



UnB

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

**FILMES AUTOMONTADOS DE ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO:
CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA E APLICAÇÃO EM
BIOSSENSORES**

Amanda Costa Santos

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno

Brasília, DF

2017

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA
LABORATÓRIO DE PESQUISA EM POLÍMEROS E NANOMATERIAIS

TESE DE DOUTORADO

**FILMES AUTOMONTADOS DE ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO:
CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA E APLICAÇÃO EM
BIOSSENSORES**

Amanda Costa Santos

Brasília – DF

2017

Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) **Amanda Costa Santos**, matrícula nº **12/0178818**, intitulada ***“FILMES AUTOMONTADOS DE ÓXIDO DE GRAFENO REDUZIDO: CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA E APLICAÇÃO EM BIOSENSORES”***, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 3 de julho de 2017.

Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof. Dr. Welter Castanhêde da Silva
Membro Titular (DQ/UFPI)

Prof. Dr. Jonatas Gomes da Silva
Membro Titular (UCB)

Prof. Dr. José Joaquín Linares León
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof.^a Dra. Maria Aparecida Godoy Soler
Membro Suplente (IF / UnB)

Em 3 de julho de 2017.

DEDICATÓRIA

À Deus, primeiramente, que sem Ele nada é possível e aos meus guias e amigos encarnados e desencarnados que sempre me auxiliaram nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e meus amigos e guias espirituais, por sempre estarem presentes me iluminando e aconselhando desde sempre.

Ao professor Dr. Leonardo Giordano Paterno, meu orientador, pela orientação e compreensão, durante esses quase 5 anos.

À professora, Dra. Maria José Araújo Sales, que foi quem me recebeu de braços e sorriso aberto em seu laboratório.

À professora, Dra. Maria Aparecida Godoy Soler, pela autorização para a realização das análises de IV e Raman, e ao Luís Miguel, pela realização dessas análises.

Ao Laboratório de Nanobiotecnologia do Instituto de Biologia da UnB pelas medidas de diâmetro hidrodinâmico e potencial zeta, em especial à Mayara pela realização as medidas.

À professora Danijela Gregurec do *Centro de Investigación Cooperativa en Biomateriales* (CIC biomaGUNE) em *Donostia/San Sebastián - Gipuzkoa - Spain*, pelas medidas de Espectroscopia Fotoeletrônica de Raios-X (XPS).

Ao professor Jonatas Gomes da Silva pelo auxílio no uso do software NOVA 1.11.

À UFPI, especialmente na pessoa do diretor do Campus Professora Cinobelina Elvas (CPCE) em Bom Jesus-PI, prof. Dr. Stélio Bezerra Pinheiro de Lima, que sempre me deu apoio e incentivo nessa jornada.

À Camila de Lima e João Guilherme do LQAA (Laboratório de Química Analítica e Ambiental) que me auxiliaram na detecção de analitos e análise de alguns parâmetros eletroquímicos dos pares redox, respectivamente.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Polímeros e Nanomateriais (LabPolN), os labpôneis, pelo apoio para a realização deste trabalho: GALan, supremo senhor Caio, Emi, Markete, Pedrinho, Pri, Raisetete, Priscis e Tainarete, essas duas últimas em especial que irei levar a amizade para o resto da vida.

À minha grande amiga Fernanda Sodré, apoio incondicional na vida acad mica e pessoal.

À minha família, em especial   minha mãe que me deu muito apoio quando tive que conciliar o doutorado e a maternidade. Aos homens da minha vida: meu filho Isaac, maior alegria da minha vida, ao meu esposo Cleverson que teve e ainda tem paciência

com minha vida corrida, ao meu pai José Ferreira e meus irmãos Lucas e Matheus que sempre me incentivaram e deram apoio. Aos meus tios Zacarias e Aderli com suas famílias que me acolheram tão bem durante esses anos em Brasília.

*“Porque desde a antiguidade não se ouviu,
nem com os ouvidos se percebeu,
nem com os olhos se viu um Deus além de ti,
que trabalha para aquele que nele espera...”*

Isaías 64:4

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
RESUMO.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivo do trabalho.....	2
1.1.1 Objetivo Geral.....	2
1.1.2 Objetivos Específicos.....	2
CAPÍTULO 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 Grafeno, óxido de grafeno (GO) e óxido de grafeno reduzido (RGO).....	3
2.2 Filmes automontados.....	10
2.3 Caracterização eletroquímica do eletrodo.....	12
2.4 Biossensores.....	16
2.4.1 Dopamina.....	17
2.4.2 Ácido ascórbico.....	21
CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1 Materiais e Reagentes.....	24
3.2 Métodos.....	25
3.2.1 Síntese do GO.....	25
3.2.2 Caracterização do GO.....	25
3.2.3 Limpeza dos substratos e Deposição dos filmes de PDAC/GO.....	26
3.2.4 Redução química dos filmes de PDAC/GO.....	27
3.2.5 Caracterização estrutural e Eletroquímica dos filmes.....	27
3.2.6 Caracterização eletroquímica do eletrodo	28
3.2.7 Aplicação em sensores.....	29
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	30
4.1 Caracterização do GO Sintetizado e Deposição e Caracterização de Filmes de PDAC/GO.....	30
4.1.1 Caracterização do GO.....	30
4.1.1 Monitoramento da deposição dos filmes PDAC/GO.....	34
4.2 Estudo da redução dos filmes PDAC/GO por hidrazina.....	36

4.3 Métodos alternativos de redução eletroquímica.....	39
4.4 Cinética da redução eletroquímica dos filmes.....	42
4.5 Caracterização Eletroquímica do Filme ITO(PDAC/RGO) ₅	44
4.5.1 Com diferentes eletrodos.....	45
4.5.2 Com diferentes velocidades.....	48
4.5.3 Com diferentes concentrações de pares redox.....	58
4.5.4 Medidas de impedância eletroquímica.....	64
4.6. Viabilidade para Aplicação em Biossensores.....	68
4.6.1 Dopamina e ácido ascórbico.....	68
4.6.2 Determinação de AA.....	74
4.6.3 Determinação de AA em amostras reais.....	81
CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES.....	87
CAPÍTULO 6. PERSPECTIVAS E DIFICULDADES ENCONTRADAS.....	88
CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFIAS.....	89
ANEXO A.....	95
ANEXO B.....	98

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

- AA** - Ácido Ascórbico
- AuNps** - Nanopartículas de Ouro
- CA** - Cronoamperometria
- CE** - Contra Eletrodo
- CHNS/O** - Análise Elementar de Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio, Enxofre e Oxigênio
- CNTP**- Condições Normais de Temperatura e Pressão
- CVD** - Deposição de Vapor Químico (do inglês *Chemical Vapor Deposition*)
- DA** - Dopamina
- DMF** - N,N-dimetilformamida
- DOS** - Densidade de Estados (do inglês *Density-of-States*)
- EIE** - Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
- ER** - Eletrodo de Referência
- ET** - Eletrodo de Trabalho
- FC** - Hexacianoferrato de potássio, $K_3[Fe(CN)_6]$
- FET** - Transistores de Efeito de Campo (do inglês *Field Effect Transistor*)
- FT-IR** - Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês *Fourier Transform Infrared Region*)
- GO** - Óxido de Grafeno
- HOPG** - Grafite Pirolítico Altamente Orientado (do inglês *Highly Oriented Pyrolytic Graphit*)
- I_D/I_G** - Intensidade das bandas D e G
- ITO** - Óxido de Estanho/Índio (do inglês *Indium Tin Oxide*)
- LB** - Langmuir-Blodgett
- LbL** - Camada por Camada (do inglês *Layer-by-Layer*)
- L-DOPA** - Levodopa (do inglês *L-3,4-Dihydroxyphenylalanine*)
- LIB** - Baterias de Íon-Lítio (do inglês *Lithium Ion Batteries*)
- MET** - Microscopia Eletrônica de Transmissão
- MEV** - Microscopia Eletrônica de Varredura
- MFA** - Microscopia de Força Atômica
- NMP** - N-metil-2-pirrolidona
- NQ** - 1,4-naftoquinona
- OLEDs** - Diodos Orgânicos Emissores de Luz (do inglês *Organic Light-Emitting*)

Diodes)

PAH - Cloridrato de Polialilamina

PANI - Polianilina

PDAC - Cloreto de Poli(dialildimetil amônio)

PECVD - CVD enriquecida por plasma (do inglês *Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition*)

PSS - Poli(4-estirenosulfato de sódio) (do inglês *Poly(sodium Styrene Sulfonate)*)

PTBO - Politoluidina Azul O (do inglês *Poly(toluidine blue O)*)

RGO - Óxido de Grafeno Reduzido

SiC - Carbetto de Silício

TCF - Filme Condutivo Transparente (do inglês *Transparent Conductive Film*)

THF - Tetrahidrofurano

UV-Vis - Espectroscopia na Região do Ultravioleta e do Visível

VC - Voltametria Cíclica

VPD - Voltametria de Pulso Diferencial

XPS - Espectroscopia Fotoeletrônica de Raios-X (do inglês *X-ray Photoelectronic Spectroscopy*)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetro cinético em função do ΔE_p em VC.....	15
Tabela 2. Dados de Raman e XPS para os eletrodos de ITO(PDAC/GO) ₅	40
Tabela 3. Dados obtidos a partir da equação obtida do ajuste curva.....	44
Tabela 4. Dados obtidos dos voltamogramas cíclicos e parâmetros cinéticos calculados dos diversos pares redox nos diferentes eletrodos.....	56
Tabela 5. Valores de sensibilidade ($\mu\text{A}/\text{mmol.L}^{-1}$) obtidos dos gráficos.....	64
Tabela 6. Parâmetros de impedância eletroquímica para DA, NQ e FC obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais segundo o circuito equivalente de Randles.....	66
Tabela 7. Dados de corrente obtidos para as sucessivas adições de padrão de AA em Bio C $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	82
Tabela 8. Dados de corrente obtidos para as sucessivas adições de padrão de AA em Vitawin 1 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ilustração esquemática: a) do elétron no orbital p_z , acima do plano dos carbonos sp^2 , b) da visão de topo da folha bidimensional de carbonos sp^2 destacando os elétrons nos orbitais p_z e c) da estrutura de Lewis para uma folha de grafeno.....	4
Figura 2. Formas alotrópicas do carbono obtidas a partir do grafeno. Adaptado da ref. [6].....	5
Figura 3. Diagrama de energia para os estados eletrônicos numa folha hipotética de grafeno intrínseco. A linha preta à meia altura do diagrama, que conecta as bandas, representa a energia de Fermi no material. Adaptado da ref. [8].....	6
Figura 4. Esfoliação mecânica do HOPG.....	8
Figura 5. Diagrama esquemático dos diferentes métodos usados na síntese de óxido de grafite. Adaptado de ref. [22].....	9
Figura 6. Redução do GO para RGO. Adaptado das ref. [9 e 23].....	10
Figura 7. Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) de alta resolução de uma única folha de RGO, contendo os anéis semelhantes aos da folha de grafeno (azul) e os defeitos, onde as configurações contêm quatro pentágonos (verde) e heptágonos (vermelho). Adaptada da ref. [24].....	11
Figura 8. Esquema de deposição de filmes pela técnica LbL. Adaptado da ref. [35]....	12
Figura 9. (a) Resumo das aplicações de filmes automontados LbL, dentre elas: TCF (Filme Condutivo Transparente, do inglês <i>Transparent Conductive Film</i>), FET (Transistores de Efeito de Campo, do inglês <i>Field Effect Transistor</i>) e LIB (Baterias de Íon-Lítio, do inglês <i>Lithium Ion Batteries</i>). (b) Algumas características para um melhor funcionamento. Adaptado da ref. [38].....	13
Figura 10. Polarograma cíclico mostrando o efeito do coeficiente de transferência de carga (α).....	16
Figura 11. Plot de Tafel para as retas anódica e catódica.....	17
Figura 12. Estrutura da dopamina.....	18
Figura 13. Síntese da dopamina.....	19
Figura 14. Imagem ilustrativa da neurotransmissão da dopamina. Adaptada da ref. [60].....	20
Figura 15. Oxidação da DA. Adaptada da ref. [58].....	21
Figura 16. Estrutura do AA.....	22
Figura 17. Oxidação do ácido ascórbico em deidroascórbico. Adaptada da ref. [72]....	23

Figura 18. Esquema de deposição de filmes pela técnica LbL.....	27
Figura 19. Cella eletroquímica utilizada nas medidas eletroquímicas.....	28
Figura 20. Distribuição de diâmetro hidrodinâmico da amostra de GO feito em triplicata, onde: suspensão 1 (vermelho), suspensão 2 (verde) e suspensão 3 (azul).....	30
Figura 21. Espectros de absorção UV-Vis das suspensões com diferentes concentrações (g.L^{-1}) de GO. Inserido: Curva de calibração para as suspensões de GO na absorção máxima ($\lambda = 300 \text{ nm}$).....	31
Figura 22. Espectro FT-IR do GO sólido obtido por pastilha de KBr.....	32
Figura 23. Espectro Raman da suspensão de GO.....	33
Figura 24. Gráfico da absorbância, mostrando o crescimento do filme PDAC/GO variando de 0 (preto) a 20 (roxa) bicamadas, em função do comprimento de onda. Inserido: Gráfico da absorbância nos comprimentos de onda máximos em função do número de bicamadas.....	34
Figura 25. Voltamograma cíclico de filmes com diferentes números de bicamadas de PDAC/GO, conforme está indicado. Inserido: Corrente catódica (em + 0,82 V) em função número de bicamadas PDAC/GO. $\text{KCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$	35
Figura 26. Foto dos filmes de PDAC/RGO e PDAC/GO com diferentes números de bicamadas.....	36
Figura 27. Mecanismo de redução dos grupos epóxi pela hidrazina. Adaptada da ref. [23].....	37
Figura 28. Espectro dos filmes de $\text{ITO}/(\text{PDAC/GO})_5$ e $\text{ITO}/(\text{PDAC/RGO})_5$ reduzidos por hidrazina.....	37
Figura 29. Voltamogramas cíclicos da redução de filmes de PDAC/GO no sentido anódico em diferentes eletrólitos. $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$	39
Figura 30. Voltamogramas cíclicos da redução de filmes de PDAC/GO no sentido catódico. $\text{KCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV.s}^{-1}$	41
Figura 31. Voltamogramas cíclicos da redução do filme de PDAC/GO do 1º (vermelho) ao 50º ciclo (azul) em a) 20 mV.s^{-1} e b) 100 mV.s^{-1} . $\text{KCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$. Inseridos: Gráfico da corrente pelo tempo para ambas as velocidades de varredura.....	43
Figura 32. Gráfico do ΔE em função do $\log \nu$ para o filme $\text{ITO}(\text{PDAC/RGO})_5$ em FC com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos e com diferentes velocidades de varredura.....	45

Figura 33. Voltamogramas cíclicos dos três pares redox sobre o eletrodo de ITO puro (preto), ITO/(PDAC/GO) ₅ (verde) e ITO/(PDAC/RGO) ₅ (azul) em a) DA ; b) NQ e c) FC. As concentrações de todos os pares redox foram de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$. 2º ciclo.....	46
Figura 34. Estrutura da NQ e reação redox características das quinonas. Adaptada das ref [89] e [91].....	48
Figura 35. Voltamogramas cíclicos com diferentes velocidades de varredura para DA com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ em: a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . c) Gráfico do ΔE em função do $\log \nu$ para o ITO (preto) e RGO (azul) e d) Gráfico do I em função da $\nu^{1/2}$ para o ITO (preto) e ITO/(PDAC/RGO) ₅ (azul).....	50
Figura 36. Voltamogramas cíclicos com diferentes velocidades de varredura para NQ com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ em: a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . c) Gráfico do ΔE em função do $\log \nu$ para o ITO (preto) e RGO (azul). d) Gráfico do I em função da $\nu^{1/2}$ para o ITO (preto) e ITO/(PDAC/RGO) ₅ (azul).....	52
Figura 37. Voltamogramas cíclicos com diferentes velocidades de varredura para FC com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ em: a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . c) Gráfico do ΔE em função do $\log \nu$ para o ITO (preto) e RGO (azul). d) Gráfico do I em função da $\nu^{1/2}$ para o ITO (preto) e ITO/(PDAC/RGO) ₅ (azul).....	54
Figura 38. Voltamogramas cíclicos com diferentes concentrações de DA para a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . Gráfico da corrente nos picos anódico e catódico em função da concentração da DA para: c) ITO e d) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . $\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$	59
Figura 39. Voltamogramas cíclicos com diferentes concentrações de NQ para a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . Gráfico da corrente nos picos anódico e catódico em função da concentração da NQ para: c) ITO e d) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . $\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$	61
Figura 40. Voltamogramas cíclicos com diferentes concentrações de FC para a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . Gráfico da corrente nos picos anódico e catódico em função da concentração de FC para: c) ITO e d) ITO/(PDAC/RGO) ₅ . $\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$	63
Figura 41. Gráfico de Nyquist dos eletrodos de ITO e ITO/(PDAC/RGO) ₅ para: a) DA, b) NQ e c) FC. Concentração dos pares redox de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$	65
Figura 42. Circuito equivalente de Randles.....	66

Figura 43. a) VC e b) VPD do filme ITO/(PDAC/RGO) ₅ em DA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L ⁻¹ . Inserida) Gráfico da corrente do pico anódico pela concentração de DA.....	69
Figura 44. a) VC e b) VPD do filme ITO/(PDAC/RGO) ₅ em DA e AA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L ⁻¹	71
Figura 45. a) VC e b) VPD do filme ITO/(PDAC/RGO) ₅ em AA e DA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L ⁻¹	73
Figura 46. a) VC e b) VPD do ITO puro em AA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L ⁻¹ . Inserida) Gráfico da corrente do pico anódico pela concentração de AA...75	75
Figura 47. a) VC e b) VPD do ITO/(PDAC/RGO) ₅ em AA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L ⁻¹ . Inserida) Gráfico da corrente do pico anódico pela concentração de AA.....	77
Figura 48. VPD comparando o eletrodo de ITO puro na ausência (preto) e na presença (vermelho) do AA com o eletrodo ITO/(PDAC/RGO) ₅ na ausência (verde) e na presença (azul) do AA. Concentração de AA de 1,0 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ em KCl 1,0 mol.L ⁻¹	78
Figura 49. VPD do a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO) ₅ na ausência de AA no início (preto), ao fim das medidas (vermelho) e na presença de 1,0 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ AA (azul)..	80
Figura 50. Medicamento Bio C.....	81
Figura 51. a) VPD da adição de padrão do filme de AA em Bio C com 1,0 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ usando ITO/(PDAC/RGO) ₅ . Eletrólito: KCl 1,0 mol.L ⁻¹ . b) Gráfico da corrente do pico de oxidação em função da concentração de AA.....	83
Figura 52. Complexo vitamínico Vitawin 1.....	84
Figura 53. a) VPD da adição de padrão do filme de AA em Vitawin 1 com 1,0 x 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ , usando ITO/(PDAC/RGO) ₅ . Eletrólito: KCl 1,0 mol.L ⁻¹ . b) Gráfico da corrente do pico de oxidação em função da concentração de AA.....	85

RESUMO

Aplicações promissoras de nanocompostos de carbono vêm despertando seu interesse principalmente no campo de sensores. Sendo assim, filmes ultrafinos de óxido de grafeno (GO) foram depositados, pela técnica de automontagem, e convertidos a filmes de RGO (óxido de grafeno reduzido). O objetivo foi investigar a estrutura, o comportamento eletroquímico e o uso potencial dos filmes como camada ativa em biossensores eletroquímicos para a detecção de dopamina na presença de ácido ascórbico. Foram realizadas reduções química e eletroquímicas, onde na redução eletroquímica constatou-se que a redução independe do pH do meio eletrólito. O desempenho eletroquímico de filmes de RGO foi utilizando três de pares redox: dopamina (DA), 1,4-naftaquinona (NQ) e ferricianeto de potássio (FC). Os dados obtidos deixam claro a maior afinidade do RGO na ordem DA>NQ>FC, sendo que a afinidade pelo FC é maior no eletrodo puro. As constantes de taxa de transferência eletrônica (k) obtidas para o filme de RGO com 5 bicamadas foram 0,676 cm.s⁻¹ e 0,143 cm.s⁻¹ para NQ e FC, respectivamente. Para o eletrodo puro, os valores foram, 0,104 cm.s⁻¹ e 0,333 cm.s⁻¹, respectivamente. O valor de k não pode ser determinado para a dopamina, uma vez que esta sofre oxidação irreversível. Os espectros de impedância mostraram que a resistência de transferência de carga para os pares DA e NQ é muito menor quando são usados os eletrodos modificados com o filme de RGO. Ambos resultados sugerem maior afinidade do eletrodo modificado pelos pares redox que possuem estrutura aromática. Por outro lado, os resultados mostraram que o eletrodo modificado torna a interconversão ferri-ferrocianeto mais irreversível e sugerem que esse par redox não deve ser considerado de esfera externa. Finalmente, o eletrodo de modificado foi avaliado na detecção de dopamina na presença de ácido ascórbico. Este se mostrou capaz de detectar dopamina com sensibilidade de 4,67x10⁻⁵ mol.L⁻¹, mesmo na presença de ácido ascórbico. De fato, os picos de oxidação de cada uma das espécies ocorrem em potenciais distintos quando o eletrodo modificado é utilizado. Os eletrodos desenvolvidos foram também capazes de detectar e quantificar ácido ascórbico em amostras reais.

Palavras-chave: óxido de grafeno reduzido, filmes multicamadas, propriedades eletroquímicas.

ABSTRACT

Promising applications of carbon nanocomposites are of interest in the field of sensors. Therefore, ultrafine films of graphene oxide (GO) were deposited by the self-assembling technique and converted to RGO (reduced graphene oxide) films. The objective was to investigate the structure, electrochemical behavior and potential use of films as active layer in electrochemical biosensors for the detection of dopamine in the presence of ascorbic acid. Chemical and electrochemical reductions were performed, where in the electrochemical reduction it was verified that the reduction is independent of the pH of the electrolyte medium. The electrochemical performance of RGO films was determined using three redox pairs: dopamine (DA), 1,4-naphtaquinone (NQ) and potassium ferricyanide (FC). The obtained data make clear the greater affinity of the RGO in the order DA > NQ > FC, being that the affinity for FC is greater in the pure electrode. The electron transfer rate constants (k) obtained for the 5-bilayer RGO film were 0.666 cm.s⁻¹ and 0.143 cm.s⁻¹ for NQ and FC, respectively. For the pure electrode, the values were 0.104 cm.s⁻¹ and 0.333 cm.s⁻¹, respectively. The value of k can not be determined for dopamine since it undergoes irreversible oxidation. Impedance spectra have shown that the charge transfer strength for the pairs DA and NQ is much lower when the electrodes modified with the RGO film are used. Both results suggest greater affinity of the electrode modified by the redox pairs that have aromatic structure. On the other hand, the results showed that the modified electrode makes ferri-ferrocyanide interconversion more irreversible and suggests that this redox pair should not be considered from the external sphere. Finally, the modified electrode was evaluated for the detection of dopamine in the presence of ascorbic acid. This was able to detect dopamine with a sensitivity of 4.67×10^{-5} mol.L⁻¹, even in the presence of ascorbic acid. In fact, the oxidation peaks of each species occur at different potentials when the modified electrode is used. The developed electrodes were also able to detect and quantify ascorbic acid in real samples.

Keywords: reduced graphene oxide, multilayers films, electrochemical properties.

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

Uma das linhas de pesquisa de grande interesse dentro da ciência diz respeito ao desenvolvimento de métodos de detecção de determinadas espécies químicas, tais como dopamina e ácido ascórbico, relacionadas, principalmente, ao diagnóstico de doenças. Um bom exemplo é a são algumas doenças ocasionadas pela deficiência na produção de dopamina, dentre elas: mal de Parkinson, esquizofrenia, depressão, esta última vem sendo muito discutida atualmente por levar muitos jovens ao suicídio, segunda causa de morte entre jovens de 15 a 24 anos. Dentro desse contexto, os sensores químicos vêm despontando por serem mais viáveis (menor custo, maior rapidez na resposta, miniaturização, automação, fácil manipulação) que muitos métodos analíticos convencionais, tais como as cromatografias e espectroscopias.

Dos muitos materiais usados no desenvolvimento de sensores, o grafeno e seus derivados têm se destacado devido às suas propriedades elétrica, óptica, térmica e mecânica únicas. É um material relativamente novo, já que suas propriedades só foram comprovadas experimentalmente há pouco mais de 10 anos e seus descobridores obtiveram o reconhecimento pelo feito com o Nobel em Física em 2010. Desde então, as pesquisas com grafeno têm aumentando consideravelmente, principalmente as que envolvem sua síntese e suas aplicações.

Das diversas rotas de síntese já propostas para o grafeno, a que tem como via o óxido de grafeno (GO) tem sido amplamente usada, por envolver um menor custo e poder ser realizada em escala industrial. Nesse tipo de síntese, o grafite é oxidado e esfoliado obtendo o GO que, posteriormente, é reduzido, processo no qual muitos dos grupos oxigenados são retirados, e o composto resultante é, denominado, óxido de grafeno reduzido (RGO), que tem sua estrutura e, conseqüentemente, suas propriedades mais próximas ao grafeno. A presença de grupos oxigenados torna o GO solúvel em solventes polares como a água e favorece seu processamento via suspensão. Em particular, a técnica de automontagem (ou *Layer-by-Layer*, LbL), baseada na transferência de materiais em solução para um suporte sólido tem se mostrado adequada para a produção de filmes e, conseqüentemente, de dispositivos optoeletrônicos à base de GO. Além disso, a técnica LbL é de baixo custo e fácil execução.

O GO e o RGO representam hoje uma perspectiva concreta de produção em larga escala de materiais à base de grafeno. O fato do RGO não possuir as mesmas propriedades

extraordinárias do grafeno não limita suas aplicações, que podem ser inúmeras como sensores, eletrodos transparentes para células solares e eletrodos transparentes em diodos orgânicos emissores de luz (OLEDs), capacitores, entre outras. Devido à sua transparência, condutividade razoável e flexibilidade, filmes finos de RGO são considerados materiais promissores. Dependendo da forma como GO é convertido a RGO, este pode conter impurezas capazes de melhorar o desempenho do eletrodo quando este é testado para sensores diversos, como biossensores.

Baseado nisso, este trabalho visa ao desenvolvimento e a caracterização de filmes automontados, baseados em GO/RGO como plataforma de biossensores, inclusive em amostras reais. Além disso, o mecanismo de conversão de GO para RGO é, ainda, um ponto a ser entendido. A literatura mostra resultados similares para experimentos de redução conduzidos sob diferentes condições. Dessa forma, a compreensão da redução também será abordada nesse trabalho, assim como a determinação de parâmetros físico-químicos do filme reduzido. Numa primeira etapa, o GO é sintetizado a partir de uma adaptação de método já conhecido e sua estrutura caracterizada. Posteriormente, filmes de GO são depositados por LbL e sua estrutura e propriedades eletroquímicas estudadas em função da arquitetura molecular das bicamadas. É dada ênfase ao processo de redução da fase GO para RGO. Finalmente, filmes de GO com arquitetura otimizada e depositada sobre ITO são avaliados como biossensor para detecção de DA e AA, isolados e na presença de variadas concentrações dos mesmos, além da identificação de AA em amostras reais.

CAPÍTULO 2. OBJETIVO

Objetivo Geral

Fabricar e caracterizar filmes automontados de RGO a fim de desenvolver biossensores para dopamina e ácido ascórbico.

Objetivos Específicos

- Sintetizar e caracterizar GO;
- Fabricar filmes LbL de GO por meio da técnica LbL e acompanhar a deposição;
- Investigar métodos eletroquímicos de redução do GO para RGO;
- Estudar o comportamento eletroquímico do filme de ITO(PDAC/RGO)₅;
- Avaliar o desempenho do eletrodo ITO(PDAC/RGO)₅ na detecção de dopamina e ácido ascórbico.

CAPÍTULO 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Grafeno, óxido de grafeno (GO) e óxido de grafeno reduzido (RGO)

Em Nanomateriais (área contempla materiais com dimensões nanométricas, 10^{-9} m), uma dos parâmetros que mais definem um determinado material. Isso procede porque um mesmo composto químico pode alterar absurdamente suas propriedades quando alterada sua dimensão. Um material com relações de dispersões em n direções é dito ser n -dimensional (ou nD).¹ Para os compostos de carbono são conhecidas quatro tipo de dimensões: a tridimensional (3D), a bidimensional (2D), a unidimensional (1D) e a de dimensão zero (OD).²

O grafite, forma alotrópica 3D, é uma das formas alotrópicas do carbono, sendo a mais estável nas condições normais de temperatura e pressão (CNTP). Sua estrutura consiste de folhas bidimensionais de átomos de carbono sp^2 , organizados como favo de mel, empilhadas e unidas por ligações de Van der Waals. Do ponto de vista eletrônico, o grafite é um semimetal. A sobreposição dos orbitais p_z de átomos de carbono vizinhos numa mesma folha permite que os elétrons se movimentem e atribuem uma condutividade ao grafite, da ordem de $10^4 - 10^5$ (ohm.m)⁻¹.³ Na Figura 1 é ilustrada a deslocalização eletrônica presente nos orbitais p_z .⁴

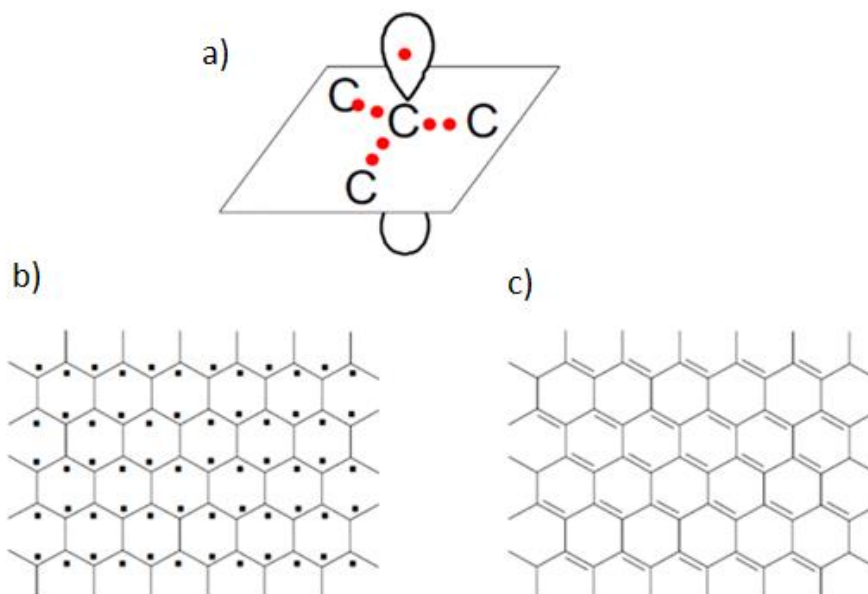


Figura 1. Ilustração esquemática: a) do elétron no orbital p_z , acima do plano dos carbonos sp^2 , b) da visão de topo da folha bidimensional de carbonos sp^2 destacando os elétrons nos orbitais p_z e c) da estrutura de Lewis para uma folha de grafeno.

Quando as ligações de Van der Waals são rompidas, as folhas são individualizadas. A folha individual é chamada de grafeno, forma alotrópica 2D.⁵ Baseando-se nisso, o grafeno é a base para outras formas alotrópicas do carbono além do grafite, como os nanotubos de carbono (forma alotrópica 1D), que são formados quando uma folha de grafeno é enrolada na forma de um tubo, e o fulereno (forma alotrópica 0D), quando as folhas são arranjadas na forma de esferas, contendo em torno de 60 a 70 átomos de carbono. A Figura 2 ilustra formas alotrópicas do carbono derivadas do grafeno.⁶

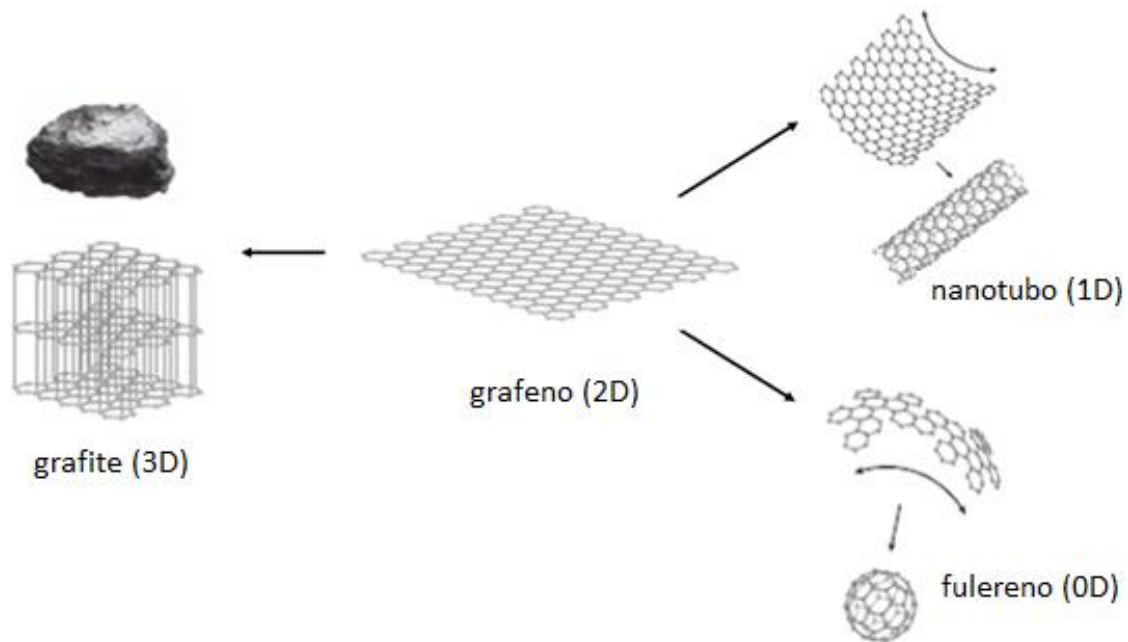


Figura 2. Formas alotrópicas do carbono obtidas a partir do grafeno. Adaptado da ref. [6].

As propriedades eletrônicas do grafeno foram observadas pela primeira vez em 2004 por Novoselov e colaboradores,⁵ quando eles conseguiram obter, por esfoliação mecânica, pequenas folhas de grafeno a partir de grafite altamente orientado (HOPG). As folhas foram empregadas na construção de um transistor e então suas propriedades medidas, como mobilidade eletrônica, resistividade e efeito Hall. As principais observações foram de comportamento semicondutor ambipolar, com a resistividade decrescendo com o aumento da temperatura e condução tanto de elétrons quanto de lacunas, dependendo da polarização de porta. Dresselhaus e colaboradores⁷ também puderam confirmar a previsão de que o grafeno é um semicondutor de *band gap* zero, como está ilustrado na Figura 3. Essa propriedade única se deve à quebra da simetria translacional quando as folhas de grafeno são individualizadas.⁸

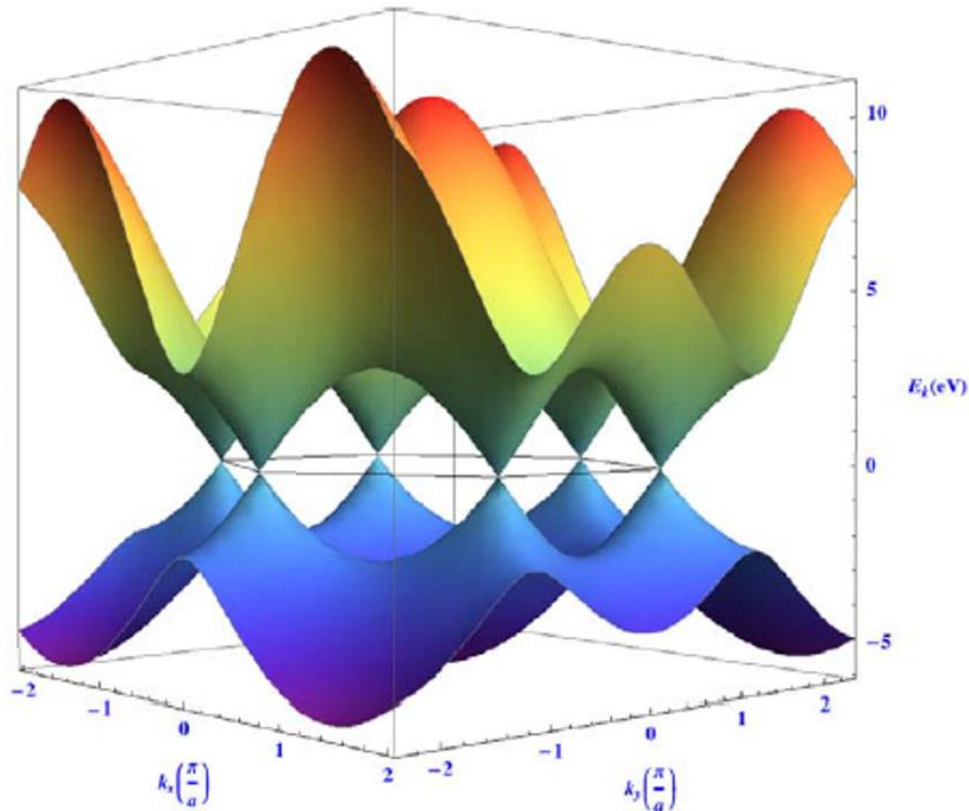


Figura 3. Diagrama de energia para os estados eletrônicos numa folha hipotética de grafeno intrínseco. A linha preta à meia altura do diagrama, que conecta as bandas, representa a energia de Fermi no material. Adaptado da ref. [8].

Essa característica peculiar permite ao grafeno ser aplicado como camada ativa em transistores, onde a condução exclusiva de elétrons ou buracos pode ser modulada pelo potencial de porta do dispositivo. A mobilidade eletrônica no grafeno é da ordem de $230.000 \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, muito superior à do silício ($10.000 \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Além das propriedades elétricas, o grafeno apresenta condutividade térmica ($3000 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) superior à da prata ($430 \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$) e módulo de elasticidade (1 TPa) superior ao aço (0.2 TPa). Também, o grafeno é praticamente transparente à luz visível. Seu espectro de absorção apresenta uma banda na região do ultravioleta centrada em $\sim 250 \text{ nm}$, atribuída à transição π - π^* do sistema conjugado.⁹

O grande impasse para o uso do grafeno em dispositivos está na limitação dos processos de produção em larga escala de grafeno com boa qualidade, baixo custo e com controle de estrutura.¹⁰

Dentre os diversos métodos de produção de grafeno, os físicos têm como principal característica a capacidade de produzir grafeno com alto controle estrutural.

Outros métodos de produção de grafeno incluem o de deposição de vapor químico (*chemical vapor deposition*, CVD) sobre superfícies metálicas e o crescimento epitaxial a partir de carbeto de silício (SiC).⁹ A técnica CVD térmica é a mais promissora para produção em larga escala de filmes com poucas ou monocamadas de grafeno.¹¹ Essa técnica possibilita a deposição de grafeno com espessura controlada sobre substrato metálico. Quando o substrato sofre um determinado ataque químico, as folhas de grafeno se desprendem, possibilitando sua transferência a outro substrato. Isso faz com que se obtenham camadas de grafeno com alta qualidade sem tratamentos mecânicos ou químicos mais complexos. Outra vantagem ao sintetizar grafeno por essa técnica, é a possibilidade de dopagem substitucional como a feita por átomos de nitrogênio, chamado de N-grafeno.¹² A CVD assistida por plasma (*plasma enhanced chemical vapor deposition*, PECVD) é uma outra rota de síntese do grafeno, com temperatura menor quando comparada à CVD térmica. A vantagem da PECVD em relação à CVD térmica é o menor tempo de deposição (< 5 min) e uma menor temperatura de crescimento (650 °C), ao invés dos aproximados 1000 °C da CVD térmica.¹³ Quando o SiC é aquecido sob ultra vácuo, os átomos de carbono são sublimados, possibilitando um rearranjo e formação de camadas de grafeno. A espessura das camadas depende do tempo de aquecimento e da temperatura, no geral, em torno de 1200 °C, para formação de poucas folhas de grafeno. Isso resulta num crescimento epitaxial, tal como num cristal, de folhas simples, duplas ou de grafeno.¹⁴ Esse tipo de grafeno tem atraído muito interesse devido às suas propriedades eletrônicas desejáveis, ou seja, possui escalabilidade para eletrônica, sendo que poucas folhas de grafeno crescidas em SiC têm propriedades semelhante a uma folha de grafeno isolada.¹⁵

A esfoliação mecânica por fita adesiva foi o método, usado por Novoselov e colaboradores,⁵ para obtenção do grafeno, que quase não continha defeitos, com espessuras inferiores a 10 nm e permitiu que as propriedades eletrônicas do grafeno pudessem ser observadas e medidas com grande precisão. O método consistiu na clivagem repetitiva de camadas de HOPG, usando uma fita adesiva tal como está mostrado na Figura 4.⁹

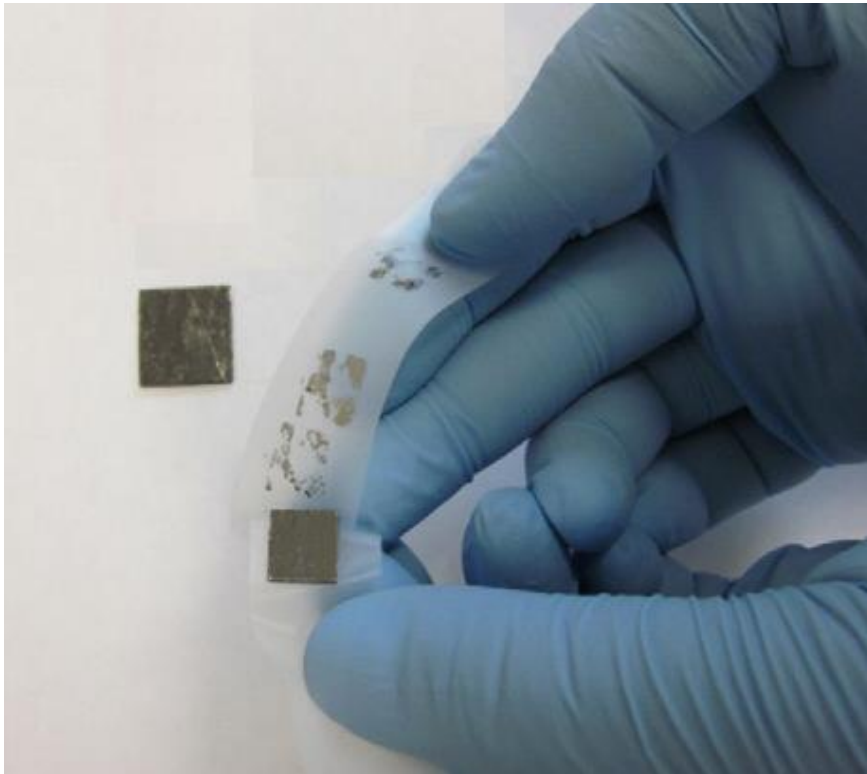


Figura 4. Esfoliação mecânica do HOPG.

No entanto, tais métodos não permitem a produção de grafeno em larga escala. Em contrapartida, as esfoliações químicas surgem como alternativas promissoras, principalmente por serem capazes de produzir materiais de grafeno em grandes quantidades ainda que sob custo reduzido.¹⁶ A esfoliação química pode ser feita via ultrassonicação do grafite em soluções de surfactantes, tais como dodecil sulfato e dodecil benzenosulfonato de sódio,¹⁷ ou mesmo colato de sódio.¹⁸ Copolímeros anfifílicos como o Pluronic® e Tetronics® também podem ser usados como surfactantes.¹⁹ A ultrassonicação pode ainda ser conduzida em solventes orgânicos polares como N,N-dimetilformamida (DMF), N-metil-2-pirrolidona (NMP),²⁰ tetrahidrofurano (THF) e etilenoglicol.²¹ A síntese química do óxido de grafeno (GO), a partir da esfoliação oxidativa do grafite, tem sido amplamente utilizada pois o GO contém diversos grupos oxigenados em sua estrutura, tais como epóxi, carbonil, carboxil e hidróxi, que permitem sua dispersão em meio aquoso ou orgânico polar, facilitando seu processamento via solução. Tais grupos podem ainda compatibilizar o GO com diversas matrizes, especialmente poliméricas e, com isso, permitir a fabricação de nanocompósitos.¹⁶

A preparação do GO tem como ponto de partida o óxido de grafite. Dentre os diversos métodos para a síntese do óxido de grafite, podem-se citar os mostrados na Figura 5.

