéticas e catalíticas semelhantes à complexos biomimetizadores de centros ativos enzimáticos para posterior aplicação eletroanalítica no desenvolvimento de sensores biomiméticos e determinação de espécies de interesse analítico.

3 SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE ELETROCATALÍTICA DO COMPLEXO METÁLICO-*SCHIFF* BIS(μ -OXO)DIMANGANÊS(IV)-N,N'-BIS(SALICILIDENO)-1,3-DIAMINOPROPANO

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho basearam-se em:

- ✓ Sintetizar o ligante precursor *N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano (*Salpn*);
- ✓ Sintetizar o complexo metálico bis(μ -oxo)dimanganês(IV)-*N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano ($[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$);
- ✓ Caracterizar o ligante e o complexo sintetizado por Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível e Infravermelho, Espectroscopia de Luminescência e Microscopia Eletrônica de Varredura;
- ✓ Caracterizar eletroquimicamente o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução;
- ✓ Preparar o eletrodo quimicamente modificado $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2/\text{Nafion}^{\text{®}}/\text{CV}$;
- ✓ Estudar o comportamento eletroquímico do eletrodo de carbono vítreo modificado com complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ imobilizado com *Nafion*[®];
- ✓ Investigar a atividade eletrocatalítica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução frente à H_2O_2 .

3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.2.1 Reagentes

Os reagentes utilizados nos experimentos, assim como suas fórmulas moleculares, procedência e pureza analítica encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Reagentes utilizados nos experimentos.

Reagente	Fórmula molecular	Procedência	Pureza (%)
1,3-propanodiamina	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	Aldrich	$\geq 99,0$
2-hidroxi-benzaldeído	$2-(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_4\text{CHO}$	Aldrich	$\geq 98,0$
Acetato de manganês(II)	$\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,0$
Ácido sulfúrico	H_2SO_4	Synth	$\geq 95,0$
Diclorometano	CH_2Cl_2	Vetec	$\geq 99,5$
Etanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Aldrich	$\geq 99,8$
Metanol	CH_3OH	Sigma-Aldrich	$\geq 99,8$
Nafion[®]	–	Sigma-Aldrich	–
Nitrogênio	$\text{N}_{2(\text{g})}$	White Martins	$\geq 99,9$
Óxido de alumínio	Al_2O_3	Aldrich	–
Perclorato de tetrabutilamônio	$(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{ClO}_4)$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,0$
Permanganato de potássio	KMnO_4	Synth	100%
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	Cinética	–

3.2.1.1 Reagentes utilizados nas sínteses

Para a síntese do ligante *Salpn* foram utilizados 2-hidroxi-benzaldeído, 1,3-propanodiamina e metanol. A síntese do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foi realizada utilizando acetato de manganês(II), hidróxido de sódio, peróxido de hidrogênio e metanol.

3.2.1.2 Reagentes utilizados nas medidas de caracterização

Na caracterização do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ por Espectroscopia na Região do UV-Visível e de Luminescência utilizou-se etanol anidro como solvente. Na caracterização dos mesmos por Espectroscopia na Região do Infravermelho

(FTIR) utilizou-se brometo de potássio para preparo das amostras. Por fim, a caracterização eletroquímica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução deu-se com a utilização de diclorometano como solvente e perclorato de tetrabutylamônio como eletrólito suporte.

3.2.1.3 Reagentes utilizados na modificação dos eletrodos

Para a modificação e imobilização do complexo sobre a superfície do eletrodo de trabalho foi utilizado Nafion[®] 5% m/v (ácido tetrafluoroetileno-perfluoro-3,6-dioxa-4-metil-7-octanosulfônico) e etanol anidro.

3.2.1.4 Reagentes utilizados na investigação eletroquímica de peróxido de hidrogênio com o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$

A investigação da atividade eletrocatalítica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução frente a peróxido de hidrogênio deu-se utilizando peróxido de hidrogênio (30 % v/v) e diclorometano, como solvente.

3.2.2 Soluções

3.2.2.1 Soluções utilizadas nas medidas de caracterização

Os espectros de absorção foram obtidos para soluções de $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ do ligante e do complexo diluídos em etanol. Os espectros de emissão do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foram obtidos para soluções de $1,0 \times 10^{-5}$, $1,0 \times 10^{-6}$, $1,0 \times 10^{-7}$ e $1,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ dos mesmos diluídos em etanol a temperatura ambiente. Os estudos eletroquímicos do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foram realizados em solução de 20 mL diclorometano contendo 0,1 mol L⁻¹ de perclorato de tetrabutylamônio como eletrólito de suporte e 1,0 mmol L⁻¹ do complexo diluído. Antes dos experimentos N_{2(g)} foi borbulhado por 15 minutos.

3.2.2.2 Solução utilizada na investigação eletroquímica de peróxido de hidrogênio com o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$

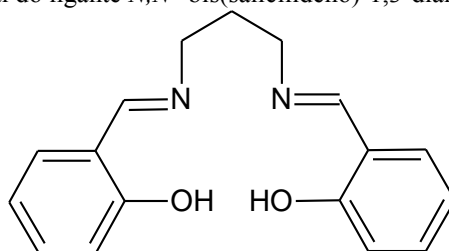
Para a investigação da atividade eletrocatalítica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ frente a peróxido de hidrogênio utilizou-se uma solução estoque de H_2O_2 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diclorometano contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio.

3.2.3 Sínteses

3.2.3.1 Síntese do ligante precursor: *N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano (*Salpn*)

A síntese do ligante *Salpn* foi realizada de acordo com os procedimentos descritos na literatura [147, 148]. Inicialmente foram preparadas soluções de 10,0 mmol de 2-hidroxi-benzaldeído em 100 mL de metanol e 5,0 mmol de 1,3-propanodiamina em 50 mL de metanol. A solução de 1,3-propanodiamina foi adicionada lentamente (gota a gota) à solução de 2-hidroxi-benzaldeído sob agitação constante e atmosfera de nitrogênio. Após total mistura das soluções, o sistema foi mantido em refluxo com aquecimento (40°C) por 3 horas. Decorrido este tempo, a mistura reacional contendo o sólido amarelo foi resfriada, filtrada e lavada com metanol e por fim, o sólido foi recristalizado em metanol.

Figura 4 - Representação estrutural do ligante *N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano.



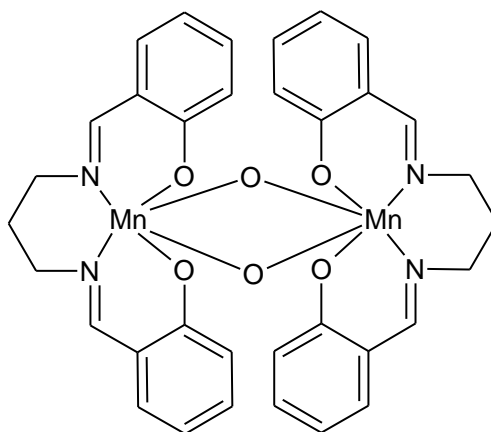
Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

3.2.3.2 Síntese do complexo metálico: Bis(μ -oxo)dimanganês(IV)-*N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano ($[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$)

A síntese do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foi efetuada com adaptações de procedimentos reportados na literatura [149]. O ligante *salpn* (1,81 g, 5,0 mmol) foi dissolvido em 100 mL de metanol, sem a exclusão de oxigênio e água. Em seguida, adicionaram-se 2 equivalentes de NaOH e a solução amarela resultante foi aquecida (40°C) e

agitada até a base dissolver-se completamente. Uma massa de $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1,22 g, 5,0 mmol) foi dissolvida em 25 mL de metanol, seguido pela adição de H_2O_2 30% até a solução tornar-se marrom escura. Por fim, a solução contendo os íons manganês foi adicionada lentamente à solução contendo o ligante e então agitada por 4 horas. O sólido marrom escuro formado foi filtrado, lavado e então recristalizado com metanol.

Figura 5 - Representação estrutural do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(IV)-*N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano.



Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

3.2.4 Caracterização do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ sintetizados

3.2.4.1 Caracterização morfológica por Microscopia Eletrônica de Varredura

O ligante *Salpn* e o complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ sintetizados foram caracterizados morfológicamente em um Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) Carl Zeiss modelo EVO LS15 equipado com detector de elétrons secundários (SE) em alto vácuo e temperatura constante.

3.2.4.2 Caracterização por Espectroscopia na Região do UV-Visível, Infravermelho e de Luminescência

As medidas de absorvâncias foram realizadas em um Espectrofotômetro UV-Visível (PerKinelmer), utilizando cubetas de quartzo de um centímetro de caminho óptico. Os espectros foram obtidos para soluções de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ do ligante e do complexo diluído em etanol empregando um intervalo de análise de 300 a 700 nm.

A caracterização dos compostos na região do infravermelho foi realizada em um espectrofotômetro com transformada de Fourier (Shimadzu, IRAffinity-1) utilizando um intervalo espectral de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 100 scans. As amostras foram diluídas em KBr na proporção de 1:100 (Amostra:KBr).

As medidas de luminescência foram realizadas em um espectrofluorímetro (PerKinelmer LS55) equipado com lâmpada de xenônio pulsante de 9,9 watt de potência com indicador de tempo de deterioração/decaimento e detecção via fotomultiplicadora R928 PMT disponível para toda escala e sincronicidade de varredura com comprimento de onda constante ou de diferença de frequência incluída, utilizando cubetas de quartzo de um centímetro de caminho óptico. Os espectros foram obtidos para soluções em diferentes concentrações do ligante e do complexo em metanol a temperatura ambiente com excitação fixa em 277 nm, fenda de excitação e de emissão de 10 nm e filtro de interrupção de 290 nm. Os espectros de excitação foram corrigidos automaticamente e os de emissão a partir de curva de calibração interna referente à fotomultiplicadora.

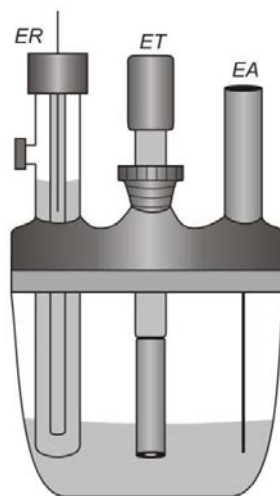
3.2.4.3 Caracterização Eletroquímica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em solução

Para a caracterização eletroquímica foram utilizados 20 mL de diclorometano com $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), como eletrólito de suporte, contendo $1,0\text{ mmol L}^{-1}$ do complexo dissolvido. Borbulhou-se nitrogênio por 15 minutos antes da realização das medidas eletroquímicas e durante as mesmas uma atmosfera de $\text{N}_{2(\text{g})}$ foi mantida.

3.2.5 Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram efetuadas empregando um potenciostato/galvanostato μ -Autolab Type III (Eco Chimie) conectado a um microcomputador, gerenciado pelo software GPES 4.9.7., em uma célula eletroquímica convencional contendo três eletrodos: eletrodo de fio de platina como eletrodo auxiliar, eletrodo de calomelano saturado (ECS) como eletrodo de referência e eletrodo de carbono vítreo (para caracterização eletroquímica do complexo em solução) e platina (para a modificação e estudo do eletrodo modificado) como eletrodo de trabalho (ambos com área = $0,071\text{ cm}^2$).

Figura 6 - Representação esquemática da célula eletroquímica com três eletrodos. ER = eletrodo de referência, ET = eletrodo de trabalho e EA = eletrodo auxiliar.



Fonte: Autoria própria.

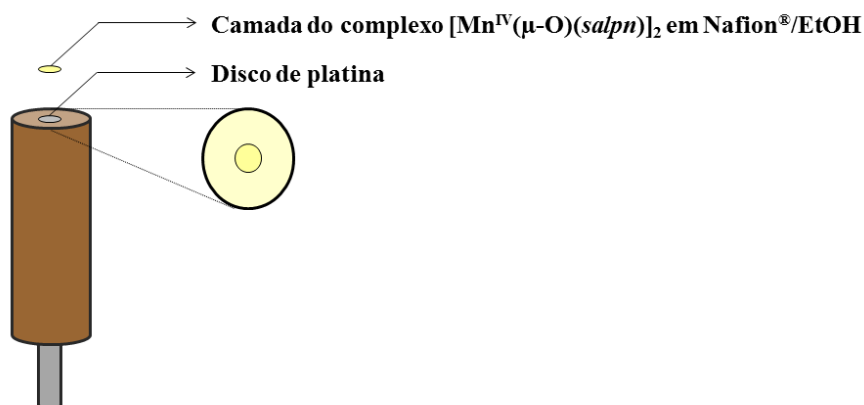
3.2.5.1 Limpeza dos eletrodos

Antes do uso, os eletrodos de trabalho foram submetidos a procedimentos de limpeza, sendo que, para o eletrodo de carbono vítreo as seguintes etapas foram realizadas: 1ª etapa – O eletrodo foi imerso em solução de detergente Micro-90[®] por 30 minutos, para remoção de materiais contaminantes, logo após lavado com água deionizada em abundância; 2ª etapa – Polimento com solução de abrasivo e lavagem com água deionizada em abundância; 3ª etapa – Polimento com suspensão de alumina (<50 nm) e lavagem com água deionizada em abundância; 4ª etapa – Por fim, polimento com algodão umedecido em etanol absoluto, seguido por uma lavagem com água deionizada e secagem com N_{2(g)}. Já para o eletrodo de platina, os procedimentos adotados foram: 1ª etapa – O eletrodo foi imerso em uma solução de permanganato de potássio por 24 horas, para oxidação de possíveis contaminantes; logo após foi lavado com água deionizada em abundância; 2ª etapa – O eletrodo foi imerso por 10 segundos em solução piranha (1:1 v/v peróxido de hidrogênio e ácido sulfúrico) e lavado com água deionizada em abundância, por três vezes. 3ª etapa – Polimento com solução de abrasivo e lavagem com água deionizada em abundância; 4ª etapa – Polimento com solução de alumina (<50 nm) e lavagem com água deionizada em abundância; 5ª etapa – Por fim, polimento com algodão umedecido em etanol absoluto, seguido por uma lavagem com água deionizada e secagem com N_{2(g)}.

3.2.5.2 Modificação do eletrodo de trabalho

Primeiramente, uma solução contendo 1,5 mg (2,0 μmol) do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ diluído em 500 μL de Nafion[®] e 1000 μL de etanol absoluto foi preparada. Esta solução foi submetida à agitação em ultrasonificador por 15 minutos. A seguir, a modificação do eletrodo de trabalho (eletrodo de platina) deu-se pela deposição de 5 μL desta solução sob a superfície do eletrodo de trabalho pelo método “*casting*”. O eletrodo foi mantido em dessecador por 4 horas até a completa evaporação do solvente e imobilização do material eletroativo. Finalmente, o eletrodo modificado foi lavado com água deionizada, seco a temperatura ambiente e submetido a medidas eletroquímicas.

Figura 7 - Representação esquemática da construção do eletrodo modificado $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ -Nafion[®]/Pt.



Fonte: Autoria própria.

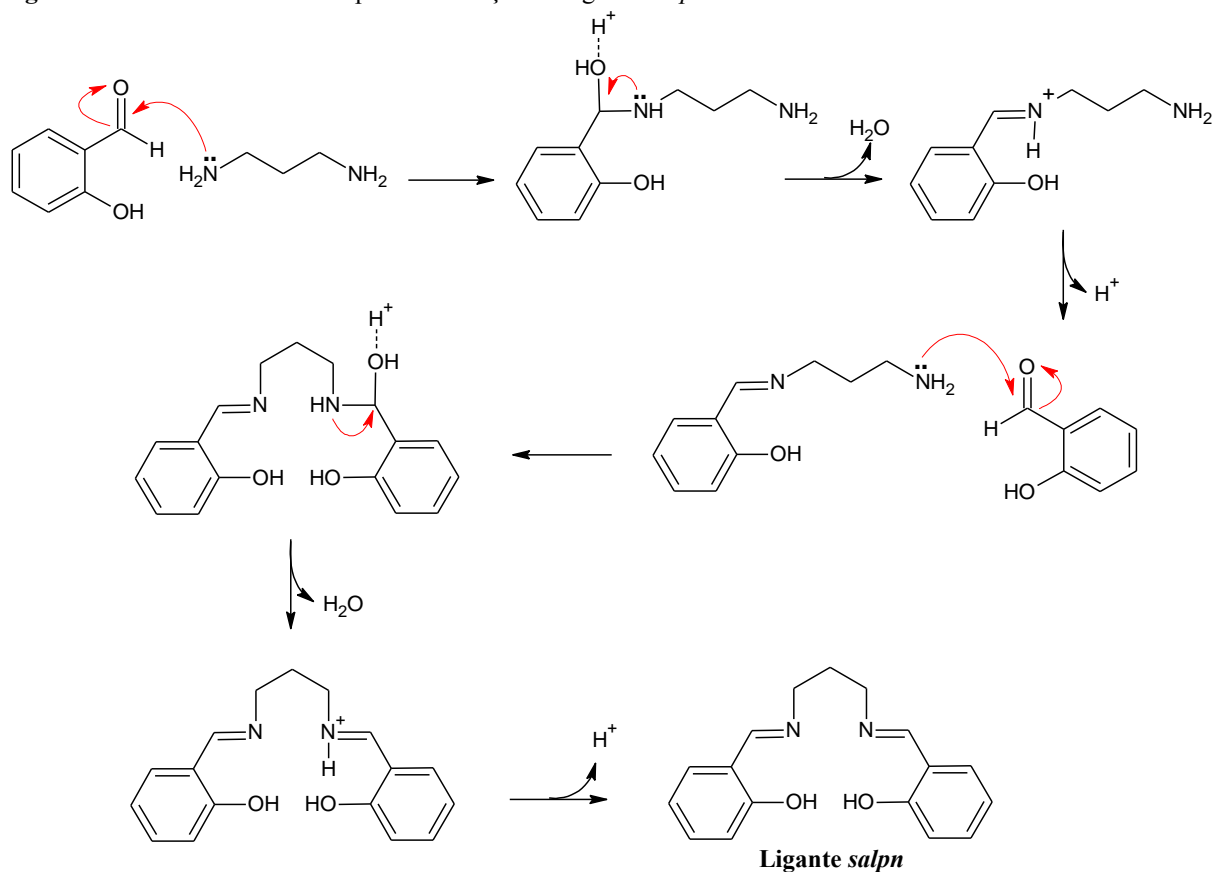
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.3.1 Síntese do ligante *Salpn*

O mecanismo de síntese de bases de *Schiff* baseia-se na adição nucleofílica de aminas compostos carbonílicos, como aldeídos ou cetonas, sob condições de refluxo, propiciando a formação de um intermediário carbinolamina, seguido por uma desidratação para geração de um composto com ligações imina [150]. Dessa forma, a síntese da base de *Schiff Salpn* ocorre por um mecanismo de adição de 1,3-propanodiamina a 2-hidroxi-benzaldeído, onde a primeira etapa desta reação ocorre através do ataque nucleofílico do nitrogênio de 1,3-propanodiamina à carbonila de 2-hidroxi-benzaldeído, resultando em um intermediário instável. Após a eliminação do grupo hidroxila há a formação da ligação imina (C=N) e a

outra amina restante de 1,3-propanodiamina ataca a carbonila de uma nova molécula de 2-hidroxi-benzaldeído, acontecendo então etapas de eliminação da hidroxila e abstração do próton, similares às que ocorrem nas etapas anteriores (Figura 8). De acordo com esta síntese obteve-se um rendimento equivalente a 87%.

Figura 8 - Mecanismo reacional para a formação do ligante *Salpn*.



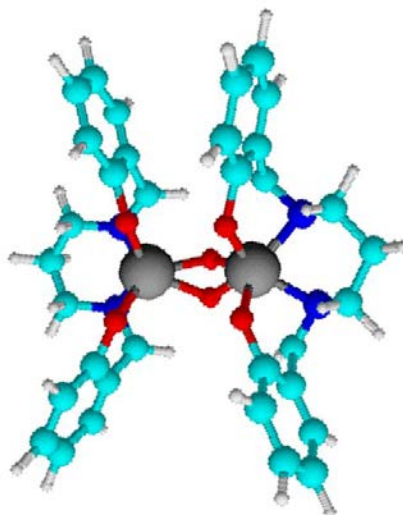
Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

3.3.2 Síntese do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$

A estrutura do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ consiste de dois centros metálicos de Mn(IV) conectados por duas pontes $\mu\text{-O}$, obtendo um núcleo Mn_2O_2 planar com uma separação $\text{Mn}\cdots\text{Mn}$ de 2,728(1) Å, distância esta semelhante à encontrada nos núcleos do fotossistema II [36] e na enzima Mn-catalase em seu estado superoxidado [151, 152]. O ligante *salpn* doa dois átomos de oxigênio fenólico e dois átomos de nitrogênio imina completando de modo axial o ambiente de coordenação octaédrica em torno de cada átomo de manganês, deixando então dois sítios *cis* abertos para os grupos $\mu\text{-O}$. A adoção deste modo de ligação coloca um átomo de oxigênio fenólico e um átomo de nitrogênio imina em posição *trans* aos grupos $\mu\text{-O}$ e um doador de cada tipo em posição *cis* em relação ao átomo de

oxigênio em ponte. Uma distinção no comprimento das ligações *trans* dos grupos μ -O são observadas, com distâncias de Mn–O dos átomos de oxigênio fenolato *cis* e *trans* sendo 1,903(1) e 1,929(1) Å, respectivamente, e as distâncias de Mn–N dos átomos de nitrogênio *cis* e *trans* iguais a 2,012(1) Å e 2,065(1), respectivamente [36].

Figura 9 - Representação estrutural em 3D do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(IV)-*N,N'*-bis(salicilideno)-1,3-diaminopropano, onde Mn = cinza, O = vermelho, N = azul, C = ciano e H = branco.

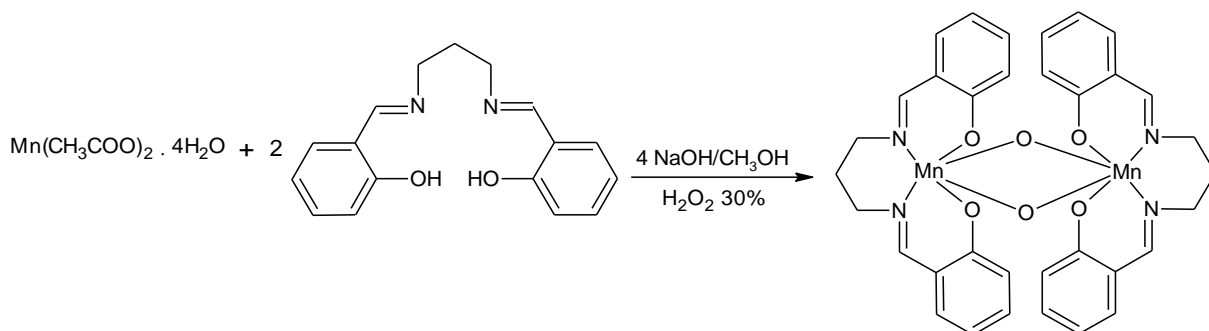


Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

Dessa forma, diferentes métodos de síntese do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ são reportados na literatura [153-155]. O mais próximo da síntese realizada neste trabalho foi desenvolvido por Larson e seus colaboradores e baseia-se na oxidação aeróbica do produto oriundo da mistura de acetato de manganês(III) com o ligante *Salpn* [149].

A utilização de peróxido de hidrogênio como agente oxidante na síntese de complexos de manganês tem sido relatada [156-158]. Nestes trabalhos, diferentes ligantes foram utilizados na preparação de complexos de manganês(IV). Ademais, nota-se que, os complexos sintetizados são binucleares e os centros metálicos estão conectados através de pontes μ -oxo, o que vai ao encontro com a proposta de síntese realizada (Figura 10). Obteve-se um rendimento de 85%.

Figura 10 - Representação esquemática para a formação do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$.



Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

3.3.3 Caracterização morfológica do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ por Microscopia Eletrônica de Varredura

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para caracterizar morfológicamente os sólidos sintetizados. Dessa forma, o ligante *Salpn* e o complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foram submetidos à análises em um microscópio eletrônico de varredura.

As Figuras 11 e 12 exibem as imagens obtidas para o ligante *Salpn* e para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$, respectivamente. Nestas, é possível observar que para o ligante (Figura 11), os cristais formados não apresentam formas bem definidas, enquanto que para o complexo (Figura 12), os cristais apresentam-se em maior parte na forma hexagonal. Além do mais, é nítida a diferença de tamanho entre os cristais do ligante e do complexo.

Figura 11 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura para o ligante *Salpn* em 10 μm (esquerda) e 100 μm (direita).

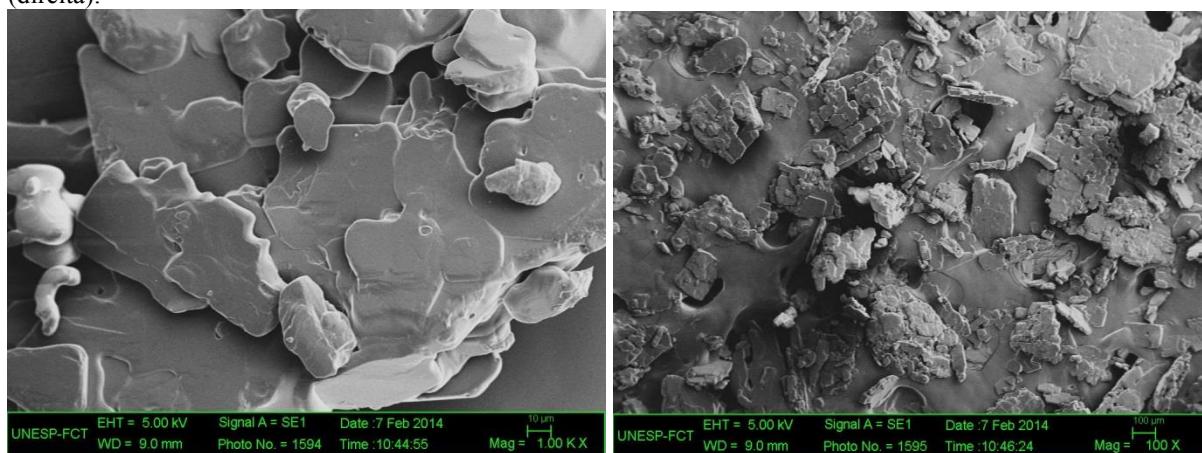
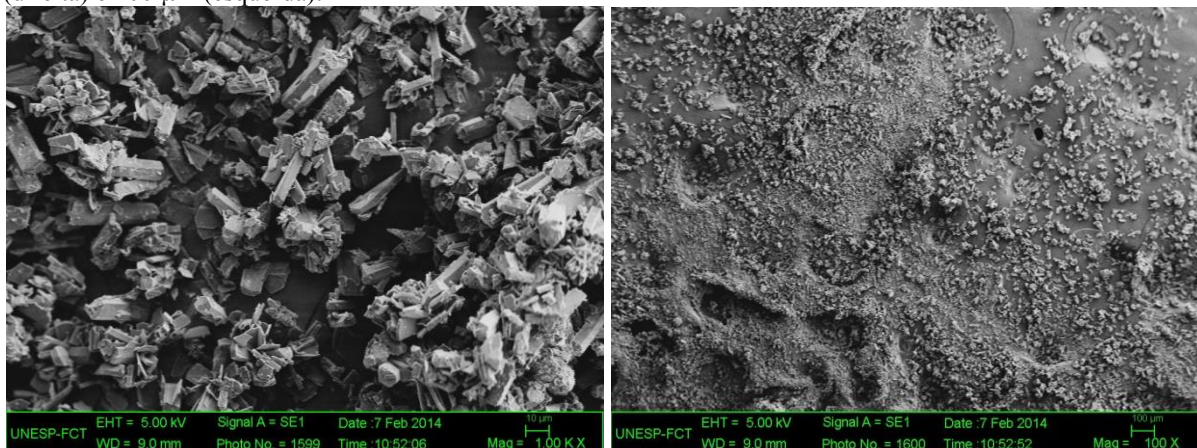


Figura 12 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em 10 μm (direita) e 100 μm (esquerda).

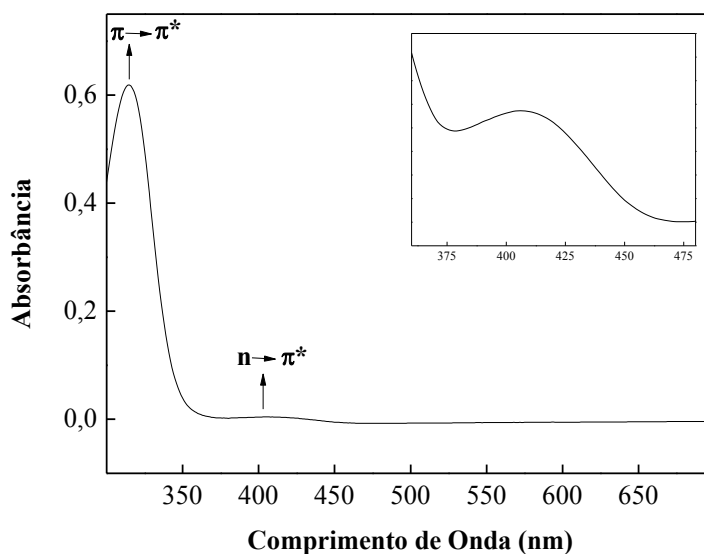


3.3.4 Caracterização do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível

A confirmação do ligante *Salpn* e do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ sintetizados foi investigada utilizando a técnica de espectroscopia de absorção na região do UV-Vís. As medidas foram realizadas em um intervalo espectral de 300 a 700 nm com concentração de $1,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ dos compostos diluídos em etanol.

O espectro obtido para o ligante *Salpn* apresentou duas bandas de absorção (Figura 13). A banda de alta intensidade em 314 nm pode ser atribuída às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo cromóforo para um orbital antiligante do anel aromático [159] ou às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos elétrons provenientes de um orbital π para um orbital molecular π^* característico dos sistemas π -conjugado dos anéis aromáticos [159, 160] e a banda de baixa intensidade observada em 408 nm refere-se à transição $n \rightarrow \pi^*$ de um elétron do par isolado do átomo de nitrogênio do grupo cromóforo (C=N), característico das bases de *Schiff*, para um orbital antiligante do grupo imina [159, 161, 162].

Figura 13 - Espectros de absorção obtidos para $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ do ligante *Salpn* diluído em etanol.



Para o complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ três bandas de absorção foram observadas (Figura 14), sendo as duas primeiras bandas atribuídas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ (325 nm) e $n \rightarrow \pi^*$ (405 nm) características das bases de *Schiff*, como mencionado anteriormente, e uma nova banda de absorção em 488 nm, referente à transferência de carga metal-ligante (TCML) [163].

Os complexos di- $\mu\text{-O}$ podem apresentar três tipos de transições eletrônicas [164]: (1) transição $d-d$ do centro metálico; (2) transição $d-d$ entre os centros metálicos do mesmo complexo, e (3) transição entre o metal e o ligante.

O íon Mn^{IV} exibe uma configuração eletrônica de um sistema d^3 , no qual a transição eletrônica $d-d$ ocorre dos orbitais $t_{2g}^3 \rightarrow t_{2g}^2 e_g^1$, sendo este mecanismo predominante em regiões de alta energia com o envolvimento de um único elétron no processo de transferência [164].

A transferência de carga metal-ligante ($\text{Mn}^{\text{IV}}\text{-oxo}$) tende a ocorrer preferencialmente no orbital d_{xy} (o qual está no plano da ligação $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{-oxo}$), do que a transição dz^2 (que está perpendicular ao plano $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{-oxo}$) [165]. Já as transições dos orbitais dxz e dyz apresentam menor energia, e conseqüentemente menor transferência de carga, por estarem perpendiculares ao plano de $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{-oxo}$ [165]. Sendo assim, espera-se que as transições aconteçam através da transferência de carga entre o orbital d_{xy} do $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{-oxo}$.

Os valores das bandas de absorção e suas respectivas atribuições foram listados na Tabela 2.

Figura 14 - Espectros de absorção obtidos para $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ diluído em etanol.

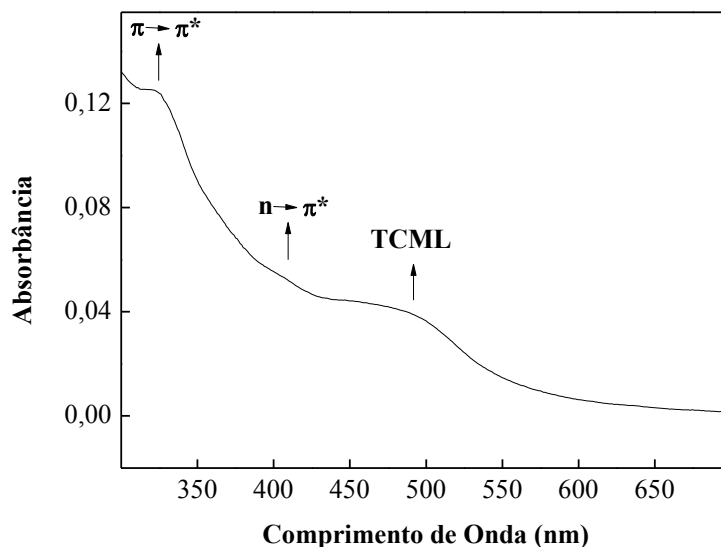


Tabela 2 - Atribuição das bandas de absorção observadas nos espectro referente ao ligante *Salpn* e ao complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ dissolvido em etanol.

