

**Alma Mater Studiorum – Università di Bologna**

**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**Scienze Chimiche**

**Ciclo XXV**

**Settore concorsuale di afferenza: 03/A1-CHIMICA ANALITICA**

**Settore scientifico disciplinare: CHIM/01-CHIMICA ANALITICA**

**DETERMINAZIONE DI RADICALI OH: SINTESI DI  
MATERIALI PER LA MODIFICA DI ELETTRODI DI  
PLATINO E CARBONE VETROSO**

**Presentata da: Dott. Isacco Gualandi**

**Coordinatore:**

**Prof.ssa Adriana Bigi**

**Relatore:**

**Prof.ssa Domenica Tonelli**

**Esame finale anno 2013**

---



## Sommario

1	MOTIVAZIONE E SCOPO DELLA RICERCA	7
1.1	Bibliografia	10
2	IL RADICALE OH	12
2.1	I radicali liberi	12
2.2	ROS: specie reattive dell'ossigeno	12
2.3	Il radicale ossidrilico	14
2.4	Determinazione del radicale ossidrilico	16
2.5	Composti antiossidanti	18
2.6	Determinazione del potere antiossidante	19
2.7	Bibliografia	21
3	ELETTRODI MODIFICATI	26
3.1	Elettrocatalisi	27
3.2	Materiali elettrodici	31
3.2.1	Carbone vetroso	31
3.2.2	Platino	31
3.3	Modificanti elettrodici	32
3.3.1	Argille	32
3.3.2	Polimeri	42
3.4	Bibliografia	45
4	PARTE SPERIMENTALE	50
4.1	Reagenti utilizzati	50
4.2	Strumenti	52
4.3	Fabbricazione degli elettrodi di lavoro "home made"	54
4.4	Elettrodo di GC modificato con un film di polifenolo	55
4.4.1	Elettrodo di GC modificato con film di polipirrolo o polipirrolo sovraossidato	56
4.5	Rivelazione del radicale OH	57
4.5.1	Principio del metodo	57
4.5.2	Generazione del radicale OH	57
4.5.3	Valutazione della quantità di modificante elettrodico degradato dal radicale OH per l'elettrodo GC-pfen	58
4.5.4	Valutazione dell'attività di fotocatalizzatori a base di nano particelle di TiO <sub>2</sub>	59
4.6	Saggio elettrochimico per la determinazione dell'attività di "scavenger" del radicale OH	61

4.7	Saggi analitici per la determinazione del potere antiossidante	62	
4.7.1	Saggio ABTS	62	
4.7.2	Saggio DPPH	63	
4.7.3	Saggio ORAC <sup>11</sup>	64	
4.7.4	Determinazione della capacità antiossidante di un campione reale.	65	
4.8	Fabbricazione di elettrodi di Pt modificati a base di LDH	67	
4.9	Caratterizzazione dei film di LDH con diffrazione a raggi X per polveri	69	
4.10	Caratterizzazione dei film di LDH con spettrometria infrarossa	70	
4.11	Determinazioni amperometriche con elettrodi modificati con LDH a base di Co/Al	70	
4.12	Determinazione del contenuto di AS all'interno di un campione di aspirina commerciale	71	
4.13	Determinazione HPLC di acido salicilico, acido 2,5 diidrossibenzoico e acido 2,3 diidrossibenzoico	72	
4.14	Bibliografia	73	
5	<b>SCelta DEL MODIFICANTE ELETTRODICO PER LO SVILUPPO DI UN SENSORE PER LA RIVELAZIONE DEL RADICALE OH</b>		<b>75</b>
5.1	Elettrodo modificato con polifenolo	77	
5.2	Elettrodo modificato con polipirrolo (GC-ppyr)	78	
5.3	Elettrodo modificato con polipirrolo sovraossidato	81	
5.4	Confronto tra i modificanti elettrodici proposti	83	
5.5	Bibliografia	84	
6	<b>RIVELAZIONE DEL RADICALE OH CON L'ELETTRODO GC-pfen</b>		<b>85</b>
6.1	Ottimizzazione della preparazione dell'elettrodo GC-pfen	85	
6.2	Caratterizzazione dell'elettrodo modificato	87	
6.3	Valutazione del segnale analitico	88	
6.4	Interpretazione del segnale analitico	89	
6.4.1	Simulazione delle cinetiche e dei profili di concentrazione	89	
6.4.2	Verifica dei risultati ottenuti per il film di polifenolo	96	
6.5	Studio degli interferenti	97	
6.6	Determinazione dell'attività di fotocatalizzatori a base di TiO <sub>2</sub>	99	
6.7	Bibliografia	101	
7	<b>SVILUPPO DI UNA METODOLOGIA PER LA DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ DI SCAVENGER DEL RADICALE OH</b>		<b>103</b>
7.1	Studio della degradazione del film durante la fotolisi dell'acqua ossigenata	103	

7.2	Cinetiche di degradazione in presenza di composti antiossidanti	104	
7.3	Determinazione della capacità di scavenger	105	
7.3.1	Area sottesa dalla curva	106	
7.3.2	Potere inibente	106	
7.3.3	Tempo di induzione o Lag phase	107	
7.3.4	Confronto tra le varie metodologie di elaborazione del segnale	107	
7.3.5	Confronto tra i vari antiossidanti studiati	109	
7.4	Confronto della metodica utilizzata con alcune procedure ampiamente utilizzate	109	
7.5	Analisi di un campione reale	110	
7.6	Analisi di estratti di Aronia Melanocarpa	112	
7.7	Bibliografia	113	
8 ELETTRDI MODIFICATI PER LA DETERMINAZIONE DI MOLECOLE SONDA UTILIZZABILI PER RIVELARE ILRADICALE OH			114
9 STUDIO DELL'ELETTRODEPOSIZIONE SU ELETTRDI DI Pt DI FILM DI LDH E LORO CARATTERIZZAZIONE			115
9.1	Effetto del pretrattamento della superficie di Pt	116	
9.2	Elettrodeposizione di film di LDH a base di Co/Al su superfici Pt pretrattate	119	
9.3	Studio dell'effetto del potenziale di elettrodeposizione nella preparazione dell'LDH a base di Co/Al	124	
9.4	Elettrodeposizione di un LDH a base di Co/Al su un elettrodo Pt-CT, in assenza di KNO <sub>3</sub>	128	
9.5	Elettrosintesi di LDH a base di Zn/Al e Ni/Al in condizioni ottimizzate.	133	
9.6	Considerazioni conclusive sull'elettrodeposizione di film di LDH	134	
9.7	Bibliografia	135	
10 CONFRONTO DELLE PRESTAZIONE ANALITICHE DEGLI ELETTRDI DI Pt PRETRATTATI E MODIFICATI CON LDH Co/Al			136
10.1.1	Studio delle proprietà elettrocataliche	136	
10.1.2	Valutazione delle prestazioni analitiche degli elettrodi modificati	139	
10.2	Bibliografia	141	
11 SVILUPPO DI UN ELETTRODO MODIFICATO PER LA DETERMINAZIONE DELL'ACIDO SALICILICO			142
11.1	Caratterizzazione elettrochimica di Pt-CVT LDH Co/Al	142	
11.1.1	Studio dell'ossidazione elettrocatalitica dell'acido salicilico su un elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al	144	

11.1.2	Determinazione quantitativa dell'AS all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al	150
11.2	Bibliografia	151
12	CONCLUSIONI	153
13	ELETTROSINTESI IN BULK DI LDH	155
13.1.1	Ottimizzazione delle condizioni di elettrosintesi di LDH	155
13.1.2	Elettrosintesi in bulk di altri LDH	159
13.1.3	Confronto qualitativo dei pH registrati durante la sintesi	160
13.1.4	Elettrosintesi in bulk di LDH con intercalato l'anione dodecil solfato	161
13.2	Bibliografia	164

# MOTIVAZIONE E SCOPO DELLA RICERCA

L'attività sperimentale condotta durante il periodo di Dottorato di Ricerca si inserisce all'interno del problema analitico della determinazione del radicale ossidrile (radicale OH o  $\cdot\text{OH}$ ) in ambiente acquoso.

Il radicale OH è un composto di grande interesse nell'ambito di numerose discipline scientifico-tecnologiche:

- **Campo medico:** è riconosciuto che le specie reattive dell'ossigeno (Reactive oxygen species, ROS) sono coinvolte nella patofisiologia di alcune malattie attraverso la rottura dell'omeostasi negli organismi viventi. Tra queste specie la più reattiva e, di conseguenza, la più pericolosa è il radicale OH. Negli organismi viventi, quando la produzione di ROS è superiore alle naturali difese antiossidanti, possono avere luogo reazioni radicaliche a catena; i radicali coinvolti attaccano le macromolecole biologiche, danneggiando le cellule e inducendo varie malattie, come ad esempio, l'ischemia<sup>1</sup>, l'epatite<sup>2</sup>, il morbo di Parkinson e Alzheimer<sup>3-5</sup>, l'artrite reumatoide<sup>4</sup>, l'ischemia cerebrale<sup>5</sup> e l'ictus<sup>6</sup>.
- **Processi depurativi:** La capacità ossidante del radicale OH è utilizzata nei processi di depurazione per ottenere la mineralizzazione della componente inquinante organica. Tra le reazioni più impiegate in questo settore possiamo citare la reazione di Fenton<sup>7</sup> nelle sue varie modalità di esecuzione come, ad esempio, quella fotoindotta<sup>8</sup>, l'ozonazione semplice<sup>9</sup>, la fotolisi dell'ozono<sup>10</sup>, la sonolisi<sup>11</sup> e i processi foto catalizzati da semiconduttori inorganici<sup>12-16</sup>.

- **Ambito ambientale:**  $L\cdot OH$  è il radicale libero più reattivo che viene prodotto nell'ambiente, solitamente per via fotochimica<sup>13-19</sup>.  $L\cdot OH$  svolge un ruolo di primissimo piano nella chimica atmosferica<sup>14</sup>. Nella troposfera è l'agente ossidante primario responsabile della rimozione della maggior parte dei componenti gassosi presenti in tracce, come il metano ed altri idrocarburi, CO, H<sub>2</sub> e composti alogenati<sup>15</sup>. Nella stratosfera il radicale OH ossida gli NO<sub>x</sub>, l'HCl, e l'HBr, rispettivamente a HNO<sub>3</sub>, a ClO<sub>x</sub> e a BrO<sub>x</sub>, che sono facilmente eliminabili attraverso deposizione umida<sup>14</sup>. Infine, negli strati più superficiali dell'ambiente marino, la produzione del radicale OH, collegata all'azione degli altri ROS, può portare a condizioni di stress ossidativo per le specie acquatiche<sup>16,17</sup>.
- **Sicurezza:** numerosi materiali di dimensioni nanometriche, sia organici che inorganici, mostrano effetti citotossici collegati alla loro capacità di produrre ROS, se foto stimolati<sup>18-26</sup>. La maggiore tossicità rispetto ai materiali massivi è dovuta alla maggiore area superficiale specifica che comporta maggiori disponibilità biologica e capacità catalitica nella produzione di queste specie<sup>19</sup>.

Da quanto esposto, è evidente che la determinazione della concentrazione del radicale OH risulta di notevole importanza in molti settori strategici. Tuttavia l'elevatissima reattività dell' $L\cdot OH$  fa sì che in moltissime matrici la sua concentrazione sia bassissima e, di conseguenza, la determinazione diretta risulti difficile<sup>20</sup>. Per esempio, la risonanza paramagnetica elettronica (EPR) non può essere utilizzata in vivo a tale scopo, poiché la concentrazione di stato stazionario del radicale OH è inferiore al limite di rivelabilità, per effetto delle reazioni con gli scavenger, naturalmente presenti. In molte matrici l'unica possibilità per determinare il radicale OH è l'utilizzo di una molecola sonda, che reagisca velocemente con  $L\cdot OH$  ed entri in competizione con gli scavenger. Le molecole sonda utilizzate sono, solitamente, composti aromatici di natura fenolica quali, ad esempio, l'acido salicilico. Attraverso lo studio delle cinetiche di consumo della molecola sonda o delle cinetiche di formazione di prodotti specifici, è

possibile risalire alla produzione di radicale OH e alla sua concentrazione. Il monitoraggio di tali cinetiche può avvenire attraverso l'uso di diverse tecniche analitiche, quali ad esempio l'EPR<sup>21,22</sup>, la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) accoppiata a un rivelatore elettrochimico (HPLC-EC)<sup>23,24</sup>, la gas cromatografia accoppiata alla spettroscopia di massa (GC-MS)<sup>25</sup>, l'elettroforesi capillare (EC)<sup>26</sup>, e la chemiluminescenza<sup>27</sup>. Nelle principali metodiche la prima fase di reazione della molecola sonda con l'·OH è seguita da una fase di separazione cromatografica o elettroforetica, il che rende l'intero processo analitico piuttosto complesso, lungo da eseguire ed economicamente dispendioso<sup>20</sup>.

Recenti pubblicazioni scientifiche hanno mostrato come l'utilizzo di un approccio elettroanalitico possa semplificare la procedura analitica, attraverso una determinazione delle specie sonda interessate direttamente nella matrice di interesse<sup>20</sup>, o attraverso il loro ancoraggio sulla superficie elettrodica<sup>28,29</sup>.

Il lavoro di ricerca che ho condotto riguarda la modifica di materiali elettrodici per lo sviluppo di sensori applicabili alla determinazione del radicale OH, o di alcune sue molecole sonda.

Nella tesi saranno descritti elettrodi modificati:

1. con diversi film di natura polimerica, che sono stati utilizzati come materiale sonda nello sviluppo di un sensore per la determinazione del radicale OH. In particolare verranno descritti elettrodi di carbone vetroso (GC) modificati con un film polifenolico che sono stati impiegati per la determinazione della capacità di scavenger di composti antiossidanti, usati in campo alimentare, e dell'attività fotocatalitica di nanoparticelle di titania.
2. con idrossido misto a base di Co e Al, usati per la determinazione dell'acido salicilico. È inoltre descritta, dettagliatamente, la fase di ottimizzazione dell'elettrodeposizione, con particolare enfasi sull'effetto del pretrattamento della superficie di Pt sull'elettrosintesi.

## 1.1 Bibliografia

- 
- <sup>1</sup> S. Cuzzocrea, R. J. Ruiter, *Eur. J. Pharmacol.* 2001, 426, 1
- <sup>2</sup> H. Yahamoto, T. Watanabe, H. Mizuno, K. Endo, T. Hosowaka, A Kazusaka, R. Gooneratne, S. Fujita, *Free Radical Biol. Med.* 2001, 30, 547
- <sup>3</sup> S. Turnbull, B.J. Tabner, D.R. Brown, D. Allsop, *Biochemistry* 2003, 42, 7675
- <sup>4</sup> D.P. Naughton, J. Knappitt, K. Fairburn, F. Gaffney, D.R. Blake, M. Grootveld, *FEBS Lett.*, 1995, 361, 167
- <sup>5</sup> T. Yamamoto, S. Yuki, T. Watanabe, M. Mitsuka K. I. Saito, K. Kogure, *Brain Res.*, 1997, 762, 240
- <sup>6</sup> H. Negeshi, K. Ikeda, Y. Nara, Y. Yamori, *Neurosci. Lett.* 2001, 306, 206
- <sup>7</sup> J.J. Pignatello, *Environ. Sci. Technol.* 1992, 26, 944
- <sup>8</sup> J.J. Pignatello, G. Chapa, *Environ. Sci. Technol.* 1994, 13, 423
- <sup>9</sup> J. Hoigne, H. Bader, *Water Res.* 1976, 10, 377
- <sup>10</sup> J. Hoigne, H. Bader, *Water Res.*, 1976, 10, 377.
- <sup>11</sup> G.E. Orzechowska, E. J. Poziomek, V.F. Hodge, W.H. Engelmann, *Environ. Sci. Technol.* 1995, 29, 1373
- <sup>12</sup> Y. Liu, S. A. Maject, R. D. Tilton, D. S. Shall, G. V. Lowry, *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39,1338
- <sup>13</sup> T.Mill, in *The Handbook of Enviromental Chemistry*, O. Hutzinger, Ed. Springer-Verlag, Berlin, 1980, vol. 2 , part A, pp 77-105
- <sup>14</sup> J. Seinfeld, S. Pandis, *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2006, Wiley, Hoboken

- 
- <sup>15</sup> R. Jöckel, C. A. M. Brenninkmeijer, P. J. Crutzen, *Atmos. Chem. Phys.* 2003, 3, 107
- <sup>16</sup> K. Mopper, X. Zhou, *Science*, 1990, 50, 661
- <sup>17</sup> M.P. Lesser, *Annu. Rev. Physiol.* 2006, 68, 253
- <sup>18</sup> E. Oberdörster, *Environ. Health Perspect.* 2004, 112, 1058
- <sup>19</sup> M. R. Wiesner, G. V. Lowry, P. Alvarez, D. Dionysiou, P. Biswas, *Environ. Sci. Technol.* 2006, 15, 4336
- <sup>20</sup> Y.-L Hu, Y. Lu, G.-J. Zhou, X.-H. Xia, *Talanta*, 2008, 74, 760
- <sup>21</sup> S. Kataoka, H. Yasui, M. Hiromura, H. Sakurai, *Life Sci.* 2005, 77, 2814
- <sup>22</sup> H.H. Shi, X.R. Wang, Y. Luo, Y. Su, *Aquat. Toxicol.* 2005, 74, 365
- <sup>23</sup> S.Y. Ai, Q.J. Wang, H. Li, L.T. Jin, *J. Electroanal. Chem.* 2005, 578, 223
- <sup>24</sup> F. Blandini, E. Martignoni, R. Ricotti, F. di Jeso, G. Nappi, *J. Chromatogr. B* 1999, 732, 213
- <sup>25</sup> B. Pal, P.A. Ariya, *Environ. Sci. Technol.* 2004, 38, 5555
- <sup>26</sup> Y.H. Cao, Q.C. Chu, J.N. Ye, *Anal. Bioanal. Chem.* 2003, 376, 691
- <sup>27</sup> C.W. Lau, X.J. Qin, J.Y. Liang, J.Z. Lu, *Anal. Chim. Acta* 2004, 514, 45
- <sup>28</sup> L.D. Mello, S. Hernandez, G. Marrazza, M. Mascini, L.T. Kubota, *Biosens. Bioelectron.* 2006, 21, 1374
- <sup>29</sup> F. Scholtz, G. Lopez de Lara González, L. Machado de Carvalho, M. Hingelmann, K.Z. Brainina, H. Kahrlet, R. Smail Jack, D. Troung Minh, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 8079.

# IL RADICALE OH

## 2.1 I radicali liberi

Con il termine di radicale libero si intende una specie chimica che presenta uno o più elettroni spaiati<sup>1</sup>. Considerando che le configurazioni elettroniche più stabili prevedono un numero pari di elettroni per molecola, con 2 elettroni di spin opposto per ogni orbitale, ne risulta che i radicali siano solitamente specie altamente instabili. I radicali liberi presentano inoltre le seguenti caratteristiche<sup>1</sup>:

1. Possedere una grande reattività chimica, con costanti cinetiche di reazione che possono raggiungere il limite della diffusione (circa  $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )
2. Essere coinvolti, solitamente, in reazioni a catena
3. Avere carica neutra, positiva o negativa, a seconda della specie

## 2.2 ROS: specie reattive dell'ossigeno

Con il termine ROS (reactive oxygen species), utilizzato solitamente in ambito biologico, si intendono quelle specie chimiche molto reattive che contengono ossigeno nei suoi diversi stati di ossidazione. I ROS comprendono il radicale superossido ( $\text{O}_2^-$ ), l'ossigeno molecolare nello stato di singoletto ( $^1\text{O}_2$ ), l'acqua ossigenata ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'ozono ( $\text{O}_3$ ), i radicali alchil alcossidici ( $\text{RO}\cdot$ ) ed alchil perossidici ( $\text{ROO}\cdot$ ), ecc.. . Queste specie vengono comunemente prodotti dal metabolismo degli organismi viventi, solitamente durante quei processi che portano a un cambiamento dello stato di ossidazione di un atomo di ossigeno, come la fotosintesi clorofilliana e la respirazione aerobica. Di conseguenza la loro produzione è direttamente collegata alla concentrazione di  $\text{O}_2$ <sup>2</sup>.

La condizione in cui la produzione e l'accumulo di ROS supera la capacità di un organismo di estinguere queste specie viene definita con il termine di stress ossidativo. Questa condizione, se persiste, può danneggiare:

- **Lipidi.** L'attacco dei ROS, in particolare del radicale OH, sui lipidi porta alla formazione di aldeidi e idrocarburi<sup>3,4</sup> ed alla variazione del grado di saturazione dei lipidi stessi, da cui dipende il grado di fluidità delle membrane cellulari, che a sua volta può portare alla lisi cellulare<sup>5</sup>. Inoltre la perossidazione lipidica nei mitocondri è altamente citotossica, presenta effetti multipli sull'attività enzimatica, sulla produzione di ATP e può condurre all'apoptosi<sup>6</sup>.
- **Proteine.** L'attacco ossidativo dei ROS sulle proteine conduce a modifiche selettive degli amminoacidi, alla frammentazione della catena peptidica ed all'alterazione della carica elettrostatica. La struttura primaria, secondaria e terziaria di una proteina determina la probabilità che ogni amminoacido venga attaccato dai diversi ROS<sup>4,5</sup>. Un'ampia gamma di molecole proteiche viene danneggiata o degradata dai ROS<sup>7</sup> ed il loro l'accumulo all'interno della cellula contribuisce, probabilmente, al processo di invecchiamento<sup>8</sup>.
- **DNA.** I ROS possono indurre numerosi danni al DNA causando cancellazioni, mutazioni ed effetti genetici letali. Sia le basi azotate che i frammenti di desossiribosio possono ossidarsi, portando così alla perdita di informazione genetica, alla rottura del filamento e alla formazione di legami con altre macromolecole, quali ad esempio le proteine<sup>9,10</sup>. In vitro l'acqua ossigenata e l'ossigeno molecolare non sono in grado di causare la rottura dei filamenti in normali condizioni fisiologiche, quindi la loro tossicità in vivo è il risultato delle reazioni di tipo Fenton, che avvengono in presenza di metalli di transizione<sup>9,10</sup>.

Un prolungato stress ossidativo è, solitamente, collegato a numerose patologie quali l'ischemia<sup>11</sup>, l'epatite<sup>12</sup>, il morbo di Parkinson e Alzheimer<sup>13-15</sup>, l'artrite reumatoide<sup>14</sup>, l'ischemia cerebrale<sup>15</sup> e l'ictus<sup>16</sup>.

Tuttavia i ROS, se presenti in quantità limitata, sono in grado di svolgere alcune specifiche funzioni cellulari. Ad esempio, è stato proposto che il livello di ROS, che è regolato dal sistema antiossidante delle cellule, possa funzionare come secondo messaggero<sup>17</sup> svolgendo un ruolo importante nell'espressione di alcuni fattori di

trascrizione, come il fattore che induce shock termico, i fattori nucleari, il gene *p53*, la chinasi proteica attivata dal mitogeno e il gene *oxyR*<sup>18,19</sup>.

Infine i ROS svolgono un ruolo importante nella autodifesa delle piante contro agenti patogeni esterni<sup>20,21</sup>.

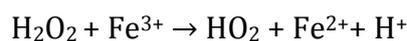
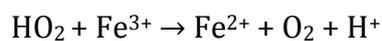
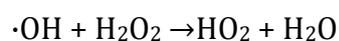
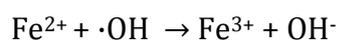
## 2.3 Il radicale ossidrilico

Il radicale OH è il più reattivo tra i radicali dell'ossigeno, a causa di un'elevata elettroaffinità e un elevato potere ossidante ( $E^\circ = + 2.73 \text{ V}$ )<sup>22</sup>. Di conseguenza la sua reattività si esplica principalmente in attacchi elettrofilici, solitamente poco selettivi, a siti ricchi di elettroni, con reazioni di estrazione di idrogeno, di addizione al doppio legame o di trasferimento elettronico<sup>23</sup>. La pKa di  $\cdot\text{OH}$  è paragonabile a quella dell'acqua (pKa = 11.8)<sup>24</sup> e quindi la specie  $\cdot\text{O}^-$  non riveste un ruolo importante nella maggior parte delle condizioni<sup>23</sup>.

Le costanti cinetiche delle reazioni del radicale OH con varie molecole biologiche sono riportate in Tabella 1<sup>25</sup> e mostrano come le velocità di questi processi siano in molti casi vicine al limite ( $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) rappresentato dalla velocità della diffusione<sup>23</sup>. Questo fa sì che il radicale abbia un tempo medio di vita ( $10^{-10} \div 10^{-7} \text{ s}$ )<sup>26,27</sup> e una distanza media di diffusione molto esigua ( $4.5 \text{ nm}$ )<sup>27</sup>.

Il radicale OH viene, di solito, generato dalla rottura del legame O-O di perossidi, attraverso:

- **Fotolisi di  $\text{H}_2\text{O}_2$ .** Come tutti i perossidi l' $\text{H}_2\text{O}_2$  può assorbire la radiazione UV. Lo specie eccitata, così ottenuta, può decomporsi liberando due radicali OH<sup>28,29</sup>.
- **Reazioni di tipo Fenton.** Le reazioni di tipo-Fenton<sup>30,22</sup> sono reazioni che portano alla formazione di specie ossigenate reattive in presenza di acqua ossigenata e ioni di metalli di transizione quali, ad esempio Fe, Cu e Ti. Il meccanismo<sup>31</sup> con cui decorrono prevede numerose reazioni elementari<sup>32,33,34</sup>.



**Tabella 1. Costanti cinetiche di alcune reazioni che coinvolgono il radicale OH**

Reazione	Costante cinetica di reazione ( $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ )
$\cdot\text{OH} + \text{Glucosio} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$1.5 \times 10^9$
$\cdot\text{OH} + \text{Galattosio} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$2.0 \times 10^9$
$\cdot\text{OH} + \text{Glicina} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$1.7 \times 10^9$
$\cdot\text{OH} + \text{DNA} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$4.0 \times 10^8$
$\cdot\text{OH} + \text{RNA} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$9.3 \times 10^8$
$\cdot\text{OH} + \text{Uracile} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$4.0 \times 10^9$
$\cdot\text{OH} + \text{Laccasi} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$1 \times 10^{10}$
$\cdot\text{OH} + \text{acido salicilico} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$2 \times 10^{10}$
$\cdot\text{OH} + \text{acido ascorbico} \rightarrow \text{prodotti ossidati} + \text{H}_2\text{O}$	$8.2 \times 10^9$

Inoltre il radicale OH può essere prodotto in acqua con l'utilizzo di:

- **Ultrasuoni.** Le onde ad ultrasuoni generano condizioni locali di alta temperatura e pressione che possono portare alla rottura dei legami dell'acqua e alla conseguente formazione di  $\cdot\text{OH}$  e  $\cdot\text{H}^{35}$ .
- **Radiazioni ad alta energia.** Radiazioni elettromagnetiche con energia superiore a 7 eV possono portare all'eccitazione o alla ionizzazione dell'acqua con successiva produzione di radicali  $\text{OH}^{35}$ .

## 2.4 Determinazione del radicale ossidrilico

Quando si parla di metodi per la rivelazione del radicale OH è necessario ricordare che per la sua reattività e la presenza di scavenger la concentrazione di stato stazionario è estremamente bassa, anche se la velocità di produzione è molto elevata. Il fatto che l' $\cdot\text{OH}$  assorba solamente nel lontano ultravioletto<sup>36</sup> non permette una determinazione spettrofotometrica. Anche la determinazione diretta tramite EPR non risulta possibile in molti campioni reali, quali ad esempio i campioni biologici, perché il limite di rivelabilità supera la concentrazione di stato stazionario<sup>35</sup>. L'unica possibilità per rilevare la presenza di  $\cdot\text{OH}$  è l'utilizzo di molecole sonda che, reagendo con il radicale, formino prodotti con caratteristiche chimico-fisiche che consentano di mettere a punto metodologie analitiche altamente sensibili. Quando la reazione avviene in un ambiente dove sono presenti substrati che competono con la molecola sonda, la concentrazione del prodotto caratteristico, cioè quello su cui si basa la determinazione analitica, è data dall'equazione 1:

$$[\text{prodotto caratteristico}] = [\text{OH}] \times \eta \times \frac{k_p [\text{sonda}]}{k_p [\text{sonda}] + k_m [\text{matrice}]} \quad \text{Equazione 1}$$

dove [prodotto caratteristico] è la concentrazione del prodotto ottenuto dalla reazione tra l' $\cdot\text{OH}$  e la molecola sonda con resa  $\eta$ , mentre [sonda] è la concentrazione della molecola sonda e il termine  $k_m[\text{matrice}]$  rappresenta la quantità di  $\cdot\text{OH}$  che ha reagito con gli altri componenti del campione.

La determinazione dell' $\cdot\text{OH}$  è comunque difficile, anche con i metodi indiretti, perché da un lato la molecola sonda è in competizione con altri composti presenti nella matrice, il che comporta una perdita di  $\text{OH}$  con conseguenti effetti negativi sul limite di rilevabilità, dall'altro, per una stima numerica accurata, è necessario conoscere la quantità di  $\cdot\text{OH}$  sottratta dalla matrice<sup>35</sup>.

L'ossidrilazione aromatica è sicuramente la reazione più utilizzata per la determinazione del radicale  $\text{OH}$ . Numerosi composti sono stati proposti come molecole sonda per la rivelazione del radicale  $\text{OH}$ . Tra questi possiamo citare la fenilalanina<sup>37,38</sup> che, essendo presente in tutte le proteine, può essere utilizzata come marker interno, la tirosina<sup>39</sup>, l'acido tereftalico<sup>40,41</sup>, l'acido salicilico<sup>42,43</sup> e, infine, l'acido 4-idrossibenzoico<sup>44</sup>. Per stabilizzare i prodotti ottenuti dall'attacco dell' $\cdot\text{OH}$ , è necessario uno step di ossidazione che può essere effettuato dall' $\text{O}_2$ , naturalmente presente nel sistema, o da un ossidante appositamente aggiunto<sup>48</sup>, come ad esempio  $\text{IrCl}_6^{2-}$ <sup>45</sup> o  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ .

I prodotti caratteristici che si formano dalla reazione tra la molecola sonda e l' $\cdot\text{OH}$  possono essere rilevati con diverse tecniche analitiche quali quali, ad esempio la cromatografia liquida ad alta prestazione accoppiata a un rivelatore elettrochimico (HPLC-EC)<sup>46,47</sup>, la gas cromatografia accoppiata alla spettroscopia di massa (GC-MS)<sup>48</sup>, o l'elettroforesi capillare (EC)<sup>49</sup>. La determinazione di  $\cdot\text{OH}$  utilizzando come sonda l'acido p-idrossibenzoico è stata effettuata direttamente per via elettrochimica<sup>26</sup>, ma la presenza di numerosi substrati ossidabili o riducibili, specialmente quando si analizzano matrici biologiche, impedisce una larga applicazione.

Una classe alternativa di molecole sonda utilizzata è data dagli "spin traps", come il 5,5-dimetil-1-pirrol-N-ossido, che reagendo con l' $\cdot\text{OH}$  formano addotti che presentano ancora elettroni spaiati e possono, quindi, essere rilevati con l'EPR. Questa metodica è più semplice e non necessita della separazione cromatografica, ma è necessario ricordare che questi composti non sono specifici per l' $\cdot\text{OH}$ , poichè reagiscono con altri radicali come, ad esempio, il radicale superossido<sup>50,51</sup>, e non si adattano a misurazioni in vivo, in quanto tossici.

Infine la rivelazione indiretta del radicale OH è stata effettuata con elettrodi modificati con un monostrato autoassemblato (self assembled monolayer, SAM) di alcanoli o con frammenti di DNA. L'elettrodo è stato sottoposto all'attacco di radicali OH, generati con reazione di Fenton, e la quantità di modificante elettrodico, che si è deteriorata, è stata valutata con un'apposita metodologia elettrochimica. Questo approccio permette di evitare la separazione cromatografica o elettroforetica che è utilizzata nei metodi tradizionali, in quanto la specie sonda è direttamente legata alla superficie dell'elettrodo.

## 2.5 Composti antiossidanti

I composti antiossidanti rappresentano le autodifese degli organismi viventi contro i ROS. Per antiossidante si intende una qualsiasi specie che, presente in concentrazione molto inferiore a un substrato ossidabile, sia in grado di poter rallentare o inibire il processo ossidativo che porta alla degradazione di quel particolare substrato<sup>52</sup>. Benchè utilizzato soprattutto in ambito biologico, il concetto di antiossidante può essere esteso a tutti quei materiali o composti che preservano altri dall'azione ossidante dell'ossigeno atmosferico. Ad esempio il ferro negli acciai viene protetto dall'ossidazione grazie all'aggiunta di cromo e di nichel che formano sulla sua superficie una pellicola protettiva di ossido; inoltre in tutti i materiali polimerici sono presenti additivi che hanno lo scopo di proteggerli dall'azione ossidante delle radiazioni e dell'ossigeno atmosferico .

In campo biologico può essere effettuata una classificazione dei diversi composti antiossidanti in base alla loro provenienza e al loro meccanismo di azione nel proteggere il substrato ossidabile.

In base alla provenienza possiamo distinguere:

- **Antiossidanti endogeni:** sono composti prodotti naturalmente dal nostro organismo che non necessitano di essere assunti con l'alimentazione.
- **Antiossidanti esogeni:** sono composti che il nostro organismo non è in grado di produrre autonomamente e che, quindi, siamo costretti ad assumere con l'alimentazione.

In base al meccanismo di azione nel prevenire l'effetto dannoso dei ROS, possiamo suddividere gli come:

- ***Antiossidanti primari o chain-breaking:*** questa tipologia di antiossidanti reagisce direttamente con le specie radicaliche, bloccando le reazioni di propagazione
- ***Antiossidanti secondari o preventivi:*** questi antiossidanti riducono la velocità della reazione di iniziazione.

I principali composti antiossidanti sono la vitamina E, l'acido ascorbico, il carotene, i flavonoidi, i polifenoli, e la superossido dismutasi<sup>53,54,55,56,57</sup>. La maggior parte di questi composti, reagendo con i ROS, forma un radicale piuttosto stabile che blocca le reazioni di propagazione, quindi appartiene alla classe degli antiossidanti primari.

## 2.6 Determinazione del potere antiossidante

Gli studi clinici ed epidemiologici hanno stabilito una correlazione inversa tra il consumo di frutta e verdura e la frequenza nell'insorgenza di malattie cardiovascolari, di infiammazioni, di neoplasie e di disordini dovuti all'età<sup>58</sup>. Gli antiossidanti esogeni presenti in questi alimenti sono i nutrienti responsabili della protezione dallo stress ossidativo e dalle malattie ad esso correlate<sup>59,60</sup>. Il potere antiossidante è un parametro importante per una corretta valutazione della qualità degli alimenti, sia per fini nutrizionistici che di ricerca. Di conseguenza, lo sviluppo di metodologie adeguate per la sua determinazione ha trovato ampio spazio nelle recenti pubblicazioni scientifiche.

Per la complessità compositiva dei vari alimenti, la separazione di ogni antiossidante ed il successivo studio individuale sono costosi e poco efficienti e non permettono una valutazione degli effetti sinergici<sup>61</sup>. Di conseguenza la determinazione del potere antiossidante viene condotta in modo tale da poterlo esprimere come dato complessivo, analizzando direttamente l'alimento opportunamente trattato.

Le principali metodiche per la determinazione del potere antiossidanti sono<sup>62</sup>:

**Saggio ABTS (Acido 2,2-azinobis(3-etil-benzotiazolin-6-sulfonico))<sup>63</sup>.** Il saggio ABTS studia la cinetica della reazione tra l'antiossidante e il radical catione stabile  $ABTS^+$ , che è generato dalla reazione tra ABTS e potassio persolfato. La quantità di radicale  $ABTS^+$  consumata ad un tempo  $t$ , monitorata per via spettrofotometrica ( $\lambda = 658 \text{ nm}$ ), è proporzionale alla capacità del composto di catturare radicali ed alla sua concentrazione ed è il parametro utilizzato per costruire la scala di capacità antiossidante.

- **Metodo DPPH (2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)idrazile)<sup>64, 65</sup>.** Questo metodo determina per via spettrofotometrica ( $\lambda = 515 \text{ nm}$ ) la quantità di DPPH che reagisce con il composto studiato in funzione del tempo. Il risultato è solitamente espresso come  $EC_{50}$ , che rappresenta la concentrazione di antiossidante necessaria a ridurre del 50 % il segnale del DPPH, ad un tempo  $t$ . Minore è il valore di  $EC_{50}$  maggiore è la capacità antiossidante. Queste due metodiche si basano sull'utilizzo di radicali non biologici stabili.
- **Saggio ORAC (Oxygen radical absorbance capacity)<sup>66</sup>.** Il saggio ORAC valuta la capacità dell'antiossidante studiato di proteggere un composto bersaglio, solitamente la fluoresceina, dall'azione del radicale perossidico che viene generato dalla degradazione termica dell'AAPH (2,2-azobis (2-aminopropano) diidrocloreuro). La cinetica di degradazione della fluoresceina è monitorata per via spettrofluorimetrica, ed il potere antiossidante viene valutato usando il valore dell'area sottesa dalla curva che esprime la fluorescenza in funzione del tempo. Ovviamente i parametri area e potere antiossidante sono direttamente correlati.
- **Saggio FRAP (Ferric ion reducing antioxidant power)<sup>67</sup>.** Questo saggio valuta la capacità riducente del campione analizzato nei confronti del complesso ferro (III) tripiridiltriagina. La formazione del complesso di Fe(II) è monitorata tramite spettrofotometria visibile ( $\lambda = 595 \text{ nm}$ ) e la capacità antiossidante è proporzionale al valore misurato di assorbanza.

I metodi analitici appena descritti permettono la valutazione della capacità antiossidante espressa con una scala relativa, riferita a un composto di riferimento, solitamente il Trolox (acido 6-idrossi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carbossilico).

È importante osservare che i valori di capacità antiossidante, ottenuti con i diversi metodi, non sono spesso correlabili tra loro; queste discrepanze possono essere spiegate considerando che lo stress ossidativo è causato da più specie chimiche che, a loro volta, possono essere coinvolte in diversi tipi di reazione. Di conseguenza, non è semplice individuare una metodologia universale con cui valutare in modo accurato e preciso la capacità antiossidante<sup>68</sup>.

## 2.7 Bibliografia

---

<sup>1</sup> R. Olinescu, T. L. Smith, Radicals in medicine, 2002, Nova Science Publisher, New York

<sup>2</sup> D. Jameson, B. Chance, E. Cadenas, A. Boveris, Annu. Rev. Physiol. 1986, 48, 703

<sup>3</sup> J.M.C. Gutteridge, B. Halliwell, Trends Biochem. Sci. 1990, 15, 129

<sup>4</sup> B.A. Freeman, J.D. Crapo, Lab. Invest. 1982, 47, 412

<sup>5</sup> B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge, Free Radicals in Biology and Medicine. 1999, New York, Oxford Univ. Press

<sup>6</sup> D.R. Green, J.C. Reed, Science 1998, 281, 1309

<sup>7</sup> K.J.A. Davies, J. Biol. Chem. 1987, 262, 9895

<sup>8</sup> R.T. Dean, S. Giese, M.J. Davies, Trends Biochem. Sci. 1993, 18, 437

<sup>9</sup> J. A. Imlay, S. Linn, Science 1988, 240, 1302

<sup>10</sup> J. A. Imlay, Annu. Rev. Microbiol. 2003, 57, 395

<sup>11</sup> S. Cuzzocrea, R. J. Ruiter, Eur. J. Pharmacol. 2001, 426, 1

- 
- <sup>12</sup> H. Yahamoto, T. Watanabe, H. Mizuno, K. Endo, T. Hosowaka, A Kazusaka, R. Gooneratne, S. Fujita, *Free Radical Biol. Med.* 2001, 30, 547
- <sup>13</sup> S. Turnbull, B.J. Tabner, D.R. Brown, D. Allsop, *Biochemistry-US* 2003, 42, 7675;
- <sup>14</sup> D.P. Naughton, J. Knappitt, K. Fairburn, F. Gaffney, D.R. Blake, M. Grootveld, *FEBS Lett.* 1995, 361, 167
- <sup>15</sup> T. Yamamoto, S. Yuki, T. Watanabe, M. Mitsuka K. I. Saito, K. Kogure, *Brain Res.* 1997, 762, 240
- <sup>16</sup> H. Negeshi, K. Ikeda, Y. Nara, Y. Yamori, *Neurosci. Lett.* 2001, 306, 206
- <sup>17</sup> R. Schrek, P.A. Baeuerle, *Trends Cell Biol.* 1991, 1, 39
- <sup>18</sup> M. Zheng, A. F. Slund, G. Storz, *Science* 1998, 279, 1718
- <sup>19</sup> J.L. Martindale, N. J. Holbrook., *J. Cell. Physiol.* 2002,192, 1
- <sup>20</sup> M. C. Mehdy, *Plant Physiol.* 1994, 105, 467)
- <sup>21</sup> T. Jabs, R. A. Dietrich, J. L. Dang, *Science* 1996, 273, 1853
- <sup>22</sup> J. J. Pignatello, E. Oliveros, A. MacKay, *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.*, 2006, 36, 1
- <sup>23</sup> R.H. Burdon, P.H. van Knippenberg, *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology*, vol.22, nella serie *Techniques in free radical research*, Elsevier Amsterdam
- <sup>24</sup> J. L. Week, J. Rabani, *J. Phys. Chem*, 1966, 70, 2100
- <sup>25</sup> <http://kinetics.nist.gov/solution/SearchForm>, solution kinetic database
- <sup>26</sup> Y.-L Hu, Y. Lu, G.-J. Zhou, X.-H. Xia, *Talanta*, 2008, 74, 760
- <sup>27</sup> M.P. Lesser, *Annu. Rev. Physiol.* 2006, 68, 253)
- <sup>28</sup> O. Legrini, E. Oliveros, A. M. Braun, *Chem. Rev.* , 93, 671;

- <sup>29</sup> X-Y Yu, J.R. Barker, *J. Phys. Chem. A*, 2003, 107, 1325
- <sup>30</sup> H. J. H. Fenton, *J. Chem. Soc.* 1884, 65, 899
- <sup>31</sup> F.Haber, J. Weiss, *Proc. Roy. Soc. A* 1934, 134, 332
- <sup>32</sup> W.G. Barb, J. H. Baxendale, P. George, K. R. Hargrave, *Nature*, 1949, 163, 692
- <sup>33</sup> W.G. Barb, J. H. Baxendale, P. George, K. R. Hargrave, *Trans. Faraday Soc.* 1951, 47, 591
- <sup>34</sup> W.G. Barb, J. H. Baxendale, P. George, K. R. Hargrave, *Trans. Faraday Soc.* 1951, 47, 462
- <sup>35</sup> C. von Sonntag, *Free-Radical-Induced DNA Damage and Its repair*, 2006, Springer, Heildenberg
- <sup>36</sup> G.L. Hug, *Natl. Stand. Ref. Ser. NBS* 1981, 69
- <sup>37</sup> L.R. Karam, M. Dizdaroglu, M. G. Simic, *Int. J. Radiat. Biol.* 1984, 46, 71
- <sup>38</sup> H. Kaur, M. Whiteman, B. Halliwell, *Free Rad. Res.* 1997, 26, 71
- <sup>39</sup> Z. Maskos, J.D. Rush, W. H. Koppenol, *Arch. Biochem. Biophys.* 1992, 296, 251
- <sup>40</sup> W.A. Armstrong, R.A. Facey, D. W. Grant, W. G. Humphreys, *Can. J. Chem.* 1963, 41, 1575
- <sup>41</sup> R. W. Matthews, *Radiat. Res.* 1980, 83, 27
- <sup>42</sup> M. Ingelmann-Sundberg, H. Kaur, Y. Terelus, J-OPersson, B. Halliwell *Biochem. J.* 1991, 276, 753
- <sup>43</sup> C. Coundray, M. Talla, S. Martin, M. Fatome, A. Favier, *Anal. Biochem*, 1995, 227, 101
- <sup>44</sup> L. Ste-Marie, D. Boismenu, L. Vachon, J. Montgomery, *Anal. Biochem.* 1996, 241, 67

- <sup>45</sup> X. Fang, G. Mark, C.von Sonntan, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1996, 2, 1931
- <sup>46</sup> S.Y. Ai, Q.J. Wang, H. Li, L.T. Jin, J. Electroanal. Chem. 2005, 578, 223.
- <sup>47</sup> F. Blandini, E. Martignoni, R. Ricotti, F. di Jeso, G. Nappi, J. Chromatogr. B 1999, 732, 213
- <sup>48</sup> B. Pal, P.A. Ariya, Environ. Sci. Technol. 2004, 38, 5555
- <sup>49</sup> Y.H. Cao, Q.C. Chu, J.N. Ye, Anal. Bioanal. Chem. 2003, 376, 691
- <sup>50</sup> S. Pou, D. J. Hassett, B.E. Britigan, H. S. Colen, G. M. Rosen, Anal. Biochem. 177, 1 1989
- <sup>51</sup> G. M. Rosen, S. Pou, B. E. Britigan, M. S. Cohen, Methods Enzymol. 1994, 233, 105
- <sup>52</sup> M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, K. Robards, The Analyst, 2002, 127, 183
- <sup>53</sup> O.I. Aruoma, Food Chem. Toxicol. 1994, 32, 671
- <sup>54</sup> P.C.H. Hollman, M.B. Katan, Food Chem. Toxicol. 1999, 37, 937
- <sup>55</sup> K. Hermann, J. Food Technol. 1976, 11, 433
- <sup>56</sup> S. Kuhnau, World Rev. Nutr. Diet, 1976, 24, 117
- <sup>57</sup> W.A. Pryor, Free Radical Biol. Med., 2000, 28, 141
- <sup>58</sup> W. C. Willet, Eat, Drink, and be Healthys. The Harvard Medical School Guide to Healthy Eating, Simon and Schuster, New York, 2001
- <sup>59</sup> B. N. Ames, L. S. Gold, W. C. Willet, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1995, 92, 5258
- <sup>60</sup> C. Kaur, H. C. Kapoor, Int. J. Food Sci. Technol. 2001, 36, 703
- <sup>61</sup> D. Huang, B. Ou, R.L. Prior, J. Agric. Food Chem, 2005, 53, 1841

<sup>62</sup> J. Perez-Jimenez, F. Saura-Calitxo, *Food Res. Int.* 2006, 39, 791

<sup>63</sup> R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, *Free Radical Biol. Med.*, 1999, 26, 1231

<sup>64</sup> W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset, *Food Science and Technology* 1995, 28, 25

<sup>65</sup> D. Chandrasekar, K. Madhusudhana, S. Ramakrishna, P. V. Diwan, *Journal of Pharmaceut. Biomed.*, 2006, 40, 460

<sup>66</sup> G. Cao, H. M. Alessio, R. Culter, *Free Radical Biol. Med.*, 1993, 14, 303

<sup>67</sup> I. F. F. Benzie, J. J. Strain, *Anal. Bioch.*, 1996, 239, 70

<sup>68</sup> E. Niki, *Free Radical Biol. Med.*, 2010, 49, 503

# ELETTRODI MODIFICATI

Gli elettrodi chimicamente modificati (CME) si basano sulla modifica di una superficie conduttrice con materiali in grado di conferirle determinate proprietà di interesse. Per la risoluzione di problemi analitici e per l'applicazione al campo della sensoristica, la funzionalizzazione di un supporto elettrodico consente di progettare dispositivi elettrochimici con selettività, sensibilità o stabilità più elevate, mediante meccanismi di elettrocatalisi, accumulo preferenziale, o permeazione selettiva attraverso membrane. Anche altri campi di applicazione inerenti a celle a combustibile, produzione di batterie e protezione dalla corrosione possono trarre beneficio dalla modifica di superfici elettrodiche.

La funzionalizzazione della superficie elettrodica per produrre CME, si basa essenzialmente su quattro procedure<sup>1</sup>:

- **Adsorbimento fisico o chimico.** L'interazione tra il modificante e la superficie elettrodica si verifica con un adsorbimento di tipo chimico o fisico, per formare un monostato. La modifica attraverso adsorbimento fisico avviene, solitamente, ricoprendo l'elettrodo con una goccia, contenente il modificante solubilizzato in un mezzo non acquoso, e successiva evaporazione del solvente. Questa procedura è stata utilizzata per numerosi modificanti quali, ad esempio, ftalocianine di cobalto<sup>2</sup>, nano tubi di carbonio<sup>3,4,5</sup> e DNA<sup>6</sup>. Nel caso in cui non sia possibile solubilizzare il modificante elettrodico in nessun solvente, come nel caso delle argille, è possibile effettuare la deposizione da una soluzione colloidale<sup>7</sup>.