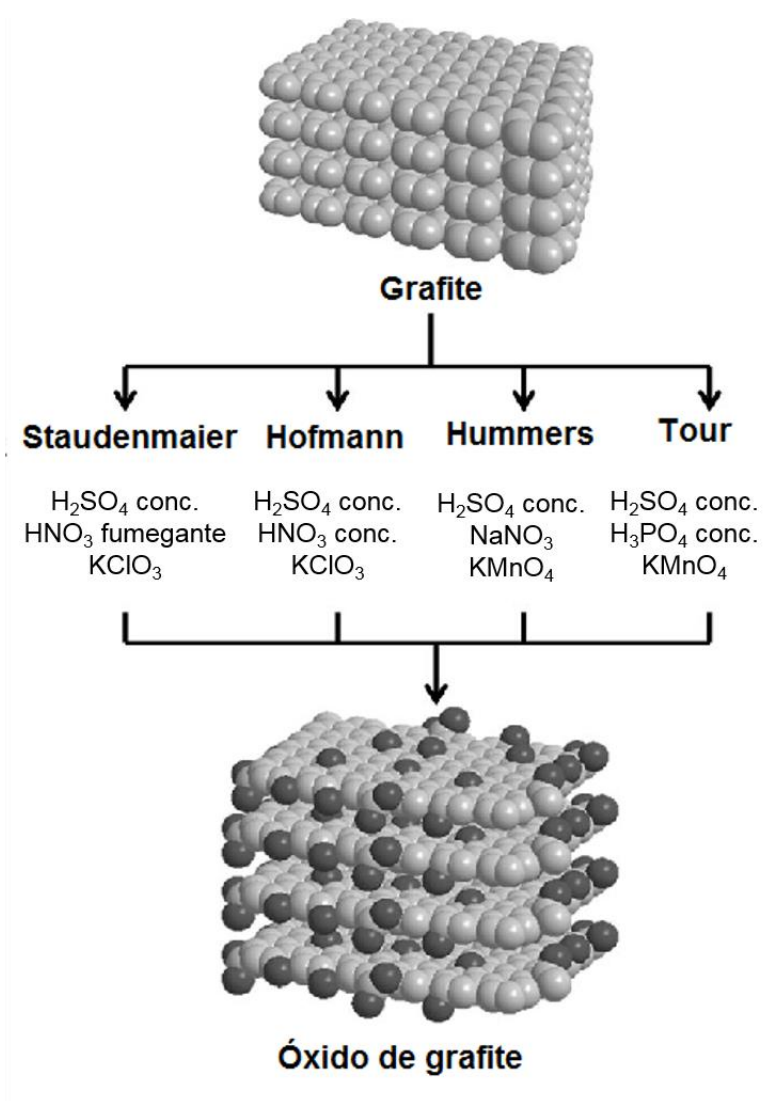


Figura 5. Diagrama esquemático dos diferentes métodos usados na síntese de óxido de grafite. Adaptado de ref. [22].

As diferentes rotas de síntese do óxido de grafite resultam em diferentes respostas eletroquímicas do GO, principalmente entre as rotas que usam permanganato (Hummers e Tour) e as que usam clorato (Staudenmaier e Hofmann). O uso de oxidantes diferentes faz com que diferentes grupos oxigenados sejam produzidos, além de algumas impurezas do próprio oxidante, como manganês, no caso da rota via permanganato. Grupos como a carbonila e a carboxila são favorecidos pelo uso do permanganato. As folhas individuais de GO são obtidas quando o óxido de grafite é submetido ao tratamento

de ultrassom em meio aquoso ou solventes polares. Em meio aquoso básico, a suspensão de GO é um colóide estável, pois os grupos carboxílicos, totalmente desprotonados, estabelecem uma repulsão eletrostática intensa entre as folhas.²²

Apesar de ser um material isolante elétrico e térmico, o GO pode ser reduzido por tratamentos químico, eletroquímico, fotoquímico ou térmico e com isso ser convertido para o óxido de grafeno reduzido (RGO), cujas propriedades térmicas, mecânicas e optoeletrônicas se assemelham bastante às do grafeno obtido por métodos físicos. Em geral, o mecanismo de redução do GO ocorre preferencialmente pela retirada dos grupos epóxi (plano basal). A coloração da suspensão muda de marrom para preto (veja a Figura 6) em decorrência da recuperação parcial do sistema conjugado.²³ Outra característica do GO é o fato de ele ser fotoluminescente.⁹

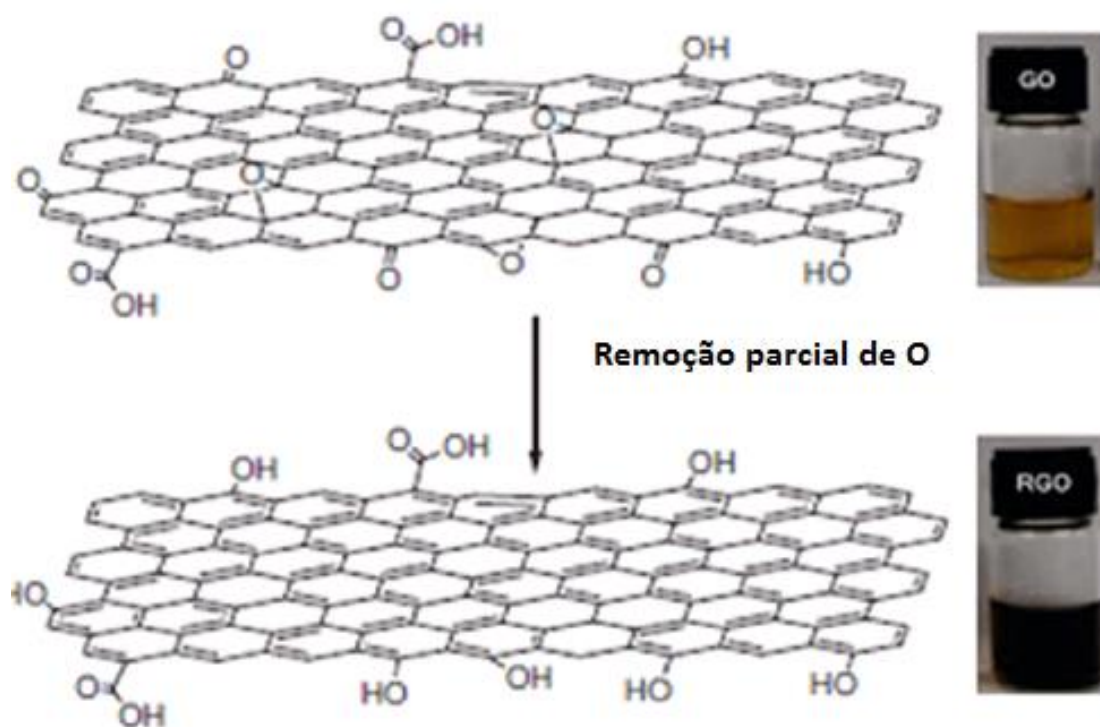


Figura 6. Redução do GO para RGO. Adaptado das ref. [9 e 23].

A principal desvantagem do RGO é de sua estrutura possuir inúmeros defeitos, como está mostrado na Figura abaixo.

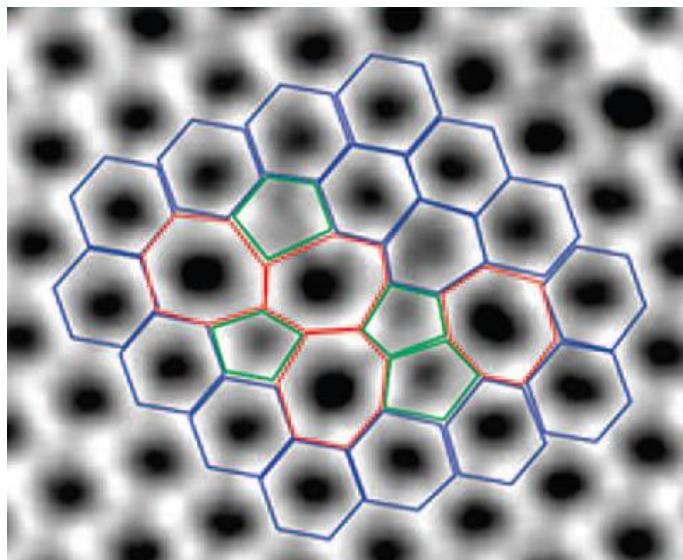


Figura 7. Imagem de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) de alta resolução de uma única folha de RGO, contendo os anéis semelhantes aos da folha de grafeno (azul) e os defeitos, onde as configurações contêm quatro pentágonos (verde) e heptágonos (vermelho). Adaptada da ref. [24].

2.2 Filmes automontados

As películas com espessuras micro e submicrométricas são denominadas filmes. Dependendo da espessura, os filmes podem ser autossustentáveis ou então suportados sobre um determinado tipo de substrato. Várias técnicas podem ser empregadas para a deposição desses filmes, tais como *drop cast*,²⁵ *dip coating*,²⁶ *spraying*,¹⁰ *spin coating*,²⁷ deposição por filtração a vácuo,²⁸ Langmuir-Blodgett (LB)²⁹ e automontagem ou LbL.³⁰

O termo automontagem originou-se do termo em inglês “self-assembly”, dado quando as espécies têm a capacidade de adsorver e se organizarem sem intervenção do homem.³¹ Isso é possível devido a interações específicas entre as espécies, tais como atração eletrostática, ligação de hidrogênio e interações mais fracas, como van der Waals (dispersão de London, íon-dipolo e dipolo-dipolo).³² A automontagem tem como característica a organização da arquitetura do filme em escala molecular, principalmente da espessura.³⁰ Quando esses filmes têm a capacidade de se auto-organizar em nível molecular, são chamados de automontados.³³

A técnica LbL para polieletrólitos foi desenvolvida por Decher e colaboradores em 1991.³⁴ Uma ilustração esquemática da técnica LbL é mostrada na Figura 8. A técnica LbL é uma das mais promissoras em termos de custo, da combinação entre diferentes espécies, reprodutibilidade, facilidade de execução e controle estrutural. Além disso, é

passível de industrialização (*scaling-up*). A técnica LbL consiste em transferir camada por camada, materiais em solução (ou em dispersão) para um substrato sólido.³⁵

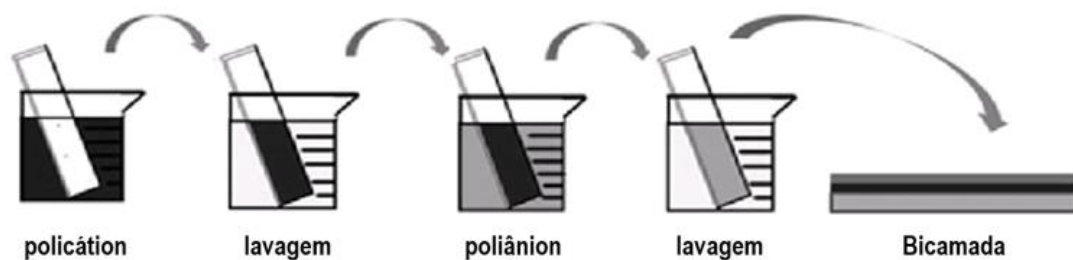


Figura 8. Esquema de deposição de filmes pela técnica LbL. Adaptado da ref. [35].

A cada imersão do substrato nas soluções uma mesma quantidade de material é adsorvida. Portanto, a técnica LbL permite o controle da espessura do filme pelo número de ciclos de imersão do substrato e, também, pelas condições físico-químicas das soluções (concentração, pH, força iônica, etc). A técnica LbL é apropriada para a deposição de materiais eletrólitos, desde pequenas moléculas, até polieletrólitos e nanopartículas coloidais.³⁵

A construção das bicamadas é possível devido à supercompensação de cargas que ocorre quando uma camada de policação é adsorvida sobre a camada de poliânion e vice-versa. Essa rugosidade do filme pode ser observada por medidas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)³⁶ e Microscopia de Força Atômica (MFA).³⁷

Existem diversas aplicações dos filmes automontados, como está demonstrado na Figura 9a, o que irá depender dos materiais intercalados e suas interações. Mesmo assim, para determinadas aplicações, certos fatores terão mais influências (Figura 9b), tais como a qualidade do material, defeitos, tamanho das partículas, área superficial e dispersão das partículas, dentre outros.³⁸

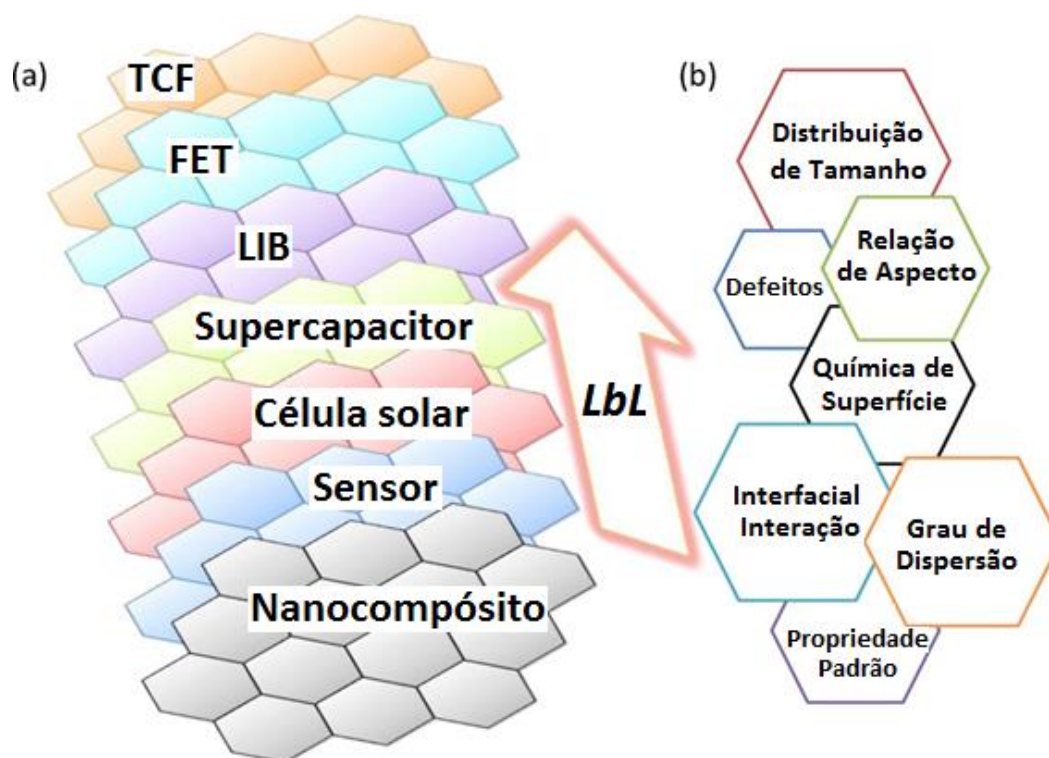


Figura 9. (a) Resumo das aplicações de filmes automontados LbL, dentre elas: TCF (Filme Condutivo Transparente, do inglês *Transparent Conductive Film*), FET (Transistores de Efeito de Campo, do inglês *Field Effect Transistor*) e LIB (Baterias de Íon-Lítio, do inglês *Lithium Ion Batteries*). (b) Algumas características para um melhor funcionamento. Adaptado da ref. [38].

Para o uso efetivo de GO e RGO em dispositivos é necessário preparar filmes automontados sobre um substrato apropriado. Em pH básico, o GO em suspensão se comporta como um macroânion e, por isso, pode ser depositado em conjunto com diferentes polieletrólitos catiônicos. Quando usada a técnica LbL, o GO pode ser intercalado com cloridrato de polialilamina (PAH),³⁹ cloreto de poli(dialildimetil amônio) (PDAC),⁴⁰ polímeros eletroquimicamente inativos. Da mesma forma, estudos mostram a intercalação do RGO com PDAC,⁴¹ polianilina (PANI),⁴² nanopartículas de ouro (AuNps) com politoluidina azul O (PTBO).⁴³

2.3 Caracterização eletroquímica do eletrodo

Devido à sua composição estrutural, nanocarbonos como GO e RGO apresentam baixa densidade de estados (density-of-states, DOS) menor que $0,005 \text{ atm}^{-1}\text{eV}^{-1}$, espaçados por inúmeros band gaps, e baixa condutividade eletrônica, o que favorece uma maior capacitância.⁴⁴ Isso pode ser avaliado pelo estudo da atividade redox na interação entre o eletrodo e o analito, o que pode ser feito testando-se pares redox comuns. Esse é um aspecto essencial para avaliação da potencialidade de novos eletrodos.⁴⁵

A determinação de parâmetros cinéticos de reações de óxido-redução (reações redox) é fundamental para avaliar a potencialidade de novos eletrodos em diferentes aplicações, tais como biossensores, dispositivos para conversão e armazenamento de energia, sistemas eletrônicos entre outras.⁴⁶ Os parâmetros cinéticos de interesse correspondem, basicamente, o coeficiente de difusão (D), constante de velocidade heterogênea (k) e coeficiente de transferência eletrônica (α). Para esse fim, sistemas redox diferentes são estudados com o eletrodo de interesse por voltametria cíclica (VC).⁴⁷

Os parâmetros eletroquímicos são determinados a partir dos dados de VC por meio de modelos diferentes. A aplicação de um tipo determinado de modelo aos dados experimentais depende essencialmente do nível de reversibilidade do sistema redox. Por exemplo, os modelos de Laviron⁴⁸ e de Koshi⁵ são os mais indicados para reações redox irreversíveis, nas quais o valor de ΔE (separação, em volts, do potencial entre os picos anódico e catódico) é maior que $212 \text{ mV}/n$, em que n indica o número de elétrons envolvidos na reação. Já para reações redox reversíveis, em que $\Delta E \leq 59 \text{ mV}/n$, os métodos de Koshi⁵⁰ e de Nicholson⁵¹ são mais adequados. Para as reações redox quase-reversíveis, com $59 \text{ mV}/n < \Delta E < 212 \text{ mV}/n$, o método de Nicholson é ainda o mais usado.

Em 1965, Nicholson conseguiu determinar parâmetros cinéticos a partir dos voltamogramas cíclicos em reações quase-reversíveis a partir de dados do pico do potencial e da corrente. Quando a reação é caracterizada como quase-reversível, pode-se determinar parâmetro cinético (ψ), k e α . Neste caso o α varia de 0 a 1.⁵¹

A constante de velocidade é heterogênea, expressa em $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$, pode ser calculada através da Equação 1, adaptada de Nicholson.⁵¹

$$k = \psi (\pi D n F v / RT)^{1/2} \quad \text{Equação 1}$$

em que π equivale a aproximadamente 3,1415, D é o coeficiente de difusão de determinada espécie (valor tabelado), n o número de elétrons transferidos, F é a constante de Faraday (96485,3365 s.A.mol⁻¹), v é a velocidade de varredura em mV.s⁻¹, R é a constante dos gases (8,314472 J. K⁻¹.mol⁻¹) e T é temperatura em K. Para determinar o k , pares redox bem conhecidos, como o Fe(CN)₆^{3-/4-}, são úteis para estudar a cinética de um eletrodo, sendo seu coeficiente de difusão equivalente a 7,6 x 10⁶ cm².s⁻¹.⁷

A determinação do parâmetro cinético foi realizada por Nicholson,⁵¹ através de uma dedução matemática, que gerou uma Tabela de dependência do parâmetro cinético em função do ΔE_p , como está mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetro cinético em função do ΔE_p em VC.

ψ	$\Delta E_p \times n^*$ (mV)
20	61
7	63
6	64
5	65
4	66
3	68
2	72
1	84
0,75	92
0,5	105
0,35	121
0,25	141
0,1	212

* Para $\alpha = 0,5$

Analisando-se a Tabela 1, pode-se perceber que os valores do parâmetro cinético maiores que 20 correspondem às reações reversíveis e que os valores menores que 0,1 às reações irreversíveis.

Para as reações quase-reversíveis, o α varia entre 0,3 e 0,7 e é independente do parâmetro cinético e da constante de velocidade heterogênea. Como está mostrado na Figura 10, o α afeta a simetria da curva nos potenciais anódicos e catódicos da seguinte forma: quando o α for maior que 0,5, o pico catódico se alarga e se torna menor que o pico anódico, já o contrário, quando α for menor que 0,5, o pico anódico se torna menor e mais largo do que o pico catódico. Outro efeito é o deslocamento dos picos quando α varia: quanto menor for, o pico se deslocará no sentido catódico e, quanto maior, no sentido anódico.⁵¹

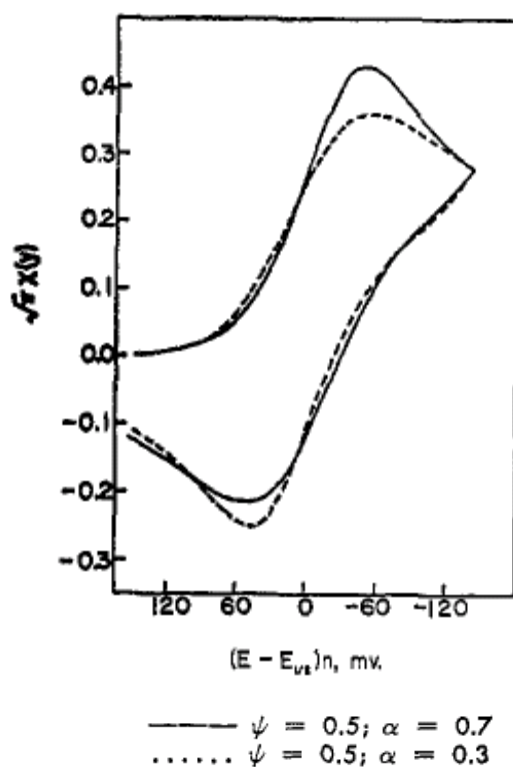


Figura 10. Polarograma cíclico mostrando o efeito do coeficiente de transferência de carga (α).

Para o cálculo de α , pode-se usar o chamado “Plot de Tafel”, onde é feito um gráfico usando-se os valores de E_p em função do $\log i$, como está mostrado na Figura 11. Através da inclinação da reta, com base no pico anódico ou catódico, é possível determinar o α , usando as equações mostradas.⁵¹

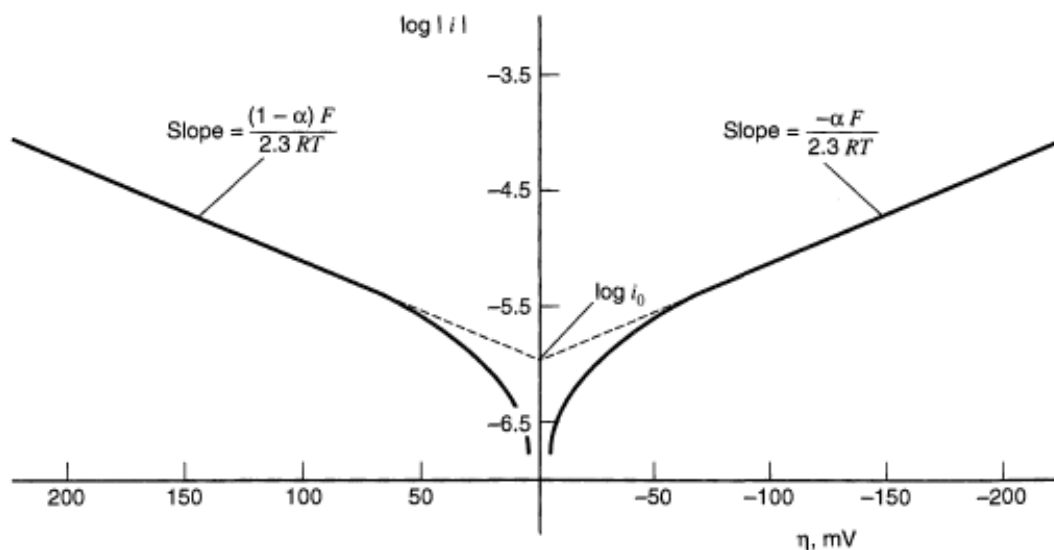


Figura 11. Plot de Tafel para as retas anódica e catódica.

2.4 Biossensores

A definição de biossensores varia de acordo os diferentes grupos de investigação que se dedicam aos vários aspectos que envolvem. Muitos definem biossensores como um sensor no qual se está imobilizado uma espécie biológica, tais como enzimas e anticorpos, outros se baseiam, de uma forma mais geral, no fato de que um biossensor tem como característica uma reação envolvendo uma espécie biológica, sem que esta esteja, de fato, imobilizada no sensor.⁵²

Apesar de muitas definições enfatizarem a natureza da espécie envolvida no processo de reconhecimento tornando irrelevante a natureza da espécie a ser detectada, numa forma geral, biossensor é definido como qualquer aparelho de medida que incorpore uma espécie biológica como parte essencial do processo.⁵³

Métodos analíticos para identificação e determinação quantitativa e qualitativa de diversos tipos de compostos são utilizados nas mais variadas aplicações, tais como no diagnóstico de doenças provocadas por vírus e bactérias, na detecção de patógenos em bebidas lácteas, na detecção de substâncias químicas para os sistemas de defesa e segurança e no monitoramento do meio ambiente. A opção pelo uso de sensores se deve, principalmente, ao seu custo baixo, operação fácil e resposta rápida quando comparados aos métodos analíticos convencionais.⁵⁴

Como foi visto anteriormente, a rota de síntese do GO via Hummers ou Tour favorece a produção dos grupos carbonila e carboxila e faz com que esse tipo de GO seja

promissor quando aplicado em biossensores.²² Estudos recentes mostram o uso de GO como sensor para umidade, dentre eles, filmes LbL de GO foram testados na faixa de umidade de 11-97% em temperatura ambiente, apresentando resposta muito melhor do que um sensor de umidade convencional, além do fato do sensor possuir uma rápida resposta para detectar a respiração humana. Com isso, este novo sensor mostrou-se ser muito promissor como sensor de umidade com alto desempenho em diversas aplicações.⁵⁵

Quando reduzidos por glicose, filmes de GO sobre substratos de papel filtro biodegradável foram testados na detecção de amônia com limite de detecção de 430 ppb, mostrando-se reprodutíveis, altamente sensíveis, flexíveis e de baixo custo. Além disso, o sensor mostrou-se seletivo para amônia quando na presença de água e compostos orgânicos voláteis.⁵⁶

Como sensores para gases e líquidos, filmes LbL de GO e reduzidos por hidrazina mostraram-se eficazes na distinção de vapores de solventes voláteis como tolueno, gasolina, etanol, clorofórmio e acetona, e em soluções aquosas de HCl, NaCl, NH₄OH e sacarose. Isso demonstra o fato de que esse tipo de sensor químico é não-seletivo.⁴⁰

2.4.1 Dopamina

Dentre as catecolaminas naturais, a 2-(3,4-dihidroxifenil)etilamina (Figura 12), mais conhecida como dopamina (DA), é uma biomolécula muito importante dentre os neurotransmissores químicos por estar presente no sistema nervoso central, exercendo um papel essencial na função cardiovascular, renal e sistema hormonal.⁵⁷ Além disso, atua essencialmente em funções cognitivas humanas, incluindo o estresse, o comportamento e a atenção.⁵⁸

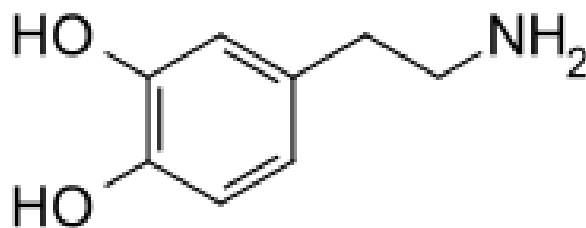


Figura 12. Estrutura da dopamina.

Entender os mecanismos e a cinética da neurotransmissão da DA é importante para compreender o papel da DA em suas funções biológicas. A dopamina é produzida na substância cinzenta do córtex cerebral a partir da tirosina, sua precursora, quando ocorre um fato positivo ou desejável, o que produz uma sensação de bem-estar, satisfação e prazer, Figura 13.⁵⁹

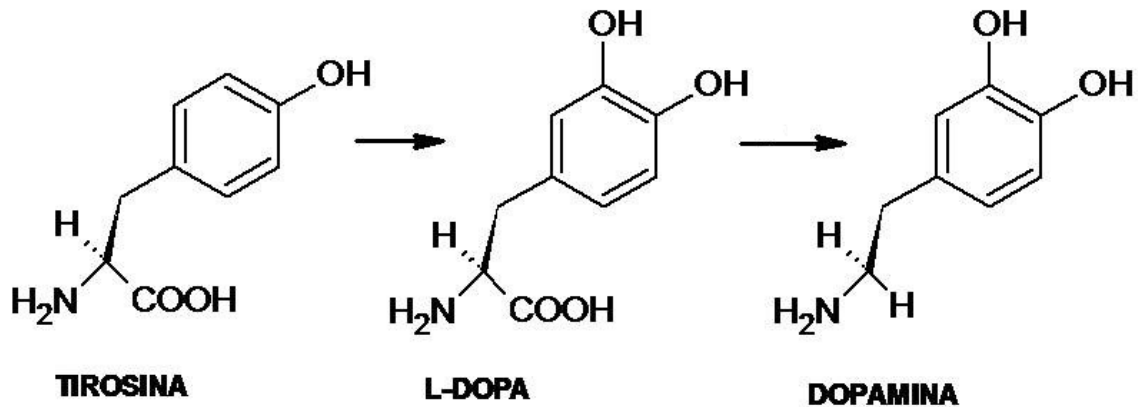


Figura 13. Síntese da dopamina.

Dentro do córtex cerebral existem os neurônios, que são células nervosas que produzem e transmitem informações. Os neurônios são compostos de duas partes: os dendritos, que é o corpo celular, responsável pela entrada de informações, e o axônio, a saída de informações através de seu terminal. Assim como outros neurotransmissores químicos, a dopamina é armazenada dentro de vesículas, pequenas esferas celulares, e é transmitida, pelo transportador de dopamina (DAT), através do terminal da célula do neurônio, para o receptor de um dendrito de outro ou do mesmo neurônio (autoreceptor), através de uma chamada sinapse. Os componentes do neurônio que transferem a DA são denominados pré-sinápticos. Já os componentes do neurônio que recebem a DA são denominados pós-sinápticos. Quando isso ocorre, a dopamina pode ser metabolizada, difundida para outro local ou reempacotada para uma liberação, como está mostrado na Figura 14.⁶⁰

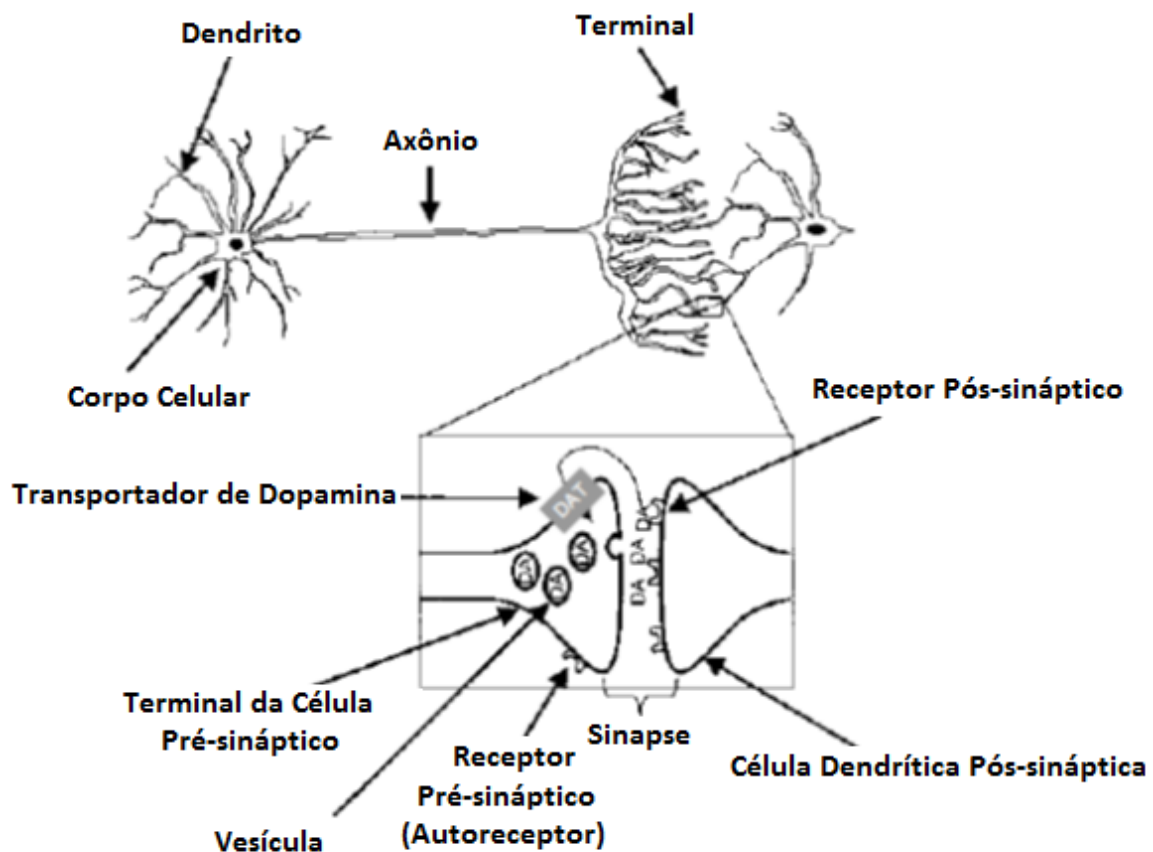


Figura 14. Imagem ilustrativa da neurotransmissão da dopamina. Adaptada da ref. [60].

Quando responsáveis pela transmissão e armazenamento da dopamina, os neurônios são denominados dopaminérgicos. Eles podem ser divididos em três classes, que possuem diferentes funções: o primeiro é responsável pelos movimentos, no qual a falta da dopamina acarreta a doença de Parkinson e outros distúrbios motores; o segundo, o mesolímbico, funciona na regulação do sistema emocional, responsável pela sensação geral de bem-estar; o terceiro, o mesocortical, é responsável por várias funções cognitivas, de memória, assim como alguns traços emocionais, principalmente relacionados com o estresse. Alterações nos dois últimos sistemas estão ligados com a esquizofrenia.⁵⁹ Sendo assim, a determinação de DA em amostras biológicas é essencial no diagnóstico dessas doenças. Em vista disso, diferentes técnicas têm sido aplicadas. Dentre as mais utilizadas, podem-se citar: eletroforese capilar,⁶¹ cromatografia,⁶² fluorescência,⁶³ espectrofotometria.⁶⁴

Um dos maiores desafios no estudo da neurotransmissão DA é a seletividade e a sensibilidade. Além disso, são necessários sensores específicos que também sejam rápidos e pequenos. As técnicas voltamétricas representam excelentes ferramentas para

enfrentar esses desafios nesses aspectos.⁶⁰ A oxidação DA envolve dois elétrons, como está mostrado na Figura 15; além disso, a DA é eletroquimicamente ativa, sendo assim o método eletroquímico pode ser aplicado por apresentar vantagem em relação aos demais, por apresentar maior simplicidade, menor custo, rapidez, alta sensibilidade e seletividade, reprodutibilidade e baixo limite de detecção.⁶⁵

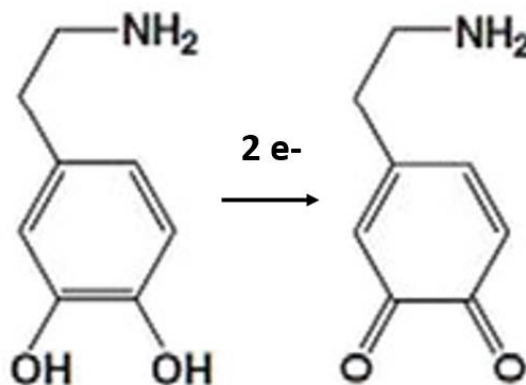


Figura 15. Oxidação da DA. Adaptada da ref. [58].

O maior problema na determinação da dopamina é a interferência de outros analitos que também estão presentes em amostras biológicas reais, principalmente o ácido ascórbico (AA), já que seu potencial de oxidação ocorre próximo ao potencial de oxidação da DA, quando usados os eletrodos sólidos convencionais, como os de carbono vítreo e metais nobres,⁶⁶ além do que, assim como a DA, o AA também é encontrado no sistema nervoso central, mas que em quantidade muito superior à dopamina, o que dificulta a detecção de DA.⁵⁸

Sendo assim, uma das alternativas é o desenvolvimento de sensores capazes de separar os picos anódicos da DA e do AA. Alguns eletrodos modificados já têm sido estudados, tais como: nanomateriais baseados em carbono,⁶⁷ polímeros,⁶⁸ metais nobres,⁶⁹ compostos baseados em metais.⁷⁰

2.4.2 Ácido ascórbico

O AA, Figura 16, também conhecido como vitamina C, é uma vitamina hidrossolúvel. Ele exerce um papel de antioxidante, e é usado para transformar as espécies reativas de oxigênio em formas inertes, além de ser fundamental em muitas reações

biológicas do corpo humano, na hidroxilação do colágeno, a proteína fibrilar que dá resistência aos ossos, dentes e paredes dos vasos sanguíneos. De acordo com valores de pH comumente encontrados no organismo, o AA encontra-se predominantemente na sua forma ionizada, denominada de ascorbato. É necessário observar que o AA é extremamente reativo. Ele oxida facilmente, reagindo com o oxigênio do ar, com a luz e até mesmo com a água.^{71,72}

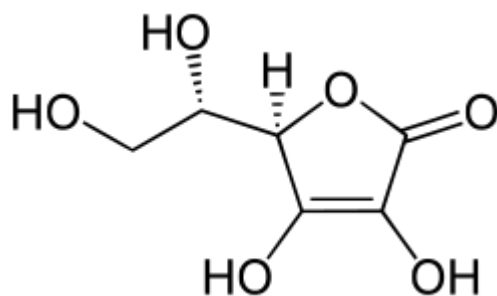


Figura 16. Estrutura do AA.

Com o amplo uso de AA em produtos alimentícios e farmacêuticos, surge também a necessidade de determinação de AA em amostras reais. Similar à DA, o AA também é eletroativo e sua detecção é feita da mesma forma, inclusive com os mesmos tipos de eletrodos. O processo redox do AA também envolve dois elétrons. O AA é a forma reduzida que, quando oxidada, é convertida ao ácido deidroascórbico, como está mostrado na Figura 17.⁷²

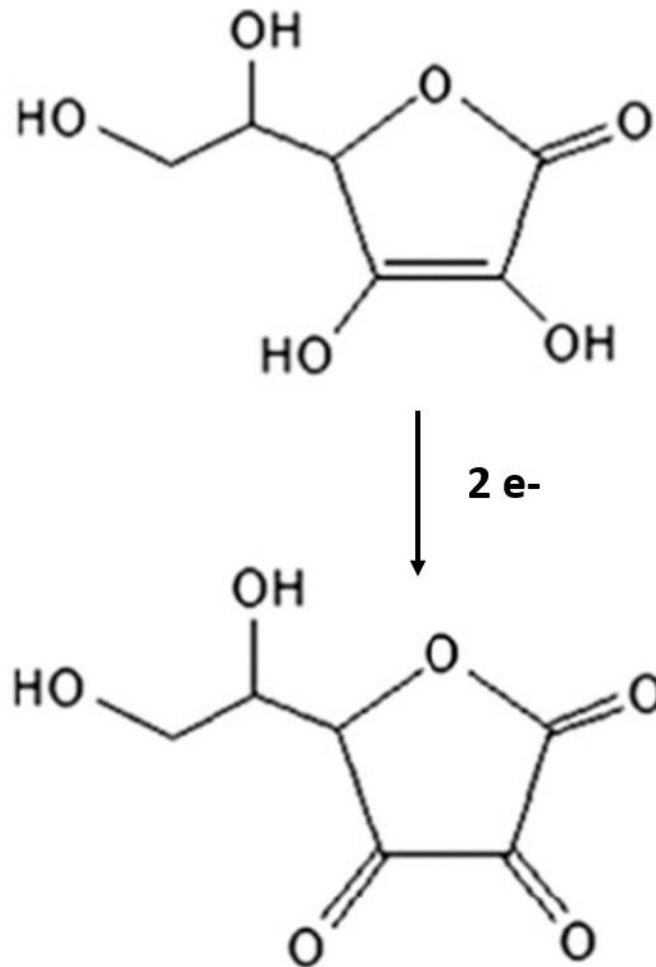


Figura 17. Oxidação do ácido ascórbico em deidroascórbico. Adaptada da ref. [72].

Baixas concentrações de AA diminuem a imunidade do organismo, podendo causar diversas doenças, como o escorbuto.⁷³ Na medicina, o AA é comumente usado para combater e prevenir gripes e resfriados, doenças mentais, infertilidade e câncer, dentre outras doenças, por aumentar a imunidade do sistema de defesa do organismo.⁷⁴ Como o organismo humano, ao contrário do de muitos animais, não é capaz de sintetizar o AA, é imprescindível, para a saúde humana, sua ingestão regular. Com isso, a indústria farmacêutica e alimentícia tem investido em alimentos, bebidas e medicamentos contendo AA.⁷²

CAPÍTULO 3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais e Reagentes

Os reagentes e materiais utilizados no trabalho com suas respectivas especificações estão listados abaixo:

- Grafite (99,99 %, Sigma-Aldrich);
- Nitrato de sódio (NaNO_3 , 99 %, Vetec)
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4 , 98 %, Vetec);
- Permanganato de potássio (KMnO_4 , 99 %, Vetec);
- Lâmina de quartzo com 15 mm de diâmetro;
- Lâminas de vidro coberto com óxido de estanho dopado com índio (ITO) com área ativa de $0,5 \text{ cm}^2$;
- Peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 30 %, Vetec);
- Ácido clorídrico (HCl , 37 %, Vetec);
- Hidróxido de amônio (NH_4OH , 28 %, Vetec);
- Cloreto de poli(dialildimetil amônio) (PDAC, $(\text{C}_8\text{H}_{16}\text{ClN})_n$, 20%, Sigma-Aldrich, M_n 450,000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, policação);
- Poli(4-estirenosulfato de sódio) (PSS, $[-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na})-]_n$, 99 %, Sigma-Aldrich, M_n 70,000 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, poliânion);
- Cloreto de potássio (KCl , 99,5 %, Vetec);
- Sulfato de sódio (Na_2SO_4 , 99 %, Vetec);
- Hidrogenofosfato dissódico dihidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$, 99 %, Vetec);
- Dihidrogenofosfato de potássio (KH_2PO_4 , 99 %, Vetec);
- Cloreto de sódio (NaCl , 99 %, Dinâmica);
- Hidróxido de sódio (NaOH , 98 %, Vetec);
- Gás nitrogênio (N_2 , 99,9 %, White Martins);
- Hidrazina hidratada ($\text{N}_2\text{H}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 25 %, Vetec);
- Hidroclorato de dopamina ($\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_2$, 98 %, Sigma-Aldrich);
- Hexacianoferrato de potássio ($\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 99 %, Vetec);
- 1,4-Naftoquinona ($\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_2$, 97 %, Sigma-Aldrich);
- Ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, 99 %, Dinâmica);
- Vitawin 1 (Sanofi-Aventis);
- Bio C (União Química).

3.2 Métodos

3.2.1 Síntese do GO

O GO foi obtido segundo o método de Hummers e Offeman⁷⁵ com algumas modificações. Na síntese feita, foi pulverizado cerca de 1,0 g de grafite e, juntamente, com 0,5 g de NaNO₃ foram suspensos em 22,5 mL de H₂SO₄ (conc.). A suspensão foi mantida em agitação magnética por 2 horas, em banho de gelo, controlando-se a temperatura a fim de que ela não ultrapassasse 25 °C. Após as 2 horas, adicionaram-se 3,0 g de KMnO₄ lentamente e a agitação foi mantida por mais 2 horas com o mesmo controle de temperatura. Em seguida, a suspensão foi retirada do banho de gelo e foram adicionados 45 mL de água ultrapura, deixando-se a solução em repouso por 30 minutos. Passado esse tempo, agitou-se a solução por mais 30 min, mas controlando a temperatura da suspensão a fim de não ultrapassar 98 °C. Posteriormente, foram adicionados 5 mL de H₂O₂ cuidadosamente e depois 75 mL de água ultrapura. A suspensão foi então deixada em repouso por 24 h. Todo o sobrenadante foi retirado, o sólido foi lavado com 100 mL de solução de HCl 5 % e a suspensão foi deixada em repouso até a formação de duas fases. Por último, por diversas vezes o sobrenadante era retirado, o sólido lavado extensivamente com água ultrapura e centrifugado até o sobrenadante atingir pH próximo a 4. Parte do sólido foi seco para eventuais análises, enquanto a outra parte foi suspensa em solução de hidróxido de amônio (pH 10) e sonicado usando-se um sonicator Branson Sonifier 450, no modo pulsar com ciclos de trabalho de 1 minuto e poder de amplitude de 250 W, durante 30 minutos.

3.2.2 Caracterização do GO

Foram feitas, do coloide obtido: análise gravimétrica em triplicata, análise elementar (CHNS/O) usando-se um analisador Perkin Elmer 2400 com padrão de acetanilida, a medição do potencial zeta, do diâmetro hidrodinâmico a partir de um analisador Zeta Sizer Nano-Z590, além da curva de calibração obtida por espectroscopia UV-Vis usando-se um Varian Cary 5000. A curva de calibração foi feita a partir da suspensão mãe de GO e de suas suspensões diluídas em NH₄OH pH 10 nas proporções de 1:1, 1:5, 1:10 e 1:20. O sólido seco a partir da suspensão foi caracterizado por espectroscopias FT-IR no modo ATR (espectrômetro Varian 640-IR) e Raman (Jobin Yvon T 6400, com laser de 514,5 nm).

