UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

VANESSA NEIVA DE ATAIDE

**Desenvolvimento de sensores eletroquímicos de
carbono visando à detecção de furosemida em
amostras farmacêuticas e clínicas**

Versão Original da Dissertação corrigida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

16/03/2018

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

VANESSA NEIVA DE ATAIDE

**Desenvolvimento de sensores eletroquímicos de
carbono visando à detecção de furosemida em
amostras farmacêuticas e clínicas**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química
da Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestra em Ciências (no Programa de
Química)*

Orientador: Prof. Dr. Thiago Regis Longo Cesar da Paixão

São Paulo

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

A862d Ataide, Vanessa Neiva de
Desenvolvimento de sensores eletroquímicos de carbono visando a detecção de furosemida em amostras farmacêuticas e clínicas / Vanessa Neiva de Ataide. - São Paulo, 2018.
112 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Paixão, Thiago Regis Longo Cesar da

1. Óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente. 2. Furosemida. 3. Eletrodo modificado. 4. Sensor eletroquímico. I. T. II. Paixão, Thiago Regis Longo Cesar da, orientador.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me dar forças para persistir nos caminhos que escolhi.

À minha mãe, Pedrina, e as minhas irmãs, Thais e Gardênia, por me apoiarem em todos os momentos e às minhas sobrinhas Ana Beatriz, Sophia e Rebeca.

Ao Akira pelo apoio e carinho na vida e pela parceria científica.

Ao Professor Thiago Paixão pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa e pela orientação.

Ao William Reis pela amizade e por toda a ajuda durante esses dois anos, pela paciência e discussões científicas que me fizeram enxergar a ciência com olhos mais curiosos.

Aos membros do L₂ESQ, especialmente Letícia Mendes, Rafael Silva, Thiago Selva e José Ricardo pela amizade e companheirismo.

À querida amiga Jéssica Soares por todo o apoio e por tornar meus dias mais alegres e leves.

Aos professores do Mackenzie: Paulete Romoff, Anamaria Alexiou e Edgard Ferreira por acreditarem em mim e pelos ensinamentos.

Às minhas queridas amigas Stephanie Sanches, Débora Ito, Grazielle Castro e Camila Grecco pelos bons momentos e por todo o carinho e apoio ao longo da minha jornada acadêmica.

À Juliana Ribeiro pela amizade e companheirismo em todos os momentos.

Ao André Barioni pela amizade e por toda ajuda desde da época do Mackenzie.

Aos amigos do Mackenzie Emerson, Silvio, Amarildo, Jackson e Adriano pelos momentos de descontração e pelos cafés da tarde.

Ao Rafael Bacil, Caroline Sanz e Othon Campos pela acolhida na minha chegada ao IQ, pelos cafés e pela amizade.

Às queridas Maria Luiza e Rosana pela amizade, conversas e bons momentos.

À Daniela Pereira pela amizade e pelas risadas.

À Pollyana Castro e ao Abhishek Kumar pela amizade.

À técnica Cristina Rodrigues pelo cuidado, carinho e amizade.

Ao Josué Gonçalves pela parceria científica.

Ao técnico Marcelo pelas medidas de AFM.

Ao Jadielson Antônio e Rafael Colombo por sempre estarem dispostos a ajudar.

Aos técnicos do laboratório didático de Química Analítica Armando, Natanael, Renato, Roberto e Lúcia pela ajuda e atenção.

Ao técnico Daniel Rossado pela ajuda nas medidas de Cromatografia.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido.

Ao IQ-USP por proporcionar um ambiente de excelência acadêmica, que nos motiva a sempre melhorar enquanto profissionais.

"If the world was blind, how many people would you impress?"