L'adsorbimento di tipo fisico prevede una procedura molto semplice e rapida, ma la scarsa stabilità dell'interazione tra elettrodo e modificante rappresenta un serio problema<sup>8</sup>. L'adsorbimento di tipo chimico può rappresentare un'ottima soluzione. L'esempio più eclatante di questo tipo di CME, largamente utilizzati, è costituito dagli elettrodi di oro modificati con

monostrati auto assemblanti (self assembled monolayer, SAM;) di composti tiolici<sup>9,10,11</sup>.

- **Legame covalente.** Il modificante elettrodico è ancorato all'elettrodo attraverso un legame di tipo covalente che è stato formato tra il modificante stesso e specifici gruppi funzionali presenti sulla superficie del materiale elettrodico. Per esempio, elettrodi GC sono stati modificati con film di glicina o di acido glutamico per reazione tra i relativi radical cationi e i gruppi aromatici presenti sulla superficie elettrodica<sup>12,13</sup>.
- **Rivestimento a base di multistrati uniformi.** Attraverso la modifica elettrodica con un semplice monostrato è possibile caricare una quantità limitata di materiale elettroattivo. La preparazione di elettrodi modificati con multistrati rappresenta la strada naturale per la soluzione di questo problema. Questo tipo di modifica può avvenire con l'utilizzo di polimeri conduttori, di materiali inorganici, quali esacianoferrati<sup>14</sup> o argille<sup>15</sup> o ionomeri, come quelli utilizzati nelle membrane ionoselettive<sup>16,17</sup>. La deposizione elettrochimica di questi materiali, che può avvenire in condizioni potenziodinamiche, galvanostatiche o potenziostatiche, rappresenta una via elegante per la preparazione di questi elettrodi modificati<sup>18</sup>.
- **Rivestimenti a base di multistrati non uniformi.** Nei CME a multistrati eterogenei il supporto solido è deliberatamente combinato con il mediatore redox formando un sistema non uniforme. Gli elettrodi a pasta di carbone sono uno dei migliori esempi di preparazione di CME eterogenei attraverso la semplice miscelazione della pasta legante a base di grafite e il mediatore redox<sup>19</sup>. Anche argille e zeoliti possono essere impiegate insieme ad enzimi per la produzione di CME eterogenei<sup>20,21</sup>.

### 3.1 Elettrocatalisi

L'elettrocatalisi è una delle principali proprietà degli elettrodi modificati che viene utilizzata per fini elettroanalitici. Spesso la reazione redox che genera il segnale analitico,

decorre con una cinetica lenta; affinché si possa ottenere una velocità, e quindi una sensibilità analitica, apprezzabile è necessario applicare potenziali molto maggiori del potenziale redox termodinamico. Si ipotizzi che per la determinazione del composto A si sfrutti la reazione elettrodica di ossidazione irreversibile  $A \rightarrow B^+ + e^-$ , e che il trasferimento elettronico all'elettrodo nudo avvenga a un potenziale  $E_{obs}$ , che differisce dal potenziale termodinamico  $E_{B/A}$  di una quantità pari alla sovratensione  $\eta$ . Nel caso ipotizzato  $\eta$  assume un valore molto elevato e di conseguenza per far decorrere la reazione è necessario applicare un potenziale "estremo". Una reazione di questo tipo può essere catalizzata impiegando un mediatore in grado di facilitare il trasferimento di carica fra analita ed elettrodo. Come illustrato in Figura 1, in presenza di una coppia redox reversibile Q/P, caratterizzata da un potenziale standard  $E^{\circ}_{Q/P} (>E_{B/A})$ , si verifica il fenomeno dell'elettrocatalisi, in due fasi successive. Nella prima, il mediatore viene ossidato all'elettrodo, mentre nella seconda fase la forma ossidata del mediatore Q reagisce con l'analita, per formare B e P; il composto P può essere poi nuovamente ossidato all'elettrodo per ripristinare la specie Q. Grazie alla coppia redox Q/P, si riesce a far decorrere la reazione di interesse analitico al potenziale standard  $E^{\circ}_{Q/P}$ , senza perciò dover applicare sovratensioni particolarmente elevate. L'elettrocatalisi permette di aumentare la selettività della determinazione analitica perché riduce la sovratensione. Nella catalisi omogenea, la coppia Q/P si trova in soluzione, mentre in quella eterogenea si trova immobilizzata sulla superficie elettrodica. L'ancoraggio del modificante all'elettrodo è sicuramente più vantaggioso, perché consente la produzione di sensori riutilizzabili in più misurazioni analitiche e garantisce un veloce trasferimento di carica, in quanto il sito redox attivo è spazialmente vicino all'elettrodo.

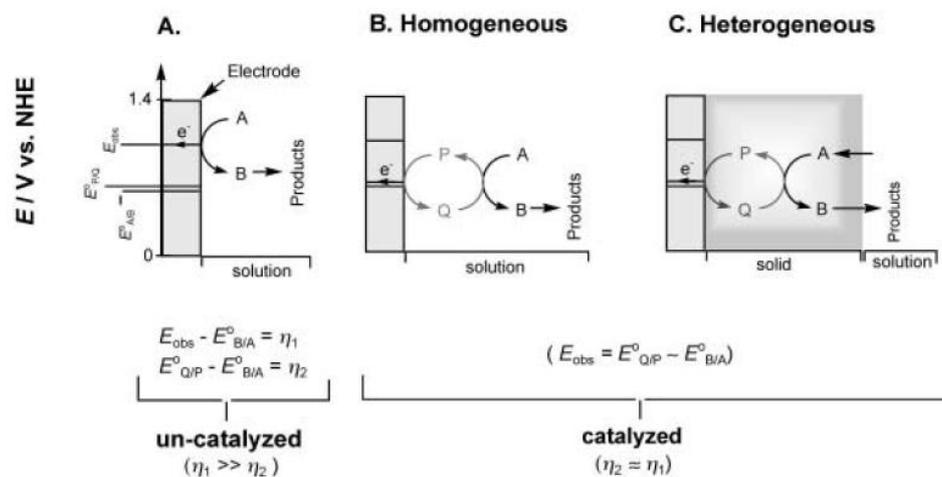
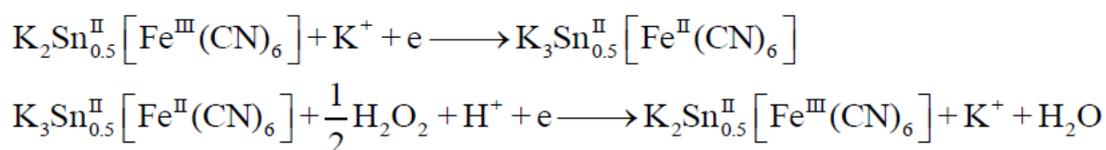


Figura 1. Rappresentazione schematica dei meccanismi coinvolti nella rivelazione di analiti ad una superficie elettrodica non modificata (A) e in presenza di un mediatore in grado di effettuare elettrocatalisi in fase omogenea (B) ed eterogenea (C). Tratto dal lavoro di Zen et al.<sup>18</sup>.

Sebbene l'elettrocatalisi svolga un ruolo di primo piano nella cinetica elettrodica è bene ricordare che altri processi intervengono nella determinazione del segnale analitico, quali il trasporto di massa in soluzione, e la diffusione/migrazione dell'analita e delle cariche<sup>22</sup> all'interno del film di modificante elettrodico

La voltammetria ciclica è largamente sfruttata per studiare i processi elettrocatalitici che avvengono agli elettrodi chimicamente modificati. Per mostrare come questa tecnica possa essere impiegata, consideriamo la riduzione dell'acqua ossigenata a un CME a base di un esacianoferrato di stagno<sup>23</sup>. Il meccanismo della reazione è il seguente:



La Figura 2 mostra alcuni voltamogrammi registrati all'elettrodo modificato in presenza di soluzioni contenenti concentrazioni variabili di  $\text{H}_2\text{O}_2$ , evidenziando il classico comportamento elettrocatalitico: il picco relativo al processo di riduzione aumenta all'aumentare della concentrazione dell'acqua ossigenata, mentre il picco di ossidazione risulta sensibilmente diminuito. Questo comportamento può essere spiegato analizzato i

processi chimici che avvengono sulla superficie elettrodica. A causa della reazione tra l' $\text{H}_2\text{O}_2$  e la forma ridotta dell'esacianoferrato, parte dell'esacianoferrato nella forma ossidata viene ripristinato e si riduce nuovamente all'elettrodo, incrementando così la corrente di picco catodica. Allo stesso tempo, una minore quantità di esacianoferrato in forma ridotta è disponibile per l'ossidazione e, conseguentemente, si registra una minore corrente di picco anodico. Questo tipo di indagine voltammetrica è stata largamente impiegata per dimostrare le proprietà elettrocatalitiche di vari modificanti elettrodici.

Infine possiamo ricordare che è anche possibile calcolare il valore della costante di reazione tra mediatore redox ed analita per via cronoamperometrica<sup>24</sup>. In questo modo risultano immediatamente confrontabili le prestazioni analitiche di vari modificanti elettrodici indipendentemente dalle caratteristiche costruttive degli elettrodi, quali ad esempio lo spessore o la morfologia del film di modificante che, invece, incidono sul confronto di sensibilità.

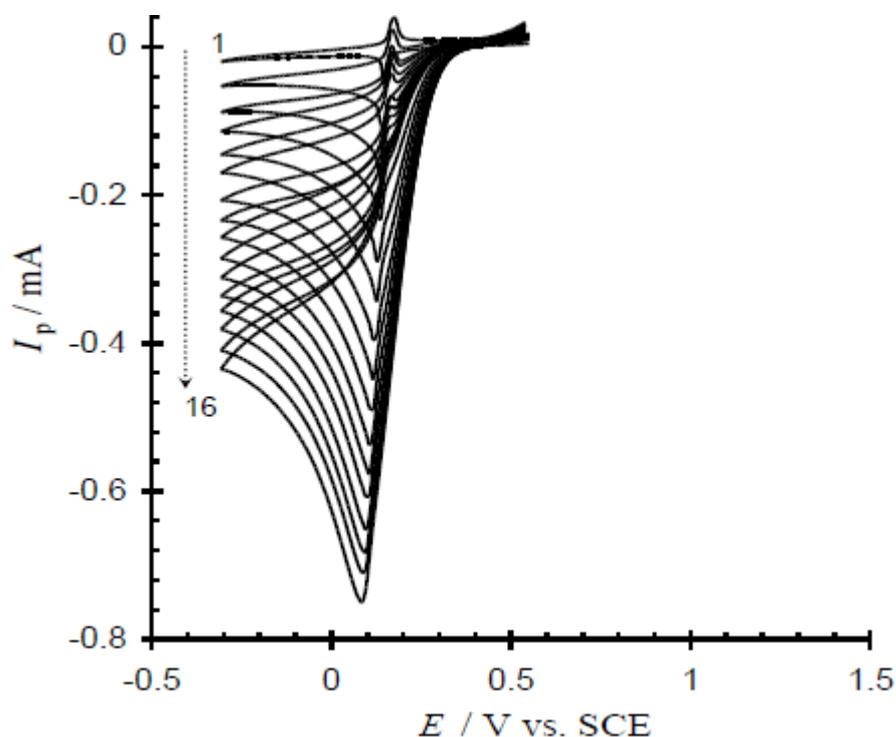


Figura 2. Voltammogrammi (velocità di scansione =  $0.02 \text{ V s}^{-1}$ ) registrati ad un elettrodo di GC modificato con un film di esacianoferrato a base di stagno in  $\text{KNO}_3$   $0.5 \text{ M}$  contenente concentrazioni crescenti di  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Tratto dal lavoro di Razmi e Taghvimi (2010).

## 3.2 Materiali elettrodici

Vengono di seguito riportate le principali caratteristiche dei due materiali elettrodici utilizzati principalmente in questa tesi.

### 3.2.1 Carbone vetroso

Il carbone vetroso (Glassy carbon, GC) è il materiale di natura carboniosa che viene impiegato maggiormente per applicazioni elettroanalitiche<sup>25,26,27</sup>, sotto forma di dischi, barrette o piatti. Esso è microstrutturalmente isotropo ed impermeabile a gas e a liquidi. Viene ottenuto da poliacrilonitrile o da resine fenoliche applicando, lentamente per alcuni giorni, un trattamento termico ( $T = 1000 \div 3000 \text{ }^\circ\text{C}$ ), sotto pressione, che causa l'espulsione degli atomi diversi dal carbonio<sup>25,26,27</sup>. Questa procedura dà origine a microstrutture coniugate a base di carbonio ibridato  $sp^2$ , a forma di nastro, che si sviluppano in un complesso sistema intrecciato, in cui la struttura originale del polimero rimane intatta, impedendo la formazione di domini estesi di natura grafite. Il materiale finale possiede una complessa chimica di superficie, per la presenza di diversi gruppi funzionali contenenti carbonio e ossigeno, situati sui piani grafite più esterni.

La superficie del GC, come quella di altri elettrodi solidi, si disattiva progressivamente durante l'esposizione all'atmosfera o durante l'uso elettrochimico. Attraverso opportuni trattamenti è possibile ripristinare le condizioni iniziali della superficie elettrodica, o controllare la formazione di specifici gruppi funzionali per ottenere una particolare reattività. I principali trattamenti<sup>28</sup> sono:

- *Lucidatura meccanica*
- *Pulizia con solvente*
- *Polarizzazione elettrochimica*

### 3.2.2 Platino

Il platino è un metallo di transizione molto denso, duttile e malleabile che cristallizza con una struttura cubica a facce centrate. Come membro del X gruppo della tavola degli elementi, il platino è generalmente non reattivo e presenta una forte

resistenza alla corrosione, anche a temperature elevate; per questa ragione è considerato un metallo nobile. Il platino presenta possiede buone proprietà catalitiche e un'ottima conducibilità elettrica. Per tutte queste ragioni il platino è ampiamente utilizzato nella produzione di elettrodi.

La chimica superficiale del platino influisce sulle sue proprietà elettrochimiche. I principali pretrattamenti per modificare l'attività di elettrodi di Pt, riportati in letteratura sono:

- *Trattamenti elettrochimici potenziostatici<sup>29</sup> e potenziodinamici<sup>30</sup>*
- *Trattamenti termici<sup>31</sup>*

Questi trattamenti possono portare alla formazione, sulla superficie dell'elettrodo, di orientazioni cristalline preferenziali<sup>30</sup>, di ossidi metastabili<sup>31</sup> o di nuovi siti attivi, dovuti ad atomi di Pt adsorbiti<sup>32,33</sup>.

### 3.3 Modificanti elettrodici

La ricerca condotta durante il periodo del dottorato ha riguardato l'utilizzo di argille anioniche e di polimeri come modificanti le superfici elettrodiche.

#### 3.3.1 Argille

Le argille costituiscono una serie di composti molto diffusi in natura e sono facilmente sintetizzabili in laboratorio. Presentano una struttura a strati carichi, sovrapposti e paralleli, legati tra loro da deboli interazioni elettrostatiche<sup>34</sup>. La larghezza dell'interstrato dipende dal grado di idratazione dell'argilla e dalle dimensioni dello ione intercalato tra gli strati. Una delle caratteristiche principali delle argille è la loro capacità di scambiare gli ioni presenti negli interstrati, proprietà che è sfruttata in numerose applicazioni.

Le argille possono essere divise in due gruppi:

- *Argille cationiche*: largamente diffuse in natura sono costituite da strati carichi negativamente, formati da idrossidi di alluminio e di silicio.

L'eccesso di carica negativa è bilanciata da cationi presenti negli interstrati. La maggior parte delle argille cationiche è costituita da alluminosilicati, minerali costituiti da  $\text{Si}(\text{O},\text{OH})$ , a coordinazione tetraedrica, e  $\text{M}(\text{O},\text{OH})$  (con  $\text{M} = \text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  e  $\text{Fe}^{2+}$ ), a coordinazione ottaedrica. Si possono distinguere i minerali 1:1, in cui si alternano strati tetraedrici ed ottaedrici, e 1:2, in cui uno strato ottaedrico è situato tra due strati tetraedrici.

Quando un atomo di Si o del metallo M viene sostituito da un catione con valenza inferiore, gli strati dell'argilla risultano essere carichi negativamente e l'eccesso di cariche viene bilanciato con l'introduzione di cationi monovalenti o bivalenti negli interstrati. In tali zone sono presenti anche molecole d'acqua.

Le argille cationiche vengono impiegate industrialmente come catalizzatori in numerosi processi, quali ad esempio l'isomerizzazione e l'alchilazione di Friedel-Craft<sup>35</sup>

➤ **Argille anioniche.** Sono idrossidi lamellari naturali e sintetici con domini intralamellari contenenti specie anioniche<sup>36</sup>. Gli strati idrossidici sono caratterizzati dalla presenza di due tipologie di cationi. In letteratura ci si riferisce a questi composti con i termini: idrossidi doppi a strati (LDH), composti di tipo idrotalcite, composti di tipo piroaurite, idrossidi lamellari di metalli di transizione e strutture ibride a strati.

Le argille possiedono alcune proprietà che rendono il loro impiego come modificanti elettrodi molto attraente. Queste caratteristiche includono l'abbondanza, il basso costo, la diversità strutturale, l'alta stabilità termica e una tossicità trascurabile<sup>37,38,39,40,41</sup>. La diversità strutturale deriva dalla differente composizione chimica e dalla carica, forma e dimensione degli ioni costituenti. Le argille sono spesso utilizzate in condizioni sperimentali estreme, che degraderebbero modificanti elettrodi di altra natura.

Gli elettrodi modificati con argille sono stati ampiamente utilizzati nello studio del trasferimento elettronico di specie redox e nella costruzione di sensori. Il microambiente in fase acquosa, con elevata forza ionica, presente tra i diversi strati, è facilmente

controllabile attraverso il processo di sintesi del materiale ed è adatto per far decorrere processi elettrochimici. Questa caratteristica rende le argille particolarmente adatte per tutte quelle applicazioni che richiedono proprietà di riconoscimento molecolare, di scambio ionico, di catalisi chimica e di elettrocatalisi<sup>28</sup>.

### 3.3.1.1 Idrossidi doppi a strati

Una semplice descrizione della struttura (Figura 3) degli idrossidi doppi a strati è stata data da Allmann (1968)<sup>42</sup>, in seguito alla registrazione di un diffrattogramma di raggi X su un singolo cristallo di piroaurite, con formula  $\text{Mg}_6\text{Fe}^{\text{III}}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

Tale struttura deriva da quella della brucite,  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ , dove gli ioni  $\text{Mg}^{2+}$  sono legati a 6  $\text{OH}^-$ , con coordinazione ottaedrica. Gli ottaedri condividono uno spigolo, formando strati impilati l'uno sull'altro, legati tra loro con legami a idrogeno. Dato che nei composti LDH parte del  $\text{Mg}^{2+}$  è sostituito da uno ione trivalente, gli strati brucitici acquistano carica positiva. Per bilanciare tale carica, specie anioniche, molto comunemente gli ioni carbonato, si intercalano insieme all'acqua fra gli strati idrossidici, aumentandone la distanza.

Gli anioni e l'acqua sono distribuiti approssimativamente intorno all'asse di simmetria, che passa attraverso i gruppi idrossidici dei piani brucitici adiacenti<sup>43</sup> e sono posizionati casualmente nella regione intralamellare, dove sono liberi di muoversi, perché in grado di rompere e riformare i legami a idrogeno, con cui interagiscono con gli strati brucitici.

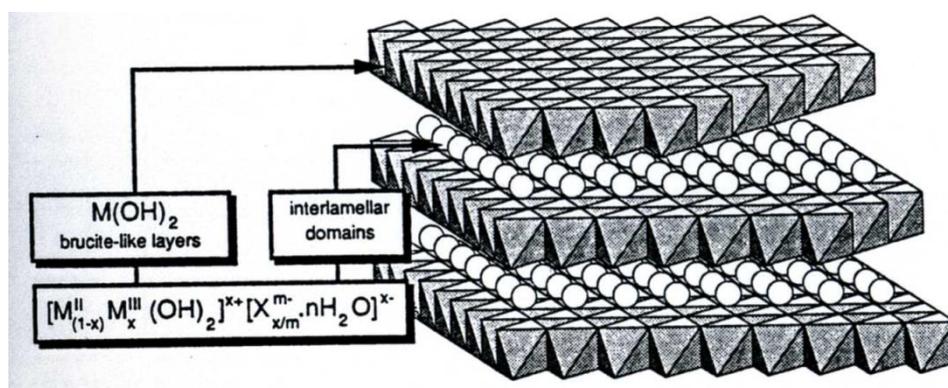


Figura 3. Formula generale della struttura di un cristallita di un composto LDH. Tratto da de Roy et al.<sup>44</sup>

In natura sono stati trovati altri composti isomorfi alla piroaurite, con stechiometria  $M(II)_6M(III)_2(OH)_{16}CO_3 \cdot H_2O$ , dove  $M(II)$  e  $M(III)$  sono due ioni metallici, rispettivamente, bivalenti e trivalenti. Tra questi minerali possiamo citare l'idrotalcite, con formula  $Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot H_2O$ , che rappresenta uno degli LDH più studiati e utilizzati per applicazioni in vari settori della chimica. Tutti questi composti sono caratterizzati da un rapporto metallo(II)/metallo(III) pari uno 1/3. Tuttavia, sono conosciuti anche altri minerali che hanno una struttura simile, ma che presentano altri tipi di anioni intercalati, anche monocarichi, e un diverso rapporto metallo (II)/metallo(III). La formula generale di questi composti può essere espressa come  $[M(II)_{1-x}M(III)_x(OH)_2]^{x+} (A^{n-}_{x/n}) \cdot mH_2O$  dove  $A^{n-}$  è un anione con carica  $n$ , mentre  $x$  è definito come  $M(III)/[M(II)+M(III)]^{44}$ .

È possibile preparare un grande numero di composti LDH, in quanto le variabili compositive sono molto numerose.

Le principali possono essere così schematizzate:

- **Natura degli strati di tipo brucitico<sup>44</sup>**. La natura dello strato brucitico è determinata dal tipo di metalli bivalente e trivalente da cui è costituito e dal loro rapporto stechiometrico, espresso dal parametro  $x$ .

Come è possibile vedere in Tabella 2, è possibile ottenere una struttura di tipo idrotalcite con un gran numero di cationi bivalenti e trivalenti. Se uno esamina dimensioni di questi ioni, risulta che la struttura LDH si presenta per raggi ionici compresi tra 0.50 e 0.74 Å. Per cationi di dimensioni maggiori, quali il  $Ca^{2+}$  e il  $La^{3+}$  la struttura ottaedrica si apre nel dominio intralamellare, portando ad una coordinazione 6+1, con il catione decentrato dal piano mediano degli strati. Questo fenomeno si riscontra nel minerale a base di idrossido misto di calcio e alluminio chiamato idrocalumite. Dall'analisi strutturale con i raggi X risulta che i due diversi cationi sono casualmente distribuiti negli strati idrossidici. È infine importante ricordare che è possibile preparare LDH con più di due tipi di cationi.

Se uno esamina la struttura degli LDH, da un punto di vista teorico è possibile variare in modo continuo il valore di  $x$ , in un intervallo relativamente ampio compreso tra 0.14 e 0.5. Al di fuori di questi intervallo si osserva la segregazione dell'idrossido dello ione in eccesso, accanto alla fase idrotalcitica. Tuttavia la presenza ricorrente di alcune stechiometrie, quale ad esempio  $M(II)_6M(III)_2(OH)_{16}CO_3 \cdot H_2O$ , riscontrata in numerosi minerali, fa presupporre la presenza di valori di  $x$  favoriti a priori.

- **Tipologia di anione intercalato**<sup>43</sup>: praticamente non esiste alcuna particolare limitazione sulla natura degli anioni che possono compensare la carica positiva dei strati brucitici; l'unico problema è connesso alla preparazione di materiali cristallini puri e ben cristallizzati. Per esempio,

Cationi	Bivalenti								
Cationi	Cationi								
Trivalenti	Mg	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ca	Li <sup>■</sup>
Al	*		*	*	*	*	*	*	*
Cr					*	*	*		
Mn		*							
Fe	*		*	*					
Co				*	*				
Ni					*				
La					*				
Ti <sup>■■</sup>				*					

Tabella 2. Associazione tra metalli bivalenti e trivalenti per la produzione di LDH. (■ monovalente, ■■ tetravalente). Tratto dal lavoro di de Roy et al.<sup>44</sup>

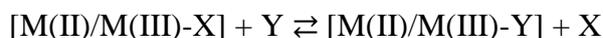
quando si vogliono inserire anioni diversi dal carbonato è veramente difficile evitare la contaminazione ad opera della  $\text{CO}_2$  presente nell'atmosfera.

In letteratura è riportata la preparazione di un gran numero di idrotalciti contenenti anioni differenti:

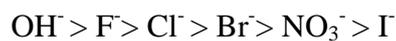
- Anioni inorganici:  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_3^-$ ,  $\text{IO}_3^-$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{WO}_4^{2-}$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ,  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ;
- Iso e eteropolianioni, come  $[\text{PMo}_2\text{O}_{40}]^{3-}$ ,  $[\text{PW}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ ;
- Anioni di acidi organici, quali ossalato, succinato, malonato;
- Composti metallorganici anionici

Modificando l'anione intercalato è possibile sintetizzare LDH con diversa ampiezza dell'interstrato, il cui valore è fortemente dipendente da numero, dimensione, orientamento e forza dei legami tra l'anione stesso e gli ossidrilici dello strato brucitico.

La reazione di scambio anionico rappresenta una delle proprietà più interessanti dei composti LDH e può essere rappresentata:



Questo equilibrio è tanto più spostato verso destra quanto maggiore è l'affinità di Y per gli strati brucitici. Tale affinità dipende principalmente dalle interazioni che si stabiliscono tra l'anione ed i piani carichi positivamente; risulta quindi importante il rapporto carica/raggio dello ione intercalato. Studi effettuati sulle proprietà di scambio ionico degli LDH hanno mostrato che la selettività verso gli anioni monovalenti decresce secondo l'ordine:



Gli anioni bivalenti hanno affinità maggiore per gli strati brucitici e, quindi, selettività maggiore. Tra gli anioni bivalenti, il carbonato è in grado di stabilire interazioni fortissime con gli strati brucitici e, quindi, la capacità di scambio ionico è molto ridotta in LDH calcinate, in cui l'anione intercalato è, per l'appunto,  $\text{CO}_3^{2-}$ .

Tramite reazioni di scambio anionico è possibile anche ottenere argille dette pilastrate, in cui l'anione intercalato presenta un ingombro sterico particolarmente elevato e può essere visto come un sostegno molecolare, un pilastro, che impone uno spazio basale di dimensione elevata.

- **Contenuto di acqua<sup>44</sup>**: Gli studi sul contenuto di acqua degli LDH, eseguiti con la termogravimetria, hanno mostrato come le molecole di H<sub>2</sub>O possano posizionarsi sia nella struttura cristallina sia sulla superficie dei microcristalli. L'importanza dell'idratazione esterna aumenta al diminuire della dimensione dei cristalliti. Il contenuto di acqua influisce sulle proprietà elettrochimiche degli LDH.

### 3.3.1.2 Preparazione di LDH

Diverse procedure sono state utilizzate per la produzione di materiale di tipo idrotalcite. Le principali metodiche di sintesi sono:

- **Precipitazione a pH crescente**: una procedura semplice per la preparazione di idrossidi doppi a strati consiste nel titolare, per via potenziometrica, una soluzione dei sali dei metalli costituenti il composto LDH desiderato con una soluzione di idrossido o di carbonato di metalli alcalini. Da questi esperimenti si ottengono delle curve pH contro volume di titolante aggiunto, come quelle mostrate in Figura 4 per LDH a base di Mg e Al e Mg e Fe<sup>45</sup>, che possono essere utili come studio preliminare per progettare altre modalità di sintesi. Ad esempio, il punto finale di precipitazione determinato con questo metodo, solitamente corrisponde al pH utilizzato nel metodo di sintesi della coprecipitazione.
- **Precipitazione a pH costante o coprecipitazione<sup>44</sup>**: è il metodo più utilizzato perché consente la produzione di grandi quantità di LDH. Per riuscire a mantenere il pH costante durante la sintesi, è necessario controllare le velocità di addizione della soluzione dei sali dei metalli e di quella della, il pH e la temperatura della soluzione di precipitazione. Attraverso questo metodo si riescono ad ottenere LDH con una buona

cristallinità ed una composizione dipendente dalla composizione della soluzione dei sali metallici utilizzati. L'intervallo di pH in cui si osserva la formazione dei vari LDH e di alcuni idrossidi è riportato in Figura 5.

- **Scambio ionico<sup>44</sup>**: la sintesi per scambio ionico è utilizzata quando la sintesi preparazione diretta dell'LDH con intercalato l'anione desiderato non è percorribile. L'idrossido lamellare misto scelto come precursore viene mantenuto in contatto con l'anione che si vuole intercalare, presente in soluzione in forte eccesso, per favorire lo scambio. I fattori che influiscono sullo scambio ionico sono: la natura dell'anione uscente ed entrante e il pH della soluzione.
- **Ricostruzione della struttura<sup>44</sup>**: questo metodo si basa sull'effetto memoria, ovvero sulla capacità degli ossidi misti, ottenuti per calcinazione dell'LDH precursore a 500-600°C, di ricostruire la struttura originaria mediante l'incorporazione di vari anioni o per semplice esposizione all'aria. La reazione viene condotta aggiungendo gli ossidi misti ad una soluzione del sale dell'anione, in assenza di CO<sub>2</sub>; tale metodo è particolarmente utilizzato nella sintesi di LDH contenenti anioni inorganici nell'interstrato. Il parametro fondamentale è la temperatura di calcinazione dell'idrotalcite

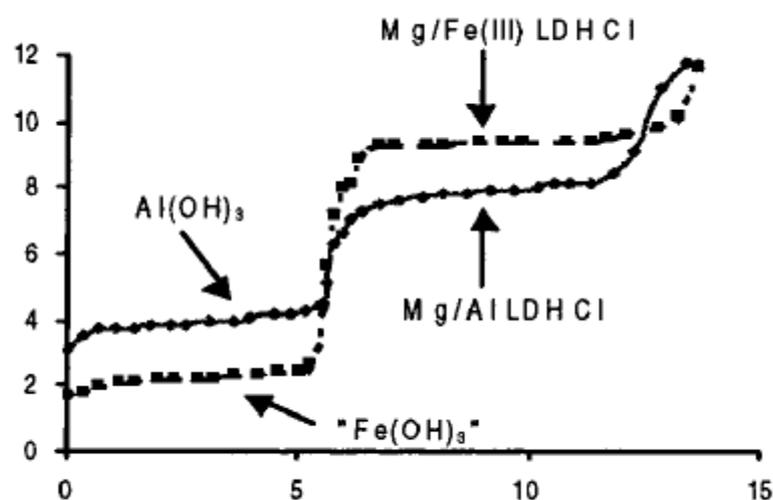


Figura 4. Curve di titolazione di soluzioni 2:1 MgCl<sub>2</sub>:AlCl<sub>3</sub> e MgCl<sub>2</sub>:FeCl<sub>3</sub>. Tratto da Boclair e Bratman (2009)<sup>45</sup>

iniziale, che deve essere tale da assicurare la completa decomposizione della stessa ad ossidi misti, ma non da permettere la formazione di altre fasi.

➤ **Preparazione elettrochimica:** In modo analogo ai metodi di precipitazione già descritti, reazioni elettrodiche che portano alla formazione di  $\text{OH}^-$  e, quindi, ad un incremento del pH, come ad esempio la riduzione degli ioni nitrato, possono portare alla precipitazione di composti di tipo idrotalcite; in questo caso si parla di elettrosintesi. Essa può essere condotta sia nel bulk della soluzione, con lo scopo di precipitare il più quantitativamente possibile i metalli  $\text{M(II)}$  e  $\text{M(III)}$ <sup>46</sup>, oppure sulla superficie dell'elettrodo con lo scopo di ottenere una modifica diretta<sup>47</sup>. L'elettrodeposizione è ampiamente utilizzata per preparare film di idrossidi su materiali conduttori, data la sua praticità e la sua rapidità di esecuzione. Il corretto controllo della reazione di precipitazione di idrossidi sulla superficie elettrodica, e quindi della purezza del prodotto ottenuto, è materia di studio di alcune pubblicazioni recenti. Per migliorare le prestazioni dell'elettrosintesi devono essere ottimizzati parametri quali il potenziale applicato o la temperatura.

Infine è importante porre l'attenzione sui processi di invecchiamento che possono avere un ruolo di primo piano nel migliorare la qualità degli LDH prodotti con le diverse

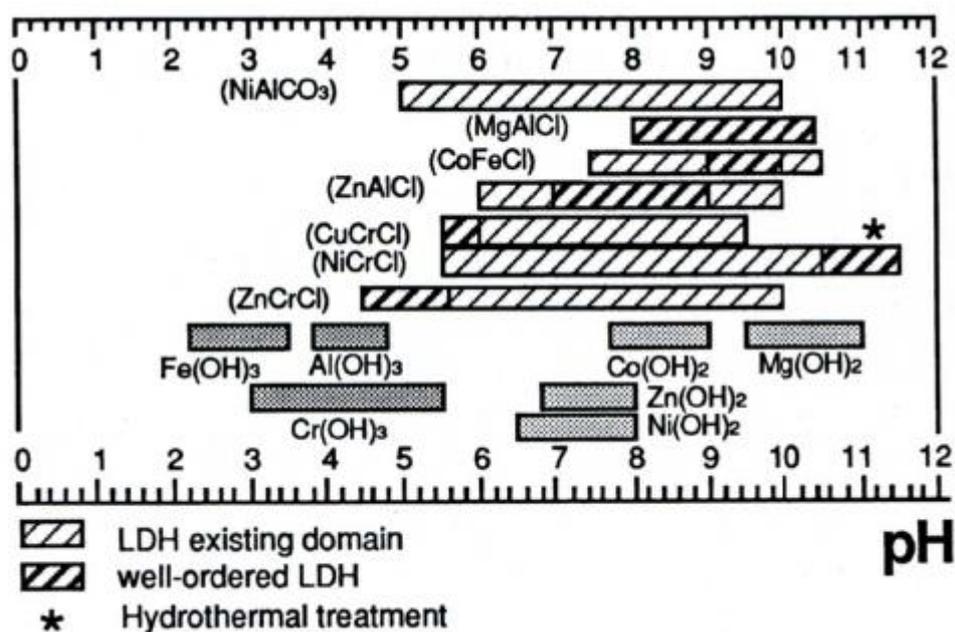


Figura 5. Intervalli di pH in cui si osserva la formazione di vari LDH e degli idrossidi a loro collegati. Tratto da de Roy et al. (1992)<sup>44</sup>

metodologie di sintesi. Per migliorare la cristallinità e aumentare la dimensioni dei cristalliti, è possibile applicare un trattamento idrotermico in cui l'LDH è riscaldato a elevate temperature in presenza di acqua<sup>44</sup>.

### **3.3.1.3 Proprietà e applicazioni**

I composti LDH sono materiali promettenti dal punto di vista tecnologico, grazie al loro basso costo, alla facilità di preparazione ed all'elevatissimo numero di composti sintetizzabili reso possibile dal gran numero di variabili compositive modulabili durante la sintesi.

I composti LDH vengono impiegati in settori quali:

- **Catalisi:** Gli LDH sono state variamente impiegati come supporti, precursori di catalizzatori o catalizzatori veri e propri in campi di grande rilevanza industriale e scientifica, quali la chimica organica<sup>48,49,50</sup>, la catalisi ambientale<sup>51,52</sup> e la conversione del gas naturale<sup>53,54</sup>.
- **Scambio ionico ed adsorbimento:** Gli LDH possono rimuovere specie cariche negativamente mediante processi di adsorbimento superficiale o scambio ionico<sup>55,56,57</sup>. La grande affinità per gli anioni è causata dall'alta area superficiale, dall'elevata capacità di scambio e dalla distanza interstrato variabile che consente l'intrappolamento di specie, sia organiche che inorganiche, molto diverse tra loro, quali i contaminanti del suolo e dell'acqua.
- **Farmaceutico:** oltre ai classici impieghi come antiacidi, gli LDH sono stati proposti e come sistemi trasportatori e di rilascio controllato di farmaci<sup>58</sup> e nella terapia contro il cancro<sup>59</sup>.
- **Fotochimica:** L'interstrato degli LDH fornisce un ambiente idoneo per il decorso di reazioni fotochimiche che coinvolgono le molecole intercalate<sup>60,61</sup>.
- **Elettrochimica:** Gli elettrodi modificati con LDH sono stati ampiamente studiati anche per la loro capacità di scambiare anioni. Le principali applicazioni di tali CME hanno riguardato lo sviluppo di sensori e

biosensori sia amperometrici che potenziometrici, e di dispositivi per lo stoccaggio di energia. Gli LDH che possono subire processi redox, sono quelli maggiormente utilizzati per questi scopi. I processi redox possono interessare sia gli ioni metallici<sup>62</sup> della struttura brucitica sia eventuali anioni redox attivi presenti nella zona intralamellare<sup>63</sup>.

- **Polimeri:** una applicazione in via di sviluppo degli LDH si basa sul loro utilizzo come additivi nelle formulazioni di materiali polimerici funzionali, per migliorarne le prestazioni<sup>64</sup>.

### 3.3.2 Polimeri

L'estesa natura della rete polimerica fornisce le condizioni adatte per lo studio di fenomeni interfacciali a lungo raggio e per un miglioramento delle misurazioni elettrochimiche. Lo spessore più elevato rispetto ad altre tipologie di modificanti elettrodiici permette di avere un gran numero di siti attivi, che possono essere sfruttati nel design di sensori e nella ricerca di base. Questi CME possono essere preparati attraverso l'adsorbimento di un polimero preformato o attraverso la polimerizzazione diretta di un monomero sulla superficie elettrodica. La conduzione della carica (Figura 6) nel film polimerico può avvenire per electron hopping (salto elettronico tra siti redox attivi), diffusione di ioni redox nel polimero, o diffusione, diretta o attraverso canali, dell'analita nella matrice polimerica<sup>28</sup>.

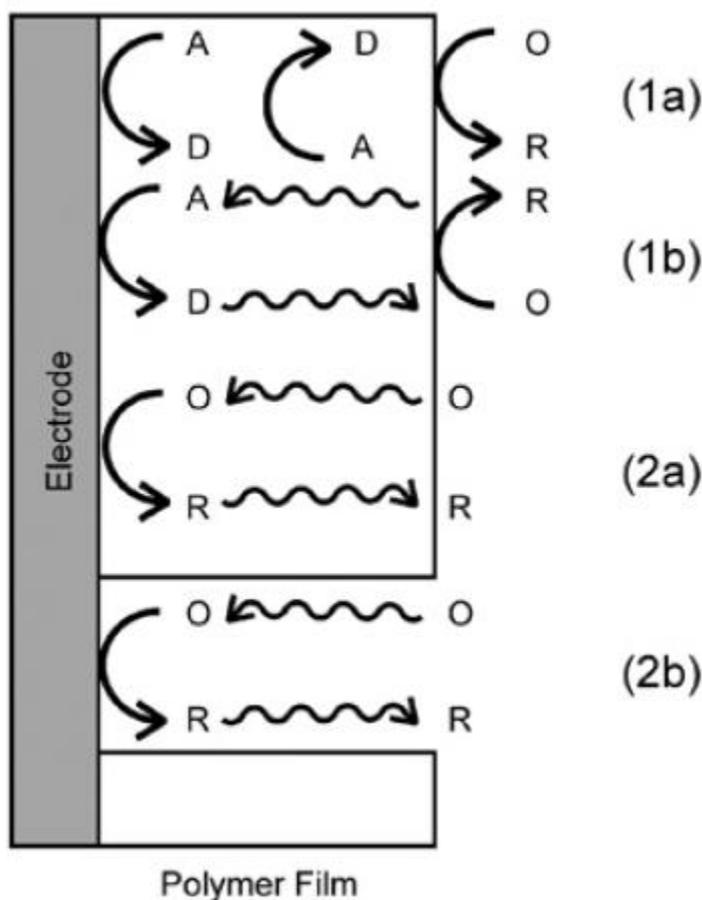


Figura 6 Illustrazione delle quattro tipologie di trasferimento elettronico che si possono osservare ad elettrodi modificati con polimeri, nella reazione di riduzione ( $O + e^- \rightarrow R$ ) impiegata per la determinazione di un analita O. I polimeri che contengono funzionalità redox ( $A + e^- \rightarrow D$ ) possono condurre la corrente elettrica fino all'interfaccia tramite electron hopping (1a) o diffusione della specie attiva (1b). Film polimerici permeabili forniscono, d'altra parte, un ambiente chimico adatto alla diffusione di O direttamente nella matrice polimerica (2a) o alla diffusione in soluzione attraverso canali/fori (2b). Tratto da, Handbook of electrochemistry<sup>28</sup>

I polimeri che sono utilizzati come modificanti elettrodi sono classificati (Figura 7) come<sup>65,28</sup>:

- **Polimeri o copolimeri redox:** contengono funzionalità redox attive legate covalentemente all' "ossatura del polimero". Questi siti redox sono in grado di scambiare elettroni tra loro, di scambiarli all'interfaccia modificante/soluzione o con molecole che penetrano nella matrice polimerica. Siccome il trasferimento elettronico con il substrato avviene solitamente vicino all'interfaccia con la soluzione, la corrente elettrica viene trasportata nel film polimerico tramite "electron hopping" (Figura 6). Per

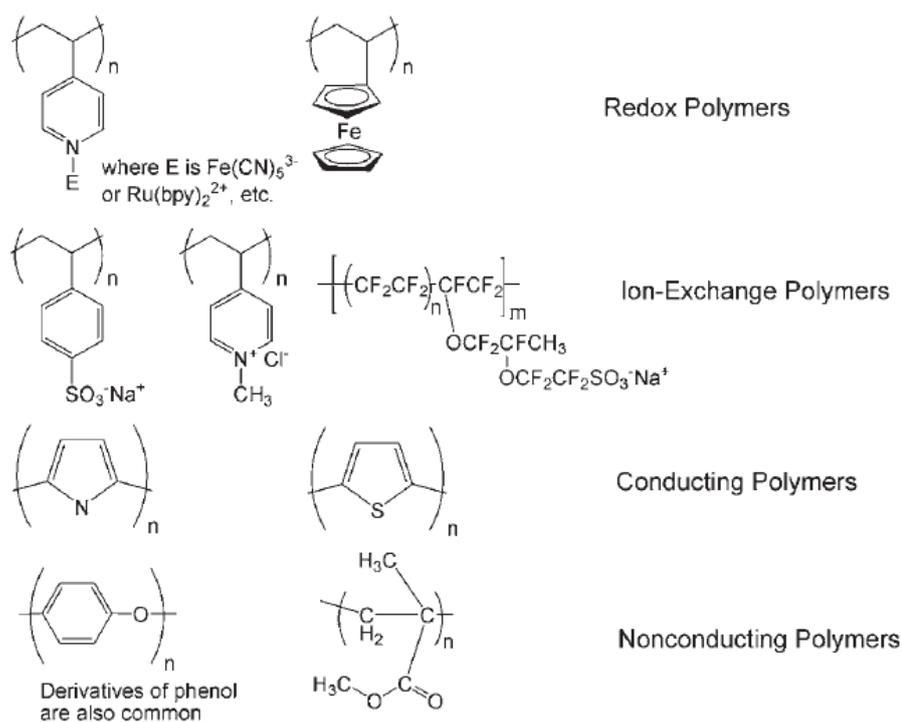


Figura 7. Esempi di polimeri comunemente utilizzati per fabbricare elettrodi modificati. Tratto da Handbook of electrochemistry<sup>28</sup>

mantenere l'elettroneutralità del materiale è necessaria la migrazione di un contro ione.

- **Scambiatori di ioni:** Questa classe di modificanti elettrodi si basa su polimeri in grado di scambiare il loro contro ione originale con un appropriato ione elettroattivo, che serve come sito di trasferimento elettronico all'interno del film polimerico e all'interfaccia con la soluzione (Figura 6 B). I polimeri a scambio ionico possono essere utilizzati per diversi scopi come, ad esempio, preconcentrare analitici ionici sulla superficie elettrodica o come mediatori per il trasferimento elettronico.
- **Conduttori:** in questa classe di polimeri le unità monomeriche formano strutture speciali con sistemi  $\pi$  altamente coniugati che permettono la conduzione della carica elettrica attraverso bande elettroniche localizzate; quindi il trasferimento elettronico avviene attraverso stati energetici sovrapposti e non occupati. La conduttività di questi polimeri è tipica dei materiali semiconduttori ( $10^{-14} \div 10^2 \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ ), ma può essere aumentata con drogaggio tramite reagenti chimici o reazioni elettrodiche che creano

trasportatori di carica nella forma di eccesso di elettroni o lacune elettroniche. Durante il drogaggio vengono incorporati piccoli ioni per mantenere l'elettroneutralità. Sebbene i polimeri conduttori possano essere preparati con varie tecniche, l'elettropolimerizzazione è sicuramente il metodo più conveniente nella fabbricazione di CME. L'impiego più comune di questi elettrodi è la preparazione di sensori elettrochimici per determinazioni selettive e altamente sensibili di numerosi analiti che spaziano dalle specie inorganiche a quelle organiche di interesse biologico.

- **Non conduttori:** I polimeri non conduttori presentano un classico comportamento isolante e, per questa ragione, vengono utilizzati per indurre barriere fisiche o la passivazione della superficie elettrodica. La modificazione elettrodica con questi materiali può avvenire per dip-coating (rivestimento per immersione), spin-coating (rivestimento per rotazione), drop-casting (rivestimento con goccia) ed elettropolimerizzazione. L'applicazione più elegante di questi materiali è la costruzione di CME altamente selettivi in quanto basati su polimeri ad impronta molecolare, ottenuti attraverso l'aggiunta della molecola target durante la polimerizzazione, seguita poi dalla sua rimozione.