3.2.3 Limpeza dos substratos e Deposição dos filmes de PDAC/GO

A limpeza do substrato de quartzo foi realizada em duas etapas: uma ácida, em que o substrato foi imerso numa solução de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 3:1 v/v (solução piranha), seguida de enxágue com água ultrapura; e outra básica, em que o substrato foi imerso numa solução de água ultrapura/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NH}_4\text{OH}$, 5:1:1 v/v de (solução RCA-1).⁷⁶ Depois aquecida por 30 min em temperatura de 60-70 °C e, em seguida, enxágue com água ultrapura. A limpeza do substrato de ITO tem que ser menos agressiva devido ao fato de ele ser composto por uma camada de SnO_2/In , bem sensível a meios muito ácidos ou básicos. O mesmo não ocorre com o quartzo.

Os substratos de ITO foram esfregados um a um com detergente, e depois imersos num béquer com água ultrapura e detergente e mantidos em banho ultrassom por 20 min. Após esse período, foram enxaguados com água ultrapura até a remoção completa do detergente. Por fim, os substratos foram colocados num béquer apenas com água ultrapura e submetidos a mais um ciclo de 20 min no banho de ultrassom. Ao término das etapas de limpeza, os substratos de quartzo e ITO foram guardados imersos em recipiente com água ultrapura e armazenados em geladeira até a deposição dos filmes.

Para a deposição dos filmes foram empregadas as seguintes soluções e suspensões: GO 0,2 g.L⁻¹, pH=10; PDAC 1,0 g.L⁻¹, pH=9; PSS 1,0 g.L⁻¹, pH=6.5. As soluções de PDAC e PSS foram preparadas dissolvendo-se os polímeros em água ultrapura com agitação magnética. A deposição dos filmes foi realizada pela técnica de LbL, manualmente, como está ilustrado esquematicamente a Figura 18. Todos os substratos foram modificados previamente ao filme de interesse com uma bicamada de PDAC/PSS, de modo a facilitar uma deposição mais eficiente da bicamada posterior de PDAC/GO, ao proporcionar uma superfície com uma maior área superficial quando comparada com a superfície do ITO puro, o que torna mais favorável a deposição do GO. O tempo de imersão do substrato nas soluções dos polieletrólitos (PDAC e PSS) e na suspensão de GO foi de 3 minutos, enquanto o enxágue foi de 20 segundos em água ultrapura sob agitação constante. O tempo de imersão foi estabelecido num estudo cinético realizado por Gross e colaboradores.⁴⁰ O monitoramento da deposição do filme foi realizado sobre a mesma lâmina de quartzo, cobrindo o máximo de sua área, com número de bicamadas (n) variando de uma a vinte bicamadas de PDAC/GO. A deposição de filmes de PDAC/GO foi realizada da mesma maneira sobre diferentes substratos de

ITO, também variando entre uma a vinte bicamadas, e estabelecendo-se uma área geométrica de aproximadamente $0,5 \text{ cm}^2$.

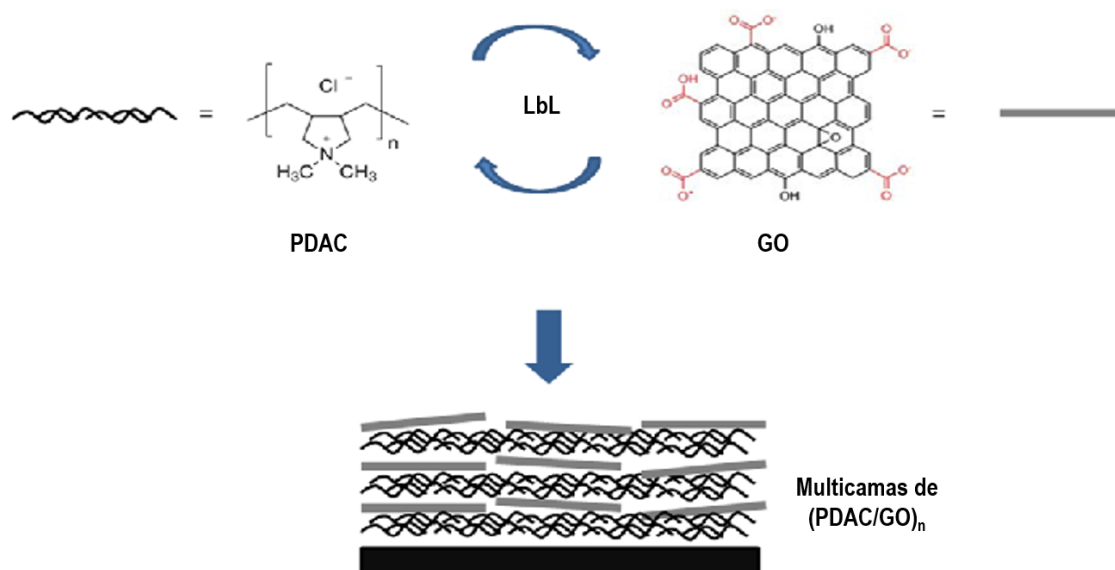


Figura 18. Esquema de deposição de filmes pela técnica LbL.

3.2.4 Redução química dos filmes de PDAC/GO

Para a redução química, o filme foi mantido imerso por 10 minutos numa solução aquosa de hidrazina (12,5% m/v) a quente ($65\text{-}70 \text{ }^\circ\text{C}$). Posteriormente, o filme foi retirado da solução e lavado exaustivamente com água ultrapura sob agitação, a fim de eliminar os resíduos de hidrazina. Depois é seco com jato de ar comprimido e armazenado em frasco fechado sob temperatura ambiente até a realização das caracterizações.

3.2.5 Caracterização estrutural e Eletroquímica dos filmes

O monitoramento da deposição dos filmes depositados sobre quartzo foi realizado por espectroscopia na região do ultravioleta e do visível (UV-Vis) num espectrofotômetro Varian Cary 5000. A deposição sobre substrato de ITO foi acompanhada por VC, num potenciostato Autolab PGSTAT 30 Eco Chemie, controlado pelo software GPES 4.9. Os filmes sobre ITO foram usados como eletrodo de trabalho numa cela eletroquímica de 50 mL, como mostrado na Figura 18. O eletrólito usado na VC foi o $\text{KCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV.s^{-1} .

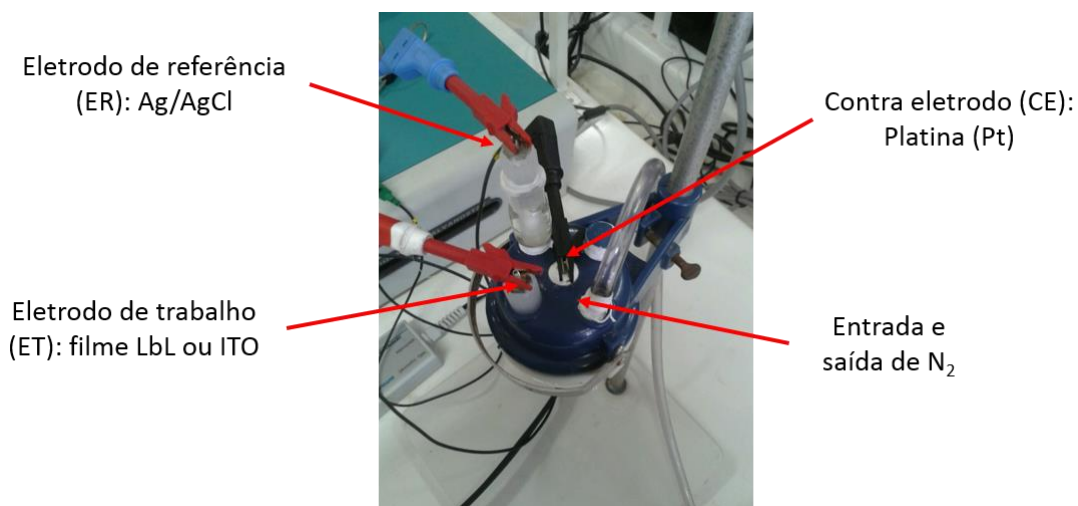


Figura 19. Cella eletroquímica utilizada nas medidas eletroquímicas.

Além da redução química, os filmes PDAC/GO também foram reduzidos eletroquimicamente com duas metodologias, VC e cronoamperometria (CA). Na VC, os filmes foram submetidos a 50 ciclos sucessivos de varredura do potencial entre - 1,2 e + 1,4 V e com diferentes eletrólitos ($\text{KCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, $\text{Na}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, PBS pH 7,2, PBS pH 10,2, $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ pH } 4$, $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ pH } 1$, $\text{NaOH pH } 10$). Na CA, o filme foi submetido a um potencial fixo de - 0,9 V em solução de $\text{KCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, por um tempo de 5000 s, o qual corresponde à estabilização da corrente catódica.

Os filmes reduzidos foram analisados por espectroscopia fotoeletrônica de raios-X (XPS), utilizando-se um equipamento SPECS SAGE HR com filamento de Mg. As posições relativas dos picos foram ajustadas em relação ao pico do C 1s em 284,6 eV. Os espectros foram obtidos pela pesquisadora Danijela Gregurec do Center for Cooperative Research in Biomaterials, Espanha.

3.2.6 Caracterização eletroquímica do eletrodo

Os parâmetros cinéticos e termodinâmicos da oxidação-redução de três pares redox, dopamina (DA), 1,4-naftoquinona (NQ) e $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (FC), na concentração $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em $\text{KCl } 1,0 \text{ mol.L}^{-1}$, $\text{pH}=5,5$, foram determinados com o substrato de ITO modificado com filmes de PDAC/GO e PDAC/RGO por VC e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE). Esses experimentos foram conduzidos no potenciostato Autolab PGSTAT 204, controlado pelo software NOVA 1.11. Num primeiro estudo, foram determinados por VC a área eletroativa (S , cm^2), potencial de meia onda ($E^{1/2}$, mV), diferença de potencial de redução e oxidação (ΔE_p , mV) e constante heterogênea de

velocidade (k , $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$). Esses experimentos foram realizados com os pares redox em diferentes concentrações ($0,1$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) e diferentes velocidades de varredura (20 a $500 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$). A faixa de potencial usada nas voltametrias para os pares redox DA, NQ e FC foi de $-0,35$ a $0,8 \text{ V}$, $-1,0$ a $0,3 \text{ V}$, $-0,25$ a $0,75 \text{ V}$, respectivamente. No estudo de EIE, os espectros foram obtidos na faixa entre 100 MHz e $0,1 \text{ Hz}$, para uma única concentração do par redox ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), com sinal de excitação coincidente com o respectivo potencial de oxidação (FC: $+0,3 \text{ V}$; DA: $+0,6 \text{ V}$; NQ: $-0,3 \text{ V}$) e amplitude de 50 mV . Os dados experimentais foram ajustados com o circuito equivalente de Randles no programa NOVA 1.11. Os erros associados aos parâmetros do circuito foram menores que $0,2 \%$.

3.2.7 Aplicação em sensores

Soluções de KCl $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ contendo diferentes concentrações ($0,1$ a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) de dopamina (DA) e ácido ascórbico (AA) foram analisadas por eletrodos de ITO e ITO/(PDAC/RGO)₅. A seletividade do eletrodo contendo o filme de RGO também foi testada, fixando-se a concentração de DA em $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e variando-se a concentração de AA entre $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. O inverso também foi feito ao fixar a concentração de AA e variar a de DA. Por último, duas amostras reais (BIO C e Vitawin 1), medicamentos usados como fonte de vitamina C, tiveram sua concentração determinada pelo método de adição de padrão. Nesse método diferentes concentrações do padrão (AA), variando de $0,5$ a $10 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, foram adicionadas à uma concentração aproximada de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de AA do medicamento, segundo seus fabricantes, usando o eletrodo de ITO/(PDAC/RGO)₅.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização do GO Sintetizado e Deposição e Caracterização de Filmes de PDAC/GO

4.1.1 Caracterização do GO

O sólido obtido antes da sonicação foi o óxido de grafite. A sonicação causa a esfoliação do óxido de grafite e leva à formação do óxido de grafeno (GO). A análise gravimétrica foi usada para determinação da concentração da suspensão mãe, resultando em $0,75 \text{ g.L}^{-1}$. Os dados de CHNS/O mostraram uma relação C:O (em percentual atômico) de 2:1. Esse valor está de acordo com o obtido por Hummers e Ofemann e indica a formação do óxido de grafite.⁷⁵

A média do valor do potencial zeta medido em triplicata foi de $-38,3 \text{ mV}$, mostrando que o GO em suspensão se encontra na forma aniônica e bem estabilizado quando comparado aos valores de -30 mV encontrados na literatura.⁷⁷ A distribuição de diâmetro hidrodinâmico, obtida em triplicata, de acordo com os gráficos da Figura 20, mostra que o diâmetro médio é de cerca de 437 nm ($\pm 66,58$) para mais de 80% das folhas. No entanto, os resultados indicam também que a amostra contém folhas de tamanhos distintos.

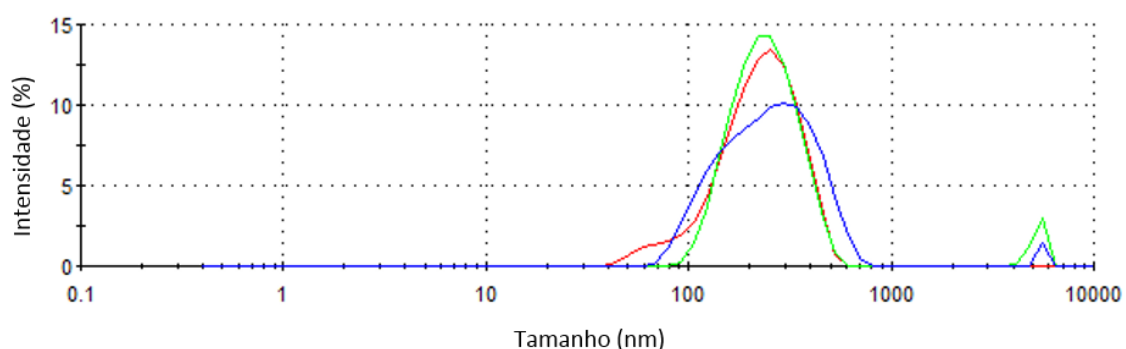


Figura 20. Distribuição de diâmetro hidrodinâmico da amostra de GO feito em triplicata, onde: suspensão 1 (vermelho), suspensão 2 (verde) e suspensão 3 (azul).

Os espectros de absorção UV-Vis da suspensão com diferentes concentrações de GO apresentam uma banda com absorbância em 230 nm e um ombro em 300 nm, referentes às transições eletrônicas no GO. A absorbância máxima em 230 e o ombro em 300 nm correspondem, respectivamente, à transição π - π^* da ligação C=C entre os carbonos presentes na estrutura grafítica, e à transição n- π^* da ligação C=O resultante da oxidação das folhas de grafite.⁷⁷ Uma curva de calibração em 230 nm, para a suspensão do GO, foi obtida a fim de se determinar a concentração de uma suspensão de concentração desconhecida do mesmo GO. A Figura 21 mostra os espectros das diferentes suspensões diluídas de GO e da solução na qual foram diluídas. Na Figura Inserida, o coeficiente de determinação (r^2) no valor de quase 1 mostra a confiabilidade da curva de calibração para as suspensões de GO. O valor encontrado de absorvidade para esse GO foi de 0,38 L.g⁻¹.

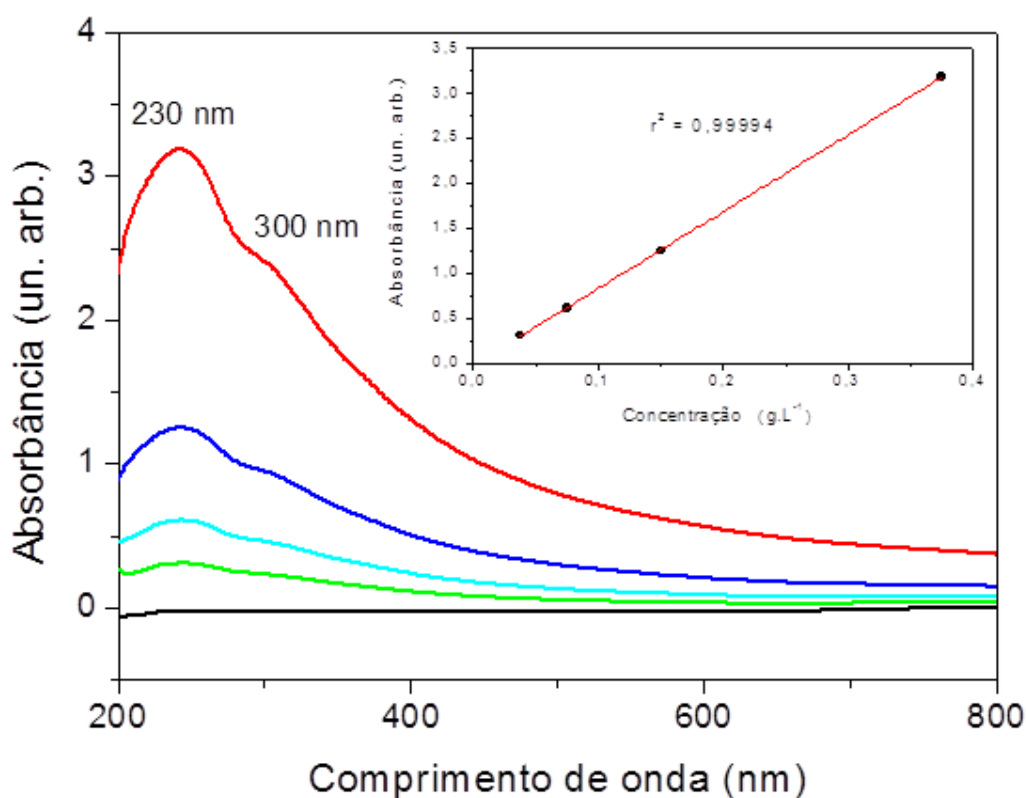


Figura 21. Espectros de absorção UV-Vis das suspensões com diferentes concentrações (g.L⁻¹) de GO. Inserido: Curva de calibração para as suspensões de GO na absorção máxima ($\lambda = 230$ nm).

A Figura 22 apresenta o espectro FT-IR da amostra de GO. É possível observar a presença de diversos grupos oxigenados, oriundos da oxidação do grafite. O espectro

exibe a banda de estiramento do O-H (3450 cm^{-1}), de estiramento da ligação C=O do grupo carbonila de ácido carboxílico ou do aldeído (1820 cm^{-1}) e de estiramento do grupo epóxi na ligação C-O-C (1260 cm^{-1}). Além disso, em 1620 cm^{-1} se refere ao estiramento das ligações C=C nas regiões gráficas remanescentes. Em suma, o espectro mostra que a estrutura do GO e é compatível com os espectros apresentados na literatura.⁷⁸

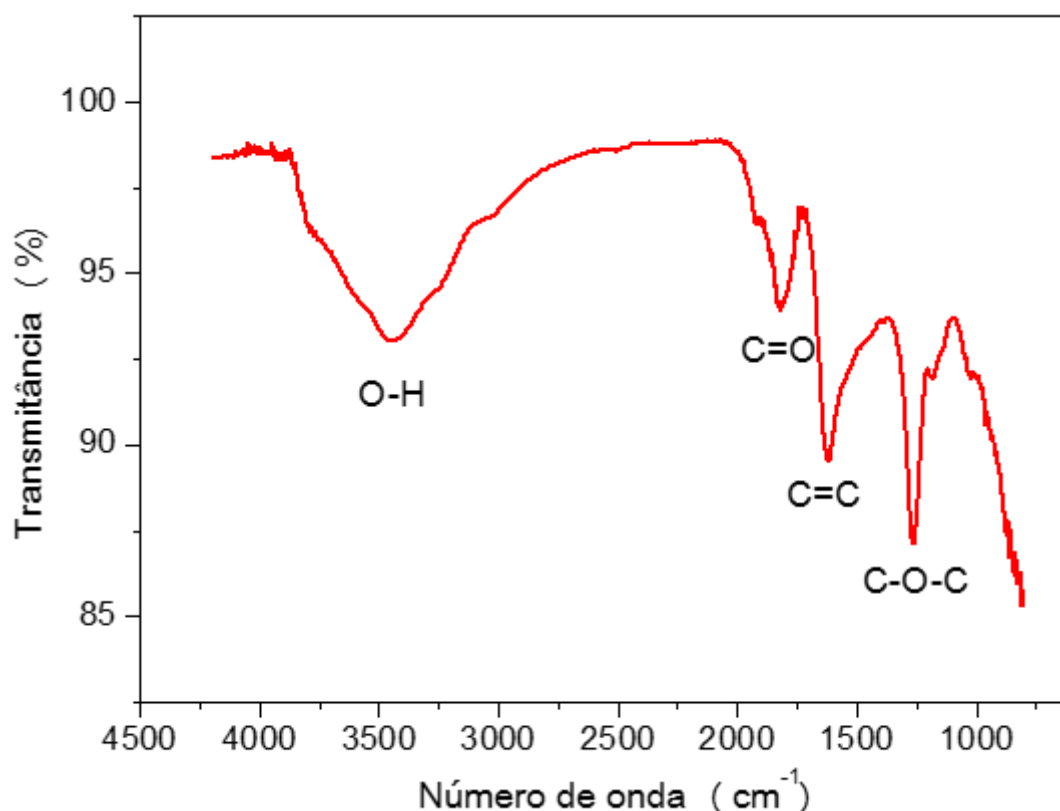


Figura 22. Espectro FT-IR do GO sólido obtido por pastilha de KBr.

Na Figura 23, o espectro de Raman exibe duas bandas intensas em 1330 cm^{-1} e 1595 cm^{-1} , referentes à estrutura gráfica do material sintetizado. A primeira banda do espectro em 1330 cm^{-1} (banda D) se refere ao espalhamento por fônons no ponto K, com simetria A_{1g} , enquanto a segunda banda (banda G), em 1595 cm^{-1} , refere-se ao espalhamento por fônons de simetria E_{2g} . A banda D é característica da presença de grupos C=C ligados a carbonos sp^3 , estes últimos ligados a grupos funcionais oxigenados. A banda D refere-se aos “defeitos” causados pela alteração na estrutura, na qual os carbonos sp^2 remanescentes ficam cercados por carbonos sp^3 . Devido a isso, no caso do grafeno puro, esta banda não existe.⁷⁹ A banda G está relacionada às vibrações dos grupos C=C, localizados em regiões gráficas maiores. Além desses, o espectro ainda mostra

bandas em 2680 cm^{-1} e 2930 cm^{-1} . A primeira delas, a banda G' se refere ao espalhamento de segunda ordem associado ao fônon próximo do ponto K. Essa banda é particularmente sensível ao número de folhas de grafeno. No caso da amostra sintetizada, percebe-se que a banda, de intensidade média, é acompanhada de uma segunda banda, denominada D + D', em 2930 cm^{-1} , o que, de acordo com a literatura, refere-se à amostra de grafeno (no caso GO) contendo de 2 a 5 folhas empilhadas.⁸⁰

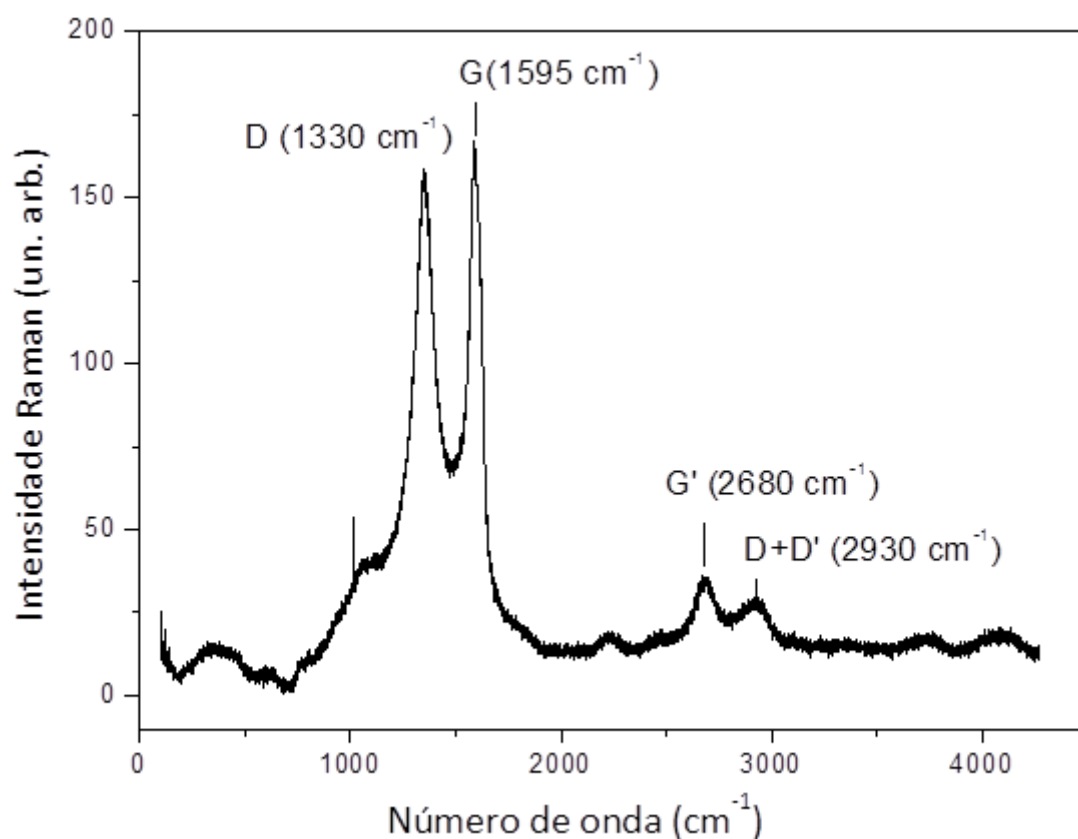


Figura 23. Espectro Raman da suspensão de GO.

Essas observações complementam-se com os dados de FT-IR e confirmam a síntese do GO.

4.1.2 Monitoramento da deposição dos filmes PDAC/GO

A deposição do filme de PDAC/GO com até 20 bicamadas foi acompanhada por espectroscopia UV-Vis. Na Figura 24 são apresentados os espectros de absorbância do monitoramento da deposição do filme PDAC/GO. A banda de maior absorção corresponde a 230 nm com o ombro em 300 nm, sendo assim, um gráfico nesses comprimentos de onda, foram feitos em função do número de bicamadas, como está mostrado na Figura Inserida. As linhas preta e vermelha correspondem ao substrato de ITO sem deposição de GO, a primeira é o substrato puro e a outra o substrato com a camada prévia depositada.

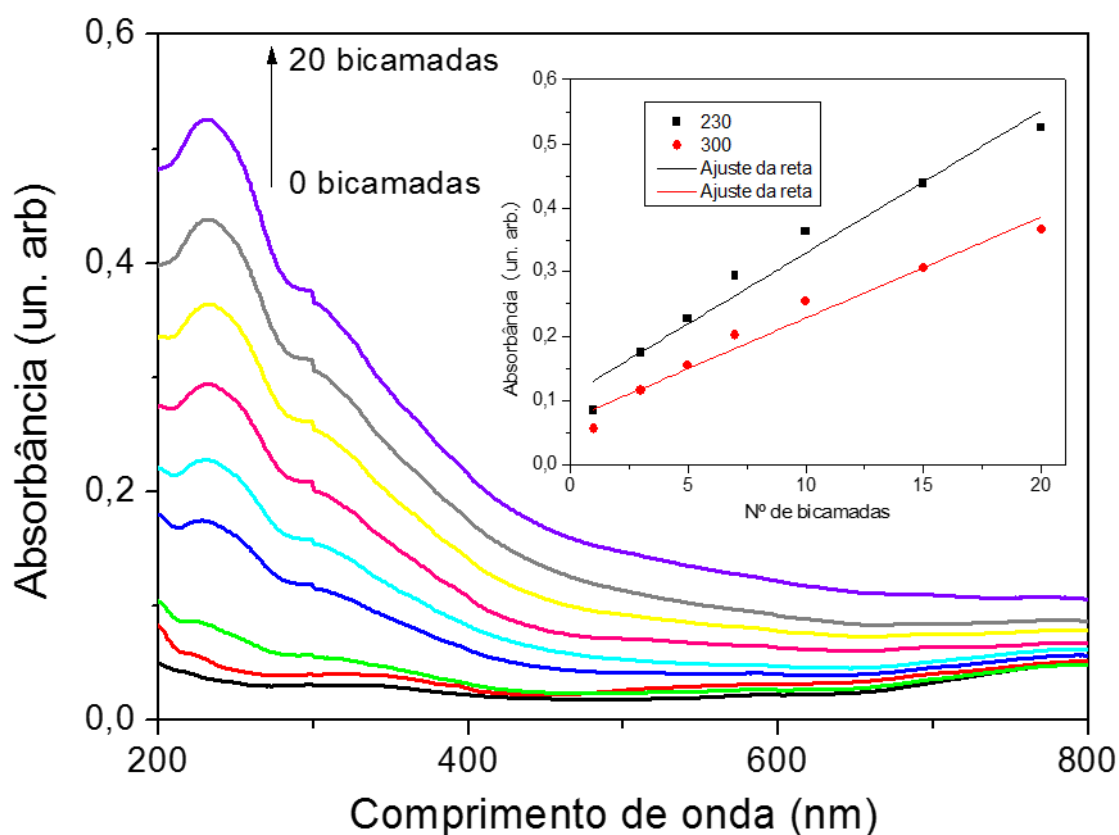


Figura 24. Gráfico da absorbância, mostrando o crescimento do filme PDAC/GO variando de 0 (preto) a 20 (roxa) bicamadas, em função do comprimento de onda. Inserido: Gráfico da absorbância nos comprimentos de onda máximos em função do número de bicamadas.

Os gráficos inseridos demonstram que a absorção do filme aumenta gradativamente de acordo com número de bicamadas, como está mostrado no ajuste da

reta um valor aproximado de $r^2 = 0,960$ para ambos comprimentos de onda. A maior absorção indica uma quantidade maior de GO depositada a cada bicamada.

A Figura 25 mostra os voltamogramas cíclicos para os filmes com diferentes números de bicamadas, sendo que o crescimento do filme, resultando num aumento de corrente, fica evidente no potencial catódico em aproximadamente + 0,82 V. Fazendo-se o gráfico da corrente neste potencial, em função do número de bicamadas (Figura Inserida), observa-se o crescimento regular do filme com o aumento do número de bicamadas. O potencial catódico em + 0,82 V é característico do processo de redução irreversível que ocorre do GO, mas seu mecanismo que envolve esse processo ainda está sendo estudado por medidas de FT-IR e XPS, como será visto adiante.

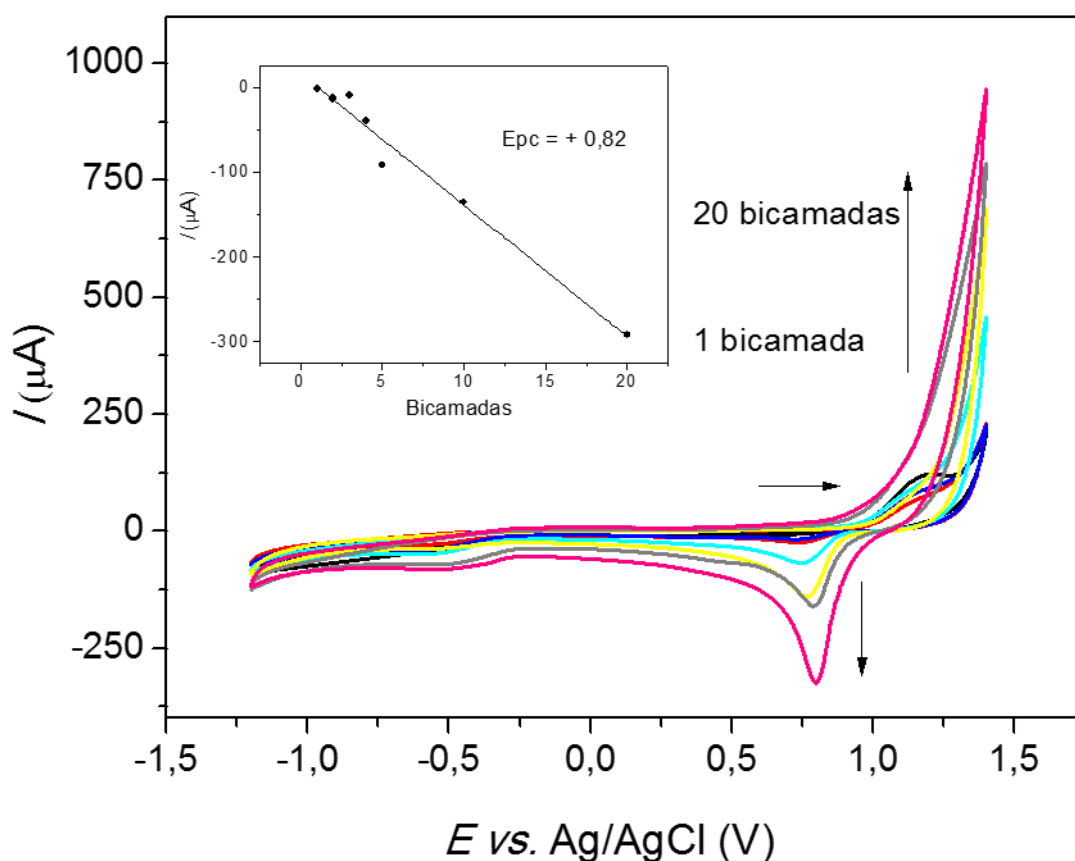


Figura 25. Voltamograma cíclico de filmes com diferentes números de bicamadas de PDAC/GO, conforme está indicado. Inserido: Corrente catódica (em + 0,82 V) em função número de bicamadas PDAC/GO. KCl 1,0 mol.L⁻¹. $\nu = 100\text{mV.s}^{-1}$.

O acompanhamento por VC foi realizado com diferentes filmes com diferentes números de bicamadas, sendo que o valor de $r^2 = 0,973$ evidencia a linearidade do

crescimento do filme. Além disso, o filme PDAC/GO é formado por placas que inicialmente estão dispersas sobre o substrato nas primeiras bicamadas, mas, a partir da 5ª bicamada, essas placas já estão compactadas e cobrem toda a superfície do substrato.⁴⁰

4.2 Estudo da redução dos filmes PDAC/GO por hidrazina

Dentre os métodos de redução do GO, destaca-se a redução química feita por hidrazina. Na Figura 26 são apresentadas fotografias digitais dos filmes de PDAC/GO com diferentes números de bicamadas, antes e após a redução com hidrazina. Uma importante observação, um dos motivos pelos quais o PDAC foi selecionado como polieletrólito, é o fato dele suportar a redução química. A coloração do filme PDAC/GO é marrom (linha inferior), devido ao GO, após a redução, o filme passa de marrom para preto (linha superior), devido à conversão do GO para RGO.

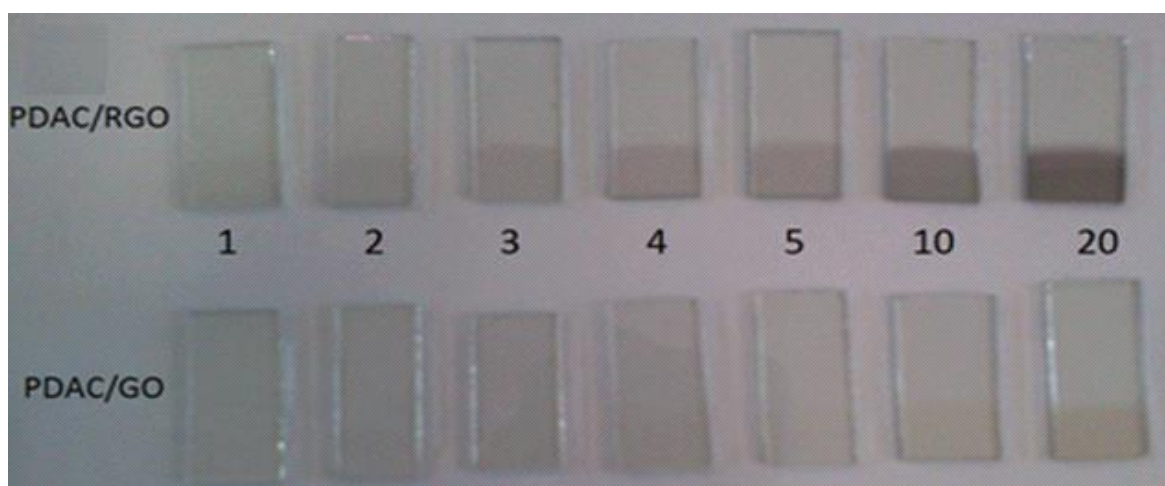


Figura 26. Foto dos filmes de PDAC/RGO e PDAC/GO com diferentes números de bicamadas.

A conversão do GO para RGO se dá pela retirada dos grupos oxigenados presentes na estrutura e no consequente reestabelecimento da conjugação π do anel aromático. Quando isso ocorre, o GO passa de marrom para preto como está mostrado na foto. Segundo o mecanismo proposto por Stankovich,²³ que é o mais provável na redução do GO com hidrazina, a redução retira essencialmente os grupos epóxi da estrutura e muitas vezes substitui o oxigênio por nitrogênio, como está mostrado na Figura 27.

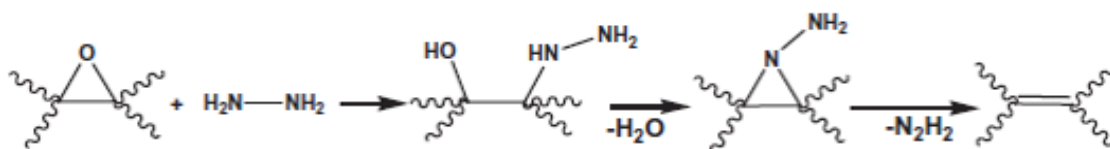


Figura 27. Mecanismo de redução dos grupos epóxi pela hidrazina. Adaptada da ref. [23].

Esse mecanismo não reflete o que ocorre na borda da folha de GO, além do que os grupos carboxílicos são mais difíceis de ser retirados e permanecem após a redução por hidrazina.²³

Quando se obteve o espectro UV-Vis para o filme de PDAC/GO com 20 bicamadas, antes e depois da redução, pôde-se notar um pequeno deslocamento batocrômico na banda de maior absorvância de 225 nm para 267 nm, além de sobrepor o ombro em 300 nm (Figura 28).

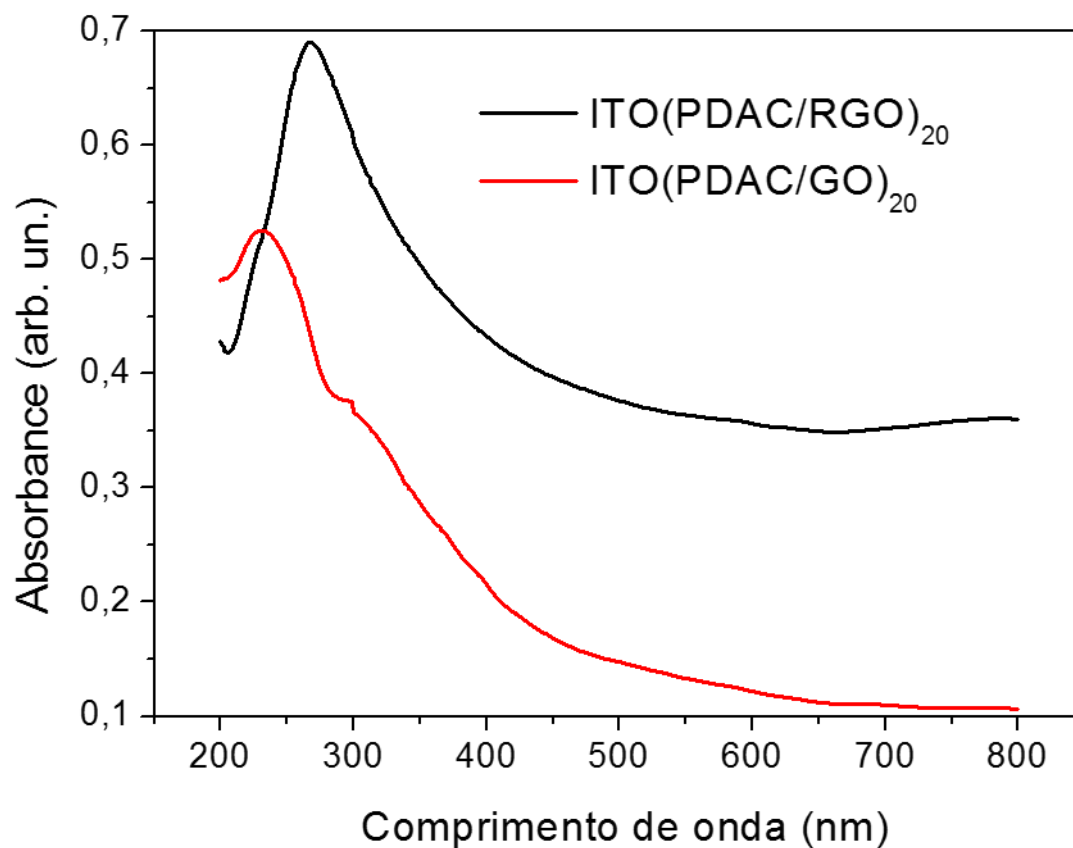


Figura 28. Espectro dos filmes de ITO/(PDAC/GO)₅ e ITO/(PDAC/RGO)₅ reduzidos por hidrazina.

O deslocamento do pico de maior absorção ocorre porque com o parcial reestabelecimento do sistema conjugado da ligação C=C estabiliza mais a estrutura,

assim, seu pico é deslocado para comprimentos de onda de menor energia.³⁹ Outro fato que pode ser notado, foi o deslocamento da linha de base quando o filme é reduzido, ocasionado pelo espalhamento da luz incidida. Isso se deve pelo reestabelecimento parcial da cristalinidade da estrutura gráfrica. A desvantagem desse método de redução é o fato de manipular a hidrazina, que é um composto extremamente tóxico, possivelmente cancerígeno, muito perigoso, extremamente destruidor do sistema respiratório. Além disso, pode causar queimaduras severas na pele, ser absorvido pelo sangue, causar danos permanentes nos olhos, dentre outros.⁸¹

4.3 Métodos alternativos de redução eletroquímica

Como alternativa a fim de substituir a hidrazina na redução dos filmes de ITO(PDAC/GO)₅, foram testados métodos eletroquímicos, como CA e VC, como estão mostrados na Figura 29. Os filmes contendo 5 bicamadas foram selecionados devido ao fato de que com 5 bicamadas a área do filme já se achar totalmente coberta pelas placas de GO, conforme já mencionado.⁴⁰ A eficiência de cada método foi avaliada por espectroscopia Raman, tomando-se como referência a razão de intensidade das bandas D e G (I_D/I_G), e XPS, tomando-se como referência a razão das áreas referentes aos grupos C-O e C-C. Os valores da relação C-O/C-C obtidos dos espectros de XPS são mostrados na Tabela 2, juntamente com valores aproximados da relação I_D/I_G obtidos dos espectros de Raman.

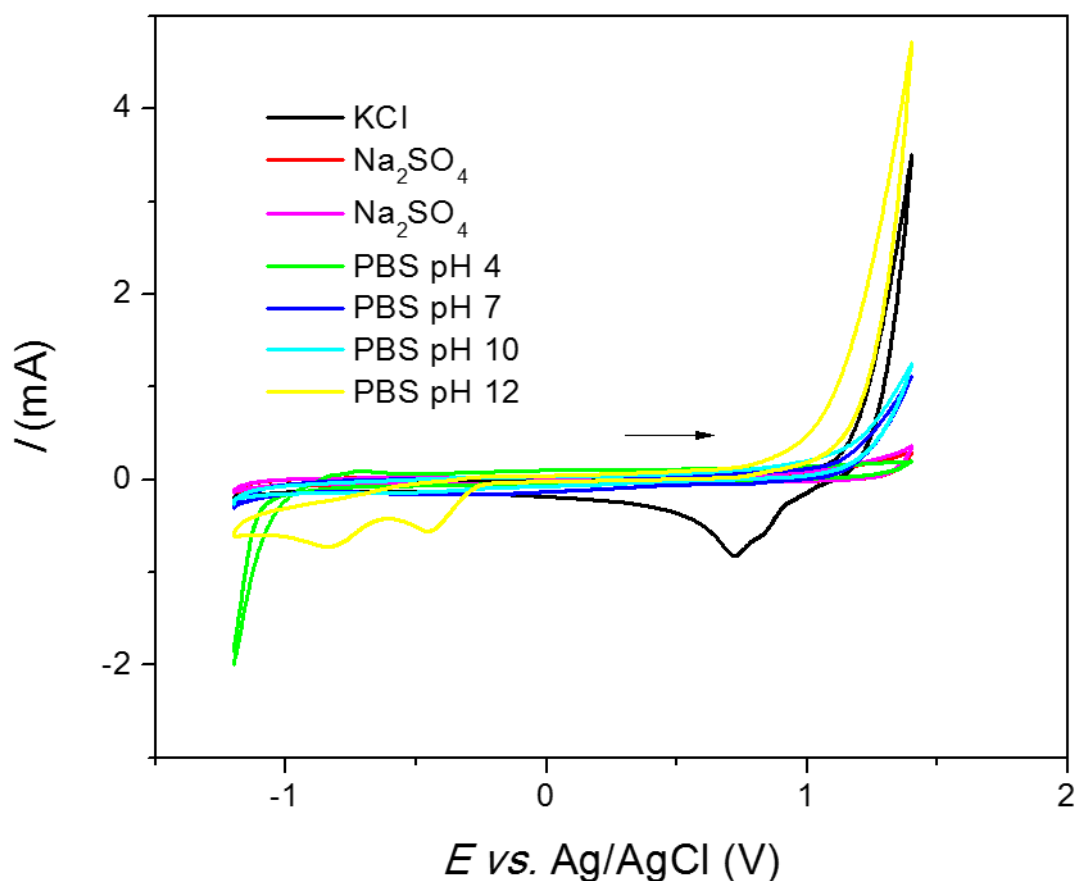


Figura 29. Voltamogramas cíclicos da redução de filmes de PDAC/GO no sentido anódico em diferentes eletrólitos. $\nu = 100\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Na tabela 2 são mostrados os dados, das análises das relações da intensidade das bandas D e G (I_D/I_G) nos espectros Raman e dos espectros de XPS (Anexo 1), dos filmes de ITO(PDAC/GO)₅ reduzido por diferentes métodos e comparados ao filme não-reduzido.