<i>Salpn</i>		$[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$		Referência
Banda (nm)	Atribuição	Banda (nm)	Atribuição	
314	$\pi \rightarrow \pi^*$	325	$\pi \rightarrow \pi^*$	[159-161]
408	$n \rightarrow \pi^*$	405	$n \rightarrow \pi^*$	[159, 161, 162]
—	—	488	$d\pi \rightarrow \pi^*$	[163, 164]

3.3.5 Caracterização do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ por Espectroscopia na Região do Infravermelho

A formação do ligante *Salpn* e do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ sintetizados também foi investigada utilizando a técnica de espectroscopia na região do infravermelho (FTR). Os espectros, apresentados na Figura 15, foram obtidos através da análise em pastilhas de KBr na proporção de 1:100 (Amostra:KBr), utilizando um intervalo espectral de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} .

As principais bandas características dos ligantes de base de *Schiff* são atribuídas as ligações do tipo estiramento C=N, por sua vez, estas foram observadas em 1635 cm^{-1} e 1622 cm^{-1} para o ligante *Salpn* e o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$, respectivamente. Estiramentos do tipo >C–O fenólico, O–H fenólico e C=C conjugados também foram observados nos espectros, os quais são característicos de ligantes do tipo *Salpn* [159, 161]. Os valores das principais bandas vibracionais e as respectivas atribuições estão listados na Tabela 3.

Figura 15 - Espectros vibracionais referentes ao ligante *Salpn* (linha **preta**) e ao complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ (linha **vermelha**) obtidos através de pastilhas de KBr na proporção de 1:100 (Amostra:KBr) em um intervalo espectral de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} .

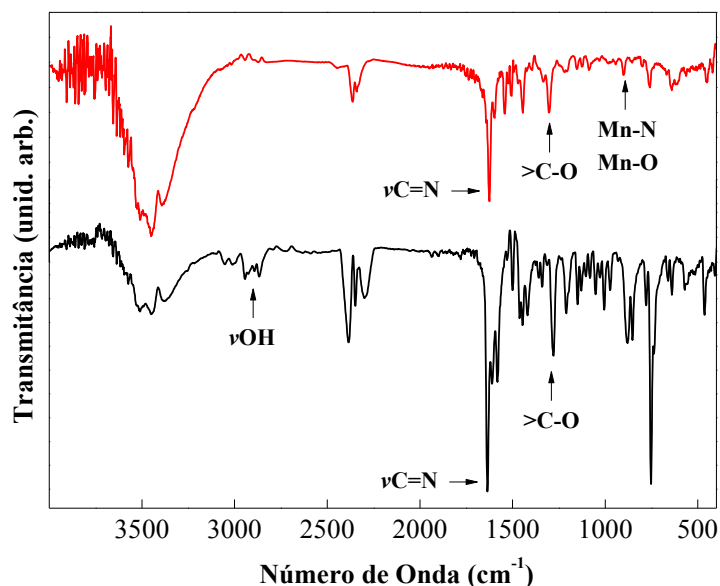


Tabela 3 - Atribuição das principais bandas vibracionais observadas nos espectros vibracionais referente ao ligante *Salpn* e ao complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$.

<i>Salpn</i>			$[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$		
Banda (cm^{-1})	Atribuição	Referência	Banda (cm^{-1})	Atribuição	Referência
2944-2866	$\nu\text{OH}_{\text{fenólico}}$	[161, 166]	1622	$\nu\text{C}=\text{N}$	[159, 166]
1635	$\nu\text{C}=\text{N}$	[159, 166]	1506	$\nu\text{C}=\text{C}$	[166]
1498	$\nu\text{C}=\text{C}$	[166]	1445	$-\text{CH}_2-$	[167]
1444	$-\text{CH}_2-$	[167]	1301-1089	$>\text{C}-\text{O}$	[161, 166]
1277-1004	$>\text{C}-\text{O}$	[161, 166]	880	Mn-N	[167]
753-566	$\delta\text{C}-\text{H}$	[167]	850	Mn-O	[167]
			755-639	$\delta\text{C}-\text{H}$	[167]

Quando comparados os valores das principais bandas vibracionais em ambos os espectros, pequenas mudanças podem ser observadas, estas são atribuídas à coordenação do cátion manganês(IV) ao centro de coordenação N_2O_2 do ligante *Salpn* [166, 168]. Entre elas, o desaparecimento da banda observada em $2944\text{-}2866\text{ cm}^{-1}$ correspondente ao estiramento $\text{O}-\text{H}_{\text{fenólico}}$ devido às coordenações dos cátions manganês(IV) com átomos de oxigênio presentes nos ligantes *Salpn*, assim como o deslocamento da banda 1635 cm^{-1} para 1622 cm^{-1} atribuída

ao estiramento C=N também relacionado com a coordenação com o cátion metálico. Ainda com relação ao complexo, bandas de média intensidade em 880 cm^{-1} e 850 cm^{-1} relacionadas aos estiramentos Mn–N e Mn–O, respectivamente, puderam ser observadas.

3.3.6 Caracterização do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ por Espectroscopia de Luminescência

As propriedades luminescentes do ligante *Salpn* e do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ sintetizados foram avaliadas por meio de medidas espectrofotométricas utilizando soluções de diferentes concentrações ($1,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-8}\text{ mol L}^{-1}$) do ligante e do complexo dissolvidos em diclorometano. Os espectros foram obtidos com comprimento de onda de excitação fixo em 277 nm, fenda de excitação e emissão 10 nm e filtro de 290 nm.

As Figuras 16 e 17 apresentam os espectros de emissão em diferentes concentrações do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$, onde para ambos compostos quatro bandas foram observadas, estas referentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ da base de *Schiff*.

Analisando os espectros, nota-se que com o decréscimo da concentração há um aumento na intensidade de emissão e quando comparados os espectros do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ com os do ligante *Salpn*, há uma supressão da intensidade de luminescência. Isto se deve, possivelmente, a menor disponibilidade de elétrons π e de grupos cromóforos para absorver energia quando o metal está coordenado, o que proporciona consequentemente emissões de menor intensidade.

Figura 16 - Espectro de emissão para o ligante *Salpn* dissolvido em CH_2Cl_2 em diferentes concentrações: $1,0 \times 10^{-5}$ (linha preta), $1,0 \times 10^{-6}$ (linha vermelha) e $1,0 \times 10^{-7}\text{ mol L}^{-1}$ (linha azul).

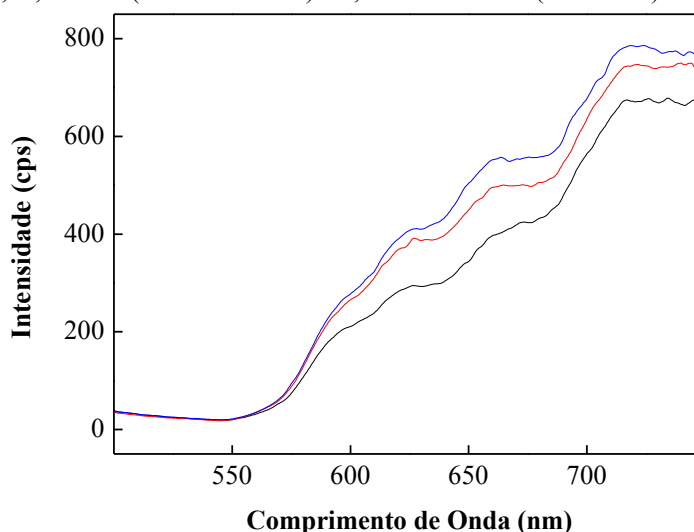
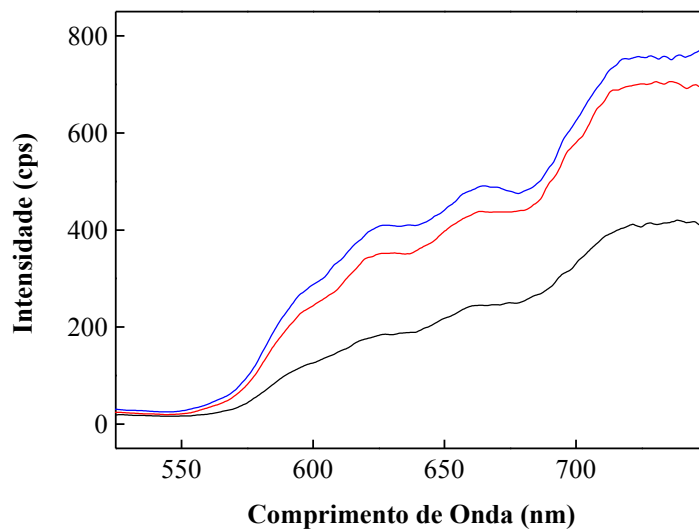
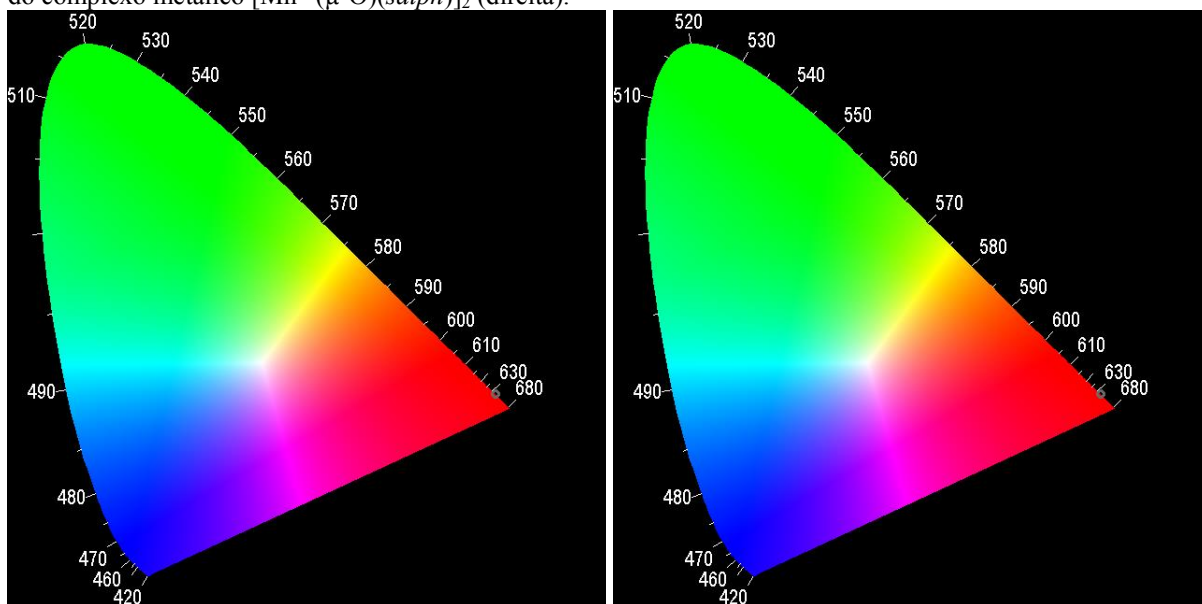


Figura 17 - Espectro de emissão para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ dissolvido em CH_2Cl_2 em diferentes concentrações: $1,0 \times 10^{-5}$ (linha **preta**), $1,0 \times 10^{-6}$ (linha **vermelha**) e $1,0 \times 10^{-8}$ (linha **azul**) mol L^{-1} .



Também, diagramas de cromaticidade foram obtidos a partir dos espectros de emissão do ligante *Salpn* e do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ (Figura 18). Estes revelaram um comprimento de onda (λ) dominante em aproximadamente 640 nm e pureza de cor equivalente a 100% para ambos compostos, já que as bandas foram similares entre eles.

Figura 18 - Diagrama de cromaticidade obtido a partir dos espectros de emissão do ligante *Salpn* (esquerda) e do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ (direita).



3.3.7 Caracterização Eletroquímica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução

Os estudos eletroquímicos do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução foram realizados em diclorometano contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA),

como eletrólito de suporte, e $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do complexo metálico. Os voltamogramas foram obtidos em um intervalo de potencial de $-0,8$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ utilizando uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} , tendo tratado a solução com $\text{N}_2(\text{g})$ por 15 minutos. O solvente CH_2Cl_2 foi inicialmente utilizado por ter apresentado melhor solubilidade ao complexo e as demais condições para a caracterização eletroquímica em solução foram determinadas em concordância com os experimentos. O voltamograma cíclico para o complexo em solução apresentou um par redox atribuído à $\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})\text{Mn}^{\text{IV}}/\text{Mn}^{\text{VI}}(\mu\text{-O})\text{Mn}^{\text{III}}$, sendo o pico anódico (E_{pa}) em $-0,390 \text{ V vs. ECS}$ e o pico catódico (E_{pc}) em $-0,517 \text{ V vs. ECS}$, como pode ser observado na Figura 19. Uma variação de potencial de pico ($\Delta E_{\text{p}} = E_{\text{pa}} - E_{\text{pc}}$) equivalente a $0,127 \text{ V}$, indicando um processo *quasi-reversível* para o par redox, e um potencial de meia ($E_{\text{p}/2} = (E_{\text{pa}} + E_{\text{pc}})/2$) de $-0,454 \text{ V vs. ECS}$ foram obtidos.

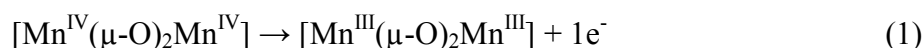
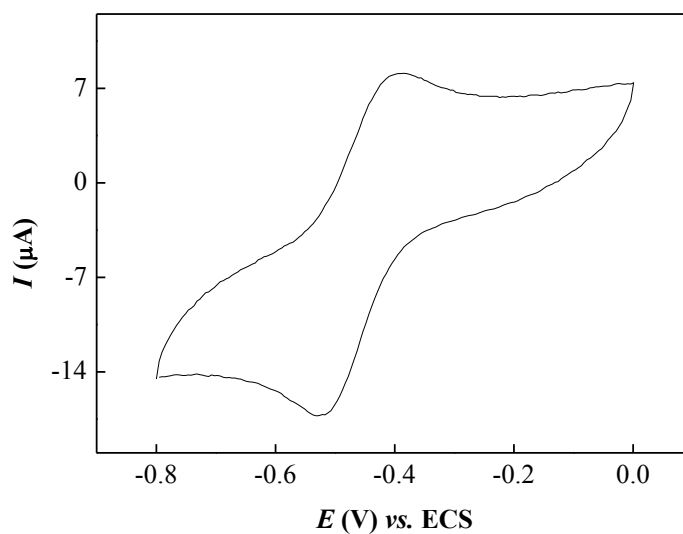


Figura 19 - Voltamograma cíclico para complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução de CH_2Cl_2 contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de $-0,8$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .



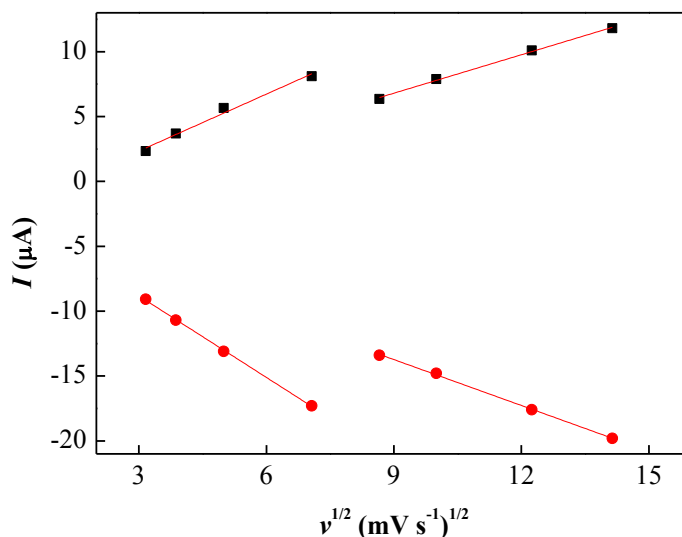
O potencial de meia do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em solução de diclorometano foi menor em comparação aos complexos $\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})\text{Mn}^{\text{IV}}$ contendo diferentes ligantes reportados na literatura (Tabela 4), chegando a ser $1,7 \text{ V}$ menor. Este resultado é um indicativo da capacidade notável de ligantes de bases de *Schiff*, particularmente os doadores fenolatos, de estabilizar cátions metálicos com elevados estados de oxidação.

Tabela 4 - Comparação do potencial de meia de complexos binucleares de manganês(IV).

Complexo	$E_{p/2}$ (V) vs. ECS	Referência
$[\text{Mn}_2^{\text{IV}}\text{O}_2(\text{phen})_4]^{4+}$	1,33	[169]
$[\text{Mn}_2^{\text{IV}}\text{O}_2(\text{bpy})_4]^{4+}$	1,32	[169]
$[\text{Mn}_2^{\text{IV}}\text{O}_2(\text{Me}_1\text{tpa})_2]^{4+}$	1,27	[170]
$[\text{Mn}_2^{\text{IV}}\text{O}_2(\text{pic})_4]$	0,66	[154]
$[\text{Mn}_2^{\text{IV}}\text{O}_2(\text{O}_2\text{CMe})\text{Cl}_2(\text{bpy})_2]^+$	0,30	[171]
$[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$	-0,45	Este trabalho

O efeito da velocidade de varredura (10 a 200 mV s^{-1}) sobre o comportamento eletroquímico do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foi estudado com este (1,0 mmol L^{-1}) em solução de diclorometano contendo 0,1 mol L^{-1} de perclorato de tetrabutilamônio utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,8 a 0,0 V vs. ECS.

Os voltamogramas cíclicos registrados exibiram um incremento na corrente de pico anódico e catódico e uma linearidade entre estas com a raiz quadrada das velocidades de varredura de 10 a 50 mV s^{-1} e de 75 a 200 mV s^{-1} , como apresentado na Figura 20, sugerindo que os processos redox do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução são controlados por um mecanismo difusional [100].

Figura 20 - Dependência das correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) com a raiz da velocidade de varredura.

$$I_{pa} (\mu\text{A}) = -2,05 \times 10^{-6} + 1,46 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV}^{1/2} \text{s}^{-1/2}) \quad (n = 4, R = 0,981) \quad (2)$$

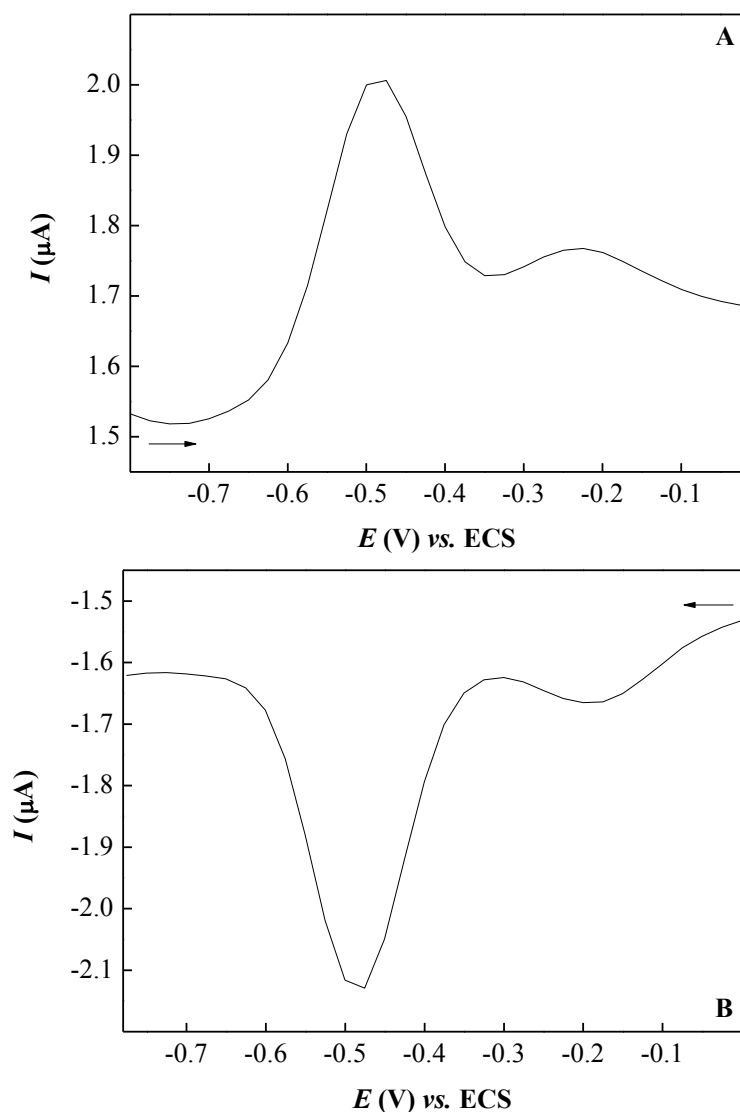
$$I_{pc} (\mu\text{A}) = -2,09 \times 10^{-6} + 9,88 \times 10^{-7} v^{1/2} (\text{mV}^{1/2} \text{s}^{-1/2}) \quad (n = 4, R = 0,997) \quad (3)$$

$$I_{pc} (\mu\text{A}) = -2,54 \times 10^{-6} - 2,09 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV}^{1/2} \text{s}^{-1/2}) \quad (n = 4, R = 0,999) \quad (4)$$

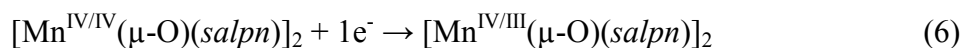
$$I_{pc} (\mu\text{A}) = -3,11 \times 10^{-6} - 1,18 \times 10^{-6} v^{1/2} (\text{mV}^{1/2} \text{s}^{-1/2}) \quad (n = 4, R = 0,999) \quad (5)$$

A caracterização eletroquímica em solução também foi realizada por voltametria de pulso diferencial, aplicando um intervalo de potencial de -0,8 V a 0,0 V vs. ECS a 25 mV s⁻¹ com pulso de 50 mV. A Figura 21 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial no sentido de oxidação e redução. Nestes voltamogramas dois processos redox no sentido anódico e catódico foram observados, resultados os quais são distintos dos obtidos utilizando a técnica de voltametria cíclica.

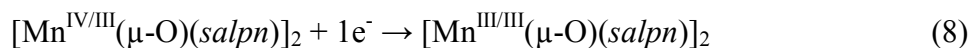
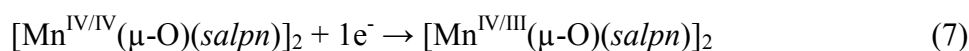
Figura 21 - Voltamograma de pulso diferencial para complexo [Mn^{IV}(μ-O)(salpn)]₂ (1,0 mmol L⁻¹) em solução de CH₂Cl₂ contendo 0,1 mol L⁻¹ de PTBA utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de -0,8 a 0,0 V vs. ECS com uma velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹ e amplitude de pulso de 50 mV, sendo **a**) sentido anódico e **b**) sentido catódico.



Os estudos de voltametria cíclica de Gohdes e Armstrong [154] reportaram que, os processos eletroquímicos do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ seriam atribuídos ao par redox $\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})\text{Mn}^{\text{IV}}/\text{Mn}^{\text{VI}}(\mu\text{-O})\text{Mn}^{\text{III}}$ (Equação 6), o qual corrobora com os resultados obtidos inicialmente.



No entanto, o aparecimento dos picos em -0,487 V e -0,236 V vs. ECS no sentido anódico e -0,488 V e -0,163 V vs. ECS no sentido catódico no estudo eletroquímico utilizando voltametria de pulso diferencial revela um efeito de comproporcionamento. Esse efeito está relacionado com a oxidação/redução de um centro metálico do complexo que resulta em uma mudança de densidade eletrônica da unidade molecular que é prontamente comunicada ao outro sítio metálico através da ponte $\mu\text{-O}$, tornando mais difícil a segunda etapa de oxidação/redução [172], como representado nas Equações 7 e 8:



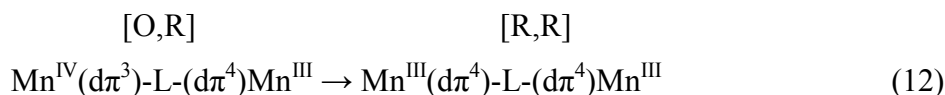
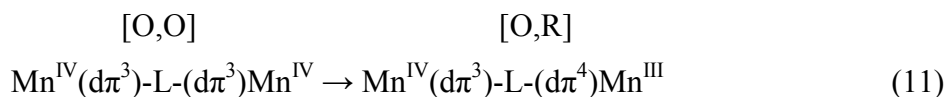
3.3.7.1 Efeito de Comproporcionamento para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução

As reações de comproporcionamento podem ser elucidadas como uma manifestação direta de comunicação eletrônica entre os centros metálicos de complexos binucleares, onde há uma separação de potenciais redox para os núcleos metálicos em ambientes químicos aparentemente idênticos. Os centros metálicos destes complexos podem não estar diretamente ligados, já que essa interação propaga-se através do ligante-ponte. Deste modo, o centro metálico quando reduzido propicia uma mudança de densidade eletrônica na extensão da molécula, que é prontamente comunicada ao outro centro metálico por intermédio do ligante-ponte, ocasionando em uma redução “mais difícil” [172, 173]. As equações a seguir representam a diferença do potencial redox dos centros metálicos:





Sendo assim, a comunicação eletrônica é originada pela sobreposição dos orbitais $d\pi$ dos núcleos metálicos com os orbitais π dos ligantes, o que torna os elétrons deslocalizados, fazendo com que o elétron “par” do núcleo metálico atue como uma carga oscilante na comunicação durante os processos redox. Considerando que, o complexo metálico binuclear $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ envolve duas etapas eletroquímicas o mecanismo eletroquímico-eletroquímico pode ser representado por:



Segundo Richardson e Taube [172, 174, 175], o efeito de comproporcionamento para compostos que sofrem várias etapas de transferência de carga do tipo:



pode ser analisado de acordo com o valor da constante de comproporcionamento (K_C), conforme a Equação 14:

$$K_C = \frac{[\text{B}]^{n_1+n_2}}{[\text{C}]^{n_1}[\text{A}]^{n_2}} = \exp \left[\frac{(E_1^\circ - E_2^\circ)n_1 n_2 F}{RT} \right] \quad (14)$$

onde E_1 e E_2 são os potenciais de pico, n_1 e n_2 o número de elétrons envolvidos em cada etapa eletroquímica, F a constante de Faraday, R a constante dos gases reais e T a temperatura absoluta (Kelvin). Sendo que para um sistema simples, ou seja, uma reação que envolva um único elétron no processo de transferência em cada etapa redox ($n_1 = n_2 = 1$), a Equação 14 pode ser simplificada para:

$$K_c = \exp\left(\frac{\Delta E_{1/2}}{25,69 \text{ mV}}\right) \quad (15)$$

onde $\Delta E_{1/2}$ é a diferença entre os potenciais de meia onda e deve ser dado em mV.

A constante de comproporcionamento pode também classificar os complexos de acordo com a intensidade de interação eletrônica entre o centro metálico doador e aceptor. Sendo assim, Robin e Day [172, 176] categorizam em:

Classe I: compostos em que a interação entre os centros redox é muito fraca, de modo que apenas as propriedades individuais de cada núcleo redox isolado sejam evidenciadas (valores de $K_c < 10^2$);

Classe II: compostos com fraco acoplamento eletrônico, mas com perturbações nas características originais dos centros redox, que permitem novas propriedades não associadas às espécies isoladas são evidenciadas (valores de $K_c > 10^6$);

Classe III: compostos com forte interação eletrônica, que permite novas propriedades, sendo estas totalmente diferentes daquelas de suas unidades componentes ($10^6 < K_c < 10^2$).

A Tabela 5 apresenta os valores de potencial de meia onda obtidos nos voltamogramas de pulso diferencial para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em diferentes velocidades de varredura com relação ao primeiro e ao segundo par redox, a diferença entre os potenciais de meia onda e a constante de comproporcionamento calculada utilizando a Equação 15.

Tabela 5 - Valores de potencial de meia onda obtidos nos voltamogramas de pulso diferencial para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em diferentes velocidades de varredura com relação ao primeiro par redox ($E_{1/2}^{(1)}$), ao segundo par redox ($E_{1/2}^{(2)}$), a variação entre eles ($\Delta E_{1/2}$) e a constante de comproporcionamento calculada.

ν (mV s ⁻¹)	$E_{1/2}^{(1)}$ (mV)	$E_{1/2}^{(2)}$ (mV)	$\Delta E_{1/2}$ (mV)	K_c
5	-479	-198	-339	$1,86 \times 10^{-6}$
25	-488	-200	-344	$1,53 \times 10^{-6}$
50	-486	-213	-350	$1,21 \times 10^{-6}$
75	-494	-213	-354	$1,04 \times 10^{-6}$
100	-500	-213	-357	$0,92 \times 10^{-6}$
150	-495	-212	-354	$1,04 \times 10^{-6}$
200	-500	-200	-350	$1,21 \times 10^{-6}$

Independente da velocidade de varredura aplicada, de acordo com a Equação 10, o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ pode ser classificado como um composto com interação eletrônica entre os centros redox muito fraca (*Classe I*) devido suas constantes de comproporcionamento na ordem de 10^{-6} .

Outro parâmetro que pode ser analisado a partir dos valores obtidos é a relação da constante de comproporcionamento com a energia de Gibbs padrão (ΔG°), a qual pode ser representada por:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_c \quad (16)$$

Dessa forma, as transições eletrônicas podem exibir um caráter exergônico, quando $\Delta G^\circ < 0$ sendo termodinamicamente favoráveis, ou endergônico, quando $\Delta G^\circ > 0$ sendo termodinamicamente desfavoráveis, onde as espécies doadoras ou receptoras de elétrons que compõe o sistema devem ser química ou eletroquimicamente distintas. Esta diferença entre as espécies é imprescindível para que uma variação de energia durante o processo de transferência eletrônica ocorra. De acordo com os resultados obtidos (Tabela 6), a redução do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução apresentou-se termodinamicamente desfavorável para todas velocidades de varredura com valores de ΔG° na ordem de kJ mol^{-1} .

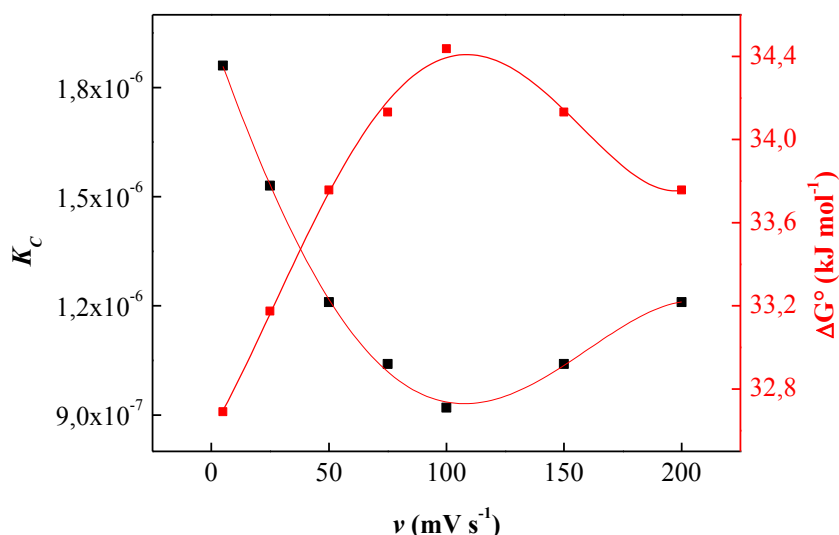
Tabela 6 - Valores de energias de Gibbs padrão calculadas utilizando a Equação 16 para as diferentes velocidades de varredura aplicadas.

$v \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$	$\Delta G^\circ \text{ (kJ mol}^{-1}\text{)}$
5	32,691
25	33,175
50	33,757
75	34,132
100	34,436
150	34,132
200	33,757

A Figura 22 apresenta a variação dos valores das constantes de comproporcionamento e energia de Gibbs padrão calculados para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução para distintas velocidades de varredura. Através desta, pode-se notar que, conforme o aumento da velocidade de varredura até 100 mV s^{-1} , mais fraca torna-se a

interação eletrônica entre os centros redox do complexo, isto porque a cinética torna-se rápida a ponto de um núcleo não comunicar-se efetivamente com o outro, o que conseqüentemente, desfavorece a reação (aumento do ΔG°).

Figura 22 - Valores de constante de comproporcionamento e energia de Gibbs padrão calculados para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em solução em função da velocidade de varredura aplicada na voltametria de pulso diferencial.