### 3.4 Bibliografia

---

<sup>1</sup> R. W. Murray, Anal. Chem. 1987, 59, 379

<sup>2</sup> C. A. Caro, F. Bedioui, J. H. Zagal, Electrochim. Acta 2002, 47, 1489

<sup>3</sup> G.-C. Zhao, F.-H. Wu, X.-W. Wei, Chem. Lett. 2002, 31, 520

<sup>4</sup> J. Wang, M. Li, Z. Shi, N. Li, Z. Gu, Electroanalysis 2002, 14, 225

<sup>5</sup> Z. Wang, J. Liu, Q. Liang, Y. Wang, G. Luo, Analyst 2002, 127, 653

<sup>6</sup> J. Xu, J.-J. Zhu, Q. Huang, H.-Y. Chen, Electrochem. Commun. 2001, 3, 665

<sup>7</sup> J.-M. Zen, S.-H. Jeng, H.-J. Chen, Anal. Chem. 1996, 68, 498

- 
- <sup>8</sup> J.-M. Zen, A. S. Kumar, D.-M. Tsai, *Electronal.* 2003, 15, 1073
- <sup>9</sup> S. Flink, F. C. J. M. van Veggel, D. N. Reinhoudt, *Adv. Mat.* 2000, 12, 1315
- <sup>10</sup> D. Mandler, I. Turyan, *Electroanalysis*, 1996, 8, 207
- <sup>11</sup> A. Ulmann, *Ultrathin Organic Films*, 1991, Academic Press, New York
- <sup>12</sup> L. Zhang, X. Lin, *Frensius J. Anal. Chem.* 2001, 370, 956
- <sup>13</sup> L. Zhang, X. Lin, *Analyst* 2001, 126, 367
- <sup>14</sup> S.-M. Chen, *J. Electroanal. Chem.* 2002, 521, 29
- <sup>15</sup> C. Mousty, *Applied Clay Science* 2004, 27, 159
- <sup>16</sup> N. Oyama, F. C. Anson, *Anal. Chem.* 1980, 52, 1196
- <sup>17</sup> N. Oyama, F. C. Anson, *J. Electrochem. Soc.* 1980, 127, 640
- <sup>18</sup> J.-M. Zen, A. S. Kumar, D.-M. Tsai, *Electronal.* 2003, 15, 1073
- <sup>19</sup> J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, Seconda edizione, 2000, Wiley, New York
- <sup>20</sup> A. Malinauskas, T. Ruzgas, L. Gorton, *J. Coll. Intef. Sci*; 2000, 224, 325
- <sup>21</sup> F. D. Munteau, L. T. Kubota, L. Gorton, *J. Electroanal. Chem.* 2001, 509, 2
- <sup>22</sup> A. J. Bard, L. Faulkner, *Electrochemical methods fundamental and applications*, Seconda edizione, 2001, Wiley, New York.
- <sup>23</sup> H. Razmi, A. Taghvimi, *Int. J. Electrochem, Sci.*, 2010, 5, 751
- <sup>24</sup> M.H. Pournaghi-Azar, H. Razmi-Nerbin, *J. Electroanal. Chem.* 2000, 488, 17
- <sup>25</sup> R. L. McCreery, "Carbon Electrodes: Structural Effects on Electron Transfer Kinetics", in *Electroanalytical Chemistry*, Edito da A. J. Bard, Vol. 17, Marcel Dekker, Inc., New York, 1991

- 
- <sup>26</sup> R. L. McCreery, “Carbon Electrode Surface Chemistry”, in *Neuromethods*, Vol. 27: Voltammetric Methods in Brain Systems, A. Boulton, G. Baker, R. N. Adams, Eds., Humana Press Inc. New York, 1995
- <sup>27</sup> R. L. McCreery, “Electrochemical Properties of Carbon Surfaces”, in *Interfacial Electrochemistry*, Edito da A. Wieckowski, 1999, Marcel Dekker, Inc. New York
- <sup>28</sup> C. G. Zoski, *Handbook of electrochemistry*, 2007, Elsevier, Amsterdam
- <sup>29</sup> V. Díaz, C.F. Zinola, *Journal of Colloid and Interface Science* 2007, 313, 232
- <sup>30</sup> A. J. Arvia, R. C. Salvarezza, E. Triaca, *Electrochimica*, 1989, 34, 1057
- <sup>31</sup> S.H. Kim, K.C. Kim, Y.S. Kim, H.J. Kim, *Curr. Appl. Phys.* 2006, 6, 1036
- <sup>32</sup> L.D. Burke, G.M. Bruton, J.A. Collins, *Electrochim. Acta* 1998, 44, 1467
- <sup>33</sup> L.D. Burke, *Electrochim. Acta* 1994, 39, 1841
- <sup>34</sup> A. J. Bard, T. Mallouk, *Tecn. Chem.* 1992, 271, 312
- <sup>35</sup> A. Vaccari, *Catal. Today* 1998, 41, 53
- <sup>36</sup> W. T. Reichle, *Solid State ionics*, 1986, 221, 35
- <sup>37</sup> A. Fitch, *Clays and Clay Minerals* 1990, 38, 391
- <sup>38</sup> M. Macha, A. Fitch, *Mikrochim. Acta* 1998, 128, 1
- <sup>39</sup> A. J. Bard, T. Mallouk, “Electrodes Modified with Clays, Zeolites, and Related Microporous Solids”, in *Molecular Design of Electrode Surfaces*, Vol. XXII, Edito da R. W. Murray, John Wiley & Sons, 1992, New York.
- <sup>40</sup> Z. Navrátilová, P. Kula, *Electroanalysis* 2003, 15, 837
- <sup>41</sup> J.-M. Zen, A. S. Kumar, *Anal. Chem.* 2004, 76, 205A
- <sup>42</sup> *N. Jb. Miner. Mh.* 1968, 140

- <sup>43</sup> F. Cavani, F. Trifirò, A. Vaccari, *Catalysis Today*, 1991, 11, 173
- <sup>44</sup> A. de Roy, C. Forano, K. El Malki, J.-P. Biessu, Anionic Calys: trends in pillaring chemistry, in *Expanded Clays and other microporous solids*, edito da M. L. Occelli, H. Robson, 1992, Springer, New York
- <sup>45</sup> J. W. Bocclair, P. S. Braterman, *Chem. Mater.* 1999, 11, 298
- <sup>46</sup> L. Indira, P. V. Kamath, *J. Mater. Chem.* 1994, 4, 1487
- <sup>47</sup> E. Scavetta, B. Ballarin, M. Giorgetti, I. Carpani, F. Cogo and D. Tonelli, *Journal of New Materials for Electrochemical Systems* 2004, 7, 43
- <sup>48</sup> I. Kirm, F. Medina, X. Rodriguez, Y. Cesteros, P. Salagre, J. Sueiras, *Appl. Cat.* 2004, 272, 175
- <sup>49</sup> U. Costantino, M. Curini, F. Montanari, M. Nocchetti, O. Rosati, *J. Mol. Catal. A: Chem* 2003, 195, 245
- <sup>50</sup> V. Rives, O. Prieto, A. Dubey, S. Kannan, *J. Catal.* 2003, 220, 161
- <sup>51</sup> J.S. Yoo, A. A. Bhattacharya, C. A. Rodlowski, J. A. Karch, *Ind. Eng. Chem. Res.* 1991, 30, 1444
- <sup>52</sup> A. Corma, A.E. Palomeras, F. Rey, *Appl. Catal. B.* 1994, 4, 29
- <sup>53</sup> F. Basile, G. Fornasari, E. Poluzzi, A. Vaccari, *Appl. Clay Sci.* 1998, 13, 329
- <sup>54</sup> M. M. Gunter, T. Ressler, R. E. Jentoft, B. Bems, *J. Catal.* 2001, 203, 133
- <sup>55</sup> R.L. Goswamee, P. Sengupta, K.G. Bhattacharyya, D.K. Dutta, *Appl. Clay Sci.* 1998, 13, 21
- <sup>56</sup> B. Dousova, V. Machovi, D. Kolousek, F. Kovanda, V. Dornicak, *Water Air Soil Pollut.* 2003, 149, 251
- <sup>57</sup> T. Toraishi, S. Nagasaki, S. Tanaka, *Appl Clay Sci.* 2002, 22, 17

<sup>58</sup> D. Tonelli, E. Scavetta, G. Giorgetti, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2013, 405, 603

<sup>59</sup> V. Ambrogi, G. Fardella, G. Grandolini, L. Perioli, *Int. J. Pharm.* 2001, 220, 23.

<sup>60</sup> M. Ogawa, K. Kuroda, *Chem. Rev.* 1995, 95, 399.

<sup>61</sup> T. Shichi, K. Takagi, Y. Sawaki, *Chem. Comm.* 1996, 17, 2027

<sup>62</sup> E. Scavetta, B. Ballarin, M. Gazzano, D. Tonelli, *Electrochimica Acta* 2009, 54, 1027

<sup>63</sup> S. Therias, C. Mousty, C. Forano, J. P. Besse, *Langmuir*, 1996, 12, 4914

<sup>64</sup> X.D. Wang, Q. Zhang, *Polym. Int.* 2004, 53, 698

<sup>65</sup> R. W. Murray, "Chemically Modified Electrodes", in *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 13, Edito da A. J. Bard, 1984, Marcel Dekker, Inc., New York

# PARTE SPERIMENTALE

## 4.1 Reagenti utilizzati

Nome	Ditta produttrice	Purezza
Fenolo	Carlo Erba	99,5 %
Perossido di idrogeno	Sigma Aldrich	30 % w/w
[Ru(NH <sub>3</sub> ) <sub>6</sub> ]Cl <sub>3</sub>	Sigma Aldrich	98 %
FeSO <sub>4</sub> x7H <sub>2</sub> O	Carlo Erba	99,5 %
CH <sub>3</sub> COOH	J. T. Baker	99 %
CH <sub>3</sub> COONa	Carlo Erba	99,5 %
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Riedel de Haen	98 %
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Sigma Aldrich	99.5 %
K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Riedel de Haen	99 %
(L)-Acido Ascorbico	Sigma Aldrich	99 %
Trolox (acido 6-idrossi-2,5,7,8- tetrametilcroman-2-carbossilico)	Sigma Aldrich	97 %
Acido Gallico	Sigma Aldrich	97 %
Pirogallolo	Fluka	98 %
(-)-Epicatechina	Sigma Aldrich	90 %
Quercetina	Sigma Aldrich	98 %

DPPH (2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)idrazile)	Sigma Aldrich	99 %
ABTS (Acido 2,2-azinobis(3-etil-benzotiazolin-6-sulfonico)	Sigma Aldrich	99 %
Sodio Fluoresceinato	Fluka	99 %
AAPH (2,2-azobis (2-aminopropano) diidrocloreuro)	Sigma Aldrich	97 %
$\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	Carlo Erba	99,5 %
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Carlo Erba	97 %
$\text{H}_2\text{SO}_4$	J.T. Baker	95 %
Nome	Ditta produttrice	Purezza
$\text{CH}_3\text{OH}$	Fluka	95 %
$\text{KMnO}_4$	J. T. Baker	0,1 N
$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	Fluka	99 %
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Fluka	98 %
$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	Sigma Aldrich	98 %
$\text{NaOH}$	Sigma Aldrich	98 %
$\text{KNO}_3$	Fluka	99 %
Acido salicilico	Reagent Plus	99,9%
Anilina	Sigma Aldrich	99 %

Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Riedel-de Haen	98 %
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	Sigma Aldrich	99 %
Allumina	Bueheler	
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	Sigma Aldrich	98 %
Sodio dodecil Solfato	Sigma Aldrich	99 %
Sodio Azide	Sigma Aldrich	99,9 %
Acido Acetil Salicilico	Reagent Plus	99,9 %

## 4.2 Strumenti

- Bilancia analitica (HPS)
- pH-metro 338 AMEL Instruments
- Elettrodo a vetro combinato AMEL
- Diffratometro X'Pert Pro (Philips)
- Diffratometro D501 (Siemens)
- Spettrometro infrarosso Nicolet 5700 (Thermo Electron Corporation)
- Microscopio a scansione elettronica (SEM) EVO 50 Series Instrument (LEI ZEISS) equipaggiato con sistema di microanalisi INCAEnergy 350 EDS e INCASmartMap (Oxford Instrument Analytical) per visualizzare la distribuzione spaziale degli elementi sulla superficie del campione analizzato
- Microscopio a Forza atomica (AFM) Probe Microscope Vista 100 (Burleigh Instruments), equipaggiato con microscopio ottico Reichert-Jung MeF3A, munito di videocamera a colori JVC-TC-C1381
- Termostato HAAKE
- Sistema HPLC costituito da una pompa Merck Hitachi L-6200 A Intelligent Pump, da un loop (20 ÷ 1000 µL), una colonna C18 Phenomenex

Lichosphere 5 RP-18e (250 × 4.6 mm, I.D.) ed un detector spettrofluorimetrico (Waters 474 Scanning Fluorescence Detector)

- Spettrofluorimetro FLSP 90 (Edinburgh Instruments) equipaggiato con lampada allo Xe 450 W
- Spettrofotometro UV/Vis a doppio raggio Cary 1 E (Varian)

Per le misurazioni elettrochimiche sono stati utilizzati due potenziostati, uno è l'Electrochemical workstation 660 A (CHInstrument), e l'altro è l'Autolab PGSTAT20 (Metrohm). Entrambi gli strumenti sono controllati via personal computer dai software forniti dalle case produttrici. In tutti gli esperimenti elettrochimici è stata utilizzata una cella a 3 elettrodi equipaggiata con:

- Elettrodo di riferimento a Calomelano Saturo (tutti i potenziali riportati nella tesi sono riferiti a questo elettrodo)
- Un filo di platino utilizzato come contro elettrodo
- Un elettrodo di lavoro di Platino o di Glassy Carbon (GC) a seconda della tipologia di elettrodo modificato che è stato usato. Gli elettrodi di lavoro sono stati acquistati dalla Metrohm o fabbricati nel laboratorio in cui ho svolto il dottorato.

Entrambi i potenziostati sono equipaggiati con un modulo per la misurazione e compensazione della caduta ohmica, che è stato impiegato nelle condizioni in cui la resistenza della soluzione non poteva essere trascurata.

#### **4.2.1.1 Lampada e reattore**

Per la generazione del radicale OH attraverso la fotolisi dell'acqua ossigenata è stata utilizzata una lampada UV a mercurio a bassa pressione che, secondo le specifiche del produttore, non porta alla formazione di ozono (UV 18F, Italquarz). La potenza della lampada è di 17 W e l'emissione è concentrata intorno a 254 nm (Figura 8). La lampada è stata inserita in un apposito alloggiamento in quarzo, accoppiato a un reattore da 250 mL in vetro pyrex (Figura 9).

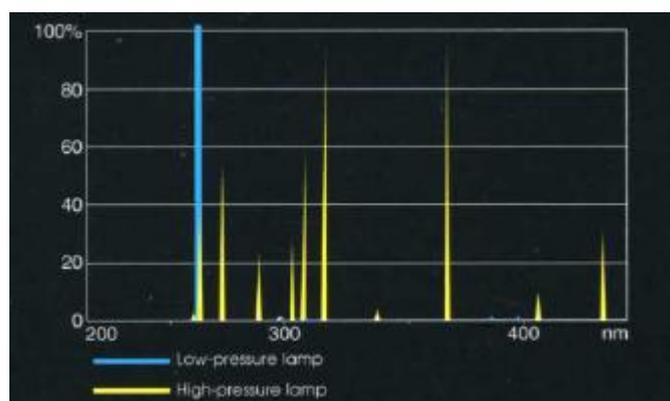


Figura 8 In azzurro , spettro di emissione della lampada UV 18F (Italquarz)

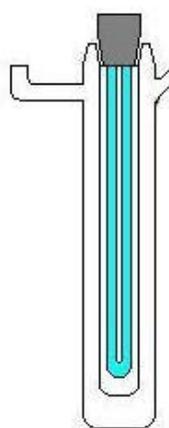


Figura 9 Geometria reattore in pirex

#### 4.2.1.2 Lampada Radium

Per valutare l'attività fotocatalitica di nano particelle a base di  $\text{TiO}_2$  è stata utilizzata una lampada Radium HRC 300-280 della Sanolux, con una Potenza di irraggiamento di 300 W e uno spettro di emissione che replica lo spettro solare.

### 4.3 Fabbricazione degli elettrodi di lavoro “home made”

Gli elettrodi di Pt e GC con geometria a disco e diametro pari a 3,0 mm, impiegati per la realizzazione degli elettrodi modificati, sono stati fabbricati per assemblaggio di diverse parti.

Una barra di Teflon cilindrica è stata tagliata per ricavarne supporti di altezza 1,5 cm. In ogni supporto si è incapsulato, a caldo, un cilindretto del materiale elettrodico desiderato (Pt o GC), lasciandone esposta una faccia, in modo da realizzare una geometria a disco.

All'interno del supporto è stata eseguita una filettatura per consentire l'avvitamento di una barra di rame (inserita a sua volta in un corpo di Teflon per rendere l'elettrodo più facilmente maneggiabile), la quale permette di realizzare il contatto elettrico fra il materiale elettrodico e il connettore del potenziostato.

Le parti costitutive di un macroelettrodo di GC sono mostrate in Figura 10.



Figura 10 Parti costitutive di un macroelettrodo "home made" di GC

## **4.4 Elettrodo di GC modificato con un film di polifenolo**

La modifica dell'elettrodo di GC con un film polifenolico è stata effettuata per costruire un film isolante sulla superficie elettrodica, in modo da impedire il trasferimento di carica delle più comuni specie elettroattive.

Prima di effettuare la modifica dell'elettrodo di GC la superficie elettrodica è stata livellata e pulita a specchio per abrasione su carta vetrata a granulometria decrescente (P2500, P4000) e successivo trattamento con sospensione acquosa di  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , depositata su

un panno per lucidatura. La pulizia svolge un ruolo di primaria importanza nella ripetibilità delle reazioni di elettropolimerizzazione, in quanto l'esposizione all'atmosfera porta a una lenta ossidazione dei gruppi funzionali superficiali, con conseguente variazione dell'attività elettrochimica del materiale elettrodico.<sup>1</sup> Il responso dell'elettrodo è stato valutato tramite voltammetria ciclica (CV) (cicli: 10; velocità di scansione:  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ;  $E_{\min} = -0,7 \text{ V}$ ;  $E_{\max} = + 0,1 \text{ V}$ ) in tampone acetato  $0,5 \text{ M}$  contenente  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  ad una concentrazione  $5 \text{ mM}$ , per verificare che la superficie elettrodica fosse perfettamente conduttiva e non vi fossero residui di film passivante. Nel caso in cui la corrente del sistema di picchi relativi alla sonda redox utilizzata fosse inferiore al segnale riscontrato normalmente per l'elettrodo pulito, esso era nuovamente sottoposto a pulizia meccanica.

Il film polifenolico è stato depositato per elettropolimerizzazione, applicando un potenziale di  $+ 1,0 \text{ V}$  per  $60 \text{ s}$  all'elettrodo di GC, immerso in  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $1 \text{ M}$  contenente fenolo  $0,05 \text{ M}$ . Il film così ottenuto è stato prima sottoposto a CV (cicli: 10; velocità di scansione:  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ;  $E_{\min} = - 0,2 \text{ V}$ ;  $E_{\max} = + 0,8 \text{ V}$ ) in tampone acetato  $0,5 \text{ M}$  pH  $4,6$ , poi è stato caratterizzato con la CV (cicli: 10; velocità di scansione:  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ;  $E_{\min} = -0,7 \text{ V}$ ;  $E_{\max} = + 0,1 \text{ V}$ ) in tampone acetato  $0,5 \text{ M}$  contenente  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$   $5 \text{ mM}$  per verificarne il comportamento isolante. Nel caso in cui si osservasse il sistema di picchi relativi alla coppia redox  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$  l'elettrodo veniva scartato e sottoposto nuovamente alla fase di pulizia meccanica.

L'elettrodo così preparato sarà in seguito chiamato GC-pfen.

#### **4.4.1 Elettrodo di GC modificato con film di polipirrolo o polipirrolo sovraossidato**

L'elettrodo di GC modificato con un film di polipirrolo (GC-ppy) è stato preparato attraverso elettropolimerizzazione ( $E = + 0,9 \text{ V}$ ;  $5 \text{ s}$ ) da una soluzione contenente  $\text{LiClO}_4$   $0,1 \text{ M}$  e pirrolo  $0,25 \text{ M}$ .

Per ottenere il film di polipirrolo sovra ossidato (GC-ppyO) si è applicato un potenziale di  $+ 1,2 \text{ V}$ , per  $800 \text{ s}$ , all'elettrodo GC-ppy immerso in una soluzione di  $\text{LiClO}_4$   $0,1 \text{ M}$ .

## 4.5 Rivelazione del radicale OH

### 4.5.1 Principio del metodo

La rivelazione del radicale OH avviene per via indiretta con una procedura analoga a quella già descritta in precedenti lavori di letteratura<sup>2,3</sup>: l'elettrodo modificato (GC-pfen; GC-ppyr; GC-ppyrO) è sottoposto all'attacco dell'analita, che deteriora il film modificante l'elettrodo. L'entità della degradazione ad opera del radicale OH del modificante elettrodico viene quantificata con opportune tecniche elettroanalitiche, ed è risultata proporzionale alla quantità di radicale che raggiunge l'elettrodo.

### 4.5.2 Generazione del radicale OH

Dato che non sono disponibili soluzioni stabili di radicali OH, questa specie è stata generata nella soluzione sottoposta ad analisi, con reazione di Fenton o con fotolisi dell'acqua ossigenata.

**Reazione di Fenton:** per rilevare i radicali OH prodotti dalla reazione di Fenton, l'elettrodo modificato è stato immerso in un volume noto di tampone acetato 0,5 M pH 4,6, contenente FeSO<sub>4</sub> 50 mM, a cui è stata aggiunta, sotto agitazione, una quantità di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tale da ottenere una concentrazione compresa tra 0,1 e 0,5 M. L'agitazione è stata bloccata dopo 10 s e l'elettrodo è stato tenuto a bagno nella soluzione in cui il radicale OH era stato generato, solitamente per 300 s, dopo di che esso veniva rimosso e accuratamente lavato.

**Fotolisi dell'acqua ossigenata:** la produzione di radicali OH aveva luogo irradiando, solitamente per 5 min, una soluzione di acqua ossigenata con concentrazione compresa tra 0,001 e 0,5 M. L'elettrodo era posto di fronte, e il più vicino possibile, alla lampada.

### 4.5.3 Valutazione della quantità di modificante elettrodico degradato dal radicale OH per l'elettrodo GC-pfen

Il film di polifenolo mostra un comportamento isolante che non permette il trasferimento di carica all'elettrodo di numerose specie redox ma, in seguito all'attacco del radicale OH, parte del modificante elettrodico viene rimossa e, quindi, il comportamento conduttivo risulta parzialmente ripristinato. L'entità della degradazione del film è stata valutata utilizzando la sonda redox  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  (5 mM in tampone acetato 0,5 M) tramite CV (cicli: 10; velocità di scansione:  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ;  $E_{\text{min}} = -0,7 \text{ V}$ ;  $E_{\text{max}} = + 0,1 \text{ V}$ ) e cronoamperometria (CA) (Potenziale iniziale:  $-0,1 \text{ V}$ ; Tempo di applicazione del potenziale iniziale: 30 s; Potenziale finale:  $-0,3 \text{ V}$ ; Tempo di applicazione del potenziale finale: 30 s; Intervallo di campionamento: 0.0005 s;).

La degradazione del film,  $D_{\text{CV}}$  (%), è stata stimata tramite voltammetria ciclica, utilizzando l'equazione:

$$D_{\text{CV}} (\%) = \frac{I_f}{I_{\text{GC}}} * 100$$

dove  $I_f$  e  $I_{\text{GC}}$  sono le correnti di picco anodico della coppia  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}/[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$  osservate, rispettivamente, per il film degradato e per l'elettrodo di GC nudo.

La valutazione per via cronoamperometrica dell'area scoperta dell'elettrodo è basata sul "pinhole model"<sup>4,5</sup>, che fu sviluppato per calcolare la corrente che fluisce a una superficie conduttiva ricoperta con un film isolante, in cui sono presenti dei fori uniformemente distribuiti. La corrente che fluisce a un tempo  $t$ ,  $i(t)$ , rapportata alla corrente,  $i_d(t)$ , che è stata registrata per l' elettrodo nudo, è data da:

$$\frac{i(t)}{i_d(t)} = \frac{1}{\sigma^2 - 1} \left\{ \sigma e^{-\tau} - 1 + \sigma^2 (\pi T)^{1/2} e^T [\text{erf}(\sigma T^{1/2}) - \text{erf}(T^{1/2})] \right\}$$

con

$$\sigma = \theta / (1 - \theta)$$

$$T = \tau / (\sigma^2 - 1)$$

$$\tau = l * t$$

dove  $\theta$  è la frazione della superficie elettrodica coperta dal film e  $l$  è funzione del coefficiente di diffusione  $D$ , della dimensione e della distribuzione dei fori, e di  $\theta$ . È importante osservare che per tempi corti dall'applicazione dell'impulso di potenziale, quando lo strato di diffusione è più piccolo delle dimensioni dei fori, il valore del rapporto tra le due correnti tende a  $1-\theta$ , dato che la reazione redox in cui è coinvolta la sonda avviene direttamente sulla superficie dell'elettrodo dentro i fori del film. Per tempi lunghi, quando lo spessore dello strato di diffusione è maggiore delle dimensioni dei fori, il rapporto è vicino a uno: gli strati di diffusione relativi ai singoli siti conduttivi si sovrappongono e si fondono e il comportamento dell'elettrodo si avvicina a quello dell'elettrodo nudo. È stato verificato per via sperimentale che per gli elettrodi modificati, che hanno subito l'attacco del radicale OH, la corrente segue l'andamento previsto dal "pinhole model". Il valore di area conduttiva,  $1-\theta$ , è il rapporto costante di corrente  $i(t)/i_d(t)$ , che si osserva nei primi 5 ms dopo l'applicazione del potenziale.

#### 4.5.4 Valutazione dell'attività di fotocatalizzatori a base di nano particelle di TiO<sub>2</sub>

La quantità di radicale OH prodotta da cinque differenti fotocatalizzatori a base di nano particelle di TiO<sub>2</sub> è stata determinata con l'elettrodo GC-pfen e, per confronto, con un metodo consolidato che usa l'acido salicilico (AS) come agente intrappolante il radicale OH. L'elettrodo GC-pfen è stato immerso per 30 min in una sospensione al 3 % (massa/massa) di nano particelle, che era irradiata con la lampada Radium. In seguito esso è stato tolto dalla sospensione ed accuratamente lavato, per essere poi immerso nella soluzione di  $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$  dove, per via cronoamperometrica, è stata valutata la quantità di polimero degradato.

La quantità di radicale OH generata dai fotocatalizzatori è stata anche valutata irradiando una sospensione 0,3 % (m/m) di nanoparticelle contenente AS  $4 \times 10^{-4}$  M. L'ossidazione dell'AS è stata seguita per via cromatografica iniettando in uno

strumento per HPLC, equipaggiato con rivelatore spettrofluorometrico, una piccola aliquota di sospensione dopo 5, 15, e 30 minuti di irraggiamento. Il campione è stato diluito 1:50 con tampone fosfato 0,1 M (pH 7) per indurre la coagulazione delle nano particelle; successivamente è stato filtrato con un filtro di nylon (dimensione dei pori: 0,45  $\mu\text{m}$ ) e iniettato, usando un loop da 200  $\mu\text{L}$ .

La quantità di  $\cdot\text{OH}$  prodotto è stata valutata con la seguente relazione, già descritta nel paragrafo 2.4:

$$[\text{prodotto caratteristico}] = [\text{OH}] \times \eta \times \frac{k_p [\text{sonda}]}{k_p [\text{sonda}] + k_m [\text{matrice}]}$$

Il prodotto della reazione tra radicale OH e AS, utilizzato per la determinazione, è l'acido 2,5-di-idrossibenzoico (A2,5DIB) perché presenta il maggiore fattore di risposta con il rivelatore utilizzato. I valori di  $\eta$ , da inserire nella relazione sopra, sono stati valutati (Tabella 3) per via sperimentale ai vari pH studiati e sono analoghi a quelli riscontrati in letteratura<sup>6</sup>. Infine il termine  $k_m[\text{matrice}]$  è trascurabile perché non sono presenti altri composti nella soluzione, oltre AS.

pH	Resa calcolata <sup>a</sup>	Salmon et al. <sup>6</sup>
3	0.04 ± 0.01	0.08
4	0.22 ± 0.03	0.26
5	0.33 ± 0.08	0.31
6	0.34 ± 0.03	0.34
7	0.28 ± 0.01	

<sup>a</sup>Valore medio ± Deviazione standard

**Tabella 3. Resa della reazione tra acido salicilico e radicale OH per produrre acido 2,5 di-idrossibenzoico a diversi valori di pH.**

Per determinare la quantità di OH prodotto, per unità di massa di fotocatalizzatore, è stato utilizzato il campionamento effettuato dopo 5 min dall'inizio dell'irraggiamento. Per tempi maggiori, infatti, si è determinata una concentrazione di acido 2,5-diidrossibenzoico paragonabile a quella dell'acido salicilico. Dato che l'A2,5DIB ha una costante cinetica per la reazione con il radicale OH analoga a quella dell'AS, il suo consumo in queste condizioni non è più trascurabile; quindi in queste condizioni la produzione di OH, valutata tramite la concentrazione di A2,5DIB, risulterebbe sottostimata.

## 4.6 Saggio elettrochimico per la determinazione dell'attività di “scavenger” del radicale OH

Per stimare l'attività di scavenger di composti considerati antiossidanti è stata valutata la loro capacità di proteggere il film di polifenolo dall'azione ossidante del radicale OH. La cinetica di degradazione del film polifenolico è stata studiata in presenza di concentrazioni crescenti del composto investigato quando il radicale OH era prodotto dalla fotolisi dell'acqua ossigenata ( $[H_2O_2]=10$  mM). Per visualizzare le cinetica, in modo analogo agli altri saggi utilizzati per la determinazione della capacità antiossidante e di “scavenger” di radicali, è stata riportata, in funzione del tempo, la frazione di superficie ancora coperta ( $Cop$ ), determinata con la formula:

$$Cop = 1 - \frac{I_f}{I_{GC}}$$

La metodologia di elaborazione del segnale che si è rivelata più opportuna per determinare la capacità di scavenger è quella che utilizza il tempo di induzione o Lag Phase, ovvero il lasso di tempo durante il quale il campione riesce a proteggere il film dall'attacco del radicale OH e, quindi, per il quale  $Cop$  assume un valore = 1. Questa fase perdura fino a quando l'antiossidante non è stato completamente consumato; una volta che ciò si verifica, il polifenolo comincia a subire l'attacco da parte del radicale OH e l'entità della degradazione cresce notevolmente.

Si è osservato che la durata della Lag phase è linearmente correlata alla concentrazione del composto scavenger e la pendenza della retta risultante ( $m_{\text{composto}}$ ) è un indice della capacità del composto di reagire con il radicale OH. In accordo con la letteratura recente<sup>7,8</sup> la capacità di scavenger è stata espressa in termini di trolox equivalenti (TEAC = trolox equivalent antioxidant capacity) calcolato con la seguente formula:

$$TEAC = \frac{m_{\text{composto}}}{m_{\text{Trolox}}}$$

dove  $m_{\text{trolox}}$  è la pendenza della retta ottenuta per il trolox, riportando Cop in funzione della sua concentrazione analogamente a quanto già descritto per gli altri scavenger.

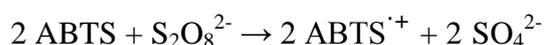
## 4.7 Saggi analitici per la determinazione del potere antiossidante

La capacità di scavenger determinata con il saggio elettrochimico proposto è stata confrontata e correlata con i valori di potere antiossidante, ottenuti impiegando metodiche analitiche ampiamente utilizzate, sia a livello di ricerca che di controllo qualità.

### 4.7.1 Saggio ABTS<sup>9</sup>

Il radicale ABTS<sup>•+</sup> è un radicale stabile in ambiente acquoso che presenta uno spettro UV/Vis con un massimo di assorbimento a 732 nm. Nella determinazione della capacità antiossidante con questa metodica si valuta per via spettrofotometrica ( $\lambda = 732$  nm) la quantità di ABTS<sup>•+</sup> che viene consumata dalla reazione con i componenti del campione che si sta analizzando.

La soluzione madre di radicale ABTS<sup>•+</sup> è stata preparata facendo reagire, al buio per 20 ore,  $2,5 \times 10^{-5}$  mol di ABTS con  $1,25 \times 10^{-5}$  mol di  $S_2O_8^{2-}$  in 50 mL di tampone acetato 50 mM, pH 4,5, secondo la reazione:



Questa soluzione è stata diluita 3:10 con tampone acetato per ottenere una soluzione di ABTS<sup>•+</sup>  $1,5 \times 10^{-4}$  M.

In una cuvetta, posta all'interno dello spettrofotometro UV/Vis, vengono mescolati 2 mL di ABTS<sup>•+</sup>  $1,5 \times 10^{-4}$  M, con 100  $\mu$ L di campione opportunamente diluito. L'assorbanza della soluzione così ottenuta si registra in modo continuo per 20 min.

Il parametro che è stato utilizzato per determinare la capacità antiossidante è il decremento di assorbanza  $D_A$  così definito:

$$D_A = 1 - \frac{A_{campione}}{A_{bianco}}$$

Dove  $A_{campione}$  e  $A_{bianco}$  rappresentano l'assorbanza registrata dopo 20 minuti per il campione e per il bianco. Si è osservato che  $D_A$  è linearmente proporzionale alla concentrazione; la pendenza della retta ottenuta è stata utilizzata, analogamente a quanto già descritto per il metodo elettrochimico messo a punto, per determinare la capacità antiossidante espressa come trolox equivalenti.

#### 4.7.2 Saggio DPPH<sup>10</sup>

Il radicale DPPH è un radicale stabile in soluzione metanolica, disponibile commercialmente in forma solida, con uno spettro UV/Vis che presenta un massimo di assorbimento a 516 nm. In questo saggio, la cinetica di consumo del radicale DPPH, dovuto alla sua reazione con i composti antiossidanti presenti nel campione, viene seguita per via spettrofotometrica ( $\lambda = 516$  nm).

Prima di iniziare la determinazione vera e propria, si costruisce una retta di calibrazione con soluzioni standard di DPPH, che permette di monitorare in maniera quantitativa la concentrazione residua della specie radicalica.

Per la determinazione della capacità antiossidante si sono posti in una cuvetta 3,0 mL di una soluzione metanolica di DPPH 65  $\mu$ M e 80  $\mu$ L di campione anch'esso in soluzione metanolica. L'assorbanza della soluzione è stata monitorata per 30 min. La capacità antiossidante è solitamente espressa come  $EC_{50}$ , che rappresenta la

concentrazione effettiva di antiossidante in grado di determinare un decremento dell'assorbanza originaria del 50 %, ad un tempo prefissato. Minore è il valore di EC<sub>50</sub>, maggiore è il potere antiossidante del campione esaminato. Tuttavia, per avere un confronto diretto con le altre metodiche utilizzate, il potere antiossidante, valutato con questo metodo, è stato espresso come trolox equivalenti, utilizzando le assorbanze registrate a 30 min.

#### **4.7.3 Saggio ORAC<sup>11</sup>**

Nel saggio ORAC si valuta la capacità del campione di proteggere un composto fluorescente, solitamente la fluoresceina, dall'attacco dei radicali perossialchilici, generati dalla decomposizione termica dell'AAPH a 37°C. La concentrazione di fluoresceina viene seguita tramite fluorimetria ( $\lambda_{\text{ecc}} = 517 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{\text{em}} = 517 \text{ nm}$ ).

In una cuvetta per spettrofluorimetria vengono aggiunti, nell'ordine indicato:

- 200  $\mu\text{L}$  di campione in tampone fosfato 75 mM, pH 7,4
- 1500  $\mu\text{L}$  di fluoresceina 96 nM nello stesso tampone o 75 mM pH 7,4
- 300  $\mu\text{L}$  di AAPH 133 mM nello stesso tampone

Al termine delle aggiunte, il segnale della fluoresceina è stato registrato per un tempo di 45 min. In Figura 11 è riportato un esempio delle cinetiche osservate per soluzioni a i concentrazioni di trolox crescenti

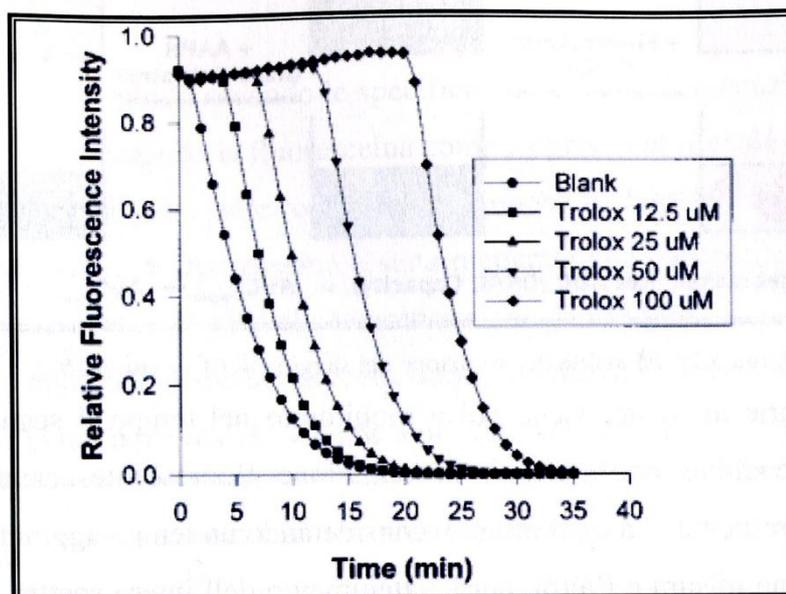


Figura 11. Saggio ORAC a diverse concentrazioni di Trolox, tratto dal lavoro originale di Ou et al.<sup>11</sup>

Il segnale che è stato utilizzato per valutare il potere antiossidante è l'area sottesa dalla curva (AUC), calcolata con la seguente formula:

$$AUC = 1 + \frac{f_1}{f_0} + \frac{f_2}{f_0} + \frac{f_3}{f_0} + \dots + \frac{f_n}{f_0}$$

dove  $f_0, f_1, f_2, f_3$  e  $f_n$  sono i valori di fluorescenza ottenuti rispettivamente all'inizio dell'esperimento, alla prima, seconda, terza ed'ennesima misurazione.

Anche in questo caso l'AUC è linearmente proporzionale alla concentrazione di composto antiossidante; dalla pendenza della retta ottenuta, in modo analogo a quanto già descritto, è possibile calcolare l'indice TEAC.

#### 4.7.4 Determinazione della capacità antiossidante di un campione reale.

##### 4.7.4.1 Descrizione del campione reale

Una volta testata la capacità antiossidante di singoli composti puri, il metodo proposto, che sfrutta l'elettrodo GC-pfen, è stato impiegato per l'analisi di un campione reale, costituito da un succo di frutta a base di purea di mirtillo, uva rossa e mela, prodotto

dalla ditta Yoga®, sotto il nome di “Antiossidante Quotidiano Viola”, nello stabilimento di Barbiano di Cotignola (Ra).

Il campione reale è stato analizzato anche coi metodi analitici standardizzati, al fine di confrontare i parametri TEAC risultanti.

L’etichetta presente nel contenitore di succo, riporta le caratteristiche composizionali elencate in tabella 4; il valore del pH, non disponibile, è stato misurato, eseguendo 3 ripetizioni, ed è stato espresso come media  $\pm$  deviazione standard.

**Tabella 4. 1.Parametri del campione reale analizzato.**

Parametro	Valore
<b>pH</b>	<b>3.21 <math>\pm</math> 0,01</b>
<b>Contenuto di Vitamina C</b>	<b>400[mg / l]</b>
<b>Contenuto di Vitamina E</b>	<b>30[mg / l]</b>
<b>Polifenoli Totali</b>	<b>800[mg / l]</b>

#### ***4.7.4.2 Descrizione del trattamento del campione.***

Poiché il campione di succo di frutta si presentava sotto forma di sospensione, esso è stato filtrato sotto vuoto, mediante tubo di Venturi, attraverso filtro di nylon con pori aventi diametro medio di 0,45  $\mu\text{m}$ , in modo tale da ottenere una soluzione trasparente.

La fase di filtrazione è molto delicata perché la presenza di particelle in sospensione può inficiare il dato analitico finale, soprattutto per le misure spettrofotometriche e spettrofluorimetriche, a causa di fenomeni di scattering della radiazione incidente.

Al termine della filtrazione, il campione di succo di frutta è stato subito conservato in frigo sotto atmosfera di azoto, al fine di evitare contaminazioni e preservare i composti antiossidanti presenti.

#### ***4.7.4.3 Descrizione del tipo di prove effettuate.***

Tutte le metodiche sopracitate (metodo proposto, metodi ABTS, DPPH, ORAC), sono state applicate per la determinazione della capacità antiossidante, espresso sempre in termini di Trolox® equivalenti, per il campione reale.

In base ai diversi metodi impiegati sono stati eseguiti opportuni rapporti di diluizione del campione in acqua distillata.

## **4.8 Fabbricazione di elettrodi di Pt modificati a base di LDH**

Gli elettrodi di Pt modificati sono stati fabbricati tramite elettrodeposizione del LDH. Prima della fase di elettrosintesi l'elettrodo di Pt è stato trattato con diverse procedure per variarne l'attività catalitica.

### ***4.8.1.1 Trattamento preliminare della superficie elettrodica di Pt***

I principali pretrattamenti per modificare l'attività di elettrodi di Pt sono stati:

- Trattamento meccanico: la superficie elettrodica è stata livellata e pulita a specchio per abrasione su carta vetrata a granulometria decrescente (P1000, P2500, P4000). L'elettrodo sottoposto solo a tale trattamento sarà chiamato Pt-MT.
- Trattamento per voltammetria ciclica: l'elettrodo Pt-MT è stato sottoposto a CV in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 M (cicli: 250; velocità di scansione:  $1 \text{ V s}^{-1}$ ;  $E_{\min} = -0,25 \text{ V}$ ;  $E_{\max} = +1,35 \text{ V}$ ). Tale elettrodo sarà chiamato Pt-CVT.
- Trattamento catodico: all'elettrodo Pt-CVT immerso in una soluzione di  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 M, sottoposta ad agitazione, è stato applicato un potenziale di -0,9 V per 300 s. In seguito esso è stato sottoposto a voltammetria ciclica (cicli: 3; velocità di scansione:  $1 \text{ V s}^{-1}$ ;  $E_{\min} = -0,25 \text{ V}$ ;  $E_{\max} = +1,35 \text{ V}$ ) in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1

M. L'elettrodo sottoposto a tale procedura di attivazione sarà chiamato Pt-CT.

#### **4.8.1.2 Elettrodeposizione di LDH**

L'elettrodeposizione è stata condotta applicando un potenziale catodico, generalmente di -0,9 V, per 60 s, all'elettrodo di Pt immerso in una soluzione contenente  $M(II)(NO_3)_2$  22,5 mM,  $Al(NO_3)_3$  7,5 mM e  $KNO_3$  0,3 M, considerando come cationi bivalenti  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  e  $Zn^{2+}$ .

Al potenziale applicato le reazioni di riduzione, che coinvolgono l'acqua e gli ioni nitrato, portano ad un aumento del pH in prossimità dell'elettrodo, che provoca la precipitazione dell'idrossido misto a strati.

Le principali reazioni che hanno luogo all'elettrodo sono:

- $H_2O + 2e^- \rightarrow H_2 + 2 OH^-$
- $NO_3^- + 7 H_2O + 8e^- \rightarrow NH_4^+ + 10 OH^-$
- $NO_3^- + H_2O + 2e^- \rightarrow NO_2^- + 2 OH^-$

Analizzando i diagrammi di Pourbaix dell'azoto (Figura 12), si osserva che le reazioni di riduzione del nitrato sono termodinamicamente favorite ai potenziali utilizzati, tuttavia la cinetica di reazione è lenta e influenzata dall'attività dell'elettrodo<sup>12</sup>.

Gli elettrodi così modificati vengono denominati indicando il tipo di elettrodo di Pt utilizzato, seguito da LDH Me(II)/Al. Ad esempio un elettrodo di platino sottoposto al trattamento catodico, modificato con un LDH a base di cobalto e alluminio, sarà indicato con Pt-CT LDH Co/Al.

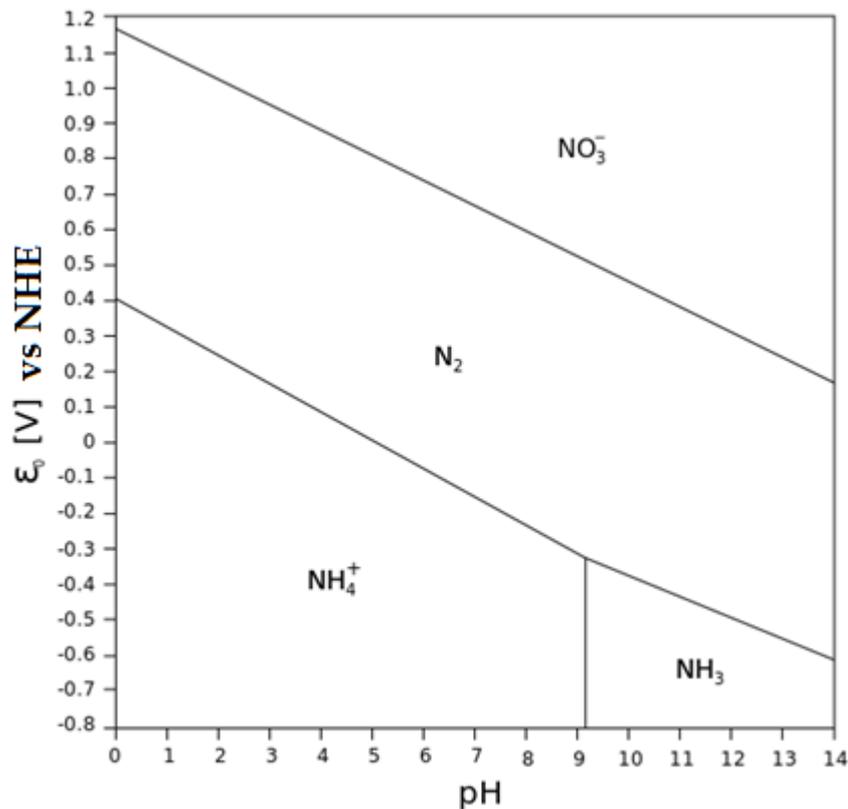


Figura 12. Diagramma di Pourbaix dell'azoto

## 4.9 Caratterizzazione dei film di LDH con diffrazione a raggi X per polveri

Le condizioni sperimentali per registrare il diffrattogramma PXRD sono state ottimizzate considerando la ridotta quantità di materiale prodotta per ogni elettrosintesi (tra 20 e 120  $\mu\text{g}$ ). Per evitare la perdita di campione durante la fase di asporto del materiale dall'elettrodo, i diffrattogrammi PXRD sono stati raccolti direttamente su una lamina di Pt, su cui sono state effettuate 10 elettrosintesi consecutive. In questo caso la superficie elettrodica dovrebbe essere assolutamente piana, e quindi sottoposta a una perfetta lappatura meccanica. Lo strumento utilizzato è dotato di un porta campioni che ruota durante l'analisi XRD.

Il diffrattometro era impostato per scansare un range di angoli  $2\theta$  tra 6 e 70°, utilizzando un intervallo di campionamento di 0,017° della durata di 200 s.

L'analisi degli spettri XRD è stata condotta utilizzando il software X'Pert High Score Plus.

## **4.10 Caratterizzazione dei film di LDH con spettrometria infrarossa**

Gli spettri IR dei film di LDH sono stati registrati utilizzando la tecnica delle pasticche in KBr.

Circa 2 mg di LDH, adeguatamente raccolti dalla superficie dell'elettrodo, sono stati miscelati con circa 198 mg di KBr. La miscela così ottenuta è stata finemente macinata e utilizzata per preparare un pasticca, su cui è stato successivamente registrato lo spettro IR.

## **4.11 Determinazioni amperometriche con elettrodi modificati con LDH a base di Co/Al**

Dopo la preparazione descritta nel paragrafo 4.8, l'elettrodo modificato è stato sottoposto a voltammetria ciclica in NaOH 0,1 M (intervallo di potenziale: 0 ÷ 0,600 V; velocità di scansione: 0,050 V s<sup>-1</sup>; potenziale iniziale: 0 V; numero cicli: 5 V). Nel primo ciclo si osservava un picco di ossidazione irreversibile che portava alla formazione di una fase  $\gamma$ -Co<sub>1-x</sub>Al<sub>x</sub>OOH<sup>13</sup>.

Le prestazioni analitiche degli elettrodi modificati con LDH a base di Co/Al sono state valutate in NaOH 0,1 M. Gli analiti presi in considerazione erano composti aromatici (AS, anilina, fenolo), che possono essere utilizzati come molecola sonda nella rivelazione del radicale OH. Le determinazioni sono state effettuate per via amperometrica con elettrodo rotante ( $\omega = 600$  rpm), oppure in una soluzione sottoposta ad agitazione magnetica.

Le soluzioni madre degli analiti, che sono state preparate per costruire le curve di risposta degli elettrodi modificati, contenevano anche l'elettrolita di supporto alla stessa concentrazione usata per la determinazione quantitativa in un campione incognito.

All'elettrodo, immerso in un volume noto di NaOH 0,1 M, è stato applicato un potenziale anodico adatto a far decorrere l'ossidazione dell'analita esaminato, registrando la corrente in condizioni idrodinamiche. Ogni 100 s circa è stato aggiunto un volume noto di soluzione di analita, in modo da avere concentrazioni crescenti, nella cella elettrochimica. Il responso ottenuto è a gradini e ogni gradino corrisponde a una diversa concentrazione. Ponendo in grafico la corrente osservata in funzione della concentrazione, si ottiene la curva di risposta dell'elettrodo modificato.

## **4.12 Determinazione del contenuto di AS all'interno di un campione di aspirina commerciale**

La quantità di AS contenuta all'interno di una pasticca di aspirina Bayer® è stata determinata per via amperometrica utilizzando l'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al e, per confronto, anche tramite HPLC con rivelazione spettrofluorometrica.

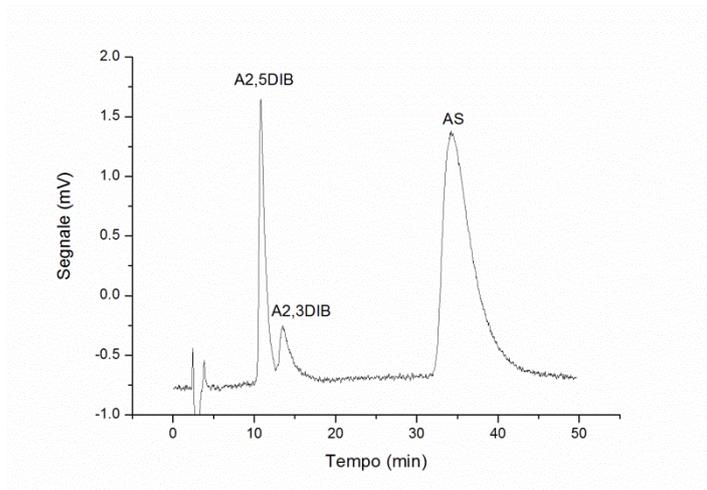
Le pastiche sono state macinate con un mortaio di agata fino ad ottenere una polvere sottile. A 150 mg di polvere sono stati aggiunti 40,0 mL di acqua bidistillata e la sospensione è stata agitata con agitatore magnetico per 15 min. I solidi non disciolti sono stati filtrati ed il filtrato è stato portato a volume in matraccio tarato da 50 mL (soluzione A).