Tabela 2. Dados de Raman e XPS para os eletrodos de ITO(PDAC/GO)₅.

Método	Eletrólito	I_D/I_G	C-O/C-C
Não-reduzido	-	0,846	0,51
Hidrazina	-	1,48	0,22
CA	KCl 1,0 mol.L ⁻¹	1,025	0,21
VC	KCl 1,0 mol.L ⁻¹	1,005	0,16
VC	Na ₂ SO ₄ 0,5 mol.L ⁻¹	1,001	0,13
VC	PBS pH 7,2	1,003	0,11
VC	PBS pH 10,2	1,016	0,16
VC	H ₂ SO ₄ pH 4	0,963	0,21
VC	H ₂ SO ₄ pH 1	1,047	0,20
VC	NaOH pH 10	0,989	0,07

Quando comparados, os filmes não-reduzidos com os filmes reduzidos, percebe-se claramente que a redução foi efetiva para todos os métodos, de acordo com o aumento da razão I_D/I_G e diminuição da razão C-O/C-C. Os resultados obtidos mostram que a redução independe do pH do eletrólito, fato que contrapõe os resultados de alguns trabalhos encontrados na literatura, onde uns afirmam que a redução é mais eficaz em pH básico,⁸² enquanto outros trabalhos mostram que a redução é favorecida por pH ácido.⁸³

O maior valor de I_D/I_G obtido pela redução feita por hidrazina sugere que esse método químico é mais eficiente quando comparado aos métodos eletroquímicos, possivelmente devido ao fato da redução química afetar todas as bicamadas do filme (bulk) enquanto que a redução eletroquímica é ocorre mais na superfície. Outro ponto observado, é que, nas medidas de XPS, há influência do substrato de ITO nos valores obtidos (Anexo 1). Isso não interfere na comparação dos valores medidos para os diferentes métodos, mas não são tão confiáveis quanto às medidas de Raman. Sendo assim, o filme ITO(PDAC/GO)₅ tem sua redução mais eficaz quando reduzido por hidrazina. Além disso, os resultados mostram que a redução eletroquímica independe da

natureza do eletrólito e é mais eficiente do que a redução obtida por hidrazina, como foi mostrado por Peng e colaboradores.⁸⁴

Quando a varredura da VC é iniciada do sentido catódico para o sentido anódico, usando-se o KCl como eletrólito, nota-se o aparecimento de um pico de redução em aproximadamente -1,0 V, que desaparece no já no segundo ciclo, como está mostrado na Figura 30.

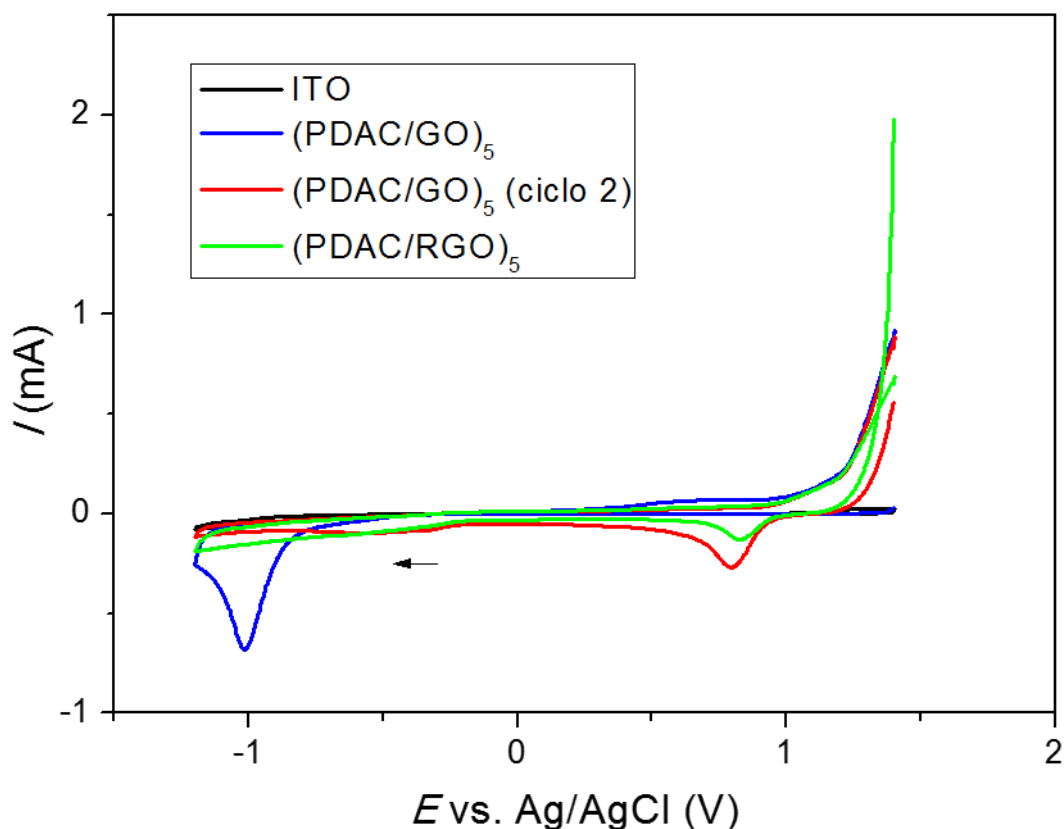


Figura 30. Voltamogramas cíclicos da redução de filmes de PDAC/GO no sentido catódico. KCl 1,0 mol.L⁻¹. $\nu = 100\text{mV.s}^{-1}$.

O voltamograma no sentido catódico mostra a eficácia da redução em KCl já no 1º ciclo. Alguns estudos já relataram a redução eletroquímica de filmes de GO em meio aquoso em um potencial em torno de -1,0 V.⁸⁵ A redução já no primeiro ciclo é resultado da pequena espessura do filme. Análises de FT-IR indicaram que, nesse caso, os grupos predominantemente retirados são as hidroxilas,⁸⁰ outro estudo demonstrou que acima de -1,0 V predomina a retirada de grupos epóxidos, ou seja, esse tipo de redução facilita a retirada do oxigênio presente no plano basal do GO, permanecendo as extremidades ainda oxigenadas. Apesar disso, independentemente do sentido de aplicação do potencial

(anódico ou catódico), constatou-se a efetividade e irreversibilidade da redução, algo que não foi possível em outros estudos.²²

4.4 Cinética da redução eletroquímica do filme

Os estudos feitos anteriormente mostram que, de uma forma geral, a técnica de VC é eficaz na redução do GO, independentemente do eletrólito empregado e do sentido da varredura do potencial. Baseado nisso, foi realizado um estudo do efeito da velocidade de varredura do potencial em KCl 1,0 mol.L⁻¹ sobre a redução do GO. Na Figura 31 são apresentados os voltamogramas obtidos em duas velocidades de varredura (20 e 100 mV.s⁻¹), com até 50 ciclos, acompanhados da corrente catódica em + 0,82 V em função do número de ciclos.

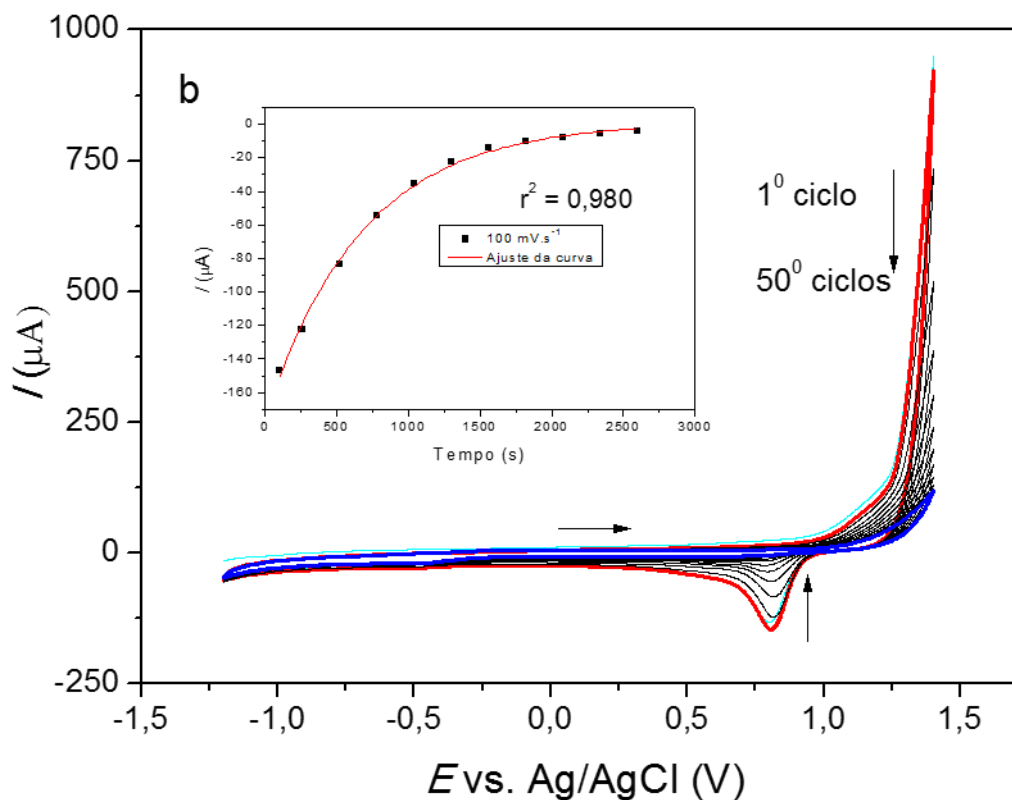
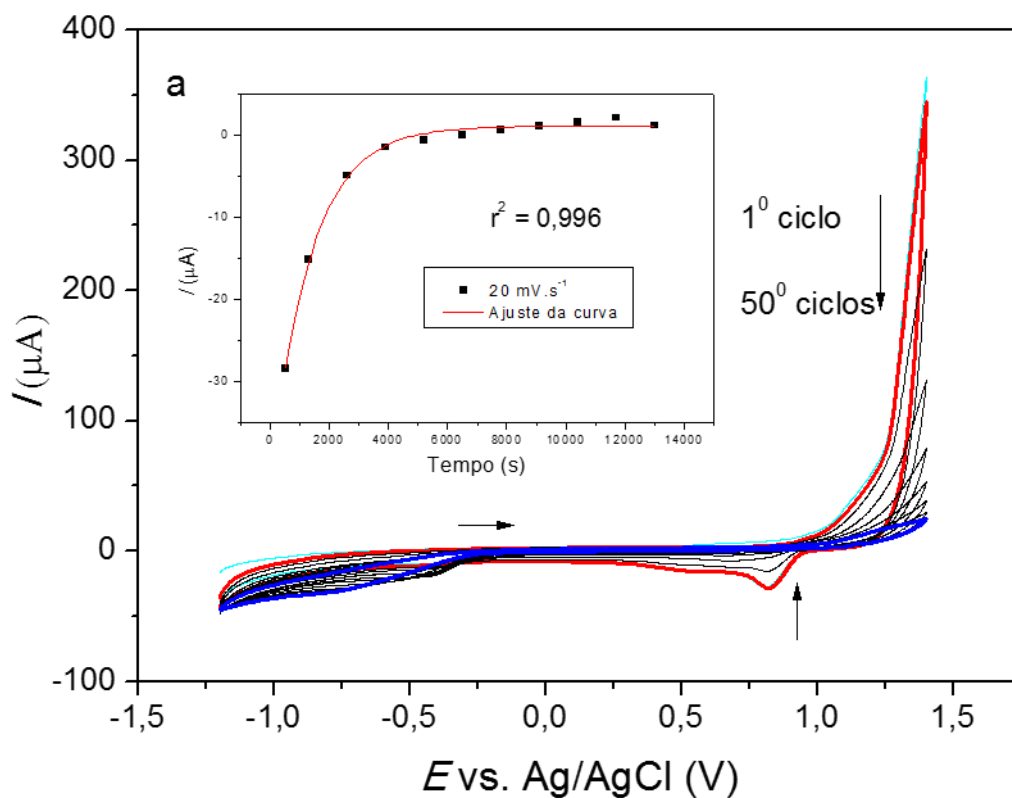


Figura 31. Voltamogramas cíclicos da redução do filme de PDAC/GO do 1º (vermelho) ao 50º ciclo (azul) em a) $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ e b) $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. KCl $1,0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Insetos: Gráfico da corrente pelo tempo para ambas as velocidades de varredura.

Os voltamogramas mostram que, com o decorrer dos ciclos, a corrente medida em + 0,82 V desaparece. Além disso, observa-se que, quanto menor a velocidade de varredura, menor é o número de ciclos necessários para a redução do filme. Os gráficos inseridos deixam claro que na velocidade de 20 mV.s⁻¹ a redução se completa após 15 ciclos, enquanto em 100 mV.s⁻¹, a redução termina após 40 ciclos. A redução do GO é uma reação de 1^a ordem dada pela equação $I = a - b^{-kt}$, dependendo apenas da concentração de GO, em que o valor da constante de velocidade determinada em 20 mV.s⁻¹, é mais do dobro do valor obtido para a constante de velocidade em 100 mV.s⁻¹, como mostram os dados aproximados da Tabela 3.

Tabela 3. Dados obtidos a partir da equação obtida do ajuste curva.

Velocidade de varredura (mV.s ⁻¹)	a	b	k (μA.s ⁻¹)
20	1,15 x 10 ⁻⁶	4,33 x 10 ⁻⁵	7,42 x 10 ⁻⁴
100	1,48 x 10 ⁻⁶	3,63 x 10 ⁻⁵	2,46 x 10 ⁻⁴

4.5 Caracterização Eletroquímica do Filme ITO(PDAC/RGO)₅

Semelhante ao estudo de redução eletroquímica do filme PDAC/GO, diferentes eletrólitos foram testados para estudo eletroquímico em diferentes pares redox. Em meio básico, mais especificamente, na presença de íon OH⁻, a solução contendo DA tornou-se rósea logo após o preparo, indicando a inativação da mesma, o que ocorre em meios alcalinos ou na presença de bicarbonatos.⁸⁶ Isso impossibilitou o estudo em meio básico. Já em meio ácido, o estudo foi feito inicialmente para o FC, onde se constatou um aumento na distância entre os picos anódicos e catódicos (ΔE) com o aumento da velocidade, fazendo com que o processo tendesse à irreversibilidade, mesmo com a preservação da força iônica da solução como está apresentado na Figura 32.

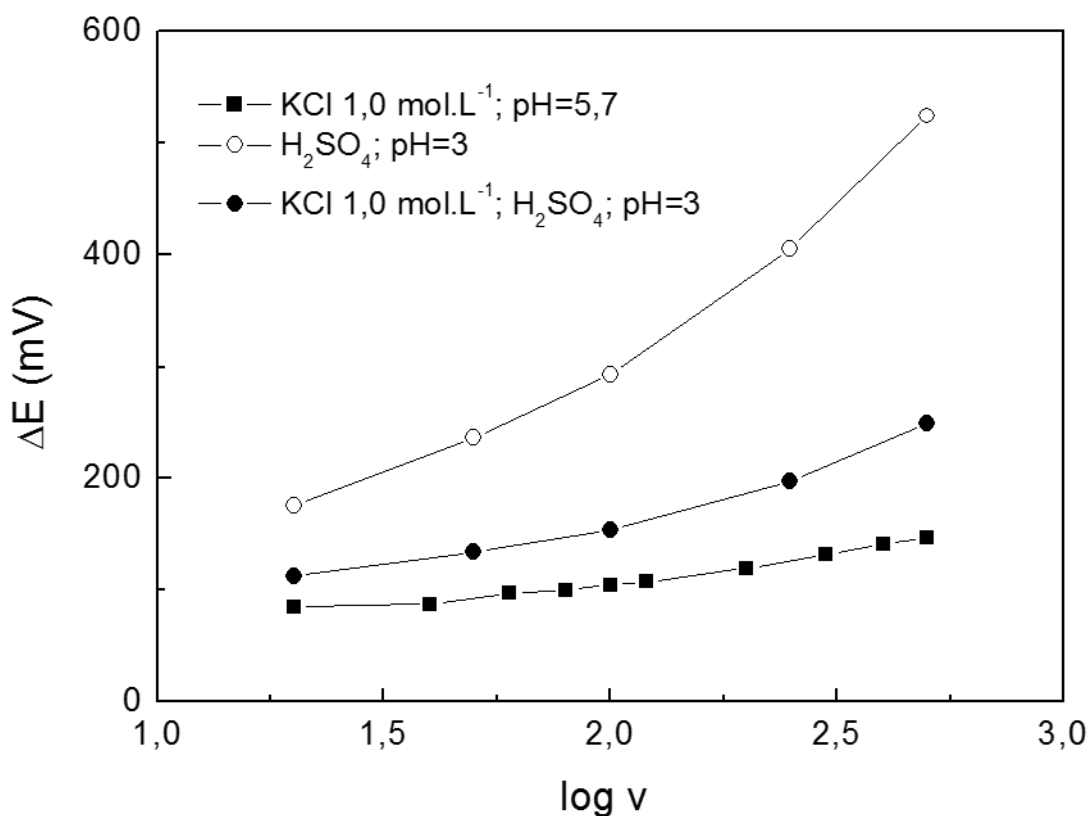


Figura 32. Gráfico do ΔE em função do $\log v$ para o filme ITO(PDAC/RGO)₅ em FC com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em diferentes eletrólitos e com diferentes velocidades de varredura.

O que ocorre é que, conforme apontado por Runnels e colaboradores⁸⁷ e Granger e colaboradores⁸⁸, o par FC precisaria de um sítio de ancoragem, de preferência ligados ao átomo de hidrogênio, na superfície do eletrodos à base de carbono, para sofrer reações de redox.

4.5.1 Com diferentes eletrodos

Os parâmetros termodinâmicos e cinéticos de oxidação-redução dos pares redox foram determinados com diferentes eletrodos modificados, além do ITO sem filme. Na Figura 33 são apresentados os voltamogramas para os diferentes pares redox obtidos com o eletrodo de ITO sem filme e os eletrodos de ITO modificados com filmes PDAC/GO e PDAC/RGO com 5 bicamadas cada um.

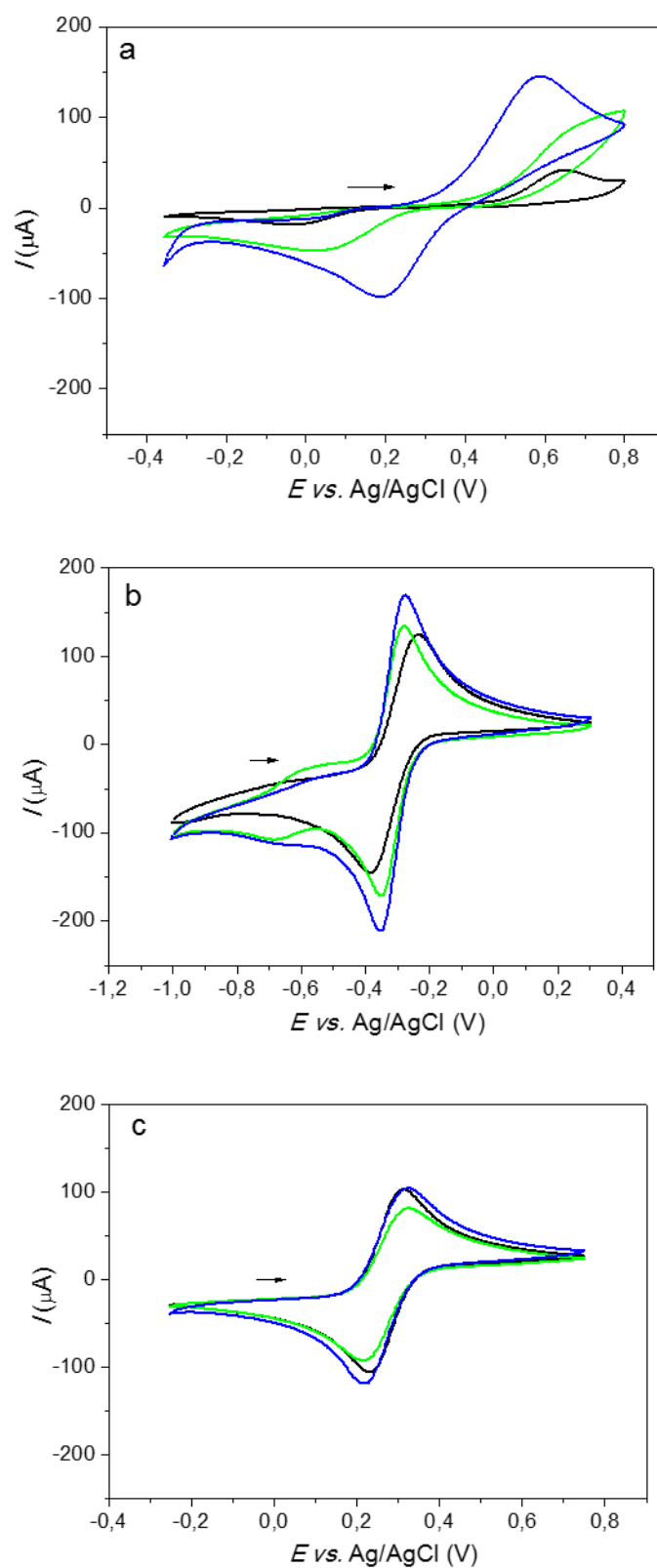


Figura 33. Voltamogramas cíclicos dos três pares redox sobre o eletrodo de ITO puro (preto), ITO/(PDAC/GO)₅ (verde) e ITO/(PDAC/RGO)₅ (azul) em a) DA ; b) NQ e c) FC. As concentrações de todos os pares redox foram de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$. $\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$. 2º ciclo.

A Figura 33 indica que o potencial de oxidação ocorre em aproximadamente +0,60 V para a DA, -0,3 V para a NQ e +0,3V para o FC. Os valores obtidos e a simetria dos voltamogramas são condizentes com os encontrados na literatura quando utilizados eletrodos de RGO.⁴⁶ Já para a NQ, o comportamento dos voltamogramas e o potencial de oxidação encontrado, se assemelham ao encontrado na literatura usando-se eletrodo de platina.⁸⁹

Como foi visto nas Figuras 33a e 33b, as maiores correntes dos picos anódicos e catódicos seguem: RGO > GO > ITO. Isso ocorre devido à afinidade da DA e NQ pelo eletrodo modificado, pois ambos têm anéis aromáticos em suas estruturas, além disso, devido à maior eliminação dos grupos oxigenados existentes no plano basal da estrutura, a afinidade é ainda maior no RGO. Tanto o filme de GO como o de RGO são dotados de diferentes grupos aniônicos devido ao pH = 10 usado na deposição dos filmes, pois, para o filme de RGO, mesmo após a redução com hidrazina, muitos desses grupos, principalmente os do plano axial permanecem. Uma observação é o fato, mesmo o pH menor, as suspensões GO ainda apresentam potenciais zeta muito negativos (-41 mV a pH = 4,0). A DA e os seus respectivos produtos eletroquímicos são espécies protonadas ($pK_{a1} = 8,93$) sob a condição de pH aqui utilizada (pH = 5,5), o que favorece a ancoragem no eletrodo.⁹⁰ Em adição, a DA ainda apresenta uma maior afinidade que a NQ, possivelmente, por formar interações de hidrogênio entre seu grupo amina e os grupos presentes no RGO do eletrodo modificado. Em relação à NQ, no pH abaixo de 9,7, o anel NQ sofre um processo de dois elétrons, que é a conversão da 1,4-naftoquinona para 1,4-naftalenodiol.⁹¹ Já com o FC isso não ocorre, pois sua estrutura muito difere das demais, além do que, como a última camada do filme modificado é composta pelo RGO ou GO, mesmo reduzido ainda remanescem muitos grupos oxigenados, como pode ser visto nos espectros de Raman, acarretando repulsão aos íons de FC. Essa repulsão ocorre devido à falta de sítios de ancoragem para o FC, preferencialmente H, presentes no eletrodo modificado, o que pode ser mais evidenciado com a menor corrente do filme de GO na figura 33c. Mesmo assim, o FC não pode ser classificado como um par redox de esfera externa perfeita, uma vez que foi sensível à modificação do substrato ITO com o filme de RGO.

A Figura 33 indica a capacidade de todos os eletrodos de oxidar e reduzir os pares redox estudados. Apesar da oxidação da DA envolver a transferência de 2 elétrons, conforme visto na Figura 15, os voltamogramas da Figura 33a mostram apenas um dos

processos de transferência eletrônica. Já no caso da NQ, além do seu processo envolver 2 elétrons, comportamento característico das quinonas, como será visto na Figura 34, seu voltamograma mostra os dois picos redox, como se observa na Figura 33b.^{45,89,90}

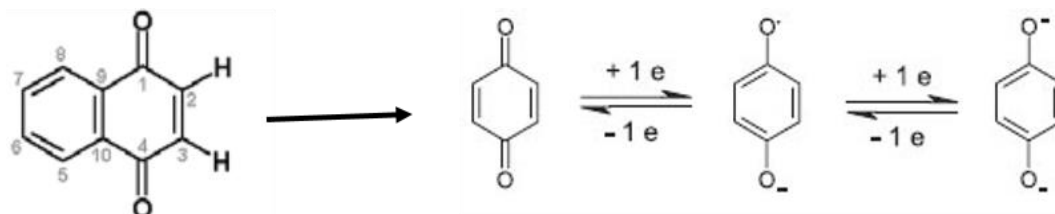
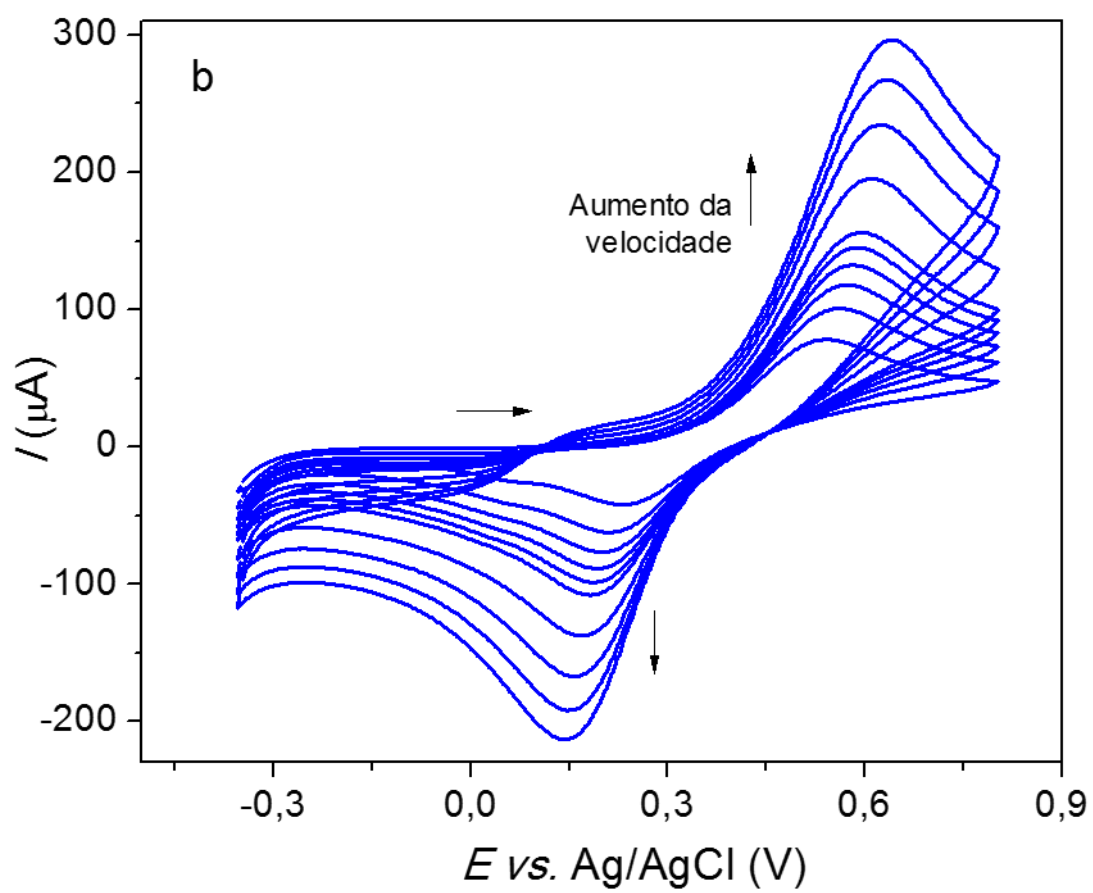
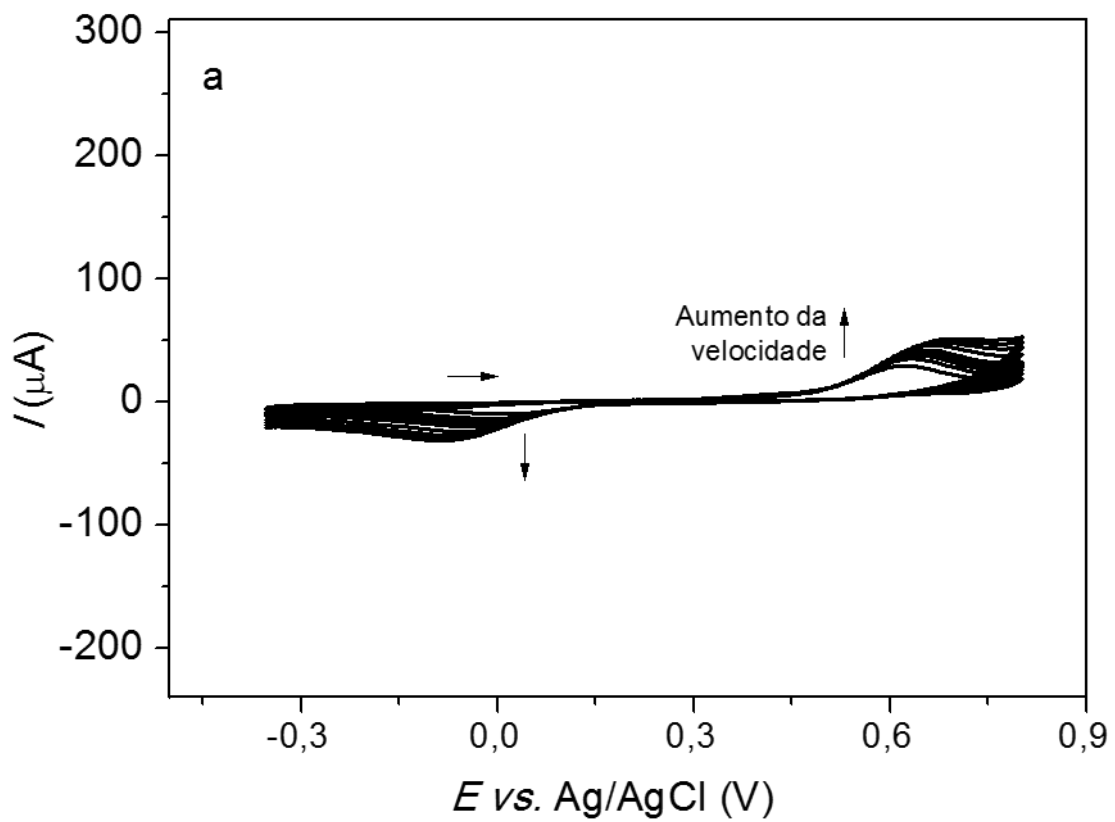


Figura 34. Estrutura da NQ e reação redox características das quinonas. Adaptada das ref [89] e [91].

O processo redox para o FC envolve apenas um elétron e é dado pela equação: $\text{Fe}^{\text{III}}(\text{CN})_6^{3-} + e^- \leftrightarrow \text{Fe}^{\text{II}}(\text{CN})_6^{4-}$. Devido a isso, observa-se claramente apenas um pico anódico e catódico.

4.5.2 Com diferentes velocidades

A fim de se estudar a cinética que envolve os processos eletroquímicos entre o eletrodo e o par redox, a velocidade de varredura foi variada para os diversos pares redox, como mostram as Figuras 35-37. Este estudo não foi realizado com filmes de GO, pois o mesmo se converte a RGO com os sucessivos ciclos.



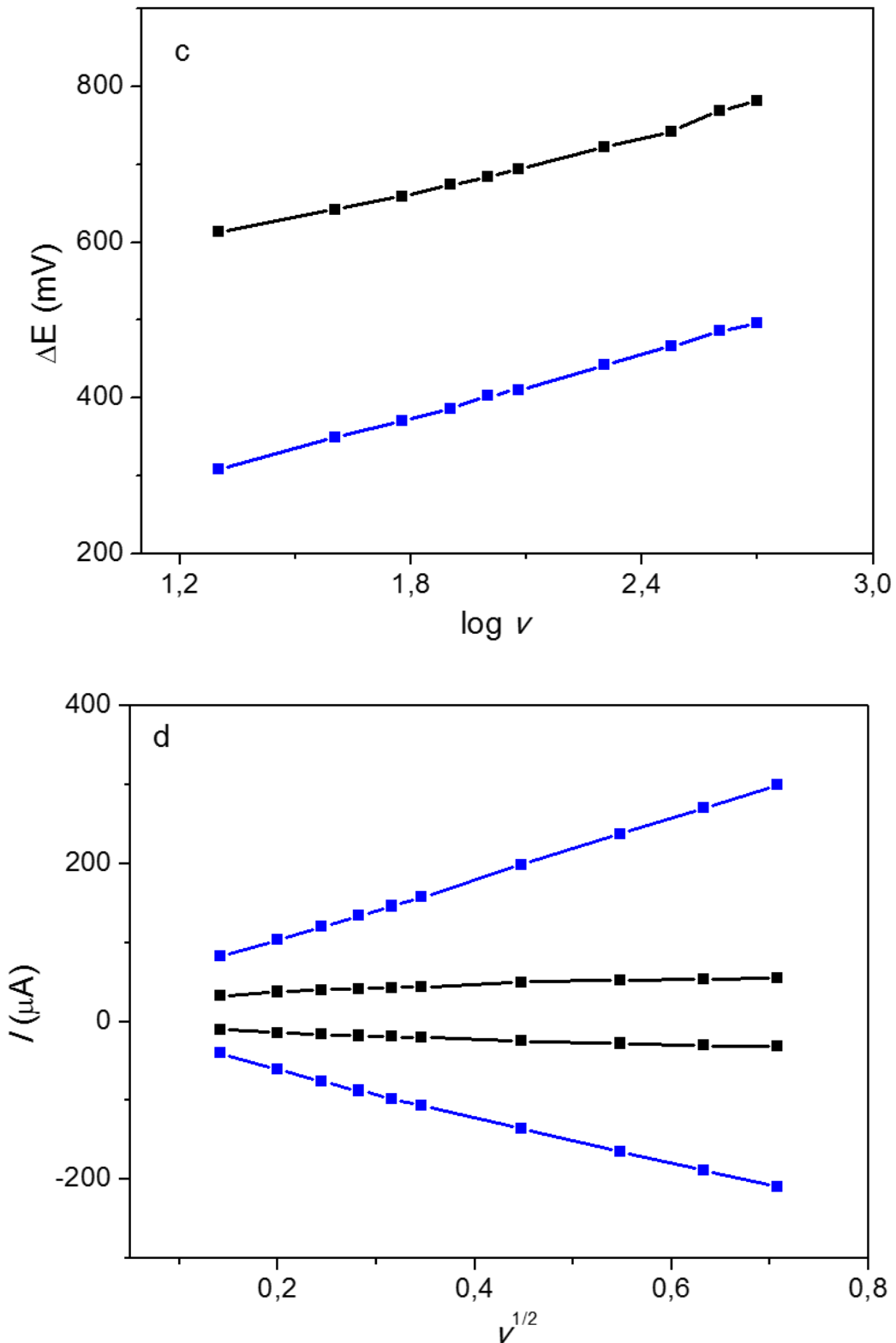
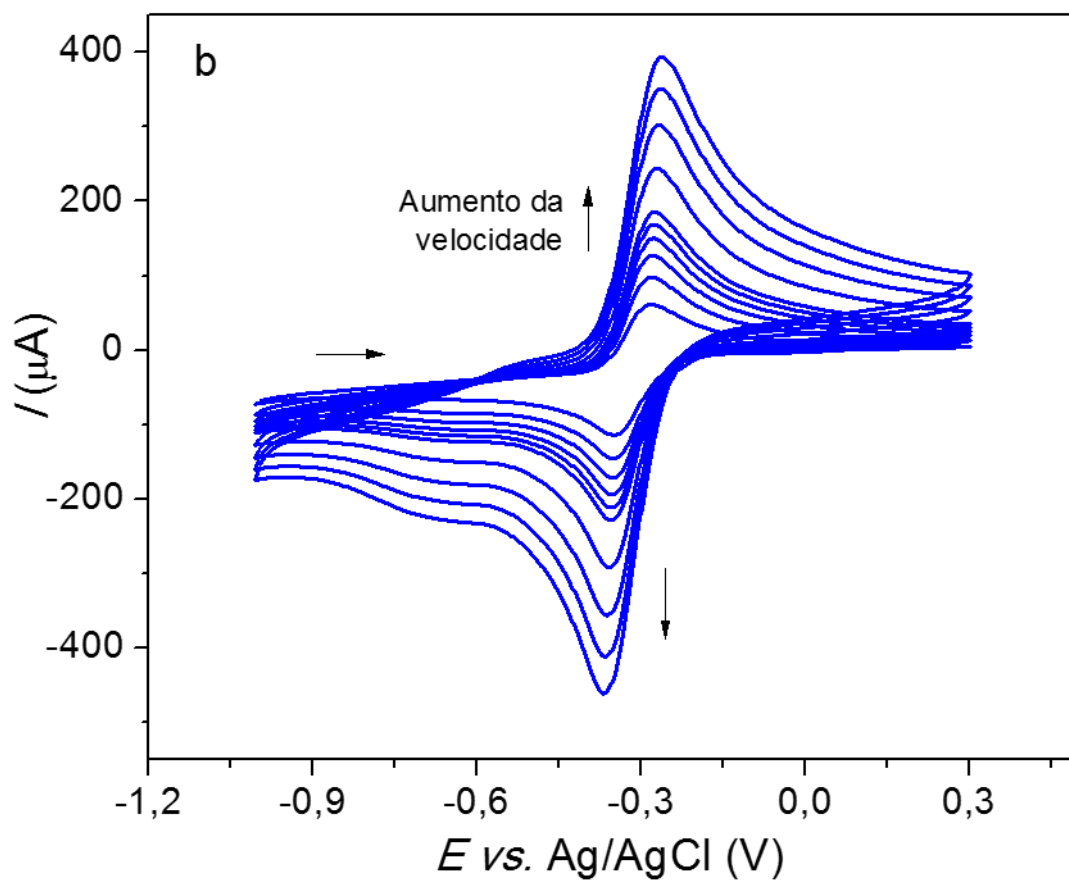
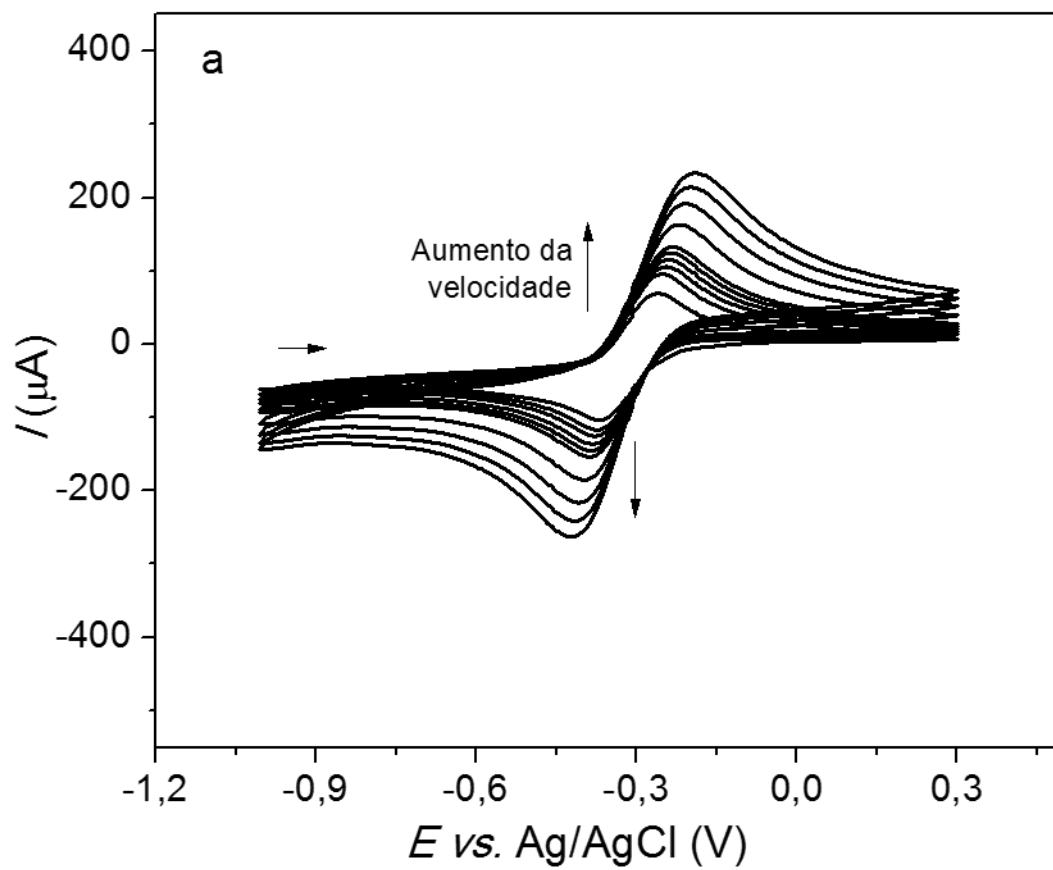


Figura 35. Voltamogramas cíclicos com diferentes velocidades de varredura para DA com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ em: a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO)₅. c) Gráfico do ΔE em função do $\log \nu$ para o ITO (preto) e RGO (azul) e d) Gráfico do I em função da $v^{1/2}$ para o ITO (preto) e ITO/(PDAC/RGO)₅ (azul).