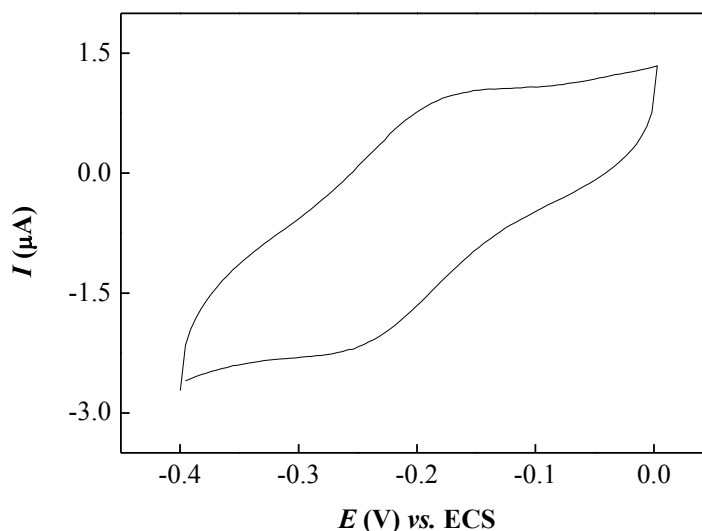


3.3.8 Comportamento eletroquímico do eletrodo de platina modificado com complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ imobilizado com Nafion[®]

Após a modificação da superfície do eletrodo de trabalho com complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ imobilizado com Nafion[®], o comportamento eletroquímico do eletrodo modificado ($[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2\text{-Nafion}^{\text{®}}/\text{Pt}]$) foi investigado por voltametria cíclica em uma solução aquosa de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,2) na ausência de oxigênio dissolvido. O voltamograma cíclico, obtido em um intervalo de potencial menor que o intervalo utilizado nos estudos do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em solução (-0,4 a 0,0 V vs. ECS), revelou um único processo redox (Equação 17), sendo $E_{\text{pa}} = -0,179 \text{ V}$ e $E_{\text{pc}} = -0,248 \text{ V vs. ECS}$, $\Delta E_p = 0,069 \text{ V}$ e $E_{\text{p}/2} = -0,214 \text{ V vs. ECS}$, caracterizando um processo *quasi*-reversível (Figura 23).

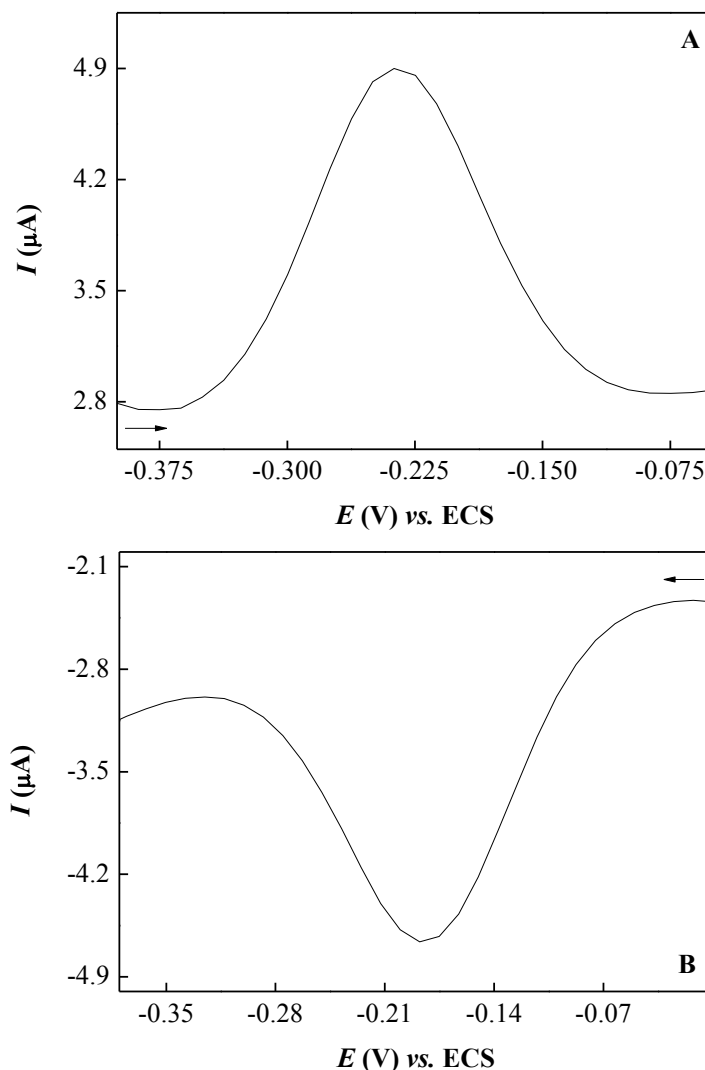


Figura 23 - Voltamograma cíclico obtido para o $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2\text{-Nafion}^{\text{®}}/\text{Pt}$ em solução aquosa de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,2) em um intervalo de potencial de $-0,4 \text{ V}$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ utilizando uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} na ausência de oxigênio dissolvido.



A confirmação dos processos observados para o eletrodo modificado $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2\text{-Nafion}^{\text{®}}/\text{Pt}$ foi realizada por voltametria de pulso diferencial, aplicando um intervalo de potencial de $-0,4 \text{ V}$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ a 25 mV s^{-1} com amplitude de pulso de 50 mV . A Figura 24 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial no sentido de oxidação e redução. Nestes voltamogramas, um processo redox no sentido anódico ($-0,237 \text{ V vs. ECS}$) e catódico ($-0,187 \text{ V vs. ECS}$) foi observado, corroborando com os resultados obtidos usando a técnica de voltametria cíclica.

Figura 24 - Voltamograma de pulso diferencial para o $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2\text{-Nafion}^{\text{®}}/\text{Pt}$ em solução aquosa de KCl $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,2) em um intervalo de potencial de -0,4 a 0,0 V vs. ECS utilizando uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 50 mV na ausência de oxigênio dissolvido, sendo **a)** sentido anódico e **b)** sentido catódico.

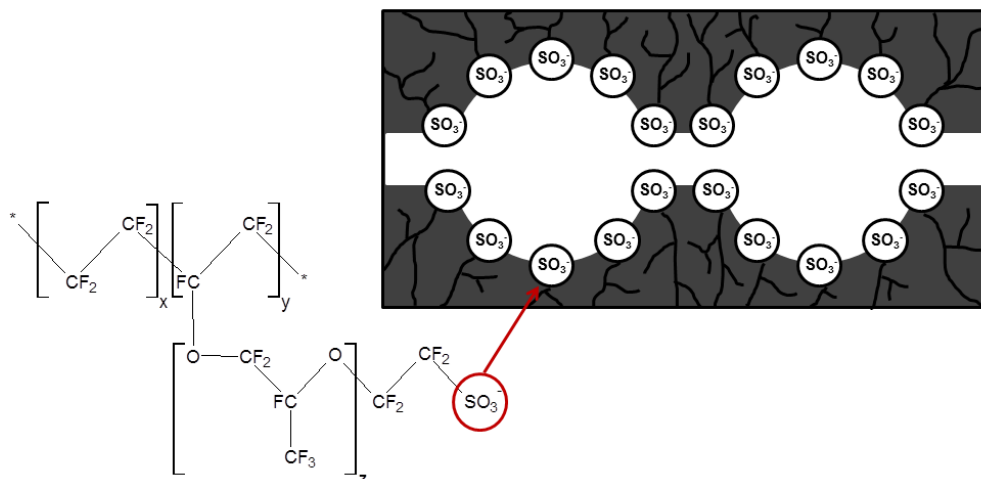


Os processos redox observados por voltametria de pulso diferencial para o eletrodo modificado $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2\text{-Nafion}^{\text{®}}/\text{Pt}$ foram distintos aos observados para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução de diclorometano. Esta mudança de comportamento eletroquímico pode ser atribuída ao uso de uma solução aquosa para os estudos com o eletrodo modificado ao invés de uma solução orgânica, como utilizada nos estudos com complexo em solução. Também, a membrana polimérica de ácido tetrafluoroetileno-perfluoro-3,6-dioxa-4-metil-7-octanosulfônico pode ter alterado a estrutura do complexo na etapa de imobilização do material eletroativo.

De acordo com o modelo de rede de clusters (“*cluster network model*”), o Nafion[®] formaria agregados iônicos com formatos aproximadamente esféricos e estrutura do tipo micelar invertida [177-180] (Figura 25). Ainda quanto ao Nafion[®], os estudos de Gierke e

Hsu [180] reportam que o Nafion[®] seco possui clusters de aproximadamente 1,8 nm, na superfície dos quais estão distribuídos os grupos sulfônicos, conectados entre si por estreitos canais tubulares hidrofílicos com até 1,0 nm de diâmetro.

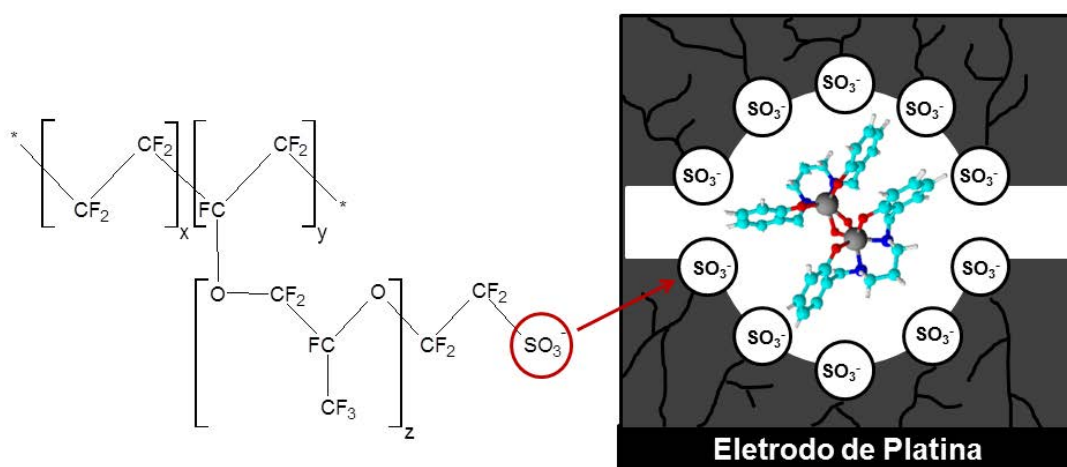
Figura 25 - Representação estrutural do tipo “micelar invertida” para o Nafion[®].



Fonte: Adaptado de Perles [179].

Dessa forma, a imobilização de espécies eletroativas ocorreria nos clusters esféricos (Figura 26). Possivelmente, ao imobilizar o complexo nestes canais, a distância entre os núcleos de manganês foram diminuídas, ou seja, ocasionou em um acoplamento na estrutura e, conseqüentemente, uma sobreposição maior π - π , a qual oportuniza em um único processo redox e uma troca de carga mais efetiva.

Figura 26 - Imobilização do complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ nos clusters esféricos de Nafion[®].



Fonte: Autoria própria.

A mudança do comportamento eletroquímico de complexos metálicos imobilizados em membranas poliméricas de Nafion[®] quando comparados aos complexos livres (em

solução) foi reportada anteriormente pelos autores deste trabalho utilizando o complexo $[\text{Mn}_3\text{O}_4(\text{phen})_4(\text{H}_2\text{O})_2]^{4+}$ [127, 181].

No entanto, ao decorrer dos estudos eletroquímicos do eletrodo modificado $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2\text{-Nafion}^{\text{®}}/\text{Pt}$ o sinal analítico dos voltamogramas diminuiu mais de 50% após 10 ciclos de potenciais. Juntamente com uma mudança visual da superfície do eletrodo, pode-se concluir que a imobilização do complexo foi ineficiente, provavelmente devido à solubilidade do complexo e a metodologia utilizada. Sendo assim, outras técnicas de modificação eletródica foram realizadas (eletrodo de pasta de carbono modificada, *casting* utilizando CH_2Cl_2 como solvente, Langmuir-Blodgett e *spin coating*), porém nenhuma delas apresentou-se eficiente na modificação do eletrodo, corroborando com a pouca solubilidade do complexo em solução aquosa.

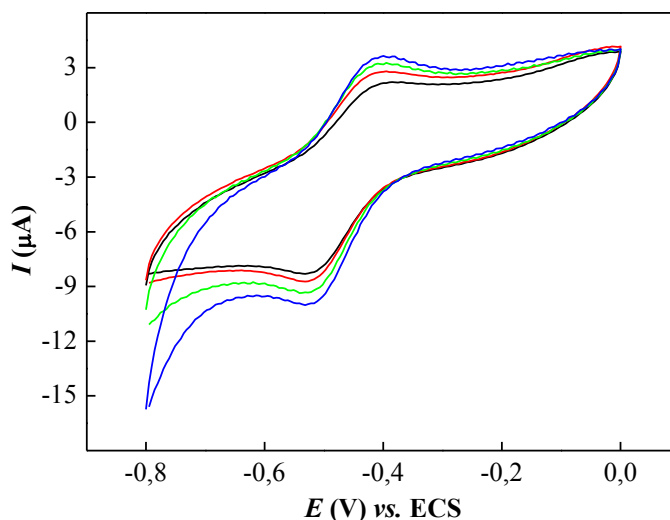
3.3.9 Investigação eletroquímica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução na determinação de peróxido de hidrogênio

Inicialmente, a atividade electrocatalítica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução frente a peróxido de hidrogênio foi investigada utilizando $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do complexo dissolvido em uma solução de diclorometano contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutylamônio com a técnica de voltametria cíclica aplicando um intervalo de potencial de $-0,8$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ utilizando uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .

A Figura 27 apresenta o voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução na ausência e na presença de $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 , onde é possível observar o aumento da corrente de pico anódica e catódica com o aumento da concentração de H_2O_2 .

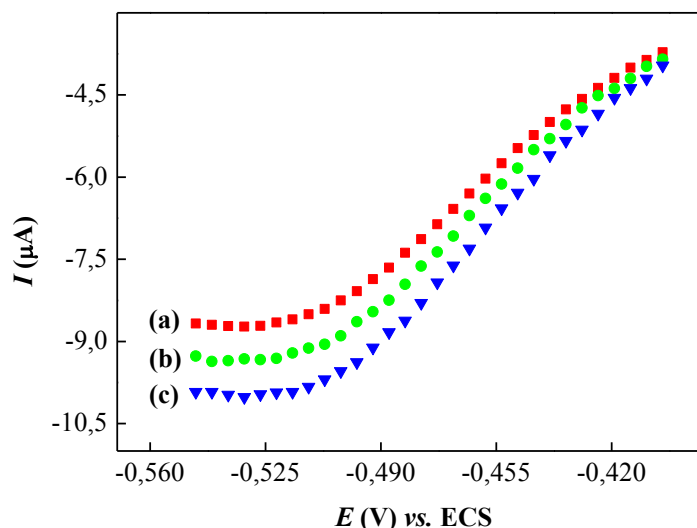
Com relação à determinação de H_2O_2 utilizando o eletrodo de carbono vítreo no mesmo intervalo de potencial e na ausência do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$, nenhum processo eletroquímico, tampouco aumento das correntes de pico anódica e catódica puderam ser observados, evidenciando-se assim as propriedades electrocatalíticas do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ como mediador eletrônico na redução de H_2O_2 .

Figura 27 - Voltamograma cíclico para complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{PTBA}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de $-0,8$ a $0,0 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} na ausência (linha **preta**) e presença de $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (linha **vermelha**), $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (linha **verde**) e $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 (linhas **azul**).



Adicionalmente, um estudo cinético da reação de redução de H_2O_2 pela região catódica de Tafel (Figura 28) foi realizado utilizando o método convencional de construção do gráfico de Tafel ($\log I \text{ (A) vs. } \eta \text{ (V)}$) para cada concentração de H_2O_2 (extraídas a partir da Figura 27) para elucidar a cinética de transferência eletrônica entre os centros ativos do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ e o analito [100].

Figura 28 - Ampliação da região catódica de Tafel para a redução de **a)** $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, **b)** $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e **c)** $2,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de H_2O_2 pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$.



Dessa forma, os coeficientes de transferência eletrônica em função do número de elétrons envolvidos na etapa determinante do processo redox foram (α_c) obtidos utilizando dos coeficientes angulares (Equação 18) da relação de Tafel (Figura 29), aqui chamado de

θ_{Tafel} . De acordo com θ_{Tafel} e α_c reportados na Tabela 7, uma independência da concentração de H_2O_2 na etapa determinante foi obtida.

$$\theta_{Tafel} = \frac{2,303 RT}{\alpha_c n F} \quad (18)$$

Figura 29 - Relação de Tafel para o complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ na redução de H_2O_2 com concentração de **a)** $5,00 \times 10^{-7}$, **b)** $1,00 \times 10^{-6}$ e **c)** $2,00 \times 10^{-6}$ mol L^{-1} .

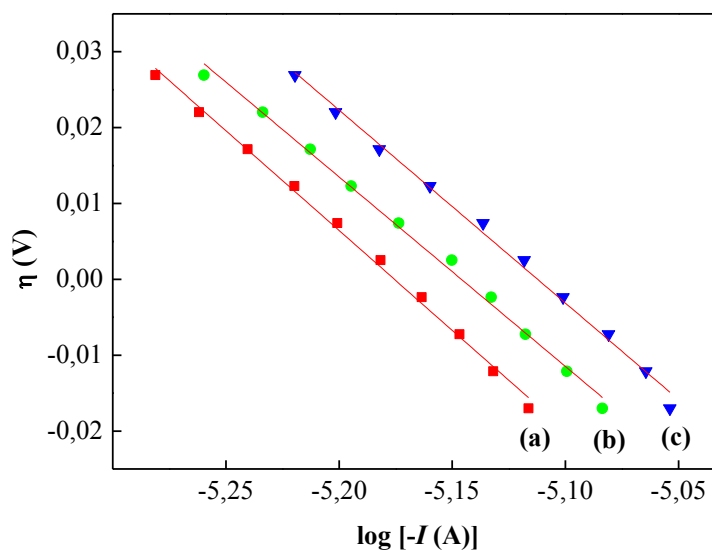


Tabela 7 - Parâmetros cinéticos para redução de H_2O_2 pelo complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ em diferentes concentrações do analito.

$[H_2O_2]$ mol L^{-1}	θ_{Tafel} (V dec^{-1})	α_c
$5,00 \times 10^{-7}$	-0,260	0,227
$1,00 \times 10^{-6}$	-0,250	0,237
$2,00 \times 10^{-6}$	-0,240	0,246

A ordem aparente da reação (q) para respectivas concentrações de H_2O_2 foram determinadas pela região de Tafel com potencial fixo (0,443 à 0,488 (V) vs. ECS) baseado na relação linear de $\log I$ (A) vs. $\log [H_2O_2]$ (Figura 30) através da Equação 19. De acordo com os resultados obtidos e reportados na Tabela 8, a ordem aparente da reação de redução de H_2O_2 pelo complexo $[Mn^{IV}(\mu-O)(salpn)]_2$ em solução demonstrou-se independente do potencial aplicado.

$$q = \left(\frac{d \log I}{d \log [H_2O_2]} \right)_{E,T} \quad (19)$$

Figura 30 - Representação do logaritmo da corrente *versus* o logaritmo da concentração de H₂O₂ de acordo com o potencial aplicado.

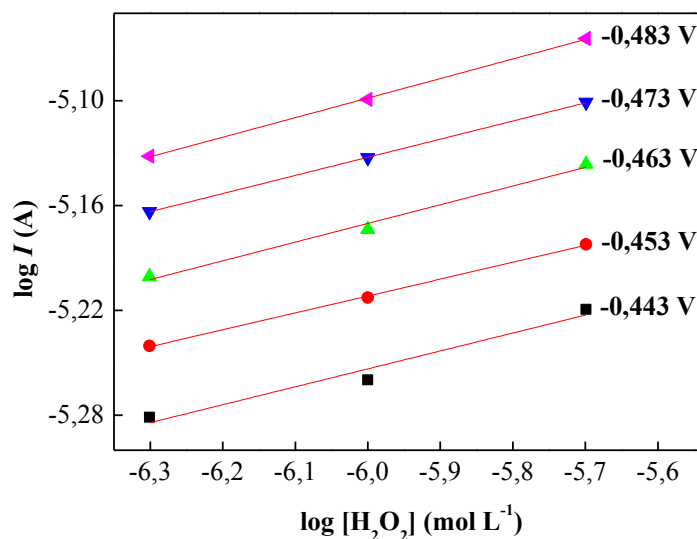


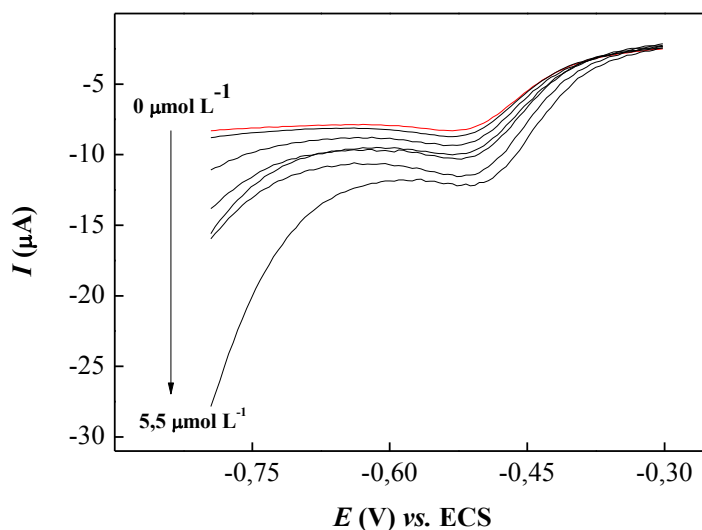
Tabela 8 - Resultados obtidos para a ordem aparente de reação (q) de acordo com o potencial fixo.

Potencial fixo (V vs. ECS)	Ordem aparente de reação (q)
-0,443	0,103
-0,453	0,097
-0,463	0,107
-0,473	0,104
-0,483	0,112

Demonstrada a atividade electrocatalítica do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ e calculado seus parâmetros cinéticos na redução de H₂O₂, medidas voltamétricas de varredura linear foram realizadas em um intervalo de potencial de -0,30 a -0,80 V vs. ECS em diferentes concentrações de H₂O₂ a fim de obter uma curva analítica.

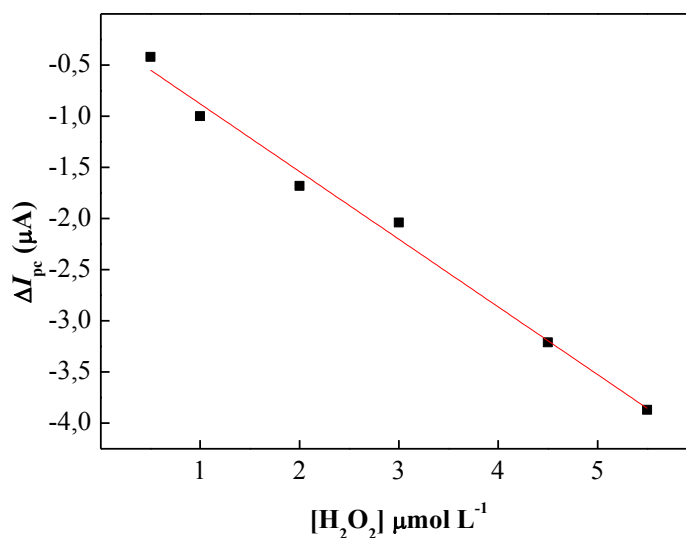
A Figura 31 apresenta os voltamogramas lineares para o complexo em solução na ausência e na presença de diferentes concentrações de H₂O₂, onde é possível observar o aumento da corrente de pico catódica com o aumento da concentração de H₂O₂, diferentemente do que acontece com o eletrodo de carbono vítreo na ausência do complexo, já que não é possível a detecção direta de H₂O₂.

Figura 31 - Voltamogramas lineares para $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})_2]$ em solução de CH_2Cl_2 contendo $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de carbono vítreo em um intervalo de potencial de $-0,3$ a $-0,8 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} na ausência (linha vermelha) e presença (linhas pretas) de diferentes concentrações de H_2O_2 .



As correntes de pico catódica em função das sucessivas adições foram registradas a fim de avaliar a evolução catalítica do complexo na redução de H_2O_2 (Figura 32).

Figura 32 - Relação da resposta de corrente de pico catódica com a concentração de H_2O_2 .

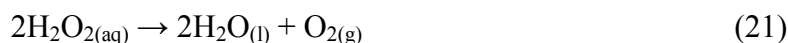


Os valores de corrente de pico foram lineares em um intervalo de concentração de $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ a $5,50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com um limite de quantificação (dez vezes o sinal de três voltamogramas do branco/coeficiente angular) [182] de $1,42 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de detecção (três vezes o sinal de três voltamogramas do branco/coeficiente angular) [182] de $4,27 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, de acordo com a Equação 20. Embora o valor calculado para o limite de quantificação seja maior que a primeira adição de H_2O_2 , espera-se que $5,00 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ seja

um valor mais realístico na quantificação de H_2O_2 mediado pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução.

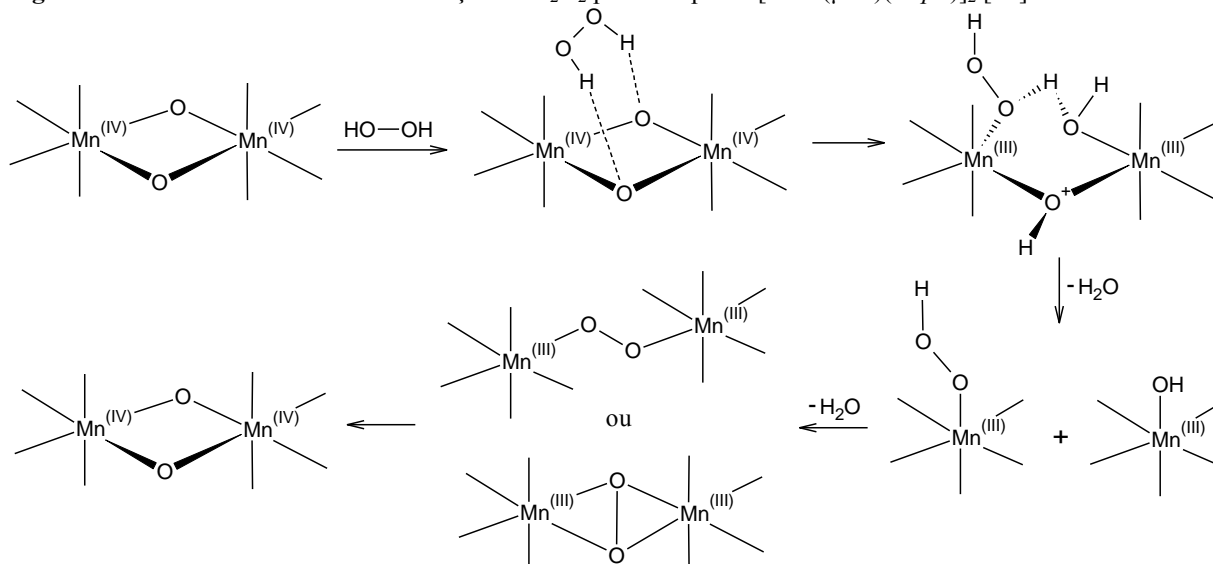
$$-\Delta I_{\text{pc}} (\mu\text{A}) = 2,18 \times 10^{-7} + 0,66 [\text{H}_2\text{O}_2] (\mu\text{mol L}^{-1}) \quad (n = 5, r = 0,989) \quad (20)$$

As propriedades catalíticas e biomiméticas do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foram estudadas por Pecoraro e colaboradores [32]. Nestes estudos, os autores observaram propriedades semelhantes do complexo com a enzima *catalase*. A enzima *catalase* contém dois íons manganês em seu sítio ativo e desempenham um importante papel de proteção dos efeitos danosos de espécies no organismo, como por exemplo, propiciando a decomposição de peróxido de hidrogênio (Equação 21).



A enzima *catalase* completa seu ciclo catalítico em duas etapas de redução e oxidação envolvendo dois elétrons, da mesma forma, o mecanismo electrocatalítico de redução do peróxido de hidrogênio pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ foi descrito de acordo com a Figura 33 [74].

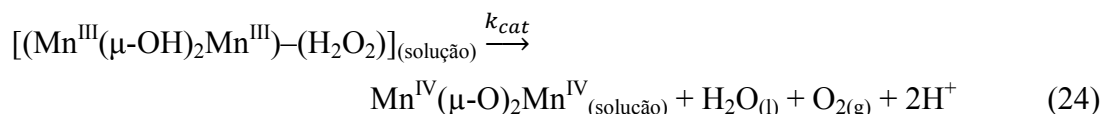
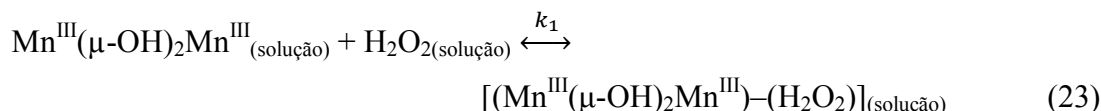
Figura 33 - Mecanismo catalítico de redução de H_2O_2 pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ [74].



Fonte: Adaptado de Larson e Pecoraro [74] via software ACDLabs Freeware 2012.

De acordo com o modelo de cinética enzimática, o qual trata do mecanismo pelo qual as enzimas se ligam ao substrato e o transforma em produto (Equação 22), um possível

mecanismo pode ser descrito para a biomimetização das enzimas *catalase* contendo manganês pelo complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ na redução de H_2O_2 :



Sendo assim, as propriedades biomiméticas do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ na redução de H_2O_2 foram investigadas recorrendo o perfil de corrente catódica *versus* a concentração do analito (Figura 32). Dessa forma, a equação de Michaelis-Menten aplicada à H_2O_2 para o estado estacionário da corrente catalítica (i_{SSC}) pode ser expresso como [133, 183, 184]:

$$i_{\text{SSC}} = \frac{i_{\text{max}} [\text{H}_2\text{O}_2]}{K_M + [\text{H}_2\text{O}_2]} \quad (25)$$

onde i_{max} é a corrente máxima catalítica, $[\text{H}_2\text{O}_2]$ é a concentração de peróxido de hidrogênio e K_M é a constante de Michaelis-Menten. Assim, os parâmetros cinéticos foram obtidos através do rearranjo da equação de Michaelis-Menten pela expressão de Lineweaver-Burke:

$$\frac{1}{i_{\text{SSC}}} = \frac{1}{i_{\text{max}}} + \frac{K_M}{i_{\text{max}} [\text{H}_2\text{O}_2]} \quad (26)$$

$$S = \frac{K_M}{i_{\text{max}}} \quad (27)$$

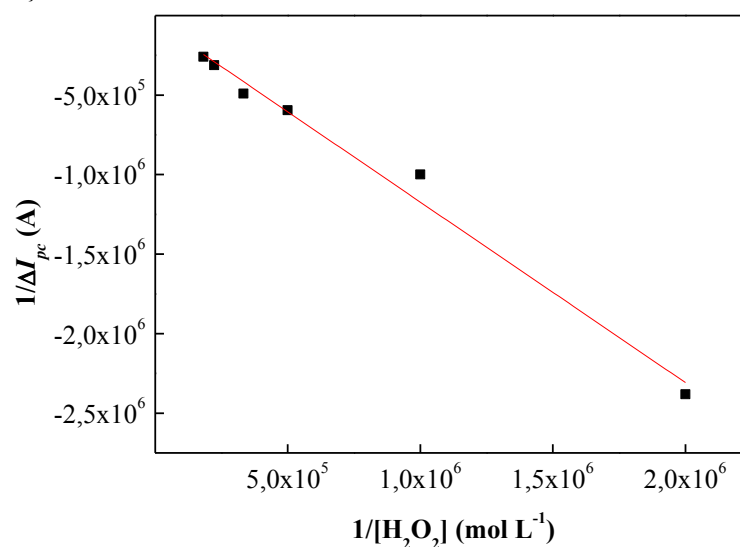
A incógnita S denota o coeficiente angular derivado da equação linear do gráfico obtido pelo método de Lineweaver-Burke (Figura 34). Ainda avaliando os parâmetros cinéticos, as constantes catalítica (k_{cat}) e de especificidade (k_s) foram calculadas pelas Equações 28 e 29, respectivamente.

$$k_{cat} = \frac{i_{max}}{[complexo]} \quad (28)$$

$$k_s = \frac{k_{cat}}{K_M} \quad (29)$$

O gráfico da expressão de Lineweaver-Burke e sua equação linear, assim como os resultados cinéticos obtidos são apresentados a seguir:

Figura 34 - Representação do método de Lineweaver-Burke através do inverso da corrente de pico catódica com o inverso da concentração de H₂O₂.



$$-\Delta I_{pc}^{-1} \text{ (A)} = 0,66 + 2,18 \times 10^{-7} [H_2O_2]^{-1} \text{ mol L}^{-1} \quad (n = 0,984 \text{ e } r = 6) \quad (30)$$

Tabela 9 - Parâmetros cinéticos de Michaelis-Menten calculados pelo método de Lineweaver-Burke aplicados à biomimetização da enzima *catalase* na redução de H₂O₂ pelo complexo [Mn^{IV}(μ-O)(salpn)]₂.