Autor desconhecido

RESUMO

(Ataide, V.N.) **Desenvolvimento de sensores eletroquímicos de carbono visando à detecção de furosemida em amostras farmacêuticas e clínicas.** 2018.112p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Nos últimos anos, materiais baseados em grafeno têm atraído grande interesse na área eletroquímica devido às suas excelentes propriedades eletrônicas. Neste trabalho, apresentamos a obtenção de óxido de grafeno reduzido utilizando métodos eletroquímicos. A redução eletroquímica do óxido de grafeno (OG) foi realizada na superfície de um eletrodo de carbono vítreo (ECV) utilizando voltametria cíclica. O óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente (OG-RE) foi caracterizado utilizando espectroscopia Raman, microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de força atômica (MFA), espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (XPS) e espectroscopia de impedância eletroquímica. A relação I_D/I_G obtida através dos espectros Raman do OG e do OG-RE foram de 0,98 e 1,15, respectivamente, indicando que o processo de redução resultou em uma maior desorganização estrutural. A espectroscopia de fotoelétrons de raios-X mostrou que a proporção entre C e O no OG foi de 45,7% e, que após a redução eletroquímica essa relação diminuiu para 38,5%. O eletrodo modificado com OG-RE foi empregado para quantificação de furosemida (FUR) em amostras farmacêuticas utilizando voltametria de pulso diferencial e análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica. Os limites de detecção e quantificação calculados para o método proposto foram de 0,35 e 1,18 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Visando à aplicação em amostras de interesse clínico, fabricou-se um sensor descartável e de baixo custo para a detecção de FUR utilizando papel sulfite pintado com lápis de desenho e ativado por laser de CO_2 . Os estudos voltamétricos utilizando o $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ mostraram que o transporte de massa neste dispositivo foi governado por difusão e que o tratamento com laser diminui a resistência a transferência de carga, assim como resultou em um menor problema relacionado ao envenenamento da superfície do eletrodo.

Palavras-chave: Óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente, eletrodo de carbono vítreo, eletrodo modificado, FIA, furosemida, lápis de desenho, dispositivo baseado em papel.

ABSTRACT

(Ataide, V.N.) **Development of carbon electrochemical sensors for the detection of furosemide in pharmaceutical and clinical samples.** 2018.112p. Masters Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

In recent years, graphene-based materials have attracted great interest in the area of electrochemistry due to its excellent electronic properties. In this work, we present the production of reduced graphene oxide using electrochemical methods. The electrochemical reduction of graphene oxide (GO) was carried out on the surface of a glassy carbon electrode (GCE) using the cyclic voltammetry technique. Electrochemically reduced graphene oxide (ER-GO) was characterized using Raman spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), X-ray excited photoelectron spectroscopy (XPS) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). I_D / I_G ratio obtained through Raman spectra of GO and ER-GO were 0.98 and 1.15, respectively, indicating that the reduction process resulted in greater structural disorganization. XPS showed that the ratio between C and O in the GO was 45.7% and that after electrochemical reduction this ratio decreased to 38.5%. The ER-GO modified electrode was used as a sensor for furosemide (FUR) in pharmaceutical samples using the techniques of differential pulse voltammetry and flow injection analysis with amperometric detection. The limits of detection and quantification for the proposed method were 0.35 and 1.18 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Aiming to the application in clinical samples a disposable, low-cost paper-based sensor for the detection of FUR was fabricated using office paper painted with drawing pencil and activated by CO_2 laser. Voltammetric studies using $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ have shown that mass transport in this device was controlled by diffusion and the laser decreases resistance to charge transfer, as well as, avoided the problem with electrode surface poisoning.

Keywords: Electrochemically reduced graphene oxide, glassy carbon electrode, modified electrode, FIA, furosemide, pencil drawing, paper-based device.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo dos constituintes de um sensor químico. Retirado de Lowinsohn e Bertotti (2006).....	22
Figura 2. (a) Eletrodo baseado em papel e (b) glucômetro comercial. Adaptado de Maxwell; Mazzeo; Whitesides (2013).	27
Figura 3. Representação da estrutura do fulereno. Adaptado de Dresselhaus (2012). 29	
Figura 4. Representação da estrutura dos nanotubos de carbono: (a) <i>single-wall</i> e (b) <i>multi-wall</i> . Retirado de Shrimali et al (2016).	30
Figura 5. Representação das estruturas do fulereno, nanotubo de carbono e grafite a partir do grafeno. Retirado de Geim; Novoselov (2007).	31
Figura 6. Representação da estrutura do grafeno. Adaptado de Jia et al (2011).	31
Figura 7. Estrutura cristalina do grafeno: (a) rede 2D hexagonal do grafeno no espaço real com os vetores a_1 e a_2 . A célula unitária é destaca em cinza e (b) Rede recíproca com os vetores b_1 e b_2 . A 1ª zona de Brillouin é destacada em cinza e os pontos de alta simetria estão indicados. Adaptado de Warner (2013).....	32
Figura 8. Representação das 3 ligações sigma C-C e uma ligação pi C-C presentes no grafeno. Adaptado de Dashi; Pattanaik; Behera (2014).	33
Figura 9. Dispersão eletrônica na rede cristalina do grafeno. No detalhe: as bandas de valência (BV) e condução (BC) próximas ao ponto de Dirac. Adaptado de Neto et al (2007).	34
Figura 10. Esquema dos processos de produção dos grafenos quimicamente modificados empregando grafite como material de partida. Inicialmente, um tratamento oxidativo é realizado e o produto formado é o óxido de grafite. Em seguida: i) esfoliação/redução térmica do óxido de grafite para produzir OG-RT; ii) esfoliação via sonicação produzindo óxido de grafeno, iii) redução química do óxido de grafeno empregando NaBH_4 para produzir OG-RQ e iv) redução eletroquímica produzindo OG-RE. Adaptado de Ambrosi et al (2011).	36
Figura 11. Representação da estrutura do OG. Retirado de Compton; Nguyen (2010).	37
Figura 12. Representação da estrutura do OGr. Retirado de Compton; Nguyen (2010).	38
Figura 13. Circuito equivalente de Randles e diagrama de Nyquist, ambos representam os processos eletroquímicos que ocorrem na interface eletrodo/solução. Retirado De Carvalho; De Andrade; Bueno (2006).	40