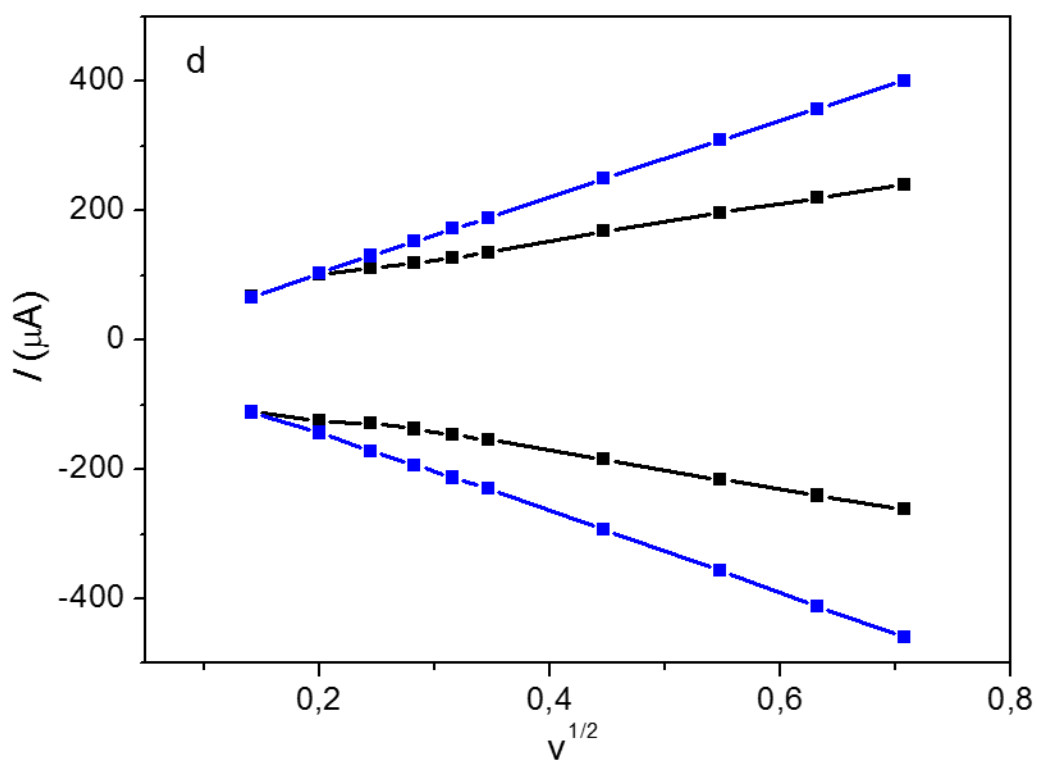
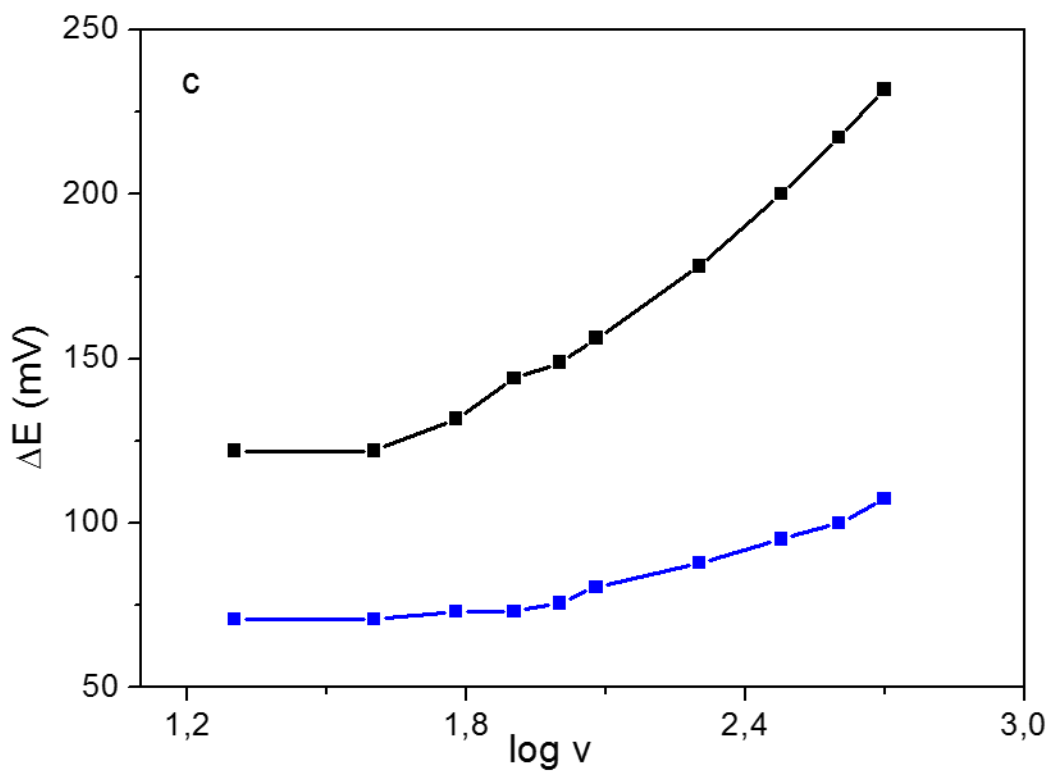
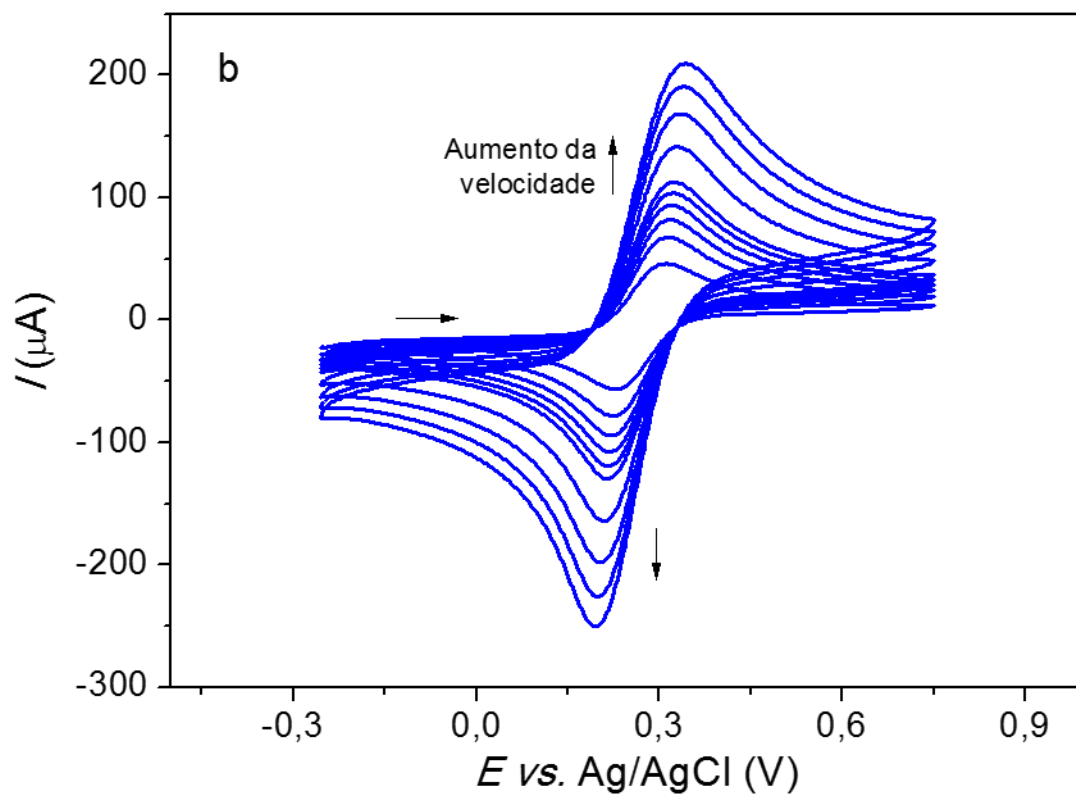
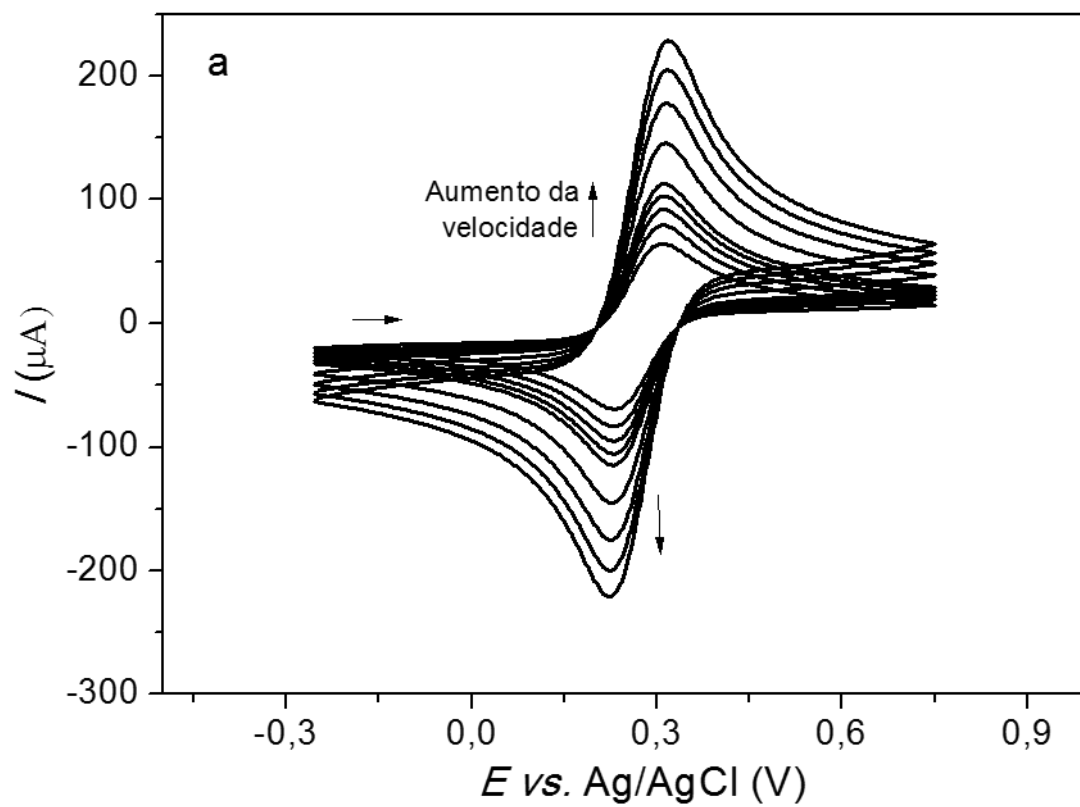


Figura 36. Voltamogramas cíclicos com diferentes velocidades de varredura para NQ com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ em: a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO)₅. c) Gráfico do ΔE em função do $\log v$ para o ITO (preto) e RGO (azul). d) Gráfico do I em função da $v^{1/2}$ para o ITO (preto) e ITO/(PDAC/RGO)₅ (azul).



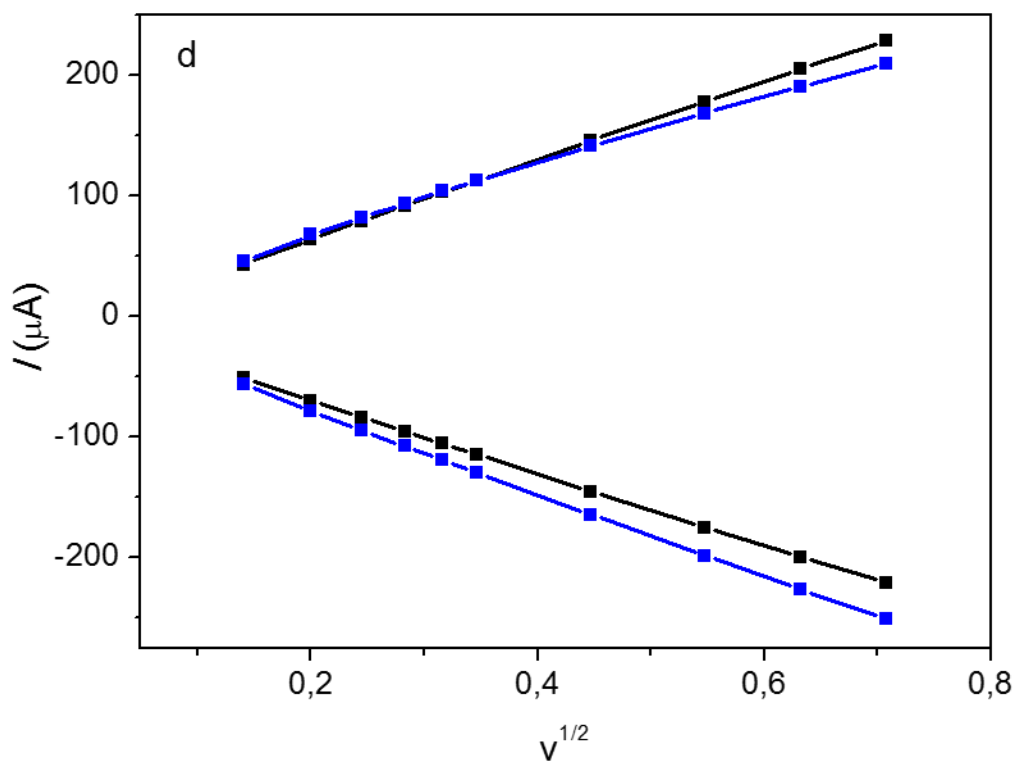
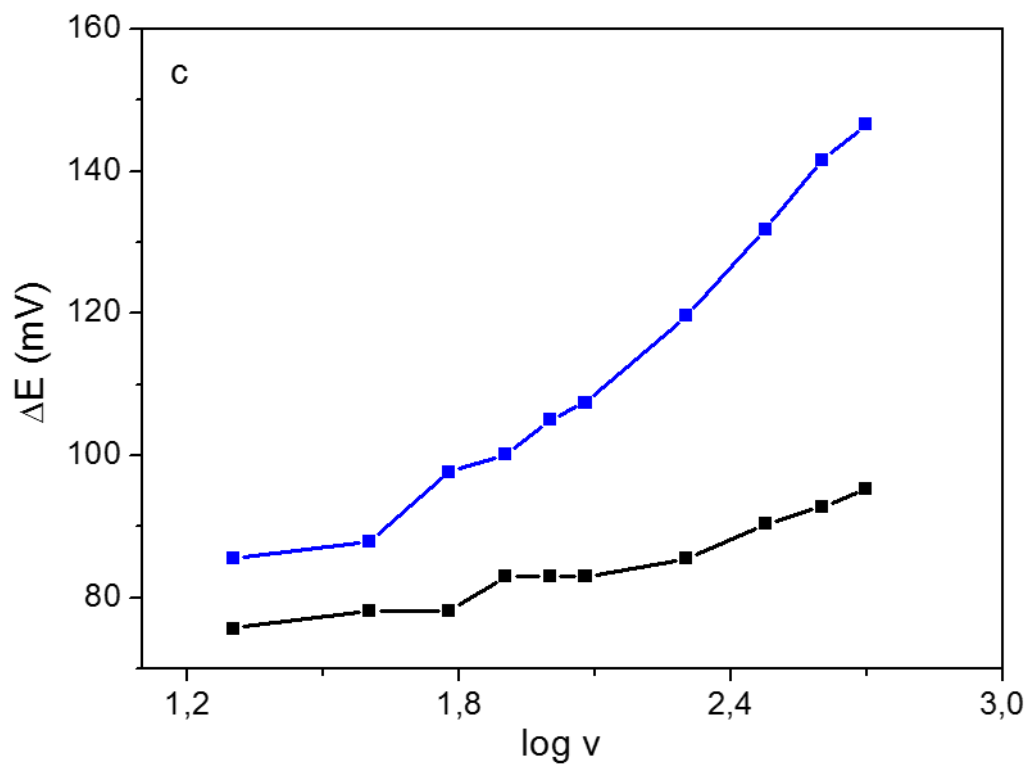


Figura 37. Voltamogramas cíclicos com diferentes velocidades de varredura para FC com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ em: a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO)₅. c) Gráfico do ΔE em função do $\log v$ para o ITO (preto) e RGO (azul). d) Gráfico do I em função da $v^{1/2}$ para o ITO (preto) e ITO/(PDAC/RGO)₅ (azul).

Em todos os voltamogramas cíclicos também foi possível observar que os picos anódicos e catódicos aumentam com o aumento da velocidade de varredura independentemente do eletrodo. A dependência da corrente de pico (I_p) com a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) é linear, o que indica a ocorrência de um processo difusional e que obedece à equação de Randles-Sevcik (Equação 2):⁹²

$$I_p = 2,69 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot S \cdot D_{ap} \cdot c \cdot v^{1/2} \quad \text{Equação 2}$$

onde:

I_p = corrente do pico (A)

n = número de elétrons transferidos

S = área eletroativa do eletrodo (m^2)

D_{ap} = coeficiente de difusão aparente ($m^2 \cdot s^{-1}$)

C = concentração ($mol \cdot L^{-1}$)

v = velocidade de varredura ($V \cdot s^{-1}$)

A partir dos voltamogramas cíclicos, da área geométrica do eletrodo (A) e da equação Randles - Sevcik (Equação 2), é possível o cálculo de alguns parâmetros cinéticos (Tabela 4) a partir do ajuste dos dados de VC com o modelo proposto por Nicholson, onde a constante de velocidade é heterogênea e pode ser calculada pela Equação 1.⁵¹

Tabela 4. Dados obtidos dos voltamogramas cíclicos e parâmetros cinéticos calculados dos diversos pares redox nos diferentes eletrodos.

		ITO	ITO/(PDAC/RGO) ₅
<i>S</i> (cm ²)	DA	0,092	0,474
	NQ	0,391	0,574
	FC	1,42	1,61
<i>J</i> (A.cm ⁻²)*	DA	-3,81 x 10 ⁻⁵	-1,97 x 10 ⁻⁴
	NQ	-2,90 x 10 ⁻⁴	-4,25 x 10 ⁻⁴
	FC	-2,11 x 10 ⁻⁴	-2,38 x 10 ⁻⁴
ΔE (mV)*	DA	688,48	402,83
	NQ	148,93	75,69
	FC	80,56	107,42
<i>k</i> (cm . s ⁻¹)	DA	-	-
	NQ	0,104	0,676
	FC	0,333	0,143
<i>E</i> ½ (mV)*	DA	306,70	388,485
	NQ	310,37	312,805
	FC	271,30	270,080
α^{**}	DA	0,35	0,35
	NQ	0,5	0,5
	FC	0,5	0,5

A = 0,5 cm².

* Dados obtidos quando a $v = 100 \text{ mV.s}^{-1}$.

**O α para DA e FC foram retirados da literatura.⁴⁶ Como o processo da NQ é semelhante ao do FC atribuiu-se o valor de 0,5 ao α .

Conforme os dados apresentados na Tabela 4, a área eletroativa do eletrodo (*S*) é sempre maior no eletrodo modificado tendo uma relação de 80,6 % para a DA, 31,89 % para a NQ e 11,8 % para o FC, corroborando os resultados obtidos da Figura 32, onde a afinidade com RGO segue DA > NQ > FC. Semelhante comportamento é visto para os dados de densidade de corrente (*J*), que é razão da corrente do pico catódico pela área geométrica do eletrodo (igual para todos), já que, quanto maior a afinidade entre o eletrodo e o par redox, maior sua corrente anódica e catódica. O ΔE reflete na tendência

a reversibilidade para irreversibilidade do processo redox envolvido, ou seja, no caso da DA, devido ao $\Delta E > 212$ mV para ambos os eletrodos, o processo é dito como irreversível, pois a transferência eletrônica entre a DA e os eletrodos é mais dificultada, já para a NQ e o FC, o processo é denominado quase-reversível, pois $59 \text{ mV} < \Delta E < 212 \text{ mV}$. O ΔE influi diretamente na determinação da constante heterogênea de velocidade (k) e esta, quando determinada pelo método adaptado de Nicholson só pode ser calculada para processos quase-reversíveis, sendo assim os valores só poderão ser obtidos para a NQ e o FC. Os valores de k indicam que o processo é mais rápido, conseqüentemente mais eficaz, no ITO/(PDAC/RGO)₅ apenas para o par NQ, o inverso ocorre para o par FC, mostrando mais uma vez a concordância entre os dados já obtidos, até porque a repulsão entre o filme de RGO e o FC retarda a transferência de carga. Curiosamente, esse efeito raramente é discutido na literatura para RGO, exceto por Yissar e colaboradores⁹³, para filmes LbL de outros polieletrólitos. A atração eletrostática permite uma melhor adsorção na superfície do filme de RGO e, conseqüentemente, uma transferência de elétrons mais eficaz. Por fim, o valor de $E^{1/2}$ indica o potencial redox formal do processo que envolve cada par redox e o α , por ser um indicativo da simetria entre os picos anódico e catódico, reforça a quase-reversibilidade dos processos para os pares NQ e FC, e a irreversibilidade para o par redox DA.⁹⁰

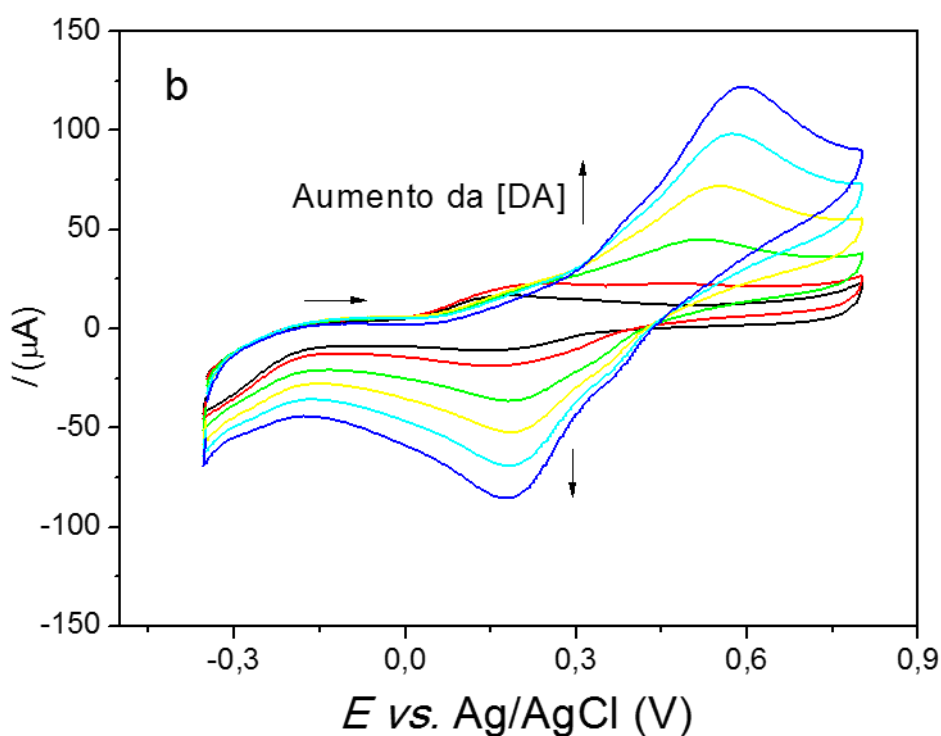
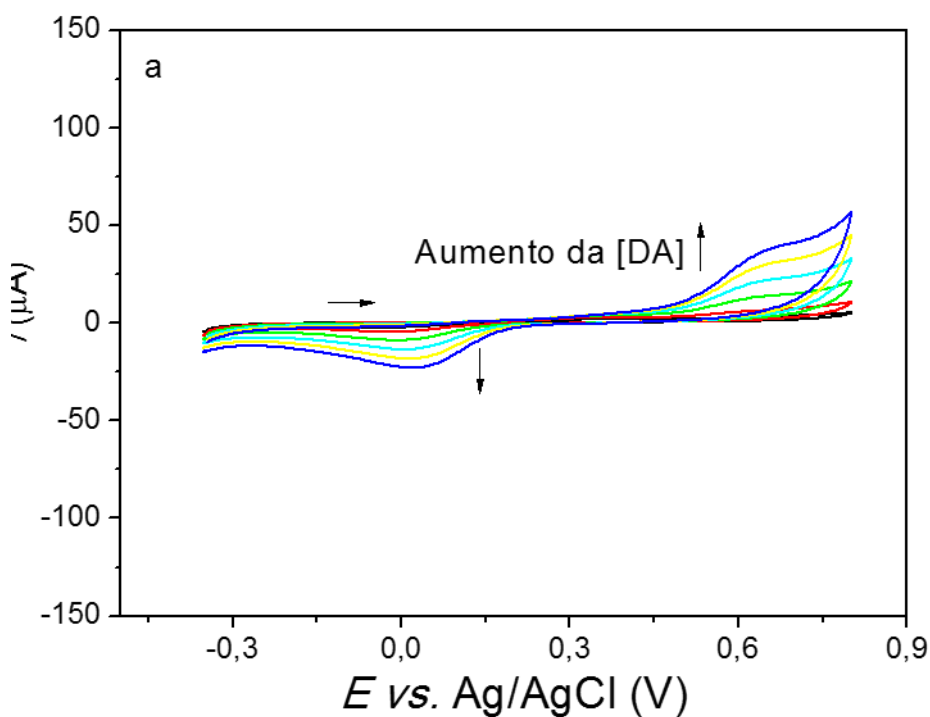
Se apenas a velocidade de varredura aumentasse, ao invés de aumentar também a diferença entre os picos (ΔE), k aumentaria. No entanto, o que se observa em muitos casos é que o ΔE é grande suficiente para fazer diminuir ao invés de aumentar a k . Esse aumento do ΔE vai tornando o processo redox irreversível, de tal forma que alguns valores de k não podem ser calculados pelo método de Nicholson ($\Delta E < 212 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$).

Conforme foi visto nas Figuras anteriores, além do comportamento dos eletrodos em frente à diferença entre os diversos pares redox, quando se altera o par redox, devido às diferentes interações que ocorrem na superfície do eletrodo, o aumento da velocidade também modifica o processo de transferência eletrônica, podendo tornar o processo redox até irreversível em altas velocidades de varredura.

Além disso, as propriedades eletrônicas excepcionais e particulares da RGO não são suficientes para assegurar a transferência de elétrons efetiva, pois sua química de superfície também deve ser levada em conta.

4.5.3 Com diferentes concentrações de pares redox

Outro estudo foi realizado variando-se a concentração dos pares redox de 0,1 a $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, para o eletrodo de ITO sem filme e modificado com os filmes, numa velocidade de varredura de potencial fixa. Os voltamogramas cíclicos com os respectivos gráficos da corrente nos picos anódicos e catódicos pela concentração do par redox são mostrados nas Figuras 38 - 40.



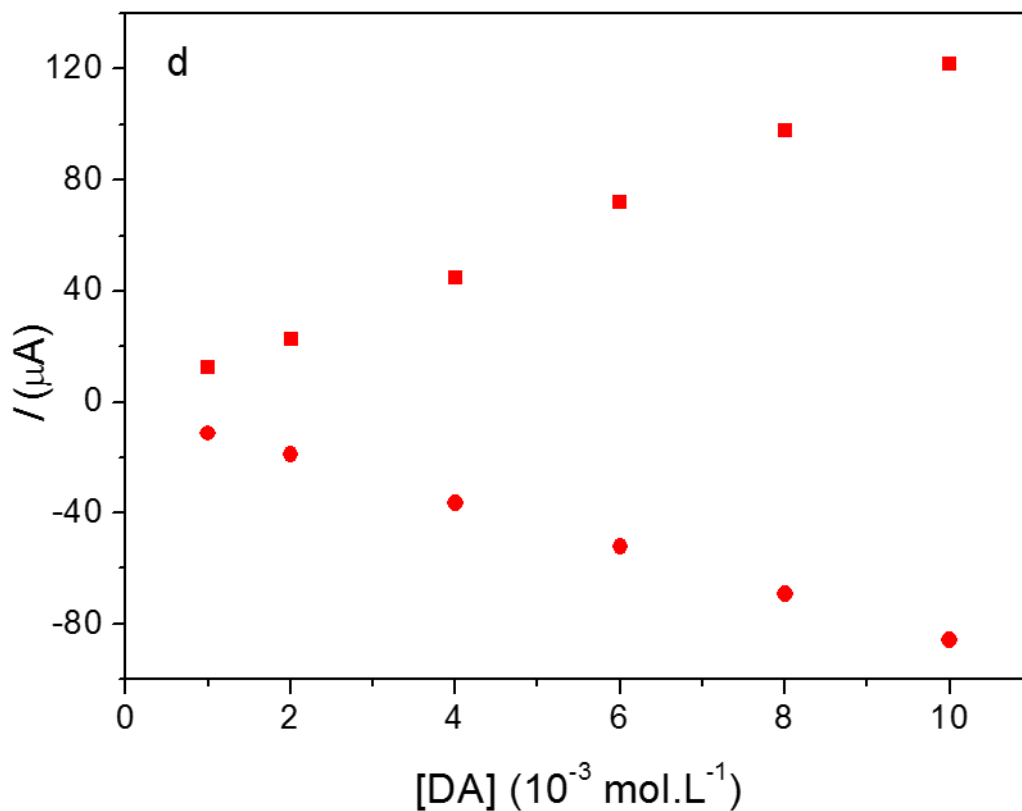
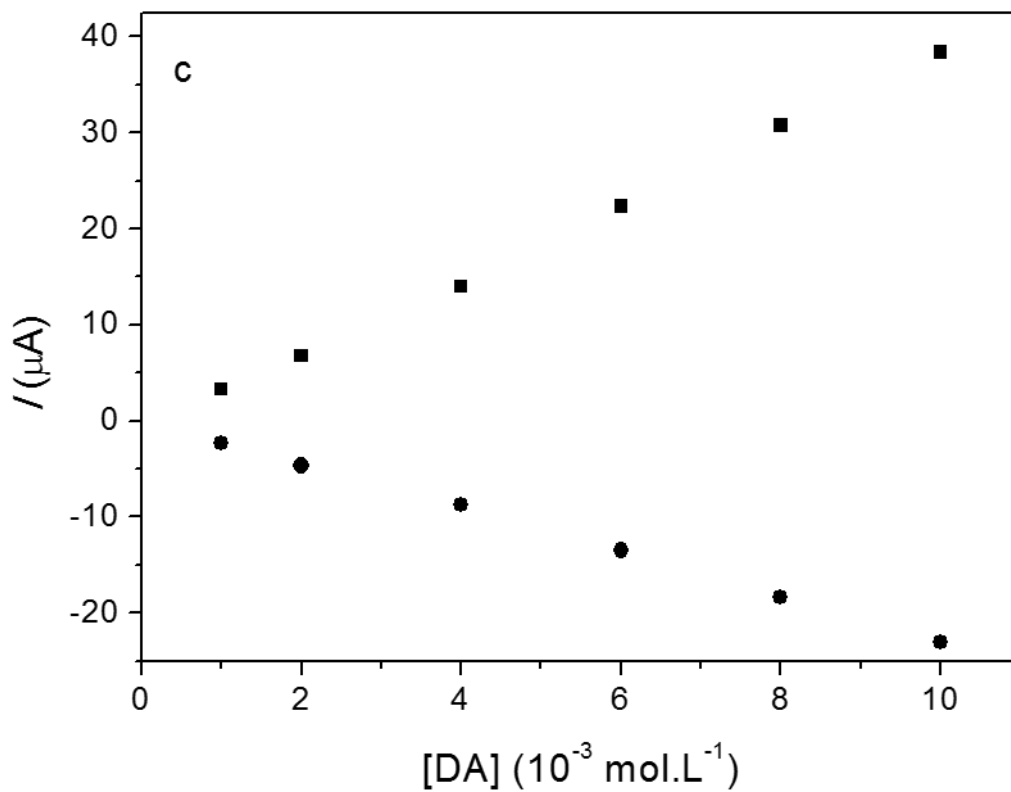
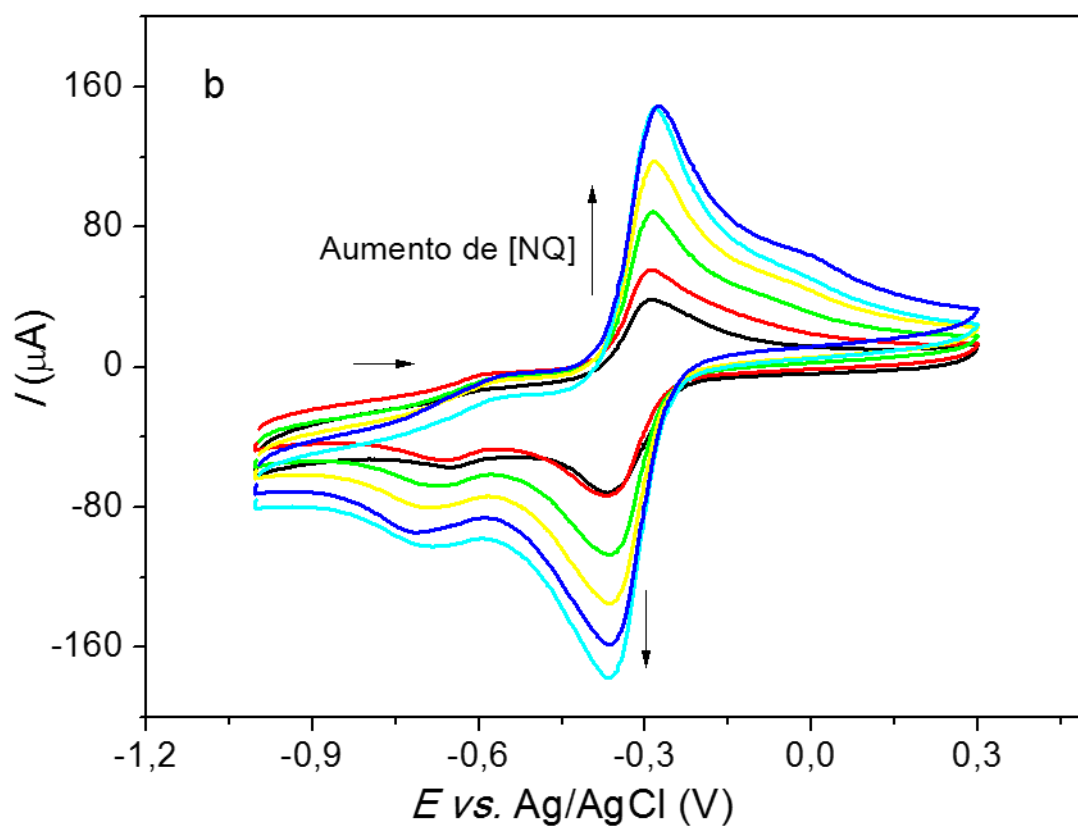
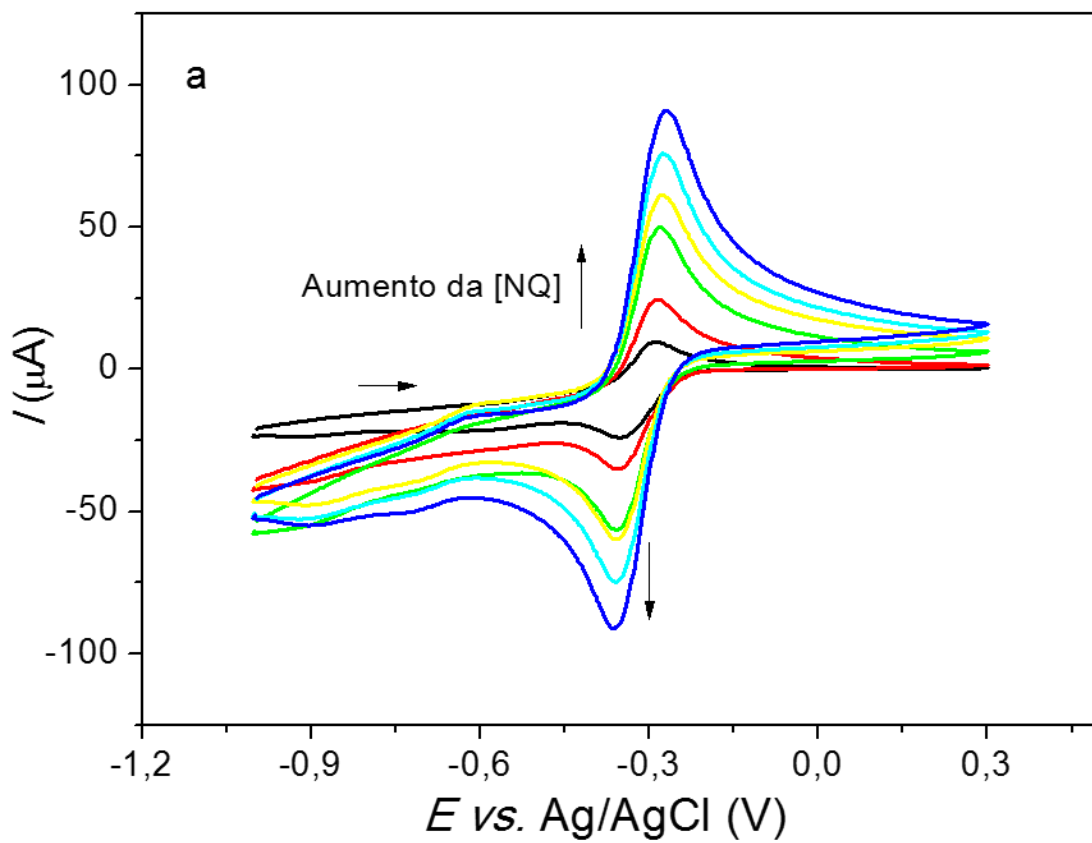


Figura 38. Voltamogramas cíclicos com diferentes concentrações de DA para a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO)₅. Gráfico da corrente nos picos anódico e catódico em função da concentração da DA para: c) ITO e d) ITO/(PDAC/RGO)₅. $v = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.



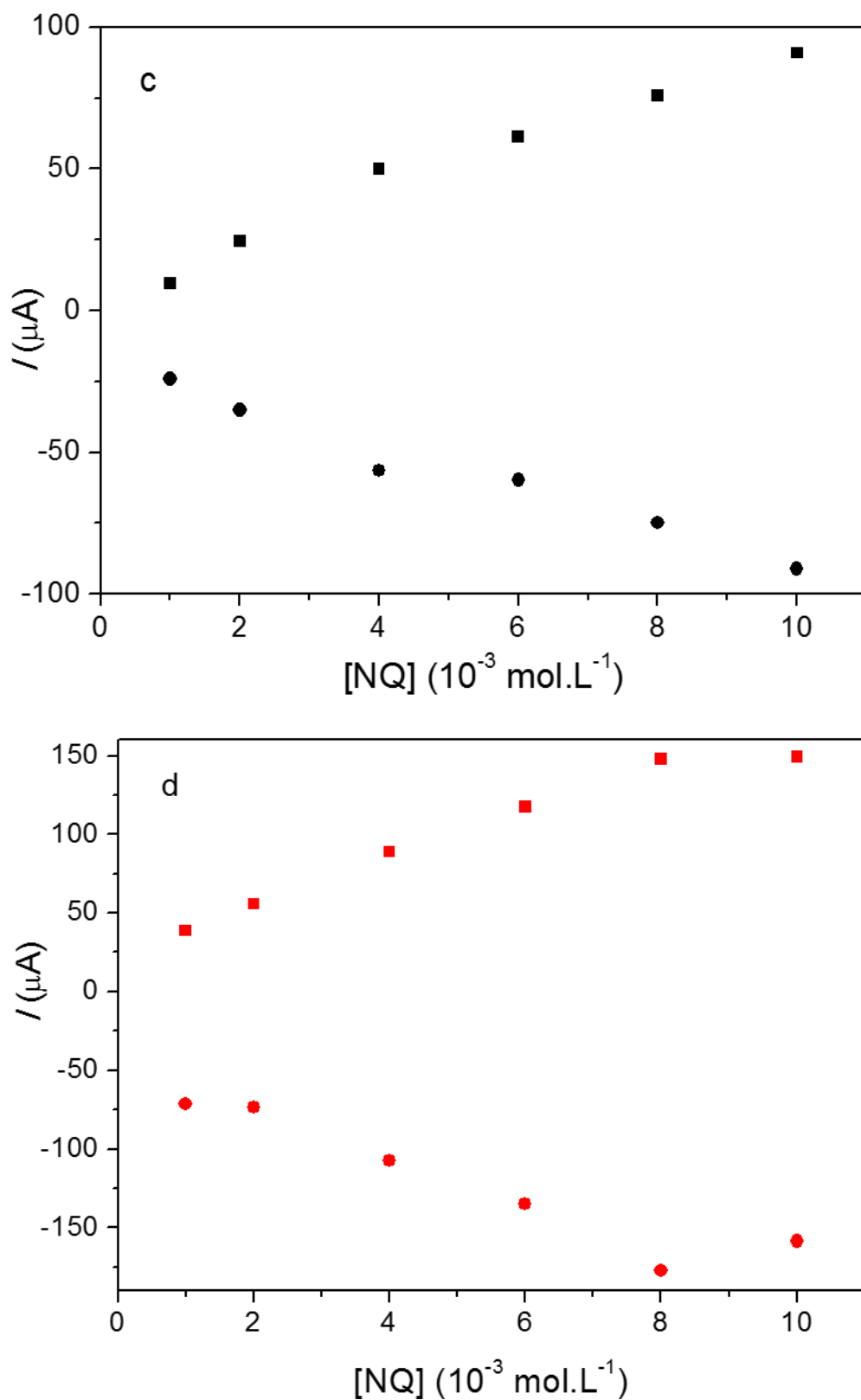
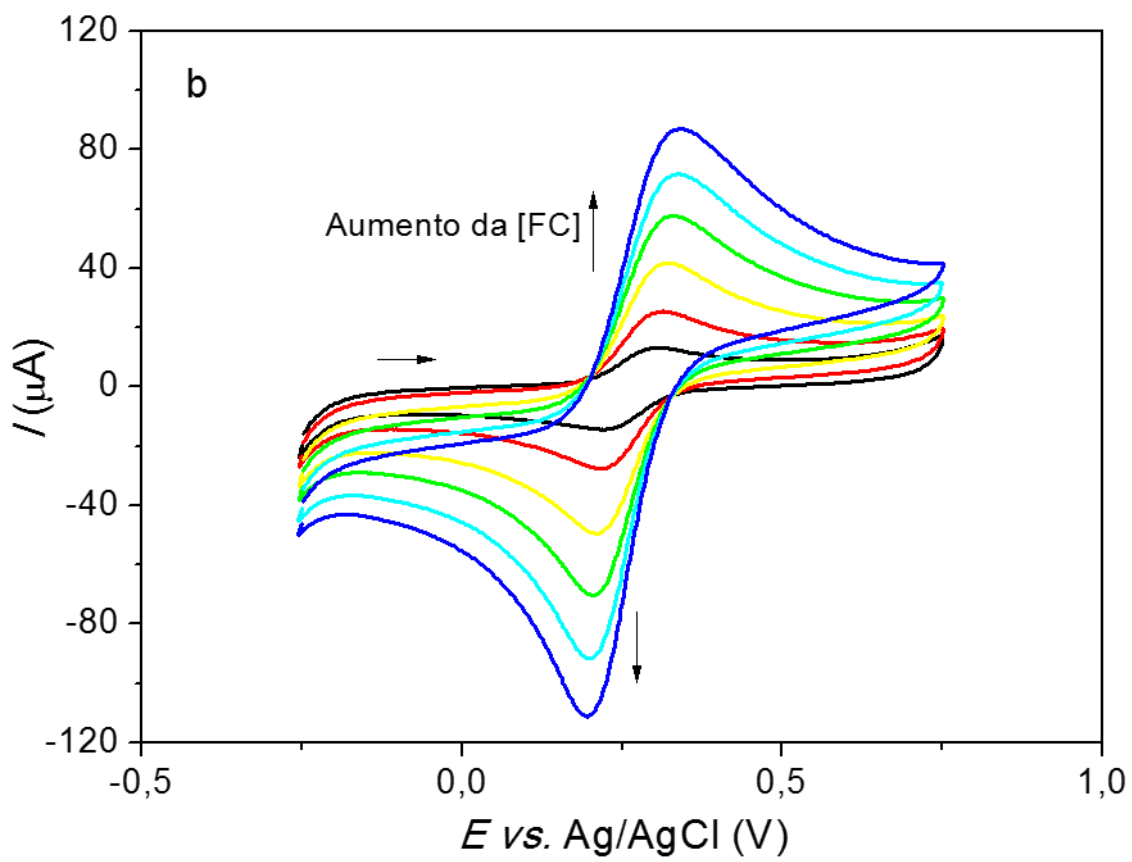
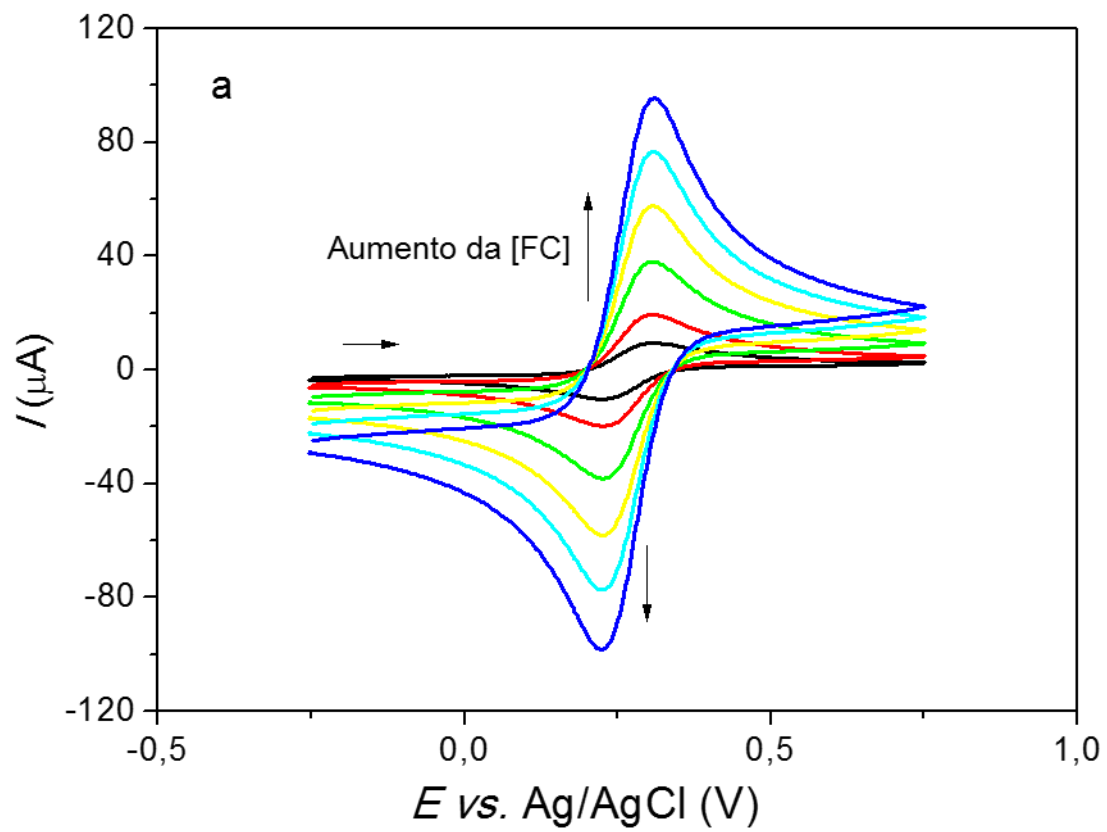


Figura 39. Voltamogramas cíclicos com diferentes concentrações de NQ para a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO)₅. Gráfico da corrente nos picos anódico e catódico em função da concentração da NQ para: c) ITO e d) ITO/(PDAC/RGO)₅. $v = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.