Parâmetros	Resultados obtidos
$K_M \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$	$4,39 \times 10^{-6}$
$k_{cat} \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$3,87 \times 10^{-3}$
$k_s \text{ (mol L}^{-1}\text{ s}^{-1}\text{)}$	$8,81 \times 10^2$

A constante de Michaelis-Menten está relacionada com a afinidade da enzima ou do complexo biomimetizador, como no caso do complexo [Mn^{IV}(μ-O)(salpn)]₂, pelo substrato, bem como a concentração requerida para que a catálise efetiva ocorra. O baixo valor de K_M (ordem 10^{-6} mol L⁻¹) indica a grande afinidade catalítica do complexo [Mn^{IV}(μ-O)(salpn)]₂.

por H₂O₂. Ademais, quando comparado o valor de K_M obtido para o complexo [Mn^{IV}(μ-O)(salpn)]₂ com outros complexos de manganês e até mesmo enzimas *catalase* contendo manganês (do inglês *Mn-containing catalases*) na redução de H₂O₂ obteve-se uma maior afinidade, conforme apresentado na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores de K_M obtidos para complexos de manganês e enzimas *catalase* contendo manganês.

Material	K_M (mol L ⁻¹)	Referência
[Mn ₂ (BPBMP)(OAc) ₂] ⁺	$8,26 \times 10^{-2}$	[185]
[Mn ₂ (bpia) ₂ (μ-OAc) ₂](ClO ₄) ₂	$3,15 \times 10^{-2}$	[186]
[(Adpa) ₂ Mn ₂ (μ-OAc) ₂](OAc)	$1,44 \times 10^{-3}$	[187]
[Mn(QA)(OAc)(H ₂ O) ₂](OAc)	$8,00 \times 10^{-4}$	[188]
[Mn ₂ (salpentO)(μ-OAc)(μ-OMe)] ⁺	$1,45 \times 10^{-2}$	[189]
[Mn ₂ (μ-OAc)(μ-OH ₂)(benzimpnO)] ²⁺	$6,40 \times 10^{-3}$	[190]
[Mn ₂ (5-SO ₃ -salpentO)(μ-OMe)(H ₂ O) ₃]·5H ₂ O	$2,58 \times 10^{-3}$	[191]
<i>Lactobacillus plantarum</i>	$3,50 \times 10^{-1}$	[192]
<i>Thermoleophilum album catalase</i>	$1,58 \times 10^{-2}$	[192]
<i>Thermus thermophiles catalase</i>	$8,30 \times 10^{-2}$	[193]
[Mn ^{IV} (μ-O)(salpn)] ₂	$4,39 \times 10^{-6}$	Este trabalho

A constante catalítica expressa a produção catalítica, ou seja, o número de moléculas de H₂O₂ convertidas em oxigênio por molécula do complexo. Examinando o k_{cat} obtido para o complexo [Mn^{IV}(μ-O)(salpn)]₂ pode-se notar uma grande produção catalítica em tempos extremamente rápidos, tendo muitas vezes uma produção maior ou próxima a outros compostos de manganês anteriormente reportados [190, 194, 195].

A relação k_{cat}/K_M pode ser utilizada para analisar a eficiência do complexo na conversão catalítica do substrato (H₂O₂) em produto em baixas concentrações de substrato. Isto porque, se K_M é utilizada por si só como o indicador de especificidade, o efeito do H₂O₂ irá ser fortemente manifestado principalmente para valores em que $[H_2O_2]/K_M \ll 1$. Como $[H_2O_2]/K_M$ aumenta acima deste valor, k_{cat} torna-se o parâmetro mais apropriado para descrever a melhor eficiência catalítica [196]. Deste modo, esta dicotomia é resolvida mediante a utilização de k_{cat}/K_M como constante de especificidade.

De acordo com os resultados obtidos, a constante de especificidade para o complexo [Mn^{IV}(μ-O)(salpn)]₂ apresentou-se menor que para a enzima *Lactobacillus plantarum*

catalase ($5,7 \times 10^5 \text{ (mol L)}^{-1} \text{ s}^{-1}$), isto porque, por mais que o complexo apresente um k_{cat} inferior, seu K_M^{app} tem muito mais afinidade pelo analito, resultando em baixa eficiência catalítica [197]. Esta eficiência catalítica superior da enzima pode ser explicada pelo número de forte doadores- σ envolvidos com o sítio metálico, o qual pode impedir ou dificultar a ativação do substrato [190].

3.4 CONCLUSÕES

De acordo com os estudos reportados pôde-se evidenciar uma síntese altamente satisfatória tanto para o ligante *Salpn* como para o complexo oxo-manganês-*Schiff* $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$, além de uma nova rota para a síntese deste. Os materiais sintetizados foram caracterizados com eficiência por microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e Infravermelho, e luminescência, oportunizando então sua aplicação nos estudos eletroquímicos e eletroanalíticos. A utilização de diferentes técnicas eletroquímicas possibilitou investigar e compreender qualitativamente o comportamento eletroquímico do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução. Para o eletrodo modificado $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ -Nafion[®]/Pt os estudos não mostraram-se promissores, devido a perda de sinal analítico por consequência da baixa solubilidade do complexo na etapa de imobilização. No entanto, a atividade eletrocatalítica e biomimética do complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ em solução frente a redução de peróxido de hidrogênio pôde ser investigada com sucesso oportunizando importantes parâmetros cinéticos, de acordo com o modelo de Michaelis-Menten, relacionados a biomimetização de centros ativos enzimáticos, como no caso, as enzimas *catalase* contendo manganês.

4 APLICAÇÃO ELETROANALÍTICA DO COMPLEXO BIS(μ -OXO)DIMANGANÊS(III,IV)-TETRAQUIS-1,10'-FENANTROLINA NA DETERMINAÇÃO DE UMA SUBSTÂNCIA USADA NO DOPING

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos deste trabalho fundamentaram-se em:

- ✓ Sintetizar o complexo metálico bis(μ -oxo)dimanganês(III,IV)-tetraquis-1,10-fenantrolina ($[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{CH}_3\text{COCH}_3$);
- ✓ Caracterizar o complexo sintetizado por Espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível;
- ✓ Caracterizar eletroquimicamente o complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2^{3+}$ em solução;
- ✓ Preparar o eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$;
- ✓ Estudar o comportamento eletroquímico do eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$;
- ✓ Aplicar o eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado com o complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ como sensor eletroquímico na determinação de substâncias usadas no doping.

4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.2.1 Reagentes e Soluções

Os reagentes utilizados nos experimentos, assim como suas fórmulas moleculares, procedência e pureza analítica encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 - Reagentes utilizados nos experimentos.

Reagente	Fórmula molecular	Procedência	Pureza (%)
1,10-fenantrolina	$C_{12}H_8N_2$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,0$
Acetato de manganês(II)	$Mn(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,0$
Acetato de sódio	CH_3COONa	Synth	$\geq 97,0$
Acetazolamida	$C_4H_6N_4O_3S_2$	Fluka	$\geq 99,0$
Acetona	CH_3COCH_3	Vetec	$\geq 99,0$
Acetonitrila	CH_3CN	Sigma-Aldrich	$\geq 99,8$
Ácido acético	CH_3CO_2H	Vetec	$\geq 99,7$
Ácido cítrico	$HOC(COOH)(CH_2COOH)_2$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,5$
Ácido ascórbico	$C_6H_8O_6$	Fluka	$\geq 99,0$
Ácido láctico	$C_3H_6O_3$	Synth	$\geq 85\%$
Ácido úrico	$C_5H_4N_4O_3$	Sigma	$\geq 99,0$
Bicarbonato de sódio	$NaHCO_3$	Synth	100%
Cafeína	$C_8H_{10}N_4O_2$	Sigma-Aldrich	$\geq 99,5$
Cloreto de amônio	NH_4Cl	Synth	100%
Cloreto de cálcio	$CaCl_2$	Synth	$\geq 99,0$
Cloreto de cálcio di-hidratado	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	Synth	$\geq 98,0$
Cloreto de magnésio hexa-hidratado	$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	Synth	100%
Cloreto de potássio	KCl	Synth	100%
Cloreto de sódio	$NaCl$	Synth	100%
Dihidrogenofosfato de sódio	NaH_2PO_4	Synth	100%
Dipirona	$C_{13}H_{16}N_3O_4SNa$	Fluka	$\geq 99,0$
Etanol	CH_3CH_2OH	Aldrich	$\geq 99,8$
Fosfato de potássio monobásico	KH_2PO_4	Synth	100%
Glicose	$C_6H_{12}O_6$	Vetec	$\geq 99,0$

Continuação da Tabela 11.

Grafite em pó	–	Sigma-Aldrich	≥99,0
Hexano	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH ₃	Synth	≥95,0
Hidrogenofosfato dissódico tri- hidratado	Na ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	Synth	100%
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec	≥97,0
Óleo mineral	–	Aldrich	–
Paracetamol	CH ₃ CONHC ₆ H ₄ OH	Fluka	≥99,0
Perclorato de sódio	NaClO ₄	Vetec	≥98,0
Perclorato de tetrabutylamônio	(CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂) ₄ N(ClO ₄)	Sigma-Aldrich	≥99,0
Permanganato de potássio	KMnO ₄	Synth	100%
Sulfato de sódio	Na ₂ SO ₄	Synth	100%
Tiocianato de potássio	KSCN	Synth	100%
Ureia	CH ₄ N ₂ O	Vetec	≥99,0

4.2.1.1 Reagentes utilizados nas sínteses

Os reagentes utilizados nas sínteses do complexo [Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃·CH₃COCH₃ foram 1,10-fenantrolina, acetato de manganês(II) tetra hidratado, acetona, ácido acético, etanol, perclorato de sódio e permanganato de potássio.

4.2.1.2 Reagentes e soluções utilizados nas medidas de caracterização

Na caracterização do complexo [Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ por Espectroscopia no UV-Visível utilizou-se acetonitrila como solvente. A caracterização eletroquímica do complexo [Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em solução orgânica deu-se com a utilização de acetonitrila como solvente e perclorato de tetrabutylamônio como eletrólito de suporte. Os espectros de absorvância foram obtidos para soluções de 1,0 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ do complexo [Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ diluídos em acetonitrila. Os estudos eletroquímicos do

complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em solução foram realizados em acetonitrila contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio e $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do complexo diluído.

4.2.1.3 Reagentes utilizados na construção do eletrodo de pasta de carbono modificado

Para a modificação química do eletrodo de pasta de carbono foi utilizado grafite em pó ($< 20 \mu\text{m}$), óleo mineral, hexano e o complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$.

4.2.1.4 Reagentes e soluções utilizados no estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo modificado em solução tampão

Para o estudo do comportamento eletroquímico do eletrodo modificado em solução tampão foi utilizado acetato de sódio e ácido acético. Utilizou-se uma solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes pH, sendo estes ajustados com soluções de ácido acético $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e hidróxido de sódio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.1.5 Reagentes e soluções utilizados na aplicação do eletrodo modificado com sensor eletroquímico na determinação de uma espécie utilizada no doping

O eletrodo modificado foi avaliado eletroquimicamente como sensor para as seguintes espécies: acetazolamida, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido úrico, cafeína, dipirona, glicose e paracetamol. As soluções estoque $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ destas espécies foram preparadas em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

4.2.1.6 Reagentes e soluções utilizados na determinação de acetazolamida em amostras sintéticas

A aplicação do sensor eletroquímico na determinação de acetazolamida foi estudada utilizando amostras sintéticas de plasma, saliva e urina. A solução de plasma sintético a ser contaminada por ACTZ foi preparada de acordo com procedimentos descritos na literatura [198]. Dessa forma, preparou-se uma solução (1,0 L) contendo 8,036 g de cloreto de sódio, 0,352 g de bicarbonato de sódio, 0,225 g de cloreto de potássio, 0,238 de hidrogenofosfato dissódico tri-hidratado, 0,311 g de cloreto de magnésio hexahidratado, 0,293 g de cloreto de cálcio e 0,072 g de sulfato de sódio em 1,0 L de água deionizada. A solução de saliva sintética

[198] foi preparada pela mistura de 1,5 g de cloreto de sódio, 1,5 g de bicarbonato de sódio, 0,5 g de dihidrogenofosfato de sódio, 0,5 g de tiocianato de potássio e 0,9 g de ácido láctico em 1,0 L de água deionizada. Também, preparou-se uma solução (1,0 L) de urina sintética [199] utilizando 1,10 g de cloreto de cálcio di-hidratado, 2,925 g de cloreto de cálcio, 2,25 g de sulfato de sódio, 1,40 g de fosfato de potássio monobásico, 1,60 g de cloreto de potássio, 1,00 g de cloreto de amônio e 25,0 de ureia. Por fim, todas as amostras sintéticas foram propositalmente contaminadas com $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de ACTZ. Similarmente, uma solução padrão de $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de ACTZ foi preparada em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹.

4.2.1.7 Reagentes e soluções utilizados na determinação de acetazolamida em amostras reais de urina

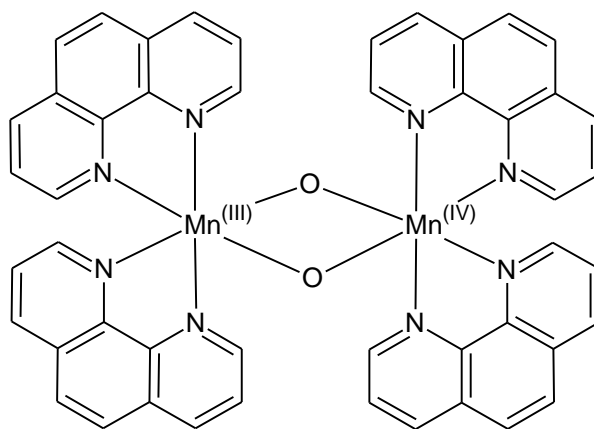
A aplicação eletroanalítica do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na análise do controle de doping foi investigada através da determinação de acetazolamida em amostras reais de urina seguindo os moldes indicados pela Agência Mundial Antidoping [200]. Sendo assim, uma amostra de urina fresca foi coletada em um recipiente plástico previamente esterilizado de um indivíduo desportista voluntário de 24 anos após uma hora de exercícios anaeróbicos e 30 minutos de exercícios aeróbicos, tendo este feito o uso de um comprimido de Diamox[®] (Genom) contendo 250 mg de ACTZ 6 horas antes. A amostra de urina foi dividida e condicionada em dois recipientes hermeticamente fechados (prova e contraprova).

No laboratório, a amostra de urina (prova) foi filtrada por duas vezes em papel filtro quantitativo (poros de 14 μm) e condicionada em um novo recipiente plástico também esterilizado e hermeticamente fechado. Um volume de 1,0 mL desta amostra de urina filtrada foi utilizado para a extração do fármaco em 0,5 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi então separada em um tubo de ensaio e este foi deixado por 24 horas em dessecador. Após a evaporação do extrato, o resíduo foi dissolvido em 0,5 mL de etanol anidro. Uma alíquota de 120 μL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL contendo tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6). A análise da segunda amostra de urina (contraprova) foi realizada seguindo os mesmos parâmetros.

4.2.2 Síntese do complexo metálico: bis(μ -oxo)dimanganês(III,IV)-tetraquis-1,10-fenantrolina ($[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{CH}_3\text{COCH}_3$)

A síntese do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{CH}_3\text{COCH}_3$ foi realizada de acordo com adaptações de procedimentos citados na literatura [201]. Uma solução de 1,08 g de $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (4,4 mmol) em 15 mL de água deionizada foi adicionada à 2,37 g de 1,10-fenantrolina (13,0 mmol) em 7,5 mL de acetona, formando uma solução amarela. A esta solução foram adicionados 20 mL de tampão acetato $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5) e o pH ajustado com ácido acético glacial à 4,5. Após, a solução resultante foi resfriada em banho de gelo até $0 \text{ }^\circ\text{C}$ e 0,30 g de KMnO_4 (1,9 mmol) em 12,5 mL de água destilada foram adicionados gota à gota sob agitação constante. Uma solução verde foi formada e esta foi agitada por 15 minutos a $0 \text{ }^\circ\text{C}$. Ao final do tempo, uma solução de NaClO_4 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi adicionada e o precipitado formado foi filtrado, lavado com etanol e seco à temperatura ambiente.

Figura 35 - Representação estrutural do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(III,IV)-tetraquis-1,10-fenantrolina.



Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

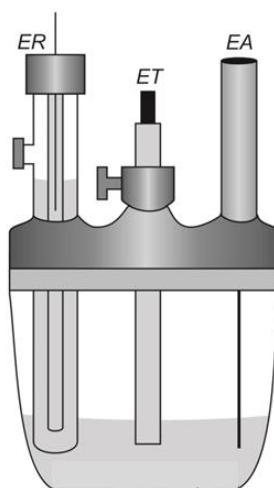
4.2.3 Caracterização do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível

As medidas de absorvância foram realizadas em um Espectrofotômetro UV-Visível (PerKinelmer), utilizando cubetas de quartzo de um centímetro de caminho óptico. Os espectros foram obtidos para soluções de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em acetonitrila empregando um intervalo de análise de 500 a 850 nm.

4.2.4 Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram efetuadas empregando um potenciostato/galvanostato μ -Autolab Type III (Eco Chimie) conectado a um microcomputador, gerenciado pelo software GPES 4.9.7., em uma célula eletroquímica convencional contendo três eletrodos: eletrodo de fio de platina como eletrodo auxiliar, eletrodo de calomelano saturado (ECS) como eletrodo de referência e eletrodo de pasta de carbono modificado (área = 0,08 cm²) como eletrodo de trabalho.

Figura 36 - Representação esquemática da célula eletroquímica com três eletrodos. ER = eletrodo de referência, ET = eletrodo de trabalho e EA = eletrodo auxiliar.



Fonte: Autoria própria.

4.2.4.1 Limpeza dos eletrodos

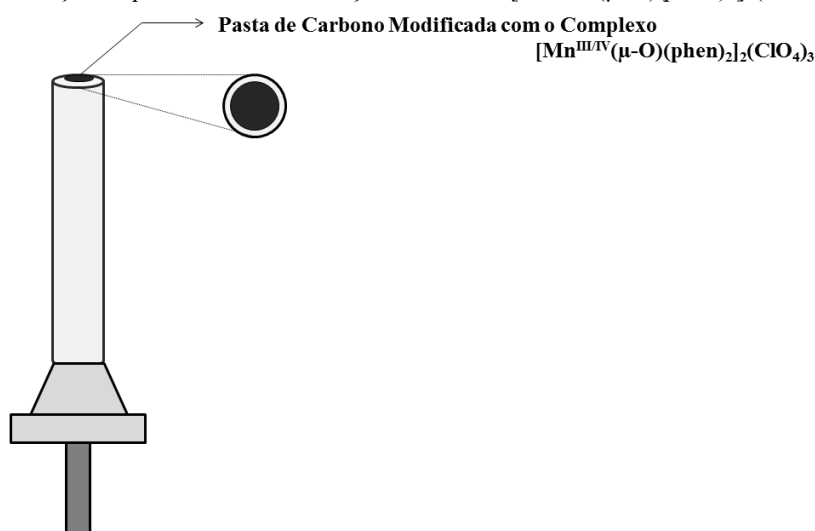
Antes do uso, o tubo de Teflon[®] e a haste de aço inoxidável utilizados para construção do eletrodo de pasta de carbono modificado foram lavados com álcool etílico e água deionizada por três vezes e seco em dessecador a temperatura ambiente.

4.2.4.2 Construção do eletrodo de pasta de carbono modificado

O eletrodo de pasta de carbono modificado foi preparado pela mistura de 60% (m/m) de pó de grafite, 30% (m/m) de aglutinante (óleo mineral) e 10% (m/m) do complexo metálico $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$. Nesta mistura foram adicionados 20 mL de hexano e então colocada sob agitação em um agitador magnético até a completa evaporação do solvente. Este

compósito foi colocado no interior de uma das extremidades de um tubo de Teflon[®] (diâmetro interno = 0,8 cm, diâmetro externo = 1,0 cm e comprimento = 15 cm) e então compactada pressionando-se uma haste de aço inoxidável (diâmetro = 0,8 cm e comprimento = 20 cm), colocada na outra extremidade do tubo contra uma superfície plana e inerte (Figura 37).

Figura 37 - Representação esquemática da construção do EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$.



Fonte: Autoria própria.

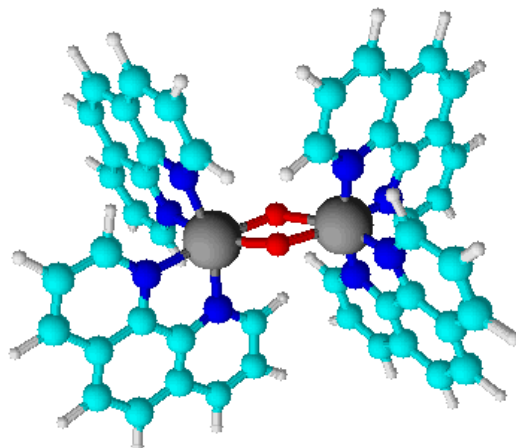
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.3.1 Síntese e caracterização do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ por Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível

A utilização de permanganato de potássio como agente oxidante na síntese de complexos de manganês oportuniza em sistemas de valência mista. Dessa forma, seguindo os procedimentos reportados, foi possível obter um complexo de oxo-manganês(III/IV) com um rendimento de 91%.

A estrutura do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2^{3+}$ consiste em um cátion binuclear, onde os dois núcleos de manganês ocupam o centro de um octaedro, sendo estes ligados entre si por meio de duas pontes μ -oxo. A coordenação do octaedro de Mn^{III} e Mn^{IV} consiste de oito átomos de nitrogênio das moléculas de fenantrolina, como representado na Figura 38.

Figura 38 - Representação estrutural em 3D do complexo bis(μ -oxo)dimanganês(III,IV)-tetraquis-1,10-fenantrolina, onde Mn = cinza, O = vermelho, N = azul, C = ciano e H = branco.

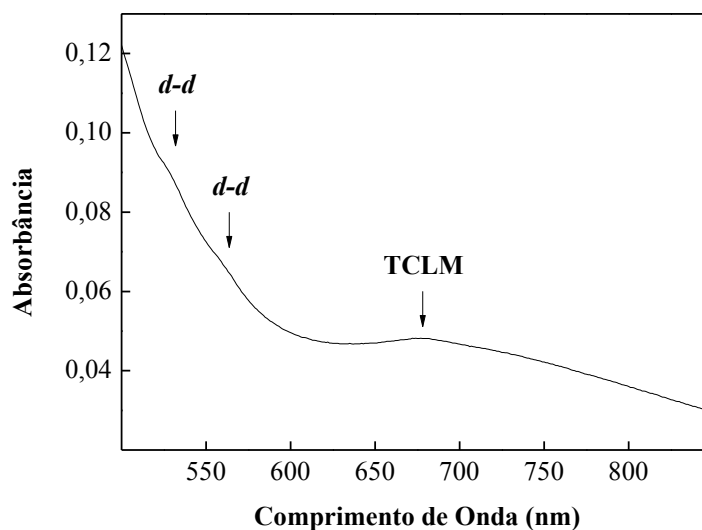


Fonte: Autoria própria via software ACDLabs Freeware 2012.

A confirmação do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ sintetizado foi investigada utilizando a técnica de espectroscopia de absorção na região do UV-Vís. As medidas foram realizadas em um intervalo espectral de 500 a 900 nm com concentração de $1,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ do complexo dissolvido em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

O espectro obtido para o complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ apresentou três bandas de absorção (Figura 39), corroborando com os resultados reportados na literatura [201]. Ainda segundo Cooper e Calvin, as bandas obtidas são análogas do complexo bis(bisdentado)diagua-Mn(III) e as bandas de maior valor energético (530 e 560 nm) são atribuídas às transições *d-d* do estado $^5\text{T}_{2g}$ na simetria octaédrica. A banda de menor energia (676 nm) é atribuída às transferências de carga ligante-metal das ligações do oxigênio para os centros metálicos de $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}$.

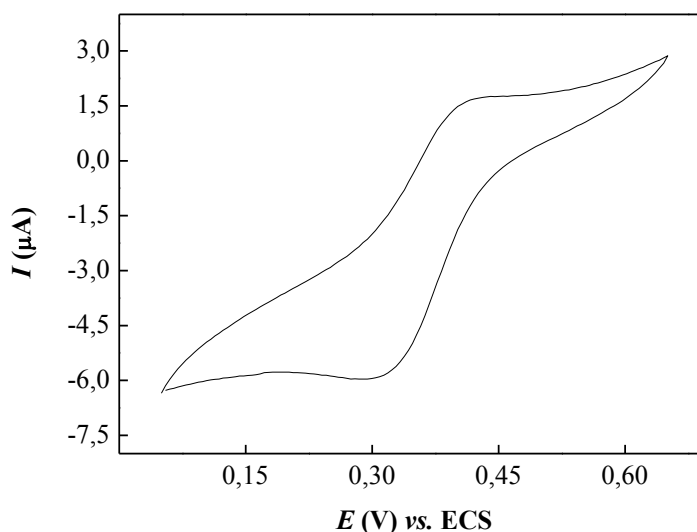
Figura 39 - Espectro de absorção obtido para $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em acetonitrila.



4.3.2 Caracterização Eletroquímica do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em solução orgânica

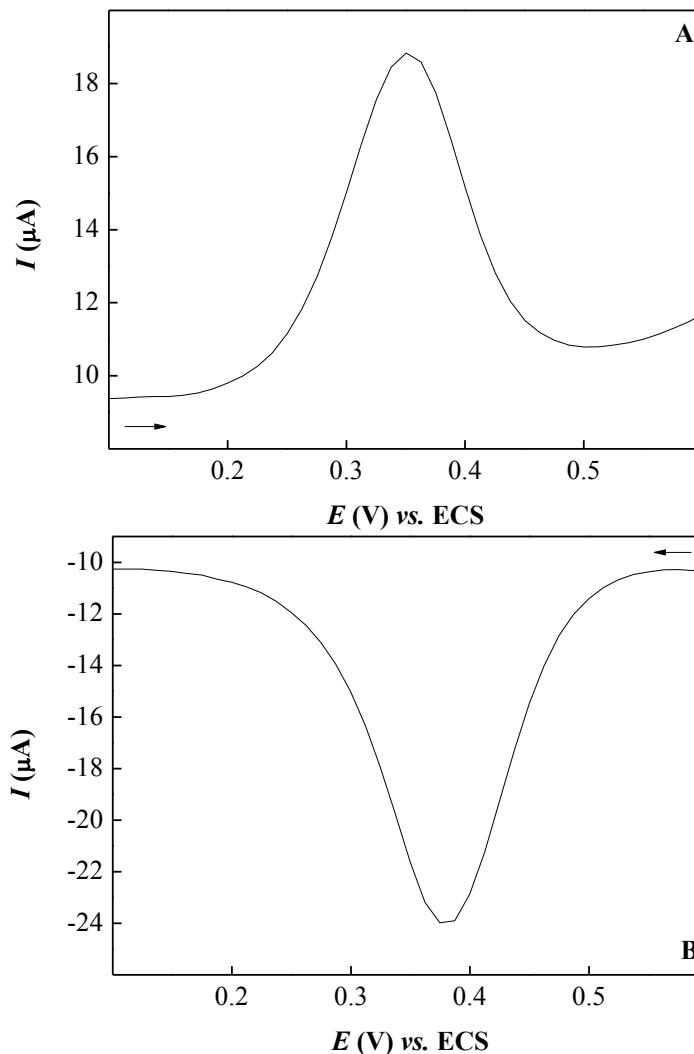
O comportamento eletroquímico do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em solução orgânica foi estudado por voltametria cíclica utilizando $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ do complexo diluído em acetonitrila contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio com um eletrodo de platina em um intervalo de potencial de $0,05$ a $0,65 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} . O voltamograma cíclico para o complexo em solução apresentou um par redox, sendo o pico anódico (E_{pa}) em $0,396 \text{ V vs. ECS}$ e o pico catódico (E_{pc}) em $0,311 \text{ V vs. ECS}$, como pode ser observado na Figura 40. A variação de potencial (ΔE_p) e o potencial de meia ($E_{\text{p}/2}$) foram equivalentes a $0,085 \text{ V}$ e $0,354 \text{ V vs. ECS}$, respectivamente.

Figura 40 - Voltamograma cíclico para complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em solução de CH_3CN contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de platina em um intervalo de potencial de $0,05$ a $0,65 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .

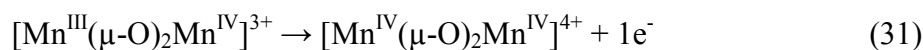


A técnica de voltametria de pulso diferencial também foi utilizada para verificação do comportamento eletroquímico do complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em solução orgânica, dessa forma, aplicou-se esta em um intervalo de potencial de $0,1 \text{ V}$ a $0,6 \text{ V vs. ECS}$ a 25 mV s^{-1} com pulso de 50 mV . A Figura 41 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial no sentido de oxidação e redução. Nestes voltamogramas, um processo redox no sentido anódico ($0,388 \text{ V vs. ECS}$) e catódico ($0,338 \text{ V vs. ECS}$) foi observado, corroborando com os resultados obtidos aplicando a técnica de voltametria cíclica.

Figura 41 - Voltamograma de pulso diferencial para o complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) em CH_3CN contendo $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA utilizando eletrodo de platina em um intervalo de potencial de $0,1$ a $0,6 \text{ V vs. ECS}$ com uma velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} e pulso de 50 mV , sendo **A**) sentido anódico e **B**) sentido catódico.



Os voltamogramas cíclicos obtidos apresentam um processo redox atribuído ao par $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}/\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Mn}^{\text{IV}}$, de acordo com a Equação 31, com característica de um processo reversível. Diferentemente dos processos sugeridos para o complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$, a literatura aponta alguns voltamogramas com a formação de espécies binucleares do tipo $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{III}}$, as quais proporcionam irreversibilidade ao sistema devido ao efeito Jahn Teller dos núcleos do complexo [44].



4.3.3 Comportamento Eletroquímico do eletrodo de pasta de carbono modificado com complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$

O comportamento eletroquímico do eletrodo de pasta de carbono modificado com complexo $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ foi investigado por voltametria cíclica em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,76). O voltamograma cíclico obtido para o EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ (Figura 42) relevou um sistema *quasi*-reversível com um processo redox ($E_{pa} = 0,795 \text{ V}$ e $E_{pc} = 0,444 \text{ V vs. ECS}$), o qual é atribuído ao par redox $\text{Mn}^{\text{III/IV}}/\text{Mn}^{\text{IV/IV}}$ conforme a Equação 32. A variação de potencial (ΔE_p) e o potencial de meia ($E_{p/2}$) foram de $0,351 \text{ V}$ e $0,620 \text{ V vs. ECS}$, respectivamente.

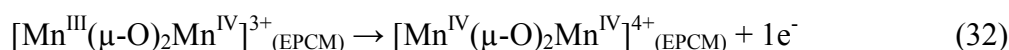
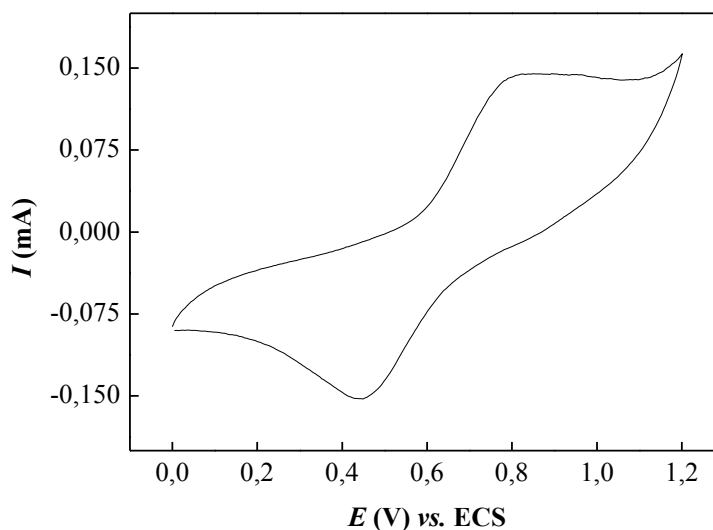
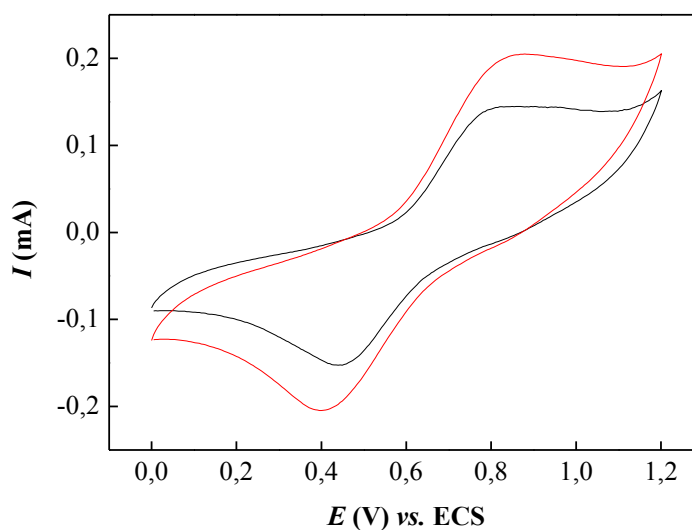


Figura 42 - Voltamograma cíclico para o EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,76) na presença de oxigênio utilizando um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .



A influência do oxigênio dissolvido no comportamento eletroquímico do EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(phen)_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ foi investigada borbulhando-se $\text{N}_2(\text{g})$ por 15 minutos antes das medidas eletroquímicas em solução tampão. A partir dos voltamogramas cíclicos obtidos é possível observar um aumento dos valores de corrente de pico para o par redox $\text{Mn}^{\text{III/IV}}/\text{Mn}^{\text{IV/IV}}$ após a retirada do oxigênio molecular dissolvido (Figura 43).

Figura 43 - Voltamograma cíclico obtido para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,76) em um intervalo de potencial de 0,5 V a 0,95 V vs. ECS utilizando uma velocidade de varredura de 15 mV s⁻¹ na ausência (linha vermelha) e presença (linha preta) de oxigênio dissolvido.



Este fato pode estar relacionado com a interação do oxigênio molecular com o complexo na superfície do eletrodo modificado. Dessa forma, o oxigênio serve como um inibidor dos processos redox de Mn^{III}/Mn^{IV}, o que conseqüentemente propicia em um decréscimo do valor de corrente de pico. De outro modo, na ausência de oxigênio, a concentração de sítios eletroativos torna-se maior que na presença de oxigênio. Embora a interação O₂/EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ sirva como inibidor, nenhuma mudança significativa no potencial pôde ser observada, sendo assim, a solução tampão na presença de oxigênio foi adotada para estudos posteriores.

O efeito da velocidade de varredura de potenciais (5 mV s⁻¹ a 200 mV s⁻¹) sobre o comportamento do EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ foi investigado em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,76) em um intervalo de potencial de 0,0 V a 1,2 V vs. ECS. Analisando a Figura 44 e os dados apresentados na Tabela 12, evidencia-se um aumento dos potenciais das correntes de pico redox, assim com a variação entre os potenciais, e um decréscimo dos potenciais de meia com o aumento da velocidade de varredura aplicada.

Figura 44 - Estudo da velocidade de varredura para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,76) na presença de oxigênio dissolvido variando a velocidade de 5 a 200 mV s⁻¹.

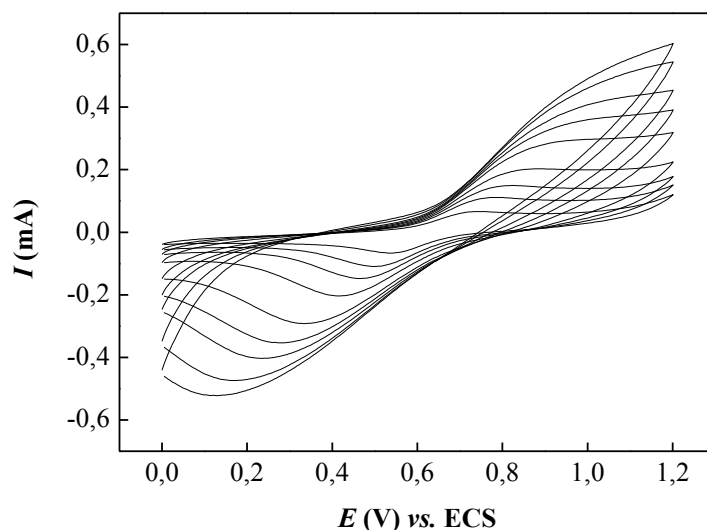


Tabela 12 - Valores de potencial de pico anódico (E_{pa}) e catódico (E_{pc}), corrente de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}), potencial de meia ($E_{p/2}$) e separação dos potenciais de pico (ΔE_p) para as diferentes velocidades de varreduras aplicadas.

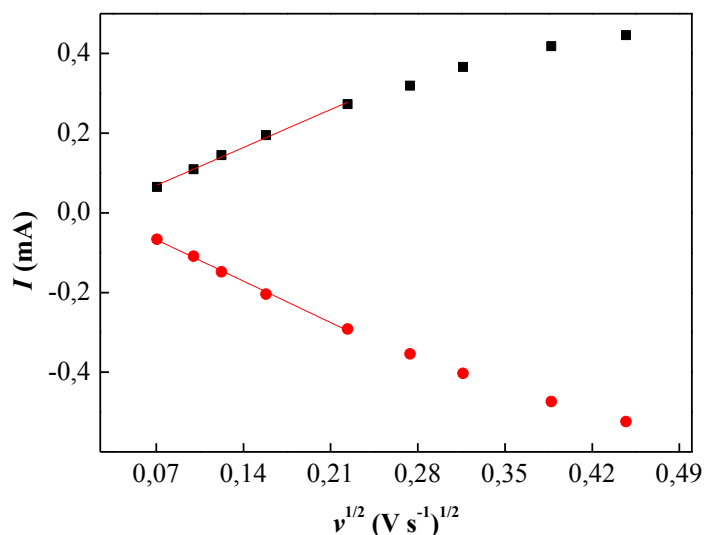
Velocidade (mV s ⁻¹)	E_{pa} (V) vs. ECS	E_{pc} (V) vs. ECS	I_{pa} (μ A)	I_{pc} (μ A)	$E_{p/2}$ (V) vs. ECS	ΔE_p (V) vs. ECS
5	0,723	0,538	64,8	-66,4	0,631	0,185
10	0,758	0,500	109	-109	0,629	0,258
15	0,786	0,465	145	-148	0,626	0,321
25	0,823	0,415	195	-204	0,619	0,408
50	0,873	0,334	273	-292	0,604	0,539
75	0,895	0,275	319	-354	0,585	0,620
100	0,920	0,237	366	-403	0,579	0,683
150	0,940	0,169	418	-474	0,555	0,771
200	0,947	0,129	446	-524	0,538	0,818

O estudo das correntes de pico anódica e catódica com a raiz quadrada da velocidade de varredura para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ pode ser observado na Figura 45. Nesta figura é possível observar a dependência linear para ambas I_{pa} e I_{pc} com a raiz quadrada da velocidade, sugerindo um típico sistema *quasi-reversível* [202, 203].

Ainda de acordo com os resultados obtidos no estudo da velocidade de varredura, a dependência linear para baixas velocidades de varredura (5 a 25 mV s⁻¹) propõe que o processo redox atribuído aos núcleos de manganês na superfície do eletrodo modificado segue

um mecanismo controlado pela difusão, sendo então a eletroneutralidade controlada pela difusão das espécies iônicas presentes na solução e a superfície do eletrodo modificado [100].

Figura 45 - Dependência das correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) com a raiz da velocidade de varredura.



$$I_{pa} (\mu A) = -2,63 \times 10^{-5} + 1,36 \times 10^{-3} v^{1/2} (V^{1/2} s^{-1/2}) \quad (n = 5, R = 0,994) \quad (33)$$

$$I_{pc} (\mu A) = 3,68 \times 10^{-5} - 1,49 \times 10^{-3} v^{1/2} (V^{1/2} s^{-1/2}) \quad (n = 5, R = 0,997) \quad (34)$$

Para processos difusionais, a concentração de espécie eletroativa (Γ) na superfície do EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ pode ser determinada para voltamogramas cíclicos obtidos em solução tampão à baixa velocidade de varredura (5 mV s⁻¹), utilizando a Equação 35 [100]:

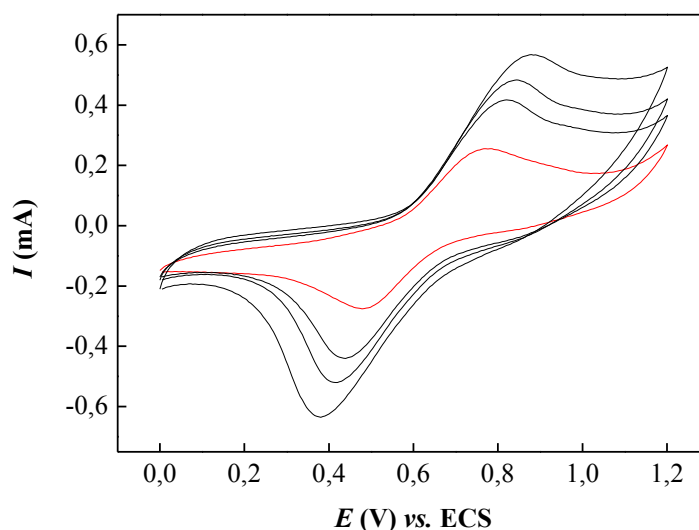
$$\Gamma = \frac{Q}{n F A} \quad (35)$$

onde Γ representa a concentração de espécie eletroativa formada na superfície do eletrodo (mol cm⁻²), Q a carga obtida a partir integral da área dos valores de corrente de pico anódica em função do tempo de varredura com correção de linha base (C), n o número de elétron decorrente do processo redox ($n = 1$), F a constante de Faraday (96485,3399 C mol/e⁻, e A a área do eletrodo de pasta de carbono (0,08 cm²). Dessa forma, a concentração de espécie eletroativa na superfície do EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ foi estimada em 2,65 nmol cm⁻².

4.3.4 Oxidação Eletrocatalítica de Acetazolamida

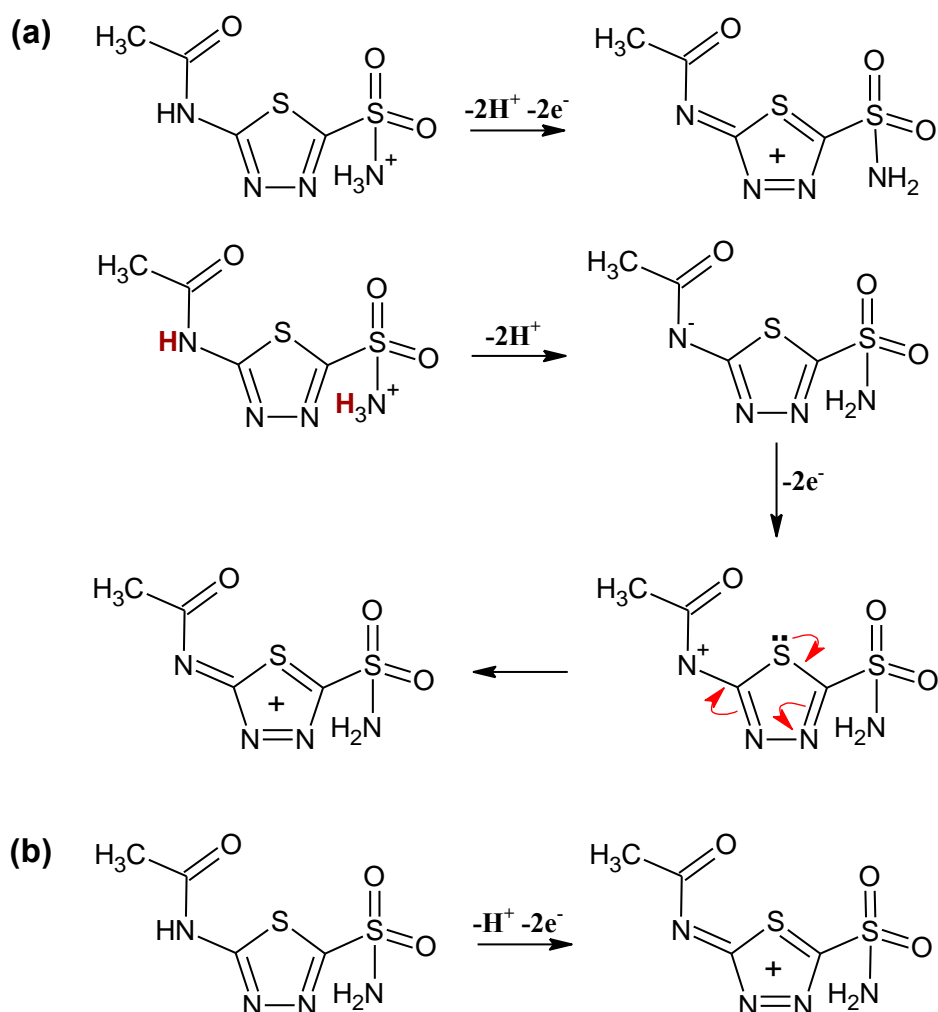
Utilizando o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ a determinação de ACTZ foi investigada inicialmente em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,76) empregando a técnica de voltametria cíclica. A Figura 46 apresenta o voltamograma cíclico para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na ausência e na presença de 1,00 × 10⁻⁶ mol L⁻¹, 2,50 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ e 5,00 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ de ACTZ, onde é possível observar o aumento da corrente de pico anódica e catódica com o aumento da concentração de ACTZ.

Figura 46 - Voltamogramas cíclicos para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,76) na ausência (linha **vermelha**) e presença (linhas **pretas**) de 1,00 × 10⁻⁶ mol L⁻¹, 2,50 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ e 5,00 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ de ACTZ utilizando um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.



Gholivand e Parvin propõem dois mecanismos para a eletrooxidação de ACTZ [96]: um para valores de pH menores que 7,0 e outro para valores de pH maiores que 7,0, de acordo com a Figura 47. Tendo em vista estes mecanismos e a utilização de uma solução de tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 4,76 (pH < 7,0) pode-se esperar que a eletrooxidação de ACTZ pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ ocorra através de um mecanismo com dois prótons e dois elétrons.

Figura 47 - Mecanismo para eletrooxidação de ACTZ para valores de a) pH < 7,0 e b) pH > 7,0.



Fonte: Adaptado de Gholivand e Parvin [96] via software ACDLabs Freeware 2012.

4.3.4.1 Estudo da Velocidade de Varredura

O efeito da velocidade de varredura de potenciais (5 a 200 mV s^{-1}) sobre a resposta voltamétrica do EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_3$ na eletrooxidação de ACTZ foi investigado em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ (Figura 48). As correntes de pico anódica e catódica variaram linearmente com a raiz quadrada das velocidades de varredura (Figura 49), sugerindo que a oxidação de ACTZ segue um mecanismo controlado pela difusão de acordo com as Equações 36 e 37.

$$I_{\text{pa}} (\mu\text{A}) = 32,01 + 2,39 v^{1/2} (\text{mV}^{1/2} \text{ s}^{-1/2}) \quad (n = 5, R = 0,991) \quad (36)$$

$$I_{\text{pc}} (\mu\text{A}) = 53,44 - 2,79 v^{1/2} (\text{mV}^{1/2} \text{ s}^{-1/2}) \quad (n = 5, R = 0,996) \quad (37)$$

Figura 48 - Estudo da velocidade de varredura em solução tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,76) contendo $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ na presença de oxigênio dissolvido para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ variando a velocidade de 5 mV s^{-1} a 200 mV s^{-1} .

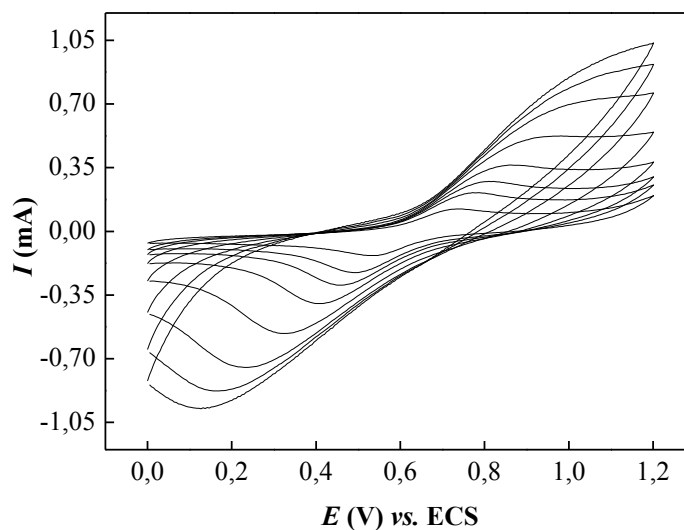
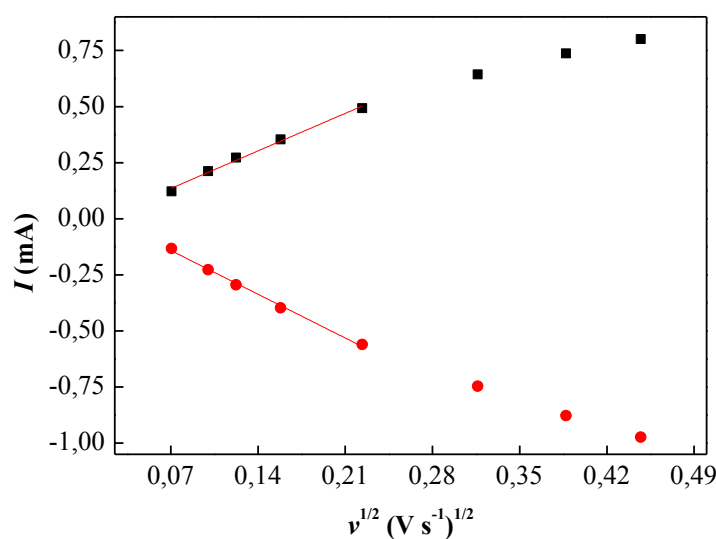


Figura 49 - Dependência das correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) com a raiz da velocidade de varredura.



Para velocidades de varredura acima de 50 mV s^{-1} , um pequeno decréscimo das correntes de pico anódica e catódica foi observado, indicando a existência de uma limitação cinética na reação entre o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ e ACTZ em altas velocidades de varreduras.

A Tabela 13 apresenta os valores de potencial de meia e separação de potencial para as diferentes velocidades de varredura estudadas. Nesta pode-se evidenciar uma diminuição dos valores de potenciais de meia, assim como um aumento da separação dos picos de potenciais com o acréscimo da velocidade de varredura. A partir dos resultados obtidos, a

velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} foi escolhida para os seguintes estudos, uma vez que resulta em voltamogramas com melhor definição de pico.

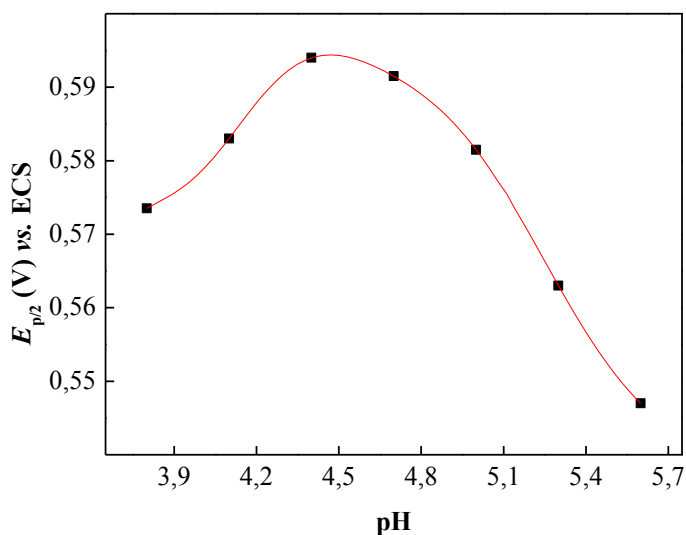
Tabela 13 - Valores de potencial de meia e separação de potencial para as diferentes velocidades de varredura estudadas.

$\nu \text{ (mV s}^{-1}\text{)}$	$E_{1/2} \text{ (V) vs. ECS}$	$\Delta E_p \text{ (V)}$
5	0,631	0,193
10	0,629	0,280
15	0,625	0,336
25	0,618	0,422
50	0,605	0,560
100	0,585	0,703
150	0,562	0,791
200	0,547	0,842

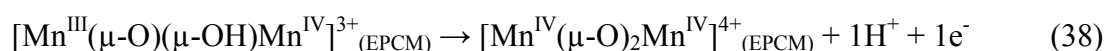
4.3.4.2 Estudo do pH

O efeito do pH sobre resposta voltamétrica EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na determinação de ACTZ foi analisado aplicando potenciais no intervalo de 0,0 a 1,2 V vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} em tampão acetato contendo $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ, variando o pH de 3,8 a 5,6 (faixa tamponante). De acordo com a Figura 50, pode-se observar um incremento do potencial de meia em concordância com o pH até o valor máximo de 4,4 sendo que para pH superiores, o valor de potencial de meia decresce.

Figura 50 - Influência do pH no potencial redox ($E_{p/2}$) do EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na determinação de ACTZ.

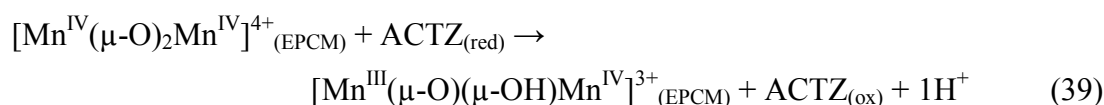
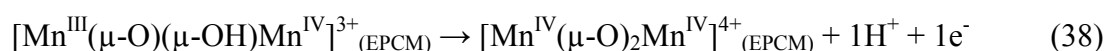


Ainda analisando a relação do $E_{p/2}$ ((V) vs. ECS) *versus* pH, um valor de coeficiente angular equivalente a 51 mV pH^{-1} pôde ser obtido para a região de maior intervalo linear (pH 4,7 a 5,6). De acordo com resultados reportados na literatura [100], este valor de coeficiente angular ($\approx 59 \text{ mV pH}^{-1}$) corresponde à um processo redox envolvendo um próton para um elétron. Assim, o equilíbrio entre os centros metálicos $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}$ pode ser representado pela Equação 38:



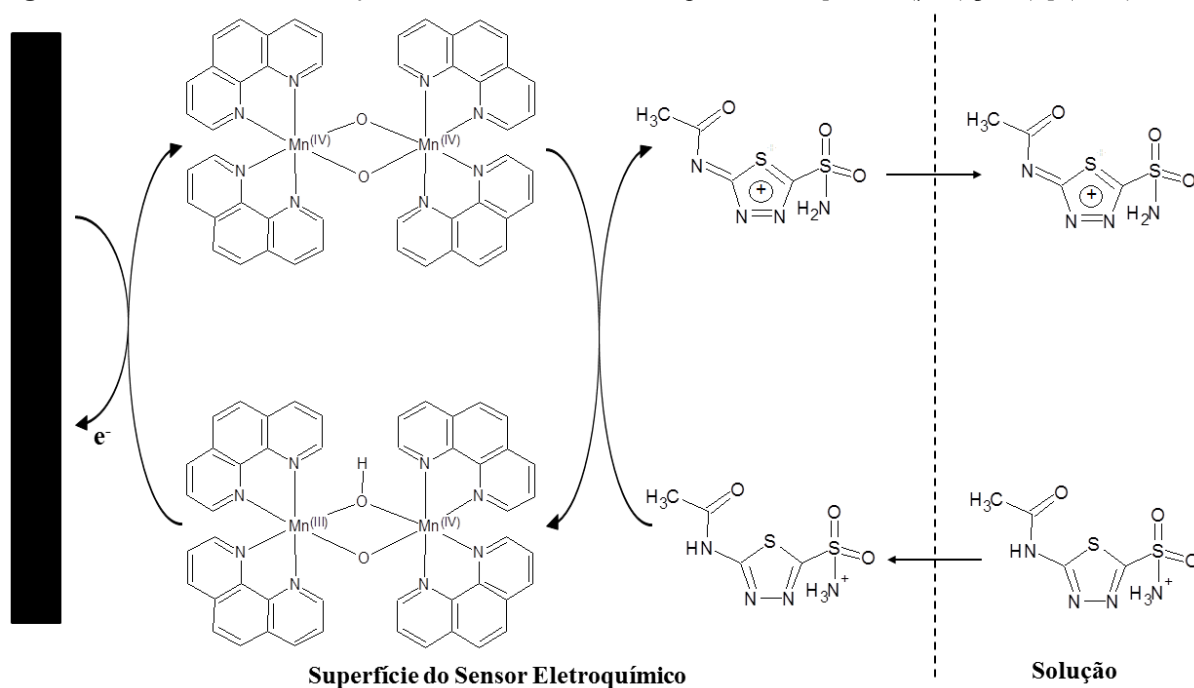
Este mecanismo baseia-se na transferência eletrônica acoplada a prótons, a qual os elétrons e prótons são transferidos ao mesmo tempo, sendo esta uma via muito importante em diversos processos biológicos, pois permite o acúmulo de equivalentes redox necessário para realização de reações multieletrônicas, como por exemplo, a respiração, a fixação de nitrogênio e a fotossíntese [204]. Este tipo de transferência eletrônica é comumente aplicada aos complexos oxo-manganês devido suas participações como complexos de evolução de oxigênio no mecanismo do fotossistema II [205-207].

Ainda, de acordo com o mecanismo proposto por Gholivand e Parvin [96] para a eletrooxidação de ACTZ em pH maior que 7,0 (Figura 47) pode-se evidenciar que o EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ promove a eletrooxidação de ACTZ por intermédio de um mecanismo catalítico onde um dos núcleos de $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}$ é eletroquimicamente oxidado a $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Mn}^{\text{IV}}$ na superfície do eletrodo, então o complexo em sua forma oxidada reage com a $\text{ACTZ}_{(\text{red})}$ gerando $\text{ACTZ}_{(\text{ox})}$ e, conseqüentemente, reduzindo um dos núcleos de $\text{Mn}^{\text{IV}}\text{Mn}^{\text{IV}}$ à $\text{Mn}^{\text{III}}\text{Mn}^{\text{IV}}$, de forma que volte ao seu estado de oxidação original, o qual pode ser eletroquimicamente reoxidado. Dessa forma, as etapas eletroquímica e química podem ser representadas de acordo com as seguintes equações:



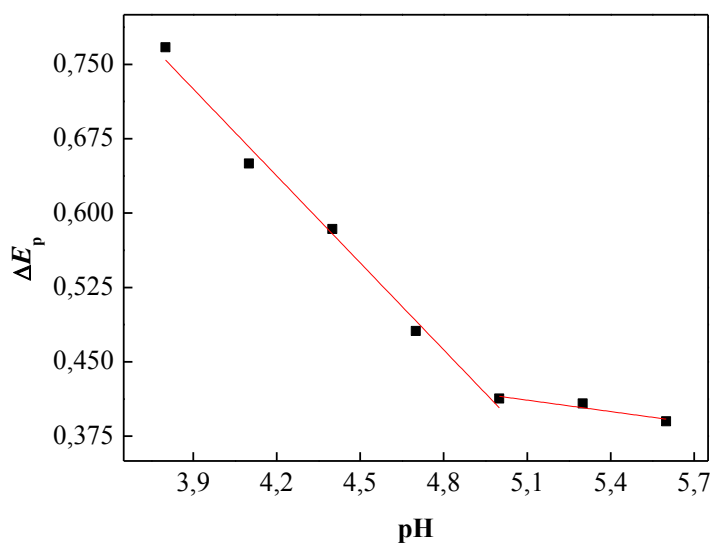
Uma tentativa de representação do mecanismo no eletrodo é apresentada na Figura 51.

Figura 51 - Mecanismo de oxidação da acetazolamida mediada pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃.



Examinando a variação de potencial nota-se que há uma diminuição linear destes valores até o pH 5,0 e outra menor até o valor de pH 5,6 de acordo com a Figura 52. Dessa forma, em decorrência do menor potencial de meia e variação de potencial obtidos, para estudos subsequentes foram utilizadas soluções tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ em pH 5,6.

Figura 52 - Variação do potencial em função do pH na determinação de ACTZ pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃.

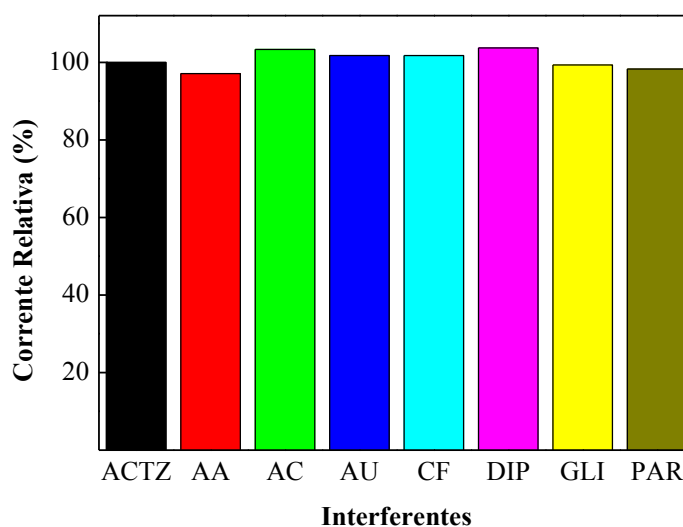


4.3.4.3 Estudos de interferentes

A influência de possíveis compostos eletroativos interferentes na determinação de ACTZ pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ foi investigada para sete diferentes substâncias: ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido úrico, cafeína, dipirona, glicose e paracetamol. Os estudos foram realizados usando a técnica de voltametria cíclica empregando um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 V vs. ECS com velocidade de 25 mV s⁻¹ em uma solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) contendo uma concentração fixa de 1,00 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ de ACTZ e uma concentração fixa de 1,00 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ do possível interferente. A Figura 53 apresenta os valores de corrente relativa para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na presença dos interferentes, sendo estes obtidos pela Equação 40.

$$\% \text{ Corrente Relativa} = \frac{[\text{magnitude de corrente ACTZ+interferente}]}{\text{corrente ACTZ}} \times 100 \quad (40)$$

Figura 53 - Relação da corrente relativa para a detecção de ACTZ na presença de interferentes, onde AA = ácido ascórbico, AC = ácido cítrico, AU = ácido úrico, CF = cafeína, DIP = dipirona, GLI = glicose e PAR = paracetamol.



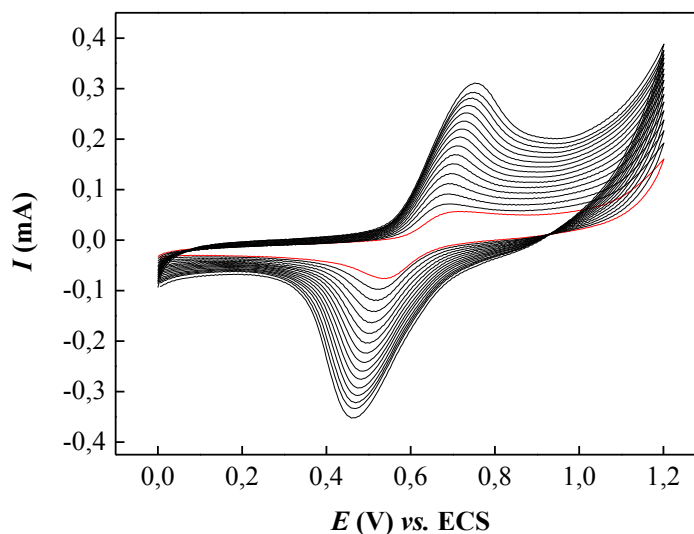
Os componentes estudados foram considerados como não interferentes quando o erro relativo na medição de corrente foi menor que 5%. Analisando então as espécies interferentes estudadas, ácido ascórbico, ácido cítrico e dipirona provocariam maior diferença no sinal analítico na determinação de ACTZ, no entanto, mesmo tendo um desvio maior na corrente relativa, nenhum destes alcançou o valor de 5%. A presença de dipirona e ácido cítrico influenciaram em um aumento de corrente de 3,76% e 3,32%, respectivamente. Os demais interferentes: ácido úrico (1,77%), cafeína (1,76%), glicose (0,64%) e paracetamol (1,70%)

apresentaram influências pouco significativas na corrente relativa. Com este estudo pôde-se demonstrar a elevada eficácia e seletividade do sensor proposto frente à determinação de ACTZ.

4.3.4.4 Curva analítica

Após o condicionamento dos parâmetros para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃, medidas de voltametria cíclica foram realizadas em um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 V vs. ECS em diferentes concentrações de ACTZ a fim de obter uma curva analítica. Os voltamogramas cíclicos foram obtidos em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) variando, inicialmente, a concentração de 5,00 × 10⁻⁸ mol L⁻¹ a 7,50 × 10⁻⁷ mol L⁻¹ de ACTZ (Figura 54).

Figura 54 - Voltamogramas cíclicos para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) na ausência (linha **vermelha**) e com sucessivas adições (linhas **pretas**) no intervalo de 5,0 × 10⁻⁸ mol L⁻¹ a 7,5 × 10⁻⁷ mol L⁻¹ de ACTZ utilizando uma janela de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.