1 mL di questa soluzione è stata aggiunto a 20 mL di tampone borato (pH 10) 0,1 M, registrando poi la corrente che fluiva all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al, al quale era applicato un potenziale di + 0,5 V. Utilizzando la curva di risposta dell'elettrodo, determinata in precedenza, è stata calcolata la quantità di AS contenuta nella pasticca.

La soluzione A è stata anche diluita 1:500 in tampone fosfato 0,1 M (pH 2) e la soluzione ottenuta è stata analizzata tramite HPLC.

## 4.13 Determinazione HPLC di acido salicilico, acido 2,5 diidrossibenzoico e acido 2,3 diidrossibenzoico

La determinazione HPLC è stata condotta a temperatura ambiente utilizzando uno strumento equipaggiato con un rivelatore spettrofluorimetrico ed una colonna C18. La fase mobile era costituita da tampone fosfato 10 mM, pH 6, contenente 0,02 % (m/V) sodio azide, che operava ad un flusso di 1,0 mL min<sup>-1</sup>. Il campione veniva iniettato usando un loop di volume compreso tra 20 e 200 µL. Il tipico cromatogramma (Figura 13) mostrava una buona separazione tra i composti di interesse, e cioè l'acido salicilico (AS), l'acido 2,5 diidrossibenzoico (A2,5DIB) e l'acido 2,3 diidrossibenzoico (A2,3DIB).



**Figura 13** Tipico cromatogramma ottenuto da una soluzione contenente A2,5 DIB (0,025 µM), acido A2,3 DIB (0,25 µM) e AS (0,91µM).

## 4.14 Bibliografia

- 
- <sup>1</sup> C. G. Zoski, Handbook of electrochemistry, 2007, Elsevier, Amsterdam
- <sup>2</sup> F. Scholtz, G. Lopez de Lara González, L. Machado de Carvalho, M. Hingelmann, K.Z. Brainina, H. Kahrlet, R. Smail Jack, D. Troug Minh, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 8079.
- <sup>3</sup> L.Wu, Y. Yang, H. Zhang, G. Zhu, X. Zhang, J. Chen, *Anal. Chim. Acta*, 2012, 756, 1
- <sup>4</sup> A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical methods, Fundamentals and Applications*, second edition, 2000, Wiley, New York.
- <sup>5</sup> T. Gueshi, K. Tokuda, M. Matsuda, *J. Electroanal. Chem.* 1978, 89, 247
- <sup>6</sup> R. A. Salmon, C. L. Schiller, G. W. Harris, *J. Atmos. Chem.* 2004, 48, 81
- <sup>7</sup> M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, K. Robards, *The Analyst*, 2002, 127, 183.
- <sup>8</sup> A. Ghiselli, M. Serrafini, F. Natella, C. Scaccini, *Free Rad. Biol. Med.* 1993, 14, 303
- <sup>9</sup> M. Ozgen, R. N. Reese, A. Z. Tulio, J. Scheener, A. R. Miller, *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 1151
- <sup>10</sup> W. Brand-Williams, M. E. Culliver, C. Berset, *Lebensm. Wiss. Technol.* 1995, 28, 25
- <sup>11</sup> B. Ou, M. Hampsch-Wood, J. Flanagan, E. K. Deemer, R. L. Prior, D. Huang, *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 2772
- <sup>12</sup> G. E. Dima, G. L. Beltramo, M. T. M. Koper, *Electrochim. Acta* 2005, 50, 4318

<sup>13</sup> E.Scavetta, B. Ballarin, C. Corticelli, I. Gualandi, D. Tonelli, V. Prevot, C. Forano, C. Mousty, J. Power Sources, 2012, 201, 360

# **SCELTA DEL MODIFICANTE ELETTRODICO PER LO SVILUPPO DI UN SENSORE PER LA RIVELAZIONE DEL RADICALE OH**

L'approccio scelto per sviluppare un elettrodo modificato per la rivelazione del radicale OH, sfrutta la degradazione indotta dal radicale stesso su un modificante elettrodico. L'elettrodo viene immerso in una soluzione in cui viene prodotto l'analita, e, una volta sottoposto all'azione ossidante del radicale OH per un tempo prefissato, viene estratto e accuratamente lavato; dopo di che, l'entità della degradazione è valutata con un'opportuna tecnica elettroanalitica.

I modificanti elettrodici che sono stati utilizzati in letteratura per questo scopo sono filamenti di DNA e alcantioli. Nel primo caso<sup>1</sup> si è valutata attraverso voltammetria a onda quadra l'ossidazione irreversibile della guanina presente nel filamento di DNA; se l'elettrodo è sottoposto all'azione del radicale OH, parte della guanina viene ossidata e la corrente di picco anodico registrata risulta minore. L'entità della diminuzione di questa corrente è linearmente proporzionale alla quantità di radicale OH che è stata prodotta in soluzione.

Nel secondo caso riportato in letteratura<sup>2</sup>, gli alcantioli formano un monostrato auto assemblante sulla superficie di un elettrodo d'oro che rende il suo comportamento isolante; l'attacco del radicale OH rimuove il modificante elettrodico, ripristinando parzialmente il comportamento conduttivo, che viene valutato in voltammetria ciclica impiegando la sonda redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ . Il valore di corrente di picco anodico osservato per la coppia redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{4+}$  è proporzionale alla quantità di radicale OH in soluzione.

Per sviluppare una nuova tipologia di elettrodo modificato per la rivelazione del radicale OH abbiamo deciso di provare tre diversi modificanti elettrodici a base di polimeri con unità monometriche aromatiche, considerando che numerosi composti aromatici sono impiegati come molecole sonda per la rivelazione del radicale OH. I polimeri esaminati sono stati:

- **Polifenolo.** Questo polimero è ottenuto dall'elettropolimerizzazione del fenolo, la cui ossidazione in fase acquosa porta alla formazione sulla superficie dell'elettrodo di una pellicola altamente isolante che impedisce il trasferimento di carica a numerose specie redox. Questo modificante elettrodico è stato scelto perché una buona parte delle molecole sonda utilizzate per la determinazione del radicale OH presenta funzionalità fenoliche, che rendono l'anello aromatico facilmente attaccabile dal radicale OH.
- **Polipirrolo.** Il polipirrolo è stato scelto perché è un polimero conduttore ampiamente utilizzato per scopi analitici, può essere ossidato dal radicale OH<sup>3</sup> e l'entità della degradazione è facilmente determinabile con le più comuni tecniche elettroanalitiche.
- **Polipirrolo sovraossidato.** In alcune applicazioni analitiche il polipirrolo è utilizzato dopo sovra ossidazione, poiché mostra una maggiore stabilità operativa. Per tale ragione abbiamo deciso di studiare anche questo modificante elettrodico.

Le prestazioni degli elettrodi modificati nella determinazione indiretta del radicale OH sono state valutate con la costruzione delle loro curve di risposta, utilizzando come metodo di generazione del radicale OH la reazione di Fenton in tampone acetato 50 mM, pH 4,6: la concentrazione di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> è stata variata, mentre la concentrazione del Fe<sup>2+</sup> è stata mantenuta costante (50 mM). L'elettrodo è stato sottoposto all'azione ossidante dell'analita per 300 s, dopo di che è stato accuratamente lavato ed è stata valutata l'entità della degradazione. Inoltre sono state effettuate prove di bianco per verificare l'eventuale attacco del film da parte dell'acqua ossigenata, del Fe<sup>2+</sup> e del Fe<sup>3+</sup>.

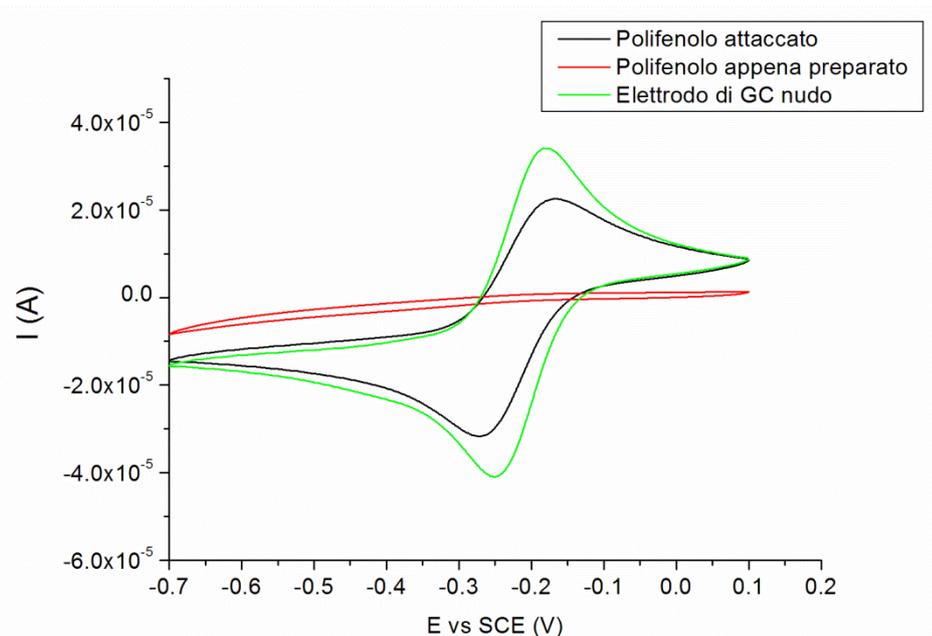


Figura 14. Voltammogrammi (velocità di scansione:  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ) registrati in tampone acetato  $0,5 \text{ M}$ , pH  $4,6$  contenente  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , per l'elettrodo nudo, il GC-pfen appena preparato e dopo attacco per  $5 \text{ min}$  dei radicali  $\text{OH}$  generati dalla reazione di Fenton  $\{[\text{Fe}^{2+}] = 0,5 \text{ M}; [\text{H}_2\text{O}_2] = 0,5 \text{ M}\}$

## 5.1 Elettrodo modificato con polifenolo

Il polifenolo è caratterizzato da un elevato peso molecolare, bassa permeabilità, forte adesione sulla superficie del GC<sup>4,5</sup> e un comportamento isolante che blocca il trasferimento di carica delle più comuni sonde redox. Possiamo osservare questo comportamento in voltammetria ciclica per la sonda redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ : dopo la modifica dell'elettrodo non si osserva il sistema di picchi relativi alla coppia  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$  che, invece, erano ben evidenti sull'elettrodo di GC nudo (Figura 14).

Dopo aver mantenuto per 300 s l'elettrodo in una soluzione dove ha avuto luogo la reazione di Fenton, il trasferimento di carica della coppia  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$  all'elettrodo è stato nuovamente valutato tramite voltammetria ciclica: i picchi della coppia  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}/\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$  sono quasi completamente ripristinati e l'entità della degradazione può essere calcolata con le modalità descritte nel paragrafo 4.5.3.

Gli esperimenti di controllo hanno mostrato che l' $\text{H}_2\text{O}_2$ , il  $\text{Fe}^{2+}$  e il  $\text{Fe}^{3+}$  non degradano il film e, conseguentemente, il segnale osservato è dovuto all'attacco del radicale OH.

La curva di risposta dell'elettrodo è mostrata in Figura 15 ed è lineare in tutto l'intervallo di concentrazione di  $\text{H}_2\text{O}_2$  esaminato. Si può concludere che questo tipo di modificante elettrodico è un ottimo candidato per la determinazione indiretta del radicale OH con l'approccio proposto.

## 5.2 Elettrodo modificato con polipirrolo (GC-ppyr)

L'elettrodo modificato a base di polipirrolo è stato caratterizzato in  $\text{LiClO}_4$  0,1 M contenente  $\text{HClO}_4$  0,01 M; un tipico voltammogramma (Numero cicli: 10; velocità di

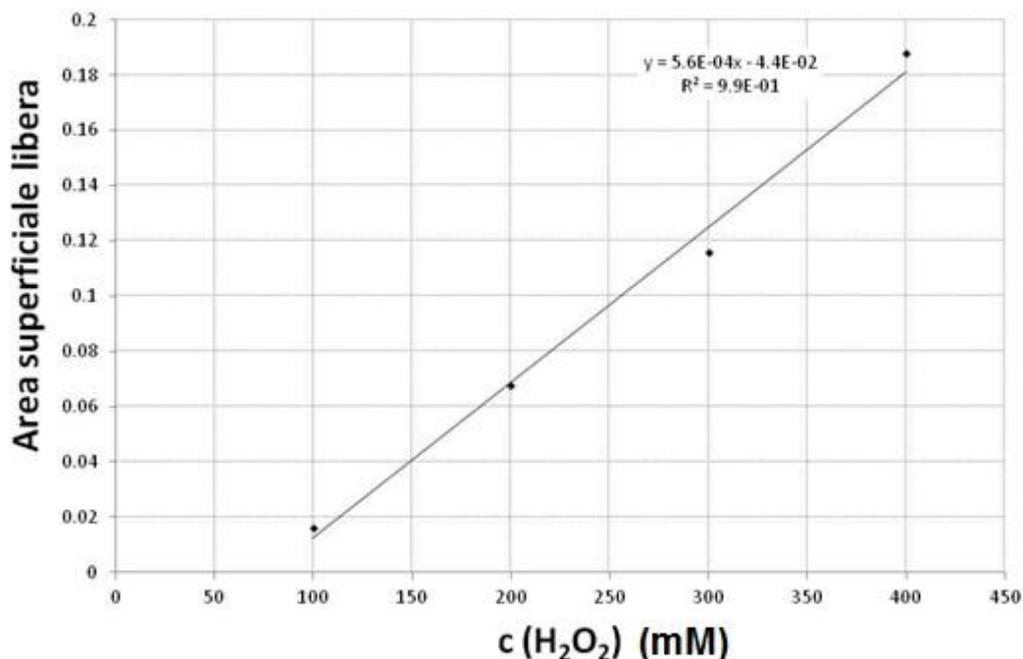


Figura 15. Curva di risposta dell'elettrodo GC-pfen. L'area superficiale scoperta è stata valutata tramite cronamperometria.

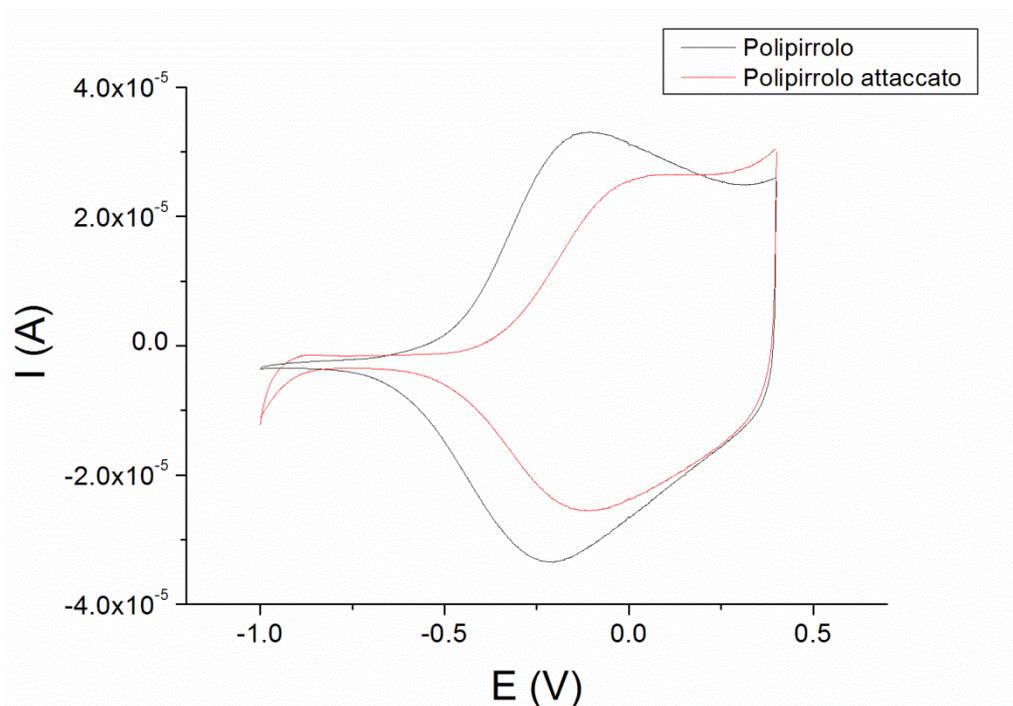
scansione:  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ) è riportato in Figura 16 e mostra un processo redox reversibile, centrato a  $-0,25 \text{ V}$ , associato alla formazione di polaroni e bipolaroni nel polimero conduttore, che sono le specie responsabili del trasporto di carica.

È noto che l'ossidazione del polipirrolo, con la formazioni di funzionalità ossidate sulla catena polimerica, ha un effetto di dedopaggio sul polimero e ne diminuisce conduttività e quindi la carica associata alla formazione di polaroni e bipolaroni. La quantità di radicale OH che attacca il polipirrolo è stata stimata attraverso il decremento della carica di caratterizzazione ( $D_{carica}$ ) del polimero, associata alla formazione di queste specie. Il parametro sperimentale utilizzato per la costruzione della curva di risposta dell'elettrodo è:

$$D_{carica} = \frac{C_{iniziale} - C_{finale}}{C_{iniziale}}$$

dove  $C_{iniziale}$  e  $C_{finale}$  sono rispettivamente le cariche associate al processo redox di ossidazione del polimero, rispettivamente prima e dopo l'attacco del radicale OH.

Poiché lo spessore del film è piuttosto elevato rispetto alla distanza media di diffusione del radicale OH ( $\sim 5 \text{ nm}$ ) è molto probabile che l'ossidazione del polipirrolo sia limitata agli strati più vicini all'interfaccia con la soluzione.



**Figura 16.** Voltammogramma di caratterizzazione, registrato in  $\text{LiClO}_4$  0,1 M contenente  $\text{HClO}_4$  0,01 M per l'elettrodo GC-ppy appena preparato e dopo attacco per 5 min dei radicali OH generati dalla reazione di Fenton {  $[\text{Fe}^{2+}] = 0,05 \text{ M}$ ;  $[\text{H}_2\text{O}_2] = 0,1 \text{ M}$  }.

Le prove di bianco hanno mostrato che il  $\text{Fe}^{3+}$  e il  $\text{Fe}^{2+}$  non portavano a una diminuzione della carica di caratterizzazione, mentre l'esposizione all'acqua ossigenata conduceva ad una diminuzione che era pari a circa il 4 %, per un tempo di esposizione di 30 min. È importante osservare come le prove di bianco e le successive prove di caratterizzazione debbano essere condotte rigorosamente al buio perché, come riportato da Debiemme-Chouvy e Tran<sup>6</sup>, perché anche la sola fotolisi dell'acqua ossigenata in condizioni di illuminazione naturale, cioè senza l'ausilio della lampada a raggi ultravioletti, può generare una quantità di radicale OH sufficiente alla sua ossidazione. Infatti una prova effettuata in presenza di luce naturale o artificiale presentava una diminuzione del 12 % della carica associata ai processi redox del polimero.

In Figura 16 è riportato anche il voltammogramma di caratterizzazione del film polimerico in seguito all'esposizione del radicale OH, generato dalla reazione di Fenton. Come si può osservare, la carica di caratterizzazione del polimero diminuisce mentre, il potenziale di picco si sposta a valori più anodici.

La curva di risposta dell'elettrodo (Figura 17) è stata studiata per concentrazioni di acqua ossigenata comprese tra 10 e 300 mM e mostra un comportamento lineare

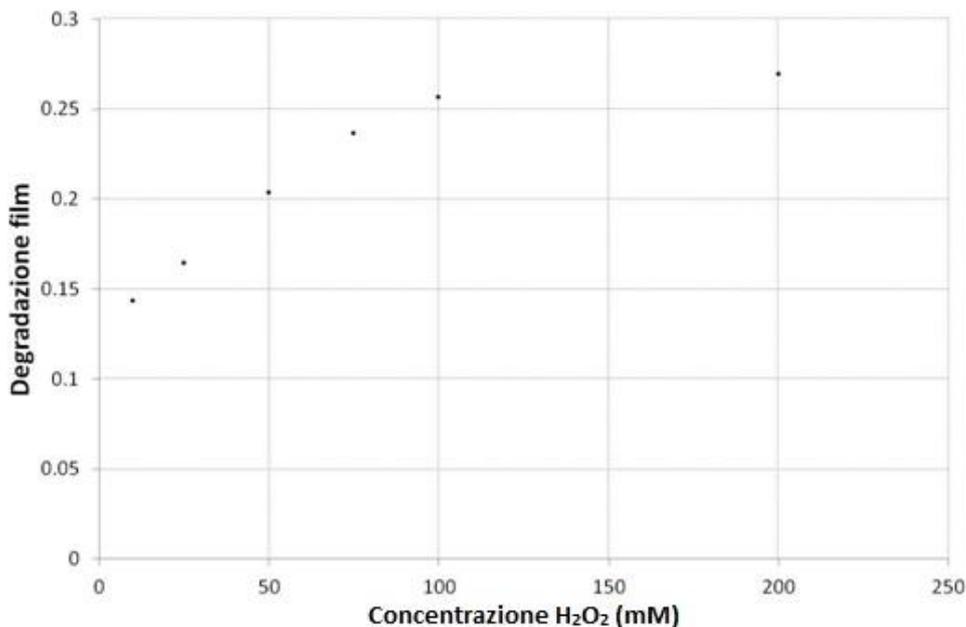


Figura 17. Curva di risposta ottenuta per il GC-ppyr sottoposto per 5 min ai radicali OH generati dalla reazione di Fenton {  $[Fe^{2+}] = 0,5 M$ ;  $[H_2O_2] = 0,01; 0,02; 0,05; 0,75; 0,1; 0,2; 0,3 M$  }

nell'intervallo 10 ÷ 100 mM. Per concentrazioni superiori a 100 mM, il valore di  $D_{carica}$  si stabilizza. Probabilmente gli strati più esterni del film di polipirrolo, già parzialmente ossidati, presentano ancora una certa reattività nei confronti dei radicali OH che impedisce loro di raggiungere gli strati più interni.

### 5.3 Elettrodo modificato con polipirrolo sovraossidato

Il GC-ppyrO, ottenuto dalla sovraossidazione dell'elettrodo GC-ppyr, mostrava un comportamento perfettamente isolante: il sistema di picchi associati all'ossidazione del polimero era completamente scomparso nel voltammogramma registrato in  $LiClO_4$  0,1 M contenente  $HClO_4$  0,01 M. Allo stesso tempo, la caratterizzazione tramite voltammetria ciclica in presenza di  $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ , non evidenziava i picchi relativi alla sonda redox (5 mM in tampone acetato 50 mM pH 4,6).

La frazione di polimero degradata è stata calcolata con le modalità descritte nei paragrafi 4.5.3. Il segnale registrato in CV è analogo a quello descritto per il polifenolo e cioè l'attacco del radicale OH ripristina in parte il segnale della coppia redox

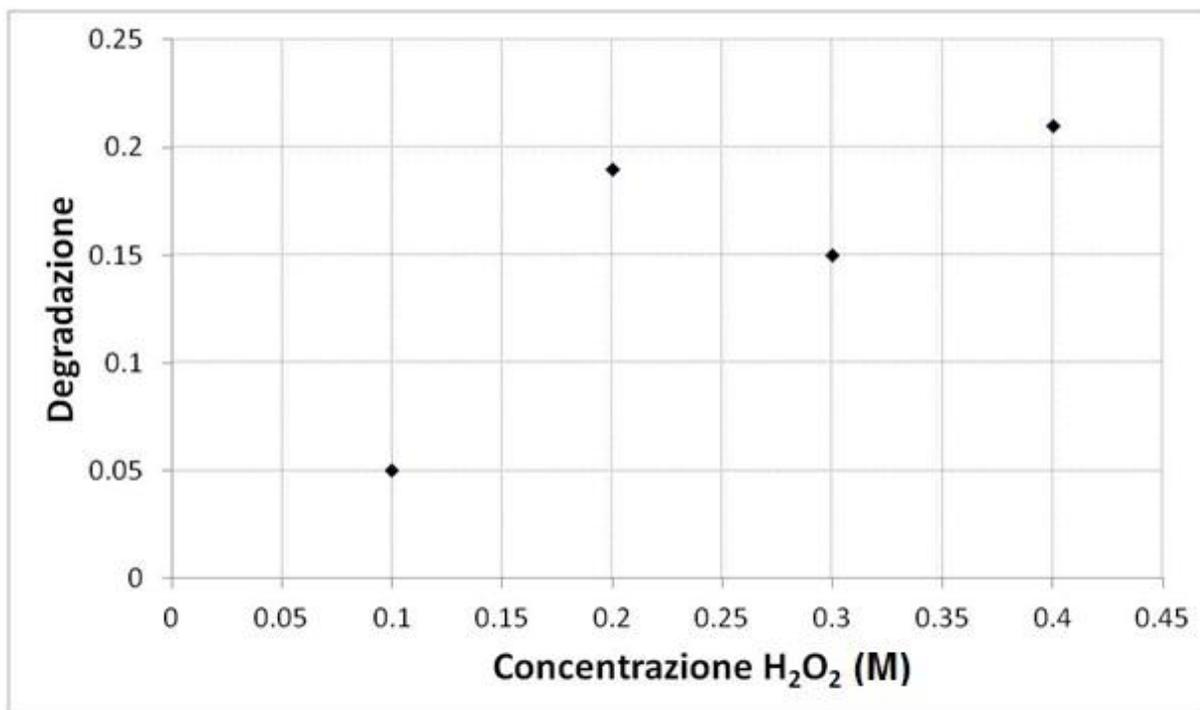


Figura 18. Risposta dell'elettrodo di GC-ppyroO sottoposto per 5 min all'attacco dei radicali OH generati dalla reazione di Fenton {[Fe<sup>2+</sup>] = 0,5 M; [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 M}

[Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>. Le prove di bianco hanno mostrato anche in questo caso che l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, il Fe<sup>2+</sup> e il Fe<sup>3+</sup> non degradano il film.

In Figura 18 è riportata la frazione di area scoperta rilevata tramite voltammetria ciclica in funzione della concentrazione di acqua ossigenata. Si può osservare come il segnale analitico sia difficilmente utilizzabile per la costruzione di una curva di risposta, probabilmente a causa della scarsa ripetibilità della procedura di fabbricazione dell'elettrodo modificato, che ricordiamo essere un dispositivo monouso.

Benché il polipirrolo sovraossidato non presenti buone prestazioni per il tipo di approccio analitico scelto, ulteriori prove sperimentali hanno mostrato che esso blocca completamente il trasferimento di carica dell'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, del Fe<sup>2+</sup> e del Fe<sup>3+</sup>. Al contrario man mano che decorre la reazione di Fenton producendo radicali OH e suo perossido si nota un processo dovuto a un efficiente trasferimento di carica che dovrebbe coinvolgere uno o entrambi i radicali prodotti dalla reazione di Fenton. Di conseguenza elettrodi modificati con il polipirrolo sovraossidato potrebbero risultare interessanti per lo sviluppo di sensori amperometrici o potenziometrici per la sua determinazione diretta di tali specie.

## 5.4 Confronto tra i modificanti elettrodiici proposti

Le prestazioni dei vari elettrodi per la rivelazione indiretta del radicale OH sono state confrontate sulla base della curva di risposta e del segnale di bianco, nelle condizioni impiegate per generare il radicale.

Nelle prove di bianco, i modificanti elettrodiici che hanno mostrato segnale nullo nelle condizioni operative utilizzate, sono il polifenolo e il polipirrolo sovraossidato, mentre per il polipirrolo conduttore si osservava una degradazione dovuta all'azione dell'acqua ossigenata.

Dalla costruzione della curva di risposta dei vari elettrodi modificati si è osservato che le migliori prestazioni, in termini di riproducibilità, sono date dal polifenolo e dal polipirrolo. Benché la determinazione con GC-pfen e GC-ppyrO segua lo stesso approccio operativo nella determinazione indiretta del radicale OH, l'elettrodo modificato con polipirrolo sovraossidato non presentava una riproducibilità del segnale analitico adeguata allo sviluppo di una procedura di analisi con l'approccio proposto. Essendo i dispositivi impiegati monouso, la riproducibilità del segnale è legata alla riproducibilità dell'elettropolimerizzazione del polipirrolo, che costituisce lo scheletro del polimero sovraossidato, e del polifenolo. Quest'ultima, come riportato in letteratura, rallenta notevolmente appena raggiunto uno spessore di film tale da impedire il trasferimento elettronico, che avviene per effetto tunneling tra il GC e il fenolo in soluzione, permettendo, così, un facile controllo dello spessore del film<sup>4,5</sup>. Al contrario, il polipirrolo che è un polimero conduttore si deposita sull'elettrodo in modo continuo e il suo spessore risulta difficilmente controllabile, come dimostra l'elevata deviazione standard (10 %) associata alla carica di caratterizzazione.

Le prove effettuate hanno mostrato che sia il polipirrolo che il polifenolo sono modificanti elettrodiici con prestazioni interessanti per lo sviluppo di un sensore per la rivelazione del radicale OH; tuttavia il polifenolo è risultato più adatto sia perché non viene attaccato dai reagenti utilizzati per la produzione dell' $\cdot\text{OH}$  nella soluzione da

analizzare, sia perché la sua elettropolimerizzazione è caratterizzata da una ottima riproducibilità.

Per questi motivi, nelle prove descritte in seguito sarà utilizzato l'elettrodo Pt-pfen.

## 5.5 Bibliografia

---

<sup>1</sup> L.D. Mello, S. Hernandez, G. Marrazza, M. Mascini, L.T. Kubota, *Biosens. Bioelectron.* 2006, 21, 1374

<sup>2</sup> F. Scholtz, G. Lopez de Lara González, L. Machado de Carvalho, M. Hingelmann, K.Z. Brainina, H. Kahrlet, R. Smail Jack, D. Troung Minh, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2007, 46, 8079.

<sup>3</sup> C. Debiemme-Chouvy, T. T. M. Tren, *Electrochem. Comm.* 2008, 10, 947

<sup>4</sup> M. Gattrell, D. W. Kirk, *J. Electrochem. Soc.* 1992, 139, 2736

<sup>5</sup> M. Gattrell, D. W. Kirk, *J. Electrochem. Soc.* 1993, 140, 903

<sup>6</sup> C. Debbieme-Chouvy, T.T.M. Tran, *Electrochem. Comm.*, 2008, 10, 947

# RIVELAZIONE DEL RADICALE OH

## CON L'ELETTRODO GC-pfen

### 6.1 Ottimizzazione della preparazione dell'elettrodo GC-pfen

L'ossidazione elettrochimica del fenolo produce fenossi radicali, che possono accoppiarsi per formare dei dimeri, che, a loro volta, possono essere ossidati per poi reagire nuovamente con i fenossi radicali o altri radicali dimeri per produrre materiali ad alto peso molecolare. Le caratteristiche del film di polifenolo dipendono fortemente da come viene condotta la sua elettrosintesi, quindi è stato effettuato uno studio per individuare le migliori condizioni sperimentali per la preparazione di elettrodi modificati adatti ai nostri scopi. Sono state valutate le prestazioni analitiche di tre diversi film di polifenolo, che sono stati prodotti con tre diverse procedure di elettrosintesi.

In particolare, il film F1 è stato preparato da una soluzione 0,05 M di fenolo in  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 M applicando un potenziale di + 1,0 V per 60 s, sulla base dei risultati proposti da Gattrel e Kirk (1993)<sup>1</sup>. Questa tipologia di preparazione è stata impiegata perché produce un polimero in cui le unità monomeriche sono legate tra loro con legami C-C, lasciando libere le funzionalità fenoliche. Questa caratteristica dovrebbe permettere un efficiente attacco dell'OH sull'anello aromatico.

Un altro film (F2) è stato preparato a partire da una soluzione basica usando condizioni potenziodinamiche<sup>2</sup>. L'elettrodo di GC è stato sottoposto a cinque cicli di potenziale tra -1,0 V e 1,3 V in  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,1 M, contenente fenolo 0,05 M. In questo caso, il polimero dovrebbe presentare essenzialmente dei legami eteri tra gli anelli aromatici.

L'ultimo film (F3) è stato elettrosintetizzato in condizioni simili a quelle utilizzate per F1, con la sola differenza che l'acido solforico in fase acquosa è stato sostituito con acetonitrile; inoltre la sintesi è stata condotta in atmosfera di azoto per eliminare ogni

sorgente di ossigeno, che, dato il complesso meccanismo radicalico di polimerizzazione, può introdurre ulteriori funzionalità ossidate sull'anello aromatico.

Sono stati effettuate due diverse serie di esperimenti sui tre film per valutare quale presentasse il miglior comportamento isolante, congiuntamente alla migliore "reattività" verso i radicali OH.

Il comportamento isolante è stato studiato impiegando la sonda redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , tramite voltammetria ciclica e cronoamperometria, nelle stesse condizioni utilizzate per la valutazione della degradazione del film polimerico. Con questo esperimento si è ottenuto sostanzialmente il valore di bianco iniziale dell'elettrodo modificato. F1 e F2 avevano un comportamento perfettamente isolante, mentre la caratterizzazione di F3 in CV mostrava il sistema di picchi della sonda redox e la frazione di superficie elettrodica scoperta, valutata tramite CA, era significativamente diversa da zero. Probabilmente, a differenza dei film F1 e F2 che sono stati preparati in ambiente acquoso, il film F3 è parzialmente solubilizzato dall'acetonitrile usato per l'elettrosintesi, che si comporta da miglior solvente, rispetto all'acqua, per il polifenolo<sup>1</sup>. Il film F3 non è stato ulteriormente studiato e, quindi, non è stato sottoposto alla successiva serie di esperimenti in cui si generavano i radicali OH.

I polimeri F1 e F2 sono stati sottoposti all'attacco di radicali OH generati dalla reazione di Fenton e la percentuale di film degradato è stata valutata tramite CV e CA. La frazione di F1 rimossa dalla superficie elettrodica era riproducibile e uguale a 0,22. Allo stesso tempo F2 continuava ad avere un comportamento isolante, mostrando come l'azione dei radicali OH non portasse a una degradazione rivelabile con l'approccio elettrochimico scelto. Questi risultati possono essere spiegati considerando il maggiore spessore di F2 e la sua minore reattività, rispetto a F1, dovuta alla presenza di legami eterei<sup>1,2</sup> tra gli anelli aromatici. Sulla base di queste prove preliminari il film F1 è stato utilizzato nei test successivi.

## 6.2 Caratterizzazione dell'elettrodo modificato

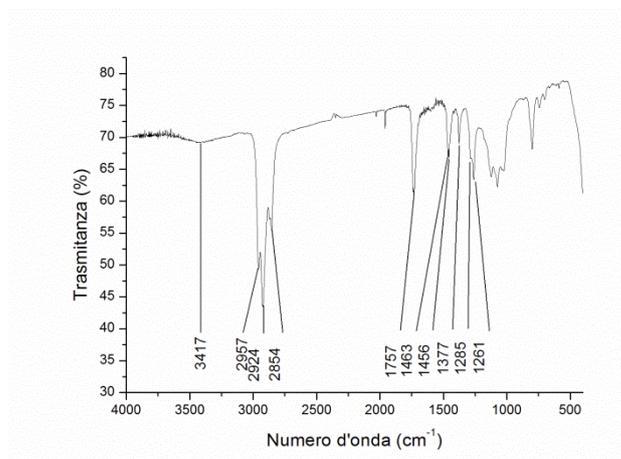
Il film F1 è stato caratterizzato con spettroscopia infrarossa (IR) e con microscopia a forza atomica (AFM).

Per raccogliere un quantitativo di materiale sufficiente a registrare uno spettro IR, sono state necessarie 10 elettrodeposizioni su una barretta di GC di elevata area superficiale; il materiale è stato asportato dall'elettrodo solubilizzandolo in 4 mL di cloroformio, e la soluzione risultante è stata successivamente portata a secco in un vial. Il residuo delle 10 elettrodeposizioni è stato nuovamente solubilizzato in 0,2 mL di cloroformio, e la soluzione è stata trasferita su una pasticca di KBr e lasciata evaporare.

Lo spettro IR (Figura 19 A) è stato confrontato con i dati riportati in letteratura<sup>3</sup>. La banda osservata a  $1261\text{ cm}^{-1}$  è dovuta allo stretching dei legami carbonio-carbonio aromatici. Le bande a  $2957$ ,  $2924$ ,  $2854$  e  $1463\text{ cm}^{-1}$  sono riconducibili alla presenza di sub-unità chinoniche e sono relative allo stretching del legame C-H ( $2957$ ,  $2924$ , e  $2854\text{ cm}^{-1}$ ) e C=C. Le bande a  $3417$  e  $1362\text{ cm}^{-1}$  sono dovute, rispettivamente, allo stretching del legame O-H e (C=C)-OH. Infine la banda a  $1732\text{ cm}^{-1}$  è riconducibile allo stretching del C=O. Questi risultati suggeriscono che il film è parzialmente ossidato (bande relative alle sub unità chinoniche) e che le unità monomeriche sono essenzialmente legate tra loro con legami carbonio-carbonio e non con legami eterei, dato che lo spettro IR conferma il segnale del gruppo OH e delle sue forme ossidate.

Le immagini AFM dell'elettrodo di GC nudo e dell'elettrodo modificato con il film di polifenolo suggeriscono che il film ricopra completamente la superficie elettrodica e che la sua morfologia replichi perfettamente quella della superficie sottostante. Infine, è stata effettuata una modificazione selettiva di una parte dell'elettrodo di GC al fine di acquisire un'immagine della zona di confine tra l'elettrodo nudo e la superficie modificata (Figura 19 B). In tal modo è stato possibile determinare lo spessore del film, che è risultato essere  $10 \pm 1\text{ nm}$ .

A



B

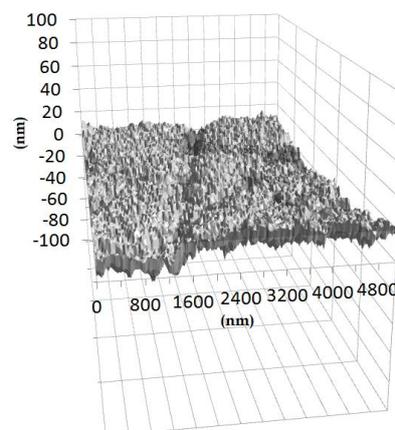


Figura 19. Spettro IR (A) registrato depositando il polifenolo su una pasticca di KBr. Immagine AFM (B) della zona di confine tra la superficie nuda e quella modificata di un elettrodo di GC.

## 6.3 Valutazione del segnale analitico

Come già descritto nel paragrafo 4.5.2 la risposta dell'elettrodo modificato al radicale OH era stata già determinata utilizzando come metodo di generazione la reazione di Fenton. Tuttavia la riproducibilità di tale reazione non è particolarmente elevata dato che dipende dalla riproducibilità del processo di mescolamento durante l'aggiunta dell'acqua ossigenata. Un'agitazione efficiente e altamente controllabile sarebbe essenziale per garantire che un numero ripetibile di radicali OH raggiunga la superficie elettrodica, specialmente nei primi secondi dopo l'aggiunta dell'acqua ossigenata, quando la produzione di analita è molto elevata a causa del forte eccesso di  $\text{Fe}^{2+}$  e la composizione della soluzione non è omogenea. Infatti la deviazioni standard associata alla frazione di area scoperta, quando il radicale OH era generato tramite reazione di Fenton, era dell'ordine del 30 %.

Per tali ragioni il radicale OH è stato anche generato attraverso la fotolisi dell'acqua ossigenata. In questo caso la riproducibilità è stata valutata utilizzando una soluzione di  $\text{H}_2\text{O}_2$  0,5 M ed irraggiando per 5 min. La frazione di area scoperta è risultata  $0,20 \pm 0,03$  (media  $\pm$  deviazione standard, numero di misurazioni = 5), confermando che la reazione di fotolisi garantisce una riproducibilità superiore a quella evidenziata per la

reazione di Fenton. La degradazione del film è stata studiata anche a differenti concentrazioni di  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0,01 ÷ 0,5 M). La correlazione con il segnale analitico è risultata lineare, confermando, quindi, i risultati ottenuti in precedenza con la reazione di Fenton.

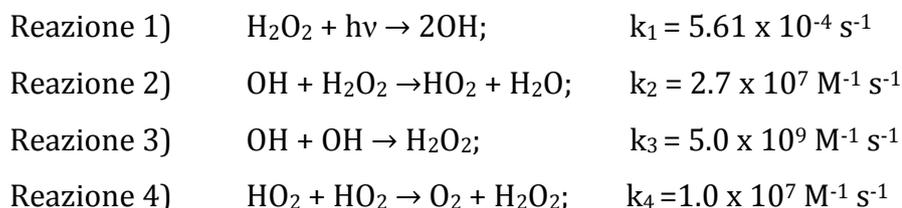
## 6.4 Interpretazione del segnale analitico

Le cinetiche delle reazioni che hanno luogo nel corpo della soluzione e vicino alla superficie dell'elettrodo sono state simulate per via teorica con l'ausilio del programma Excel del pacchetto Office (Microsoft), al fine di comprendere i processi da cui dipende il segnale analitico e per identificare l'intervallo di concentrazione in cui l'elettrodo GC-pfen può operare.

### 6.4.1 Simulazione delle cinetiche e dei profili di concentrazione

#### 6.4.1.1 Fotolisi dell'acqua ossigenata

Le reazioni che hanno luogo durante la fotolisi dell' $\text{H}_2\text{O}_2$  sono:



Il valore della  $k_1$  è stata calcolato considerando una cross section<sup>4</sup> (sezione d'urto) di  $7.4 \times 10^{-20} \text{ cm}^2$ , una resa quantica della reazione<sup>5</sup> di 0,5, ed inserendo nella formula utilizzata per il calcolo la potenza della lampada e la geometria del reattore. Il valore di  $k_4$ , che dipende dal pH, è stato calcolato sulla base del pH registrato alla fine dell'esperimento (pH 4,6).

Il sistema 1 contiene le equazioni differenziali che descrivono le velocità di produzione e di consumo delle specie chimiche esaminate:

**Sistema 1**

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d[OH]}{dt} = 2 k_1[H_2O_2] - k_2[OH][H_2O_2] - k_3[OH]^2 \\ \frac{d[H_2O_2]}{dt} = -k_1[H_2O_2] - k_2[OH][H_2O_2] + k_3[OH]^2 + k_4[HO_2][HO_2] \\ \frac{d[HO_2]}{dt} = +k_2[OH][H_2O_2] - k_4[HO_2][HO_2] \end{array} \right.$$

dove [specie] è la concentrazione della specie al tempo t. Il sistema è stato risolto con il metodo delle differenze finite, impiegando degli incrementi  $\Delta t$  compresi nell'intervallo  $1 \times 10^{-8} \div 1 \times 10^{-6}$  s. L'utilizzo del metodo delle differenze finite è appropriato per la risoluzione di un sistema di equazioni differenziali se le funzioni studiate sono continue, e in questo caso tale condizione è soddisfatta, dato che le funzioni che descrivono gli andamenti della concentrazione contro il tempo, solitamente ,non hanno punti di discontinuità.

Dalla risoluzione del sistema si osserva che la concentrazione del radicale OH raggiunge rapidamente un valore costante di  $4.2 \times 10^{-11}$  M, che è indipendente dalla  $[H_2O_2]$ . Questo può essere spiegato, in prima approssimazione, considerando che l'acqua ossigenata è la specie chimica che controlla sia la cinetica di consumo che di produzione del radicale OH, e può essere dimostrato, per via matematica, ipotizzando le condizioni di stato stazionario ( $d[OH]/dt = 0$ ) per cui si ha:

$$\frac{d[OH]}{dt} = 0 = 2 k_1[H_2O_2] - k_2[OH][H_2O_2] - k_3[OH]^2$$

Tuttavia il termine  $k_3[OH]^2$  è trascurabile rispetto ai termini  $2 k_1[H_2O_2]$  and  $k_2 [OH][H_2O_2]$ , perché nelle nostre condizioni sperimentali  $[OH]$  è solitamente molto basso. Quindi si ottiene:

$$\frac{d[OH]}{dt} = 0 \cong 2 k_1[H_2O_2] - k_2[OH][H_2O_2]$$

Da cui possiamo ricavare:

$$[OH] = \frac{2 k_1[H_2O_2]}{k_2[H_2O_2]}$$

Di conseguenza, una volta raggiunte le condizioni di stato stazionario, la concentrazione dipende solamente da  $k_1$  e  $k_2$ .

Tuttavia, i risultati sperimentali mostravano che la concentrazione di acqua ossigenata incideva sull'entità del segnale analitico, suggerendo che non ci fosse una relazione lineare tra la concentrazione di radicale OH nel corpo della soluzione ed il segnale analitico, come è invece generalmente dimostrato nelle trattazioni teoriche delle più comuni tecniche elettroanalitiche, che descrivono il flusso di una specie chimica dal corpo della soluzione alla superficie elettrodica. Questo comportamento anomalo è stato attribuito alla velocità elevata delle reazioni coinvolte nel consumo e nella produzione del radicale OH, che, avendo una velocità paragonabile a quella della diffusione, possono aver luogo nello strato di diffusione stesso. Di conseguenza, la seconda legge di Fick non è valida e il flusso di radicali OH che raggiungono la superficie dell'elettrodo non è proporzionale alla loro concentrazione nel corpo della soluzione. Per avere una rappresentazione più realistica del segnale analitico è stato necessario determinare i profili di concentrazione del radicale OH in prossimità della superficie elettrodica e, per tale ragione, la diffusione è stata introdotta nella trattazione matematica. Il valore del coefficiente di diffusione ( $D$ )<sup>6</sup> usato per il calcolo era di  $2.8 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ . Considerando le elevate costanti cinetiche che si osservano per le reazioni tra composti aromatici e il radicale OH, la reazione tra il radicale OH e il polifenolo è stata considerata istantanea.

Il sistema 2 descrive i fenomeni che avvengono in prossimità della superficie elettrodica:

### Sistema 2

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d[OH]}{dt} = 2 k_1[H_2O_2] - k_2[OH][H_2O_2] - k_3[OH]^2 \\ J = -D \frac{d[OH]}{dx} \end{array} \right.$$

dove  $J$  è il flusso calcolato di radicale OH all'elettrodo. Anche se la  $[H_2O_2]$  dipende dal tempo e dalla distanza dalla superficie elettrodica, la sua variazione è stata considerata trascurabile considerando che il perossido di idrogeno è in forte eccesso rispetto alla

concentrazione dell'OH;  $[H_2O_2]$  è stata considerata costante e uguale a quella calcolata nel corpo nella soluzione al tempo  $t$  considerato. I profili di concentrazione allo stadio stazionario, che si stabiliscono in prossimità della superficie elettrodica, sono stati calcolati con il sistema 2 con un approccio analogo a quello che si usa nel contesto teorico della cronoamperometria. Si è dovuto adottare questo espediente, in quanto il costo computazionale per calcolare i profili concentrazione per ogni incremento  $\Delta t$  utilizzato nel sistema 1 è troppo elevato.

Le concentrazioni di radicale OH usate per definire le condizioni iniziali erano quelle calcolate dal sistema 1, al tempo esaminato, nel corpo della soluzione, indipendentemente dalla posizione esaminata. A questo punto la concentrazione alla superficie elettrodica è stata forzata essere uguale a zero e il sistema di equazioni differenziali è stato risolto, usando incrementi di  $\Delta x$  pari  $1 \times 10^{-9}$  m e di  $\Delta t$  pari a  $1 \times 10^{-10}$  s. Il valore di  $J$  raggiunge rapidamente le condizioni di stato stazionario.

Dopo aver introdotto la diffusione nel modello utilizzato, le simulazioni hanno mostrato come l'incremento della concentrazione di  $H_2O_2$  porti a un aumento dei radicali OH che raggiungono la superficie dell'elettrodo, nonostante che la loro concentrazione nel corpo della soluzione sia costante. I flussi di radicali OH che raggiungono l'elettrodo erano compresi tra  $1.5 \times 10^{-11} \div 10 \times 10^{-11}$  mol dm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Tabella 5).