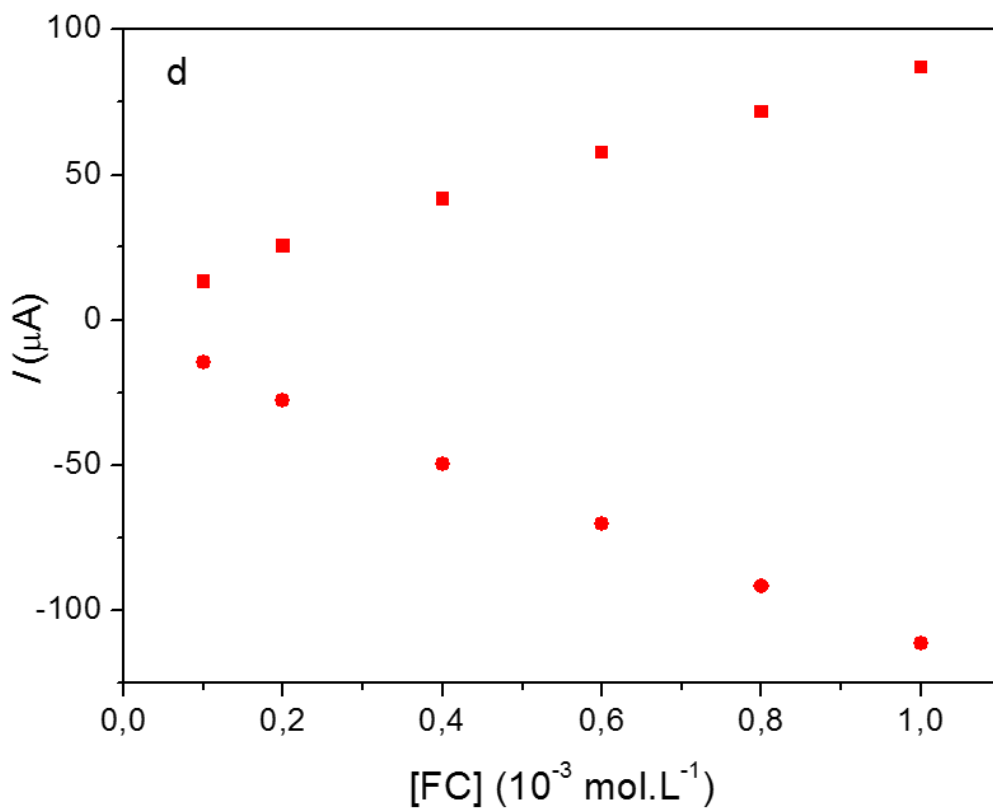
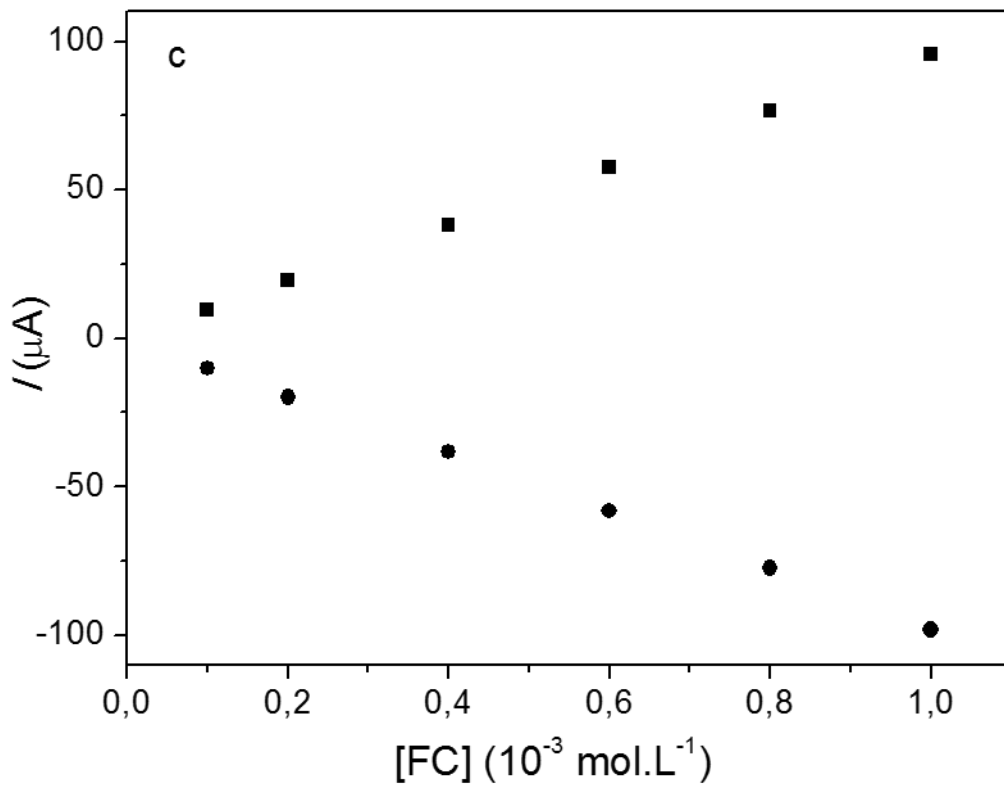


Figura 40. Voltamogramas cíclicos com diferentes concentrações de FC para a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO)₅. Gráfico da corrente nos picos anódico e catódico em função da concentração de FC para: c) ITO e d) ITO/(PDAC/RGO)₅. $\nu = 100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$.

Os voltamogramas mostram que o ΔE , no geral, não muda, nesse intervalo medido, com o aumento da concentração do par redox. Já para as correntes dos picos anódicos e catódicos, é evidente o crescimento com o aumento da concentração para todos os pares redox. Gráficos da corrente nos picos anódico e catódico, em função da concentração dos pares redox, foram obtidos envolvendo o eletrodo e o par redox, possibilitaram a determinação da sensibilidade (s) de cada eletrodo nos pares redox como está mostrado na Tabela 5:

Tabela 5. Valores de sensibilidade ($\mu\text{A}/\text{mmol.L}^{-1}$) obtidos dos gráficos.

	ITO	ITO/(PDAC/RGO) ₅
DA	$3,95 \times 10^{-6}$	$1,23 \times 10^{-5}$
NQ	$8,69 \times 10^{-6}$	$1,31 \times 10^{-5}$
FC	$9,56 \times 10^{-5}$	$8,02 \times 10^{-5}$

A sensibilidade foi medida pela inclinação da reta de regressão linear no gráfico da corrente do pico anódico pela concentração do par redox.⁹¹ A sensibilidade, nesse caso, indica a variação da corrente em função da variação da concentração do par redox. Quanto maior o valor da sensibilidade, mais sensível será o eletrodo, conseqüentemente, ele será melhor, pois indicará que pequenas concentrações implicarão em grandes aumentos de corrente.

Em concordância com os dados obtidos dos gráficos anteriores, os pares redox DA e NQ têm maior afinidade pelo eletrodo modificado pelo ITO(PDAC/RGO)₅ do que pelo ITO puro, o inverso ocorre para o par redox FC.

4.5.4 Medidas de impedância eletroquímica

A fim de complementar o estudo, foi analisado o comportamento dos pares redox em função do eletrodo e da concentração do par redox. Assim como nas medidas anteriores, apenas o eletrodo puro de ITO e o eletrodo modificado ITO(PDAC/RGO)₅ foram testados. Os espectros de impedância para os dois eletrodos são mostrados na Figura 41.

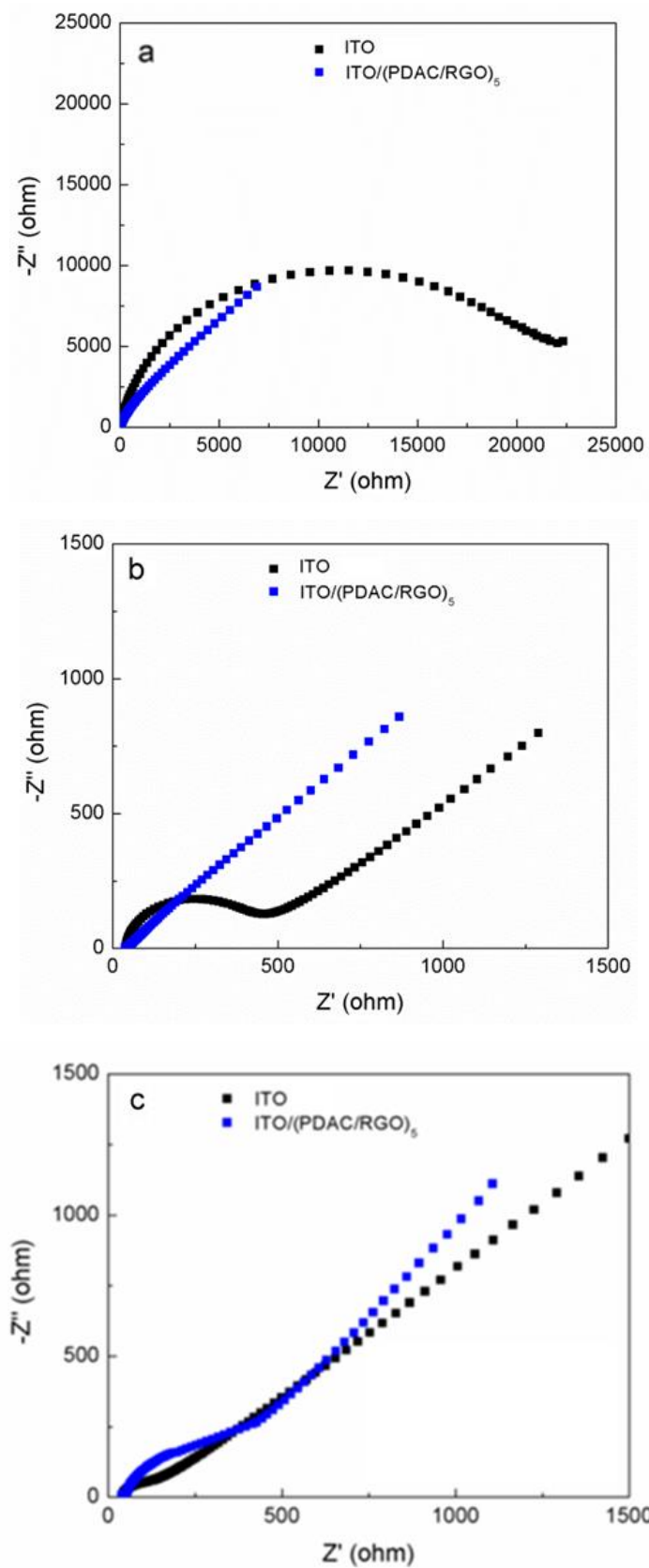


Figura 41. Gráfico de Nyquist dos eletrodos de ITO e ITO/(PDAC/RGO)₅ para: a) DA, b) NQ e c) FC. Concentração dos pares redox de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$.

Os dados experimentais puderam ser ajustados a partir de um circuito equivalente de Randles, conforme está mostrado na Figura 42 e os valores obtidos são mostrados na Tabela 6.

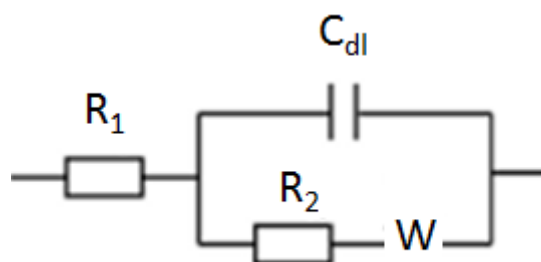


Figura 42. Circuito equivalente de Randles.

Tabela 6. Parâmetros de impedância eletroquímica para DA, NQ e FC obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais segundo o circuito equivalente de Randles.

		ITO	ITO/(PDAC/RGO) ₅
R ₁ (ohm)	DA	43,1	42,4
	NQ	41	41,4
	FC	42	40,9
R ₂ (ohm)	DA	1,6 x 10 ⁴	10,6 x 10 ⁻⁶
	NQ	344	7,1 x 10 ⁻⁷
	FC	73,4	260
W (μohm)	DA	121	100
	NQ	1090	1260
	FC	645	582
C _{dl} (μF)	DA	3,95	23,40
	NQ	5,39	26,20
	FC	3,23	2,49

Os dados obtidos de todos os gráficos de Nyquist mostram valores da resistência da cela eletroquímica (R₁), gerada entre o eletrólito e o eletrodo, são um pouco maiores que 40 ohms. Esses valores foram obtidos do eixo Z' e correspondem ao KCl 1,0 mol.L⁻¹, o mesmo eletrólito usado para todos os pares redox. Isso ocorre na região de alta frequência. Os valores obtidos para resistência à transferência de carga (R₂), são indicados

pelo semicírculo formado pelos gráficos onde, quanto maior o semicírculo, como no caso do eletrodo de ITO na presença da DA, maior o valor de R_2 . Para os pares redox DA e NQ, quando o filme de RGO é depositado sobre o ITO, o valor de R_2 diminui, o inverso ocorre para o FC. Isso deixa clara a grande influência que a modificação do eletrodo exerce no valor de R_2 . O semicírculo é seguido de uma reta com ângulo de 45° em relação aos dois eixos, a qual indica o comportamento difusional, representado pelo elemento de Warburg (W). Sendo assim, ao analisar cada caso, pode-se notar que, para a DA, em ambos os eletrodos, o W é pequeno mesmo em baixa frequência, caracterizando uma baixa difusão das espécies. Para a NQ, o valor de W é maior, pois, mesmo em altas frequências, a difusão de espécies é bem mais pronunciada. Já para o FC, o W possui um valor razoável mostrando que em altas frequências a difusão das espécies é possível a pequenas distâncias, já em baixa frequência a difusão das espécies é bem mais eficaz. Mesmo assim, pode-se notar que o valor de W pouco varia quando o eletrodo é modificado. Quando levado em conta a capacitância da dupla camada (C_{dl}), que é a relação entre o eletrodo e a solução, semelhante ao que foi visto nas medidas voltamétricas, e confirmado pelas medidas de impedância, o eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ tem maior afinidade pelos pares redox orgânicos quando comparados ao eletrodo de ITO puro, ocorrendo o inverso quando o par redox é o FC.

Diferentes publicações encontradas na literatura têm apontado que o RGO melhora a eletroatividade de eletrodos puros para vários pares redox.^{45,95} É conhecido que o RGO exibe alta mobilidade eletrônica em temperatura ambiente e contém inúmeros defeitos de superfície. Em conjunto, essas características melhoram a cinética de transferência eletrônica. No entanto, esta afirmação soa muito geral, pois o RGO pode ser preparado de diversas maneiras que levam a estruturas moleculares diferentes, com comportamentos eletroquímicos ainda mais discrepantes. Supondo que o sistema FC sofre uma reação redox de esfera externa, a transferência de elétrons deve superar uma barreira potencial na interface entre o eletrodo e o par redox. Apesar disso, a modificação do substrato ITO com o filme PDAC/RGO diminui o valor de k e torna mais irreversível a interconversão redox ferri/ferrocianeto. Isso evidencia que o FC não se comporta como um par redox de esfera externa.⁴⁵

Por fim, toda a caracterização eletroquímica feita para o filme de RGO deixa claro que esse tipo de eletrodo pode ser empregado em diversos tipos de dispositivos eletroquímicos.

4.6. Viabilidade para Aplicação em Biossensores

4.6.1 Dopamina e ácido ascórbico

O par redox DA, além de ser utilizado na caracterização eletroquímica do eletrodo, também foi utilizado como analito de interesse. Diferentes concentrações de DA (0 a $10 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) foram utilizadas para o mesmo eletrodo de ITO/(PDAC/RGO)₅ pelas técnicas de VC e VPD, como está mostrado na Figura 43.

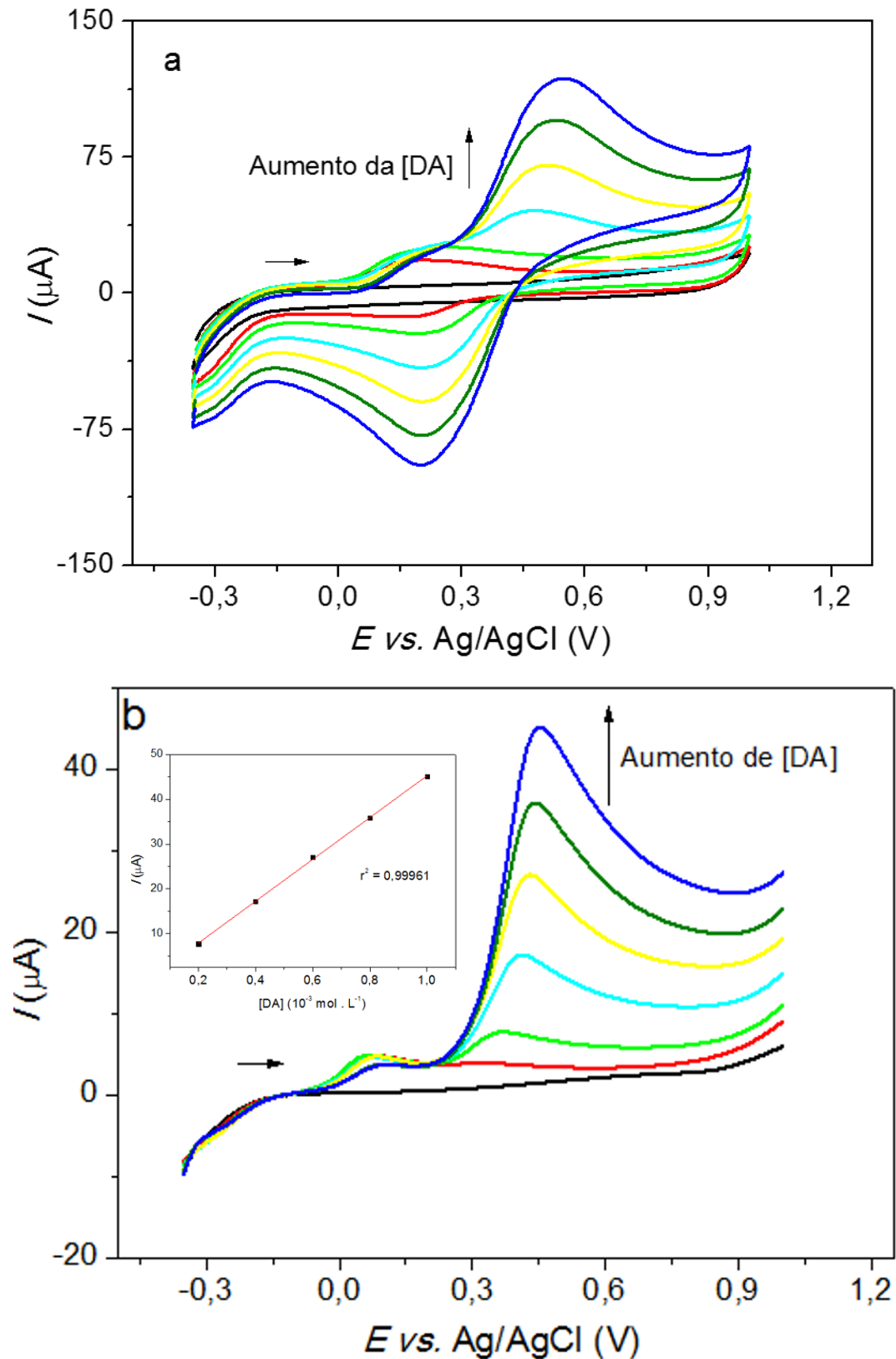


Figura 43. a) VC e b) VPD do filme ITO/(PDAC/RGO)₅ em DA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L⁻¹. Inserida) Gráfico da corrente do pico anódico pela concentração de DA.

Como é observado na Figura 43a, o aumento da concentração implica um aumento da corrente em ambos os picos, anódico e catódico. Considerando-se apenas o processo de oxidação da DA no estudo, empregando-se a técnica mais sensível como a VPD, ficam mais evidentes os dois processos de oxidação que envolvem a DA, um menor próximo a +0,1 V e outro mais significativo em aproximadamente +0,45 V (Figura 43b). Em ambos os voltamogramas, é notável um pequeno deslocamento tanto no pico anódico como catódico. Na Figura Inserida, o aumento linear da corrente com o aumento da concentração de DA possibilita a determinação da sensibilidade do eletrodo ($s = 4,67 \times 10^{-5} \mu\text{A}/\text{mmol.L}^{-1}$) pela extrapolação da reta. A oxidação da DA também é facilitada devido ao fato de ela estar totalmente protonada no pH do eletrólito (pH 5,5).⁸⁹

Quando comparado a outros trabalhos recentes, como de Liu e colaboradores,⁵⁸ apesar da sensibilidade não ser tão boa, a maior vantagem é um eletrodo simples e de baixo custo quando comparados aos demais eletrodos modificados.

Como um dos maiores gargalos na determinação da DA é a interferência de outros analitos, principalmente o AA, foram realizados dois testes de interferência. No primeiro teste, a concentração de DA foi mantida constante enquanto se variou a concentração de AA, entre dez vezes menor a dez vezes maior do que a concentração de DA. No segundo teste, a concentração de AA foi mantida constante e variou-se, da mesma forma que anteriormente, a concentração de DA. As Figuras 44 e 45 mostram os resultados dos testes de interferência usando medidas de VC e VDP.

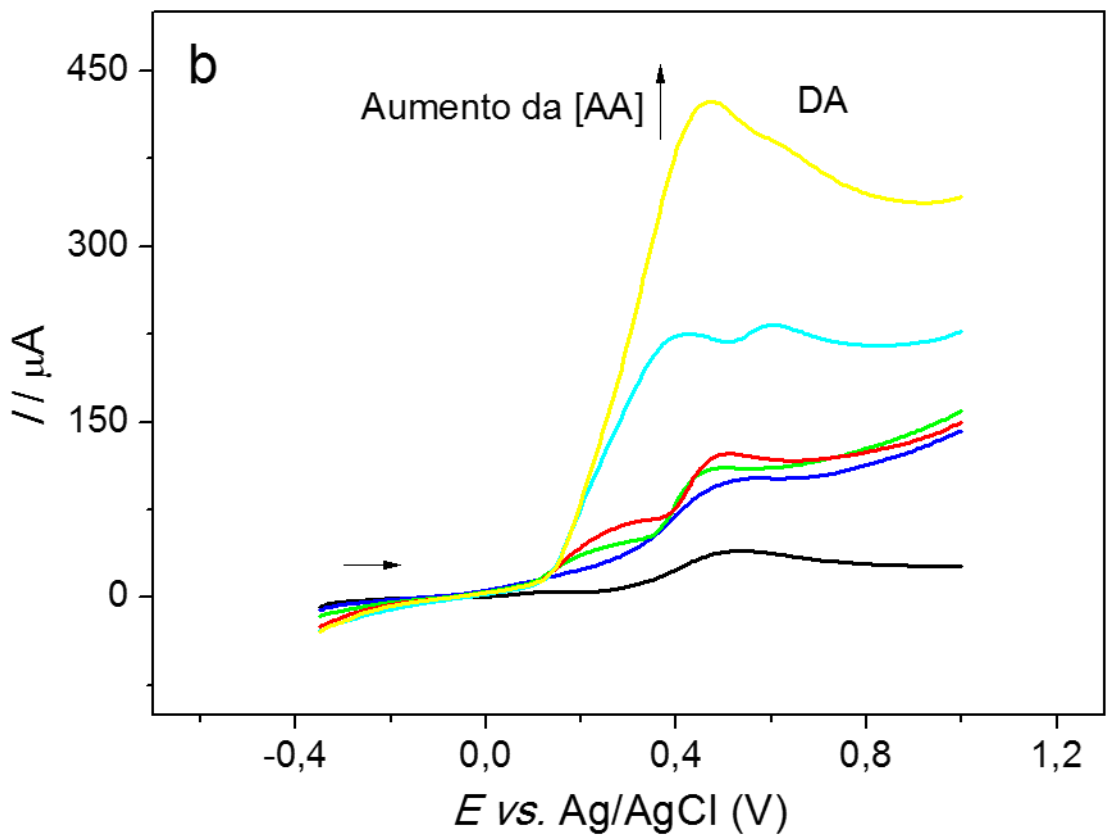
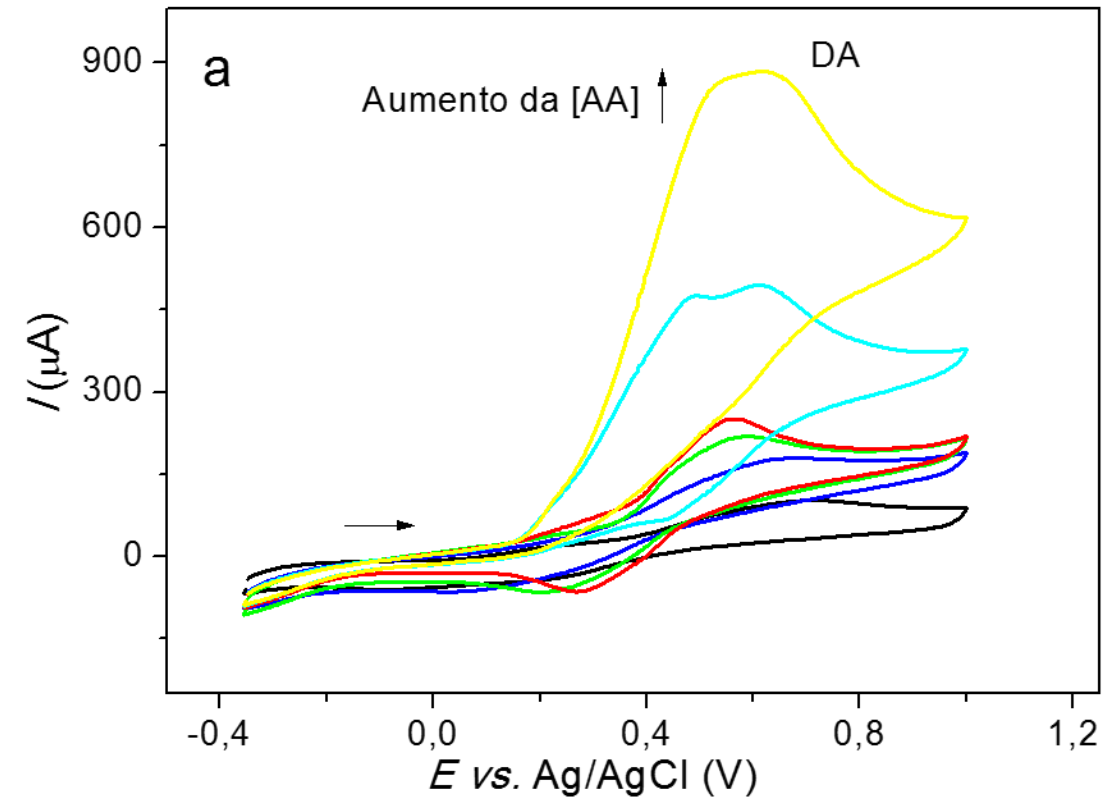


Figura 44. a) VC e b) VPD do filme ITO/(PDAC/RGO)₅ em DA e AA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L⁻¹.

Quando comparados os voltamogramas obtidos com apenas DA, percebe-se um deslocamento para potencial mais positivo do pico anódico da DA (em torno de + 0,6 V), quando na presença de AA. Mesmo assim, em ambos voltamogramas, foi possível a distinção dos picos do anódicos do AA e da DA pelo ITO/(PDAC/RGO)₅. A oxidação do AA aparece em um potencial menor do que a DA, em aproximadamente + 0,4 V. Nas medidas feitas em VPD, apenas para o processo anódico, fica mais evidente a eficácia do eletrodo de RGO para separação dos picos do AA e da DA, mesmo em concentrações mais baixas de AA. Um outro fato a ser observado é que nas mesmas concentrações (linha vermelha), o pico anódico da DA é maior que o pico anódico do AA, demonstrando uma maior afinidade do eletrodo pela DA, apesar de que, em meio biológico, possa se encontrar a concentração de AA até 1000 vezes maior que a da DA.⁵⁸ A afinidade da DA pelo filme ITO/(PDAC/RGO)₅ já foi discutida no item 4.5. Apesar do RGO também ser capaz de formar interações de hidrogênio com o AA, a afinidade menor, que para a DA pode estar relacionada à sua estrutura pois, o AA não possui unidade aromática. Vale ressaltar que no pH da solução, o AA (pKa1 = 4,12) está parcialmente desprotonado enquanto a DA está totalmente protonada, já citado anteriormente, o que favorece mais ainda a afinidade com o RGO.⁷¹ O AA tem sua transferência eletrônica favorecida em pH maiores.⁷² Alguns trabalhos já foram feitos envolvendo a detecção de DA, utilizando eletrodo de RGO, mesmo na presença de interferentes.⁹⁵ Mas nenhum deles com filmes automontados de RGO na presença do seu principal interferente, o AA.

Um estudo complementar foi feito fixando-se a concentração de AA e variando a concentração de DA.

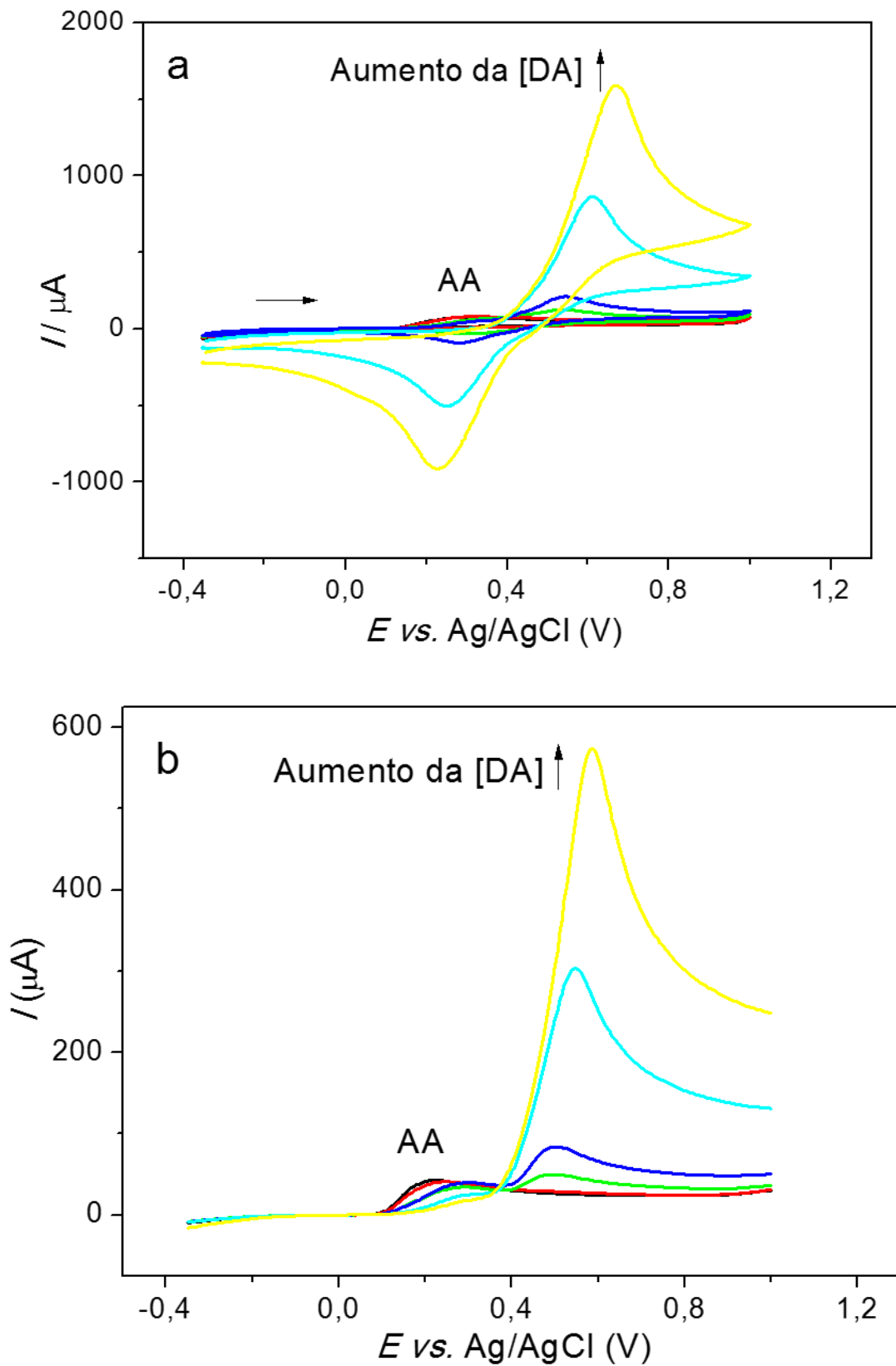


Figura 45. a) VC e b) VPD do filme ITO/(PDAC/RGO)₅ em AA e DA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L⁻¹.

O pico do AA é suprimido com o aumento da concentração de DA, como está mostrado na Figura 45. As medidas feitas por VPD deixam isso mais evidente quando comparado com as medidas de VC, inclusive minimizando o pico de oxidação do AA. Essas últimas medidas, apesar de complementarem as medidas da Figura 44, não têm muita relevância quando o foco é a interferência de AA na DA, mesmo assim, o estudo feito pelas medidas das Figuras 44 e 45 deixam clara a capacidade do eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ em distinguir os picos de oxidação de DA e AA mesmo concentrações variadas.

4.6.2 Determinação de AA

Um estudo mais amplo envolvendo a determinação de AA com os eletrodos de ITO e ITO/(PDAC/RGO)₅ foi realizado a fim de se analisar o desempenho do eletrodo modificado em frente a um analito, conforme é visto nas Figuras 46.

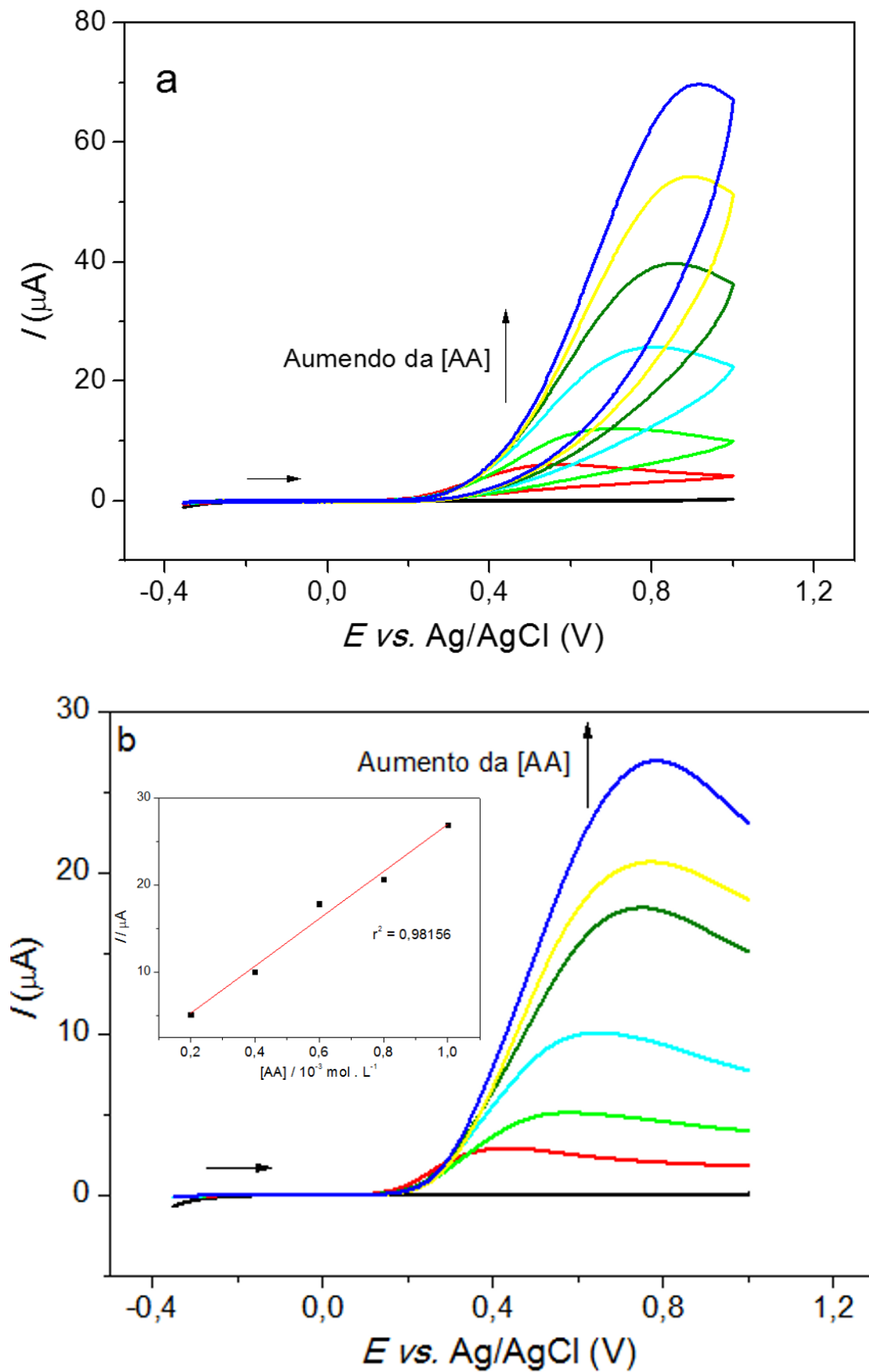


Figura 46. a) VC e b) VPD do ITO puro em AA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L⁻¹. Inserida) Gráfico da corrente do pico anódico pela concentração de AA.

Como foi visto na Figura 46a, o ITO puro tem a capacidade de oxidar o AA em potenciais maiores que + 0,80 V. Já na Figura 46b, observa-se que a oxidação do AA ocorre num potencial em torno de + 0,75 V. Aumentando-se a concentração de AA sobre o eletrodo de ITO puro, utilizando VC e VPD, fica evidente o aumento da corrente. Em ambos voltamogramas, o pico é deslocado para potenciais mais positivos quando a concentração é aumentada, comportamento similar ao visto na detecção de DA. Quando é gerado o gráfico, tomando-se como base a Figura 45b, da corrente máxima pela concentração de AA, nota-se um aumento linear da corrente quando aumentada a concentração, Figura Inserida. A sensibilidade do eletrodo de ITO na presença do AA foi de $2,71 \times 10^{-5} \mu\text{A}/\text{mmol.L}^{-1}$.

Já o estudo do AA em diferentes concentrações sobre o eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ é mostrado na Figura 47.

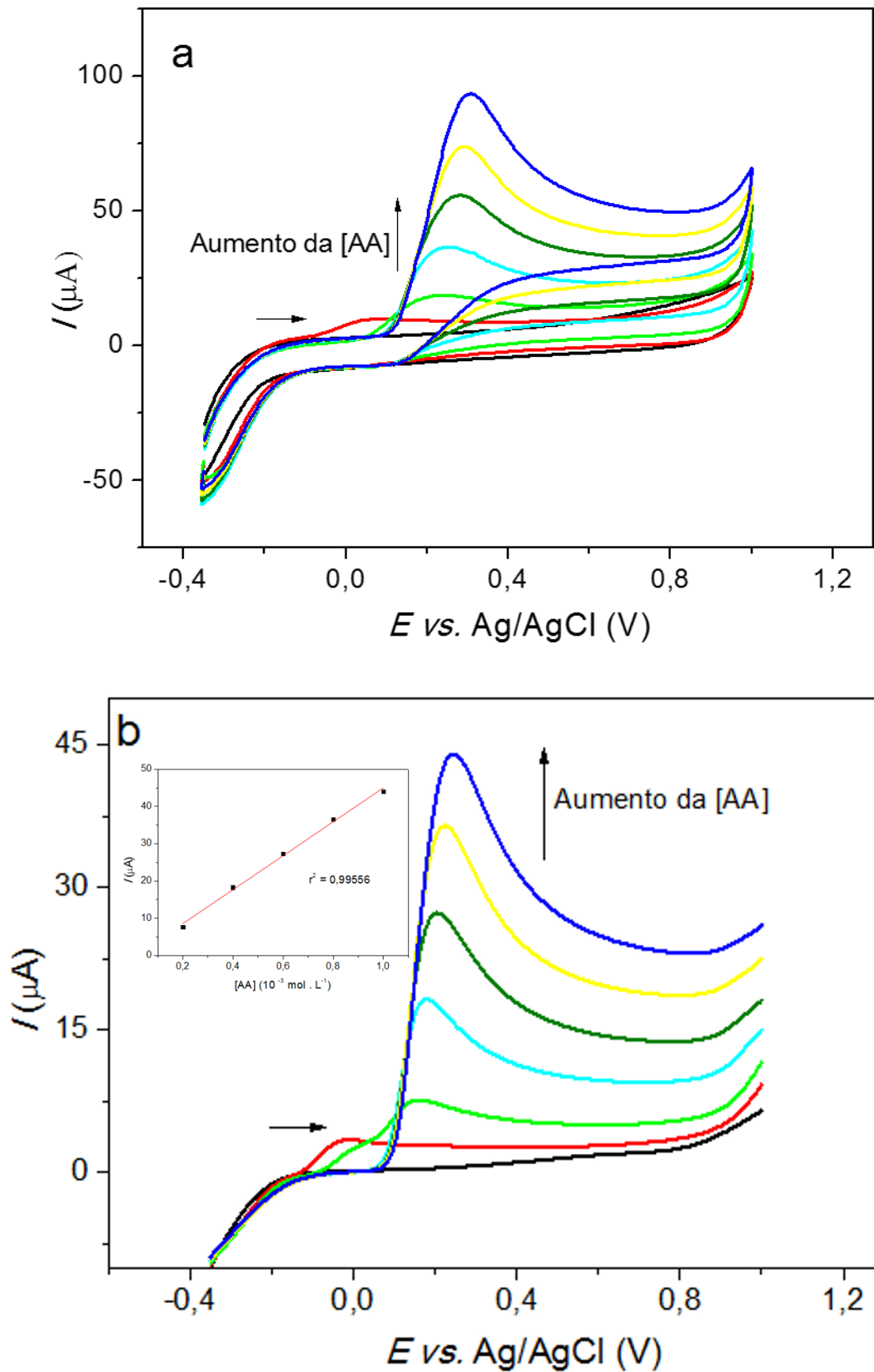


Figura 47. a) VC e b) VPD do ITO/(PDAC/RGO)₅ em AA com diferentes concentrações em KCl 1,0 mol.L⁻¹. Inserida) Gráfico da corrente do pico anódico pela concentração de AA.

As medidas obtidas com o eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ são semelhantes àquelas obtidas com o eletrodo de ITO sem filme, mas o potencial de oxidação do AA é menor, em torno de +0,30 V, como se observa na Figura 47a. Na VPD, Figura 47b, onde a medida é mais sensível, o potencial de oxidação do AA fica perto de +0,25 V, ambas para concentração máxima. O deslocamento do pico anódico com o aumento da concentração e a linearidade da corrente nesse pico, em função da concentração, também ocorre. A sensibilidade obtida, através do gráfico da Figura Inserida, foi de $4,55 \times 10^{-5} \mu\text{A}/\text{mmol.L}^{-1}$, maior do que a sensibilidade em ITO ($2,71 \times 10^{-5} \mu\text{A}/\text{mmol.L}^{-1}$). Um eletrodo com maior sensibilidade indica ser mais eficaz em outros parâmetros analíticos, tais como limite de detecção e limite de quantificação, não obtidos nesse estudo.⁹⁴

O desempenho melhor do eletrodo modificado é mais claramente verificado na Figura 48.