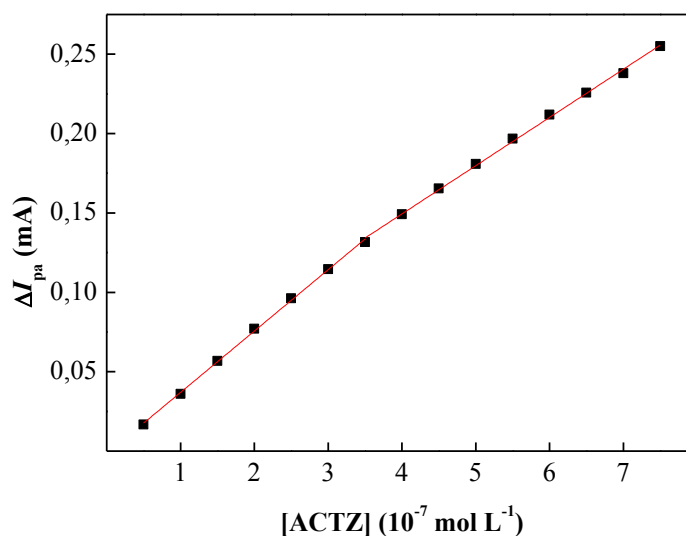
A Figura 55 apresenta a variação da corrente de pico anódica em função da concentração de ACTZ. Com base nesta é possível observar dois intervalos lineares, sendo o de menor concentração de 5,00 × 10⁻⁸ mol L⁻¹ a 3,50 × 10⁻⁷ mol L⁻¹ e o seguinte de 3,50 × 10⁻⁷ mol L⁻¹ a 7,50 × 10⁻⁷ mol L⁻¹, de acordo com as equações de regressão linear, respectivamente:

$$\Delta I_{pa} \text{ (mA)} = -1,70 \times 10^{-6} + 386,51 [\text{ACTZ}] \mu\text{mol L}^{-1} \quad (n = 7, r = 0,999) \quad (41)$$

$$\Delta I_{pa} \text{ (mA)} = 2,79 \times 10^{-6} + 303,81 [\text{ACTZ}] \mu\text{mol L}^{-1} \quad (n = 9, r = 0,998) \quad (42)$$

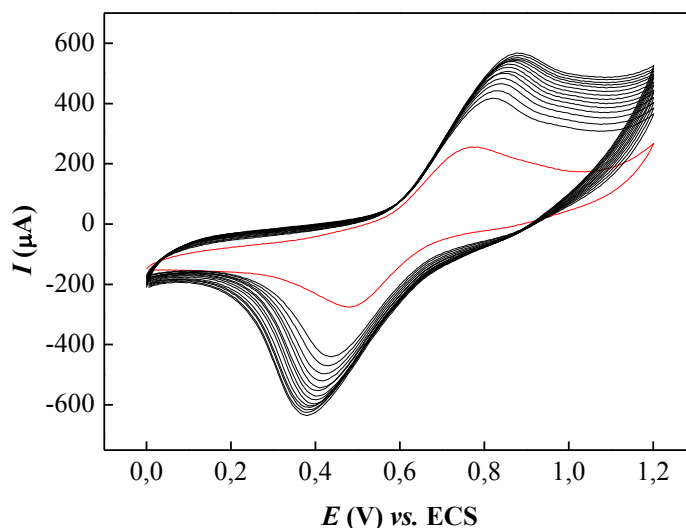
Dessa forma, com o menor intervalo linear obteve-se um limite de quantificação (dez vezes o sinal de três voltamogramas do branco/coeficiente angular) [182] de $3,00 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, limite de detecção (três vezes o sinal de três voltamogramas do branco/coeficiente angular) [182] de $9,00 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e sensibilidade $3865,1 \text{ mA L } \mu\text{mol}^{-1}$.

Figura 55 - Dependência dos valores de corrente de pico anódica em função da concentração de $5,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ.



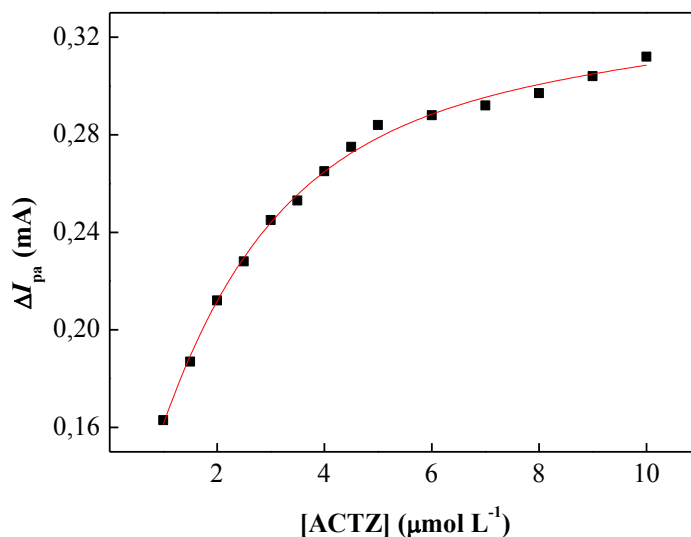
Do mesmo modo, voltamogramas cíclicos foram obtidos variando a concentração de $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ (Figura 56).

Figura 56 - Voltamogramas cíclicos para o EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2](\text{ClO}_4)_3$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6) na ausência (linha **vermelha**) e com sucessivas adições (linhas **pretas**) no intervalo de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ utilizando uma janela de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .



Para estes voltamogramas, uma nova curva analítica foi obtida (Figura 57), sendo o mais baixo intervalo linear de concentração de $1,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $3,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ.

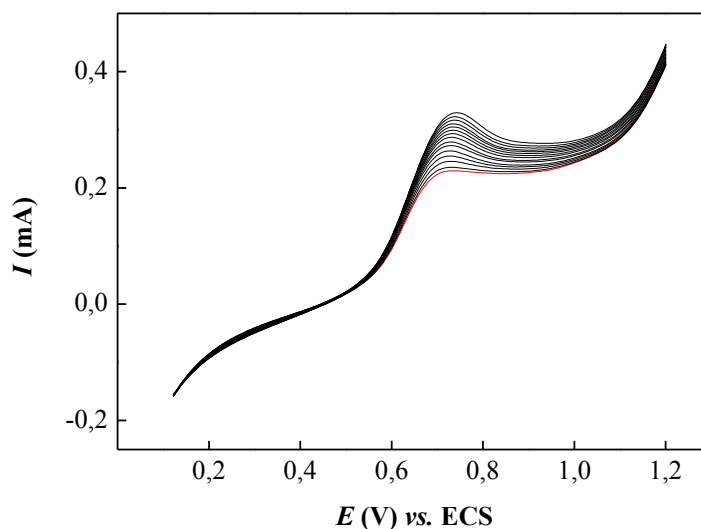
Figura 57 - Dependência dos valores de corrente de pico anódica em função da concentração de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ.



Para concentrações superiores a $5,00 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ um notável desvio da linearidade foi observado, o qual pode ser atribuído à saturação máxima dos sítios eletrocatalíticos disponíveis na superfície do eletrodo modificado, isto é, ocorre uma absorção de ACTZ e subsequentemente uma saturação dos sítios ativos de $\text{Mn}^{\text{III}}/\text{Mn}^{\text{IV}}$ na superfície do eletrodo.

Também, medidas voltamétricas de varredura linear foram realizadas em um intervalo de potencial de 0,1 a 1,2 V vs. ECS em diferentes concentrações de ACTZ a fim de obter uma nova curva analítica. Os voltamogramas lineares foram obtidos em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6) variando a concentração de $5,00 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ a $7,00 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de ACTZ (Figura 58).

Figura 58 - Voltamogramas lineares para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) na ausência (linha **vermelha**) e com sucessivas adições (linhas **pretas**) de ACTZ utilizando um intervalo de potencial de 0,1 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.



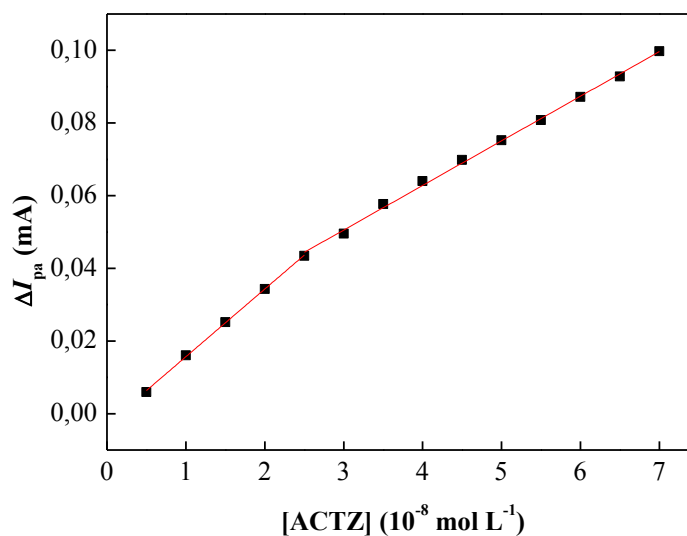
Utilizando a técnica de voltametria de varredura linear obteve-se uma resposta analítica melhor do que a obtida por voltametria cíclica. Conforme apresentado na curva analítica (Figura 59), similarmente, dois intervalos lineares foram observados, sendo o de menor concentração de $5,00 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ a $2,50 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ e o maior de $2,50 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ a $7,00 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, de acordo com as equações de regressão linear, respectivamente:

$$\Delta I_{pa} \text{ (mA)} = -2,96 \times 10^{-6} + 18,63 [\text{ACTZ}] \mu\text{mol L}^{-1} \quad (n = 5, r = 0,999) \quad (43)$$

$$\Delta I_{pa} \text{ (mA)} = 1,37 \times 10^{-6} + 12,27 [\text{ACTZ}] \mu\text{mol L}^{-1} \quad (n = 5, r = 0,999) \quad (44)$$

Utilizando o menor intervalo linear obteve-se um limite de quantificação (dez vezes o sinal de três voltamogramas do branco/coeficiente angular) [182] de $1,59 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹, limite de detecção (três vezes o sinal de três voltamogramas do branco/coeficiente angular) [182] de $4,76 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ e sensibilidade 18,63 mA L μmol^{-1} .

Figura 59 - Dependência dos valores de corrente de pico anódica em função da concentração de $5,00 \times 10^{-9}$ mol L^{-1} a $7,00 \times 10^{-8}$ mol L^{-1} de ACTZ.



A Tabela 14 sumariza os resultados obtidos na determinação de ACTZ pelo EPCM- $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$ utilizando as duas diferentes técnicas eletroquímicas estudadas e a Tabela 15 compara estes valores com sensores eletroquímicos para ACTZ anteriormente reportados pela literatura.

Analisando os resultados analíticos da determinação de ACTZ pelo sensor por meio de diferentes técnicas eletroquímicas, pode-se evidenciar que os melhores e mais sensíveis foram obtidos utilizando a técnica de voltametria de varredura linear. Quando comparado estes resultados com sensores eletroquímicos anteriormente reportados, o sensor baseado no EPCM- $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$ mostrou-se melhor que os descritos para a oxidação de ACTZ, demonstrando a elevada eficiência e sensibilidade do sensor proposto.

Tabela 14 - Resultados obtidos na determinação de ACTZ pelo sensor EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ por meio de diferentes técnicas eletroquímicas.

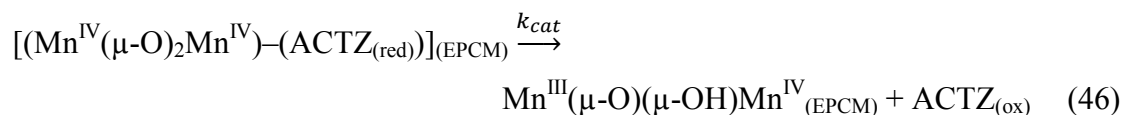
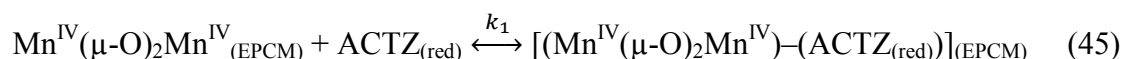
	Voltametria cíclica	Voltametria de varredura linear
Intervalo de resposta	$5,00 \times 10^{-8} - 7,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	$5,00 \times 10^{-9} - 7,00 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$
Intervalo linear	$5,00 \times 10^{-8} - 3,50 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$	$5,00 \times 10^{-9} - 2,50 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de Quantificação	$4,41 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	$1,59 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$
Limite de Detecção	$1,32 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$	$4,76 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$
Sensibilidade	$386,51 \text{ mA L } \mu\text{mol}^{-1}$	$18,63 \text{ mA L } \mu\text{mol}^{-1}$

Tabela 15 - Comparação dos resultados analíticos com diferentes sensores para a determinação de ACTZ.

Material	Processo	Técnica voltamétrica	Limite de quantificação (mol L⁻¹)	Limite de detecção (mol L⁻¹)	Referência
RGO/GPE	Redução	Pulso Diferencial	$7,30 \times 10^{-9}$	$2,20 \times 10^{-9}$	[97]
GNP-MCPE	Oxidação	Pulso Diferencial	$2,40 \times 10^{-8}$	$7,10 \times 10^{-9}$	[96]
MISPE	Oxidação	Pulso Diferencial	$9,00 \times 10^{-7}$	$2,70 \times 10^{-7}$	[95]
EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃	Oxidação	Varredura Linear	$1,59 \times 10^{-8}$	$4,76 \times 10^{-9}$	Este trabalho

4.3.4.5 Avaliação das características biomiméticas do sensor EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃

As propriedades biomiméticas do EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ podem ser evidenciadas através da relação da corrente de pico anódica versus a concentração de ACTZ (Figura 57), o qual exhibe perfil similar ao modelo de Michaelis-Menten para um eletrodo enzimático. Dessa forma, um possível mecanismo pode ser descrito como a seguir:



Os parâmetros cinéticos foram obtidos por três formas diferentes, partindo do rearranjo da equação de Michaelis-Menten, onde inicialmente pode ser aplicada à ACTZ para o estado estacionário de corrente catalítica (i_{SSC}) [133, 183, 184]:

$$i_{\text{SSC}} = \frac{n F A \Gamma k_{\text{cat}} [\text{ACTZ}]}{K_M^{\text{app}} + [\text{ACTZ}]} = \frac{i_{\text{max}} [\text{ACTZ}]}{K_M^{\text{app}} + [\text{ACTZ}]} \quad (47)$$

onde n é o número de elétrons envolvidos na reação catalítica, K_M^{app} é a constante aparente de Michaelis-Menten, A (cm²) é a área do eletrodo, Γ (mol cm⁻²) é concentração de espécie eletroativa na superfície do eletrodo, k_{cat} é a constante catalítica, i_{max} é a corrente máxima catalítica ($i_{\text{max}} = n F A \Gamma k_{\text{cat}}$) e $[\text{ACTZ}]$ é a concentração de acetazolamida. Primeiramente, os parâmetros cinéticos foram obtidos por intermédio do rearranjo da equação de Michaelis-Menten pela expressão de Lineweaver-Burke:

$$\frac{1}{i_{\text{pa}}} = \frac{K_M^{\text{app}}}{n F A \Gamma k_{\text{cat}} [\text{ACTZ}]} + \frac{1}{n F A \Gamma k_{\text{cat}}} = S_{\text{LB}} [\text{ACTZ}] + I_{\text{LB}} \quad (48)$$

$$I_{\text{LB}} = \frac{1}{n F A \Gamma k_{\text{cat}}} \quad (49)$$

$$S_{LB} = \frac{K_M^{app}}{n F A \Gamma k_{cat}} \quad (50)$$

Após, de acordo com Eadie-Hofstee:

$$\frac{i_{pa}}{[ACTZ]} = \frac{n F A \Gamma k_{cat}}{K_M^{app}} - \frac{i_{pa}}{K_M^{app}} = I_{EH} - S_{EH} i_{pa} \quad (51)$$

$$S_{EH} = \frac{-1}{K_M^{app}} \quad (52)$$

$$I_{EH} = \frac{n F A \Gamma k_{cat}}{K_M^{app}} \quad (53)$$

E por fim, por Hanes-Woolf:

$$\frac{[ACTZ]}{i_{pa}} = \frac{[ACTZ]}{n F A \Gamma k_{cat}} + \frac{K_M^{app}}{n F A \Gamma k_{cat}} \quad (54)$$

$$S_{HW} = \frac{1}{n F A \Gamma k_{cat}} \quad (55)$$

$$I_{HW} = \frac{K_M^{app}}{n F A \Gamma k_{cat}} \quad (56)$$

As incógnitas S e I denotam o coeficiente angular e linear, respectivamente, derivados das equações lineares dos gráficos obtidos pelos diferentes métodos. Também, foram avaliados os parâmetros cinéticos de constante de especificidade (k_s) [208] e constante de velocidade de transferência eletrônica heterogênea (k'_e) foram calculados pelas Equações 57 e 58, respectivamente, para cada método.

$$k_s = \frac{k_{cat}}{K_M^{app}} \quad (57)$$

$$k'_e = \frac{k_{cat} \Gamma}{K_M^{app}} \quad (58)$$

Os gráficos de ΔI_{pa}^{-1} vs. $[\text{ACTZ}]^{-1}$ para Lineweaver-Burke, $I_{pa}/[\text{ACTZ}]$ vs. ΔI_{pa} para Eadie-Hofstee e $[\text{ACTZ}]/I_{pa}$ vs. $[\text{ACTZ}]$ para Hanes-Woolf são apresentados na Figura 60 e os resultados cinéticos estão listados na Tabela 16.

Figura 60 - Análise de Michaelis-Menten em termos dos gráficos de **a)** Lineweaver-Burke, **b)** Eadie-Hofstee e **c)** Hanes-Woolf baseado nos resultados da Figura 57.

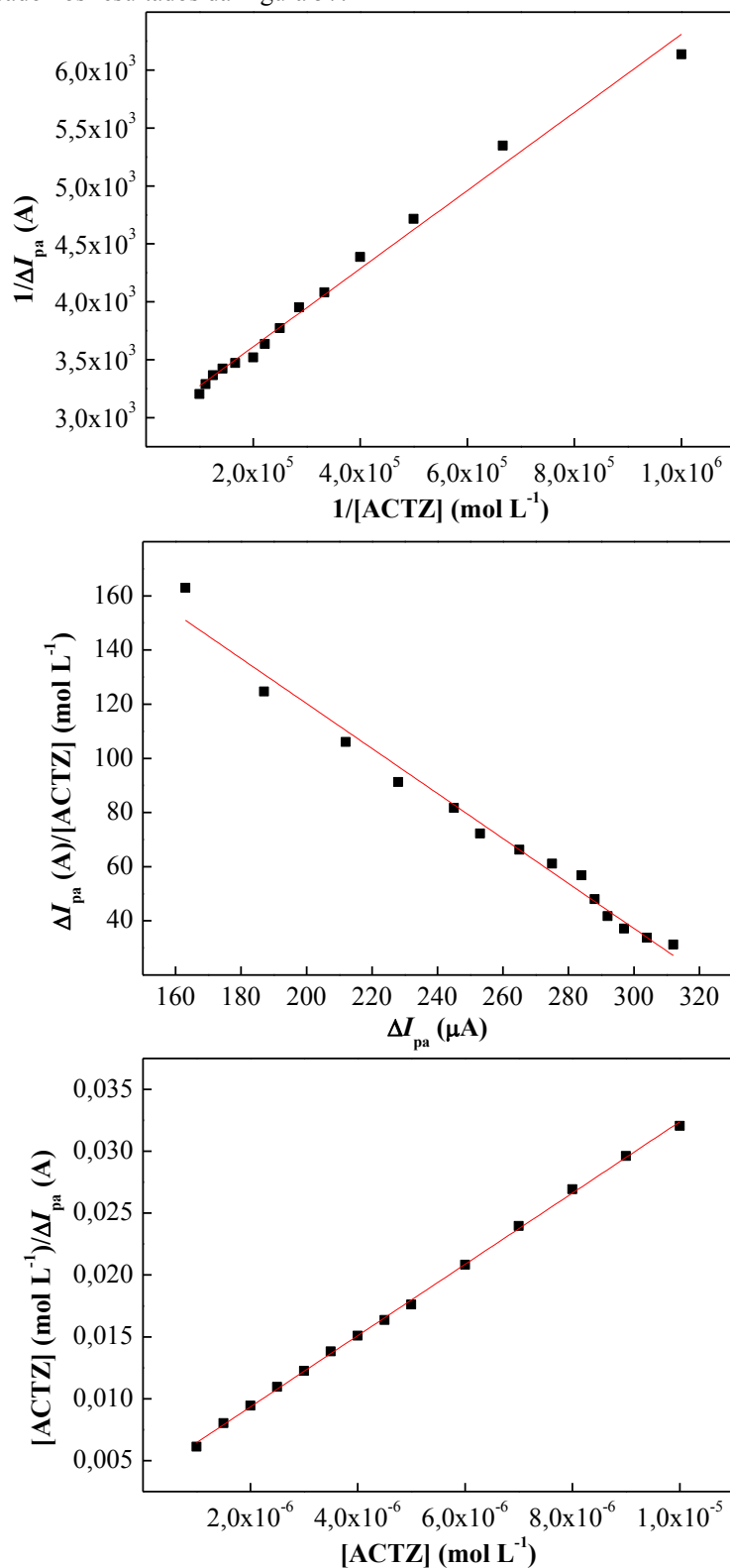


Tabela 16 - Parâmetros cinéticos de Michaelis-Menten aplicados ao sensor biomimético EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃.

Método	K_M^{app}	k_{cat}	k_s	k'_e
Lineweaver-Burke	1,147	0,201	1,752	0,019
Eadie-Hofstee	1,204	0,204	1,694	0,019
Hanes-Woolf	1,243	0,205	1,649	0,018

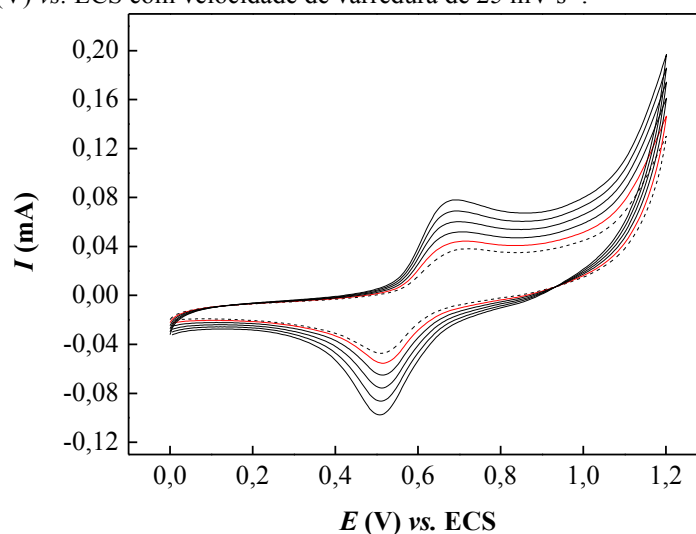
$K_M^{app} = \mu\text{mol L}^{-1}$; $k_{cat} = \text{s}^{-1}$; $k_s (10^3) = (\text{mol L})^{-1} \text{s}^{-1}$; $k'_e = \text{cm s}^{-1}$.

4.3.4.6 Aplicação eletroanalítica do sensor EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em amostras sintéticas

A fim de estudar sua viabilidade, a aplicação do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na determinação de ACTZ foi investigada inicialmente pelo método de adição múltipla de padrão em amostras de fluidos biológicos sintéticos, sendo eles: plasma, saliva e urina. Os estudos foram realizados aplicando a técnica de voltametria cíclica empregando um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 V vs. ECS com velocidade de 25 mV s⁻¹ em uma solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6).

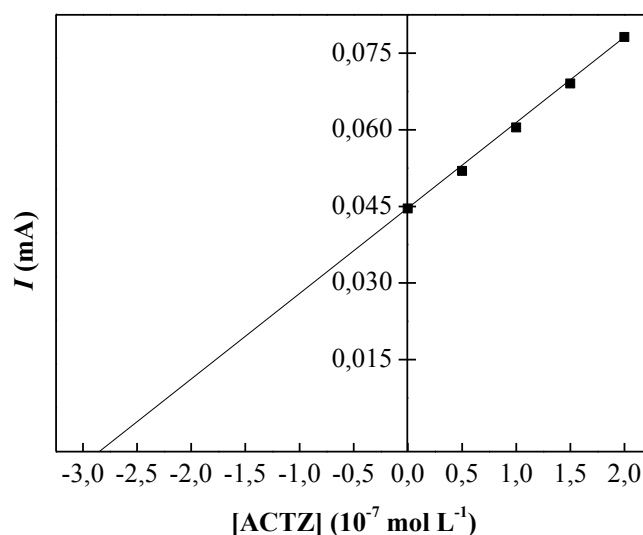
Sendo assim, após o registro de voltamogramas cíclicos na ausência de ACTZ, uma alíquota de 60 μL da amostra de plasma sintética contaminada com $1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de ACTZ foi adicionada à célula eletroquímica, obtendo uma concentração final equivalente a $3,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de ACTZ, seguido por adições múltiplas de 10 μL de padrão de ACTZ. A Figura 61 apresenta os voltamogramas cíclicos resultantes do método de adição múltipla de padrão utilizado para determinação de ACTZ em plasma sintético pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃.

Figura 61 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) para a determinação de ACTZ contendo a amostra de plasma sintético contaminado (linha **vermelha**) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas **pretas**) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.



A partir dos voltamogramas cíclicos, os valores das correntes de pico anódico foram registrados e a curva por adição múltipla de padrão foi obtida (Figura 62), sendo através desta possível determinar a concentração de ACTZ na amostra de plasma sintético de acordo com o método proposto.

Figura 62 - Curva por adição múltipla de padrão para a determinação de ACTZ em uma amostra de plasma sintético.



Similarmente ao plasma sintético, obtiveram-se voltamogramas cíclicos e curvas por adição múltipla de padrão para amostras sintéticas de saliva, como pode ser observado nas Figuras 63 e 64.

Figura 63 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) para a determinação de ACTZ contendo a amostra de saliva sintética contaminada (linha **vermelha**) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas **pretas**) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.

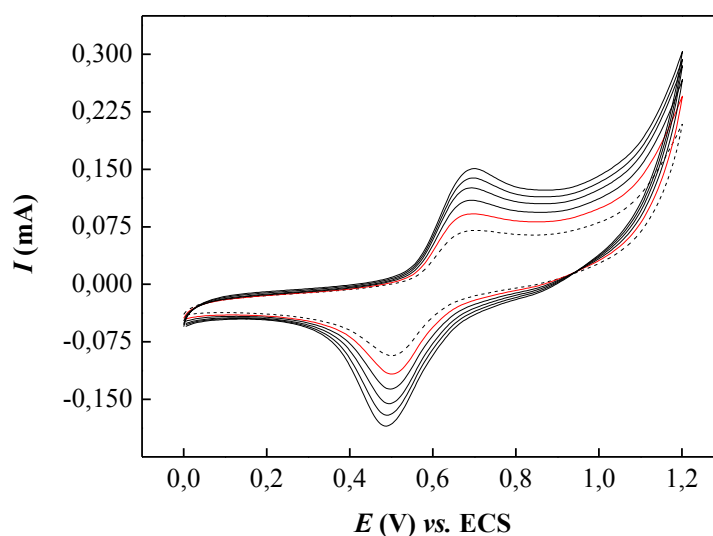
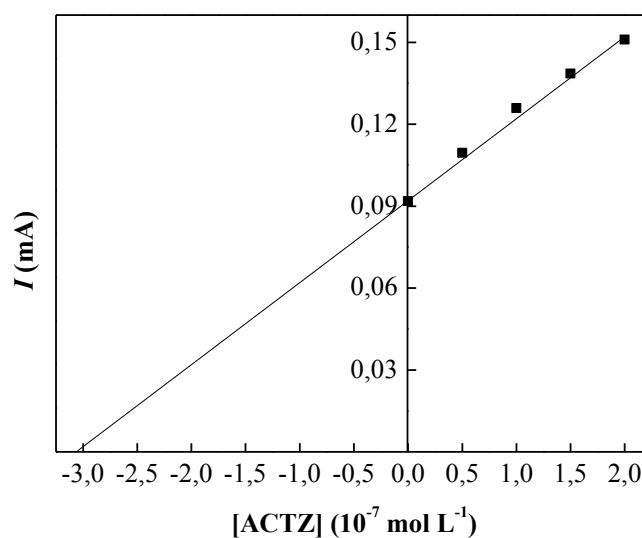


Figura 64 - Curva por adição múltipla de padrão para a determinação de ACTZ em uma amostra de saliva sintética.



Por fim, a amostra de urina sintética foi analisada tendo obtido voltamogramas cíclicos e curvas por adição múltipla de padrão, como apresentado nas Figuras 65 e 66.

Figura 65 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6) para a determinação de ACTZ contendo a amostra de urina sintética contaminada (linha **vermelha**) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas **pretas**) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s⁻¹.

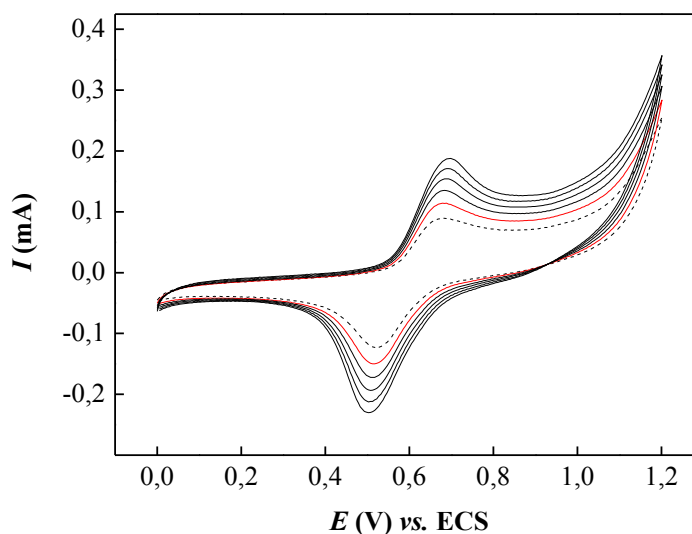
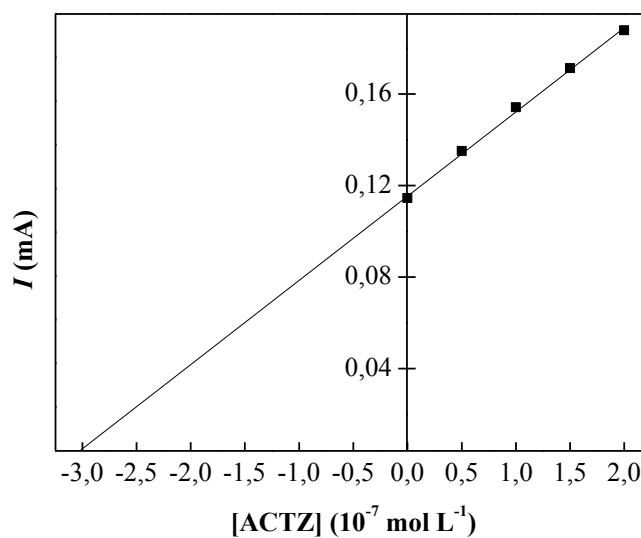


Figura 66 - Curva por adição múltipla de padrão para a determinação de ACTZ em uma amostra de urina sintética.



A Tabela 17 apresenta os resultados obtidos na determinação de ACTZ em amostras sintéticas de plasma, saliva e urina pelo método de adição múltipla de padrão e seus respectivos coeficientes de recuperação calculados utilizando a Equação 59.

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{[\text{ACTZ}]_{\text{determinada}}}{[\text{ACTZ}]_{\text{conhecida}}} \times 100 \quad (59)$$

Tabela 17 - Resultados da determinação de ACTZ em amostras sintéticas de urina, plasma e saliva utilizando o sensor EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃.

Amostra Sintética	Concentração adicionada à amostra (mol L⁻¹)	Concentração determinada pelo sensor (mol L⁻¹)	Recuperação (%)
Plasma	$3,00 \times 10^{-7}$	$2,87 \times 10^{-7}$	95,67
Saliva	$3,00 \times 10^{-7}$	$3,06 \times 10^{-7}$	102,00
Urina	$3,00 \times 10^{-7}$	$3,01 \times 10^{-7}$	100,33

De acordo com os resultados obtidos, o sensor EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ demonstrou-se viável na detecção e quantificação de ACTZ nas amostras sintéticas de fluidos biológicos propostas com máximo de erro nas recuperações de 4,33%. Isto significa que o procedimento proposto pode ser aplicado em análises de amostras reais com diferentes matrizes.