$[\text{H}_2\text{O}_2]_i$ [M]	$[\text{OH}]$ [M]	$J$ ( $\text{mol s}^{-1} \text{dm}^{-2}$ )	Area scoperta(%)
0.1	$4.15 \times 10^{-11}$	$3.49 \times 10^{-11}$	7.72
0.2	$4.15 \times 10^{-11}$	$4.82 \times 10^{-11}$	12.2
0.3	$4.15 \times 10^{-11}$	$5.89 \times 10^{-11}$	17.8
0.4	$4.15 \times 10^{-11}$	$6.80 \times 10^{-11}$	18.4
0.5	$4.15 \times 10^{-11}$	$7.60 \times 10^{-11}$	20.3

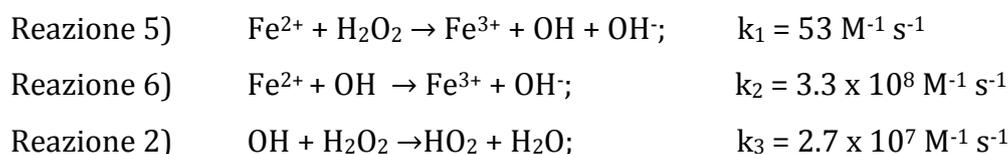
Tabella 5 Valori di  $[\text{OH}]$  e  $J$  calcolati in differenti condizioni sperimentali quando il radicale OH era generato per fotolisi dell'acqua ossigenata e percentuale di aerea scoperta, determinata in tali condizioni.

$[\text{H}_2\text{O}_2]_i$ [M]	$[\text{Fe}^{2+}]_i$ [M]	[Tampone acetato] <sub>i</sub> [M]	$[\text{OH}]$ [M]	$J$ ( $\text{mol s}^{-1} \text{dm}^{-2}$ )	Area scoperta (%)
0.1	0.05	0.05	$9.05 \times 10^{-12}$	$1.51 \times 10^{-11}$	1.62
0.2	0.05	0.05	$2.27 \times 10^{-11}$	$3.79 \times 10^{-11}$	6.8
0.3	0.05	0.05	$3.64 \times 10^{-11}$	$6.07 \times 10^{-11}$	11.6
0.4	0.05	0.05	$9.49 \times 10^{-11}$	$8.34 \times 10^{-11}$	18.8

Tabella 6. Valori di  $[\text{OH}]$  e  $J$  calcolati per differenti condizioni sperimentali quando il radicale OH era generato dalla reazione di Fenton.  $[\text{H}_2\text{O}_2]_i$ ,  $[\text{Fe}^{2+}]_i$  e [tampone acetato]<sub>i</sub> indicano, rispettivamente, le concentrazioni analitiche di  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  e di tampone acetato. Sono riportati anche i valori di area scoperta, riscontrati sperimentalmente per le condizioni esaminate.

### 6.4.1.2 Reazione di Fenton

La cinetica della reazione di Fenton nel corpo della soluzione è descritta dalle seguenti reazioni elementari<sup>7,8</sup>: reazione va scritto in italiano



Reazione 3)	$\text{OH} + \text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ ;	$k_4 = 5.0 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
Reazione 7)	$\text{HO}_2 + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 + \text{H}^+$ ;	$k_5 = 1 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
Reazione 8)	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{HO}_2 + \text{Fe}^{2+} + \text{H}^+$ ;	$k_6 = 5 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$
Reazione 9)	$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{OH} \rightarrow \text{products}$ ;	$k_7 = 8 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

Tutte le costanti cinetiche sono state reperite in letteratura<sup>7</sup>, eccetto quella della reazione 5, per la quale è presente solamente un intervallo di valori ( $0.01 \div 0.001 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )<sup>8</sup>. Di conseguenza abbiamo deciso di utilizzare il valore centrale di  $0,005 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .

Il sistema 3 contiene tutte le equazioni differenziali che descrivono la velocità di produzione e consumo delle specie coinvolte nella reazione:

### Sistema 3

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d[\text{OH}]}{dt} = k_5[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{2+}] - k_6[\text{OH}][\text{Fe}^{2+}] - k_2[\text{OH}][\text{H}_2\text{O}_2] - k_3[\text{OH}]^2 - k_9[\text{OH}][\text{CH}_3\text{COOH}] \\ \frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = -k_5[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{2+}] - k_6[\text{OH}][\text{Fe}^{2+}] + k_7[\text{HO}_2][\text{Fe}^{3+}] + k_8[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{3+}] \\ \frac{d[\text{Fe}^{3+}]}{dt} = +k_5[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{2+}] + k_6[\text{OH}][\text{Fe}^{2+}] - k_7[\text{HO}_2][\text{Fe}^{3+}] - k_8[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{3+}] \\ \frac{d[\text{H}_2\text{O}_2]}{dt} = -k_5[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{2+}] - k_2[\text{OH}][\text{H}_2\text{O}_2] + k_3[\text{OH}]^2 - k_8[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{3+}] \\ \frac{d[\text{HO}_2]}{dt} = +k_2[\text{OH}][\text{H}_2\text{O}_2] - k_7[\text{HO}_2][\text{Fe}^{3+}] + k_8[\text{H}_2\text{O}_2][\text{Fe}^{3+}] \\ \frac{d[\text{CH}_3\text{COOH}]}{dt} = -k_9[\text{OH}][\text{CH}_3\text{COOH}] \end{array} \right.$$

Il sistema è stato risolto con il metodo delle differenze finite per le condizioni riportate in Tabella 6, impiegando come condizioni iniziali per la risoluzione del sistema le concentrazioni analitiche di  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .

Dalle risoluzioni delle equazioni cinetiche per le varie condizioni sperimentali si osserva che, nei primi secondi dopo l'aggiunta dell'  $\text{H}_2\text{O}_2$  le velocità delle reazioni 1-5 e la concentrazione di radicale OH sono molto elevate, a causa del grande eccesso di  $\text{Fe}^{2+}$  nel sistema (Figura 20), ma dopo 5 - 10 s, questi valori diminuiscono sensibilmente per raggiungere le condizioni di stato stazionario che mantengono, praticamente, per tutta la durata dell'esperimento. La concentrazione di bulk del radicale OH era nell'intervallo  $9 \times 10^{-12} \div 5 \times 10^{-11} \text{ M}$  quando la concentrazione di acqua ossigenata era compresa tra 0,1 e

0,4 M. In Tabella 6 sono riportati i valori di concentrazione di stato stazionario riscontrati dopo 10 s dall'aggiunta dell'acqua ossigenata

Anche in questo caso è stata calcolata la quantità di radicali OH che raggiunge la superficie dell'elettrodo con il sistema 4:

**Sistema 4:**

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d[OH]}{dt} = k_5[H_2O_2][Fe^{2+}] - k_6[OH][Fe^{2+}] - k_2[OH][H_2O_2] - k_3[OH]^2 - k_9[OH][CH_3COOH] \\ J = -D \frac{d[OH]}{dx} \end{array} \right.$$

Anche se i valori di  $[H_2O_2]$ ,  $[Fe^{2+}]$  e  $[CH_3COOH]$  dipendono dalla distanza e dal tempo, le loro variazioni sono trascurabili perché sono presenti in forte eccesso rispetto alla concentrazione di radicale OH. Il sistema 4 è stato risolto in modo analogo a quanto già descritto per la fotolisi dell'acqua ossigenata. In questo caso il flusso di  $\cdot OH$

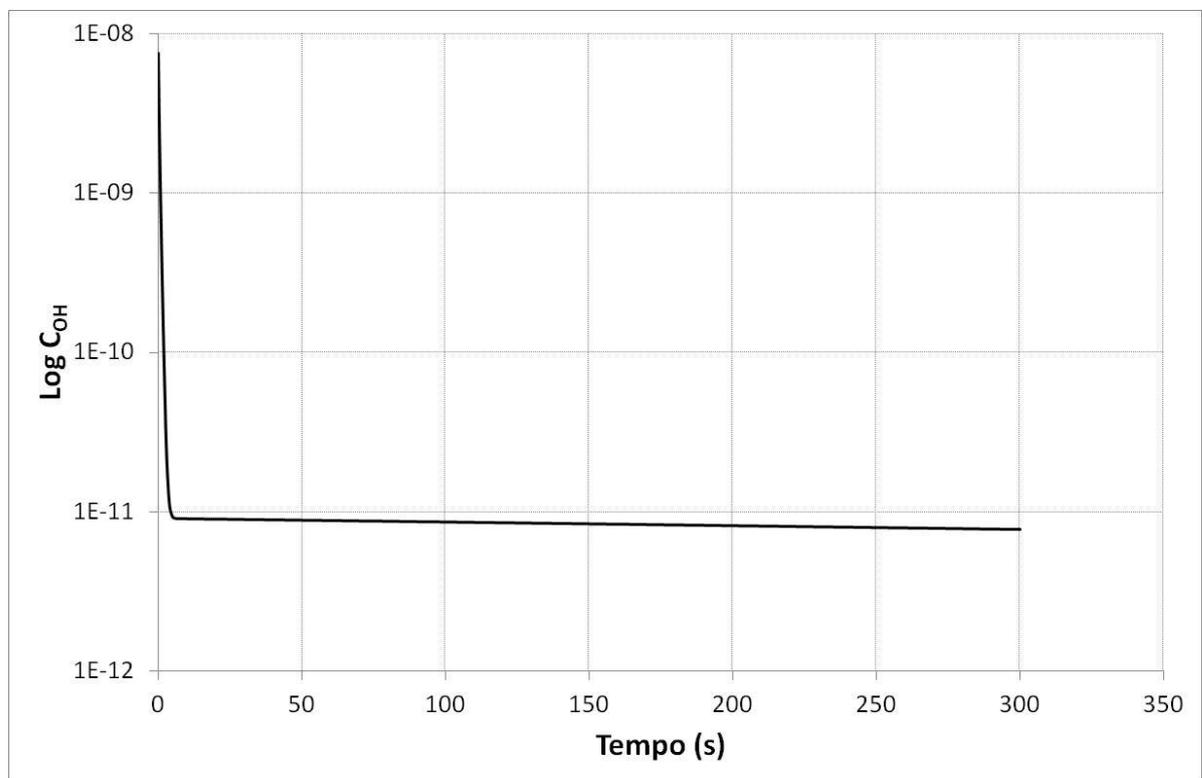


Figura 20. Andamento calcolato della concentrazione del radicale OH (scala logaritmica) generato dalla reazione di Fenton  $\{t = 5 \text{ min}; [Fe^{2+}] = 0,05 \text{ M}; [H_2O_2] = 0,01 \text{ M}\}$ .

all'elettrodo era compreso tra  $1 \times 10^{-11}$  e  $9 \times 10^{-11}$  mol dm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Tabella 6).

### **6.4.2 Verifica dei risultati ottenuti per il film di polifenolo**

La Figura 21 mostra come il segnale analitico, rilevato per l'elettrodo GC-pfen nelle diverse condizioni di generazione dei radicali OH, sia correlato al loro flusso di radicale, calcolato indipendentemente dal metodo di generazione utilizzato. La buona correlazione ottenuta tra i dati simulati e quelli sperimentali conferma che le ipotesi avanzate sui processi che determinano il segnale analitico sono corrette.

In conclusione si può affermare che il segnale analitico sia dovuto dal numero di radicali OH che reagiscono con il modificante elettrodico. Tale valore dipende dalla loro concentrazione nel corpo della soluzione e dalle velocità delle reazioni di produzione e di consumo, che avvengono nello strato di diffusione che si genera in prossimità della superficie elettrodica. Il segnale analitico registrato misura la capacità ossidante del radicale OH che diffonde verso una superficie, cioè l'effetto della sua concentrazione combinato alla sua abilità di sfuggire all'ambiente in cui è stato generato. L'elettrodo GC-pfen può essere utilizzato per valutare la concentrazione/produzione di radicali OH in matrici simili tra loro, attraverso la costruzione di una scala relativa, analogamente a quanto già descritto per i metodi che usano le molecole sonda.

## 6.5 Studio degli interferenti

Un gran numero di composti aromatici è stato impiegato come molecola sonda per la rivelazione, libera da interferenze, del radicale OH; di conseguenza la scelta di un polimero aromatico come modificante elettrodico dovrebbe garantire una buona selettività. Considerando che è la prima volta che un polimero aromatico è stato utilizzato per questo tipo di determinazione, uno studio delle possibile interferenze è stato condotto.

La degradazione del film isolante di polifenolo è stato studiato in presenza di radicale  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , di radicali alchil perossidi, di radicale superossido e di permanganato.

La soluzione di  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  è stata ottenuta facendo reagire 25  $\mu\text{mol}$  di ABTS con 11  $\mu\text{mol}$  di  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$  in 50 mL di tampone acetato 0,050 M pH 4,6. La reazione richiede 18 h per consumare completamente il  $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ , che era il reagente limitante. La concentrazione finale di  $\text{ABTS}^{\cdot+}$  radicale era  $4.4 \times 10^{-4}$  M. L'elettrodo modificato è stato immerso in questa soluzione per 30 min. Nel voltammogramma registrato sull'elettrodo modificato che è stato esposto al radicale  $\text{ABTS}^{\cdot+}$ , il sistema di picchi relativo alla coppia redox

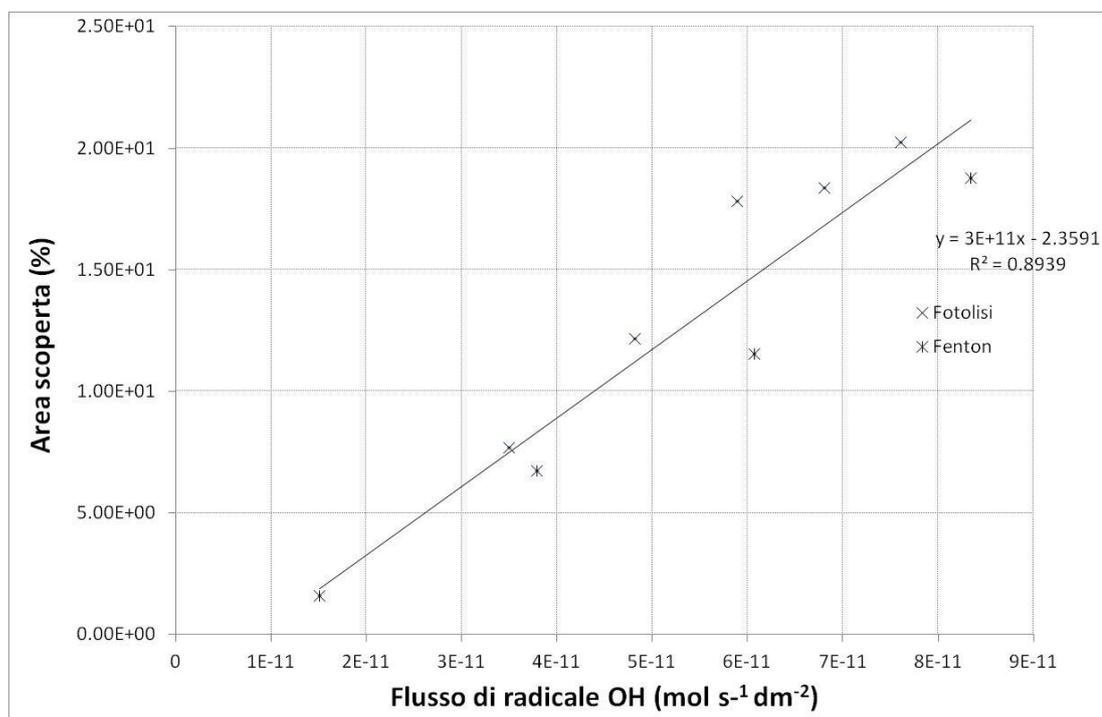


Figura 21. Area scoperta in funzione il flusso dei radicali OH alla superficie dell'elettrodo per i due metodi di generazione.

$\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+} / \text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$  era assente, confermando che questo composto non genera interferenza.

Un risultato analogo è stato ottenuto per i radicali alchil perossidici, generati dalla decomposizione dell'AAPH a 40°C in soluzione areata. L'elettrodo modificato è stato immerso per 30 minuti in una soluzione di AAPH 0,133 M in tampone fosfato pH 7,5 mentre la soluzione era termostata a 40°C. Anche in questo caso, nella successiva caratterizzazione voltammetrica in tampone acetato contenente  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , non è stato osservato il sistema di picchi relativo alla coppia redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+} / \text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$ .

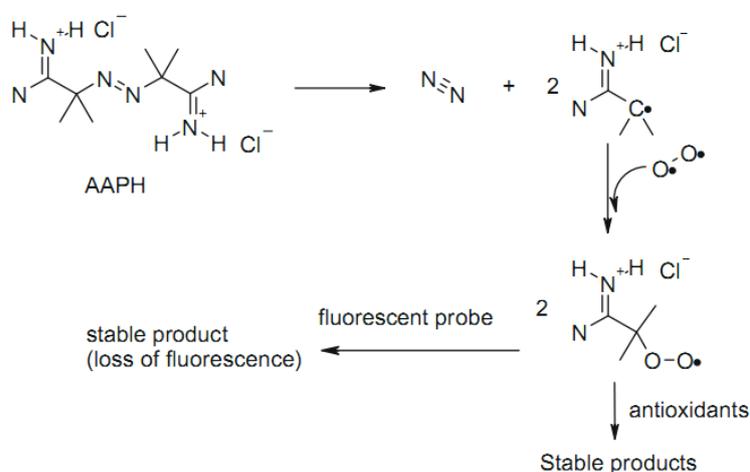


Figura 22. Reazione di decomposizione termica dell'AAPH in presenza di  $\text{O}_2^-$ .

Il radicale superossido è stato generato in tampone fosfato 10 mM pH 8 dall'autossidazione in presenza di ossigeno del pirogallolo (5 mM), come descritto da X. Li (2012)<sup>9</sup>. Le principali reazioni che portano alla formazione del radicale  $\text{O}_2^-$  sono descritte in Figura 23. L'elettrodo modificato che è stato esposto al radicale  $\text{O}_2^-$  per due ore, ha mostrato un comportamento isolante nei confronti della sonda redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ , suggerendo che il radicale  $\text{O}_2^-$  non porta a interferenza.

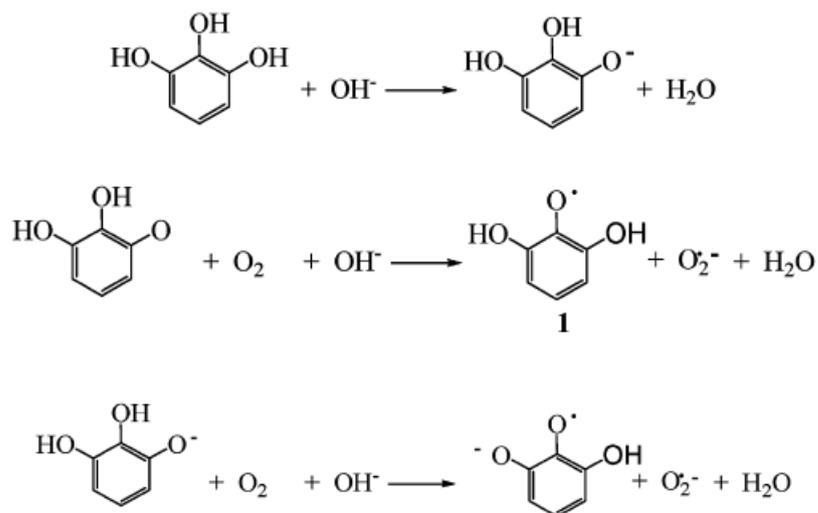


Figura 23. Reazioni di autoossidazione del pirogallolo che portano alla formazione del radicale superossido.

Infine abbiamo studiato l'effetto di forti ossidanti sul film. Dopo aver immerso l'elettrodo modificato in  $\text{KMnO}_4$  0,1 M per 30 min il segnale della coppia redox  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+} / \text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{2+}$  era parzialmente ripristinato. In questo caso abbiamo osservato interferenza, ma fortunatamente specie altamente ossidanti sono assenti nella maggior parte delle matrici reali.

## 6.6 Determinazione dell'attività di fotocatalizzatori a base di $\text{TiO}_2$

L'elettrodo modificato è stato usato per determinare i radicali OH prodotti da cinque differenti foto catalizzatori a base di nano particelle di  $\text{TiO}_2$ . Due di questi sono prodotti commerciali (Colorobia Spa, Italia) mentre gli altri tre sono stati preparati da quest'ultimi. Le sospensioni hanno un differente pH e le nano particelle sono state stabilizzate in modi differenti. La frazione di aria scoperta, valutata con cronoamperometria, per gli elettrodi sottoposti all'azione dei radicali prodotti dai 5 fotocatalizzatori, era compresa nell'intervallo 0,5 ÷ 2,5 %. In Tabella 7 sono presentati la frazione di area libera riscontrata per i diversi foto catalizzatori.

La quantità di radicale OH prodotto dai diversi fotocatalizzatori è stata determinata con un metodo HPLC<sup>10,11</sup>, che utilizza l'acido salico come agente intrappolante per il radicale OH. In Tabella 7 sono riportate le quantità di radicale OH prodotte per unità di massa di catalizzatore.

In Figura 24 è riportata la frazione di area scoperta dell'elettrodo GC-pfen contro la quantità di OH prodotto valutata con il metodo cromatografico. Si osserva come i due metodi portino a risultati paragonabili, ed effettuando una regressione lineare tra i risultati ottenuti si ottiene un  $R^2$  di 0,91. È importante osservare che i due metodi valutano differenti quantità chimico fisico. La procedura HPLC che usa l'AS come sonda per il radicale OH determina la quantità di radicale OH prodotto, in quanto la costante cinetica di reazione dell'AS con il radicale OH è molto alta e non essendoci in soluzione nessun altro composto in grado di ossidarsi, tutto l'analita reagisce con quest'ultimo. Nel caso invece dell'elettrodo GC-pfen si valuta la quantità di radicale che raggiunge la superficie

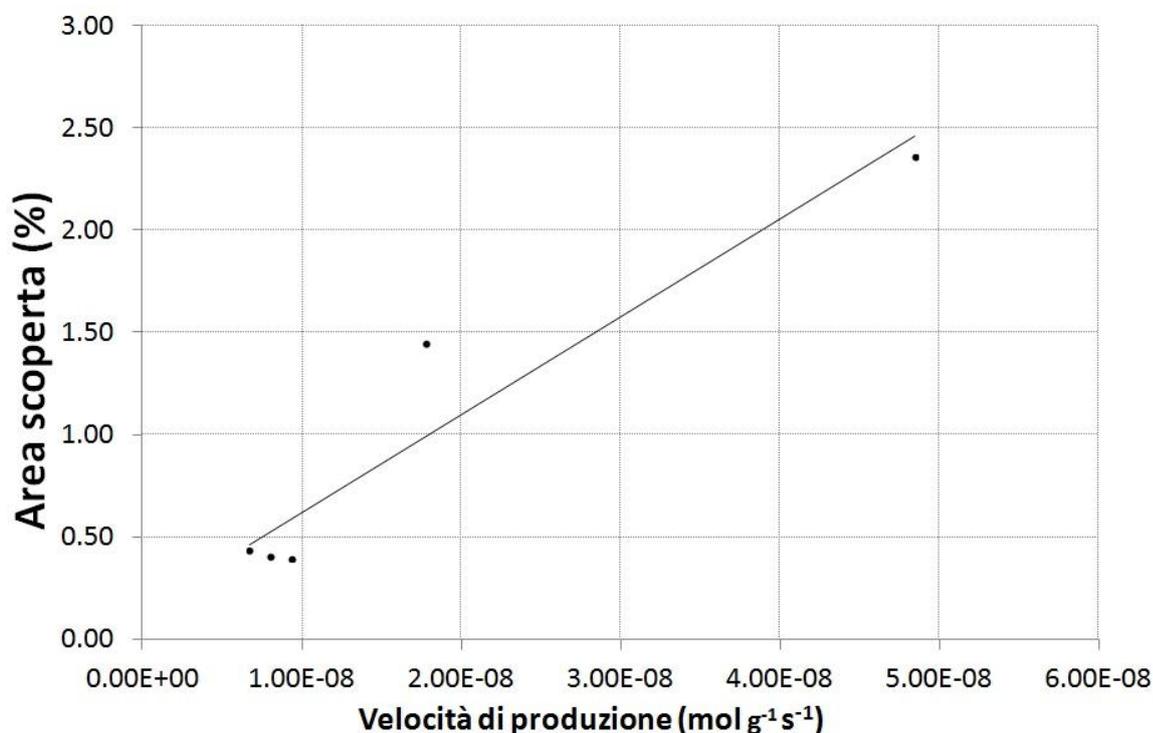


Figura 24. Per i vari fotocatalizzatori sottoposti a irraggiamento confronto tra la produzione di radicali OH e l'area scoperta registrata per l'elettrodo di GC modificato con il film polifenolico.

elettrodica, che dipende sia dai processi di diffusione del radicale OH dalla superficie della nano particella, dove quest'ultimo si è formato, alla superficie dell'elettrodo, sia dalle reazioni che avvengono in soluzione.

N. Campione	pH	Produzione ( $\text{mol s}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	Area scoperta (%)
1	6,5	$4,9 \times 10^{-8}$	2,4
2	3,5	$6,7 \times 10^{-9}$	0,44
3	3,5	$8,1 \times 10^{-9}$	0,41
4	3,3	$9,4 \times 10^{-9}$	0,39
5	2,5	$1,8 \times 10^{-8}$	1,5

**Tabella 7.** Per i diversi foto catalizzatori valori di produzione di radicale OH determinata con la metodica HPLC, e valori di area scoperta degli elettrodi che sono stati immersi durante irraggiamento nelle loro sospensioni di foto catalizzatori.

## 6.7 Bibliografia

<sup>1</sup> M. Gattrell, D. W. Kirk, J. Electrochem. Soc. 1993, 140, 903

<sup>2</sup> P. Garces, R. Lapuente, L. G. Andion, F. Cases, E. Morralon, , J. L. Vasquez,. Polym. J., 2000, 32, 623

<sup>3</sup> M. Gattrell, D. W. Kirk, J. Electrochem. Soc. 1992, 139, 2736

<sup>4</sup> C.L. Lin, N. K. Rohatgi, W. B. DeMore,. Geophys. Res. Lett. 1978, 5, 11

<sup>5</sup> J. P. Hunt, H. Taube, J. Am. Chem. Soc. 1952, 74, 5999

<sup>6</sup> H. Yamaguchi, Y. Uchihori, N. Yasuda, M. Takada, H. J. Kitsmura, Rad. Res. 2005, 46, 333

<sup>7</sup> H. B. Dunford, Coordin. Chem. Rev., 2002, 233-234, 311

<sup>8</sup> E. Neyens, J. Baeyens, J. Hazard. Mat. B 2003, 98, 33

<sup>9</sup> X. Li, J. Agr. Food Chem., 2012, 60, 6418.

<sup>10</sup> N. Shimizu, C. Ogino, M. F. Dadjour, K. Nihomiya, A. Fuijira, K. Sakiyama, Ultrason. Sonochem. 2008, 15 988

<sup>11</sup> T. T.-C. Cheng, K.-S. Yao, Y.-H. Hsich, L.-L. Hsich, C. Y. Cheng, Mater. Design 2010, 31, 1749

# **SVILUPPO DI UNA METODOLOGIA PER LA DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ DI SCAVENGER DEL RADICALE OH**

Per stimare l'attività di scavenger del campione è stata valutata la sua capacità di proteggere il film di polifenolo dall'azione ossidante del radicale OH. La cinetica di degradazione del film polifenolico è stata seguita in presenza di concentrazioni crescenti di campione, quando il radicale OH era prodotto dalla fotolisi dell'acqua ossigenata ( $[H_2O_2]=10\text{ mM}$ )

## **7.1 Studio della degradazione del film durante la fotolisi dell'acqua ossigenata**

La degradazione del film polifenolico ad opera del radicale OH generato attraverso la fotolisi dell' $H_2O_2$  (10 mM) è stata studiata tramite voltammetria ciclica in funzione del tempo.

L'elettrodo modificato è stato inserito all'interno del reattore di quarzo in modo che l'irraggiamento fosse il più ripetibile possibile, impiegando 120 ml di una soluzione 10 mM di  $H_2O_2$ . Al tempo di esposizione  $t$  la lampada è stata spenta, l'elettrodo è stato estratto dal reattore e posto nella cella elettrochimica e il segnale del  $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$  è stato registrato in voltammetria ciclica; dopo ciò l'elettrodo è stato reinserito nel reattore, e la lampada è stata riaccesa per effettuare le prove a tempi di esposizione maggiori. Si suppone che a lampada spenta, durante l'acquisizione del segnale, la variazione di concentrazione delle specie presenti sia trascurabile. Due cinetiche di degradazione sono mostrata in Figura 25, e mettono in evidenza una buona riproducibilità del segnale analitico.

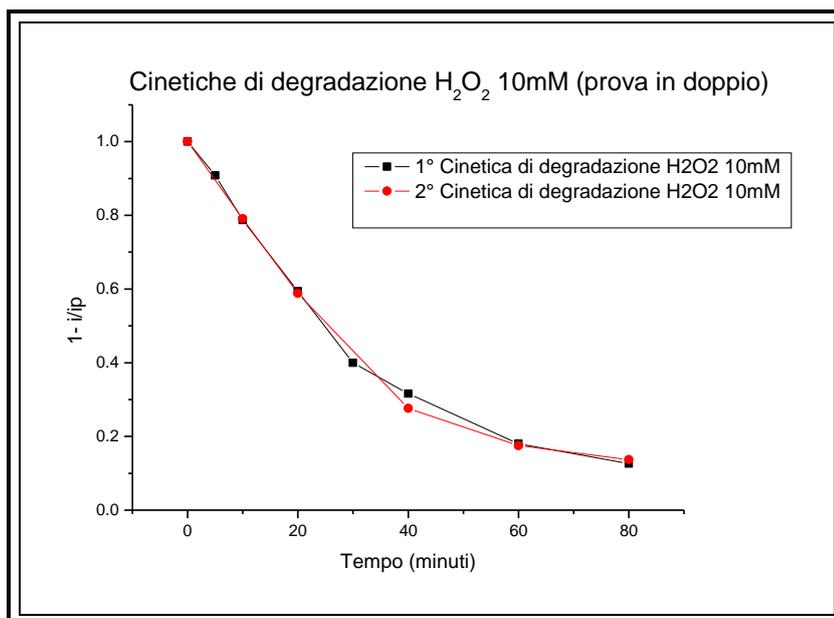


Figura 25. Cinetica di degradazione del film di polifenolo quando il radicale OH era generato tramite fotolisi dell'acqua ossigenata (10 mM).

## 7.2 Cinetiche di degradazione in presenza di composti antiossidanti

Nella Figura 26 sono riportate, a titolo di esempio, le curve relative alle cinetiche di degradazione dell'elettrodo GC-pfen ottenute in presenza di acido ascorbico a diverse concentrazioni, in cui viene graficato l'andamento della superficie elettrodica coperta dal polimero Cop, in funzione del tempo di esposizione al radicale OH generato dalla fotolisi dell' $\text{H}_2\text{O}_2$ . In ogni cinetica di degradazione in presenza di antiossidante, possiamo osservare due fasi ben distinte: una prima fase in cui non si ha degradazione e il valore di Cop rimane costante con valore di uno. L'effetto di rimozione del radicale OH da parte dell'antiossidante è così efficace che la concentrazione di radicali OH è talmente bassa da non poter attaccare il film. La durata di questa fase dipenderà dalla concentrazione della specie in soluzione e dalla sua velocità di reazione con la specie ossidante. Nella seconda fase i composti antiossidanti sono stati consumati e la concentrazione di radicale OH in soluzione sale, permettendo la degradazione del film sull'elettrodo, e quindi, il grado di copertura dell'elettrodo diminuirà.

È possibile notare un certo grado di analogia e somiglianza con le curve cinetiche di decadimento del segnale di fluorescenza ottenute col saggio ORAC e TRAP<sup>1,2</sup>, i metodi più adottati per la determinazione della capacità antiossidante.

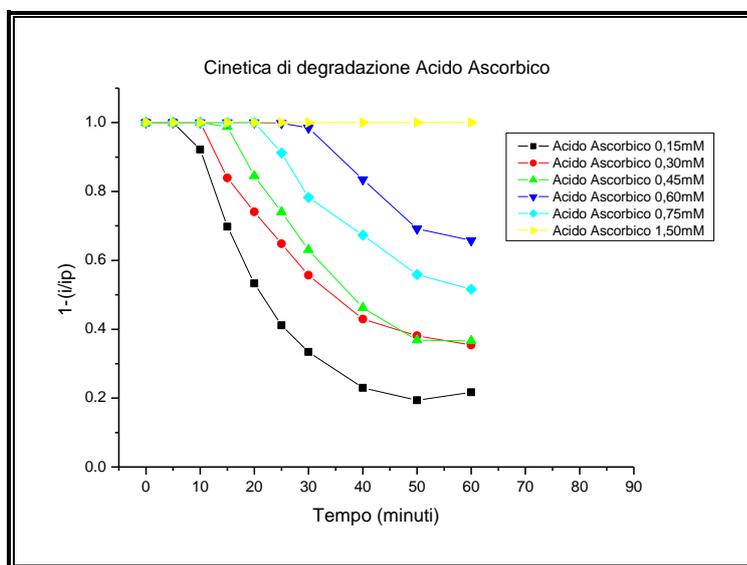


Figura 26. Cinetica di degradazione del film polifenolico in presenza di acido ascorbico a diverse concentrazioni, quando il radicale OH era generato con fotolisi dell'acqua ossigenata (10 mM).

## 7.3 Determinazione della capacità di scavenger

La determinazione della capacità antiossidante è condotta ricavando dalle curve relative alle cinetiche di degradazione un parametro, che è solitamente direttamente proporzionale alla concentrazione del campione analizzato. I parametri più impiegati sono: il tempo di induzione o Lag phase, l'area sottesa della curva e il potere inibente. La valutazione della capacità antiossidante è effettuata sulla base delle pendenze delle rette ottenute graficando il parametro ottenuto dall'elaborazione del segnale in funzione della concentrazione: più il valore della pendenza risulta essere elevato, maggiore sarà la capacità scavenger del campione analizzato.

Di conseguenza il parametro che meglio si addice alla determinazione del potere antiossidante per il nostro sistema è stato valutato studiando le cinetiche di cinque composti puri (trolox, acido ascorbico, acido gallico, pirogallolo e epicatechina) di cui sono note le proprietà antiossidanti, e costruendo le rette di correlazione lineare tra il parametro esaminato e la concentrazione del composto esaminato.

### 7.3.1 Area sottesa dalla curva

L'area sottesa dalla curva che descrive la cinetica di degradazione, è stata calcolata mediante il metodo dei trapezi, suddividendo l'area totale in 9 trapezi.

Composto	$m \pm s_m$	$b \pm s_b$	$R^2$
Trolox	$110 \pm 30$	$2 \pm 3$	0.868
(L)-Acido ascorbico	$24 \pm 2$	$-4 \pm 1$	0.976
Acido gallico	$26 \pm 2$	$-4 \pm 1$	0.983
Pirogallolo	$25 \pm 2$	$-1,7 \pm 0,6$	0.992
(-)-Epicatechina	$60 \pm 10$	$-8 \pm 2$	0.929

Tabella 8. .Dati delle rette di calibrazione utilizzando l'integrale.

La Tabella 8 riassume i parametri delle rette ottenute per i 5 antiossidanti per un tempo di esposizione massimo alla lampada UV di 40 minuti.

### 7.3.2 Potere inibente

La percentuale di inibizione alla degradazione del film da parte dell'antiossidante a un tempo prefissato è stata calcolata utilizzando la seguente formula:

$$P. I. = \frac{\% \text{ degradazione}_{pol \text{ bianco}} - \% \text{ degradazione}_{antiossidante}}{\% \text{ degradazione}_{pol \text{ bianco}}}$$

Dove  $\% \text{ degradazione}_{pol \text{ bianco}}$  e  $\% \text{ degradazione}_{antiossidante}$  sono rispettivamente i valori  $(1 - \text{Cop}) \cdot 100$ , valutati per un tempo  $t$ , rispettivamente per la cinetica di degradazione in assenza e in presenza del composto antiossidante. In Tabella 9 si riportano i dati delle rette di calibrazione per i composti antiossidanti utilizzati, espresse in funzione del potere inibente a 30 min di esposizione alle radiazioni UV.

Composto	$m \pm s_m$	$b \pm s_b$	$R^2$
Trolox	$4,3 \pm 1,3$	$0 \pm 0,2$	0.848
(L)-Acido ascorbico	$1,7 \pm 0,3$	$-0,3 \pm 0,2$	0.930
Acido gallico	$1,9 \pm 0,5$	$-0,1 \pm 0,2$	0.949
Pirogallolo	$1,8 \pm 0,4$	$-0,2 \pm 0,2$	0.979
(-)-Epicatechina	$4,2 \pm 1,7$	$-0,6 \pm 0,4$	0.858

Tabella 9. Dati delle rette di calibrazione utilizzando il potere inibente a 30 minuti.

### 7.3.3 Tempo di induzione o Lag phase

Utilizzando invece la Lag phase, ovvero il tempo durante il quale il campione riesce a proteggere il film dall'attacco del radicale OH, sono state ottenute le rette i cui parametri sono riportati in Tabella 10.

### 7.3.4 Confronto tra le varie metodologie di elaborazione del segnale

Dal confronto tra le diverse rette di calibrazione ottenute per gli antiossidanti testati in termini di coefficiente di correlazione e di deviazione standard associata alla pendenza, si può notare come il parametro Lag phase permetta di ottenere i migliori risultati, mentre il potere inibente quelli peggiori.

Composto	$m \pm s_m$	$b \pm s_b$	$R^2$
Trolox	$111 \pm 7$	$-0,7 \pm 0,9$	0.848
(L)-Acido ascorbico	$41 \pm 3$	$0 \pm 1$	0.930
Acido gallico	$41 \pm 3$	$-2 \pm 1$	0.949
Pirogallolo*	$56 \pm 7$	$-4 \pm 3$	0.979
(-)-Epicatechina	$94 \pm 6$	$-2 \pm 1$	0.858

**Tabella 10. Rette di calibrazione utilizzando la lag phase. \* durante la prova effettuata si è verificato un mancato funzionamento della lampada che ha portato a dati anomali**

Questi risultati sono forse da imputare all'andamento discontinuo e poco riproducibile delle cinetiche di degradazione che, probabilmente, sono molto dipendenti dalla morfologia, dallo spessore e dalla composizione del film polifenolico depositato. Infatti le ultime prove effettuate ((-)-epicatechina, acido gallico e acido ascorbico) sono risultate più soddisfacenti grazie un incremento della ripetibilità del film, probabilmente dovuta una maggiore manualità operativa.

Il fatto che il tempo di induzione risulti essere il parametro più ripetibile può essere spiegato nel seguente modo. L'inizio della degradazione non è probabilmente affetta dalle variabili morfologiche del film, ma dipende fortemente dalla concentrazione di radicale OH generato in soluzione. Per queste ragioni la quantificazione della capacità di scavenger dei composti puri

Composto Antiossidante	TEAC
(L)-Acido Ascorbico	<b><math>0.37 \pm 0.04</math></b>
Acido Gallico	<b><math>0.36 \pm 0.03</math></b>
Pirogallolo	<b><math>0.50 \pm 0.07</math></b>
(-)-Epicatechina	<b><math>0.84 \pm 0.08</math></b>

**Tabella 11. Valori TEAC per il metodo elettrochimico**

analizzati e del campione reale è stata calcolata impiegando il tempo di induzione.

### **7.3.5 Confronto tra i vari antiossidanti studiati**

La capacità di scavenger dei composti analizzati, espressa come mmol di trolox equivalenti/mmol di composto, è riportata in Tabella 11. Tra i composti analizzati l'epicatechina è quella che mostrava le maggiori proprietà antiossidanti, seguita da pirogallolo; l'acido gallico e l'acido ascorbico mostravano prestazioni simili e avevano la minore reattività verso il radicale OH.

## **7.4 Confronto della metodica utilizzata con alcune procedure ampiamente utilizzate**

Per comprendere al meglio le potenzialità del metodo messo a punto, le capacità di scavenger determinata con l'elettrodo GC-pfen per i composti antiossidanti puri è stata confrontata con il potere antiossidante calcolato con metodiche ampiamente utilizzate quali il saggio ABTS, il saggio DPPH e il saggio ORAC.

Il confronto tra i due metodi è stato eseguito correlando linearmente i risultati ottenuti per i composti puri e la loro analogia è stata valutata con il coefficiente  $R^2$ . In Tabella 12 sono riportati gli indici TEAC calcolati con le varie metodiche e i coefficienti di correlazione con il metodo proposto.

Il metodo che presenta la minore corrispondenza con la metodica proposta è il saggio ABTS ( $R^2 = 0,42$ ). Il motivo di questo comportamento deriva dalla diversa natura dei radicali utilizzati nelle due diverse metodiche. Nel metodo che sfrutta l'elettrodo GC-pfen viene utilizzato il radicale OH, un radicale altamente reattivo che deve essere necessariamente generato in loco, mentre l'ABTS radicale è stabile anche in soluzione acquosa, il suo elettrone spaiato è centrato sull'azoto, e presenta una reattività molto minore.

Il grado di correlazione nei confronti del metodo DPPH è invece più pronunciata ( $R^2 = 0,84$ ), e questo potrebbe derivare dal fatto che il radicale DPPH è dotato di una maggiore reattività rispetto al radicale ABTS precedentemente utilizzato.

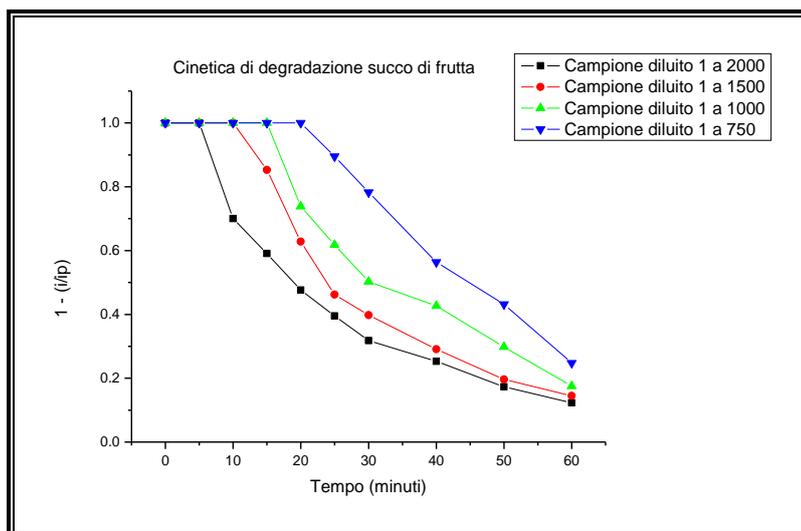
Infine la metodologia ORAC presenta la migliore correlazione con il metodo proposto, indicata da un  $R^2$  di 0,91. Probabilmente questa forte analogia deriva dalla procedura analoga con la quale viene valutata la capacità antiossidante o di scavenger, cioè valutando la capacità di proteggere dall'azione ossidante radicalica un particolare substrato: nel caso del metodo proposto il film di polifenolo, per l'ORAC la fluoresceina. Un'altra analogia può riguardare la tipologia di radicali impiegati, entrambi rientrano nella categoria dei ROS, ed entrambi sono accumulati dal fatto di avere un'elevata reattività e un chimismo simile.

	Metodo proposto	ABTS	DPPH	ORAC
(L)-Acido Ascorbico	$0,37 \pm 0,04$	$0,97 \pm 0,03$	$0,97 \pm 0,04$	$0,42 \pm 0,02$
Acido Gallico	$0,36 \pm 0,3$	$2,90 \pm 0,05$	$1,55 \pm 0,07$	$1,04 \pm 0,05$
Pirogallolo	$0,50 \pm 0,07$	$3,35 \pm 0,04$	$1,47 \pm 0,04$	$1,05 \pm 0,06$
(-)- Epicatechina	$0,84 \pm 0,08$	$3,67 \pm 0,04$	$2,52 \pm 0,09$	$2,74 \pm 0,08$
$R^2$		0,415	0,840	0,910

**Tabella 12.** Per i composti antiossidanti esaminati indice TEAC (mol equivalenti di trolox/mol di composto) determinato con il metodo proposto, il saggio ABTS, il saggio DPPH, e il saggio ORAC

## 7.5 Analisi di un campione reale

L'analisi della capacità di scavenger di un campione di succo di frutta è stata condotta diluendolo 1:750, 1:1000, 1:1500 e 1:2000. Le cinetiche di degradazione sono riportate in Figura 27. L'indice TEAC calcolato era pari 146  $\mu\text{mol}$  di trolox equivalente/mL di campione.



**Figura 27. Cinetiche di degradazione del film polifenolico ottenute in presenza di diverse concentrazioni di campione esaminato**

Il campione reale è stato anche analizzato con il saggio ABTS, il saggio DPPH e il saggio ORAC e risultati sono riportati in Tabella 13. Tra le metodiche impiegate solamente il saggio ABTS e il saggio DPPH presentavano risultati paragonabili, probabilmente a causa delle forti analogie tra i radicali impiegati nel saggio. Possiamo osservare che i valori di indice TEAC ricavato dai vari metodi è legato alla reattività del radicale utilizzato nel saggio: maggiore è la reattività, maggiore è la capacità di scavenger o antiossidante.

Il valore di indice TEAC estremamente elevato osservato per la determinazione con il nostro metodo è probabilmente dovuto al fatto che il radicale OH, essendo altamente reattivo, riesce a reagire con molecole non propriamente definite come antiossidanti. Analogamente il radicale alchil perossile, utilizzato nell'ORAC, è più reattivo rispetto ai radicali DPPH e ABTS, e quindi reagisce con un numero maggiore di composti presenti nel campione reale.

Infine è importante ricordare che, proprio per le differenze che possono esistere tra i vari radicali, anche in ambito biologico, è consigliato determinare la capacità antiossidante con differenti

Metodo proposto	ABTS	DPPH	ORAC
146 ± 11	9,3 ± 0,9	6,2 ± 0,3	14,9 ± 0,8

**Tabella 13. Indici TEAC del il campione reale espressi in  $\mu\text{mol}$  di trolox equivalente/mL di campione calcolati con il metodo proposto, il saggio ABTS, il saggio DPPH, e il saggio ORAC.**

tecniche per avere una sua valutazione il più esauriente possibile.

## 7.6 Analisi di estratti di Aronia Melanocarpa

L'Aronia Melanocarpa (Figura 28) è una specie di arbusto deciduo della famiglia delle Rosacee, nativo della costa est del Nord America. Le sue bacche presentano un elevato contenuto in composti antiossidanti e per tale ragione vengono utilizzate per la produzione di bevande nutraceutiche.



Figura 28. Aronia Melanocarpa

Vari estratti idroalcolici ottenuti dall'Aronia Melanocarpa, gentilmente forniti dal gruppo del professor Krasimir del Politecnico di Lille (Laboratoire des Procédés Biologiques Génie Enzymatique et Microbien) sono stati analizzati con il metodo proposto e il saggio DPPH (Tabella 14). Per l'estratto acquoso i risultati mostrano che i valori di indici TEAC, determinati con i due saggi, sono dello stesso ordine di grandezza suggerendo una buona correlazione tra i due metodi. Invece gli estratti idroalcolici (Etanolo: 25 % e 50 %, V/V) presentavano capacità di scavenging, determinate con l'elettrodo GC-pfen-TEAC, molto elevate, quasi di due ordini di grandezza superiori, rispetto alla capacità antiossidante determinata con il saggio DPPH. Questo risultato non è sorprendente considerando che l'alcol etilico presenta un'elevata costante cinetica di reazione con il radicale OH ( $\sim 2,0 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ); perciò, data l'elevata concentrazione con cui è presente negli estratti, ha sicuramente interferito positivamente con la determinazione.

Tabella 14.Indici TEAC determinati con il metodo proposto e il saggio DPPH

Campione	% etanolo	Indice GC-pfen- TEAC ( $\mu\text{mol/L}$ )	Indice DPPH-TEAC ( $\mu\text{mol/L}$ )
23112	0	$9,8 \times 10^3$	$5,3 \times 10^3$
12112	25	$1,4 \times 10^5$	$8,4 \times 10^3$
30911	50	$3,3 \times 10^5$	$6,7 \times 10^3$

## 7.7 Bibliografia

<sup>1</sup> M. Antolovich, P. D. Prezler, E. Patsalides, S. McDonald, K. Robards, *The Analyst*, 2002, 127, 183

<sup>2</sup> A. Ghiselli, M. Serrafini, F. Natella, C. Scaccini, *Free Rad. Biol. Med.* 1993, 14, 303

# **ELETTRODI MODIFICATI PER LA DETERMINAZIONE DI MOLECOLE SONDA UTILIZZABILI PER RIVELARE IL RADICALE OH**

I prossimi capitoli riguardano lo sviluppo di elettrodi di Pt modificati con LDH a base di Co/Al, impiegati per la determinazione di molecole sonda utilizzabili per la rivelazione del radicale OH. Verrà descritto, in modo approfondito, lo studio delle condizioni di elettrosintesi dell' LDH, utilizzate per la modifica dell'elettrodo, con particolare enfasi all'effetto del trattamento preliminare della superficie del Pt. Le condizioni di sintesi messe a punto per l'LDH a base di Co/Al sono state estese alla preparazione di LDH con catione bivalente differente dal cobalto.