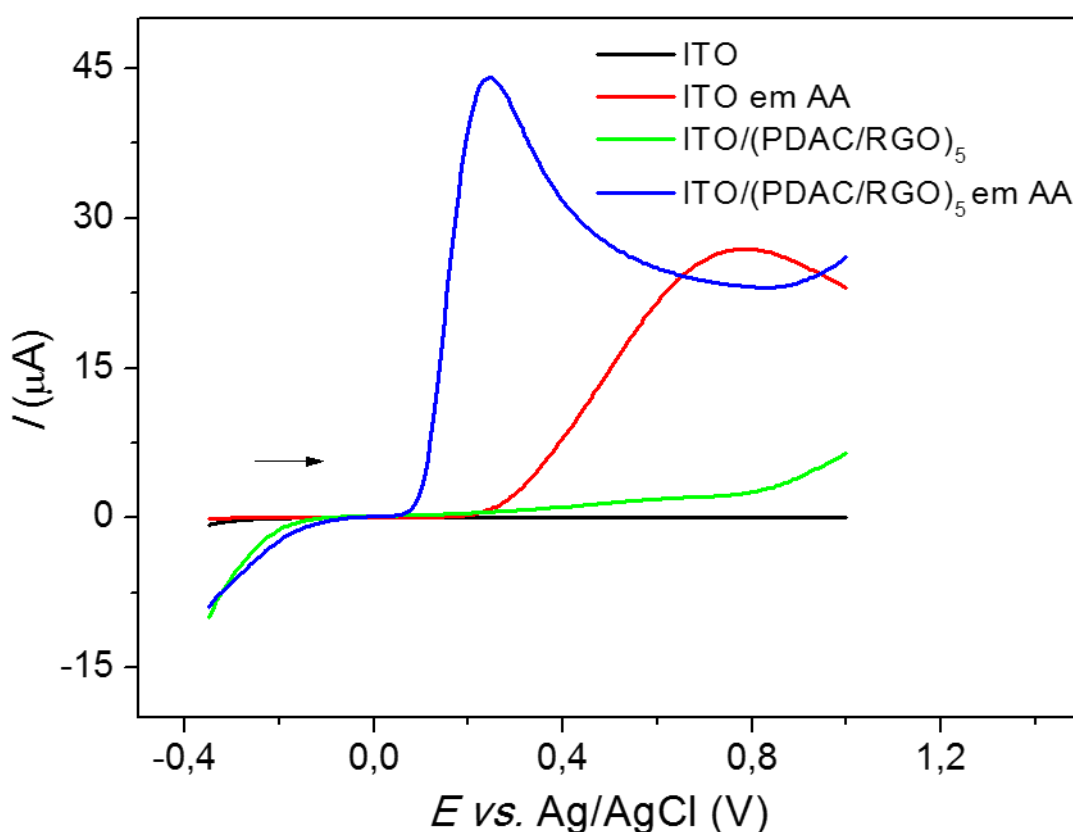


Figura 48. VPD comparando o eletrodo de ITO puro na ausência (preto) e na presença (vermelho) do AA com o eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ na ausência (verde) e na presença (azul) do AA. Concentração de AA de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em KCl $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$.

Como é visto na Figura 48, quando se comparam os eletrodos na ausência e na presença de AA, fica bem evidente que ambos são sensíveis à presença de AA. Além disso, uma maior corrente foi medida com o eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅. Com o eletrodo de ITO sem filme, nota-se que a corrente é menor e a oxidação do AA ocorre em potenciais maiores. Além disso, o potencial de oxidação do AA se aproxima de zero no eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅, demonstrando que a oxidação é facilitada quando o eletrodo de ITO é modificado com o filme PDAC/RGO.

Na Figura 49 são apresentados os voltamogramas dos eletrodos quando, após serem usados, voltam a ter a mesma resposta, mesmo na ausência do analito. Um fato importante a ser mencionado é que em o eletrodo é apenas enxaguado com água deionizada antes de ser novamente utilizado, não sendo necessário nenhum condicionamento específico.

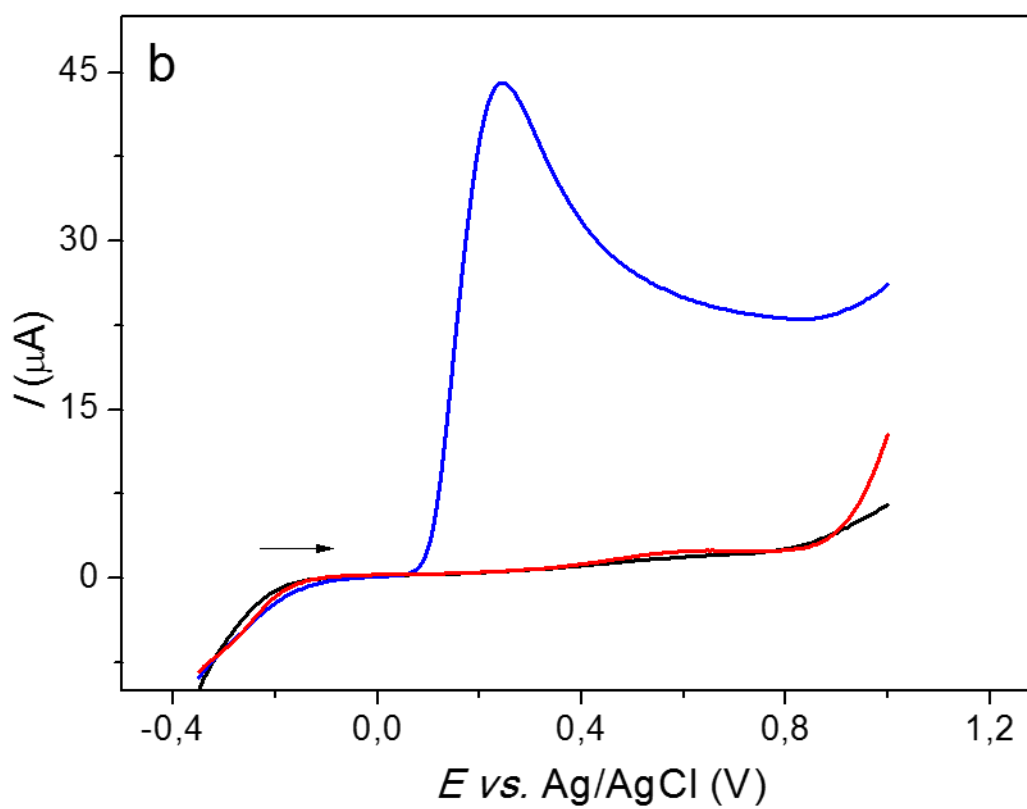
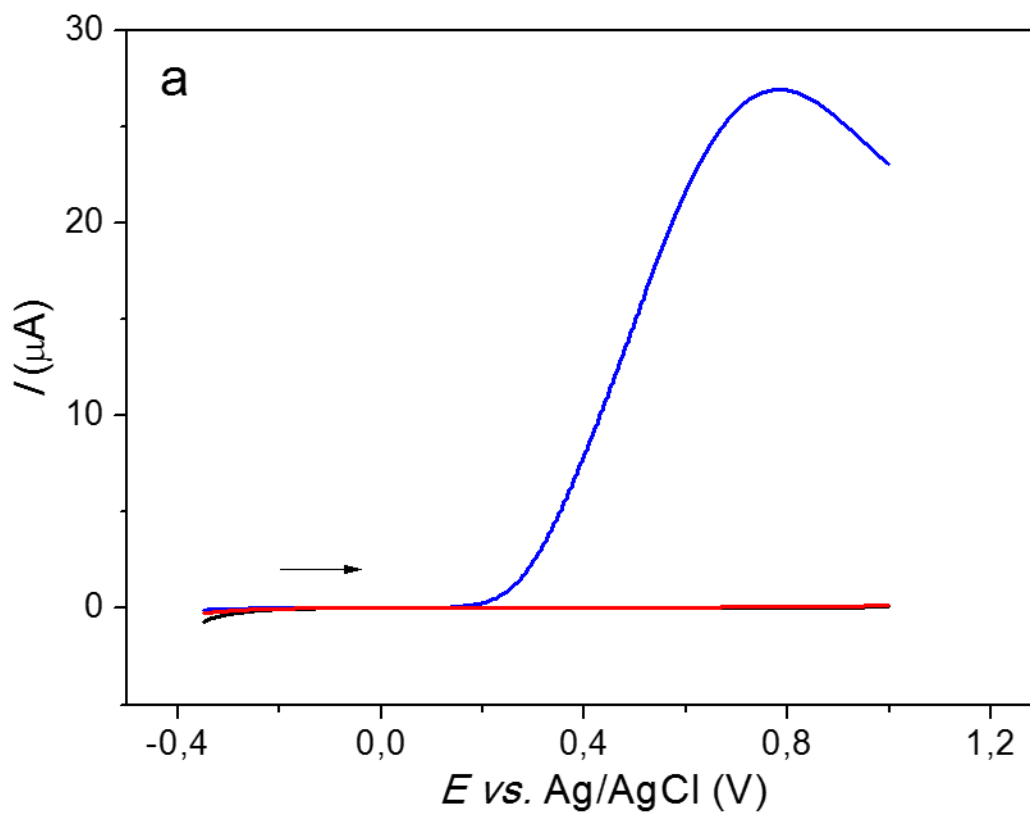


Figura 49. VPD do a) ITO e b) ITO/(PDAC/RGO)₅ na ausência de AA no início (preto), ao fim das medidas (vermelho) e na presença de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ AA (azul).

Isso mostra a capacidade de ambos os eletrodos de serem reutilizado em outras medidas ou até em testes de repetitividade do sinal. Outro aspecto muito importante a ser mencionado, que não foi mostrado, é o fato dos eletrodos terem alta durabilidade, ou seja, podem ser usados muito tempo depois de serem fabricados.

4.6.3 Determinação de AA em amostras reais

Já foi vista a importância do AA e a eficácia do eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ em sua detecção. Nesse último estudo, duas amostras reais contendo AA tiveram suas concentrações verificadas. A primeira amostra a ser analisadas foi a de Bio C, Figura 50.

96



Figura 50. Medicamento Bio C.

Utilizando-se o método de adição de padrão, foram feitas 4 adições com diferentes concentrações de AA em Bio C ao mesmo eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅. Cada adição do padrão gerou uma determinada corrente, como se vê na Tabela 7.

Tabela 7. Dados de corrente obtidos para as sucessivas adições de padrão de AA em Bio C $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Alíquota	Concentração (mol.L^{-1}) de AA	Corrente (A)
Bio C	0	$6,81 \times 10^{-5}$
Adição 1	$5,0 \times 10^{-4}$	$1,25 \times 10^{-4}$
Adição 2	$1,0 \times 10^{-3}$	$1,68 \times 10^{-4}$
Adição 3	$5,0 \times 10^{-3}$	$5,12 \times 10^{-4}$
Adição 4	$1,0 \times 10^{-2}$	$9,52 \times 10^{-4}$

A primeira amostra consistia no analito de interesse (Bio C) na ausência de AA. Para as demais amostras, foram feitas concentrações nas proporções de 1:2:10:20 ($0,5$ a $10 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) a fim de se obter uma melhor seleção dos picos. Os voltamogramas e os gráficos resultantes das medidas da Tabela 7 são mostrados na Figura 51.

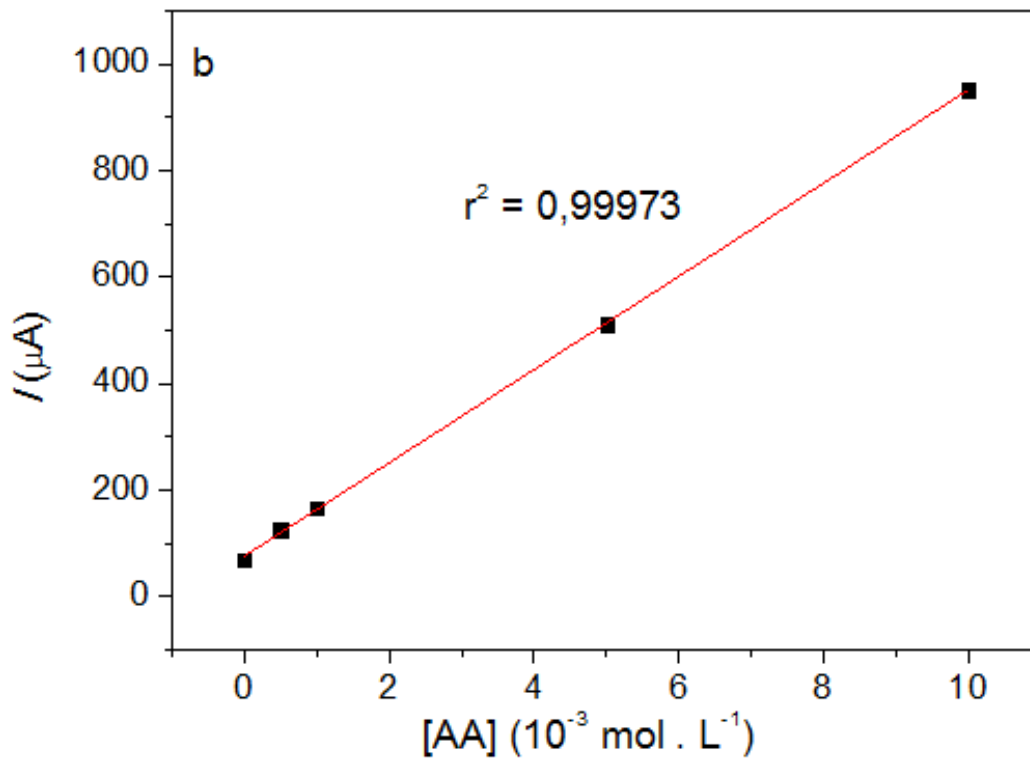
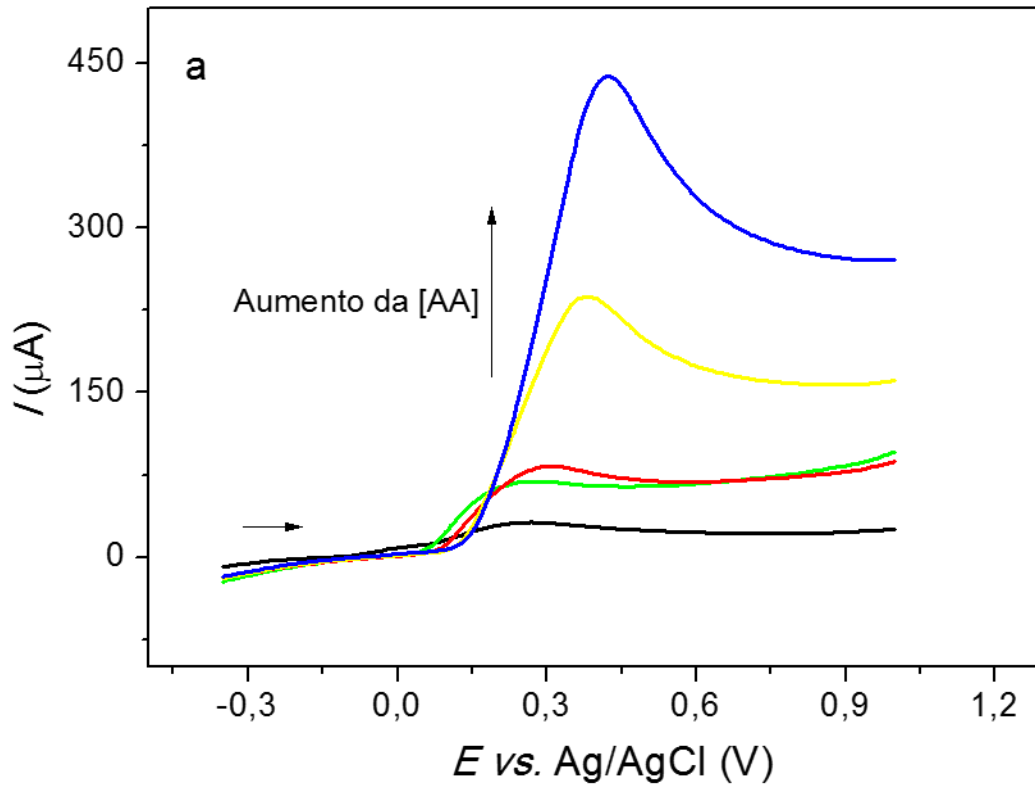


Figura 51. a) VPD da adio de padrão do filme de AA em Bio C com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ usando $\text{ITO}/(\text{PDAC}/\text{RGO})_5$. Eletrólito: $\text{KCl } 1,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. b) Gráfico da corrente do pico de oxidao em funo da concentrao de AA.

A Figura 51a mostra o aumento proporcional das concentrações de AA. Na Figura 51b, o gráfico resultante do aumento da corrente pela concentração de AA, apresenta uma linearidade e resulta numa equação da reta de regressão linear dada por $I = 4,09 \times 10^{-6} + 0,04[AA]$. A partir dessa equação, pode-se determinar o valor da concentração de AA no Bio C, de aproximadamente 153 mg/mL, valor esse aquém do esperado de 200 mg/mL, como está indicado na embalagem do medicamento.

O procedimento realizado para a determinação do Bio C, foi feito também para o Vitawin 1, um complexo vitamínico indicado para bebês e crianças, Figura 52.⁹⁷



Figura 52. Complexo vitamínico Vitawin 1.

Os dados obtidos são mostrados na Tabela 8 e, os seus voltamogramas e gráficos resultantes, são mostrados na Figura 51.

Tabela 8. Dados de corrente obtidos para as sucessivas adições de padrão de AA em Vitawin 1 $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Alíquota	Concentração (mol . L ⁻¹) de AA	Corrente (A)
Vitawin 1	0	$1,43 \times 10^{-6}$
Adição 1	$5,0 \times 10^{-4}$	$7,05 \times 10^{-5}$
Adição 2	$1,0 \times 10^{-3}$	$9,17 \times 10^{-5}$
Adição 3	$5,0 \times 10^{-3}$	$2,42 \times 10^{-4}$
Adição 4	$1,0 \times 10^{-2}$	$4,52 \times 10^{-4}$

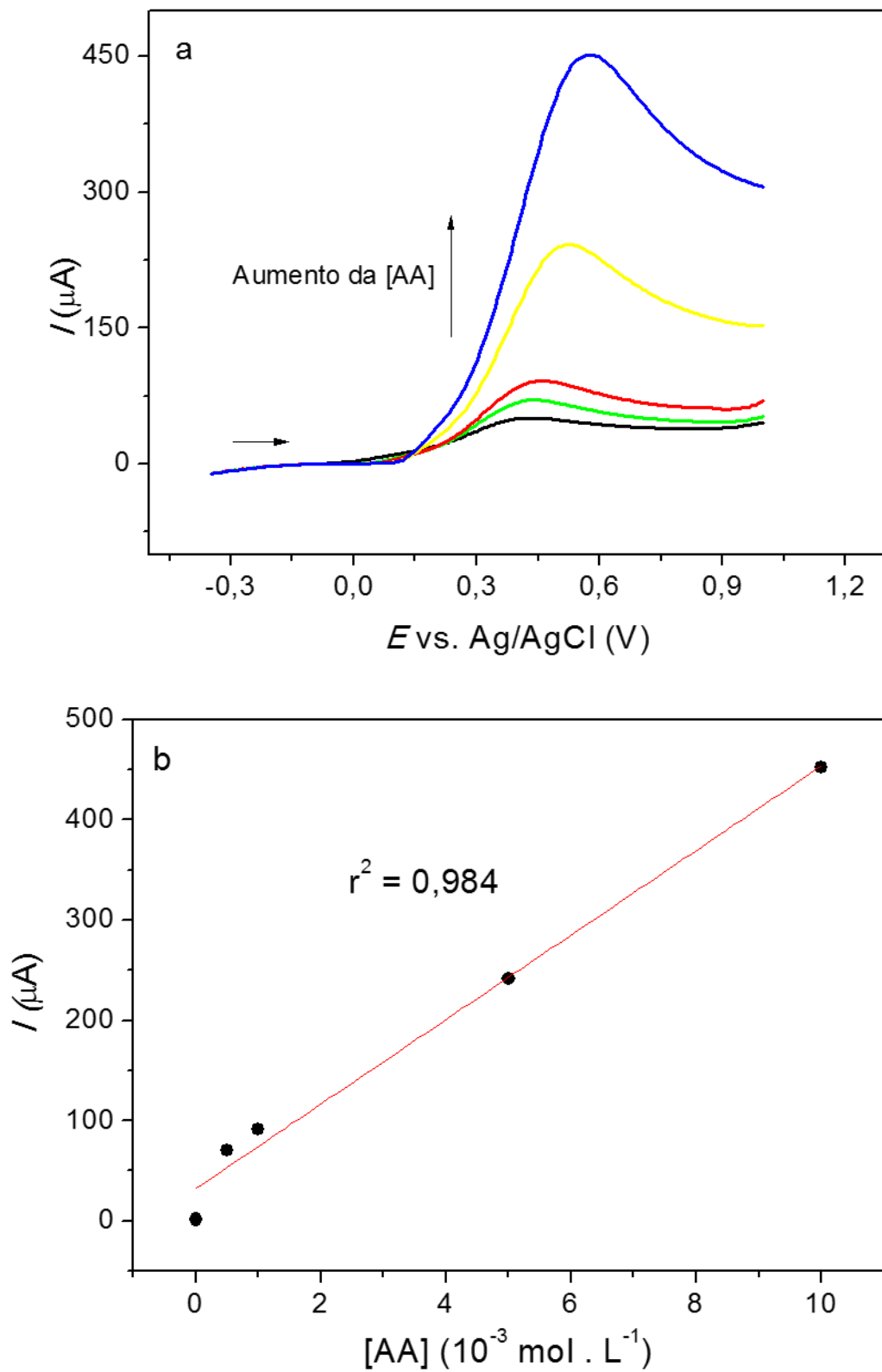


Figura 53. a) VPD da adição de padrão do filme de AA em Vitawin 1 com $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, usando ITO/(PDAC/RGO)₅. Eletrolito: KCl $1,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. b) Grafico da corrente do pico de oxidação em função da concentração de AA.

Da mesma forma como foi determinada a concentração de AA para o Bio C, foi para o Vitawin 1, com a equação da reta de regressão linear dada por $I = 3,24 \times 10^{-5} + 0,04[AA]$, resultando numa concentração de AA de aproximadamente 68 mg/0,5 mL, valor mais que o dobro do esperado de 25 mg/0,5 mL, como está indicado na bula do medicamento.

Como pode ser visto nas duas medidas realizadas em amostras reais, os picos do AA se deslocaram para potenciais mais positivos. No AA, o valor do pico de oxidação na maior concentração era de + 0,25 V; no Bio C passou para + 0,42 V e no Vitawin 1 para + 0,57 V. Em adição a isso, para as amostras reais, quando comparadas à mesma concentração de AA, a corrente foi em torno de 10 vezes maior. Uma possível explicação para isso se deve à interferência de outras substâncias, o que aumenta a corrente e dificulta a interação do analito de interesse com o eletrodo.

Um observação que se faz também é o fato das medidas não serem feitas em replicatas, pois o interesse maior do estudo era a viabilidade do eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ em poder realizar a quantificação do AA mesmo em amostras reais. Sendo assim, quando analisados os valores obtidos e comparados com os indicados pelos fabricantes, os valores devem ser desconsiderados por não seguirem fielmente os métodos de analíticos convenientes. Por isso não serão discutidos aqui a legislação cabível e nem os erros experimentais envolvidos nas medidas, o que também não isenta o fabricante de um possível erro na concentração de AA em seus produtos.⁹⁴

CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES

A síntese do GO realizada obteve um material com predominância do grupo epóxi, além de um elevado nível de desprotonação dos grupos oxigenados, principalmente os da carboxila. Isso permitiu que o filme fosse facilmente depositado por automontagem em conjunto com o PDAC. Os métodos de redução do GO foram efetivos, tanto com hidrazina quanto com método eletroquímico. Estudado o processo de redução por VC em KCl, observou-se um processo de redução lento, pois em baixa velocidade, o GO era convertido a RGO com poucos voltamogramas cíclicos, e quando o sentido do voltamograma passa a ser o catódico, a redução é efetiva já no primeiro ciclo. Os dados de espectroscopia Raman mostraram a efetividade das reduções juntamente com as medidas de XPS. Além de confirmar a eficácia dos métodos de redução usados, as medidas de XPS evidenciam a retirada dos grupos éter e álcool no plano basal. Dentre as alternativas para redução do GO, os métodos eletroquímicos surgem como formas mais limpas e eficientes para a rota de obtenção de RGO, enquanto a redução por hidrazina, tem como principal vantagem a maior possibilidade de aplicação dos filmes de RGO em sensores. Quando estudado o comportamento eletroquímico eletrodo de ITO sem filme e modificado na presença dos pares redox, nota-se uma maior afinidade dos pares redox, que contêm unidades aromáticas com o eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ e uma menor com o par redox FC, devido à falta de sítios de ancoragem presentes no eletrodo modificado. Isso deixa clara a importância da química de superfície para o RGO. Mesmo assim, todas as reações de transferência de elétrons obedecem a um processo difusional e a reação vai sendo dificultada com o aumento da velocidade de varredura e mais discretamente com o aumento da concentração do par redox. O circuito de Randles aplicado só confirma os dados obtidos pelos voltamogramas cíclicos. Como sensor, o eletrodo ITO/(PDAC/RGO)₅ se mostrou pouco sensível e seletivo para DA e AA. Mesmo assim, além de ser capaz de detectar AA em amostras reais, tem como maiores vantagens a durabilidade e a repetitividade do sinal.

CAPÍTULO 6. PERSPECTIVAS E DIFICULDADES ENCONTRADAS

O mecanismo da redução GO ainda não pode ser proposto, necessitando de mais tempo e do uso de técnicas mais sofisticadas para tal, além de poder serem estudadas mais a fundo técnicas mais limpas e eficientes de redução do GO, principalmente as técnicas eletroquímicas. Outro aspecto a ser estudado é o uso do filme ITO(PDAC/RGO)₅ modificado, aperfeiçoando-se ainda mais suas propriedades diversos sensores.

Dentre as dificuldades encontradas, podem ser citadas principalmente duas: a primeira foi a mudança do foco do projeto inicial intitulado “Nanocompósitos Poliméricos como Sensores para Monitoração de Agrotóxicos” que tinha como objetivo geral a detecção e monitoramento de piretróides, organoclorados, organofosforados, carbamatos, entre outros por meio de um sistema multissensorial do tipo língua eletrônica baseada em sensores nanoestruturados e interrogação eletroquímica, pois nenhum dos possíveis sensores foram capazes de detectar os analitos testados; a segunda, quando o sensor desenvolvido conseguiu detectar o outro analito escolhido: cisteína, este não foi capaz de reproduzir os resultados obtidos e assim não pode dar continuidade a outros estudos relacionados.

CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFIAS

- [1] Novoselov, K. S.; Jiang, D.; Schedin, F.; Booth, T. J.; Khotkevich, V. V.; Morozov, S. V.; Geim, A. K.; *PNAS* **2005**, *102*, 10451.
- [2] Liu, Z., Wang, Y.; Zhang, X.; Xu, Y.; Chen, Y.; Tian, J.; *Applied Physics Letters* **2009**, *94*, 021902.
- [3] Callister Jr., W. D.; *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma introdução*, 5ª ed., LTC: Rio de Janeiro, 2002.
- [5] Paterno, L. G.; *Aula da disciplina de Tópicos de Físico-Química I*. Brasília, Brasil, 2013.
- [5] Novoselov, K. S.; Geim, A. K.; Morozov, S. V.; Jiang, D.; Zhang, Y.; Dubonos, S. V.; *Science* **2004**, *306*, 666.
- [6] Geim, A.; Novoselov, K.; *Lecture on Popular Nobel Prize in Physics*, **2010**.
- [7] Dresselhaus, M. S.; Dresselhaus, G.; *Adv. Phys.* **2002**, *51*, 1.
- [8] Geim, A.; Novoselov, K.; *Lecture on Advanced Nobel Prize in Physics*, **2010**.
- [9] Singh, V.; Joung, D.; Zhai, L.; Das, S.; Khondaker, S. I.; Seal, S.; *Progress in Materials Science* **2011**, *56*, 1178.
- [10] Gilje, S.; Han, S.; Wang, M.; Wang, K. L.; Kaner, R. B.; *Nano. Lett.* **2007**, *7*, 3394.
- [11] Somani, P. R.; Somani, S. P.; Umeno, M.; *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *430*, 56.
- [12] Wei, D.; Liu, Y.; Wang, Y.; Zhang, H.; Huang, L.; Yu, G.; *Nano. Lett.* **2009**, *9*, 1752.
- [13] Malesevic, A.; Vitchev, R.; Schouteden, K.; Volodin, A.; Zhang, L.; Tendeloo, G. V., Vanhulsel, A.; Haesendonck, C. V.; *Nanotechnology* 2008, *19*, 305604.
- [14] Penuelas, J.; Ouerghi, A.; Lucot, D.; David, C.; Gierak, J.; Estrade-Szwarcokopt, H.; Andreazza-Vignolle, C.; *Phys. Rev. B* 2009, *79*, 033408.
- [15] Peng, X.; Ahuja, R.; *Nano. Lett.* **2008**, *8*, 4464.
- [16] Jaber-Ansari, L.; Hersam, M. C.; *Mrs Bulletin* **2012**, *37*, 1167.

- [17] Lotya, M.; Hernandez, Y.; King, P. J.; Smith, R. J.; Nicolosi, V.; Karlsson, L. S.; Blighe, F. M.; De, S.; Wang, Z.; McGovern, I. T.; Duesberg, G. S.; Coleman, J. N.; *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3611.
- [18] Green, A. A.; Hersam, M. C.; *Nano. Lett.* **2009**, *9*, 4031.
- [19] Seo, J. W. T.; Green, A. A.; Antaris, A. L.; Hersam, M. C.; *J. Phys. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 1004.
- [20] Hernandez, Y.; Nicolosi, V.; Lotya, M.; Blighe, F. M.; Sun, Z.; De, S.; McGovern, I. T.; Holland, B.; Byrne, M.; Gun'ko, Y. K.; Boland, J. J.; Niraj, P.; Duesberg, G. S.; Krishnamurthy, S.; Goodhue, R.; Hutchison, J.; Scardaci, V.; Ferrari, A.; Coleman, J. N.; *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 563.
- [21] Paredes, J. I.; Villar-Rodil, S.; Martinez-Alonso, A.; Tascon, J. M. D.; *Langmuir* **2008**, *24*, 10560.
- [22] Eng, A. Y. S.; Ambrosi, A.; Chua, C. K.; Šaněk, F.; Sofer, Z.; Pumera, M.; *Chem. Eur. J.* **2013**, *00*, 0.
- [23] Stankovich, S.; Dikin, D. A.; Piner, R. D.; Kohlhaas, K. A.; Kleinhammes, A.; Jia, Y.; Wu, Y.; Nguyen, S. T.; Ruoff, R.S.; *Carbon* **2007**, *45*, 1558.
- [24] Meyer, J. C.; Kisielowski, C.; Erni, R.; Rossell, M. D.; Crommie, M. F.; Zettl, A.; *Nano. Lett.* **2008**, *8*, 3582.
- [25] Gomez-Navarro, C.; Weitz, R. T.; Bittner, A. M.; Scolari, M.; Mews, A.; Burghard, M.; Kern, K.; *Nano Lett* **2007**, *7*, 3499.
- [26] Wang, X.; Zhi, L. J.; Mullen, K.; *Nano. Lett.* **2008**, *8*, 323.
- [27] Becerril, H. A.; Man, J.; Liu, Z.; Stoltenberg, R. M.; Bao, Z.; Chen, Y.; *ACS Nano* **2008**, *2*, 463.
- [28] Mattevi, C.; Eda, G.; Agnoli, S.; Miller, S.; Mkhoyan, K. A.; Celik, O.; Mastrogiovanni, D.; Granozzi, G.; Garfunkel, E.; Chhowalla, M.; *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 2577.
- [29] Li, X.; Zhang, G.; Bai, X.; Sun, X.; Wang, X.; Wang, E.; Dai, H.; *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 538.
- [30] Paterno, L. G.; Mattoso, L. H. C.; Oliveira Jr., O. N.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 228.

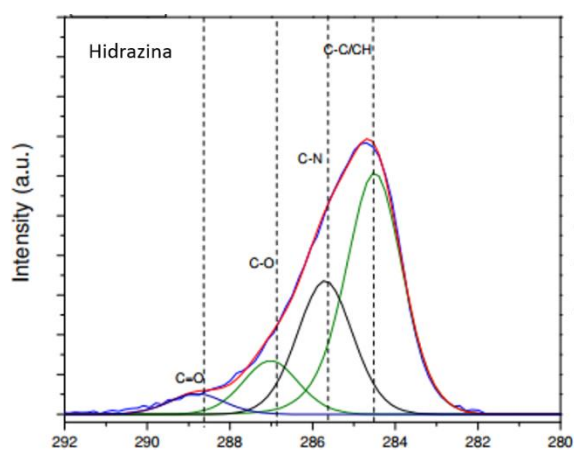
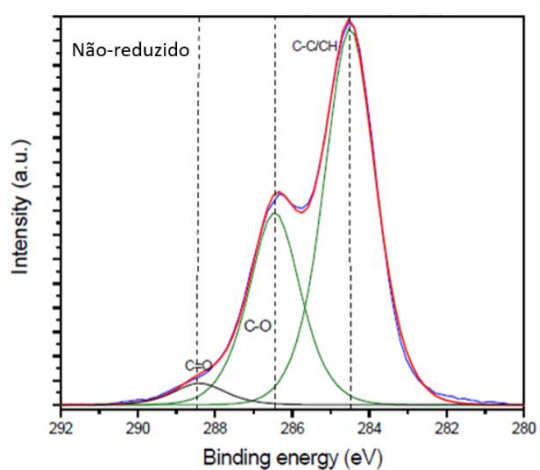
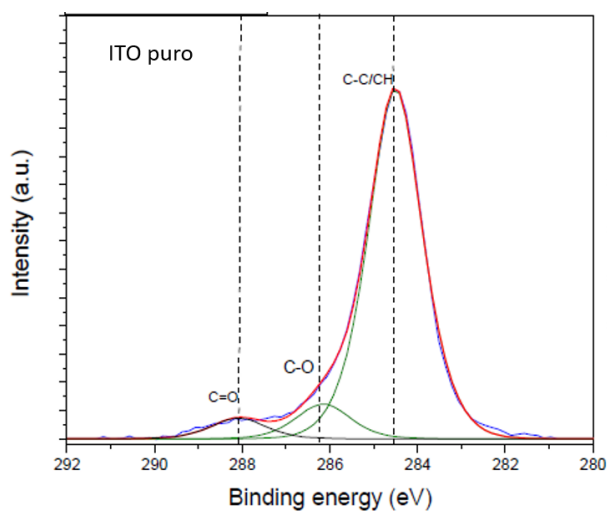
- [31] Whitesides, G. M.; Grzybowski, B.; *Science* **2002**, 295, 2418.
- [32] Ulman, A., *An introduction to ultrathin films: from Langmuir-Blodgett to self-assembly*, 1^a ed., Boston: Academic Press, 1991.
- [33] Toma, H. E. *O mundo nanométrico: a dimensão do novo século*, 1^a ed., São Paulo: Oficina de Textos, 2004.
- [34] Decher, G.; Hong, J. D.; *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1991**, 95, 1430.
- [35] Paterno, L. G.; Soler, M. A. G.; *JOM* **2013**, 65, 709.
- [36] Liu, C.; Yu, Z.; Neff, D.; Zhamu, A.; Jang, B. Z.; *Nano. Lett.* **2010**, 10, 4863.
- [37] Paredes, J. I.; Villar-Rodil, S.; Solis-Fernandez, P.; Martinez-Alonso, A.; Tascon, J. M. D.; *Langmuir* **2009**, 25, 5957.
- [38] Yang, M.; Ying Hou, Y.; Nicholas A. Kotov, N. A.; *Nano Today* **2012**, 7, 430.
- [39] Hu, M.; Mi, B.; *J. Membrane Sci.* **2014**, 469, 80.
- [40] Gross, M. A.; Sales, M. J. A.; Soler, M. A. G.; Pereira-da-Silva, M. A.; Mauro F. P. da Silva, M. F. P.; Paterno, L. G.; *RSC Adv.* **2014**, 4, 17917.
- [41] Li, S.; Zhu, F.; Meng, F.; Li, H.; Wang, L.; Zhao, J.; Yue, Q.; Liu, J.; Jia, J.; *J. Electroanal. Chem.* **2013**, 703, 135.
- [42] Gao, Z.; Yang, W.; Wang, J.; Yan, H.; Yao, Y.; Ma, J.; Wang, B.; Zhang, M.; Liu, L.; *Electrochim. Acta* **2013**, 91, 185.
- [43] Chang, H.; Wang, X.; Shiu, K.; Zhu, Y.; Wang, J.; Li, Q.; Chen, B.; Jiang, H.; *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, 41, 789.
- [44] Ambrosi, A.; Bonanni, A.; Z. Sofer, Z.; Cross, J. S.; Pumera, M.; *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 10763.
- [45] Santos, A. C.; Sales, M. J. A.; Paterno, L. G.; *Phys. Status Solidi A* **2017**, 215, 1.
- [46] Tang, L.; Wang, Y.; Li, Y.; Feng, H.; Lu, J.; Li, J.; *Adv. Funct. Mater.* **2009**, 19, 2782.
- [47] Brett, C. M. A.; Brett, A. M. O. *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*, Oxford University Press, New York, **1994**, pp. 427.
- [48] Laviron, E.; *J. Electroanal. Chem.* **1979**, 101, 19.

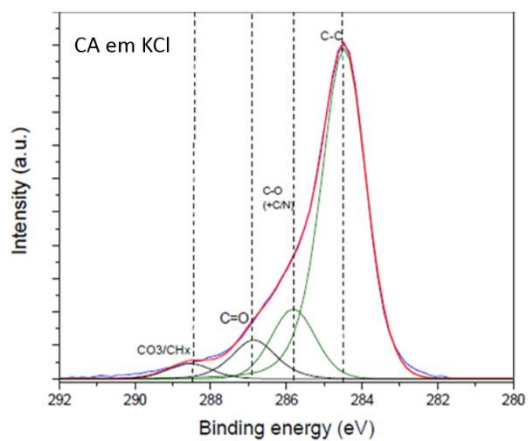
- [49] Klingler, R. J.; Kochi, J. K.; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4790.
- [50] Klingler, R. J.; Kochi, J. K.; *The Journal of Physical Chemistry* **1981**, *85*, 1731.
- [51] Nicholson, R. S.; *Anal. Chem.* **1965**, *37*, 1351.
- [52] Wang, J.; *Nucleic Acids Research* **2000**, *28*, 3011.
- [53] Diamond, D.; *Principles of Chemical and Biological Sensors*, Toronto: John Wiley & Sons, 1998.
- [54] Liu, S. Q.; Zheng, Z. Z.; Li, X. Y.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2013**, *405*, 63.
- [55] Zhang, D.; Tong, J.; Xia, B.; Xue, Q.; *Sensors and Actuators B* **2014**, *203*, 263.
- [56] Ghosh, R.; Singh, A.; Santra, S.; Ray, S. K.; Chandra, A.; Guha, P. K.; *Sensors and Actuators B* **2014**, *205*, 67.
- [57] Sun, W.; Wang, Y.; Zhang, Y.; Ju, X.; Li, G.; Sun, Z.; *Analytica Chimica Acta* **2012**, *751*, 59.
- [58] Liu, X.; Shangguan, E.; Li, J.; Ning, S.; Guo, L.; Li, Q.; *Materials Science and Engineering C* **2017**, *70*, 628.
- [59] Bear, M. F.; Connors, B. W.; Paradiso, M. A.; *Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso*. 3ª edição. Rio de Janeiro: Artmed, 2008.
- [60] Brajter-Toth, A.; Chambers, J. Q.; *Electroanalytical Methods for Biological Materials*. New York, Marcel Dekker, 2002.
- [61] Li, X.; Pan, J.; Yang, F.; Feng, J.; Mo, J.; Chen, Z.; *Microchim. Acta* **2011**, *174*, 123.
- [62] Luo, J.; Jiang, S.; Zhang, H.; Jiang, J.; Liu, X.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, *709*, 47.
- [63] Liu, S.; Shi, F.; Zhao, X.; Chen, L.; Su, X.; *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *47*, 379.
- [64] Moghadam, M.R.; Dadfarnia, S.; Shabani, A.M.H.; Shahbazikhah, P.; *Anal. Biochem.* **2011**, *410*, 289.
- [65] Dincer, C.; Ktaich, R.; Laubender, E.; Hees, J. J.; Kieninger, J.; Nebel, C. E.; Heinze, J.; Urban, G. A.; *Electrochim. Acta* **2015**, *185*, 101.
- [66] Sajid, M.; Nazal, M. K.; Mansha, M.; Alsharaa, A.; Jillani, S. M. S.; Basheer, C.; *TrAC Trends Anal. Chem.* **2016**, *76*, 15.
- [67] Zou, H. L.; Li, B. L.; Luo, H. Q.; Li N. B.; *Sens. Actuators B* **2015**, *207*, 535.

- [68] Liu, X. F.; Zhang, L.; Wei, S. P.; Chen, S. H.; Ou, X.; Lu, Q. Y.; *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *57*, 232.
- [69] Wang, S. Y.; Zhang, W.; Zhong, X.; Chai, Y. Q.; Yuan, R.; *Anal. Methods* **2015**, *7*, 1471.
- [70] Kaur, B.; Satpati, B.; Srivastava, R.; *N. J. Chem.* **2015**, *39*, 1115.
- [71] Wiley & Sons, J.; Nelson, D. L.; Cox, M. M.; *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4ª edição, W. H. Freeman, 2005.
- [72] Tadayon, F.; Vahed, S.; Bagheri, H.; *Materials Science and Engineering C* **2016**, *68*, 805.
- [73] Silva, R. P.; Lima, A.W.O.; Serrano, S. H. P.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, *612*, 89.
- [74] Arrigoni, O.; Tullio, M. C.; *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* **2002**, *1569*, 1.
- [75] Hummers, W. S.; Offeman, R. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 1339.
- [76] Kern, W.; Poutinen, D. A.; *RCA Rev.* **1970**, *31*, 187.
- [77] Li, D.; Muller, M. B.; Gilje, S.; Kaner, R. B.; Wallace, G. G.; *Nat. Nanotechnol.* **2008**, *3*, 101.
- [78] Krishnamoorthy, K.; Veerapandian, M.; Yun, K.; Kim, S.-J.; *Carbon* **2013**, *53*, 38.
- [79] Saito, R.; Hofmann, M.; Dresselhaus, G.; Jorio, A.; Dresselhaus, M. S.; *Adv. Phys.* **2011**, *60*, 413.
- [80] Dresselhaus, M. S.; Jorio, A.; Hofmann, M.; Dresselhaus, G.; Saito, R.; *Nano Lett.* **2010**, *10*, 751.
- [81] <http://pt.wikipedia.org/wiki/Hidrazina>, acessada em Outubro de 2014.
- [82] Kauppila, J.; Kunnas, P.; Damlin, P.; Viinikanoja, A.; Kvarnström, C.; *Electrochimica Acta*, **2013**, *89*, 84.
- [83] Zhou, M.; Wang, Y.; Zhai, Y.; Zhai, J.; Ren, W.; Wang, F.; Dong, S.; *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 6116.
- [84] Peng, X. -P.; Liu, X. -X.; Diamond, D.; Lau, K. T.; *Carbon* **2011**, *49*, 3488.
- [85] Lindfors, T.; Österholma, A.; Kauppilab, J.; Pesonen, M.; *Electrochimica Acta* **2013**, *110*, 428.

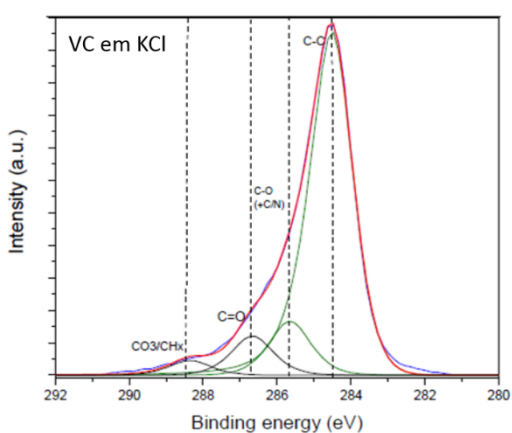
- [86] http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=8567782014&pIdAnexo=2237334 acesso em Novembro de 2016.
- [87] Runnels, P. L.; Joseph, J. D.; Logman, M. J.; Wightman, R. M.; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 2782.
- [88] Granger, M. C.; Swain, G. M.; *J. Electrochem. Soc.* **1999**, *146*, 4551.
- [89] Frontana, C.; González, I.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 299.
- [90] Avendano, S. C.; Angeles, G. A.; Silva, M. T. R.; Pina, G. R.; Romo, M. R.; Pardave, M. P.; *J. Electroanal. Chem.* **2007**, *609*, 17.
- [91] Budziak, C. R.; Maia, C. M. B. F.; Mangrich, A. S.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 399.
- [92] Zanello, P.; *Inorganic Electrochemistry: Theory, Practice and Applications*, The Royal Society of Chemistry: Italy, 2003.
- [93] Yissar, V. P.; Katz, E.; Lioubashevski, O.; Willner, I.; *Langmuir* **2001**, *17*, 1110.
- [94] INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia. *Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos*. DOQ-CGCRE-008 – Revisão 04, Rio de Janeiro, 2011.
- [95] Yang, Y. J.; *Sensors and Actuators B* **2015**, *221*, 750.
- [96] http://ultrafarma.com.br/produto/detalhes-22687/vitamina_c_bio_c_200mgml_gotas_com_20_ml.html acesso em Maio de 2017.
- [97] <http://japan.farmadelivery.com.br/vitawin-1-suplemento-de-vitaminas> acesso em Maio de 2017.

ANEXO A - Espectros de XPS do ITO puro, dos filmes de ITO(PDAC/GO)₅ reduzido por diferentes métodos e comparados ao filme não-reduzido.