4.3.4.7 Aplicação eletroanalítica do sensor EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na análise do controle de doping em amostras de urina real

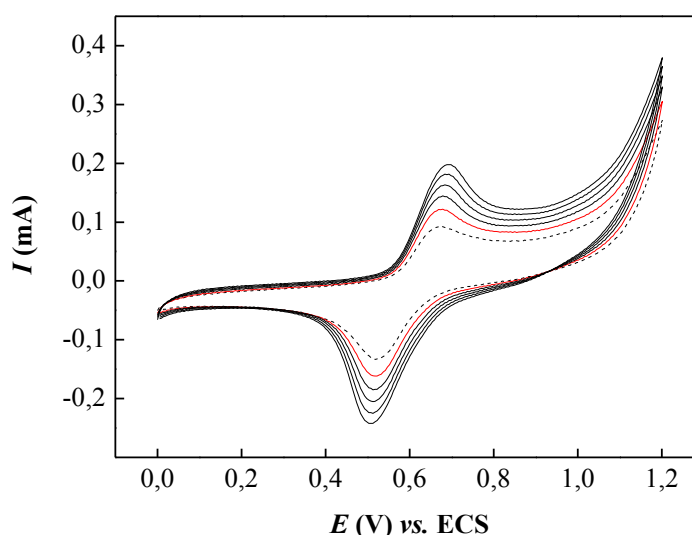
Como as amostras de urina foram coletadas de um indivíduo desportista que fez o uso de um comprimido de Diamox[®] (Genom) contendo 250 mg de ACTZ, já era de se esperar que este estivesse “dopado”. Portanto, o intuito deste experimento baseou-se na quantificação e comparação dos valores obtidos com a quantidade máxima permitida pela Agência Mundial Antidoping.

Assim sendo, a aplicação do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ na análise do controle de doping por acetazolamida foi investigada pelo método de adição múltipla de padrão nas amostras de urina coletadas. Os estudos foram realizados empregando a técnica de voltametria cíclica empregando um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 V vs. ECS com velocidade de 25 mV s⁻¹ em solução tampão acetato 0,1 mol L⁻¹ (pH 5,6).

Inicialmente, a primeira amostra de urina (prova) foi analisada. Após o registro de voltamogramas cíclicos na ausência de ACTZ, uma alíquota da amostra de urina foi adicionada à célula eletroquímica, seguido por adições múltiplas de padrão $1,00 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de ACTZ. A Figura 67 apresenta os voltamogramas cíclicos para o EPCM-[Mn^{III/IV}(μ-

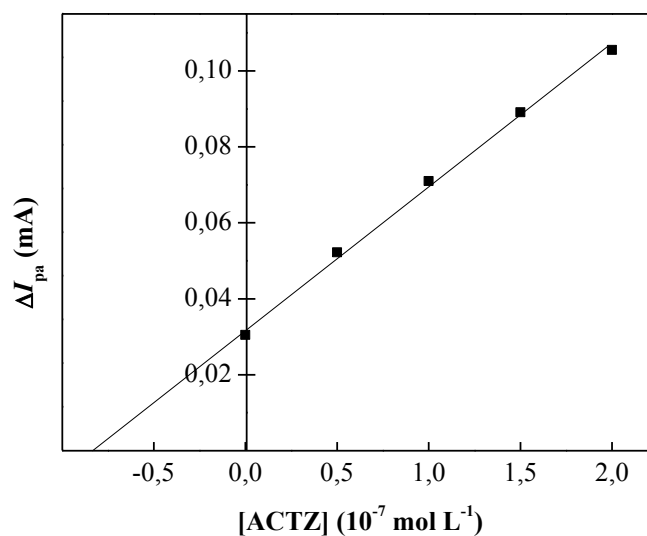
$O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$ resultantes do método de adição múltipla de padrão utilizado para análise de doping por ACTZ na amostra de urina.

Figura 67 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM- $[Mn^{III/IV}(\mu-O)(phen)_2]_2(ClO_4)_3$ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6) para a análise de doping por ACTZ contendo a amostra (prova) de urina (linha vermelha) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas pretas) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .



A partir dos voltamogramas cíclicos, os valores das correntes de pico anódico foram registrados e a curva por adição múltipla de padrão foi obtida (Figura 68).

Figura 68 - Curva por adição múltipla de padrão para análise de doping por ACTZ para a amostra real de urina (prova).



Para a detecção de diuréticos na urina em doping esportivo, a Agência Mundial Antidoping fixa para os laboratórios credenciados um nível mínimo de desempenho exigido de 200 ng mL^{-1} [209]. Embora varie as potencialidades, metabolismo e eliminação dentro da

classe de diuréticos [210] e, conseqüentemente, resulte em diferentes níveis urinários, a quantidade máxima permitida de 200 ng mL^{-1} é suficiente para ser classificado como uso abusivo de diuréticos por atletas (doping). Dosagens menores tendem a ser insuficientes para causar efeitos mascarantes ou perder peso, como alguns atletas procuram.

De acordo com a análise, obteve-se $5,05 \times 10^5 \text{ ng mL}^{-1}$ de ACTZ na amostra de urina (prova) resultando, como esperado, em positivo. Sendo assim, a confirmação do resultado positivo foi realizada pela análise da contraprova de modo semelhante, onde voltamogramas cíclicos (Figura 69) e a curva por adição múltipla de padrão (Figura 70) foram registrados, como apresentado nas figuras a seguir. Os resultados obtidos estão sumarizados na Tabela 18.

Figura 69 - Voltamogramas cíclicos do sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(phen)₂]₂(ClO₄)₃ em tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 5,6) para a análise de doping por ACTZ contendo a amostra (contraprova) de urina (linha **vermelha**) e com sucessivas adições de padrão de ACTZ (linhas **pretas**) um intervalo de potencial de 0,0 a 1,2 (V) vs. ECS com velocidade de varredura de 25 mV s^{-1} .

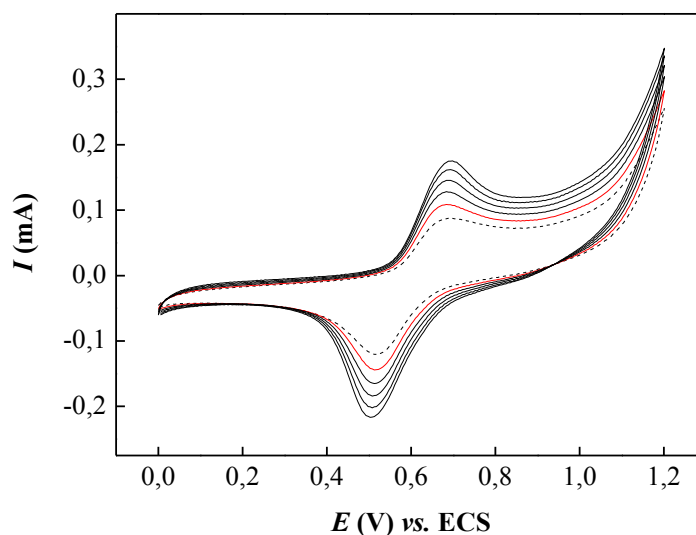


Figura 70 - Curva por adição múltipla de padrão para análise de doping por ACTZ para amostra real de urina (contraprova).

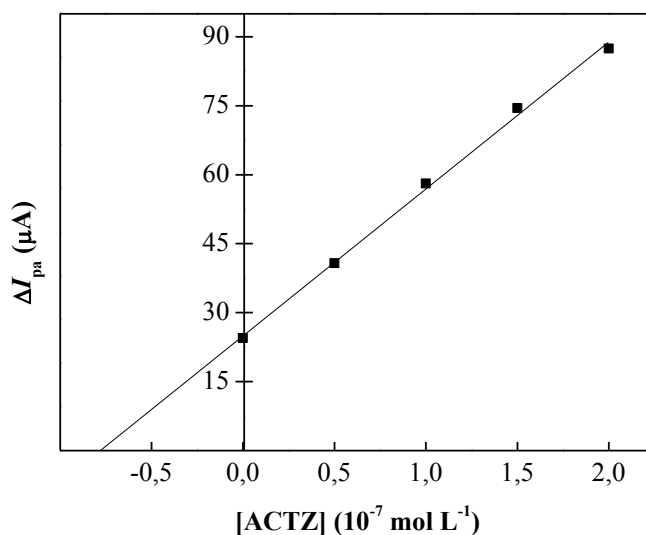


Tabela 18 - Resultados obtidos na análise de doping por ACTZ pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃.

Amostra	[ACTZ] ng mL⁻¹
Prova	$5,05 \times 10^5$
Contraprova	$4,77 \times 10^5$
Máximo permitido	200

De acordo com a análise da contraprova obteve-se o valor de $4,77 \times 10^5$ ng mL⁻¹ de ACTZ, ou seja, uma diferença de 5,5% em relação a prova, a qual pode ser considerada relativamente pequena, confirmando o resultado positivo apresentado anteriormente para doping por ACTZ.

4.4 CONCLUSÕES

Os estudos realizados demonstraram a eficácia na síntese e caracterização do complexo [Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ para a construção do eletrodo de pasta de carbono quimicamente modificado. Através do estudo do comportamento eletroquímico do EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ pôde-se avaliar e compreender os processos e mecanismos relacionados ao material em estudo, para que pudesse então ser aplicado com sensor eletroquímico na determinação de uma substância utilizada no doping. O sensor eletroquímico baseado no EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ demonstrou propriedades eletrocatalíticas na eletrooxidação de acetazolamida, permitindo a detecção de baixos níveis e alta sensibilidade, além de propriedades biomiméticas, as quais foram investigadas de acordo com o modelo de Michaelis-Menten. Por fim, a determinação de acetazolamida pelo sensor biomimético foi avaliada em três diferentes fluidos biológicos sintéticos (plasma, saliva e urina) com interesse na aplicação em amostras reais. A análise do controle de doping por ACTZ pelo EPCM-[Mn^{III/IV}(μ -O)(*phen*)₂]₂(ClO₄)₃ em amostras de urina real mostrou-se viável, sugerindo uma nova e promissora plataforma a ser utilizada nestas análises.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conformidade com os resultados obtidos, foram sintetizados, caracterizados e aplicados no desenvolvimento de sensores biomiméticos e na determinação de espécies de interesse analítico dois complexos oxo-manganês com características estruturais, cinéticas e catalíticas semelhantes à complexos biomimetizadores de centros ativos enzimáticos.

O primeiro deles, o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$, pôde ser estudado utilizando diferentes técnicas eletroquímicas, as quais propiciaram uma investigação mais profunda dos processos eletroquímicos, cinéticos e catalíticos deste em relação ao seu desproporcionamento na reação de redução de peróxido de hidrogênio, assim como os aspectos biomiméticos relacionados as enzimas *catalase* contendo manganês.

O segundo complexo estudado, $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$, em uma abordagem mais eletroanalítica, pôde ser aplicado eficientemente na detecção e quantificação de uma substância relacionada com o doping e proibida pela Agência Mundial Antidoping: a acetazolamida. Ademais, as propriedades biomiméticas do sensor EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ foram investigadas e permitiram o estudo dos parâmetros cinéticos de Michaelis-Menten.

Quando comparado à utilização de sensores biomiméticos ao invés dos biossensores, os complexos $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$ e $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$ oportunizaram a possibilidade de explorar suas excelentes propriedades cinéticas e catalíticas, além de alta seletividade, sensibilidade, simplificação do sistema, assim como diminuição do controle das condições de reação (por exemplo, pH e temperatura), de espécies interferentes e eliminação dos processos de extração e purificação, corroborando com o grande interesse no desenvolvimento desta área.

6 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

Como atividades futuras pretendem-se:

6.1 Para o complexo $[\text{Mn}^{\text{IV}}(\mu\text{-O})(\text{salpn})]_2$

- ✓ Investigar a formação de filmes finos do complexo através da eletropolimerização em baixas velocidades de varredura;
- ✓ Estudar a atividade electrocatalítica do complexo frente a outros peróxidos (peróxido de benzoíla, peróxido de carbamida, etc).

6.2 Para o sensor electroquímico EPCM- $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{phen})_2]_2(\text{ClO}_4)_3$

- ✓ Detectar e quantificar acetazolamida em amostras de Diamox[®] (Genom);
- ✓ Estudar a atividade electrocatalítica do sensor EPCM frente a outras substâncias proibidas pela Agência Mundial Antidoping (atenolol, furosemida, hidroclorotiazida, propranolol, tamoxifeno, etc).

6.3 Aplicação electroanalítica de outros complexos oxo-manganês

- ✓ Utilizar outros complexos oxo-manganês (como por exemplo: $[\text{Mn}^{\text{III/IV}}(\mu\text{-O})(\text{bpy})_2]_2^{3+}$) na detecção de espécies de interesse analítico relacionadas ao doping.

REFERÊNCIAS

- [1] INCZÉDY, J.; LENGYEL, T.; URE, A. M.; INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Compendium of analytical nomenclature: definitive rules 1997**. 3rd. Osney Mead, Oxford; Malden, MA: Blackwell Science, 1998.
- [2] MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically Modified Tin Oxide Electrode. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 12, p. 1882-1886, 1975.
- [3] OLIVEIRA, L. S. **Desenvolvimento de um sistema eletroquímico de análise por injeção em fluxo para detecção de cocaína**. 2011. 79 f. Mestrado em Ciências: Química - Departamento de Química, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- [4] SOUZA, M. D. B. Chemically modified electrodes applied to electroanalysis: A brief presentation. **Quimica Nova**, v. 20, n. 2, p. 191-195, 1997.
- [5] SILVA, R. P. **Aplicações analíticas de eletrodos quimicamente modificados por espécies de interesse biológico**. 2007. 105 f. Mestrado em Química (Química Analítica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- [6] YAO, Y. L.; DING, Y.; YE, L. S.; XIA, X. H. Two-step pyrolysis process to synthesize highly dispersed Pt-Ru/carbon nanotube catalysts for methanol electrooxidation. **Carbon**, v. 44, n. 1, p. 61-66, 2006.
- [7] KEYVANFARD, M.; SHAKERI, R.; KARIMI-MALEH, H.; ALIZAD, K. Highly selective and sensitive voltammetric sensor based on modified multiwall carbon nanotube paste electrode for simultaneous determination of ascorbic acid, acetaminophen and tryptophan. **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications**, v. 33, n. 2, p. 811-816, 2013.
- [8] WALCARIUS, A. Electroanalytical applications of microporous zeotites and mesoporous (Organo)silicas: Recent trends. **Electroanalysis**, v. 20, n. 7, p. 711-738, 2008.
- [9] WALCARIUS, A. Mesoporous materials and electrochemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 9, p. 4098-4140, 2013.
- [10] HARTL, A.; SCHMICH, E.; GARRIDO, J. A.; HERNANDO, J.; CATHARINO, S. C. R.; WALTER, S.; FEULNER, P.; KROMKA, A.; STEINMULLER, D.; STUTZMANN, M. Protein-modified nanocrystalline diamond thin films for biosensor applications. **Nature Materials**, v. 3, n. 10, p. 736-742, 2004.
- [11] DOWNARD, A. J. Electrochemically assisted covalent modification of carbon electrodes. **Electroanalysis**, v. 12, n. 14, p. 1085-1096, 2000.
- [12] LIU, J. Y.; CHENG, L.; LI, B. F.; DONG, S. J. Covalent modification of a glassy carbon surface by 4-aminobenzoic acid and its application in fabrication of a polyoxometalates-consisting monolayer and multilayer films. **Langmuir**, v. 16, n. 19, p. 7471-7476, 2000.
- [13] ATEŞ, M. A review study of (bio)sensor systems based on conducting polymers. **Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications**, v. 33, n. 4, p. 1853-1859, 2013.
- [14] GRANDE, C. D.; TRIA, M. C.; JIANG, G. Q.; PONNAPATI, R.; ADVINCULA, R. Surface-Grafted Polymers from Electropolymerized Polythiophene RAFT Agent. **Macromolecules**, v. 44, n. 4, p. 966-975, 2011.
- [15] MARTIN, C. S.; TEIXEIRA, M. F. S. A novel Mn-containing conducting metallopolymer obtained by electropolymerization in aqueous solution of a tetranuclear oxo-bridged manganese complex. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 27, p. 7133-7136, 2011.

- [16] FUNGARO, D. A.; BRETT, C. M. A. Perfluorinated and sulfonated polymers modified electrodes: Applications to environmental analysis. **Quimica Nova**, v. 23, n. 6, p. 805-811, 2000.
- [17] NASEF, M. M.; YAHAYA, A. H. Adsorption of some heavy metal ions from aqueous solutions on Nafion 117 membrane. **Desalination**, v. 249, n. 2, p. 677-681, 2009.
- [18] HEITNERWIRGUIN, C. Recent advances in perfluorinated ionomer membranes: Structure, properties and applications. **Journal of Membrane Science**, v. 120, n. 1, p. 1-33, 1996.
- [19] LEHMANI, A.; TURQ, P.; PERIE, M.; PERIE, J.; SIMONIN, J. P. Ion transport in Nafion(R) 117 membrane. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 428, n. 1-2, p. 81-89, 1997.
- [20] WILL, F. G. Bromine Diffusion through Nafion Perfluorinated Ion-Exchange Membranes. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 126, n. 1, p. 36-43, 1979.
- [21] GUZMANGARCIA, A. G.; PINTAURO, P. N.; VERBRUGGE, M. W.; HILL, R. F. Development of a Space-Charge Transport Model for Ion-Exchange Membranes. **Aiche Journal**, v. 36, n. 7, p. 1061-1074, 1990.
- [22] BONTHA, J. R.; PINTAURO, P. N. Water Orientation and Ion Solvation Effects during Multicomponent Salt Partitioning in a Nafion Cation-Exchange Membrane. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 23, p. 3835-3851, 1994.
- [23] PINTAURO, P. N.; TANDON, R.; CHAO, L.; XU, W.; EVILIA, R. Equilibrium Partitioning of Monovalent Divalent Cation-Salt Mixtures in Nafion Cation-Exchange Membranes. **Journal of Physical Chemistry**, v. 99, n. 34, p. 12915-12924, 1995.
- [24] HUANG, K. L.; HOLSEN, T. M.; SELMAN, J. R. Impurity partitioning in Nafion and ceramic separators used for purification of spent chromium plating solutions. **Journal of Membrane Science**, v. 210, n. 1, p. 137-145, 2002.
- [25] KREUER, K. D. Ion Conducting Membranes for Fuel Cells and other Electrochemical Devices. **Chemistry of Materials**, v. 26, n. 1, p. 361-380, 2014.
- [26] ITO, H.; MAEDA, T.; NAKANO, A.; TAKENAKA, H. Properties of Nafion membranes under PEM water electrolysis conditions. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, n. 17, p. 10527-10540, 2011.
- [27] SILVA, R. C. **Preparação e aplicação de eletrodos de pasta de carbono modificados com ditiocarbamatos para análise de fármacos**. 2006. 96 f. Mestrado em Ciências (Química Analítica) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- [28] ADAMS, R. N. Carbon Paste Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 30, n. 9, p. 1576-1576, 1958.
- [29] KUWANA, T.; FRENCH, W. G. Electrooxidation or Reduction of Organic Compounds into Aqueous Solutions Using Carbon Paste Electrode. **Analytical Chemistry**, v. 36, n. 1, p. 241-&, 1964.
- [30] RENGER, G. Biological Exploitation of Solar-Energy by Photosynthetic Water Splitting. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 26, n. 7, p. 643-660, 1987.
- [31] WIEGHARDT, K. A Structural Model for the Water-Oxidizing Manganese Cluster in Photosystem-II. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 33, n. 7, p. 725-728, 1994.
- [32] PECORARO, V. L.; BALDWIN, M. J.; GELASCO, A. Interaction of Manganese with Dioxide and Its Reduced Derivatives. **Chemical Reviews**, v. 94, n. 3, p. 807-826, 1994.

- [33] WIEGHARDT, K. The Active-Sites in Manganese-Containing Metalloproteins and Inorganic Model Complexes. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 28, n. 9, p. 1153-1172, 1989.
- [34] CHRISTOU, G. Manganese Carboxylate Chemistry and Its Biological Relevance. **Accounts of Chemical Research**, v. 22, n. 9, p. 328-335, 1989.
- [35] PECORARO, V. L.; HSIEH, W. Y. The use of model complexes to elucidate the structure and function of manganese redox enzymes. **Metal Ions in Biological Systems**, v. 37, p. 429-504, 2000.
- [36] MANCHANDA, R.; BRUDVIG, G. W.; CRABTREE, R. H. High-Valent Oxomanganese Clusters - Structural and Mechanistic Work Relevant to the Oxygen-Evolving Center in Photosystem-II. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 144, p. 1-38, 1995.
- [37] BRUDVIG, G. W. The Tetranuclear Manganese Complex of Photosystem-II. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 19, n. 2, p. 91-104, 1987.
- [38] YACHANDRA, V. K.; SAUER, K.; KLEIN, M. P. Manganese cluster in photosynthesis: Where plants oxidize water to dioxygen. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 7, p. 2927-2950, 1996.
- [39] LOLL, B.; KERN, J.; SAENGER, W.; ZOUNI, A.; BIESIADKA, J. Towards complete cofactor arrangement in the 3.0 angstrom resolution structure of photosystem II. **Nature**, v. 438, n. 7070, p. 1040-1044, 2005.
- [40] ROBBLEE, J. H.; CINCO, R. M.; YACHANDRA, V. K. X-ray spectroscopy-based structure of the Mn cluster and mechanism of photosynthetic oxygen evolution. **Biochimica Et Biophysica Acta-Bioenergetics**, v. 1503, n. 1-2, p. 7-23, 2001.
- [41] FERREIRA, K. N.; IVERSON, T. M.; MAGHLAOU, K.; BARBER, J.; IWATA, S. Architecture of the photosynthetic oxygen-evolving center. **Science**, v. 303, n. 5665, p. 1831-1838, 2004.
- [42] MCCLEVERTY, J. A.; MEYER, T. J. **Comprehensive coordination chemistry II : from biology to nanotechnology**. 1st. Amsterdam; Boston: Elsevier Pergamon, 2004.
- [43] CASTAMAN, S. T. **Síntese, caracterização e estudo da reatividade de compostos binucleares de manganês como modelos bioinorgânicos**. 2009. 236 f. Doutorado em Química (Química Inorgânica) - Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- [44] TZEDAKIS, T. Electrochemical study of binuclear manganese complexes as catalysts in Kraft pulp bleaching. **Electrochimica Acta**, v. 46, n. 1, p. 99-109, 2000.
- [45] RUTTINGER, W.; DISMUKES, G. C. Synthetic water-oxidation catalysts for artificial photosynthetic water oxidation. **Chemical Reviews**, v. 97, n. 1, p. 1-24, 1997.
- [46] SRINIVAS, D.; SIVASANKER, S. Biomimetic oxidations using transition metal complexes encapsulated in zeolites. **Catalysis Surveys from Asia**, v. 7, n. 2-3, p. 121-132, 2003.
- [47] OZETTE, K.; BATTIONI, P.; LEDUC, P.; BARTOLI, J. F.; MANSUY, D. A new manganese-beta-heptanitro-porphyrin with extreme redox potentials: spectral, electrochemical and catalytic properties. **Inorganica Chimica Acta**, v. 272, n. 1-2, p. 4-6, 1998.
- [48] KAMP, N. W. J.; SMITH, J. R. L. A comparative mechanistic study of the oxidation of phenols in aqueous solution by oxomanganese(IV) and oxoiron(IV) 5,10,15,20-tetrakis(2-N-methylpyridyl)porphyrin. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v. 113, n. 1-2, p. 131-145, 1996.

- [49] GANESAN, R.; VISWANATHAN, B. Redox properties of bis(8-hydroxyquinoline)manganese(II) encapsulated in various zeolites. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v. 223, n. 1-2, p. 21-29, 2004.
- [50] TZEDAKIS, T.; BENZADA, Y.; COMTAT, M. Kinetic study of binuclear manganese-tris(2-methyl pyridyl)amine complex used as a catalyst for wood pulp bleaching. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 40, n. 16, p. 3435-3444, 2001.
- [51] DANNACHER, J. J. Catalytic bleach: Most valuable applications for smart oxidation chemistry. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v. 251, n. 1-2, p. 159-176, 2006.
- [52] CALVIN, M. Solar-Energy by Photosynthesis. **Science**, v. 184, n. 4134, p. 375-381, 1974.
- [53] COOPER, S. R.; CALVIN, M. Solar-Energy by Photosynthesis - Manganese Complex Photolysis. **Science**, v. 185, n. 4148, p. 376-376, 1974.
- [54] TIDWELL, T. T. Hugo (ugo) Schiff, Schiff bases, and a century of beta-lactam synthesis. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 47, n. 6, p. 1016-1020, 2008.
- [55] GOLD, V.; INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Compendium of chemical terminology: IUPAC recommendations**. Oxford: Blackwell Scientific, 1987.
- [56] EL-SHERIF, A. A.; SHOUKRY, M. M.; ABD-ELGAWAD, M. M. A. Synthesis, characterization, biological activity and equilibrium studies of metal(II) ion complexes with tridentate hydrazone ligand derived from hydralazine. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 98, n. p. 307-321, 2012.
- [57] EL-SHERIF, A. A.; SHEHATA, M. R.; SHOUKRY, M. M.; BARAKAT, M. H. Synthesis, characterization, equilibrium study and biological activity of Cu(II), Ni(II) and Co(II) complexes of polydentate Schiff base ligand. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 96, p. 889-897, 2012.
- [58] KHOSA, M. K.; CHATHA, S. A. S.; NISAR, M.; ZIA, K. M.; KHALIL-UR-REHMAN; JAMAL, M. A.; YOUSAF, M. Synthesis, Spectral Investigation (H-1, C-13) of new (N, O and S based) Schiff Bases and Evaluation of their Antimicrobial Activities. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 33, n. 3, p. 421-425, 2011.
- [59] EI-SHERIF, A. A.; ELDEBSS, T. M. A. Synthesis, spectral characterization, solution equilibria, in vitro antibacterial and cytotoxic activities of Cu(II), Ni(II), Mn(II), Co(II) and Zn(II) complexes with Schiff base derived from 5-bromosalicylaldehyde and 2-aminomethylthiophene. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 79, n. 5, p. 1803-1814, 2011.
- [60] SATHISHA, M. P.; SHETTI, U. N.; REVANKAR, V. K.; PAI, K. S. R. Synthesis and antitumor studies on novel Co(II), Ni(II) and Cu(II) metal complexes of bis(3-acetylcoumarin)thiocarbohydrazone. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 11, p. 2338-2346, 2008.
- [61] ITO, Y. N.; KATSUKI, T. Asymmetric catalysis of new generation chiral metallosalen complexes. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 72, n. 4, p. 603-619, 1999.
- [62] POSPISIL, P. J.; CARSTEN, D. H.; JACOBSEN, E. N. X-ray structural studies of highly enantioselective Mn(salen) epoxidation catalysts. **Chemistry-a European Journal**, v. 2, n. 8, p. 974-980, 1996.
- [63] CANALI, L.; SHERRINGTON, D. C.; DELEUZE, H. Synthesis of resins with pendently-bound chiral manganese-salen complexes and use as heterogeneous

- asymmetric alkene epoxidation catalysts. **Reactive & Functional Polymers**, v. 40, n. 2, p. 155-168, 1999.
- [64] LU, X. H.; XIA, Q. H.; ZHAN, H. J.; YUAN, H. A.; YE, C. P.; SU, K. A.; XU, G. Synthesis, characterization and catalytic property of tetradentate Schiff-base complexes for the epoxidation of styrene. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v. 250, n. 1-2, p. 62-69, 2006.
- [65] AZZEM, M. A.; MOHAMED, Z. F.; FAHMY, H. M. Electrocatalytic reduction of some imino compounds on a glassy carbon electrode electrochemically modified with a new copper-salen complex. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 399, n. 1-2, p. 121-125, 1995.
- [66] SZLYK, E.; BINIAK, S.; LARSEN, E. Electrochemical and electrocatalytic studies of the N,N'-(1R,2R)-[(-)-1,2-cyclohexylenebis (salicylideneiminato)cobalt(II) complex. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 5, n. 3, p. 221-226, 2001.
- [67] HOSHINO, N. Liquid crystal properties of metal-salicylaldehyde complexes. Chemical modifications towards lower symmetry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 174, n. p. 77-108, 1998.
- [68] FUJIWARA, M.; MATSUSHITA, T.; SHONO, T. Reaction of Dichloromanganese(IV) Schiff-Base Complexes with Water as a Model for Water Oxidation in Photosystem-II. **Polyhedron**, v. 4, n. 11, p. 1895-1900, 1985.
- [69] AURANGZEB, N.; HULME, C. E.; MCAULIFFE, C. A.; PRITCHARD, R. G.; WATKINSON, M.; BERMEJO, M. R.; GARCIADEIBE, A.; REY, M.; SANMARTIN, J.; SOUSA, A. Crystallographic Characterization of a Possible Model for Photosystem-II. **Journal of the Chemical Society-Chemical Communications**, v. n. 9, p. 1153-1155, 1994.
- [70] ASHMAWY, F. M.; MCAULIFFE, C. A.; PARISH, R. V.; TAMES, J. Water Photolysis .1. The Photolysis of Coordinated Water in [(MnL-(H₂O))₂][ClO₄]₂ (L = Dianion of Tetradentate O₂n₂-Donor Schiff-Bases) - a Model for the Manganese Site in Photosystem-II of Green Plant Photosynthesis. **Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions**, v. 7, p. 1391-1397, 1985.
- [71] GONZALEZ-RIOPEDRE, G.; FERNANDEZ-GARCIA, M. I.; GONZALEZ-NOYA, A. M.; VAZQUEZ-FERNANDEZ, M. A.; BERMEJO, M. R.; MANEIRO, M. Manganese-Schiff base complexes as catalysts for water photolysis. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 40, p. 18069-18077, 2011.
- [72] SALAVATI-NIASARI, M.; DAVAR, F.; BAZARGANIPOUR, M. Synthesis, characterization and catalytic oxidation of para-xylene by a manganese(III) Schiff base complex on functionalized multi-wall carbon nanotubes (MWNTs). **Dalton Transactions**, v. 39, n. 31, p. 7330-7337, 2010.
- [73] ZHANG, N.; HUANG, C. Y.; SHI, D. H.; YOU, Z. L. Unprecedented preparation of bis-Schiff bases and their manganese(III) complexes with urease inhibitory activity. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 14, n. 10, p. 1636-1639, 2011.
- [74] LARSON, E. J.; PECORARO, V. L. Catalytic Disproportionation of Hydrogen-Peroxide by [Mn-IV(Mu-2-O)(Salpn)]₂. **Journal of the American Chemical Society**, v. 113, n. 20, p. 7809-7810, 1991.
- [75] FRASER, A. D. Doping control from a global and national perspective. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 26, n. 2, p. 171-4, 2004.
- [76] MAZZONI, I.; BARROSO, O.; RABIN, O. The List of Prohibited Substances and Methods in Sport: Structure and Review Process by the World Anti-Doping Agency. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 35, n. 9, p. 608-612, 2011.

- [77] WORLD ANTI-DOPING AGENCY CODE (WADA). **The 2014 prohibited list - International Standard**. Montreal, 2014. Disponível em: <<https://www.wada-ama.org/en/resources/science-medicine/prohibited-list>>. Acesso em: 01 fev. 2015.
- [78] WORLD ANTI-DOPING AGENCY CODE (WADA). **WADA accredited laboratory**. Montreal, 2014. Disponível em: <<https://www.wada-ama.org/en/what-we-do/science-medical/laboratories/accredited-laboratories>>. Acesso em: 1 fev. 2015.
- [79] THEVIS, M.; KUURANNE, T.; GEYER, H.; SCHANZER, W. Annual banned-substance review: analytical approaches in human sports drug testing. **Drug Testing and Analysis**, v. 5, n. 1, p. 1-19, 2013.
- [80] KAUR, I. P.; SMITHA, R.; AGGARWAL, D.; KAPIL, M. Acetazolamide: future perspective in topical glaucoma therapeutics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 248, n. 1-2, p. 1-14, 2002.
- [81] REISS, W. G.; OLES, K. S. Acetazolamide in the treatment of seizures. **Annals of Pharmacotherapy**, v. 30, n. 5, p. 514-9, 1996.
- [82] LOW, E. V.; AVERY, A. J.; GUPTA, V.; SCHEDLBAUER, A.; GROCOTT, M. P. W. Identifying the lowest effective dose of acetazolamide for the prophylaxis of acute mountain sickness: systematic review and meta-analysis. **British Medical Journal**, v. 345, 2012.
- [83] WALL, M.; MCDERMOTT, M. P.; KIEBURTZ, K. D.; CORBETT, J. J.; FELDON, S. E.; FRIEDMAN, D. I.; KATZ, D. M.; KELTNER, J. L.; SCHRON, E. B.; KUPERSMITH, M. J.; INTRACRANIAL, N. I. Effect of Acetazolamide on Visual Function in Patients With Idiopathic Intracranial Hypertension and Mild Visual Loss The Idiopathic Intracranial Hypertension Treatment Trial. **Jama-Journal of the American Medical Association**, v. 311, n. 16, p. 1641-1651, 2014.
- [84] Martindale: The complete drug reference - 38th edition Brayfield Alison (Ed). **Nurs Stand**, v. 28, n. 47, p. 32, 2014.
- [85] AURORA, R. N.; CHOWDHURI, S.; RAMAR, K.; BISTA, S. R.; CASEY, K. R.; LAMM, C. I.; KRISTO, D. A.; MALLEA, J. M.; ROWLEY, J. A.; ZAK, R. S.; TRACY, S. L. The Treatment of Central Sleep Apnea Syndromes in Adults: Practice Parameters with an Evidence-Based Literature Review and Meta-Analyses. **Sleep**, v. 35, n. 1, p. 17-40, 2012.
- [86] RITSCHEL, W. A.; PAULOS, C.; ARANCIBIA, A.; AGRAWAL, M. A.; WETZELSBERGER, K. M.; LUCKER, P. W. Pharmacokinetics of acetazolamide in healthy volunteers after short- and long-term exposure to high altitude. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 38, n. 6, p. 533-539, 1998.
- [87] JERONIMO, P. C. A.; ARAUJO, A. N.; CONCEICAO, M.; MONTENEGRO, B. S. M.; SATINSKY, D.; SOLICH, P. Flow-through sol-gel optical biosensor for the colorimetric determination of acetazolamide. **Analyst**, v. 130, n. 8, p. 1190-1197, 2005.
- [88] WALLACE, S. M.; SHAH, V. P.; RIEGELMAN, S. Glc Analysis of Acetazolamide in Blood, Plasma, and Saliva Following Oral-Administration to Normal Subjects. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 66, n. 4, p. 527-530, 1977.
- [89] CHAPRON, D. J.; WHITE, L. B. Determination of Acetazolamide in Biological-Fluids by Reverse-Phase High-Performance Liquid-Chromatography. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 73, n. 7, p. 985-989, 1984.
- [90] HARTLEY, R.; LUCOCK, M.; BECKER, M.; SMITH, I. J.; FORSYTHE, W. I. Solid-Phase Extraction of Acetazolamide from Biological-Fluids and Subsequent Analysis by High-Performance Liquid-Chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 377, p. 295-305, 1986.