Successivamente verranno paragonate le prestazioni analitiche nella determinazione di anilina e fenolo di elettrodi modificati con LDH a base di Co/Al, ottenuti da platino pretrattato per via meccanica o elettrochimica. Per questi due analiti sono state anche determinate le costanti cinetiche della reazione di ossidazione elettrocatalizzata dai siti attivi di Co. Infine verranno presentati i risultati ottenuti con un particolare elettrodo che si è rivelato quello più adatto per sviluppare un sensore per la determinazione dell'acido salicilico, la molecola sonda più impiegata per la rivelazione del radicale OH.

# STUDIO DELL'ELETTRODEPOSIZIONE SU ELETTRODI DI Pt DI FILM DI LDH E LORO CARATTERIZZAZIONE

A causa delle loro proprietà di scambio ionico e dell'ampia flessibilità strutturale, gli LDH trovano ampie applicazioni tecnologiche, in qualità, ad esempio, di precursori per rivestimenti e catalizzatori, struttura ospitanti di foto attivatori e foto catalizzatori e scambiatori di ioni. Recentemente questi materiali sono stati impiegati anche per applicazioni di tipo elettrochimico, ad esempio nei dispositivi di stoccaggio di energia, come supercapacitori ed in applicazioni analitiche come modificanti elettrodi per la messa a punto di sensori amperometrici, potenziometrici e biosensori. La preparazione dei dispositivi impiegati per questi ultimi scopi può avvenire modificando la superficie di un materiale conduttore, attraverso spin-coating o drop casting, con l'LDH preparato in bulk.

Negli ultimi anni è stata sviluppata una procedura<sup>1,2</sup> "one-step" per preparare film sottili di LDH, che prevede l'elettrosintesi diretta, unificando così la fase di sintesi con quella di modificazione dell'elettrodo. La procedura si basa sulla generazione elettrochimica di ioni OH<sup>-</sup> attraverso la riduzione degli ioni nitrato e dell'acqua secondo le reazioni:

- $\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2 + 2 \text{OH}^-$
- $\text{NO}_3^- + 7 \text{H}_2\text{O} + 8\text{e}^- \rightarrow \text{NH}_4^+ + 10 \text{OH}^-$
- $\text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + 2 \text{OH}^-$

L'aumento locale del pH, conseguente alle reazioni indicate, fa precipitare l'LDH sulla superficie elettrodica.

I principali vantaggi di questa metodica sono: rapidità di sintesi, buone omogeneità ed adesione del film di modificante elettrodico, buon controllo dello spessore del film tramite i parametri che definiscono le condizioni di elettrosintesi. È importante ricordare che i materiali ottenuti con l'elettrodeposizione sono, solitamente, poco cristallini<sup>3</sup>.

Considerando che la cinetica di precipitazione di questi idrossidi è conosciuta solo a livello qualitativo e che sono coinvolte un gran numero di reazioni, la ricerca delle condizioni ottimali di sintesi avviene solitamente per via empirica, variando parametri quali il potenziale ed il tempo di elettrodeposizione, l'elettrolita di supporto, la cui riduzione porta alla formazione degli ioni idrossido, e la temperatura.

In taluni casi, come ad esempio nella preparazione dell'LDH a base di Zn/Al su superfici trattate meccanicamente, le condizioni di sintesi ottimali richiedono l'applicazione di una forte sovratensione catodica (- 1,4 V vs Ag/AgCl) per avere la formazione preferenziale della fase LDH<sup>4</sup>.

Tuttavia a tali potenziali è difficile evitare completamente reazioni parassite, quali la riduzione del metallo o la formazione di altre fasi.

È noto che particolari trattamenti possono alterare la superficie del materiale elettrodo, aumentandone le proprietà elettrocatalitiche. Dato che la riduzione dello ione nitrato è una reazione cineticamente lenta, sono state condotte diverse elettrodeposizioni su superfici di Pt trattate e i film ottenuti sono stati caratterizzati con diffrazione a raggi X per polveri, spettroscopia IR e voltammetria ciclica al fine di valutare come la differente attività elettrodica possa influenzare l'elettrosintesi.

## 9.1 Effetto del pretrattamento della superficie di Pt

Le superfici di platino su cui è stata condotta l'elettrosintesi sono state sottoposte a tre diversi trattamenti:

- trattamento meccanico (MT): consiste in

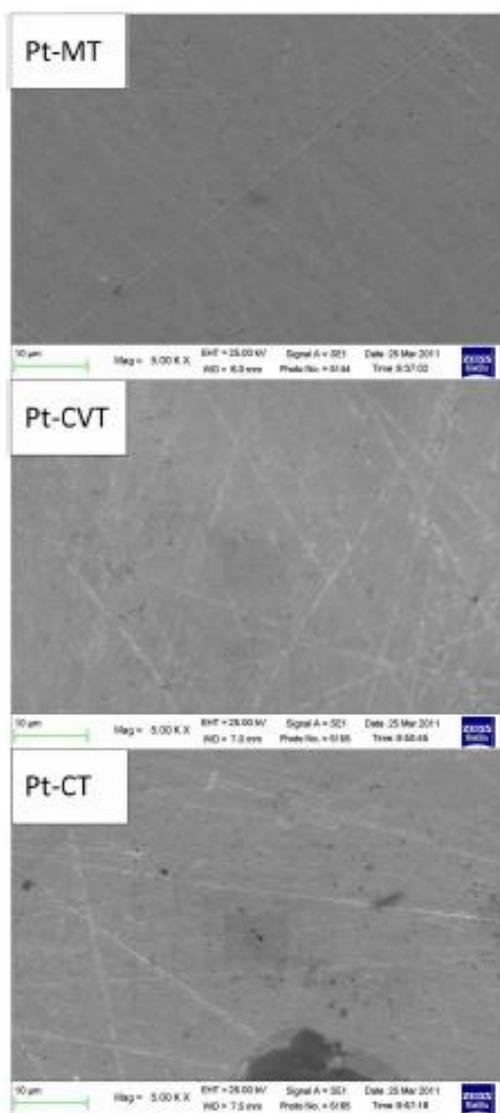


Figura 29. Fotografie SEM delle superfici di Pt sottoposte ai tre pretrattamenti.

una semplice pulizia per abrasione con carta vetrata, seguita da una lappatura con una sospensione di allumina;

- trattamento per voltammetria ciclica (CVT): è un trattamento elettrochimico per cui si sottopone l'elettrodo a 250 cicli di voltammetria ciclica in acido solforico 0,1 M;
- Trattamento catodico (CT): all'elettrodo Pt-CVT, immerso in acido solforico 1 M, viene applicato un potenziale altamente catodico (-0.9 V) per 60 s.

Le immagini SEM (Figura 29) degli elettrodi sottoposti ai tre pretrattamenti mostrano che non ci sono differenze morfologiche significative tra le superfici del Pt-MT e quella Pt-CVT. Invece la polarizzazione catodica induce la formazione di difetti e fori di circa 1  $\mu\text{m}$  che risultano ben visibili sull'elettrodo Pt-CT, analogamente a quanto già riportato da Diaz et al.<sup>5</sup>.

Il comportamento elettrochimico delle superfici di Pt è stato studiato con voltammetria ciclica in acido solforico 0,1 M (Figura 30). I voltammogrammi suggeriscono che il trattamento CVT produce un aumento dell'area elettroattiva, come evidenzia l'incremento dell'area dei picchi relativi all'adsorbimento e desorbimento dell'idrogeno (I', II' and I, II) che, inoltre, appaiono anche più definiti. Il voltammogramma relativo al Pt-CT presenta invece forti differenze rispetto a quelli del Pt-CVT e Pt-MT: la corrente dei picchi relativi all'idrogeno diminuisce e i processi ad essi collegati decorrono a un potenziale meno catodico; la zona relativa alla formazione degli ossidi di platino (III e IV) appare profondamente mutata, con la comparsa di nuovi picchi a un potenziale di circa +0,4 V

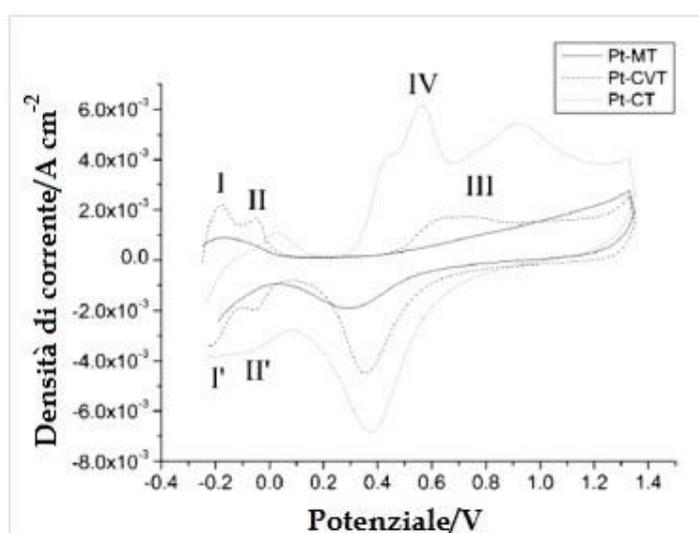


Figura 30 Voltammogramma (primo ciclo) registrato sulle superfici trattate in acido solforico 0,1 M con una velocità di scansione di 1 V s<sup>-1</sup>.

e +1,2 V. Anche questi risultati sono in accordo con le osservazioni di Diaz et al.<sup>5</sup>, che hanno riportato come sulla superficie del platino, dopo una polarizzazione catodica, si formino nuovi siti attivi che ne modificano profondamente le proprietà elettrochimiche. Il picco osservato a + 1,2 V, analogo a quello osservato per Pt disperso su superfici di Teflon, è stato attribuito alla ricostruzione dello strato di ossido superficiale. Infine la diminuzione dell'area elettroattiva è causata dall'adsorbimento di composti solforati che si formano dalla riduzione del solfato, e che, di conseguenza, impediscono l'adsorbimento dell'idrogeno. Queste alterazioni della superficie di Pt sono reversibili; infatti la forma originale del voltammogramma, analoga a quella registrata per il Pt-CVT, può essere ripristinata sottoponendo l'elettrodo a centinaia di cicli di potenziale.

Infine è stata studiata l'attività elettrocatalitica dei vari elettrodi di Pt verso la riduzione dello ione nitrato, dato che da questa reazione si generano gli ioni idrossido, necessari alla precipitazione dell'LDH. La Figura 31 mostra i voltammogrammi registrati in  $\text{KNO}_3$  0,3 M. Il responso degli elettrodi pretrattati elettrochimicamente (Pt-CVT e Pt-CT) appare differente da quello ottenuto per il Pt-MT: possiamo osservare che sono presenti delle nuove onde attribuite a processi redox che coinvolgono il nitrato ed i suoi prodotti di riduzione. In particolare, il nuovo picco anodico a circa -0,4 V, che è più intenso per il Pt-CT, è stato associato all'ossidazione dell'ammoniaca ad azoto molecolare, mentre l'onda catodica osservata a partire da -0,3 V è stata attribuita alla riduzione del nitrato a nitrito, ossidi di azoto, azoto molecolare e ammoniaca<sup>6</sup>. Gli stessi processi avvengono

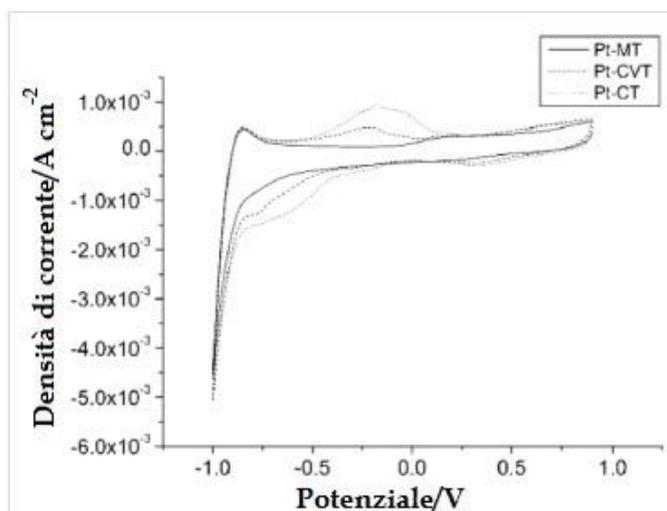


Figura 31 Voltammogrammi (primo ciclo) registrati ad elettrodi di Pt pretrattati, in  $\text{KNO}_3$  0,3 M. velocità di scansione =  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ .

anche sull'elettrodo Pt-MT, ma in modo trascurabile.

L'evidenza sperimentale più interessante per i nostri scopi è la diminuzione della sovratensione necessaria a far decorrere la riduzione del nitrato, in seguito all'applicazione di trattamenti più estremi. Il potenziali a cui si osserva l'inizio del processo per il Pt-MT, Pt-CVT e Pt-CT sono rispettivamente -0,7, -0,5 , e -0,3 V, suggerendo che la riduzione del nitrato decorra più facilmente agli elettrodi che hanno subito un trattamento elettrochimico. È importante, infine, osservare che la forte corrente catodica che si osserva a circa -1,0 V è dovuta alla riduzione dell'idrogeno e non sembra essere influenzata dal trattamento della superficie elettrodica.

## 9.2 Elettrodeposizione di film di LDH a base di Co/Al su superfici Pt pretrattate

È stata studiata l'elettrodeposizione di LDH a base di cobalto e alluminio su superfici di platino che hanno subito il pretrattamento MT, CVT e CT, con una microbilancia elettrochimica al cristallo di quarzo (EQCM). L'elettrosintesi è stata condotta in una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5mM,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM e  $\text{KNO}_3$  0.3 M applicando all'elettrodo un potenziale di -0,9 V, e i film prodotti sono stati caratterizzati tramite voltammetria ciclica, microscopia ottica, SEM e microscopia a forza atomica (AFM).

I massogrammi (Figura 32 A), registrati con EQCM durante l'elettrodeposizioni dell'LDH,

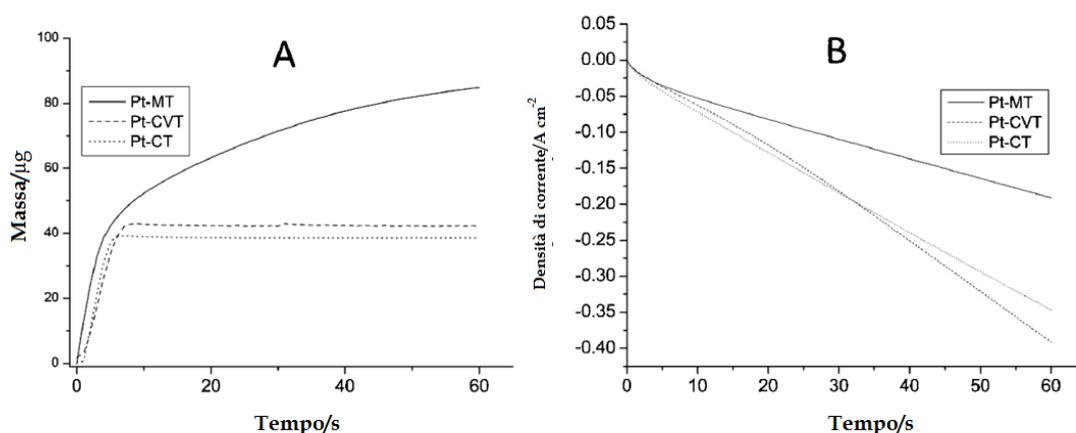


Figura 32. Andamento della massa (A) e della carica (B) registrate per l'elettrodeposizione di film di LDH a base di Co e Al su elettrodi di platino pretrattati per via meccanica e elettrochimica.

**Tabella 15. Parametri caratteristici dei film di LDH a base di Co e Al, depositati su superfici di Pt sottoposte precedentemente a differenti trattamenti.**

	Spessore del film (nm)	Massa deposita ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )*	Densità apparente ( $\text{g cm}^{-3}$ )	Carica di deposizione ( $\text{C cm}^{-2}$ )*	Carica di caratterizzazione ( $\text{C cm}^{-2}$ )*
Pt-MT	356	$62.5 \pm 4.3$	1,8	$0.190 \pm 0.003$	$(1.7 \pm 0.3) \pm 10^{-2}$
Pt-CVT	120	$29.2 \pm 1.4$	2,4	$0.398 \pm 0.001$	$(3.9 \pm 0.3) \pm 10^{-3}$
Pt-CT	60	$28.9 \pm 2.4$	4,8	$0.37 \pm 0.02$	$(2.0 \pm 0.4) \pm 10^{-3}$

\*Media  $\pm$  deviazione standard ottenuta da cinque misurazioni

indicano che la quantità di materiale prodotto è dipendente dal trattamento che ha subito la superficie elettrodica. In tutti i casi esaminati si osservava un repentino incremento della massa dopo l'applicazione dell'impulso di potenziale, ma per gli elettrodi Pt-CT e Pt-CVT la precipitazione dell'idrossido si arrestava dopo pochi secondi e l'EQCM registrava, per la restante durata dell'esperimento, un segnale costante. Al contrario per il Pt-MT si osservava un incremento di massa per tutta la durata dell'esperimento.

Durante la precipitazione, il valore assoluto di carica elettrica che fluiva all'elettrodo in funzione del tempo (Figura 32 B) è crescente per tutti gli elettrodi, il che indica che il comportamento osservato per il Pt-CVT e Pt-CT non è dovuto ad una cinetica elettrodica che rallenta le reazioni di riduzione, responsabili dell'incremento locale di pH. I valori di carica totale registrati agli elettrodi Pt-MT, Pt-CVT e Pt-CT sono, rispettivamente, 0.190, 0.398 e 0.37  $\text{C cm}^{-2}$ . L'andamento osservato può essere spiegato considerando i processi che avvengono all'elettrodo al potenziale a cui viene fatta decorrere l'elettrosintesi, già descritti nella sezione 9.1: per l'elettrodo Pt-MT il processo principale è la riduzione dell'idrogeno che coinvolge solamente 2 elettroni, mentre per il Pt-CVT e il Pt-CT avviene anche la reazione di riduzione del nitrato che, coinvolgendo un numero più elevato di elettroni, comporta un maggiore valore di carica registrata.

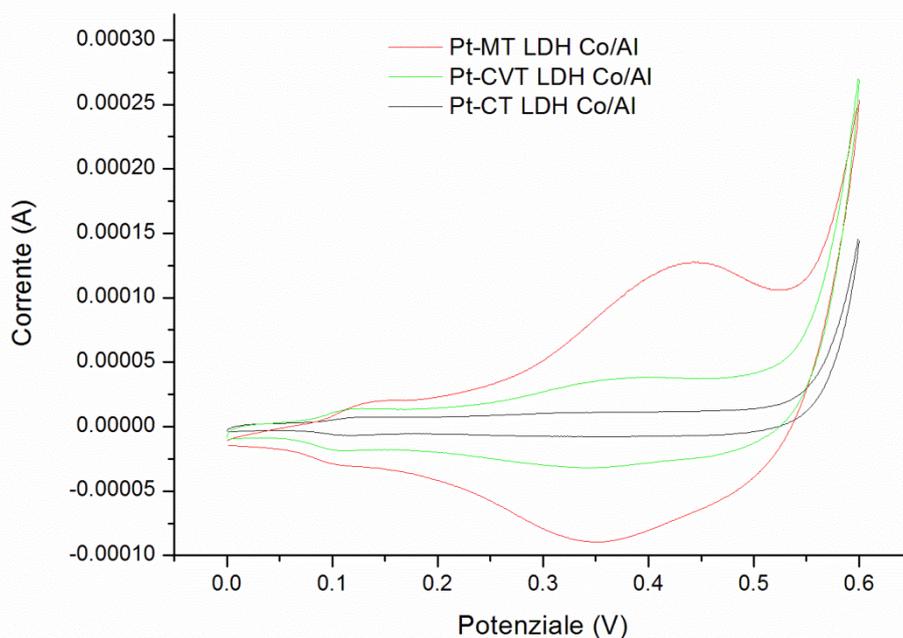
Il particolare andamento della massa depositata in funzione del tempo per gli elettrodi Pt-CVT e Pt-CT non può essere spiegato considerando solo i semplici dati raccolti durante l'elettrodeposizione. Per tale ragione, questa discussione sarà affrontata una volta descritta anche la caratterizzazione morfologica ed elettrochimica dei film ottenuti.

Con un microscopio a forza atomica sono stati indagati film parzialmente degradati con acido ed è stato possibile calcolarne lo spessore (Tabella 15). Il film ottenuto per l'elettrodo Pt-CT era il più sottile mentre quello che ricopriva il Pt-MT presentava lo spessore maggiore. Dai valori di spessore e dalla massa depositata è stato possibile calcolare la densità apparente dei film. Considerando che la densità intrinseca del materiale è indipendente dal tipo di deposizione, i differenti valori di densità calcolata sono dovuti a spazi vuoti presenti nel materiale. Possiamo perciò concludere che il film più compatto è quello ottenuto per l'elettrodo Pt-CT, seguito dal Pt-CVT e dal Pt-MT.

La caratterizzazione in voltammetria ciclica è stata condotta in NaOH 0,1 M con una velocità di scansione di  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ : per tutti i tre elettrodi modificati, durante il primo ciclo, si osservava un picco di ossidazione irreversibile, che è stato attribuito per Pt-MT LDH Co/Al alla formazione di una fase  $\gamma\text{-Co}_{1-x}\text{Al}_x\text{OOH}^3$  in cui la maggior parte dei centri di Co(II) è stata parzialmente ossidata. Nei cicli successivi il segnale risultava essere stabile e presentava due processi redox che sono stati attribuiti:

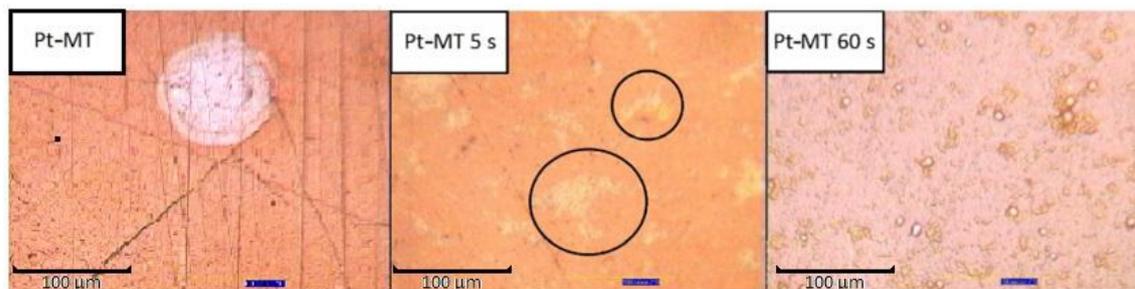


I valori di carica associata ai processi redox che coinvolgono i siti di cobalto sono riportati in tabella. E' possibile osservare come la carica sia praticamente doppia per il Pt-CVT LDH Co/Al rispetto agli altri due elettrodi, benché la massa depositata sugli elettrodi sottoposti ai pretrattamenti CVT e CT sia quasi uguale. Questo risultato può essere spiegato considerando la diversa accessibilità ai siti attivi da parte degli ioni idrossido, che devono diffondere/migrare nell'argilla per mantenerne l'elettroneutralità, durante le reazioni redox che coinvolgono i siti di cobalto. Il materiale depositato su Pt-CT risulta essere più compatto di quello preparato su Pt-CVT e, quindi, tale compattezza ostacola maggiormente la diffusione/migrazione degli ioni ossidrili.



**Figura 33.** Voltammogrammi di caratterizzazione registrati in NaOH 0,1 M (velocità di scansione =  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ; secondo ciclo) di film di LDH a base di Co/Al, elettrosintetizzati su superfici di platino pretrattate per via meccanica o elettrochimica.

La differente compattezza del film sugli elettrodi elettrochimicamente trattati può essere attribuita alla differente morfologia del platino sottostante, che è rugoso e pieno di fori e, quindi, garantisce una forte interazione Pt-film ed, allo stesso tempo, un'efficiente copertura della superficie. Le immagini raccolte con microscopia ottica mostrano che il film ottenuto sull'elettrodo Pt-MT risultava meno compatto (Figura 34 Pt-MT), presentando una maggiore quantità di fori, probabilmente causati dall'evoluzione dell'idrogeno durante l'elettrosintesi. Per confermare questa ipotesi è stata seguita la cinetica di formazione del film con microscopia ottica, fotografando la superficie dell'elettrodo dopo 5 e 60 s dall'applicazione dell'impulso di potenziale catodico. Le immagini mostrano che tutta la superficie del Pt-MT era completamente coperta dopo 5 s (Figura 34 Pt-MT 5 s), ma non in maniera uniforme: si evidenziano, infatti, numerose aree in cui il film di LDH è molto sottile, perché, probabilmente, il desorbimento dell'idrogeno è stato più lento in queste zone. Dopo 60 s (Figura 34 Pt-MT 60 s) si osservavano, invece, particelle di circa  $10 \mu\text{m}$  di diametro, distribuite casualmente sulla superficie elettrodica. Abbiamo ipotizzato che queste particelle siano cresciute nelle aree che nella fotografia a 5 s mostravano uno spessore minore, in quanto vi era una minore resistenza alla diffusione dello ione idrossido dalla superficie elettrodica.



**Figura 34.** Immagini al microscopio ottico di Pt-MT LDH Co/Al raffiguranti una parte scoperta di elettrodo, probabilmente causata da una bolla di  $H_2$  (Pt-MT), un film prodotto da un'elettrodeposizione di 5 s in cui sono presenti delle parti scoperte (Pt-MT 5 s) ed il film prodotto da un'elettrodeposizione di 60 s in cui sono ben visibili le particelle di circa  $10 \mu m$  (Pt-MT 60 s).

La formazione di un film compatto che impedisca il trasferimento di massa dello ione idrossido dalla superficie dell'elettrodo alla soluzione, potrebbe spiegare l'arresto della precipitazione di LDH dopo 5 s per gli elettrodi Pt-CVT e il Pt-CT. Per provare questa ipotesi sono state seguite con EQCM su un elettrodo Pt-CT due elettrodeposizioni in serie, nelle stesse condizioni sperimentali. Il risultato ottenuto va contro questa ipotesi in quanto, nella seconda deposizione, si osservava un aumento di massa analogo a quella registrato per la prima. Di conseguenza l'arresto della deposizione, evidenziato nei massogrammi, non era dovuto a un impedimento al trasferimento di massa, causato dalla formazione del film di LDH.

In accordo con i dati sperimentali ottenuti, abbiamo proposto la seguente spiegazione: durante i primi 5 s dall'applicazione del potenziale, il film di LDH precipita su ogni tipologia di elettrodo e, come confermato dalla Figura 32 B, la produzione dell' $OH^-$  continua in tutti i casi esaminati. Tuttavia per gli elettrodi Pt-CVT e Pt-CT la generazione di  $OH^-$  è molto grande e, di conseguenza, si genera un pH locale molto elevato, superiore a quello osservato per il Pt-MT, che porta alla formazione di ioni alluminato. Pertanto l' $Al^{3+}$  necessario per la formazione della LDH non è più disponibile e si osserva un arresto della reazione di precipitazione.

Le prestazioni analitiche nella determinazione dell'anilina e del fenolo degli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al, Pt-CVT LDH Co/Al e Pt-CT LDH Co/Al saranno confrontate nel capitolo 10.

## **9.3 Studio dell'effetto del potenziale di elettrodeposizione nella preparazione dell'LDH a base di Co/Al**

Dalle prove effettuate è evidente che la riduzione dello ione nitrato può decorrere anche a potenziali inferiori a quelli solitamente utilizzati per la preparazione dell'LDH su elettrodi Pt-MT ed, allo stesso tempo, è emerso che per gli elettrodi pretrattati elettrochimicamente, l'elevata velocità di produzione dello ione  $\text{OH}^-$  può bloccare l'elettrosintesi dell'LDH a base di Co/Al dopo pochi secondi dall'applicazione dell'impulso di potenziale. Di conseguenza, l'elettrosintesi di un LDH a base di Co/Al è stata condotta su un elettrodo Pt-CVT a vari potenziali (-0,60; -0,75; -0,90 V), per comprendere come questo parametro abbia influenza sul processo di deposizione.

Diversamente da quanto osservato per il potenziale di -0,90 V, i massogrammi (Figura 35) registrati applicando un potenziale di -0,75 e -0,60 V mostravano un andamento crescente della massa registrata sulla superficie dell'elettrodo per tutta la durata dell'impulso di potenziale. La maggiore quantità di massa depositata è stata registrata per l'elettrodeposizione a -0,75 V, mentre per -0,60 V si osservava la minore quantità. I valori di densità di carica (Figura 35) che fluivano all'elettrodo durante l'elettrosintesi condotte a -0,90, -0,75 e -0,60 V erano, rispettivamente, 0,398, 0,152 e 0,047 C cm<sup>-2</sup>.

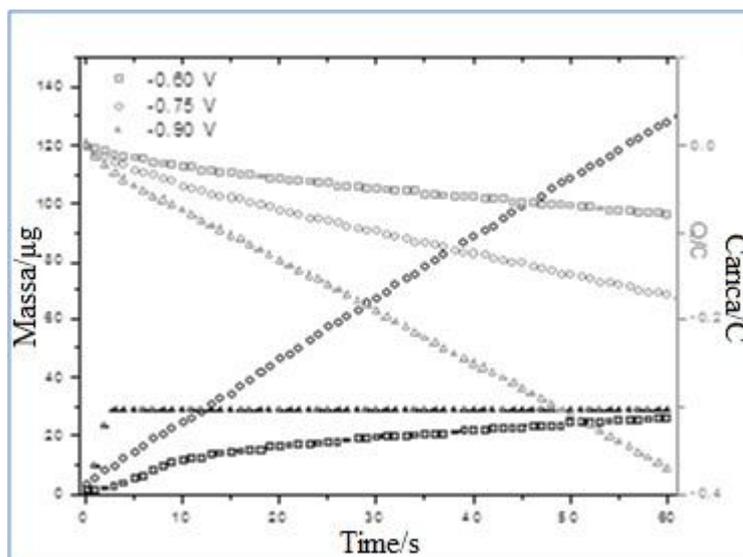


Figura 35. Andamento della massa e della carica registrate per le elettrodeposizioni di film di LDH a base di Co/Al, su elettrodi di Pt-CVT, condotte a -0,9, -0,75 e -0,6 V.

Le immagini SEM (Figura 36) mostrano che i materiali prodotti hanno una morfologia spugnosa e porosa, anche se il film preparato a -0,90 V sembra essere più compatto. La migliore copertura elettrodica si verifica con l'applicazione di un impulso di potenziale di -0,75 V, mentre agli altri potenziali gli altri elettrodi risultano parzialmente scoperti. Dall'analisi EDX dei film risulta che il rapporto molare  $\text{Co}^{2+}/\text{Al}^{3+}$  era pari a 2,40, 2,13 e 2,90 per i film preparati rispettivamente a -0,90, -0,75 e -0,60 V.

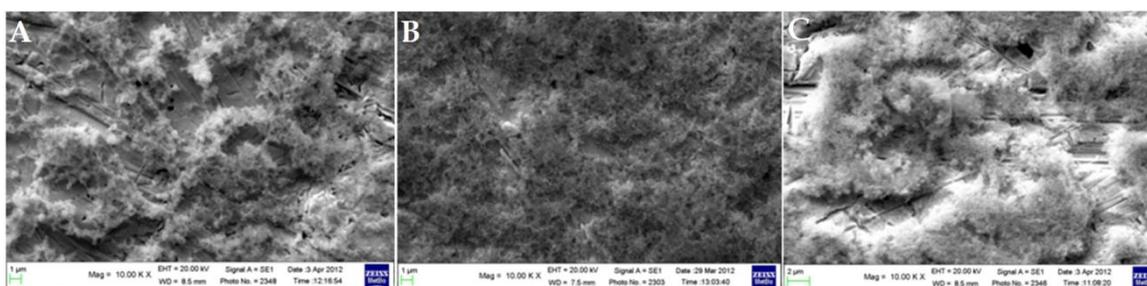


Figura 36. Immagini SEM dei film di LDH a base di Co/Al preparati con elettrodeposizioni su elettrodi di Pt-CVT, condotte a -0,6 V (A), -0,75 (B) e -0,9 (C).

Nella caratterizzazione con voltammetria ciclica, condotta in NaOH 0,1 M anche in questo caso è stato osservato un processo di ossidazione irreversibile, dopo di che i voltammogrammi sono risultati stabili per i successivi 100 cicli. Tali voltammogrammi sono riportati in Figura 37. Si può osservare come nel caso dei LDH depositati a -0,75 e -0,90 V, il voltammogramma presenti due sistemi di picchi reversibili, mentre per il materiale depositato a -0,60 V si osserva semplicemente un processo redox a circa + 0,40 V. Le cariche di caratterizzazione associate ai processi redox che

coinvolgono i siti di cobalto sono risultate pari a  $2,4 \times 10^{-3}$ ,  $8,56 \times 10^{-3}$  e di  $3,9 \times 10^{-3} \text{ C cm}^2$  per gli elettrodi modificati con un elettrodeposizione condotta rispettivamente a  $-0,6$ ,  $-0,75$  e  $-0,90 \text{ V}$ . I valori di carica e, quindi, il numero di siti di cobalto presenti nel film, mostrano lo stesso andamento della massa determinata con EQCM.

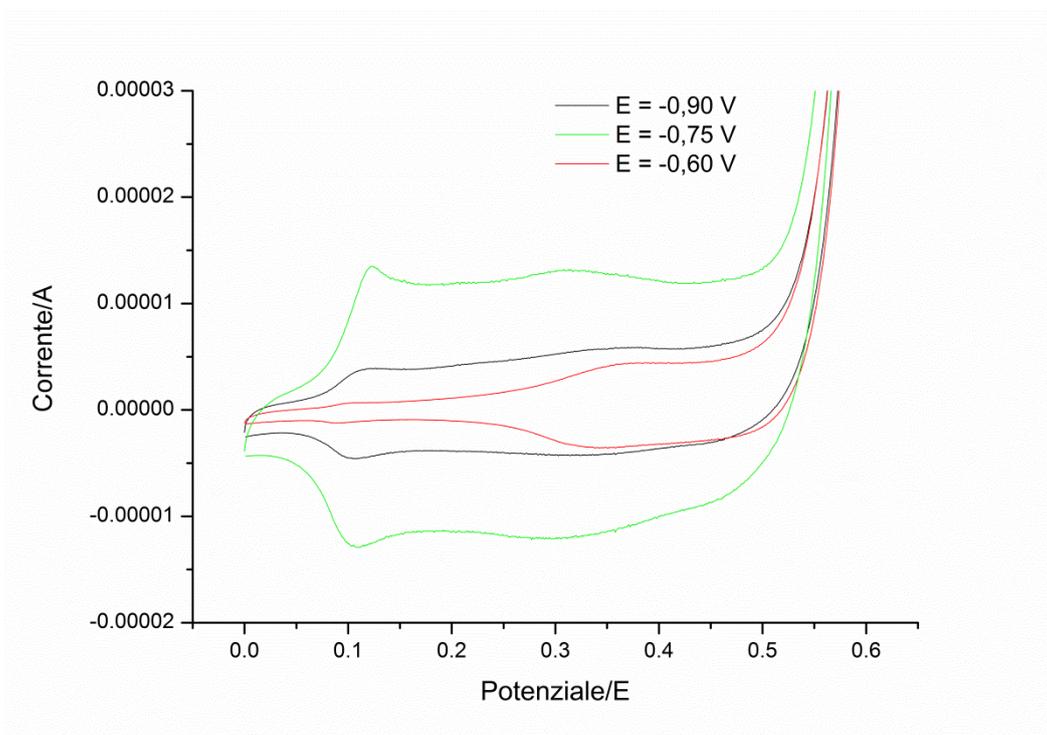


Figura 37. Voltammogrammi di caratterizzazione, registrati in NaOH 0,1 M (velocità di scansione =  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ; secondo ciclo), dei film di LDH a base di Co/Al elettrosintetizzati a  $-0,9$ ,  $-0,75$  e  $-0,6 \text{ V}$ , su superfici di Pt-CVT.

La caratterizzazione con diffrazione ai raggi X per polveri (PXRD) è stata effettuata per gli elettrodi preparati a  $-0,75$  e  $-0,90 \text{ V}$ , direttamente sulla superficie dell'elettrodo. Per l'elettrodo preparato a  $-0,60 \text{ V}$ , data la quantità molto esigua di materiale che si forma durante l'elettrodeposizione, è stato necessario ripetere numerose elettrosintesi ed asportare ogni volta il materiale dalla superficie elettrodica. Dal confronto dei diffattogrammi PXRD (Figura 38), raccolti per gli elettrodi modificati e per Pt-CVT, è stato possibile individuare i riflessi dovuti al modificante elettrodico. Nei diffattogrammi relativi ai tre materiali, derivanti dalle elettrosintesi condotte a potenziali diversi, sono presenti i riflessi tipici di LDH, associati ai piani cristallini 003, 006, 012 e 110 (Tabella 16). I riflessi associati al piano basale 003 sono compatibili con la formazione di un LDH in cui lo ione nitrato è intercalato nella zona intralamellare. I segnali con angolo  $2\theta$  pari  $23,6^\circ$ ,  $29,45^\circ$  e  $41,19^\circ$ , riscontrati nel diffattogramma del materiale sintetizzato

a -0,60 V, sono dovuti alla presenza di  $\text{KNO}_3$  e sono associati, rispettivamente, ai piani del reticolo cristallino 111, 012 e 220.

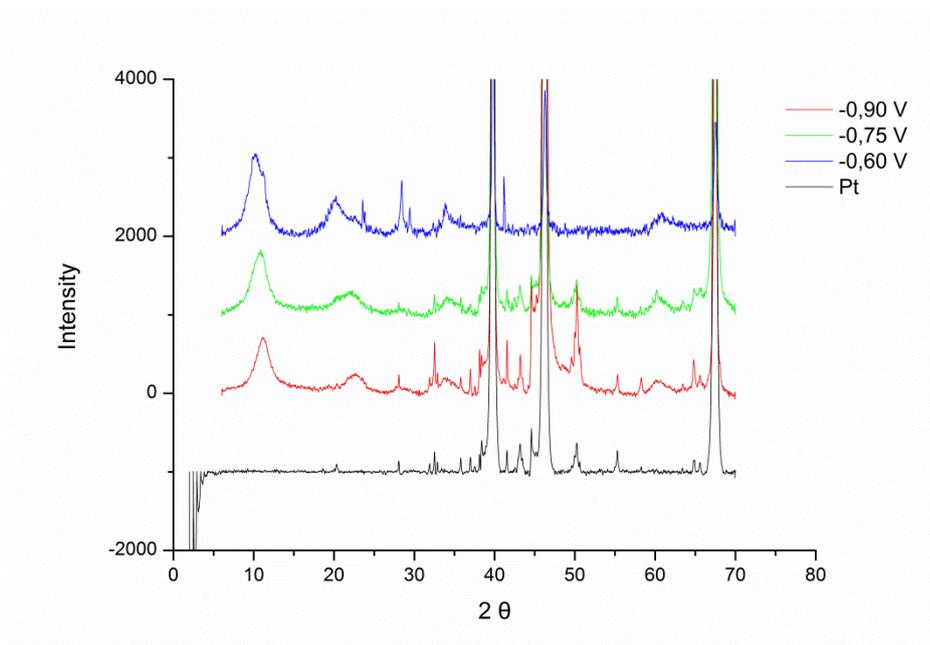


Figura 38. PXRD dei film di LDH a base di Co/Al, elettrosintetizzati a -0,9, -0,75 e -0,6 V su superfici di Pt-CVT.

Potenziale di elettrosintesi	Piani cristallini			
	003	006	012	110
-0,60 V	8,6 Å	4,4 Å	2,64 Å	1,52 Å
-0,75 V	8,1 Å	4,0 Å	2,60 Å	1,53 Å
-0,90 V	7,9 Å	3,9 Å	2,63 Å	1,54 Å

Tabella 16. Riflessi dei film di LDH a base di Co/Al, elettrosintetizzati a -0,9, -0,75 e -0,6 V, su superfici di Pt-CVT.

Gli spettri IR (Figura 39) mostrano le bande tipiche dei composti di tipo LDH. In particolare, la banda molto larga osservata a circa  $3500 \text{ cm}^{-1}$  è associata allo stretching del legame O-H, sia degli  $\text{OH}^-$  presenti nella struttura brucitica, sia dell'acqua incorporata nella struttura. La banda osservata a circa  $1620 \text{ cm}^{-1}$  è relativa al bending della molecola di  $\text{H}_2\text{O}$ , mentre le bande riscontrate per numeri d'onda inferiori a  $1000 \text{ cm}^{-1}$  sono relative allo stretching dei legami presenti nello strato

brucitico. Infine le bande osservate a 825, 1384, e 1750  $\text{cm}^{-1}$  sono dovute allo ione nitrato. È possibile osservare come il segnale relativo a tale ione sia molto più intenso nei materiali sintetizzati a -0,75 V e -0,90 rispetto a quello registrato per l'LDH preparato a -0,60 V. Dato che lo ione nitrato è intercalato nella struttura dell'argilla, la presenza nello spettro IR delle bande tipiche di tale specie è normale, tuttavia l'intensità delle bande riscontrate nei materiali prodotti a -0,75 e -0,90 V è troppo elevata rispetto a quanto riportato in letteratura. Probabilmente parte dello ione nitrato è rimasto intrappolato nell'argilla a causa di un lavaggio poco efficiente.

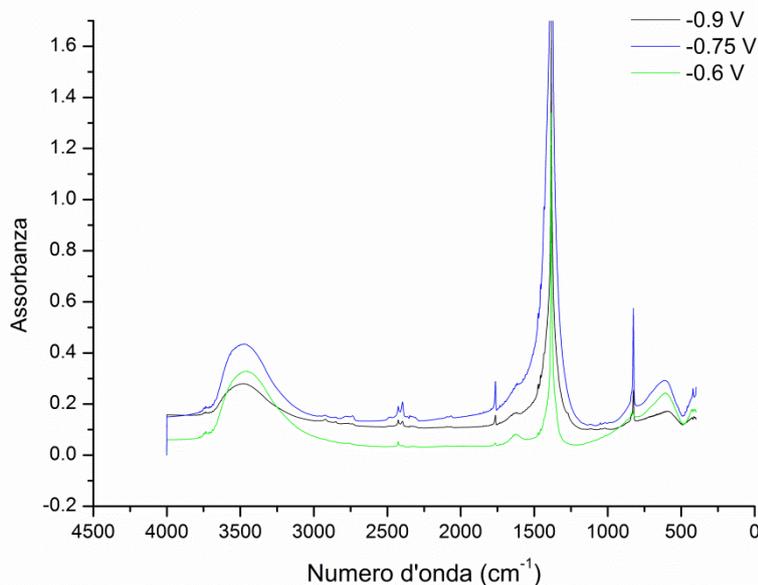


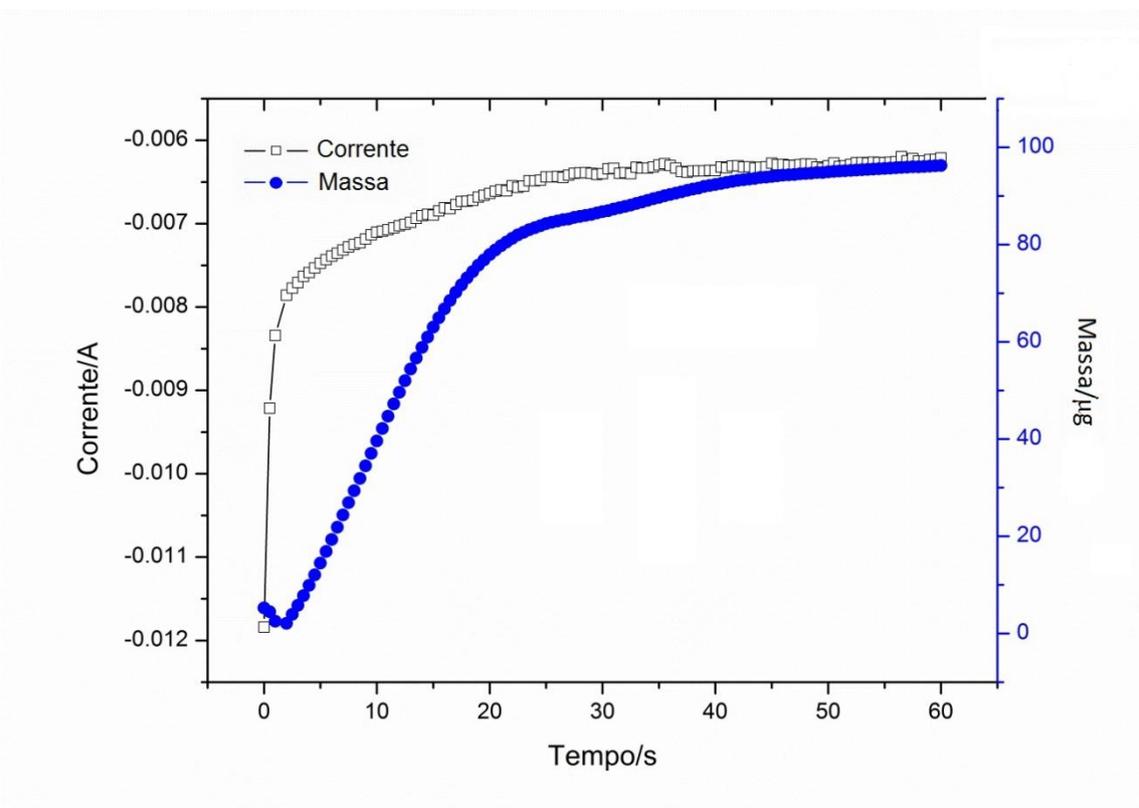
Figura 39. Spettri IR dei materiali LDH a base di Co/Al, elettrosintetizzati a -0,9, -0,75 e -0,6 V su superfici di Pt-CVT.

In conclusione, dall'analisi PXRD e IR dei materiali ottenuti, possiamo dire che, per tutti i tre potenziali impiegati nell'elettrosintesi, la fase che si è formata è una LDH a base di Co/Al, con intercalato lo ione nitrato.

## 9.4 Elettrodeposizione di un LDH a base di Co/Al su un elettrodo Pt-CT, in assenza di $\text{KNO}_3$

L'elettrosintesi dell'LDH è stata anche condotta su un elettrodo Pt-CT in una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5mM e  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM. Queste condizioni di sintesi differiscono da quelle precedenti in quanto nella soluzione di elettrodeposizione non è presente il  $\text{KNO}_3$ , che

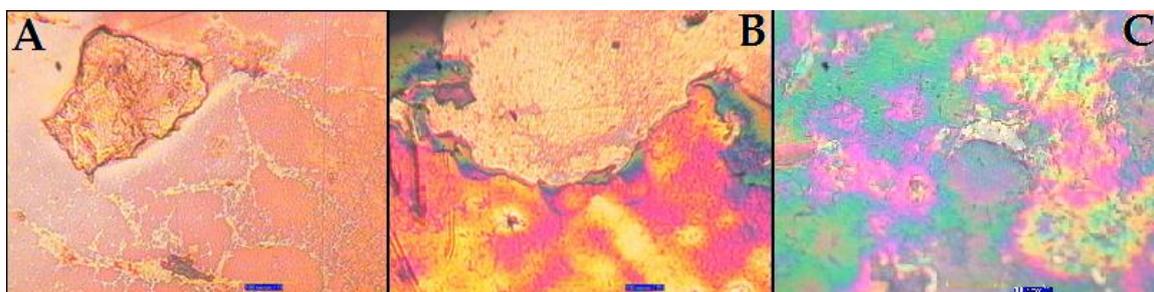
garantisce un eccesso di ioni nitrato per la produzione degli ioni  $\text{OH}^-$ , responsabili della precipitazione dell'LDH. È importante osservare che, quando presente, il  $\text{KNO}_3$  essendo in forte eccesso, può rimanere intrappolato nella struttura, rendendo praticamente impossibile la preparazione diretta di un LDH con un diverso anione intercalato. Il potenziale di sintesi ottimale per condurre l'elettrosintesi era compreso tra -1,2 e -0,9 V.



**Figura 40.** Andamento della massa e della carica, registrate durante l'elettrodeposizione ( $E = -1,2 \text{ V}$ ) condotta in una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5mM e  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM, di un film di LDH a base di Co/Al, su elettrodi di Pt-CT.