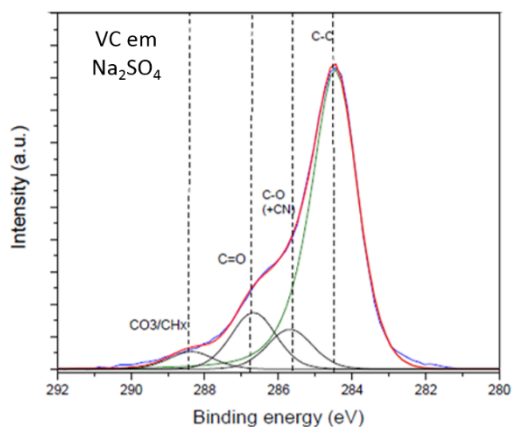




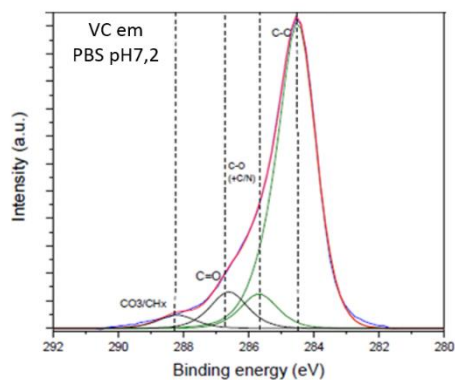
	C-C/CH	C-O (+C-N)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.8	286.9	288.5
FHWM	1.4	1.4	1.4	1.4
At. %	75.2	15.7	9.1	3.4
Ratio C-O/C-C	0.21			



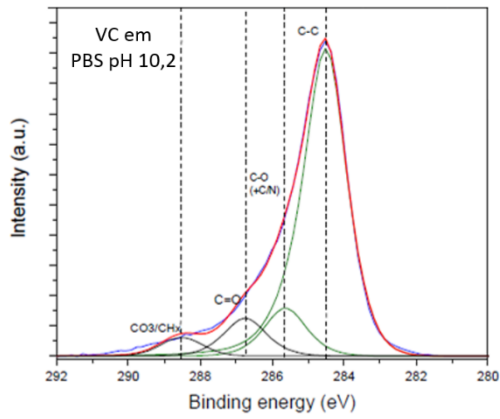
	C-C/CH	C-O (+C-N)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.6	286.7	288.4
FHWM	1.3	1.3	1.3	1.3
At. %	75.8	12.1	8.8	3.2
Ratio C-O/C-C	0.16			



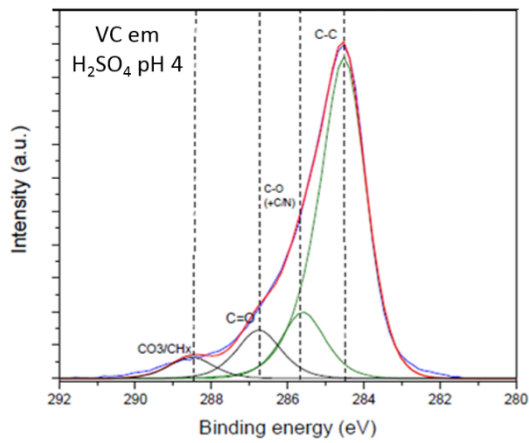
	C-C/CH	C-O(+CN)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.7	286.7	288.4
FHWM	1.4	1.4	1.4	1.4
At. %	73.0	9.5	13.5	4.1
Ratio C-O/C-C	0.13			



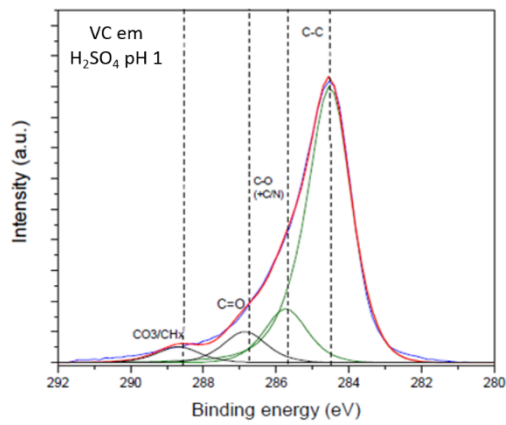
	C-C/CH	C-O (+C-N)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.7	286.6	288.2
FHWM	1.3	1.3	1.3	1.3
At. %	78.1	9.0	9.5	3.5
Ratio C-O/C-C	0.11			



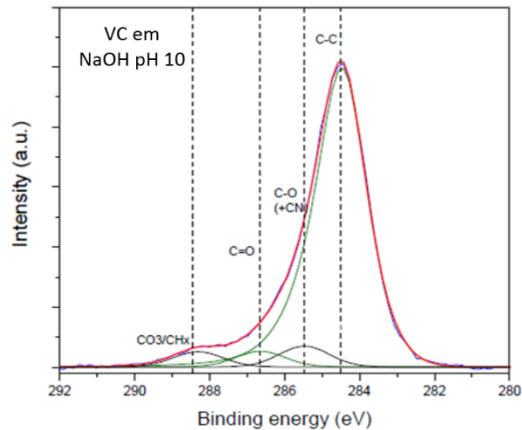
	C-C/CH	C-O(+C-N)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.6	286.8	288.5
FHWM	1.4	1.4	1.4	1.4
At. %	74.7	11.7	9.3	4.3
Ratio C-O/C-C	0.16			



	C-C/CH	C-O (+C-N)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.6	286.8	288.5
FHWM	1.4	1.4	1.4	1.4
At. %	69.9	14.7	10.8	4.6
Ratio C-O/C-C	0.21			



	C-C/CH	C-O (+C-N)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.7	286.9	288.7
FHWM	1.4	1.4	1.4	1.4
At. %	73.2	14.3	8.3	4.2
Ratio C-O/C-C	0.20			



	C-C/CH	C-O(+CN)	C=O	CO3/CHx
BE	284.5	285.5	286.6	288.3
FHWM	1.6	1.6	1.6	1.6
At. %	85.8	5.7	4.3	4.2
Ratio C-O/C-C	0.07			

ANEXO B - Artigo publicado corresponde à parte da Tese.

Electrochemical behaviour of some redox couples at layer-by-layer assembled poly(diallyl dimethylammonium)/reduced graphene oxide electrodes

Amanda Costa Santos, Maria José Araujo Sales, and Leonardo Giordano Paterno*

Laboratório de Pesquisa em Polímeros e Nanomateriais, Instituto de Química, Universidade de Brasília, 70910-900 Brasília-DF, Brazil

Received 20 February 2017, revised 4 May 2017, accepted 22 May 2017

Published online 09 June 2017

Keywords electrodes, graphene oxide, heterogeneous electron transfer, layer-by-layer films, reduced graphene oxide

* Corresponding author: e-mail lpaterno@unb.br, Phone: +55 61 3107-3869, Fax: +55 61 3107-3900

The electrochemical behaviour of three redox couples, namely ferri/ferrocyanide, dopamine and 1,4-naphtoquinone is investigated at the surface of ITO substrates modified with layer-by-layer assembled poly(diallyl dimethylammonium) hydrochloride (PDAC) and reduced graphene oxide (RGO) films. The study with ITO modified with PDAC/RGO films is performed by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. Regardless of the type of electrode (bare ITO and PDAC/RGO-modified), the electrochemical behaviour of all three redox couples is diffusion controlled. Despite that, modification of the ITO substrate with the PDAC/RGO film decreases the electron transfer rate constant and makes more irreversible the ferri/

ferrocyanide redox interconversion. In fact, it evidences that ferri/ferrocyanide is not a classical outer-sphere redox probe. On the other hand, the PDAC/RGO film has an inverse and positive effect on dopamine and 1,4-naphtoquinone redox reactions. Further, impedance spectroscopy data reveal that the PDAC/RGO film reduces by about 9 orders of magnitude the charge transfer resistance with these organic redox couples. As a main conclusion of the study, it is found that the right matching between RGO energy levels and the reduction potential of the redox species is not enough to provide electrocatalytic activity. The surface chemistry of RGO-based electrode plays an equivalent role for the electrodes' response.

© 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

1 Introduction Nowadays, there is intensive research on semiconducting nanocarbons such as carbon nanotubes, graphene and its derivatives, graphene oxide (GO) and reduced graphene oxide (RGO), for use in several electrochemical devices [1–5]. They have boosted the construction of highly efficient chemical sensors, especially because they are very stable, show an enlarged surface area, can impair electrocatalytic activity to unmodified electrodes, exhibit a wide electrochemical window, and are relatively cheap. Additionally, the molecular structure of these nanocarbons can be readily engineered by surface functionalisation and thus, pre-designed for detection of chemical analytes of high interest [1–5].

Unlike bulk metals, these nanocarbons exhibit a low density of states, DOS ($<0.005 \text{ atom}^{-1} \cdot \text{eV}^{-1}$) and are less

conducting [1, 2]. As estimated from capacitive photocurrent spectroscopy on GO and RGO films, the respective DOS consists of π/π^* states plus a distribution of mid-gap states centred at three different energies near the Dirac point [6, 7]. In addition, the variety of synthetic routes carried out for GO/RGO preparation leads in many instances to nanocarbons of variable contents of defects and unknown molecular structures [8]. These features restrict the variety of analytes since the redox activity does not occur in levels within the gap region in the semiconducting electrode.

Herein, we study the electrochemical behaviour of three redox couples, namely $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ or ferri/ferrocyanide (FC), dopamine hydrochloride (DA) and 1,4-naphtoquinone (NQ) using working electrodes made by indium-doped tin oxide (ITO) substrates modified with RGO. Its main

contribution is to show that the potential use of RGO-modified electrodes when initially assessed with common redox couples cannot give their actual strength. It is argued that the perfect matching of the reduction potential of redox couples with the energy levels on RGO is mandatory for effective electron transfer. Besides that, the anionic behaviour of RGO due to its alkoxy and carboxylate groups must also be taken into account. For example, the literature has shown that graphene and RGO improve the performance of glassy carbon electrodes towards ferri \leftrightarrow ferrocyanide redox conversion [9, 10]. However, in our ITO/RGO electrode, the RGO film renders such an interconversion more irreversible than at the bare ITO. Additionally, our experiments reveal that the FC couple should not be described as an authentic outer-sphere redox system, in accordance with other works published elsewhere [11, 12]. On the other hand, the same ITO/RGO electrode is very active for DA and NQ.

The RGO films are deposited on top of ITO electrodes via the electrostatic layer-by-layer (LbL) assembly with cationic poly(diallyl dimethylammonium) chloride (PDAC). PDAC is a very inert polymer, even to hydrazine treatment, and that is why is chosen as important element to preserve film integrity. As a non-conducting and non-electrochemically active material, it slightly reduces the redox currents for a probe when compared to films made exclusively of GO/RGO. The deposition of PDAC/RGO films is monitored *ex situ* by UV-vis absorption spectroscopy. The electrochemical behaviour of the redox couples is investigated by cyclic voltammetry, from which we determine heterogeneous electron-transfer rate constants, and by impedance spectroscopy, with which we provide a description of the interfacial electrochemistry of these systems.

2 Methods and materials

2.1 Materials PDAC, Mw 450,000 g mol⁻¹ (20% aqueous solution), graphite (0.45 μ m flakes), FC, DA and NQ were all purchased from Sigma-Aldrich, Brazil and used as received. Ammonium hydroxide 28%, hydrochloric acid 37%, sulfuric acid 98%, hydrogen peroxide 30%, potassium chloride, potassium permanganate, sodium nitrate and hydrazine hydrate 25% were all purchased from Vetec-Sigma Brazil and used without additional purification. All water used for solution/suspension preparations, substrates cleaning, film depositions and electrochemical experiments was of ultra pure type (18 Mohm.cm), provided by a Milli-Q MilliPore purification system. For monitoring the adsorption of GO and electrochemical experiments, films were deposited onto quartz circular slides (diameter of 1 cm) and indium-doped tin oxide substrates (ITO) (1 \times 10 \times 25 mm³; sheet resistance: 15 ohm sq⁻¹), respectively.

2.2 GO preparation and film depositions GO was obtained as an aqueous anionic suspension (0.2 g L⁻¹, pH = 10, zeta potential = -55 mV) after ultrasonic stirring

(Branson Sonifier 450. Pulsed mode, 1s duty cycle, 250 W power amplitude) of an ammoniacal suspension of graphitic oxide. Graphitic oxide was prepared via the Hummers and Offeman method as described elsewhere [13].

The quartz slide was previously cleaned in piranha solution (H₂SO₄:H₂O₂, 3:1, v/v) followed by RCA solution (H₂O:H₂O₂:NH₄OH, 5:1:1, v/v) and then extensively rinsed with ultra-pure water. The ITO substrate was manually rubbed with neutral detergent, followed by ultrasonic bath and rinsing with copious amounts of ultra-pure water.

Film depositions were performed by hand at room temperature (\sim 25 $^{\circ}$ C) via the layer-by-layer assembly, by simply dipping the substrates (quartz or ITO) into the deposition solutions/suspensions in the following sequence: (i) immersion into the cationic PDAC solution (1 g L⁻¹, pH = 8) for 3 min; (ii) rinsing in ultra-pure water for 20 s; (iii) drying with compressed air; (iv) immersion into the anionic GO suspension (0.2 g L⁻¹, pH = 10) for 3 min; (v) rinsing in ultra-pure water for 20 s; and (vi) drying with compressed air. The above sequence renders one PDAC/GO bilayer film. This sequence was repeated until the desired number of bilayers. Film samples are named (PDAC/GO)_n or (PDAC/RGO)_n, in which 'n' stands for the number of bilayers.

The chemical reduction of PDAC/GO films was conducted by hydrazine treatment. The chosen film sample was immersed into a small beaker containing 20 mL of hydrazine solution (12.5%) and heated to 50 $^{\circ}$ C for 20 min. The film was then removed from the hydrazine solution, rinsed with plenty of ultra-pure water, and dried with compressed air flow. The film sample becomes dark after this treatment, which is a visual confirmation of the conversion of GO to RGO.

2.3 Film growth monitoring and electrochemical characterisations The amount of GO after deposition of every PDAC/GO bilayer onto the quartz slide was measured *ex situ* by UV-vis spectroscopy (Varian Cary 5000). The conversion of GO to RGO after hydrazine treatment was also confirmed by UV-vis spectroscopy.

The electrochemical experiments (cyclic voltammetry and impedance spectroscopy) were conducted with a potentiostat/galvanostat instrument (Metrohm Autolab PGSTAT 204) in a three electrode cell (50 mL) provided with an Ag/AgCl reference electrode, Pt wire as the counter electrode and the ITO slide (0.5 cm² active area) as the working electrode. All experiments used a KCl 1.0 mol.L⁻¹ solution as the support electrolyte and were performed at 25 $^{\circ}$ C, after the cell was purged with N₂ for 20 min. Cyclic voltammograms were registered at different potential scan rates: 50–500 mV s⁻¹, for a fixed concentration of the redox couple (1 mmol L⁻¹). A second cyclic voltammetry experiment was carried out with different concentrations of the redox couple (0.1–1 mmol L⁻¹) at a fixed potential scan rate of 100 mV s⁻¹. The impedance spectroscopy was carried out in the range between 100 MHz and 0.1 Hz with the FRA 2

module in potentiostatic mode (50 mV amplitude) while setting the cell potential at the respective oxidation potential of the redox couple, or else: +0.3 V for FC, +0.6 V for DA, and -0.3 V for NQ. The experimental impedance data was further fitted with the NOVA 1.11 equivalent circuit editor. The errors in the estimated equivalent circuit parameters were smaller than 0.2%.

3 Results and discussion

3.1 Film deposition Figure 1 provides UV-vis absorption spectra of PDAC/GO films. In Fig. 1a, we present the UV-vis spectra registered after successive depositions of PDAC/GO bilayers onto the quartz substrate. The spectra are very similar. They feature a prominent peak at ~ 230 nm, which is ascribed to the $\pi \rightarrow \pi^*$ transition from remaining graphitic domains, and a subtle absorption located at 300 nm, which stands for the $n \rightarrow \pi^*$ transition from oxygenated groups due to the graphite oxidation [14]. The graph inserted in Fig. 1a shows that absorbances (in

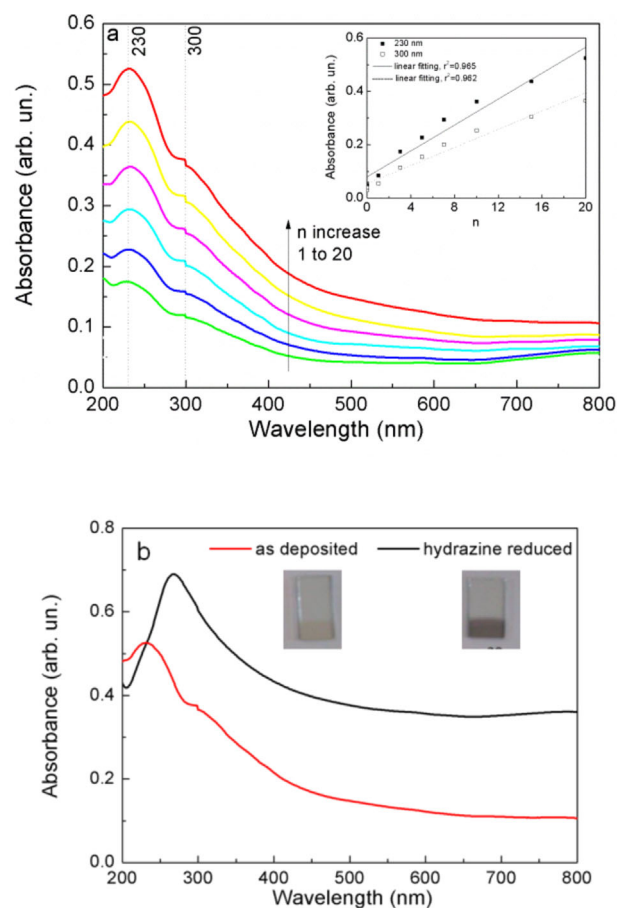


Figure 1 UV-vis spectra of PDAC/GO films. (a) Monitoring of film deposition with the insert graph showing the absorbance evolution with the number n of deposited PDAC/GO bilayers. (b) Comparison of UV-vis spectra of films with 20 PDAC/GO bilayers, as-deposited and after undergoing hydrazine treatment. The inset shows digital photos of films before and after the hydrazine treatment.

arbitrary units) registered at 230 and 300 nm scale linearly with the number of PDAC/GO bilayers. This observation reflects the stepwise growth of the film in which the amount of GO is the same in each deposited bilayer [15]. Therefore, the film's architecture can be designed by simply varying the number of PDAC/GO bilayers. Figure 1b gives a comparison between UV-vis spectra of the (PDAC/GO)₂₀ film, as-deposited and after undergoing chemical reduction with hydrazine. After hydrazine treatment, the spectrum exhibits a single and strong absorption peak centred at 268 nm. This peak is also ascribed to the $\pi \rightarrow \pi^*$ transition, whose wavelength is now red shifted due to the partial recovery of conjugated, graphitic domains as due to conversion of GO to RGO. This effect is also the cause for the upward shifting in the spectrum background. The inset shows digital photos of this film before and after the hydrazine treatment. After reduction, the film becomes darker as an effect of the partial recovery of sp^2 domains.

3.2 Cyclic voltammetry The electrochemical behaviour of the redox couples was investigated with working electrodes made of bare ITO substrate and ITO/(PDAC/RGO)₅ modified electrodes. This number of PDAC/RGO bilayers is sufficient to form a uniform coating onto the substrate, as reported previously [15]. More bilayers would imply a more capacitive behaviour, which could compromise the subsequent analysis. The choice for these redox couples is justified by their dependence/independence on the electrode's surface chemistry. For example, FC is usually referred to as an outer-sphere redox system that is insensitive to electrode's surface chemistry, even though some reports do not consider it this way [11, 12]. On the other hand, the electrochemical redox reactions of DA and NQ will depend on the availability of anchoring sites on the electrodes' surface.

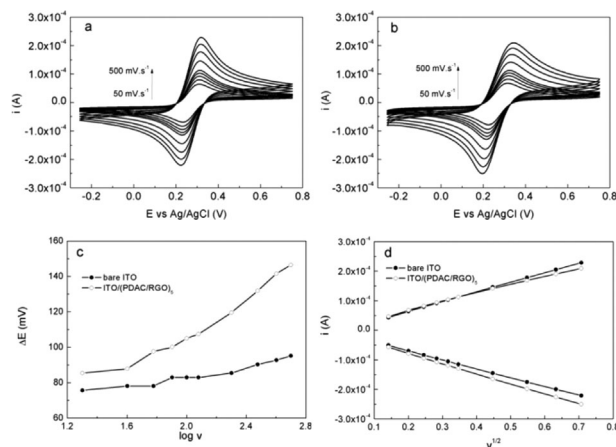


Figure 2 Cyclic voltammograms of FC (1 mmol L^{-1} in KCl 1.0 mol L^{-1}) at (a) bare ITO and (b) ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes at different potential scan rates. (c) Dependence of ΔE_p on $\log v$ and (d) dependence of i (A) on $v^{1/2}$, at both electrodes.

Figure 2 shows the electrochemical behaviour of FC, assessed by cyclic voltammetry with bare and ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes. Figure 2a and b shows the cyclic voltammograms registered at different scan rates (50–500 mV s⁻¹). At first glance, one observes that the ITO(PDAC/RGO)₅ electrode is capable of conducting the oxidation/reduction of FC in the same way as it does the bare ITO electrode. Anodic/cathodic currents are in fact quite similar at both electrodes. Figure 2c displays the dependence of the peak separation potential (ΔE_p) on the potential scan rate ($\log v$). When the bare ITO electrode is used, ΔE_p is below 80 mV and varies slightly with $\log v$. On the other hand, the electrochemical processes become more irreversible at the ITO/(PDAC/RGO)₅ electrode, since ΔE_p is above 90 mV and increases even further, up to 150 mV, when the scan rate is increased. Figure 2d provides the dependence of the anodic/cathodic peak currents on the square root of the potential scan rate ($v^{1/2}$). It shows that the oxidation/reduction of FC is diffusion controlled at both electrodes.

Similar experiments carried out with DA and NQ had different results. Figures 3 and 4 provide cyclic voltammograms, the dependence of the peak separation potential (ΔE_p) on the potential scan rate ($\log v$), and anodic/cathodic peak currents as a function of the square root of the potential scan rate ($v^{1/2}$). For DA (Fig. 3), the (ITO/PDAC/RGO)₅ electrode outperforms the bare ITO, since it provides higher anodic/cathodic currents (Fig. 3a) and lower ΔE_p (Fig. 3b), although the dependence of ΔE_p on $\log v$ is similar at both electrodes.

For NQ (Fig. 4), the performance of the ITO/(PDAC/RGO)₅ modified electrode is even better. With this anodic/cathodic currents are much higher, while ΔE_p is much lower and shows a slight dependence on $\log v$. On the other hand, the bare ITO electrode shows a much stronger dependence of ΔE_p on the potential scan rate. Despite that, both redox couples undergo a diffusion-controlled redox

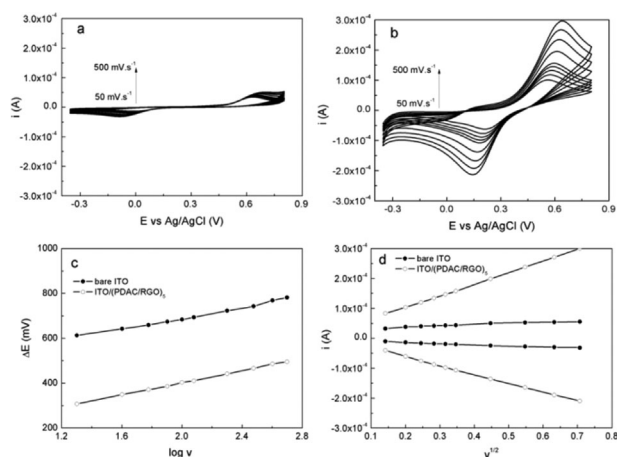


Figure 3 Cyclic voltammograms of DA (1 mmol L⁻¹ in KCl 1.0 mol L⁻¹) at (a) bare ITO and (b) ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes at different potential scan rates. (c) Dependence of ΔE_p on $\log v$ and (d) dependence of $i(A)$ on $v^{1/2}$, at both electrodes.

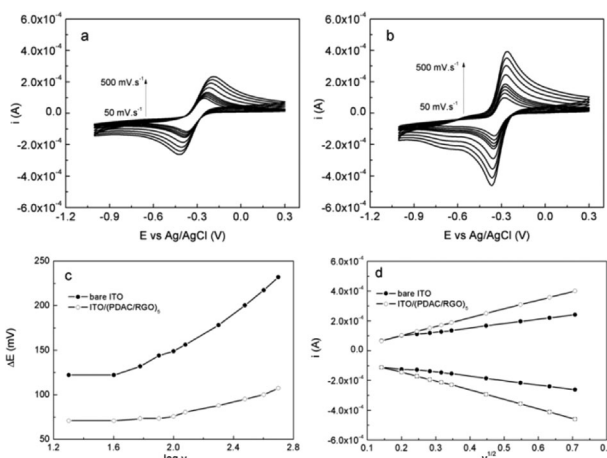


Figure 4 Cyclic voltammograms of NQ (1 mmol L⁻¹ in KCl 1.0 mol L⁻¹) at (a) bare ITO and (b) ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes at different potential scan rates. (c) Dependence of ΔE_p on $\log v$ and (d) dependence of $i(A)$ on $v^{1/2}$, at both electrodes.

process regardless of the ITO electrode is or is not modified by the PDAC/RGO film.

In a second set of experiments, cyclic voltammograms were registered as a function of the redox couples concentration, from 0.1 to 1.0 mmol L⁻¹, at a fixed potential scan rate of 100 mV s⁻¹. The results are shown in Figs. 5–7. It is observed that the anodic and cathodic currents scale linearly with the redox couple concentration, regardless the type of redox couple or electrode. Also, for a fixed potential scan rate, ΔE_p remains unchanged as the redox couple concentration increases. Therefore, ohmic effects are negligible and cyclic voltammetry data can be used for determination of rate constants. In addition, the sensitivity (A.(mmol L⁻¹)⁻¹) of the ITO/(PDAC/RGO)₅ electrode,

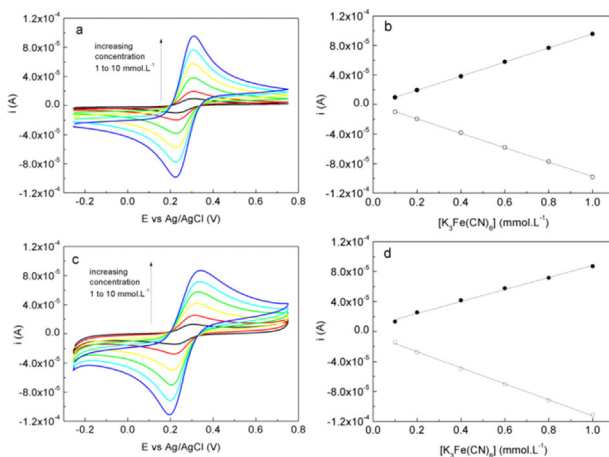


Figure 5 Cyclic voltammograms registered at 100 mV s⁻¹ in KCl 1.0 mol L⁻¹ and respective anodic/cathodic peak currents for FC at different concentrations with (a and b) bare ITO and (c and d) ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes.

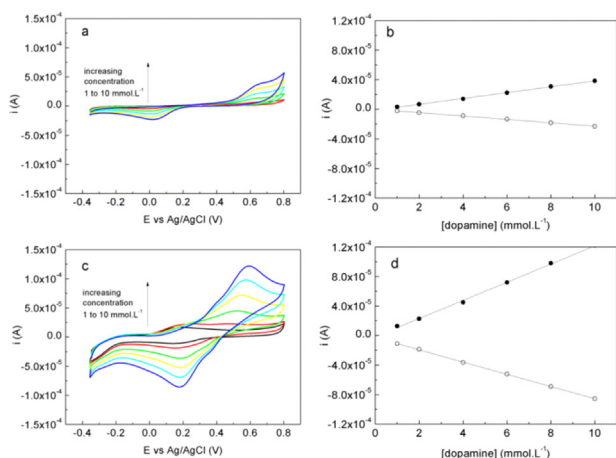


Figure 6 Cyclic voltammograms registered at 100 mV s^{-1} in $\text{KCl } 1.0 \text{ mol L}^{-1}$ and respective anodic/cathodic peak currents for DA at different concentrations with (a and b) bare ITO and (c and d) ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes.

which is determined after the linear fitting, are greater than those determined for the bare ITO, regardless of the type of redox couple. These values are collected in Table 1, last entree.

Since the three redox couples showed a diffusion-controlled electrochemical behaviour at the investigated electrodes and ΔE_p does not change with their concentration, cyclic voltammetry data were further processed by fitting with the Randles–Sevcik equation:

$$i_p = 2.60 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot S \cdot D_{\text{ap}} \cdot c \cdot \nu^{1/2}, \quad (1)$$

for which n is the number of transferred electrons, S is the electroactive area of the electrode (in cm^2), D_{ap} is the

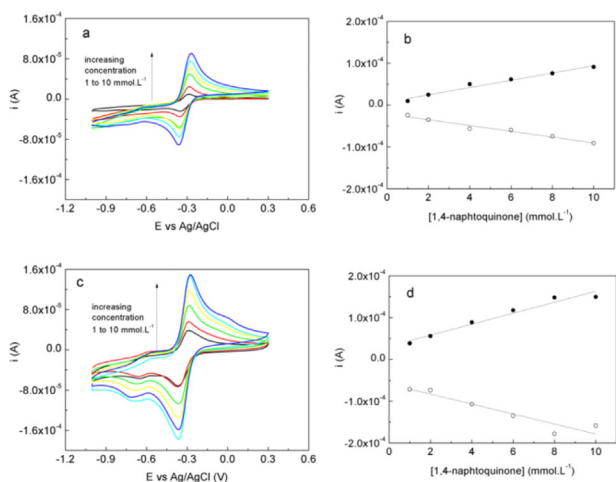


Figure 7 Cyclic voltammograms registered at 100 mV s^{-1} in $\text{KCl } 1.0 \text{ mol L}^{-1}$ and respective anodic/cathodic peak currents for NQ at different concentrations with (a and b) bare ITO and (c and d) ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes.

Table 1 Cyclic voltammetry parameters for FC, DA and NQ determined after fitting the experimental data with the Randles–Sevcik equation and the Nicholson approach.

parameter	redox couple	bare ITO	ITO/(PDAC/RGO) ₅
S (cm^2)	FC	1.42	1.61
	DA	0.09	0.47
	NQ	0.39	0.57
ΔE_p (mV)	FC	80.6	107.4
	DA	688.5	402.8
	NQ	148.1	75.7
$E_{1/2}$ (mV)	FC	271.3	270.1
	DA	306.7	388.5
	NQ	−310.4	−312.8
k^0 (cm s^{-1})	FC ^a	0.33	0.14
	DA ^b	—	—
	NQ ^c	0.10	0.68
$A \cdot (\text{mmol L}^{-1})^{-1}$	FC	9.6×10^{-5}	8.1×10^{-5}
	DA	3.9×10^{-6}	1.2×10^{-5}
	NQ	8.7×10^{-6}	1.3×10^{-5}

^{a,c}The value used for α was 0.5.

^bThe oxidation was irreversible.

diffusion coefficient of the redox species (in $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), c is the molar concentration of the redox species (in mol L^{-1}), and ν is the potential scan rate (in mV s^{-1}). Additionally, the heterogeneous electron-transfer rate constants (k^0) were determined with Eq. (2), as follows:

$$k^0 = \psi \frac{[\pi D_{\text{ox}} \nu (nF/RT)]^{1/2}}{(D_{\text{ox}}/D_{\text{red}})^{\alpha/2}}, \quad (2)$$

in which D_{ox} and D_{red} are the diffusion coefficients of the oxidised and reduced species, respectively; ν is the potential scan rate; n is the number of transferred electrons, R is the ideal gas constant ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$); T is the absolute temperature (298.15 K), α is the transfer coefficient; and ψ is the transfer parameter as determined by Nicholson [16].

Table 1 collects electrochemical parameters as determined by Eqs. (1) and (2) for the three redox couples studied with bare ITO and ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes. The ITO/(PDAC/RGO)₅ electrode provides the greatest electroactive area (S) and the highest anodic/cathodic current densities (J) for all the three redox pairs. In addition, for the organic redox couples, the PDAC/RGO film imparts the lowest ΔE_p and the highest k^0 . However, for the oxidation/reduction of FC, the bare ITO shows better performance, which is in accordance to the slight dependence of its respective ΔE_p on the potential scan rate, as seen in Fig. 2c. Finally, the formal redox potential ($E_{1/2}$) of each redox couple is basically the same at the two electrodes, except that of DA, which is lower at the PDAC/RGO modified electrode.

3.3 Electrochemical impedance spectroscopy As a final study, the redox behaviour of the redox couples was evaluated by electrochemical impedance spectroscopy. The respective impedance spectra (Nyquist plots) and impedance parameters determined after using the Randles circuit (inset of Fig. 8a) for fitting the experimental data are shown in Fig. 8 and Table 2, respectively.

The impedance spectra of FC at both electrodes (Fig. 8) shows a small and positive offset in Z' at about 40 ohms (42 ohms for bare ITO and 40.9 ohms for ITO(PDAC/RGO)₅), which corresponds to the electrolyte resistance. This value is almost constant for all investigated electrodes and redox couples since it corresponds to the KCl 1.0 mol L⁻¹ electrolyte used in all experiments. In addition, the spectra show a small semicircle that is ascribed to the kinetic charge transfer resistance R_2 and a straight line with slope of approximately 45° that corresponds to the diffusion impedance element W (the Warburg element). Nonetheless, as the ITO electrode is modified with the (PDAC/RGO)₅ film, R_2 almost triples.

As to the organic redox couples, DA and NQ, the impedance study corroborates further the cyclic voltammetry data depicted in Figs. 3 and 4. The impedance spectrum of DA acquired with the bare ITO electrode, Fig. 8b (full black circles), displays a huge charge transfer resistance semicircle, centred at about 16 kohms (Table 2, third column, fifth line). Upon deposition of (PDAC/RGO)₅ film, this value decreases about 9 orders of magnitude (~11 μohms, Table 2, fourth column, fifth line). A similar effect is perceived for NQ. The spectrum obtained for this redox couple with the bare ITO electrode shows a semicircle centred at 300 ohms (Fig. 8c, full black circles). When the ITO electrode is modified with the (PDAC/RGO)₅ film, this semicircle disappears and the curve fitting gives R_2 a value of 0.7 μohms, which is also 9 orders of magnitude lower. Since for both redox couples, the element of diffusion W is practically independent of the electrode type, it permits one to conclude that (PDAC/RGO)₅ film plays a major role on the charge transfer resistance R_2 .

Different publications found in the literature have pointed out that RGO improves the electroactivity of bare electrodes, such as glassy carbon, to several redox couples. It is argued that RGO exhibits high electron mobility at room temperature and is full of surface defects, which together are responsible for the enhanced electron transfer kinetics. Nonetheless, this statement sounds too general because RGO can be prepared in many different ways that lead to dissimilar molecular structures with even more discrepant electrochemical behaviours. If one assumes that FC system undergoes an outer-sphere redox reaction, the electron transfer must overcome a potential barrier at the electrode/redox center interface. Despite its sparsely distributed DOS, RGO exhibits at least one empty band above its Fermi level whose energy range fits in the formal redox potential of FC, between 0.2 and 0.3 V. That is why the ITO/(PDAC/RGO)₅ electrode is still capable of carrying out the electrochemical interconversion

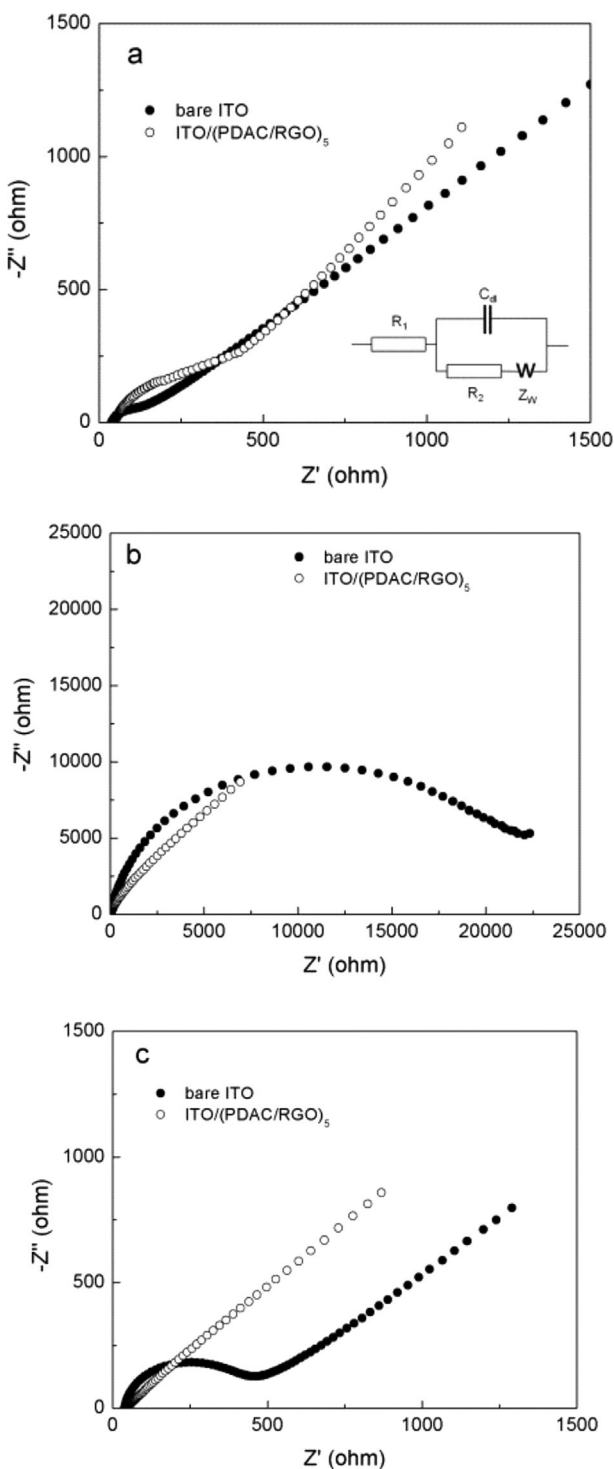


Figure 8 Nyquist plots for (a) FC, (b) DA and (c) NQ obtained with bare ITO and ITO/(PDAC/RGO)₅ electrodes. Frequency range: 100 MHz to 0.1 Hz; potential amplitude: 50 mV; redox couple concentration: 1 mmol L⁻¹; electrolyte: KCl 1.0 mol L⁻¹. The inset in (a) shows a Randles equivalent circuit.

Table 2 Electrochemical impedance parameters for FC, DA and NQ determined after fitting the experimental data with the Randles equivalent circuit.

circuit element	redox couple	bare ITO	ITO/(PDAC/RGO) ₅
R_1 (ohm)	FC	42	40.9
	DA	43.1	42.4
	NQ	41	41.4
R_2 (ohm)	FC	73.4	260
	DA	16,000	10.6×10^{-6}
	NQ	344	708×10^{-9}
C_{dl} (μ F)	FC	3.23	2.49
	DA	3.95	23.4
	NQ	5.39	26.2
W (μ ohm)	FC	645	582
	DA	121	100
	NQ	1090	1260

ferri \leftrightarrow ferrocyanide. Nonetheless, RGO is also endowed by different anionic groups that come from the dissociation of GO at pH = 10 used for film deposition and which are not removed even after the hydrazine treatment. Indeed, even at pH = 5–4, GO suspensions still shows very negative zeta potentials ($= -41$ mV at pH = 4). These anionic groups should repel the approximation of negatively charged ferro and ferricyanide ions and slow down the charge transfer rate in comparison to bare ITO. Curiously, this effect is rarely discussed in the literature for RGO, except by Yissar et al. [17] who have reported it for poly(acrylic acid)/poly(L-lysine) LbL films. Moreover, an additional experiment performed at pH = 3 (not shown) shows that the response of the RGO electrode to ferri/ferrocyanide becomes even worse. As pointed out by different authors, ferri/ferrocyanide pair needs an anchoring site, preferably H, at the surface of carbon based electrodes in order to undergo redox reactions [18, 19]. The surfaces of all these materials are highly oxidised, as in the present electrodes, which limits the anchoring harbour for ferri/ferrocyanide even after lowering the pH. Therefore, the RGO surface chemistry should play a role as important as the right electronic matching. The results observed for DA and NQ corroborate this statement further. First of all, DA and NQ share similar chemical molecular structure to that of RGO, that is to say the presence of aromatic units. In addition, DA and its respective electrochemical products are cationic species under the pH condition used herein (pH = 5.7) [20]. Via electrostatic attraction, they allow for a better approximation/adsorption onto the RGO film surface and, consequently for a more effective electron transfer. As to NQ, at pH below 9.7 the NQ ring undergoes a two-proton, two-electron process involving the interconversion of 1,4-naphthoquinone to 1,4-naphthalenediol [21]. Both are neutral species and not subject to electrostatic repulsion from RGO film. Therefore, FC cannot be classified as a perfect outer-sphere redox couple, since it

was sensitive to modification of the ITO substrate with the PDAC/RGO film. Additionally, the exceptional and particular electronic properties of RGO are not enough to ensure the effective electron transfer but its surface chemistry should be accounted for as well.

4 Conclusions The electrochemical behaviour of redox couples assessed with working electrodes of ITO/(PDAC/RGO)₅ depends on both the electronic and surface chemistry of RGO. For the ferro/ferricyanide electrochemical conversion, while the electronic structure of RGO works favourably in allowing the electron transfer to happen, its surface chemistry with anionic functional groups that repel the anionic redox species, disfavours the target redox process by increasing the resistance and reducing the rate constant for electron transfer. Therefore, ferro/ferricyanide cannot be considered as a perfect example of outer-sphere redox couple. On the other hand, organic redox couples such as dopamine and 1,4-naphthoquinone have aromatic molecular structures and form cationic/neutral electrochemical products, which show more affinity for the RGO surface than for the bare ITO substrate. This consequently favours their electrochemical reactions.

Acknowledgements The authors acknowledge the financial support of Brazilian funding agencies CNPq (process n. 308038/2012-6), FAP-DF (process n. 0193.000829/2015), FINEP (process n. 01/13/0470/00).

References

- [1] R. L. McCreery, *Chem. Rev.* **108**, 2646–2687 (2008).
- [2] A. Ambrosi, A. Bonanni, Z. Sofer, J. S. Cross, and M. Pumera, *Chem. Eur. J.* **17**, 10763–10770 (2011).
- [3] A. T. Lawal, *Talanta* **131**, 424–443 (2015).
- [4] S. K. Vashist and J. H. T. Luong, *Carbon* **84**, 519–550 (2015).
- [5] J. Q. Liu, Z. Liu, C. J. Barrow, and W. R. Yang, *Anal. Chim. Acta* **859**, 1–19 (2015).
- [6] B. W. Alphenaar, T. Bansal, A. D. Mohite, H. M. Shah, C. Galande, A. Srivastava, J. B. Jasinski, and P. M. Ajayan, *ECS Trans.* **45**(3), 31–39 (2012).
- [7] T. Bansal, A. D. Mohite, H. M. Shah, C. Galande, A. Srivastava, J. B. Jasinski, P. M. Ajayan, and B. W. Alphenaar, *Carbon* **50**, 808–814 (2012).
- [8] A. Y. S. Eng, A. Ambrosi, C. K. Chua, F. Sanek, Z. Sofer, and M. Pumera, *Chem. Eur. J.* **19**, 12673–12683 (2013).
- [9] L. Tang, Y. Wang, Y. Li, H. Feng, J. Lu, and J. Li, *Adv. Funct. Mater.* **19**, 2782–2789 (2009).
- [10] M. Zhou, Y. Zhai, and S. Dong, *Anal. Chem.* **81**, 5603–5613 (2009).
- [11] L. M. Peter, W. Durr, P. Bindra, and H. Gerischer, *J. Electroanal. Chem. Interf. Chem.* **71**, 31–50 (1976).
- [12] W. Huang, and R. L. McCreery, *J. Electroanal. Chem.* **326**, 1–12 (1992).
- [13] W. S. Hummers and R. E. Offeman, *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 1339 (1958).
- [14] D. Li, M. B. Muller, S. Gilje, R. B. Kaner, and G. G. Wallace, *Nat. Nanotechnol.* **3**, 101–105 (2008).

- [15] M. A. Gross, M. J. A. Sales, M. A. G. Soler, M. A. Pereira-da-Silva, M. F. P. da Silva, and L. G. Paterno, *RSC Adv.* **4**, 17917–17924 (2014).
- [16] R. Nicholson, *Anal. Chem.* **37**, 1351–1355 (1965).
- [17] V. P. Yissar E. Katz, O. Lioubashevski, and I. Willner, *Langmuir* **17**, 1110–1118 (2001).
- [18] M. C. Granger and G. M. Swain, *J. Electrochem. Soc.* **146**(12), 4551–4558 (1999).
- [19] P. L. Runnels, J. D. Joseph, M. J. Logman, and R. M. Wightman, *Anal. Chem.* **71**, 2782–2789 (1999).
- [20] S. C. Avendano, G. A. Angeles, M. T. R. Silva, G. R. Pina, M. R. Romo, and M. P. Pardave, *J. Electroanal. Chem.* **609**, 17–26 (2007).
- [21] D. B. Raoof and S. M. Golabi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **68**, 2253–2261 (1995).