- [91] ICHIKAWA, N.; NAORA, K.; HIRANO, H.; IWAMOTO, K. Quantitation of acetazolamide in rat plasma, brain tissue and cerebrospinal fluid by high-performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 17, n. 8, p. 1415-1421, 1998.
- [92] ZARGHI, A.; SHAFATI, A. Rapid determination of acetazolamide in human plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, n. 1, p. 169-172, 2002.
- [93] GREENE, I. M.; KENNY, A. D. Determination of Acetazolamide in Human Serum by Enzymatic Assay. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 28, n. 3, p. 159-166, 1992.
- [94] DEBALUGERA, Z. G.; GOICOLEA, M. A.; BARRIO, R. J. Joint Determination of Todralazine and Acetazolamide in Human Serum by Differential-Pulse Polarography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 12, n. 7, p. 883-887, 1994.
- [95] KHODADADIAN, M.; AHMADI, F. Computer-assisted design and synthesis of molecularly imprinted polymers for selective extraction of acetazolamide from human plasma prior to its voltammetric determination. **Talanta**, v. 81, n. 4-5, p. 1446-1453, 2010.
- [96] GHOLIVAND, M. B.; PARVIN, M. H. Voltammetric study of acetazolamide and its determination in human serum and urine using carbon paste electrode modified by gold nanoparticle. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 660, n. 1, p. 163-168, 2011.
- [97] SHAKIBAIAN, V.; PARVIN, M. H. Determination of acetazolamide by graphene paste electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 683, p. 119-124, 2012.
- [98] PARK, S. J.; PYO, H. S.; KIM, Y. J.; KIM, M. S.; PARK, J. S. Systematic Analysis of Diuretic Doping Agents by Hplc Screening and Gc/Ms Confirmation. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 14, n. 2, p. 84-90, 1990.
- [99] LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Electrochemical sensors: Fundamentals and applications in microenvironments. **Quimica Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006.
- [100] BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2. New York: Wiley, 2001.
- [101] BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O. **Electrochemistry : principles, methods, and applications**. Oxford: Oxford University Press, 1993.
- [102] YANEZ-SEDENO, P.; AGUI, L.; VILLALONGA, R.; PINGARRON, J. M. Biosensors in forensic analysis. A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 823, p. 1-19, 2014.
- [103] MAZZEI, F.; ANTIOCHIA, R.; BOTRE, F.; FAVERO, G.; TORTOLINI, C. Affinity-based biosensors in sport medicine and doping control analysis. **Bioanalysis**, v. 6, n. 2, p. 225-245, 2014.
- [104] LI, Y. F.; YE, Z.; LUO, P. L.; LI, Y.; YE, B. X. A sensitive voltammetric sensor for salbutamol based on MWNTs composite nano-Au film modified electrode. **Analytical Methods**, v. 6, n. 6, p. 1928-1935, 2014.
- [105] CAO, W. Y.; XIONG, H. Y.; GAO, X.; ZHANG, X. H.; WANG, S. F. A beta(2)-agonist sensor based on a molecularly imprinted poly-o-phenylenediamine film on a columnar-structured platinum electrode. **Analytical Methods**, v. 6, n. 7, p. 2349-2355, 2014.
- [106] DESAI, P. B.; SRIVASTAVA, A. K. Determination of amiloride at Nafion-CNT-nano-composite film sensor employing adsorptive stripping differential pulse voltammetry. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 169, p. 341-348, 2012.

- [107] RADI, A. Stripping voltammetric determination of indapamide in serum at castor oil-based carbon paste electrodes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, n. 3, p. 413-419, 2001.
- [108] GOYAL, R. N.; AZIZ, M. A.; OYAMA, M.; CHATTERJEE, S.; RANA, A. R. S. Nanogold based electrochemical sensor for determination of norepinephrine in biological fluids. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 153, n. 1, p. 232-238, 2011.
- [109] GOYAL, R. N.; BISHNOI, S. Simultaneous determination of epinephrine and norepinephrine in human blood plasma and urine samples using nanotubes modified edge plane pyrolytic graphite electrode. **Talanta**, v. 84, n. 1, p. 78-83, 2011.
- [110] YADAV, S. K.; CHANDRA, P.; GOYAL, R. N.; SHIM, Y. B. A review on determination of steroids in biological samples exploiting nanobio-electroanalytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 762, p. 14-24, 2013.
- [111] MOURA, S. L.; MORAES, R. R. D.; SANTOS, M. A. P. D.; MOREIRA, D. D. L.; LOPES, J. A. D.; PIVIDORI, M. I.; ZUCOLOTTI, V.; JÚNIOR, J. R. D. S. Electrochemical detection in vitro and electron transfer mechanism of testosterone using a modified electrode with a cobalt oxide film. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 202, p. 6, 2014.
- [112] LIPPAARD, S. J.; BERG, J. M. **Principles of bioinorganic chemistry**. Mill Valley, Calif.: University Science Books, 1994.
- [113] CASTAMAN, S. T. **Síntese, caracterização e estudo da reatividade de compostos binucleares de manganês como modelos bioinorgânicos**. 2009. 207 f. Tese (Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas) - Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- [114] BRESLOW, R.; DONG, S. D. Biomimetic reactions catalyzed by cyclodextrins and their derivatives. **Chemical Reviews**, v. 98, n. 5, p. 1997-2011, 1998.
- [115] MASURIER, N.; LAFONT, O.; ESTOUR, F. [Substituted cyclodextrins: an example of biomimetic catalyzers]. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v. 65, n. 2, p. 126-33, 2007.
- [116] BAO, H. F.; PENG, Z. Q.; WANG, E. K.; DONG, S. J. Loosely packed self-assembled monolayer of N-hexadecyl-3,6-di(p-mercaptophenylacetylene)carbazole on gold and its application in biomimetic membrane research. **Langmuir**, v. 20, n. 25, p. 10992-10997, 2004.
- [117] HUAYHUAS-CHIPANA, B. C.; GOMERO, J. C. M.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Nanostructured Screen-Printed Electrodes Modified with Self-Assembled Monolayers for Determination of Metronidazole in Different Matrices. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 9, p. 1737-1745, 2014.
- [118] CARVALHAL, R. F.; MENDES, R. K.; KUBOTA, L. T. SAM effects on riboflavin: A biomimetic catalyst for glucose oxidation. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 2, n. 12, p. 973-985, 2007.
- [119] CHOU, L. C. S.; LIU, C. C. Development of a molecular imprinting thick film electrochemical sensor for cholesterol detection. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 110, n. 2, p. 204-208, 2005.
- [120] YE, L.; HAUPT, K. Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 378, n. 8, p. 1887-1897, 2004.
- [121] TORO, M. J. U.; MARESTONI, L. D.; SOTOMAYOR, M. D. T. A new biomimetic sensor based on molecularly imprinted polymers for highly sensitive and selective determination of hexazinone herbicide. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 208, p. 299-306, 2015.

- [122] ALGIERI, C.; DRIOLI, E.; GUZZO, L.; DONATO, L. Bio-Mimetic Sensors Based on Molecularly Imprinted Membranes. **Sensors**, v. 14, n. 8, p. 13863-13912, 2014.
- [123] TEIXEIRA TARLEY, C. R.; TABOADA SOTOMAYOR, M. D. P.; KUBOTA, L. T. Biomimetic polymers in analytical chemistry. Part 2: applications of MIP (Molecularly Imprinted Polymers) in the development of chemical sensors. **Quimica Nova**, v. 28, n. 6, p. 1087-1101, 2005.
- [124] SANTOS, W. D. R.; SOUSA, A. L.; SOTOMAYOR, M. D. T.; DAMOS, F. S.; TANAKA, S. M. C. N.; KUBOTA, L. T.; TANAKA, A. A. Manganese Phthalocyanine as a Biomimetic Electrocatalyst for Phenols in the Development of an Amperometric Sensor. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1180-1187, 2009.
- [125] FRANZOI, A. C.; PERALTA, R. A.; NEVES, A.; VIEIRA, I. C. Biomimetic sensor based on (MnMnII)-Mn-III complex as manganese peroxidase mimetic for determination of rutin. **Talanta**, v. 78, n. 1, p. 221-226, 2009.
- [126] MACHINI, W. B. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Electrochemical Properties of the Oxo-Manganese-Phenanthroline Complex Immobilized on Ion-Exchange Polymeric Film and Its Application as Biomimetic Sensor for Sulfite Ions. **Electroanalysis**, v. 26, n. 10, p. 2182-2190, 2014.
- [127] MACHINI, W. B. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Application of oxo-manganese complex immobilized on ion-exchange polymeric film as biomimetic sensor for nitrite ions. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. In press, 2015.
- [128] SANGHAVI, B. J.; MOBIN, S. M.; MATHUR, P.; LAHIRI, G. K.; SRIVASTAVA, A. K. Biomimetic sensor for certain catecholamines employing copper(II) complex and silver nanoparticle modified glassy carbon paste electrode. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 39, n. 1, p. 124-132, 2013.
- [129] SOTOMAYOR, M. D.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, L. T. Tris (2,2 '-bipyridil) copper (II) chloride complex: a biomimetic tyrosinase catalyst in the amperometric sensor construction. **Electrochimica Acta**, v. 48, n. 7, p. 855-865, 2003.
- [130] MOBIN, S. M.; SANGHAVI, B. J.; SRIVASTAVA, A. K.; MATHUR, P.; LAHIRI, G. K. Biomimetic Sensor for Certain Phenols Employing a Copper(II) Complex. **Analytical Chemistry**, v. 82, n. 14, p. 5983-5992, 2010.
- [131] SOTOMAYOR, M. D. T.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, L. T. Development of an amperometric sensor for phenol compounds using a Nafion (R) membrane doped with copper dipyrindyl complex as a biomimetic catalyst. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 536, n. 1-2, p. 71-81, 2002.
- [132] HASEBE, Y.; AKIYAMA, T.; YAGISAWA, T.; UCHIYAMA, S. Enzyme-less amperometric biosensor for L-ascorbate using poly-L-histidine-copper complex as an alternative biocatalyst. **Talanta**, v. 47, n. 5, p. 1139-1147, 1998.
- [133] DADAMOS, T. R. L.; TEIXEIRA, M. F. S. Electrochemical sensor for sulfite determination based on a nanostructured copper-salen film modified electrode. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 19, p. 4552-4558, 2009.
- [134] SOTOMAYOR, M. D. T.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, L. T. Development of an enzymeless biosensor for the determination of phenolic compounds. **Analytica Chimica Acta**, v. 455, n. 2, p. 215-223, 2002.
- [135] FREIRE, R. S.; KUBOTA, L. T. Electrochemical behavior of the bis(2,2 '-bipyridyl) copper(II) complex immobilized on a self-assembled monolayer modified electrode for L-ascorbic acid detection. **Analyst**, v. 127, n. 11, p. 1502-1506, 2002.
- [136] DE CARVALHO, M. L.; SANTHIAGO, M.; PERALTA, R. A.; NEVES, A.; MICKE, G. A.; VIEIRA, I. C. Determination of chlorogenic acid in coffee using a biomimetic

- sensor based on a new tetranuclear copper(II) complex. **Talanta**, v. 77, n. 1, p. 394-399, 2008.
- [137] DE OLIVEIRA, I. R. W. Z.; OSORIA, R. E. H. M. D. B.; NEVES, A.; VIEIRA, I. C. Biomimetic sensor based on a novel copper complex for the determination of hydroquinone in cosmetics. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 122, n. 1, p. 89-94, 2007.
- [138] FERNANDES, S. C.; OSORIO, R. E. M.; DOS ANJOS, A.; NEVES, A.; MICKE, G. A.; VIEIRA, I. C. Determination of catechin in green tea using a catechol oxidase biomimetic sensor. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 6, p. 1215-1223, 2008.
- [139] GU, Y.; YAN, X. Y.; LIU, W. L.; LI, C.; CHEN, R. X.; TANG, L.; ZHANG, Z. Q.; YANG, M. Biomimetic sensor based on copper-poly(cysteine) film for the determination of metronidazole. **Electrochimica Acta**, v. 152, p. 108-116, 2015.
- [140] WONG, A.; LANZA, M. R. V.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Development and Application of a Highly Selective Biomimetic Sensor for Detection of Captopril, an Important Ally in Hypertension Control. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 13, n. 8, p. 666-674, 2010.
- [141] SOTOMAYOR, M. D. P. T.; SIGOLI, A.; LANZA, M. R. V.; TANAKA, A. A.; KUBOTA, L. T. Construction and application of an electrochemical sensor for paracetamol determination based on iron tetrapyrroline as a biomimetic catalyst of P450 enzyme. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 4, p. 734-743, 2008.
- [142] DE OLIVEIRA, I. R. W. Z.; NEVES, A.; VIEIRA, I. C. Development of a new biomimetic sensor based on an (FeFeII)-Fe-III complex for the determination of phenolic compounds. **Sensors and Actuators B-Chemical**, v. 129, n. 1, p. 424-430, 2008.
- [143] WONG, A.; LANZA, M. R. V.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Sensor for diuron quantitation based on the P450 biomimetic catalyst nickel(II) 1,4,8,11,15,18,22,25-octabutoxy-29H,31H-phthalocyanine. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 690, p. 83, 2013.
- [144] BONI, A. C.; WONG, A.; DUTRA, R. A. F.; SOTOMAYOR, M. D. T. Cobalt phthalocyanine as a biomimetic catalyst in the amperometric quantification of dipyrone using FIA. **Talanta**, v. 85, n. 4, p. 2067-2073, 2011.
- [145] SANTHIAGO, M.; PERALTA, R. A.; NEVES, A.; MICKE, G. A.; VIEIRA, I. C. Rosmarinic acid determination using biomimetic sensor based on purple acid phosphatase mimetic. **Analytica Chimica Acta**, v. 613, n. 1, p. 91-97, 2008.
- [146] RUY, M. R. S.; FIGUEIRA, E. C.; SOTOMAYOR, M. P. T. Electroanalytical determination of bumetanide employing a biomimetic sensor for detection of doping in sports. **Analytical Methods**, v. 6, n. 15, p. 7, 2014.
- [147] HARIHARA, M.; URBACH, F. L. Stereochemistry of Tetradentate Schiff Base Complexes of Cobalt(2). **Inorganic Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 556-&, 1969.
- [148] MOHEBI, S.; BOGHAEI, D. M. New unsymmetrical oxovanadium(IV) complexes of mixed-donor amido and oxo ligands. **Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, v. 34, n. 3, p. 611-626, 2004.
- [149] LARSON, E.; LAH, M. S.; LI, X. H.; BONADIES, J. A.; PECORARO, V. L. Manganese Manganese Separations in Oxide-Bridged and Alkoxide-Bridged Complexes - Correlation of Structure with Ligand Type and Number. **Inorganic Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 373-378, 1992.
- [150] LAYER, R. W. Chemistry of Imines. **Chemical Reviews**, v. 63, n. 5, p. 489-&, 1963.

- [151] FRONKO, R. M.; PENNERHAHN, J. E.; BENDER, C. J. Electron-Paramagnetic-Res Spectral Evidence for a Dinuclear Active-Site in the Lactobacillus-Plantarum Manganese Catalase. **Journal of the American Chemical Society**, v. 110, n. 22, p. 7554-7555, 1988.
- [152] KHANGULOV, S.; SIVARAJA, M.; BARYNIN, V. V.; DISMUKES, G. C. The Dimanganese(II,IV) Oxidation-State of Catalase from Thermus-Thermophilus - Electron Nuclear Double-Resonance Analysis of Water and Protein Ligands in the Active-Site. **Biochemistry**, v. 32, n. 18, p. 4912-4924, 1993.
- [153] MILLER, J. D.; OLIVER, F. D. Reaction between Oxygen and Manganese(II) Complexes of N,N'-Disalicylaldehyde-1,3-Propanediimine. **Journal of Inorganic & Nuclear Chemistry**, v. 34, n. 6, p. 1873-&, 1972.
- [154] GOHDES, J. W.; ARMSTRONG, W. H. Synthesis, Structure, and Properties of [Mn(Salpn)(EtOH)₂](ClO₄) and Its Aerobic Oxidation-Product [Mn(Salpn)O]₂. **Inorganic Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 368-373, 1992.
- [155] LARSON, E. J.; PECORARO, V. L. The Peroxide-Dependent Mu-2-O Bond Formation of [Mn(IV)Salpn(O)]₂. **Journal of the American Chemical Society**, v. 113, n. 10, p. 3810-3818, 1991.
- [156] IIKURA, H.; NAGATA, T. Structural variation in manganese complexes: Synthesis and characterization of manganese complexes from carboxylate-containing chelating ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 37, n. 18, p. 4702-4711, 1998.
- [157] LETO, D. F.; CHATTOPADHYAY, S.; DAY, V. W.; JACKSON, T. A. Reaction landscape of a pentadentate N₅-ligated Mn-II complex with O₂(center dot-) and H₂O₂ includes conversion of a peroxomanganese(III) adduct to a bis(mu-oxo)-dimanganese(III,IV) species. **Dalton Transactions**, v. 42, n. 36, p. 13014-13025, 2013.
- [158] SCHINDLER, S.; WALTER, O.; PEDERSEN, J. Z.; TOFTLUND, H. Synthesis and characterization of a new dinuclear bis(mu-oxo)manganese(III)/manganese(IV) complex. **Inorganica Chimica Acta**, v. 303, n. 2, p. 215-219, 2000.
- [159] ARANHA, P. E.; DOS SANTOS, M. P.; ROMERA, S.; DOCKAL, E. R. Synthesis, characterization, and spectroscopic studies of tetradentate Schiff base chromium(III) complexes. **Polyhedron**, v. 26, n. 7, p. 1373-1382, 2007.
- [160] SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7th. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2005.
- [161] NAEIMI, H.; MORADIAN, M. Synthesis and characterization of nitro-Schiff bases derived from 5-nitro-salicylaldehyde and various diamines and their complexes of Co(II). **Journal of Coordination Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 156-162, 2010.
- [162] BOSNICH, B. An Interpretation of Circular Dichroism and Electronic Spectra of Salicylaldehyde Complexes of Square-Coplanar Diamagnetic Nickel(II). **Journal of the American Chemical Society**, v. 90, n. 3, p. 627-&, 1968.
- [163] ATKINS, P. W.; SHRIVER, D. F. **Inorganic chemistry**. 4th. New York: W.H. Freeman, 2006.
- [164] GAMELIN, D. R.; KIRK, M. L.; STEMMLER, T. L.; PAL, S.; ARMSTRONG, W. H.; PENNERHAHN, J. E.; SOLOMON, E. I. Electronic-Structure and Spectroscopy of Manganese Catalase and Di-Mu-Oxo [Mn(II)Mn(IV)] Model Complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, n. 6, p. 2392-2399, 1994.
- [165] MARTIN, C. S.; TEIXEIRA, M. F. S. Electrochemical Properties of Oxo-Manganese Complex Biomimicking Enzyme Active Sites and Its Electrocatalytic Application for Dopamine Determination. **Electrocatalysis**, v. 4, n. 2, p. 92-100, 2013.

- [166] GUPTA, K. C.; SUTAR, A. K. Polymer anchored Schiff base complexes of transition metal ions and their catalytic activities in oxidation of phenol. **Journal of Molecular Catalysis a-Chemical**, v. 272, n. 1-2, p. 64-74, 2007.
- [167] PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S. **Introduction to spectroscopy**. Philadelphia: Saunders, 1979.
- [168] GUPTA, K. C.; SUTAR, A. K. Catalytic activity of polymer anchored N,N'-bis (o-hydroxy acetophenone) ethylene diamine Schiff base complexes of Fe(III), Cu(II) and Zn(II) ions in oxidation of phenol. **Reactive & Functional Polymers**, v. 68, n. 1, p. 12-26, 2008.
- [169] MORRISON, M. M.; SAWYER, D. T. Redox Reactions of Di-Mu-Oxo Bridged Binuclear Manganese(IV) and Manganese(III) Complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 1, p. 257-258, 1977.
- [170] OKI, A. R.; GLERUP, J.; HODGSON, D. J. Syntheses and Characterization of Binuclear Manganese(III,IV) and Manganese(IV,IV) Complexes with Ligands Related to Tris(2-Pyridylmethyl)Amine. **Inorganic Chemistry**, v. 29, n. 13, p. 2435-2441, 1990.
- [171] BHADURI, S.; TASIOPOULOS, A. J.; BOLCAR, M. A.; ABBOUD, K. A.; STREIB, W. E.; CHRISTOU, G. Symmetric and asymmetric dinuclear manganese(IV) complexes possessing a $[\text{Mn-2(IV)}(\mu\text{-O})(2)(\mu\text{-O}_2\text{CMe})](3+)$ core and terminal Cl-ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 42, n. 5, p. 1483-1492, 2003.
- [172] ROCHA, R. C.; TOMA, H. E. Electron transfer in inorganic mixed-valence systems. **Quimica Nova**, v. 25, n. 4, p. 624-638, 2002.
- [173] CREUTZ, C. Mixed-Valence Complexes of D5-D6 Metal Centers. **Progress in Inorganic Chemistry**, v. 30, p. 1-73, 1983.
- [174] RICHARDSON, D. E.; TAUBE, H. Determination of E2-Degrees - E1-Degrees in Multistep Charge-Transfer by Stationary-Electrode Pulse and Cyclic Voltammetry - Application to Binuclear Ruthenium Ammines. **Inorganic Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1278-1285, 1981.
- [175] RICHARDSON, D. E.; TAUBE, H. Mixed-Valence Molecules - Electronic Delocalization and Stabilization. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 60, n. Nov, p. 107-129, 1984.
- [176] ROBIN, M. B.; DAY, P. Mixed Valence Chemistry-A Survey and Classification. **Advances in Inorganic Chemistry and Radiochemistry**, v. 10, p. 5, 1968.
- [177] SMITHA, B.; SRINDHAR, S.; KHAN, A. A. Solid polymer electrolyte membranes for fuel cell applications - A review. **Journal of Membrane Science**, v. 259, p. 17, 2005.
- [178] MAURITZ, K. A.; MOORE, R. B. State of understanding of nafion. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 10, p. 4535-85, 2004.
- [179] PERLES, C. E. Physicochemical Properties Related to the Development of Nafion (R) Membranes for Application in Fuel Cells. **Polimeros-Ciencia E Tecnologia**, v. 18, n. 4, p. 281-288, 2008.
- [180] GIERKE, T. D.; HSU, W. Y. The Cluster-Network Model of Ion Clustering in Perfluorosulfonated Membranes. **ACS Symposium Series**, v. 180, n. p. 283-307, 1982.
- [181] MACHINI, W. B. S.; TEIXEIRA, M. F. S.; MARTIN, C. S. Caracterização Eletroquímica do Complexo Oxo-manganês $[\text{Mn}_3\text{O}_4(\text{phen})_4(\text{H}_2\text{O})_2](\text{NO}_3)_4$ por Voltametria Cíclica. In: XXII Congresso de Iniciação Científica - XXII CIC/UNESP, 2010, Marília. **Anais**. Pró-reitoria de Pesquisa da Unesp, p. 4.
- [182] MCNAUGHT, A. D.; WILKINSON, A.; INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Compendium of chemical terminology: IUPAC recommendations**. 2nd. Oxford: Blackwell Science, 1997.

- [183] LYONS, M. E. G.; BANNON, T.; HINDS, G.; REBOUILLAT, S. Reaction/diffusion with Michaelis-Menten kinetics in electroactive polymer films - Part 2. The transient amperometric response. **Analyst**, v. 123, n. 10, p. 1947-1959, 1998.
- [184] LYONS, M. E. G.; FITZGERALD, C. A.; SMYTH, M. R. Glucose-Oxidation at Ruthenium Dioxide-Based Electrodes. **Analyst**, v. 119, n. 5, p. 855-861, 1994.
- [185] KARSTEN, P.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; STRAHLE, J.; MAICHLE-MOSSMER, C. Synthesis, structure and catalase-like activity of a new dinuclear mixed valence (MnMnIII)-Mn-II complex containing an unsymmetric N5O2 donor ligand. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 5, n. 6, p. 434-438, 2002.
- [186] ZHOU, D. F.; CHEN, Q. Y.; QI, Y.; FU, H. J.; LI, Z.; ZHAO, K. D.; GAO, J. Anticancer Activity, Attenuation on the Absorption of Calcium in Mitochondria, and Catalase Activity for Manganese Complexes of N-Substituted Di(picolyl)amine. **Inorganic Chemistry**, v. 50, n. 15, p. 6929-6937, 2011.
- [187] CHEN, Q. Y.; HUANG, J.; LI, J. F.; GAO, J. Synthesis, Interaction with Mitochondrial and Cancer Cells of a Dinuclear Manganese(II) Complex: Mn(2)(Adpa)(2)Cl(4). **Chinese Journal of Inorganic Chemistry**, v. 24, n. 11, p. 1789-1793, 2008.
- [188] WANG, Z. W.; CHEN, Q. Y.; LIU, Q. S. Manganese(II) complexes of quinoline derivatives: characterization, catalase activity, interaction with mitochondria and anticancer activity. **Transition Metal Chemistry**, v. 39, n. 8, p. 917-924, 2014.
- [189] PALOPOLI, C.; GONZALEZ-SIERRA, M.; ROBLES, G.; DAHAN, F.; TUCHAGUES, J. P.; SIGNORELLA, S. Synthesis and characterisation of dimanganese(III) complexes of 1,5-bis(X-salicylidenamino)pentan-3-ol (X=3-or 5-methoxy) and their catalytic activity towards hydrogen peroxide disproportionation. **Journal of the Chemical Society-Dalton Transactions**, v. 20, p. 3813-3819, 2002.
- [190] BOELRIJK, A. E. M.; DISMUKES, G. C. Mechanism of hydrogen peroxide dismutation by a dimanganese catalase mimic: Dominant role of an intramolecular base on substrate binding affinity and rate acceleration. **Inorganic Chemistry**, v. 39, n. 14, p. 3020-3028, 2000.
- [191] PALOPOLI, C.; DUHAYON, C.; TUCHAGUES, J. P.; SIGNORELLA, S. Synthesis, characterization, and reactivity studies of a water-soluble bis(alkoxo)(carboxylato)-bridged diMn(III) complex modeling the active site in catalase. **Dalton Transactions**, v. 43, n. 45, p. 17145-17155, 2014.
- [192] PECORARO, V. L. **Manganese redox enzymes**. VCH, 1992.
- [193] DE BOER, J. W.; BROWNE, W. R.; FERINGA, B. L.; HAGE, R. Carboxylate-bridged dinuclear manganese systems - From catalases to oxidation catalysis. **Comptes Rendus Chimie**, v. 10, n. 4-5, p. 341-354, 2007.
- [194] SHIN, B. K.; KIM, M.; HAN, J. Hydrogen peroxide disproportionation by the [TPA(2)Mn(2)(μ -Cl)(2)](2+) complex. **Polyhedron**, v. 29, n. 12, p. 2560-2568, 2010.
- [195] STIBRANY, R. T.; GORUN, S. M. Synthesis, Structure, and Catalase-Type Activity of a Novel Oxo-Bridged Tetranuclear Manganese Aggregate Exhibiting Short O=O Interactions. **Angewandte Chemie-International Edition in English**, v. 29, n. 10, p. 1156-1158, 1990.
- [196] LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. 6th. New York: W.H. Freeman, 2013.
- [197] SIGNORELLA, S.; ROMPEL, A.; BULDT-KARENTZOPOULOS, K.; KREBS, B.; PECORARO, V. L.; TUCHAGUES, J. P. Reevaluation of the kinetics of polynuclear mimics for manganese catalases. **Inorganic Chemistry**, v. 46, n. 25, p. 10864-10868, 2007.

- [198] LIU, L.; QIU, C. L.; CHEN, Q.; ZHANG, S. M. Corrosion behavior of Zr-based bulk metallic glasses in different artificial body fluids. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 425, n. 1-2, p. 268-273, 2006.
- [199] LAUBE, N.; MOHR, B.; HESSE, A. Laser-probe-based investigation of the evolution of particle size distributions of calcium oxalate particles formed in artificial urines. **Journal of Crystal Growth**, v. 233, n. 1-2, p. 367-374, 2001.
- [200] WORLD ANTI-DOPING AGENCY CODE (WADA). **International Standard for Testing**. Montreal, 2012. Disponível em: <https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/WADA_IST_2012_EN.pdf>. Acesso em: 1 fev. 2015.
- [201] COOPER, S. R.; CALVIN, M. Mixed-Valence Interactions in Di-Mu-Oxo Bridged Manganese Complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 20, p. 6623-6630, 1977.
- [202] TEIXEIRA, M. F. S.; MARINO, G.; DOCKAL, E. R.; CAVALHEIRO, E. T. G. Voltammetric determination of pyridoxine (Vitamin B-6) at a carbon paste electrode modified with vanadyl(IV)-Salen complex. **Analytica Chimica Acta**, v. 508, n. 1, p. 79-85, 2004.
- [203] SOUTHAMPTON ELECTROCHEMISTRY GROUP. **Instrumental methods in electrochemistry**. Chichester, New York: E. Horwood; Halsted Press, 1985.
- [204] HUYNH, M. H. V.; MEYER, T. J. Proton-coupled electron transfer. **Chemical Reviews**, v. 107, n. 11, p. 5004-5064, 2007.
- [205] SPROVIERO, E. M.; GASCON, J. A.; MCEVOY, J. P.; BRUDVIG, G. W.; BATISTA, V. S. Characterization of synthetic oxomanganese complexes and the inorganic core of the O₂-evolving complex in photosystem - II: Evaluation of the DFT/B3LYP level of theory. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, n. 4, p. 786-800, 2006.
- [206] MEYER, T. J.; HUYNH, M. H. V.; THORP, H. H. The possible role of proton-coupled electron transfer (PCET) in water oxidation by photosystem II. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 46, n. 28, p. 5284-5304, 2007.
- [207] RIVALTA, I.; BRUDVIG, G. W.; BATISTA, V. S. Oxomanganese complexes for natural and artificial photosynthesis. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 16, n. 1-2, p. 11-18, 2012.
- [208] PETSKO, G. A. Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding. **Nature**, v. 401, n. 6749, p. 115-116, 1999.
- [209] WORLD ANTI-DOPING AGENCY CODE (WADA). **Technical Document for Minimum Required Performance Levels for the Detection of Prohibited Substances**. Montreal, 2014. Disponível em: <<https://wada-main-prod.s3.amazonaws.com/resources/files/WADA-TD2014MRPL-v1-Minimum-Required-Performance-Levels-EN.pdf>>. Acesso em: 1 fev. 2015.
- [210] CADWALLADER, A. B.; DE LA TORRE, X.; TIERI, A.; BOTRE, F. The abuse of diuretics as performance-enhancing drugs and masking agents in sport doping: pharmacology, toxicology and analysis. **British Journal of Pharmacology**, v. 161, n. 1, p. 1-16, 2010.

Autorizo a reprodução xenográfica para fins de pesquisa.

São José do Rio Preto, 17 de abril de 2015.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Wesley Bruno da Silva Machini'. The signature is stylized with a large 'W' and 'B' and a long horizontal stroke at the end.

Wesley Bruno da Silva Machini