Il massogramma (Figura 40), registrato durante l'elettrosintesi, mostrava un andamento crescente per tutta la durata dell'impulso di potenziale, tuttavia a circa 25 s si notava una diminuzione della pendenza della curva. La massa depositata sull'elettrodo era pari a  $\sim 95 \mu\text{g}$ . La deposizione è stata seguita anche con microscopia ottica, fotografando i film depositati sull'elettrodo dopo un impulso di potenziale di -1,20 V, applicato per 7, 25 e 60 s. Per un tempo di elettrosintesi di 7 s (Figura 41 A), la superficie elettrodica era coperta da un film molto sottile e, in uno o due punti, era presente un deposito di dimensioni più consistenti. Dopo 25 s la superficie era quasi completamente coperta da un film più spesso (Figura 41 B). Infine, dopo un impulso di potenziale di 60 s, la superficie del platino era completamente coperta dall'argilla e non era possibile vedere il metallo sottostante (Figura 41 C). Dall'analisi delle fotografie si può ipotizzare

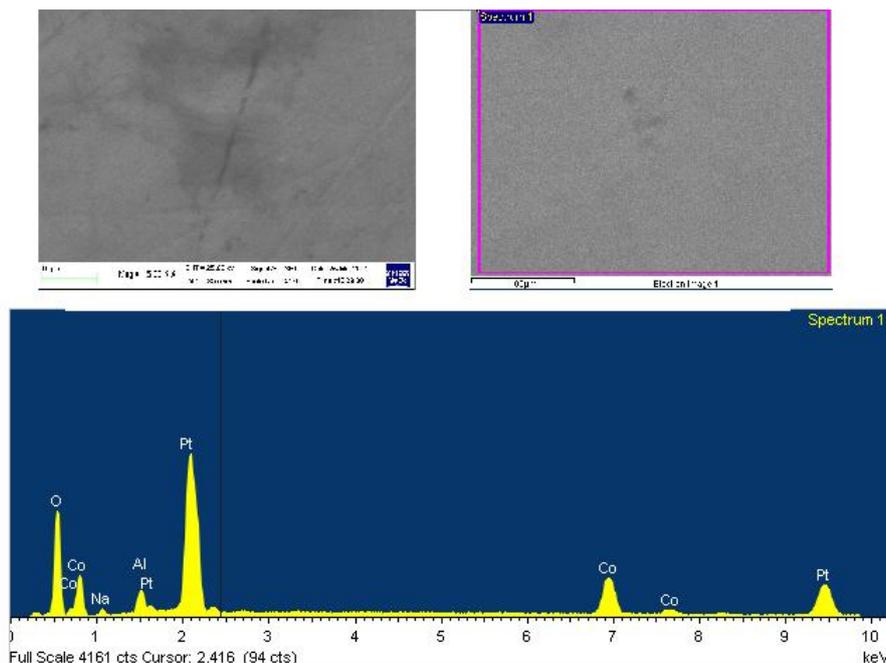
che l'LDH si formi inizialmente in uno o due punti della superficie del Pt; da questi centri poi il film cresce, fino a ricoprire completamente l'elettrodo. I dati ottenuti sono concordanti con il massogramma registrato con l'EQCM: finché gran parte della superficie elettrodica è praticamente scoperta non ci sono impedimenti al trasferimento di massa dalla soluzione alla superficie del Pt e la reazioni elettrodiche possono decorrere liberamente (massima pendenza della curva). Tuttavia, quando il film ricopre quasi completamente la superficie elettrodica (25 s) la resistenza al trasferimento di massa aumenta, rallentando la reazione di produzione dello ione  $\text{OH}^-$  e, di conseguenza, la velocità di precipitazione dell'LDH.



**Figura 41.** Fotografie di un elettrodo Pt-CT modificato con un LDH a base di Co/Al, ottenuto da un'elettrodeposizione ( $E = -1,20 \text{ V}$ ) condotta in una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5mM e  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM per 7 (A), 25 (B) e 60 s (C).

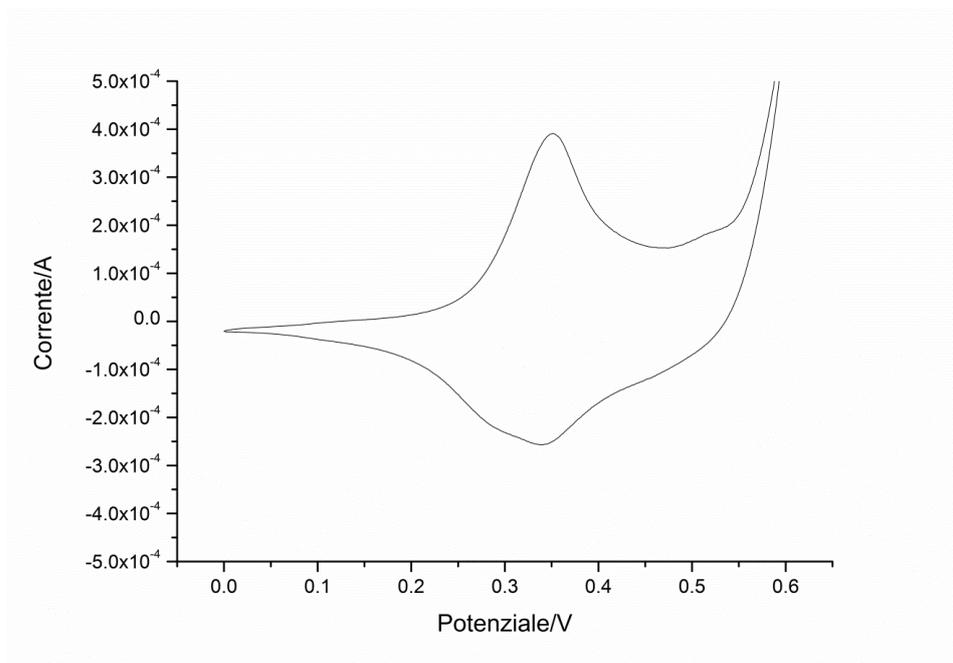
Il film prodotto presentava un'elevata stabilità meccanica ed era fortemente adeso alla superficie dell'elettrodo, anche se una quantificazione rigorosa di questa proprietà non è stata effettuata.

Le fotografie SEM (Figura 42) hanno mostrato che la superficie dell'elettrodo era completamente piana, indistinguibile dal platino sottostante. Solamente con l'analisi EDX è stato possibile confermare la formazione del film di LDH, in quanto la superficie analizzata risultava contenere, oltre al platino, anche gli elementi Co e Al, in rapporto molare  $\sim 3 : 1$ .



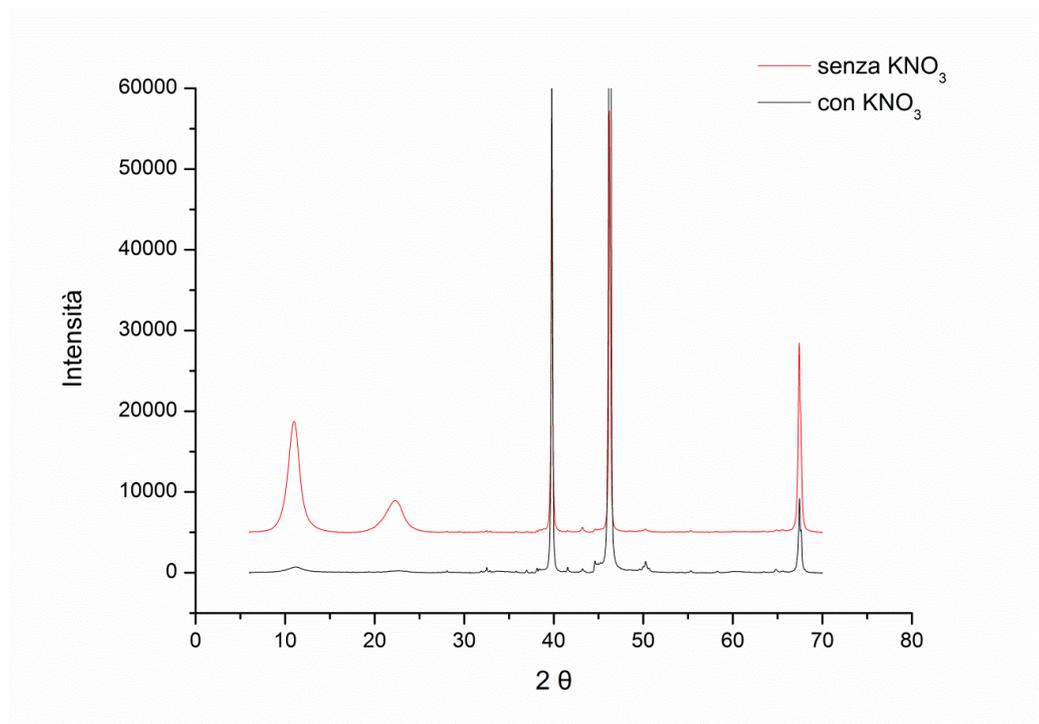
**Figura 42.** Immagini SEM e relativa analisi EDX di un elettrodo Pt-CT, modificato con un LDH a base di Co/Al, ottenuto da un'elettrodeposizione ( $E = -1,20$  V) condotta in una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5mM e  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM.

La caratterizzazione del film con voltammetria ciclica è stata condotta in  $\text{NaOH}$  0,1 M. Nel primo ciclo si osservavano due processi anodici irreversibili a + 0,18 V e +0,48 V ma, in quelli successivi, il voltammogramma (Figura 43) rimaneva stabile e presentava un solo processo redox reversibile, centrato a  $\sim +0,35$  V. La carica associata all'ossidazione dei siti di cobalto nel materiale elettrodepositato era di  $8,5 \times 10^{-2} \text{ C cm}^{-2}$ .



**Figura 43.** Voltammogramma di caratterizzazione registrato in NaOH 0,1 M (velocità di scansione =  $0,05 \text{ V s}^{-1}$ ; secondo ciclo) per un elettrodo Pt-CT modificato con un LDH a base di Co/Al, ottenuto da un'elettrodeposizione ( $E = -1,20 \text{ V}$ ) condotta in una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5mM e  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM.

Il diffrattogramma mostrava i riflessi tipici del materiale LDH a 8,0, 3,9 e 1,54 Å, relativi, rispettivamente, alla diffrazione dei piani cristallini 003, 006 e 110 della struttura degli LDH. I riflessi relativi ai piani basali 003 e 006 (Figura 44) sono molto intensi, se paragonati a quelli registrati per i materiali sintetizzati in presenza di  $\text{KNO}_3$ : questo comportamento può essere attribuito a una maggiore cristallinità del film prodotto o ad un'orientazione preferenziale dei cristalliti sulla superficie dell'elettrodo. Dall'analisi XRD non erano presenti altre fasi cristalline, oltre al platino e la fase LDH.



**Figura 44.** Diffratogrammi di raggi X registrati su due film di LDH elettrosintetizzati da una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5mM e  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM in assenza ed in presenza di  $\text{KNO}_3$ .

Lo spettro IR presentava le tipiche bande del materiale LDH, centrate a  $\sim 3400$ ,  $1621$ ,  $1384$ , e  $825 \text{ cm}^{-1}$ , già descritte per i materiali elettrosintetizzati in presenza di  $\text{KNO}_3$ . In questo caso i picchi relativi al nitrato erano molto meno intensi ed in linea con quelli riscontrati in letteratura.

## 9.5 Elettrosintesi di LDH a base di Zn/Al e Ni/Al in condizioni ottimizzate.

Le condizioni di sintesi ottimizzate per l'LDH a base di Co e Al sono state applicate alla sintesi di LDH in cui lo ione bivalente  $\text{Co}^{++}$  è stato sostituito da  $\text{Zn}^{++}$  o  $\text{Ni}^{++}$ .

### *Deposizione in presenza di $\text{KNO}_3$ 0,3 M*

L'elettrodeposizione è avvenuta applicando un potenziale di  $-0,9 \text{ V}$  all'elettrodo Pt-CVT immerso in una soluzione contenente  $\text{M}(\text{II})(\text{NO}_3)_2$  22,5 mM ( $\text{M}(\text{II}) = \text{Zn}, \text{Ni}$ ),  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7,5 mM e  $\text{KNO}_3$  0,3 M. Dai massogrammi è possibile osservare come la deposizione dell'LDH a base di Ni e Al segua un comportamento analogo a quello già osservato per l'LDH a base di Co/Al, in cui la deposizione si blocca dopo pochi secondi dall'applicazione dell'impulso di potenziale. Al contrario

la deposizione del'LDH a base di Zn/Al avviene per tutta la durata dell'impulso di potenziale. Le masse depositate per i film di LDH a base di Ni/Al e Zn/Al erano rispettivamente 43  $\mu\text{g}$  e 90  $\mu\text{g}$ .

Le analisi EDX, PXRD e IR hanno confermato la formazione di una fase LDH in entrambi i casi, tuttavia gli studi effettuati per valutare l'ampiezza dell'intervallo di potenziale, in cui è possibile ottenere la fase LDH, hanno mostrato che per potenziali meno catodici di - 0,9 V non si osserva la formazione di tale fase. È importante osservare come le condizioni di sintesi riportate in letteratura per la preparazione di film di LDH a base di Zn/Al prevedano potenziali molto più catodici (-1,40 V)<sup>4</sup> rispetto a quelli utilizzati per superfici di platino pretrattate per via elettrochimica, ed, allo stesso tempo, conducono a film in cui è presente una piccola quantità di ZnO.

### *Deposizione in assenza di $\text{KNO}_3$*

L'elettrodeposizione è avvenuta applicando un potenziale di -0,9 V all'elettrodo Pt-CVT immerso in una soluzione contenente  $\text{M(II)(NO}_3)_2$  22,5 mM (M(II) = Zn, Ni) e  $\text{Al(NO}_3)_3$  7,5 mM. Le caratterizzazioni PXRD e IR hanno confermato la formazione di una fase LDH, a conferma che queste condizioni di sintesi possono essere impiegate per la preparazione di altri LDH con ioni bivalenti diversi dal cobalto.

## **9.6 Considerazioni conclusive sull'elettrodeposizione di film di LDH**

L'elettrosintesi di vari LDH a base di Co/Al, Ni/Al e Zn/Al è stata condotta su varie superfici di Pt che hanno subito diversi pretrattamenti, al fine di variarne l'attività elettrocatalitica. Il processo di modifica è stato seguito con EQCM e microscopia ottica e i materiali prodotti sono stati caratterizzati con diffrazione di raggi X per polveri, spettroscopia IR e voltammetria ciclica. È stato osservato come il diverso pretrattamento della superficie elettrodica influisca sulle caratteristiche dei film ottenuti in termini di spessore, morfologia e di massa depositata. Le condizioni ottimizzate di elettrodeposizione su una superficie di Pt, pretrattata per via catodica, sono state impiegate per la preparazione di un elettrodo modificato con un LDH a base di Co/Al con

promettenti caratteristiche tecnologiche che, tuttavia, devono ancora essere completamente esplorate.

Inoltre i risultati ottenuti hanno mostrato come il pretrattamento elettrochimico della superficie di Pt sia uno strumento utile al fine di ottimizzare l'elettrosintesi di film di LDH, contenenti anche cationi bivalenti diversi dal Co.

## 9.7 Bibliografia

---

<sup>1</sup> E. Scavetta, A. Mignani, D. Prandstraller, D. Tonelli, *Chem. Mater.*, 2007, 19, 4523.

<sup>2</sup> E. Scavetta, B. Ballarin, M. Gazzano, D. Tonelli, *Electrochim. Acta*, 2009, 54, 1027

<sup>3</sup> E. Scavetta, B. Ballarin, C. Corticelli, I. Gualandi, D. Tonelli, V. Prevot, C. Forano, C. Mousty, *J. Power Sources*, 2012, 201, 360

<sup>4</sup> M. S. Yarger, E. M. P. Steinmiller, K.-S. Choi, *Inorg. Chem.*, 2008, 47, 5859.

<sup>5</sup> V. Diaz, J. O. Zerbino, M. E. Martins, M. G. Sustersic, C. F. Zinola, *J. Colloid Interf. Sci.*, 2007, 313, 232.

<sup>6</sup> M. Duca, M. O. Cucarella, P. Rodriguez, M. T. M. Koper, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, 132, 18042.

# CONFRONTO DELLE PRESTAZIONE ANALITICHE DEGLI ELETTRODI DI Pt PRETRATTATI E MODIFICATI CON LDH Co/Al

Gli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al, Pt-CVT LDH Co/Al e Pt-CT LDH Co/Al sono stati impiegati per la determinazione del fenolo e dell'anilina, due composti che possono essere utilizzati come molecole sonda per la rivelazione del radicale OH. È importante ricordare che la quantificazione di questi composti può essere interessante anche in ambito ambientale, perché sono inquinanti di notevole importanza per l'ambiente acquatico, data la loro elevata solubilità in acqua e la loro ampia diffusione. Infatti queste molecole sono "building blocks" sintetici dell'industria chimica: il fenolo è utilizzato nella produzione del bisfenolo A e delle resine fenoliche, mentre l'anilina è un importante precursore nella produzione del poliuretano. Dal punto di vista elettrochimico, la rivelazione di queste specie è interessante in quanto la loro ossidazione passiva i più comuni materiali elettrodi.

Le prestazioni analitiche dei diversi elettrodi modificati sono state confrontate in termini di sensibilità, limite di rilevabilità, riproducibilità e stabilità della risposta, limite di risposta lineare .

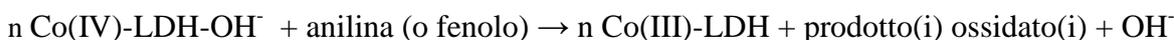
## 10.1.1 Studio delle proprietà elettrocatalitiche

L'elettrocatalisi per le reazioni di ossidazione del fenolo e dell'anilina è stata studiata agli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al, Pt-CVT LDH Co/Al e Pt-CT LDH Co/Al, utilizzando la voltammetria ciclica e l'amperometria. La Figura 45 mostra un esempio dei voltammogrammi registrati in NaOH 0,1 M, in presenza di anilina o fenolo a diverse concentrazioni: è evidente il comportamento elettrocatalitico dei centri di cobalto, suggerito dall'aumento del picco anodico, associato alla coppia Co (III)/Co(IV), all'aumentare della concentrazione di analita. I valori di corrente di picco anodico sono linearmente correlati alla concentrazione di fenolo e di anilina, rispettivamente negli intervalli 0,1 ÷ 1,0 mM e 0,1 ÷ 4,0 mM. Questo risultato, che è stato osservato per tutti gli elettrodi impiegati,

Tabella 17. Valori di  $k_{ME}'$  determinati per anilina e fenolo per gli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al, Pt-CVT LDH Co/Al e Pt-CT LDH Co/Al. È riportata anche la concentrazione superficiale di siti elettroattivi di Co.

	Anilina			Fenolo	
	$k_{ME}'$ (cm s <sup>-1</sup> )	$k_{ME}'/\Gamma_{Co(IV)}$ (cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	$\Gamma_{Co(IV)}$ (mol cm <sup>-2</sup> )	$k_{ME}'$ (cm s <sup>-1</sup> )	$k_{ME}'/\Gamma_{Co(IV)}$ (cm <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
<b>Pt-MT</b>	$(5.3 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	$4.3 \cdot 10^4$	$(1.2 \pm 0.2) \times 10^{-7}$	$(2.8 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	$1.6 \cdot 10^4$
<b>Pt-CVT</b>	$(5.1 \pm 0.3) \times 10^{-3}$	$1.8 \cdot 10^5$	$(2.9 \pm 0.2) \times 10^{-8}$	$(2.37 \pm 0.05) \times 10^{-3}$	$5.9 \cdot 10^4$
<b>Pt-CT</b>	$(2.6 \pm 0.1) \times 10^{-3}$	$1.9 \cdot 10^5$	$(1.4 \pm 0.3) \times 10^{-8}$	$(1.43 \pm 0.03) \times 10^{-3}$	$6.9 \cdot 10^4$

anche se con correnti di picco anodico di diversa intensità, è stato sfruttato per la determinazione di questi composti. Il processo associato all'ossidazione dei due analiti è:



La costante di velocità che regola l'intero processo elettrochimico,  $k_{ME}'$  è stata valutata per via amperometrica, utilizzando un elettrodo a disco rotante (RDE). La corrente limite ( $i_L$ ), osservata all'elettrodo modificato, può essere espressa dall'equazione di Koutecky-Levich<sup>1</sup>:

$$\frac{1}{i_L} = \frac{1}{i_{lev}} + \frac{1}{i_{kin}} = \frac{1}{i_{kin}} + \frac{1}{0.62AnFD^{3/4}\nu^{-1/4}C_b\omega^{1/2}}$$

Dove  $1/i_{lev}$  è il termine relativo alla comportamento limite del trasferimento di massa in

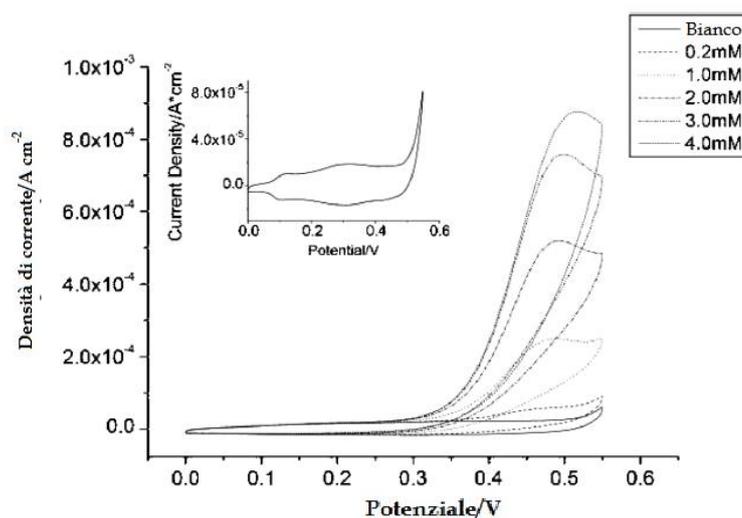


Figura 45. Voltammogrammi (velocità di scansione: 0,01 V s<sup>-1</sup>) ottenuti per un elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al (3 mm di diametro) in NaOH 0,1 M contenente diverse concentrazioni di analita. Insetto: voltammogramma di bianco in una scala espansa

soluzione, controllata dall'equazione di Levich, mentre  $1/I_{kin}$  è il termine relativo alla cinetica elettrodica. Inoltre  $A$  è l'area dell'elettrodo,  $n$  il numero degli elettroni scambiati,  $D$  il coefficiente di diffusione,  $\nu$  la viscosità cinematica,  $C_b$  la concentrazione dell'analita nel corpo della soluzione e  $\omega$  è la velocità di rotazione dell'elettrodo.

Il grafico di  $1/i_L$  in funzione di  $\omega^{-1/2}$  era lineare; estrapolando il valore di  $1/i_L$  per  $\omega^{-1/2}$  che tende a zero, è stato possibile determinare il valore di  $1/I_{kin}$ . Il valore di  $k_{ME}'$  è uguale alla pendenza della retta che si ottiene diagrammando  $I_{kin}$  in funzione della concentrazione dell'analita. In Tabella 17 sono mostrati i valori di  $k_{ME}'$ , calcolati sia per il fenolo che per l'anilina, insieme alla concentrazione superficiale di centri di Co(IV) ( $\Gamma_{Co(IV)}$ ), valutata tramite voltammetria ciclica.

I valori di  $k_{ME}'$  per gli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al e per il Pt-CVT LDH Co/Al sono praticamente uguali, benché la concentrazione superficiale di siti di cobalto ossidati sia quattro volte superiore per il Pt-MT LDH Co/Al. Questo suggerisce che, almeno per l'elettrodo Pt-MT LDH Co/Al, la quantità di centri di cobalto non è una delle variabili che controllano la cinetica elettrodica. L'apparente peggiore efficienza dei centri di cobalto nell'elettrodo Pt-MT LDH Co/Al è stata spiegata in termini di diffusione dell'analita nel film di LDH, che non permette di sfruttare al massimo tutti i siti attivi. Questo risultato non è sorprendente considerando che, solitamente, il coefficiente di diffusione osservato all'interno di LDH è di 4 o 5 ordini di grandezza inferiore a quello osservato in soluzione<sup>2</sup> e che il film sull'elettrodo Pt-MT LDH Co/Al ha uno spessore circa 10 volte superiore a quello depositato su Pt-CVT LDH Co/Al (vedi paragrafo 9.2).

Al contrario, per gli elettrodi Pt-CVT LDH Co/Al e Pt-CT LDH Co/Al, la diffusione degli analiti all'interno del film di modificante elettrodico non rappresenta un fattore determinante, come è dimostrato dal rapporto costante tra  $\Gamma_{Co(IV)}$  e  $k_{ME}'$ . Questo suggerisce una proporzionalità diretta

**Tabella 18. Sensibilità, limite di rilevabilità (LOD) e limite superiore di linearità per la determinazione di fenolo e dell'anilina con gli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al, Pt-CVT LDH Co/Al e Pt-CT LDH Co/Al.**

	Anilina			Fenolo		
	Sensibilità* (mA cm <sup>-2</sup> M <sup>-1</sup> )	LOD (M)	Limite superiore di linearità (M)	Sensibilità* (mA cm <sup>-2</sup> M <sup>-1</sup> )	LOD (M)	Limite superiore di linearità (M)
Pt-MT	406 ± 25	3 x 10 <sup>-7</sup>	0,75 x 10 <sup>-3</sup>	326 ± 30	3 x 10 <sup>-7</sup>	0,75 10 <sup>-3</sup>
Pt-CVT	354 ± 24	3 x 10 <sup>-7</sup>	1,35 10 <sup>-3</sup>	271 ± 6	3 x 10 <sup>-7</sup>	0,3 10 <sup>-3</sup>
Pt-CT	176 ± 9	2 x 10 <sup>-8</sup>	1,8 10 <sup>-3</sup>	107 ± 3	3 x 10 <sup>-7</sup>	0,25 10 <sup>-3</sup>

\*Media ± SD da 3 calibrazioni ottenute per 3 diverse superfici di Pt

tra  $k_{ME}$  e  $\Gamma_{Co(IV)}$ , che, a sua volta, indica che le concentrazioni di siti ossidati di Co e di analita sono costanti all'interno del film<sup>3</sup>. Di conseguenza, la costante catalitica del processo elettrochimico può essere calcolata dalla seguente relazione<sup>3,4</sup>:

$$i_{kin} = nFAk\Gamma_{Co(IV)}C_b$$

Dove  $k$  è la costante catalitica. Il numero di elettroni scambiati è stato valutato tramite coulombometria esaustiva ( $E = + 0,40$  V) ed è risultato pari a quattro per entrambi gli analiti, in accordo con quanto riportato dalla letteratura<sup>5,6</sup>.

Il valore calcolato di  $k$  è risultato  $4.4 \times 10^4$  e  $2.1 \times 10^4$   $\text{cm}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ , rispettivamente, per l'anilina ed il fenolo.

### 10.1.2 Valutazione delle prestazioni analitiche degli elettrodi modificati

Le prestazioni analitiche dei tre elettrodi modificati nei confronti di anilina e fenolo sono state valutate per via amperometrica ( $E = + 0,4$  V) utilizzando RDE con velocità di rotazione pari a 600  $\text{giri min}^{-1}$ . La sensibilità, il limite di rilevabilità (LOD) e il limite superiore di linearità sono riportati in Tabella 18. L'intervallo di linearità è limitato dalla passivazione dell'elettrodo che ha luogo nonostante sia presente il film di LDH, ed il suo effetto è più evidente per le determinazioni amperometriche rispetto a quelle voltammetriche.

Gli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al e Pt-CVT LDH Co/Al presentavano prestazioni simili per entrambi gli analiti in termini di sensibilità e di LOD, mentre il Pt-CT LDH Co/Al presentava una sensibilità più bassa per entrambi gli analiti, ma un LOD inferiore di circa 1 ordine di grandezza per l'anilina. In tutti i casi esaminati la sensibilità è migliore per l'anilina, a conferma dei valori di  $k_{ME}$  e di costante catalitica, calcolati nella sezione precedente.

La deviazione standard associata alle sensibilità indica che la peggiore riproducibilità si riscontra per la procedura di preparazione degli elettrodi modificati Pt-MT LDH Co/Al. Probabilmente la morfologia irregolare della superficie del Pt e la perdita di particelle di argilla dalla superficie elettrodica contribuiscono entrambe ad aumentare la variabilità della risposta.

Infine la risposta degli elettrodi modificati è stata valutata giornalmente, nell'arco di una settimana, registrando il responso voltammetrico per i tre sensori in presenza e in assenza di anilina 1 mM.

L'elettrodo Pt-MT mostrava una diminuzione del segnale analitico del 35 % dopo i primi tre giorni di utilizzo. Registrando al microscopio ottico una fotografia della superficie, si evidenziava la perdita di parte del modificante elettrodico; allo stesso tempo le caratterizzazioni in NaOH dell'elettrodo modificato mostravano una forte diminuzione della carica relativa ai centri di cobalto.

Il film di LDH che copre l'elettrodo Pt-CVT mostrava dopo un giorno un decremento del segnale del 10 %, ma, in seguito, la sua sensibilità rimaneva costante.

Un comportamento completamente diverso è stato osservato per il film di LDH depositato sull'elettrodo Pt-CT, che mostrava un aumento di sensibilità dopo i primi due giorni di utilizzo, preservato nei sette giorni successivi. Questo risultato può essere spiegato ipotizzando un rigonfiamento e una riorganizzazione della struttura del LDH che aumentano il numero di siti attivi di Co disponibili e, conseguentemente, anche la sensibilità risulta incrementata.

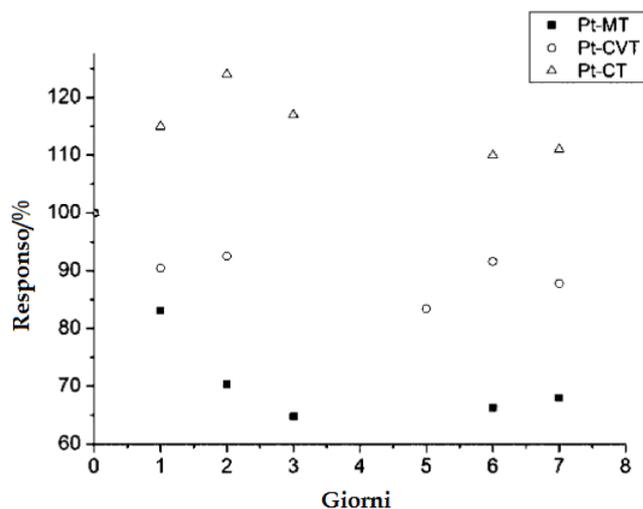


Figura 46. Responso percentuale, rispetto al valore registrato immediatamente dopo l'elettrodeposizione, di una soluzione di anilina 1 mM in NaOH 0,1 M, valutato con voltammetria ciclica durante una settimana di utilizzo degli elettrodi Pt-MT LDH Co/Al, Pt-CVT LDH Co/Al e Pt-CT LDH Co/Al.

## 10.2 Bibliografia

- 
- <sup>1</sup> A. J. Bard, L. R. Faulkner, *Electrochemical methods, Fundamentals and Applications*, second edition, 2000, Wiley, New York.
- <sup>2</sup> C. Mousty, S. Therias, C. Forano, J.P. Besse, *J. Electroanal. Chem.* 1994, 374, 63
- <sup>3</sup> W.J. Albery, R. Hillmann, *J. Electroanal. Chem.* 1984, 170, 27
- <sup>4</sup> N. Oyama, F.C. Anson, *Anal. Chem.* 1980, 52, 1192
- <sup>5</sup> M. Matsushita, H. Kuramitz and S. Tanaka, *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 3805
- <sup>6</sup> M.A. Maluleke, V.M. Linkov, *Separation and Purification Technology*, 2003, 32, 377.

# **SVILUPPO DI UN ELETTRODO MODIFICATO PER LA DETERMINAZIONE DELL'ACIDO SALICILICO**

L'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al è stato impiegato nella determinazione dell'acido salicilico (AS), la principale molecola sonda impiegata per la determinazione del radicale OH.

È importante ricordare che l'AS è anche un importante substrato biologico, che agisce come fitormone, ed ha un importante ruolo nella trasduzione dei segnali ormonali nelle piante; infatti è coinvolto nella regolazione di numerosi processi fisiologici tra cui possiamo ricordare la fioritura, la produzione di calore e la germinazione. Inoltre l'AS è largamente impiegato nell'industria chimico-farmaceutica, tuttavia il suo uso sistematico come farmaco può causare gravi irritazioni e, per tale ragione, viene somministrato in forma derivata, solitamente come estere.

Possiamo quindi affermare che un elettrodo modificato per la determinazione dell'acido salicilico potrebbe trovare ampie applicazioni in numerose discipline che spaziano dalla botanica all'analisi chimica di processo.

## **11.1 Caratterizzazione elettrochimica di Pt-CVT LDH Co/Al**

Il processo di trasferimento di carica dell'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al è stato studiato in dettaglio. I voltammogrammi registrati in NaOH 0,1 M mostravano due coppie di picchi reversibili con potenziale formale di + 0,110 V e + 0,378 V. I processi redox che

sono stati associati a questi picchi, per semplicità riferiti al composto  $\text{Co}(\text{OH})_2$ , isostrutturale al LDH Co/Al, sono:

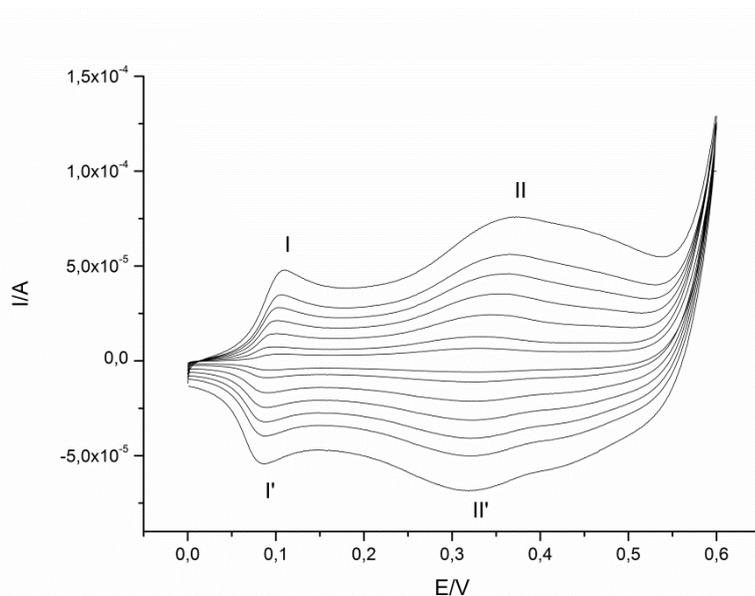
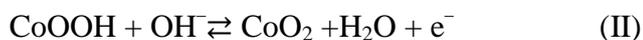


Figura 47. Voltammogrammi registrati all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al in NaOH 0,1 M a velocità di scansione comprese tra 0,005 e 0,070  $\text{V s}^{-1}$  (0,005, 0,010, 0,020, 0,030, 0,040, 0,050 e 0,070  $\text{V s}^{-1}$ )

Per entrambe le coppie redox la differenza tra il potenziale di picco anodico e quello di picco catodico,  $\Delta E_p$ , aumentava con l'aumentare della velocità di scansione ( $v$ ) (Figura 47) indicando che il processo era controllato dalla cinetica del trasferimento di carica. Utilizzando la teoria di Laviron, il coefficiente  $\alpha$ , e la costante cinetica di trasferimento di carica  $k_s$  possono essere calcolati utilizzando la seguente equazione:

$$\log k_s = \alpha \log(1 - \alpha) + (1 - \alpha) \log \alpha - \log \left( \frac{RT}{nFv} \right) - \alpha(1 - \alpha) \frac{nF \Delta E_p}{2,3RT} \quad \text{eqn. 1}$$

I valori di  $k_s$  e di  $\alpha$  risultavano, rispettivamente, 0,42  $\text{s}^{-1}$  e 0.5.

Infine, è stato studiato l'andamento del potenziale dei due sistemi di picchi in funzione del pH. Soluzioni, con pH compreso tra 10,0 e 13,0, sono state preparate con tampone borato (pH 10) e NaOH (pH 11-13), in presenza di un opportuno elettrolita di

supporto ( $\text{KNO}_3$  0,1 M). Come già riportato in letteratura<sup>1</sup> per altri idrossidi elettroattivi, con l'aumentare del pH i valori di potenziale formale si spostano a valori meno anodici (Figura 48). Inoltre abbiamo osservato che nelle condizioni meno alcaline, i sistemi di picchi si allargavano e diventavano meno definiti, rendendo difficile una stima accurata dei loro potenziali. Il potenziale di entrambe le coppie redox era direttamente proporzionale al valore di pH, con una pendenza di  $-0,0884$  V per il sistema I/I' e di  $-0,0926$  V  $\text{pH}^{-1}$  per secondo quello II/II'. Un comportamento analogo è stato riscontrato in letteratura da Cataldi et al.<sup>1</sup>, per un elettrodo di GC modificato con ossido di cobalto, ed è stato spiegato invocando la formazione di un ossido idrato, i cui processi di ossido riduzione coinvolgono 1,5 ioni  $\text{OH}^-$  per sito di cobalto.

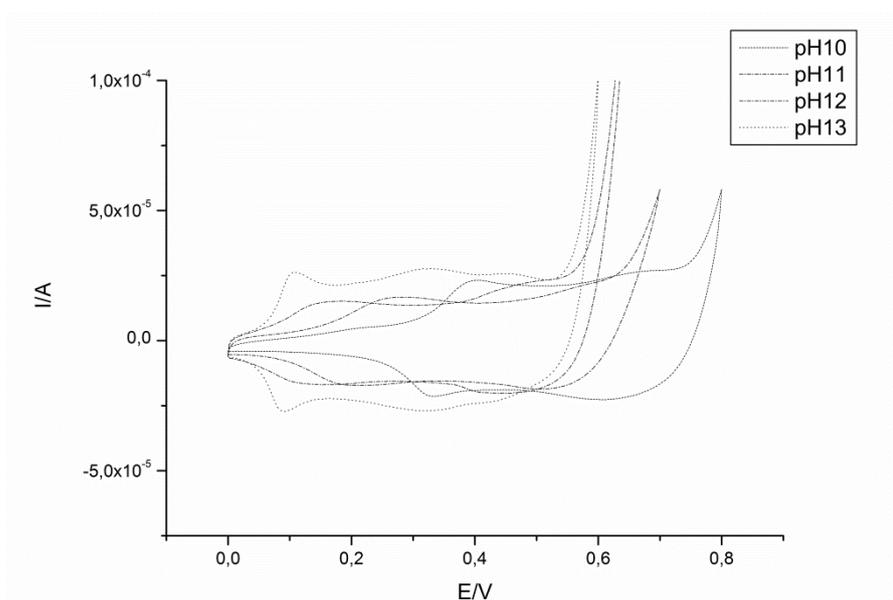


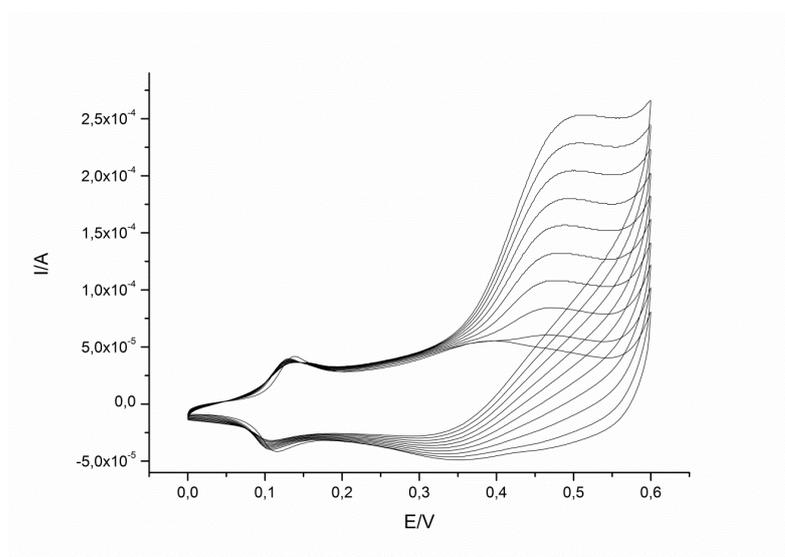
Figura 48. Voltammogrammi registrati all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al in tampone borato 0,1 M (pH 10,0) e in soluzioni di NaOH a diverso pH, contenenti  $\text{KNO}_3$  0,1 M come elettrolita di supporto.

### 11.1.1 Studio dell'ossidazione elettrocatalitica dell'acido salicilico su un elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al

L'acido salicilico è un acido diprotico con pKa pari a 2,97 e 13,40, in ambiente acquoso, corrispondenti rispettivamente alla dissociazione dell'acido carbossilico e del gruppo fenolico. Elettrochimicamente, l'AS può essere considerato un fenolo sostituito in posizione orto e, come avviene per tutti i fenoli a concentrazioni superiori a 0,5 mM, la

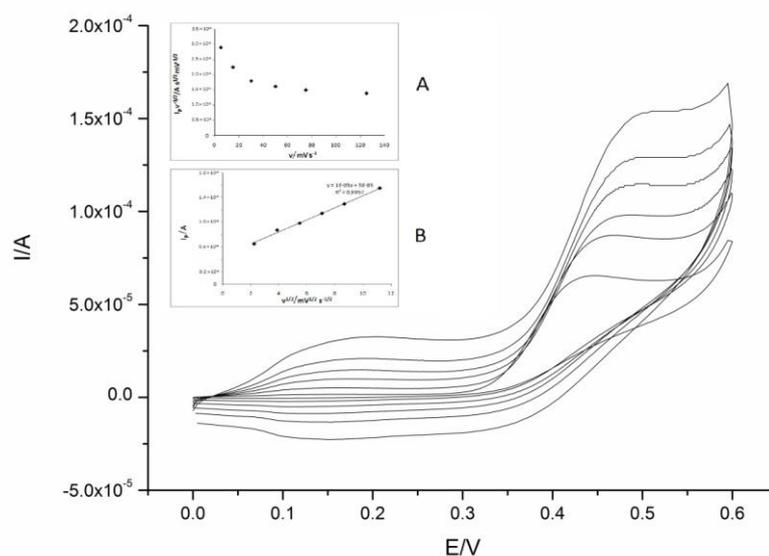
sua ossidazione, ai più comuni elettrodi, porta alla formazione di un film passivante che ne rende difficoltosa, se non impossibile, la determinazione elettroanalitica.

La capacità del Pt-CVT LDH Co/Al di elettrocatalizzare l'ossidazione del salicilato è stata valutata attraverso voltammetria ciclica in NaOH 0,1 M, contenente concentrazioni variabili di analita. Il segnale voltammetrico era instabile per i primi tre o quattro cicli di potenziale, probabilmente a causa della competizione tra la reazione di ossidazione e il trasporto di massa dell'analita all'interno del film di LDH. Per tale ragione, abbiamo sempre riportato il segnale registrato nel quinto ciclo. I voltammogrammi (Figura 49) mostrano che, al crescere della concentrazione di salicilato, la corrente di picco anodico relativa al sistema di picchi II/II' ( $E = +0,378$  V) aumenta, mentre la corrente relativa al corrispondente picco catodico diminuisce sensibilmente. Questo suggerisce che la coppia Co(III)/Co(IV) agisca da mediatore redox nell'ossidazione elettrocatalitica dell'AS. La corrente di picco anodico era direttamente proporzionale alla concentrazione di salicilato nell'intervallo 0,2 ÷ 12 mM ( $R^2 = 0,992$ ). Il limite superiore di linearità dipende dal fatto che inizia a decorrere sensibilmente la passivazione della superficie elettrodica, che ha luogo per concentrazioni di AS superiori a 12 mM; è importante menzionare che questo valore è molto superiore a quelli riportati in letteratura e relativi ad altre metodiche elettroanalitiche per la determinazione dell'acido salicilico<sup>2,3,4</sup>.



**Figura 49.** Voltammogrammi (velocità di scansione  $0,05$  V  $s^{-1}$ ) registrati all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al in NaOH 0,1 M contenente AS a varie concentrazioni (0, 0,98, 1,9, 2,9, 4,0, 5,0, 6,1, 7,3, 8,4, 9,5 mM).

I voltammogrammi ciclici registrati a diverse velocità di scansione ( $0.005 \div 0.250 \text{ V s}^{-1}$ ), in NaOH 0,1 M contenente salicilato 5 mM, mostravano un eccellente effetto elettrocatalitico per velocità di scansione superiori a  $0,070 \text{ V s}^{-1}$  (Figura 50). Inoltre il grafico della corrente, normalizzata alla radice quadrata della velocità di scansione ( $I/v^{0.5}$ ), in funzione della velocità di scansione stessa (Figura 50 A) mostrava un andamento tipico del processo  $\text{EC}_{\text{cat}}^5$ .



**Figura 50.** Voltammogrammi registrati all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al in NaOH 0,1 M contenente AS 5 mM a diverse velocità di scansione,  $v$  (0,005, 0,015, 0,030, 0,050, 0,075, 0,125  $\text{Vs}^{-1}$ ). L'inserto B rappresenta la variazione della corrente di picco anodico in funzione di  $v^{0.5}$ . L'inserto A mostra la corrente normalizzata alla radice quadrata della velocità di scansione ( $Iv^{-0.5}$ ) in funzione di  $v$ .

All'aumentare della velocità di scansione, il potenziale di picco del processo di ossidazione dell'acido salicilico si spostava a potenziali più positivi, suggerendo che la cinetica del trasferimento di carica controllasse la corrente registrata all'elettrodo. Tuttavia, la corrente di picco era anche direttamente proporzionale alla radice quadrata della velocità di scansione (Figura 50 B), indicando che il processo era anche controllato dal trasferimento di massa dell'analita. Tutto ciò suggerisce che la corrente registrata all'elettrodo sia sotto controllo misto, cioè dipende sia dal trasporto di massa che dalla cinetica di trasferimento elettronico.

Per raccogliere ulteriori informazioni sul processo che limita la cinetica elettrodica, è stato costruito il grafico di Tafel, impiegando i dati ottenuti nella parte crescente del

voltammogramma, registrato a bassa velocità di scansione ( $0,005 \text{ V s}^{-1}$ ), in una soluzione contenente salicilato  $7,5 \text{ mM}$ . Considerando che è stata osservata una proporzionalità diretta per valori di potenziale compresi tra  $+0,29$  e  $+0,35 \text{ V}$ , è possibile assumere che, all'interno di questo intervallo, la cinetica di trasferimento di carica controlli la velocità del processo elettrochimico. La pendenza della parte lineare del grafico di Tafel era uguale a  $15$  decadi  $\text{V}^{-1}$ ; tale valore è stato usato per determinare il numero di elettroni coinvolti nello stadio cineticamente determinante. Il numero di elettroni scambiati è risultato uguale a  $2$ , assumendo un valore di  $\alpha$  pari a  $0,54$ . Se invece si considera un solo elettrone scambiato,  $\alpha$  risultava pari a  $0,11$ , valore non comune per questo parametro che, solitamente, può variare nell'intervallo  $0,25 \div 0,75$ <sup>6</sup>.

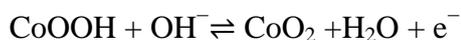
Un altro approccio<sup>6</sup> per determinare la pendenza ( $b$ ) del grafico di Tafel, valido per un processo irreversibile controllato dalla diffusione, impiega la seguente equazione:

$$E_p = \left(\frac{b}{2}\right) \log(v) + \text{constant}$$

Il grafico di  $E_p$  contro  $\log v$  era lineare per  $v$  compreso tra  $0,005$  e  $0,075 \text{ V s}^{-1}$ , e il valore della pendenza  $b$  risultava pari a  $0,091 \text{ V decade}^{-1}$  ( $\sim 11 \text{ decade V}^{-1}$ ). Assumendo due elettroni scambiati, il coefficiente di trasferimento di carica  $\alpha$  risultava essere  $0,68$ , confermando che due elettroni sono scambiati nel processo cineticamente determinante.

Infine la dipendenza del potenziale di picco dal pH della soluzione è stata valutata, analogamente a quanto già fatto per l'elettrodo modificato in assenza di analita. Anche in questo caso si osservava una correlazione lineare, con una pendenza di  $-0,0902 \text{ V}$ , analoga a quella già riscontrata in assenza di salicilato. Questo risultato conferma che i siti ossidati del cobalto sono coinvolti nello stadio cineticamente determinante della reazione di ossidazione dell'AS.

Concludendo, nelle condizioni di lavoro utilizzate, il meccanismo dell'ossidazione elettrocatalizzata dell'acido salicilico può essere schematizzato:



dove il coefficiente stechiometrico 2 deriva dai due elettroni necessari all'ossidazione del salicilato<sup>7</sup> contro il solo elettrone necessario alla propagazione della carica nell'argilla a base di Co/Al.

### **11.1.1.1 Determinazione del coefficiente di diffusione e della costante cinetica tra centri di cobalto e salicilato**

La cronoamperometria ( $E_{\text{iniziale}} = +0,325$  V;  $t_{\text{condizionamento}} = 30$  s;  $E_{\text{finale}} = +0,35$  V) è stata impiegata per stimare il coefficiente di diffusione del salicilato nel film di LDH a base di cobalto e alluminio e la costante cinetica della reazione tra salicilato e siti di cobalto.

Per un analita elettroattivo con coefficiente di diffusione  $D$  ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ), la corrente corrispondente alla reazione elettrochimica, in regime diffusivo, è descritta dalla legge di Cottrell:

$$I = \frac{nFAD^{0.5}c_0}{\pi^{0.5}t^{0.5}} \quad \text{eqn. 3}$$

Dove  $c_0$  è la concentrazione nel corpo della soluzione dell'analita ( $\text{mol cm}^{-3}$ ). Il grafico di  $I$  in funzione di  $t^{-0.5}$  è lineare per tempi superiori a 2 s e permette il calcolo di  $D$  dalla pendenza della retta ottenuta.

In presenza del salicilato la corrente era linearmente proporzionale a  $t^{-0.5}$  indicando che il processo era controllato dalla diffusione. Tuttavia, il valore calcolato di  $D$  decresceva con l'aumentare della concentrazione di salicilato; il suo valore medio era  $2 \times 10^{-8} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ . Questo valore è inferiore a quelli riscontrati in soluzione, e può essere considerato un valore apparente, in quanto dipende sia dalla diffusione in soluzione sia da quella nel film di LDH.

La costante cinetica della reazione tra salicilato e siti di Co(IV) è stata stimata tramite cronoamperometria, in accordo con l'equazione<sup>5</sup>:

$$\frac{I_{\text{cat}}}{I_L} = \gamma^{0.5} \left[ \pi^{0.5} \text{erf}(\gamma^{0.5}) + \frac{e^{-\gamma}}{\gamma^{0.5}} \right]$$

Dove  $I_{cat}$  e  $I_L$  sono le correnti registrate all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al rispettivamente in presenza e in assenza di salicilato. Infine  $\gamma$  è definito come:

$$\gamma = kc_0 t$$

Dove  $k$  è la costante cinetica di reazione e  $t$  è il tempo.

Nel caso in cui  $\gamma$  superi il valore di 1,5, il termine  $\left[\pi^{0.5} \operatorname{erf}(\gamma^{0.5}) + \frac{e^{-\gamma}}{\gamma^{0.5}}\right]$  tende a  $\pi^{0.5}$  e l'equazione che descrive la cinetica elettrodica può essere espressa:

$$\frac{I_{cat}}{I_L} = \gamma^{0.5} \pi^{0.5} = \pi^{0.5} (kc_0 t)^{0.5}$$

La pendenza del grafico  $I_{cat}/I_L$  contro  $c_0^{0.5} t^{0.5}$  (Figura 51) è uguale a  $k^{0.5} \pi^{0.5}$ . Nelle nostre condizioni sperimentali il grafico è lineare, quando il prodotto  $c_0^{0.5} t^{0.5}$  è compreso tra  $2 \times 10^{-2}$  e  $1.2 \times 10^{-1} \text{ M}^{0.5} \text{ s}^{0.5}$  (Figura 51). Questo indica una buona corrispondenza con il modello proposto che prevede una penetrazione dell'analita nel film di LDH. Il valore di  $k$  calcolato era pari a  $4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ .

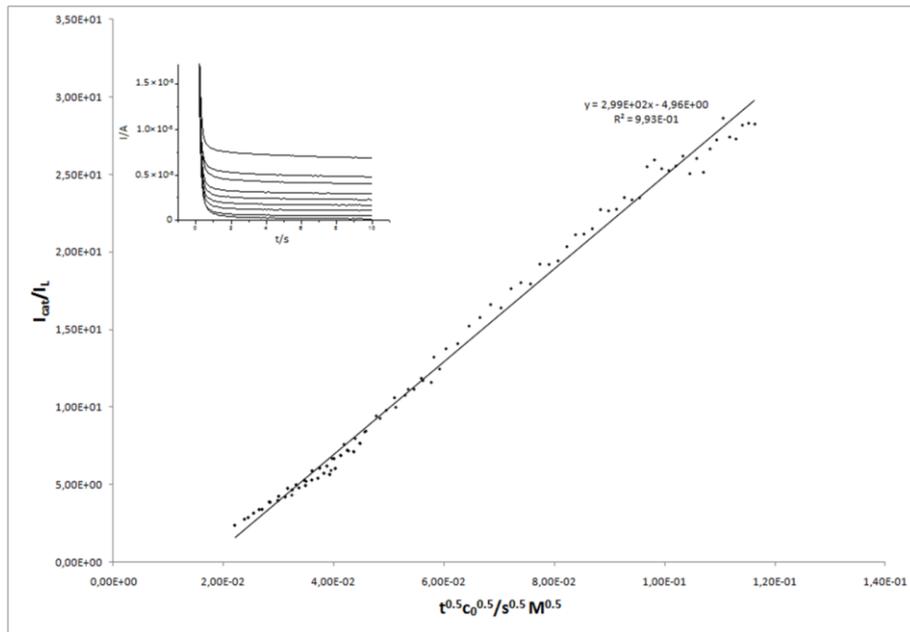


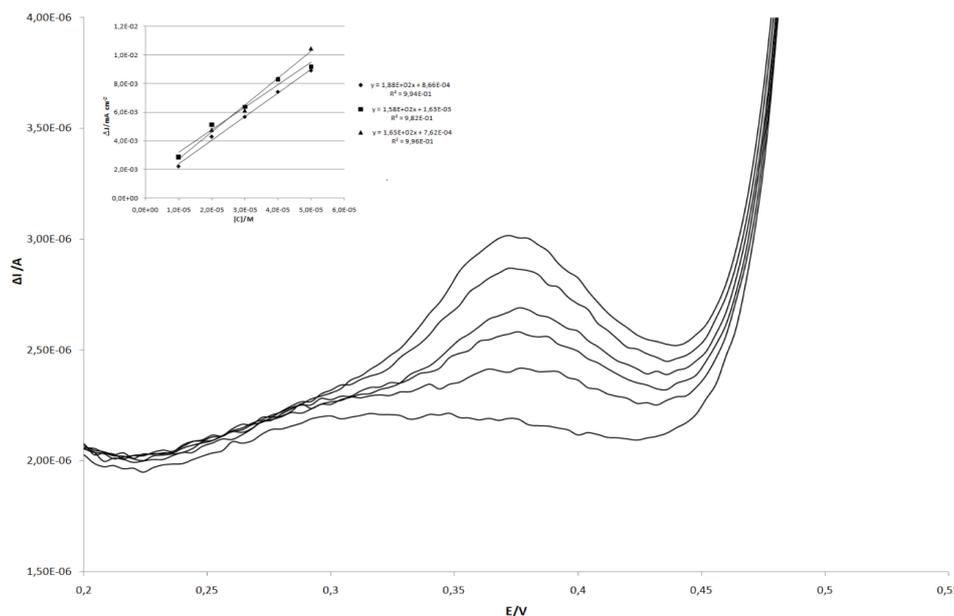
Figura 51.  $I_{cat}/I_L$  in funzione di  $t^{0.5} c_0^{0.5}$ . L'inserto mostra i cronoamperogrammi registrati per concentrazioni di AS pari a: 0, 0,24, 0,45, 0,65, 0,81, 1,0, 1,4, 1,8, 2,6mM.

## 11.1.2 Determinazione quantitativa dell'AS all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al

Considerando che la voltammetria ciclica presenta limiti di rilevabilità piuttosto elevati, la determinazione dell'acido salicilico è avvenuta tramite voltammetria differenziale da impulsi (DPV) (ampiezza dell'impulso: 0,050 V per 2 s; periodo: 10 s; incremento: 0,004 V; intervallo di campionamento: 0,500 V), e cronoamperometria sotto agitazione magnetica.

Le prestazioni dell'elettrodo modificato nella rivelazione dell'AS sono state valutate in termini di intervallo di risposta lineare, sensibilità, riproducibilità e stabilità del responso. La regressione lineare dei dati sperimentali è stata eseguita in accordo con Miller e Miller (1998)<sup>8</sup>.

I responsi DPV ottenuti per l'elettrodo modificato in presenza di concentrazioni crescenti di AS sono riportati in Figura 52. La corrente di picco anodico era linearmente correlata alla concentrazione di analita nell'intervallo di concentrazioni  $1 \times 10^{-5} \div 5 \times 10^{-4}$  M, ed il limite di rilevabilità era pari a  $6 \times 10^{-6}$  M. Il valore medio di sensibilità valutato per tre diversi elettrodi era di 170 (SD = 16) mA cm<sup>-2</sup> M<sup>-1</sup>; la deviazione standard ad esso associata suggerisce che la procedura di preparazione dell'elettrodo modificato presenti una buona riproducibilità. Inoltre, la stabilità della risposta dell'elettrodo è stata valutata per sette giorni consecutivi analizzando una soluzione di NaOH 0,1 M contenente AS 0,05 mM. Dopo una settimana di utilizzo si è osservato un decremento del segnale dell'AS pari al 20 % del segnale iniziale. Possiamo quindi affermare che la stabilità operativa dell'elettrodo non è molto elevata, ma ciò non rappresenta un grosso problema dato che la fabbricazione dell'elettrodo è rapida.



**Figura 52.** Tipici responsi DPV osservati all'elettrodo Pt-CVT LDH Co/Al, in NaOH 0,1 M contenente AS a concentrazioni pari a 0, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04 e 0,05 mM). Insetto: calibrazioni relative ai dati DPV per tre diversi elettrodi Pt-CVT LDH Co/Al.

La determinazione in cronoamperometria ( $E = + 0,5 \text{ V}$ ), condotta in condizioni di agitazione magnetica, presentava una risposta lineare nell'intervallo  $5 \times 10^{-7} \div 1 \times 10^{-4} \text{ M}$ , e un valore di LOD di  $2 \times 10^{-7} \text{ M}$ .

L'elettrodo modificato Pt-CVT LDH Co/Al è stato anche impiegato per valutare tramite cronoamperometria ( $E = + 0,7 \text{ V}$ ) la concentrazione di AS nelle pastiche di Aspirina® (Bayer) da 500 mg. L'analisi è stata effettuata a pH 10,0, in tampone borato, per far sì che nel lasso di tempo necessario a condurre la determinazione analitica l'idrolisi dell'acido acetilsalicilico fosse trascurabile. La quantità di acido salicilico in ogni pasticca è risultata pari a  $1,0 \pm 0,2 \text{ mg}$  (valore medio di 3 misurazioni  $\pm$  deviazione standard), perciò l'impurezza costituisce lo 0.2 % (w/w) della pasticca. Il campione di Aspirina è anche stato analizzato tramite HPLC ed il dato ottenuto è risultato identico ( $1,0 \pm 0,2 \text{ mg}$ ), a conferma della validità della determinazione elettroanalitica proposta.

## 11.2 Bibliografia

<sup>1</sup> T.R.I. Cataldi, A. Guerrieri, I.G. Casella, E. Desimoni, *Electroanal.* 1995, 7, 305.

<sup>2</sup> Z. Wang, F. Ai, Q. Xu, Q. Yang, J.-H. Yu, W.-H. Huang, Y.-D. Zhao, *Colloid Surface B*, 2010, 76, 370.

<sup>3</sup> Z. Wang, F. Wei, S.-Y. Liu, Xu Q., J.-Y. Huang, X.-Y. Dong, J.-H. Yu, Q. Yang, Y.-D. Zhao, H. Chen, *Talanta*, 20, 1080, 1277.

<sup>4</sup> A. A.J. Torriero, J. M. Luco, L. Sereno, J. Raba, *Talanta*, 2004, 62, 247.

<sup>5</sup> M.H. Pournaghi-Azar, H. Razmi-Nerbin, *J. Electroanal. Chem.*, 2000, 488, 17-24.

<sup>6</sup> H. Razmi, A. Azadbakht, *Electrochim. Acta*, 2005, 50, 2193.

<sup>7</sup> V. Supalkova, J. Petrek, L. Havel, S. Krizkova, J. Petrlova, V. Adam, D. Potesil, P. Babula, M. Beklova, A. Horna, R. Kizek, *Sensors*, 2006, 6, 1483-1497

<sup>8</sup> J.C. Miller, J.N. Miller, *Statistics for analytical chemistry*, 1988, Wiley, New York.

## CONCLUSIONI

Durante il periodo del dottorato è stato sviluppato un elettrodo modificato per la rivelazione indiretta del radicale OH, che sfrutta la degradazione indotta da questa specie sul modificante elettrodico. Sono stati esaminati vari modificanti elettrodici; le prove effettuate hanno mostrato che il migliore, in termini di risposta all' $\cdot\text{OH}$  e di segnale di background, è un polimero isolante a base di fenolo.

L'elettrodo di glassy carbon modificato con il polifenolo è stato esposto, solitamente per un tempo di 5 min, all'azione dei radicali OH prodotti dalla reazione di Fenton o dalla fotolisi del perossido di idrogeno. L'attacco dell' $\cdot\text{OH}$  rimuoveva parte del film isolante dalla superficie elettrodica; l'elettrodo, quindi, riacquistava parzialmente le sue proprietà di materiale conduttore. Dopo l'attacco, l'elettrodo è stato accuratamente lavato e la degradazione del polimero è stata valutata impiegando  $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ . La frazione di polifenolo asportata dalla superficie era proporzionale alla quantità di  $\cdot\text{OH}$  presente in soluzione, dimostrando che l'elettrodo modificato con il film di polifenolo può essere impiegato per la rivelazione del radicale OH.

Le simulazioni delle cinetiche di produzione e di consumo del radicale OH hanno mostrato che il segnale analitico osservato valuta la capacità ossidante del radicale OH che diffonde verso una superficie, cioè l'effetto della sua concentrazione combinato alla sua abilità di sfuggire all'ambiente in cui è stato generato. L'elettrodo GC-pfen può essere utilizzato per stimare la concentrazione/produzione di radicali OH in matrici simili tra loro, attraverso la costruzione di una scala relativa, analogamente ai metodi che sfruttano la determinazione indiretta basata sulla reattività di molecole sonda, con l'ovvio vantaggio, però, di evitare la separazione cromatografica o elettroforetica dei prodotti ottenuti, necessaria in queste metodiche più tradizionali.

Lo studio dei possibili composti interferenti ha mostrato come i radicali alchil perossidici, il radicale superossido e  $\text{ABTS}^+$  non generino un segnale analitico, mentre forti ossidanti, quali il  $\text{KMnO}_4$  possono degradare il film polifenolico, manifestando una interferenza positiva. Fortunatamente questo tipo di composti non è presente nella maggior parte dei campioni reali analizzati.

L'elettrodo modificato con polifenolo è stato utilizzato per stimare la quantità di radicale OH prodotto da cinque fotocatalizzatori, a base di nanoparticelle di TiO<sub>2</sub>. I risultati ottenuti sono in accordo con quelli determinati con un metodo più tradizionale che utilizza l'acido salicilico come molecola sonda.

L'elettrodo GC-pfen è stato utilizzato per sviluppare una metodica analitica per la determinazione della capacità di scavenging per il radicale OH, che veniva generato tramite fotolisi dell'acqua ossigenata. La cinetica di degradazione dell'elettrodo modificato, in presenza di composti antiossidanti puri a varie concentrazioni, è stata seguita per via voltammetrica. Il parametro che si è rivelato più adatto per stimare l'attività di scavenging era il tempo di induzione, cioè il lasso di tempo durante il quale l'antiossidante riusciva a proteggere il film dall'azione ossidante del radicale OH. Le capacità di scavenging determinate per alcuni composti puri sono state confrontate con quelle ottenute con metodi ampiamente utilizzati per la determinazione del potere antiossidante, quali i saggi DPPH, ORAC e ABTS. I risultati ottenuti con il metodo elettroanalitico mostravano una buona correlazione con il saggio ORAC ( $R^2 = 0,91$ ). Probabilmente ciò è dovuto al fatto che i radicali coinvolti nei due metodi appartengono entrambi ai ROS e che le procedure con cui si determina la capacità antiossidante o di scavenging sono analoghe, valutando entrambe la capacità di proteggere, dall'azione ossidante radicalica, un particolare substrato. Infine dall'analisi di campioni reali è emerso che il metodo sviluppato porta a sovrastimare i valori di capacità antiossidante, poiché il radicale OH reagisce anche con composti presenti nel campione, non propriamente definiti come antiossidanti. Nonostante ciò, i trend ottenuti per la capacità antiossidante o di scavenging sono analoghi a quelli riscontrati quando gli stessi campioni vengono analizzati con le metodi più tradizionali.

Infine sono stati sviluppati elettrodi modificati con un film di un idrossido doppio a strati a base di Co e Al, preparati per elettrodeposizione su una superficie di Pt. Questi dispositivi sono stati utilizzati per la determinazione di composti di notevole interesse analitico, quali l'acido salicilico, il fenolo e l'anilina, che possono essere utilizzati anche come molecole sonda per la rivelazione del radicale OH. È stata studiata in modo approfondito la procedura di preparazione degli elettrodi, ponendo particolare attenzione all'effetto che ha il pretrattamento della superficie di Pt sulle caratteristiche dei film di LDH prodotti e sulle loro prestazioni analitiche.

# ELETTROSINTESI IN BULK DI LDH

Questa appendice descrive parte degli esperimenti effettuati durante il periodo di ricerca svolto all'estero, presso l'Institut de Chemie de Clermont-Ferrand (Francia). Durante questo periodo sono state condotte varie elettrodeposizioni con il fine di sintetizzare in modo massivo LDH. Inoltre numerose elettrosintesi sono state realizzate in presenza dello ione dodecil solfato (DS), in modo da produrre in un solo stadio un LDH con questo ione intercalato.

## 13.1.1 Ottimizzazione delle condizioni di elettrosintesi di LDH

Le elettrosintesi di bulk di LDH sono state condotte in modo simile a quanto già descritto nella sezione 4.8 da una soluzione contenente  $M(II)(NO_3)_2$  22,5 mM,  $Al(NO_3)_3$  7,5 mM e  $KNO_3$  0,3 M dove  $M(II) = Co^{2+}, Ni^{2+}, Mg^{2+}$  e  $Zn^{2+}$  e  $M(III) = Al^{3+}$ . le reazioni di riduzione dello ione nitrato e dell'acqua sono state sfruttate per produrre gli ioni  $OH^-$ , necessari per la precipitazione dell'argilla, e l'impulso di potenziale è stato applicato per un lasso di tempo sufficientemente lungo da far aumentare il pH di tutta la soluzione in cui era condotta l'elettrosintesi. In questo modo il  $M(II)$  e il  $M(III)$  con, presenti nella soluzione elettrolitica, venivano precipitati in modo stechiometrico da tutta la soluzione.

L'ottimizzazione delle condizioni di sintesi è stata condotta per la produzione di una LDH a base di Co e Al, impiegando un elettrodo di Pt-CVT. Le prove preliminari mostravano come fosse indispensabile l'uso di una cella elettrochimica a due compartimenti, poiché le reazioni che avvengono al contro elettrodo portano alla produzione di ioni  $H^+$ , che controbilancerebbero la formazione dell' $OH^-$  all'elettrodo di lavoro.

Sono stati effettuati due diversi esperimenti, sotto agitazione, uno in galvanostatica (a corrente costante) e uno in potenziostatica (a potenziale costante), per identificare quali fossero le migliori condizioni per la sintesi nel corpo della soluzione. La prova potenziostatica prevedeva un potenziale di -0.9 V, analogo a quello utilizzato per la modifica diretta della superficie elettrodica, che è stato applicato fino al raggiungimento di un pH della soluzione  $\sim 11$  ( $t = 17$  ore), misurato con un elettrodo a vetro. L'esperimento galvanostatico è stato condotto con una corrente di 50 mA ( $J = 0.0132 \text{ A cm}^{-2}$ ), anche in questo caso fino al raggiungimento di un pH  $\sim 11$  ( $t = 1.5$  ore). In entrambi gli esperimenti la soluzione in cui aveva luogo l'elettrosintesi era sottoposta ad agitazione

magnetica. La composizione della soluzione in cui sono state condotte le due elettrosintesi era la seguente:  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5 mM,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM e  $\text{KNO}_3$  0.3 M.

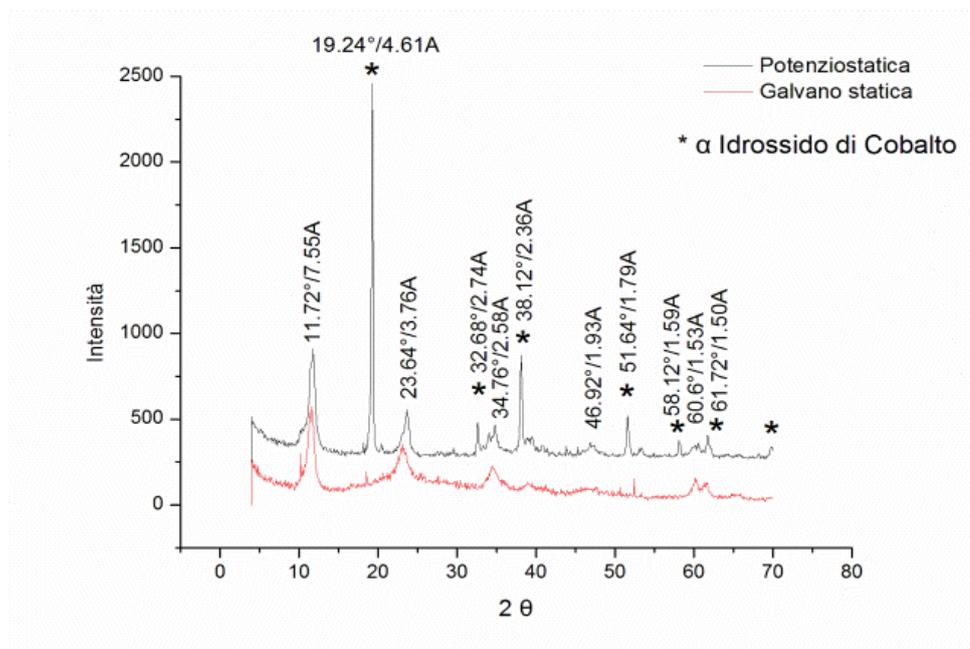


Figura 53. Diffratogrammi PXRD registrati sui materiali elettrosintetizzati per via galvanostatica e potenziostatica, da una soluzione contenente  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  22.5 mM,  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$  7.5 mM e  $\text{KNO}_3$  0.3 M.

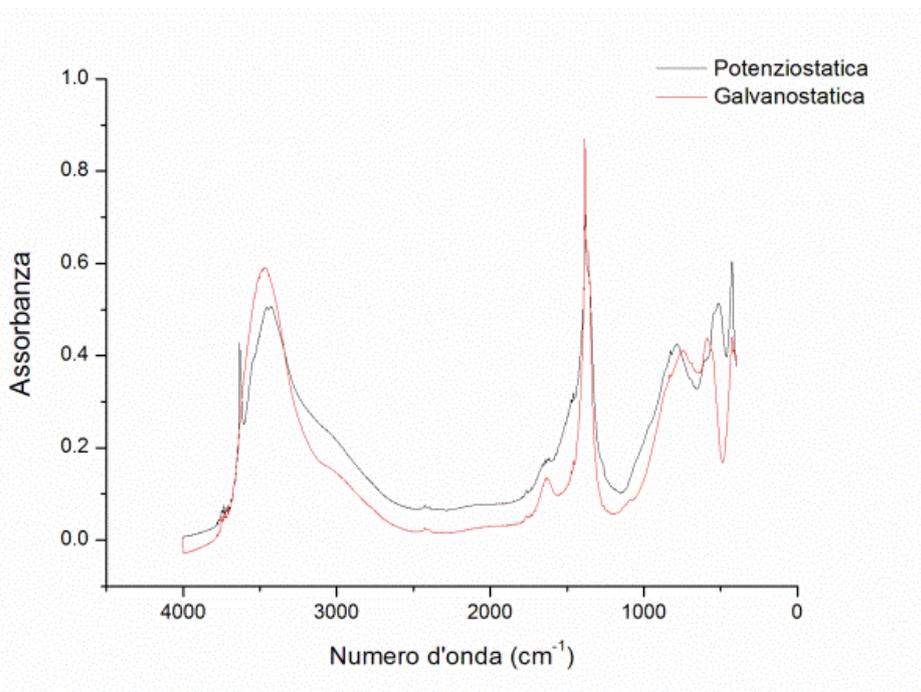


Figura 54. Spettri IR registrati con la tecnica della pasticca in KBr, dei materiali elettrosintetizzati per via galvanostatica e potenziostatica.

I materiali ottenuti sono stati caratterizzati tramite PXRD e spettroscopia IR.

Il diffrattogramma PXRD (Figura 53) del prodotto ottenuto dalla sintesi galvanostatica mostra la tipica struttura di un LDH a base di Co e Al, indicata dai riflessi a 7,6, 3,76, 2,6 e 1,53 Å, relativi alla diffrazione dei piani basali 003, 006, 012 e 110. Invece il responso ottenuto per il materiale sintetizzato per via potenziostatica rivela la presenza di due diverse fasi cristalline: insieme alla fase di tipo LDH a base di Co e Al, si è riscontrata la fase relativa all' $\alpha$ -idrossido di cobalto, evidenziata dai riflessi a 4,62, 2,74, 2,36, 1,79, 1,59 e 1,50 Å.

Gli spettri IR (Figura 54) registrati per i due materiali mostrano le tipiche bande a 3400-3500, 1631 e 1384  $\text{cm}^{-1}$ , relative, rispettivamente, alle vibrazioni di stretching degli OH ( $\nu_{\text{OH}}$ ) negli strati brucitici, al bending dell' $\text{H}_2\text{O}$  intercalata e allo stretching dello ione nitrato intercalato ( $\nu_{\text{NO}_3^-}$ ). Le bande osservate al di sotto di 1000  $\text{cm}^{-1}$  sono attribuibili alle vibrazioni di stretching degli strati brucitici.

La minore purezza del materiale ottenuto attraverso la sintesi potenziostatica è stata attribuita al difficile controllo della diffusione dello ione  $\text{OH}^-$  dall'elettrodo al bulk della soluzione. Infatti, per questo tipo di sintesi, la precipitazione era molto lenta (17 contro 1,5 ore per il processo galvanostatico) e, nonostante l'agitazione, gran parte del materiale aderiva alla superficie dell'elettrodo. Ciò probabilmente rallentava la diffusione dell' $\text{OH}^-$ , generando forti gradienti di pH e, quindi, condizioni differenti all'interno dello stesso materiale depositato sull'elettrodo, che potevano favorire la formazione di diverse fasi cristalline.

Il materiale ottenuto per via galvanostatica è stato caratterizzato con voltammetria ciclica, termogravimetria e analisi SEM-EDX. Il voltammogramma del LDH, immobilizzato sulla superficie elettrodica per drop-casting, registrato in NaOH 0,1 M, mostrava nel primo ciclo un processo anodico irreversibile. Nei cicli successivi il segnale era stabile ed era presente un processo redox reversibile a circa + 0,33 V (Figura 55). Il contenuto d'acqua del materiale è risultato pari al 35 %. L'analisi EDX ha rivelato un rapporto molare Co/Al pari a 3,15, analogo a quello presente nella soluzione elettrolitica di partenza; la resa di precipitazione è risultata pari a 81%, confermando

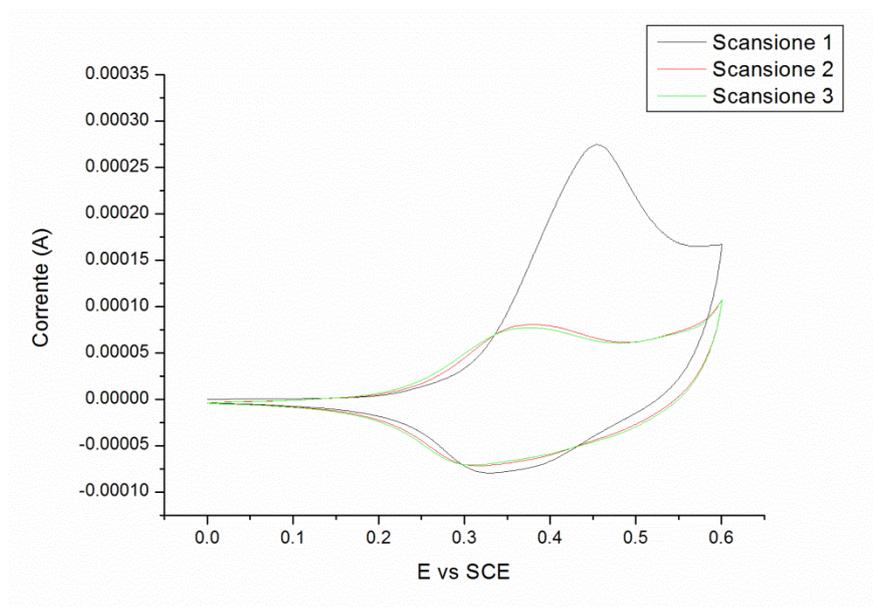


Figura 55. Comportamento elettrochimico di un LDH a base di Co e Al depositato tramite drop-casting su un elettrodo di Pt. Il voltammogramma è stato registrato in NaOH 0,1 M con una velocità di scansione di 0.01 V s<sup>-1</sup>.

	M(II)/M(III)	mH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)	Resa (%)
Co/Al	3,15	35	81
Ni/Al	3,05	42	64
Mg/Al	3,25	52	78

Tabella 19. Rapporto molare M(II)/M(III), contenuto di H<sub>2</sub>O e resa dell'elettrosintesi per gli LDH a base di Ni/Al e Mg/Al.

che la sintesi in bulk coinvolge quasi tutti gli ioni metallici presenti in soluzione.

### 13.1.2 Elettrosintesi in bulk di altri LDH

Le condizioni di sintesi descritte nel paragrafo precedente sono state utilizzate per la preparazione di altri LDH in cui il  $\text{Co}^{2+}$  è stato sostituito da  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  e  $\text{Zn}^{2+}$ , mentre il catione trivalente è rimasto invariato ( $\text{Al}^{3+}$ ). I prodotti ottenuti sono stati caratterizzati tramite PXRD e spettroscopia IR. La comparazione dei diffrattogrammi PXRD (Figura 57) con i database associati alla strumentazione indicano la formazione di una fase LDH per le combinazioni Ni/Al e Mg/Al, mentre nel caso di Zn/Al, insieme alla fase di tipo idrotalcite è evidente la formazione di una fase di ossido. Anche variando la corrente di elettrosintesi, non è stato possibile eliminare la presenza di questa fase, che, probabilmente si generava a causa di un difficile trasferimento di materia

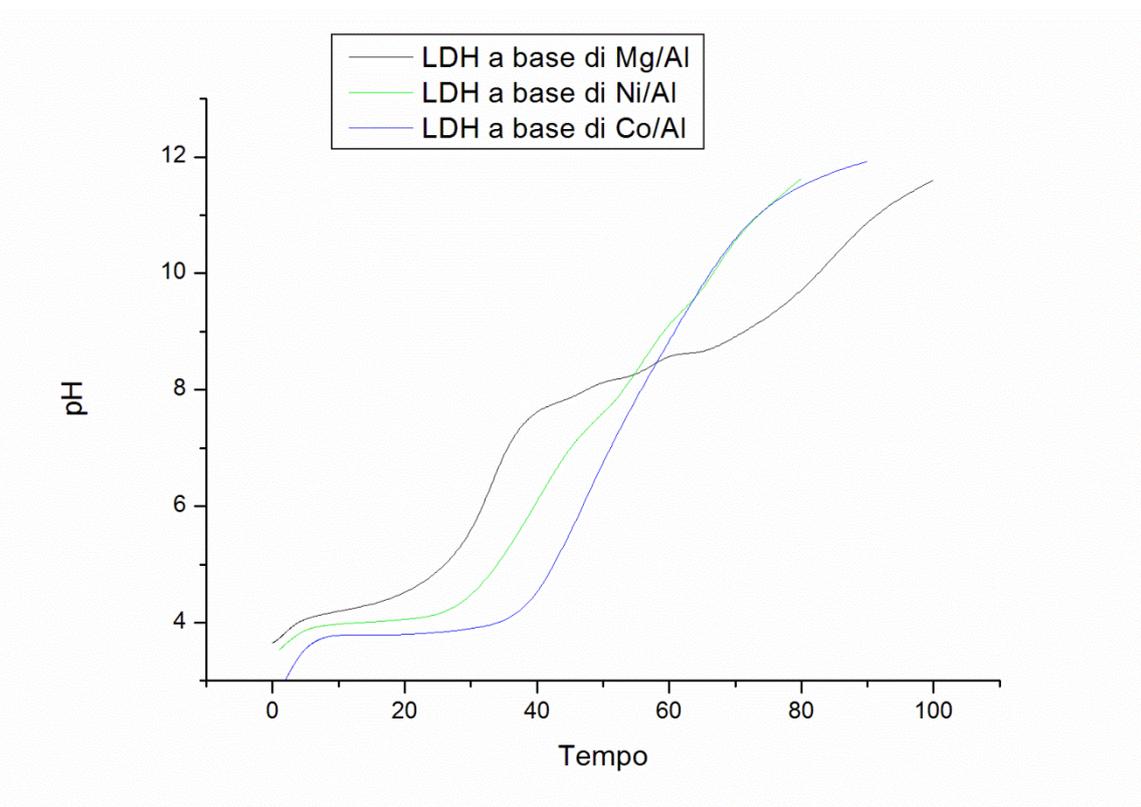


Figura 56. pH registrati in funzione del tempo nella soluzioni in cui avevano luogo le elettrodeposizioni di LDH a base di Co/Al, Ni/Al e Mg/Al.

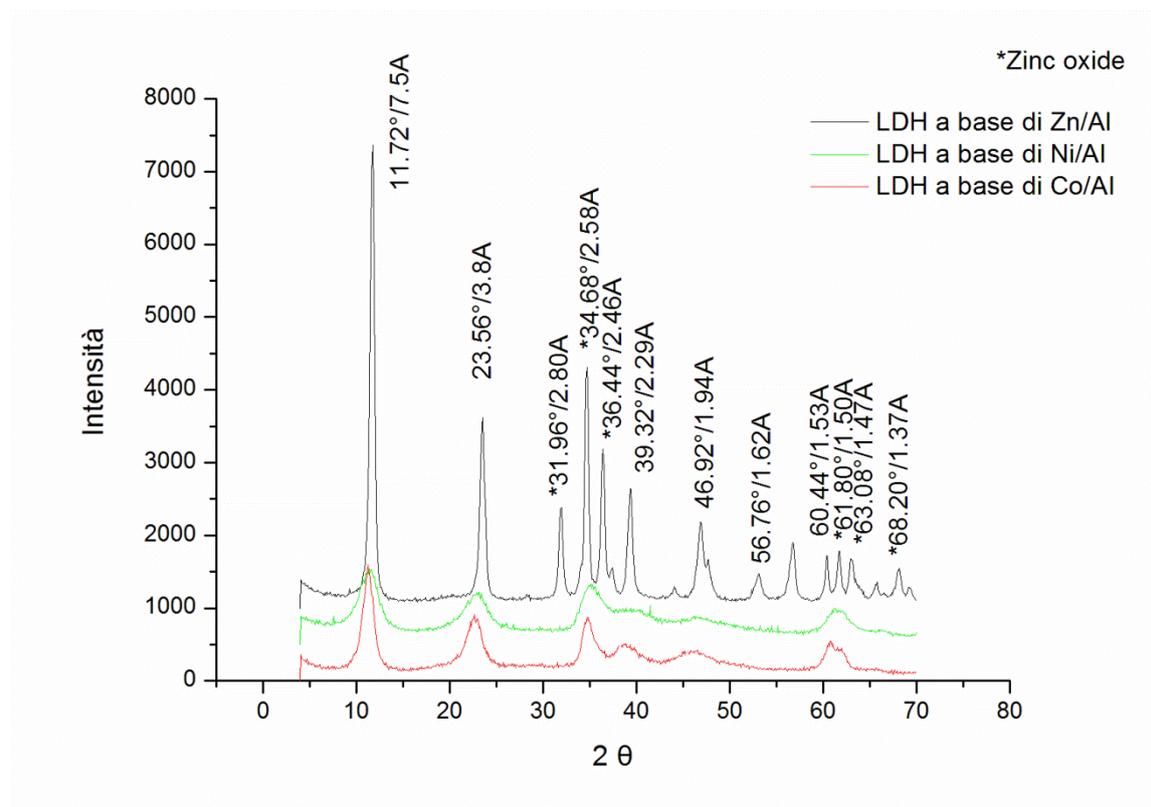


Figura 57. Diffrattogrammi registrati sugli LDH a base di Zn/Al, Ni/Al e Mg/Al preparati per via galvanostatica. \* Riflessi relativi allo Zinco Ossido

all'elettrodo, come già ipotizzato per la sintesi condotta in potenziostatica. Infatti sulla superficie elettrodica si è osservata la formazione di uno strato compatto che neppure l'agitazione riusciva ad eliminare. Questo fatto rendeva necessario un elevato potenziale catodico ( $\sim -1,5$  V) per far fluire la corrente impostata; inoltre in queste condizioni aveva luogo la riduzione dello  $Zn^{2+}$  a Zn, evidenziata da macchie grigio scure osservate sulla superficie dell'elettrodo.

Gli LDH a base di Ni/Al e Mg/Al sono stati successivamente analizzati con SEM-EDX e termogravimetria. Per i vari materiali il contenuto di acqua, il rapporto  $M(II)/Al^{3+}$ , e la resa di sintesi sono riportati in Tabella 19, insieme agli stessi dati ottenuti per l'LDH contenente Co e Al.

### 13.1.3 Confronto qualitativo dei pH registrati durante la sintesi

Per avere maggiori informazioni sulla composizione della soluzione elettrolitica, è stato registrato il pH durante tutte le elettrosintesi. Possiamo osservare che i tre LDH a base di Co/Al,

Ni/Al e Mg/Al mostrano un comportamento differente (Figura 56): per i primi due, il pH, dopo un piccolo incremento iniziale, si stabilizza a un valore di circa 4 e rimane praticamente costante per circa 40 minuti, dopo i quali inizia ad aumentare fino a raggiungere il valore di circa 11. Per l'LDH a base di Mg/Al, la curva del pH in funzione del tempo presenta due plateau, uno a pH 4 e uno a pH 8, meno definito. Questo comportamento è analogo a quello descritto per la coprecipitazione a pH crescente da Bocclair e Braterman<sup>1</sup> per questa tipologia di composti. Il primo plateau (pH ~ 4) è causato dalla formazione dell'idrossido di alluminio, mentre il gradino a pH ~ 8 è dovuto alla formazione di LDH a partire dall'idrossido di alluminio e dagli ioni magnesio. Questo comportamento dovrebbe essere seguito anche dagli LDH a base di Ni/Al e Co/Al, ma, come già detto, per tali materiali nelle curve pH vs tempo si osserva solo il primo gradino a pH 4. Probabilmente il pH nel corpo della soluzione non aumenta perché la cinetica di formazione di questi LDH è più veloce e il composto di tipo idrotalcite si forma già in prossimità dell'elettrodo, non permettendo così agli ioni OH<sup>-</sup> di raggiungere il corpo della soluzione.

### **13.1.4 Elettrosintesi in bulk di LDH con intercalato l'anione dodecil solfato**

Il metodo di elettrosintesi precedentemente descritto è stato applicato per la sintesi in bulk di LDH a base di Co/Al, Ni/Al e Mg/Al con lo ione dodecil solfato (DS) presente nell'interstrato. La sintesi è stata condotta per via galvanostica in una soluzione contenente KNO<sub>3</sub> 0,3 M, M(II)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 22,5 mM, Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 7,5 mM e sodio dodecil solfato 15 mM; a causa della presenza del sodio dodecil solfato e dello ione Al<sup>3+</sup>, nella cella elettrochimica si forma Al(dodecilsolfato)<sub>3</sub> in forma di solido<sup>2</sup> e, inoltre, la soluzione dà origine a numerose bolle poiché la concentrazione di dodecil solfato è superiore alla concentrazione micellare critica. Questa è stata condotta in condizioni di agitazione magnetica e in atmosfera di Argon per evitare l'intercalazione del CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> che può essere presente in soluzione in seguito alla solubilizzazione, prevalentemente a pH basici, della CO<sub>2</sub> atmosferica. Per evitare la formazione di un'eccessiva schiuma, il DS, in forma di sale sodico, è stato aggiunto alla soluzione, sotto forma di solido, dopo averla deaerata. Il pH durante l'elettrosintesi è stato monitorato con un elettrodo a vetro collegato ad un pHmetro.

I diffrattogrammi PXRD dei tre materiali mostrano confermano l'aumento dello spazio interlamellare, dovuto all'intercalazione dello ione dodecil solfato nella zona interstrato. Il riflesso

003 per i vari LDH intercalati con DS (Co/Al DS, Ni/Al DS, Mg/Al DS) si sposta da un valore di circa 7.7 Å, tipico per LDH contenenti il carbonato, ad un valore  $> 25$  Å (Figura 58 A e Tabella 20), compatibile con l'intercalazione dello ione dodecil solfato<sup>3</sup>. Anche i riflessi relativi ai piani basali 006, 009, 0012, 0015 e 0018 confermano questa intercalazione. Nello stesso tempo il riflesso corrispondente alla diffrazione di piano 110, relativo allo strato brucitico, rimane invariato al valore di 1.51 Å, confermando così che gli strati brucitici sono ancora presenti nei nuovi materiali sintetizzati. In tabella sono riportati i valori relativi ai riflessi registrati per gli LDH a base di Co/Al, Ni/Al e Mg/Al.

	0 0 3	0 0 6	0 0 9	0 0 1 2	0 0 1 5	0 0 1 8	1 1 0
Co/Al	25,7 Å	12,5 Å	8,4 Å	6,4 Å	5,1 Å	4,2 Å	1,53 Å
Ni/Al	31,5 Å						1,51 Å
Mg/Al	26,9 Å	13,3 Å	8,4 Å				1,52 Å

**Tabella 20. Riflessi registrati per gli LDH a base di Co/Al, Ni/Al e Mg/Al con intercalato lo ione dodecil solfato.**

Gli spettri IR registrati (Figura 58 B) confermano ulteriormente l'intercalazione dello ione dodecil solfato: per i tre materiali sono state registrate delle nuove bande, non presenti nei materiali preparati in assenza di DS, che sono invece state riscontrate nello spettro IR del sodio dodecil solfato registrato per confronto.

La resa dell'elettrosintesi è risultata piuttosto alta, con valori compresi tra il 70 e il 100 %.

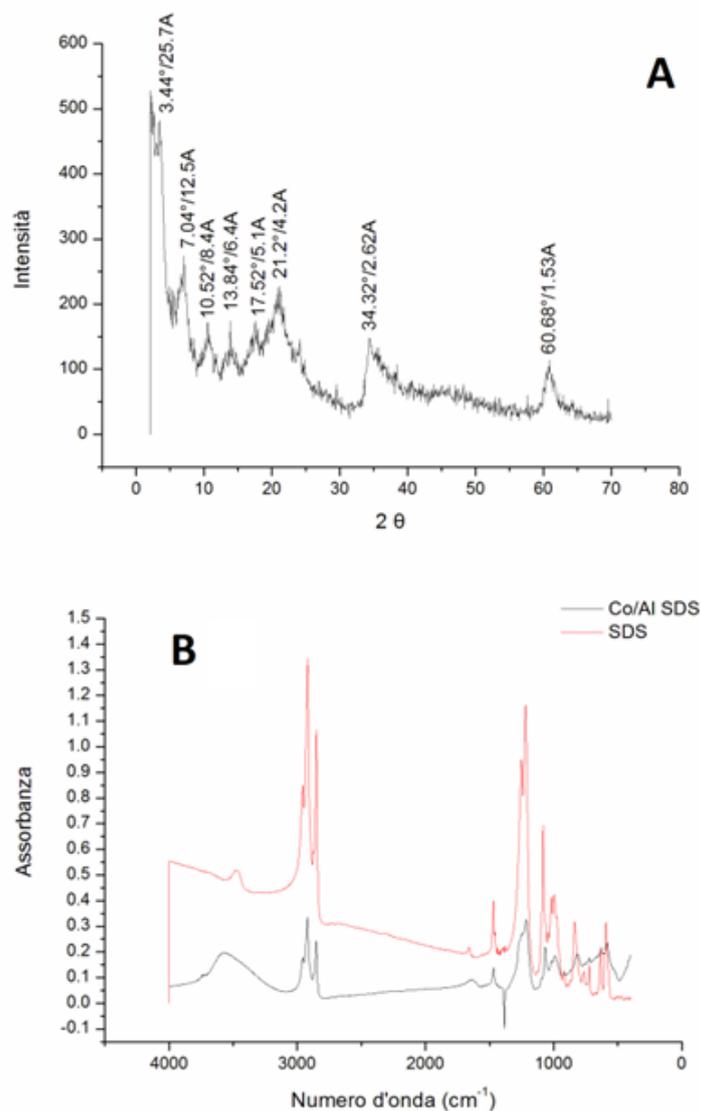


Figura 58. Diffratogramma (A) e spettro IR (B) per l'LDH a base di Co/Al con intercalato lo ione dodecil solfato.

Dalle prove effettuate risulta evidente che il metodo dell'elettrosintesi massivo può essere applicato anche per la produzione di LDH con intercalato uno ione diverso dal nitrato, che è utilizzato sia come elettrolita di supporto, sia come reagente per garantire la produzione degli  $\text{OH}^-$  necessari alla precipitazione degli LDH. La presenza di questo o altri anioni nella struttura dell'argilla può essere impiegata sia per controllare la distanza intralamellare, sia per ottenere una struttura pilastrata analoga a quelle descritte da de Roy et al<sup>4</sup>.

## 13.2 Bibliografia

---

<sup>1</sup> J. W. Boclair, P. S. Braterman, *Chem. Mat.* 1999, 11, 298

<sup>2</sup> D. Angelescu, H. Caldaran, A. Khan, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2004, 245, 49

<sup>3</sup> M. S. Yarger, E. M. P. Steinmiller, K.-S. Choi, *Chem. Commun.*, 2007, 159

<sup>4</sup> A. de Roy, C. Forano, K. El Malki, J.-P. Biessu, *Anionic Calys: trends in pillaring chemistry*, in *Expanded Clays and other microporous solids*, edito da M. L. Occelli, H. Robson, 1992, Springer, New York

## Elenco pubblicazioni

I. Gualandi, E. Scavetta, S. Zappoli, D. Tonelli, Electrocatalytic oxidation of salicylic acid by a cobalt hydrotalcite-like compound modified Pt electrode, *Biosens. Bioelectron.*, 2011, 26, 3200-3206

E.Scavetta, B. Ballarin, C. Corticelli, I. Gualandi, D. Tonelli, V. Prevot, C. Forano, C. Mousty, An insight into the electrochemical behavior of Co/Al layered double hydroxide thin films prepared by electrodeposition, *Journal of Power Sources*, 201 (2012), 360-367

I.Gualandi, A. G. Solito, E. Scavetta, D. Tonelli, Electrochemical Pretreatment of Pt Surface: Modification with Co/Al Layered Double Hydroxide for Analytical Applications, *Electroanalysis*, 24 (2012), 857-864.

A. Baschieri,<sup>a</sup> L. Sambri, I. Gualandi, D. Tonelli, F. Monti, A. Degli Esposti, N. Armaroli, Carbazole-terpyridine donor–acceptor luminophores, *RSC Advances*, Accepted

# Ringraziamenti

Ringrazio di cuore la prof.ssa Domenica Tonelli perché mi ha accolto nel suo gruppo di ricerca facendomi sentire a mio agio in laboratorio fin dall'inizio, e perché penso che la sua guida e il suo sostegno siano stati la base di tutti i risultati e, quindi delle soddisfazioni, che ho ottenuto in questi tre anni.

Vorrei ringraziare il professor Zappoli perché mi ha sostenuto nell'imboccare questa strada e mi ha fornito sempre consigli scientifici e professionali di qualità.

Un grazie speciale va Erika che è sicuramente un punto di riferimento in laboratorio per tutti noi non strutturati.

Esprimo la mia gratitudine alla Prof.ssa Mousty che mi ha accolto presso l'Institut de Chemie de Clermont-Ferrand dove ho trascorso un periodo 3 mesi e ha guidato il mio lavoro con immensa professionalità e competenza.

Vorrei ringraziare Lorella, Adriana, Marco, Tito, Ilea, Pietro e Lorenzo per tutti i bei momenti trascorsi insieme in laboratorio.

Infine il più sentito ringraziamento ai miei genitori e la mia famiglia che mi hanno permesso di completare gli studi in tranquillità.