Figura 14. Esquema dos mecanismos de espalhamento de uma radiação eletromagnética incidente. Os traços contínuos representam os níveis de energia da molécula estudada e os tracejados representam os níveis de energia intermediários, que são muito curtos (da ordem de 10^{-15} s). $h\nu_0$ é a radiação incidente e $h\nu_v$ é a radiação espalhada. Retirado de Ando (2005).	41
Figura 15. Esquema da interação entre ponta-amostra na MFA. Adaptado de Giessibl (2003).	42
Figura 16. Representação dos componentes básicos de microscópio eletrônico de força atômica. Retirado de Herrmman et al (1997).	43
Figura 17. Esquema dos componentes básicos para realizar uma medida de XPS. Adaptado de https://en.wikipedia.org/wiki/X-ray_photoelectron_spectroscopy . Acesso em 25 de fevereiro de 2018.	46
Figura 18. Descrição esquemática da lei de Bragg. Retirado de Agrawal; Barron (2013).	47
Figura 19. Esquema dos componentes de um difratômetro de raios-X. Adaptado de Agrawal; Barron (2013).	48
Figura 20. Representação da estrutura química da furosemida.	48
Figura 21. Configuração de um sistema FIA de linha única: A) bomba peristáltica; B) injetor de amostra, C) bobina de reação; D) detector espectrofotométrico e E) sinal analítico.	50
Figura 22. Esquema das etapas de modificação do eletrodo de carbono vítreo.	54
Figura 23. Etapas de fabricação do eletrodo pintado com lápis de desenho.	59
Figura 24. Imagem do dispositivo em papel pintado com lápis de desenho final.	59
Figura 25. Voltamogramas cíclicos ($n=10$) obtidos com OG 1 mg mL^{-1} em meio de sulfato de sódio 50 mmol L^{-1} . $E_i=E_f=1,0$ e $E_{inv}=-1,2\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} . A seta indica a diminuição crescente do sinal de corrente a cada ciclo. A seta indica o pico de redução do OG em aproximadamente $-0,8 \text{ V}$. As medidas foram realizadas após a desgaseificação do eletrólito suporte com argônio.	60
Figura 26. Voltamogramas cíclicos obtidos com solução de $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 1 mmol L^{-1} em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes condições: (-) ECV; (-) ECV modificado com OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (-) ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0,6\text{V}$ e $E_{inv}=-0,1\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1}	62

- Figura 27.** Voltamogramas cíclicos obtidos com solução de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_3]\text{Cl}_3$ 1 mmol L^{-1} em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes condições: (-) ECV; (-) ECV modificado com OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (-) ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f= 0,1\text{V}$ e $E_{\text{inv}}= -0,3\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} 62
- Figura 28.** Voltamogramas cíclicos obtidos com solução de AA 1 mmol L^{-1} em meio de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) em diferentes condições: (-) ECV; (-) ECV modificado com OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (-) ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f= -0,4\text{V}$ e $E_{\text{inv}}=0,6\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} As soluções foram degaseificadas com argônio. 64
- Figura 29.** Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) em diferentes condições: (-) ECV; (-) ECV modificado com dispersão de OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (-) ECV modificado com dispersão de OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f= 0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}= 1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .. 65
- Figura 30.** Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato ($\text{pH}=6,8$) usando eletrodo de carbono vítreo: (-) sem modificação, (-) modificado com dispersão de OG*-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (-) modificado com dispersão de OG*-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}=1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} 67
- Figura 31.** Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato ($\text{pH}=6,8$) usando eletrodo de carbono vítreo: (-) sem modificação; (-) modificado com dispersão de OG**-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (-) modificado com dispersão de OG**-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}=1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} 68
- Figura 32.** Padrões de difração de raio X do grafite e dos OGs com diferentes graus de oxidação. 69
- Figura 33.** Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) em diferentes condições: (-) ECV; (-) ECV modificado com dispersão de OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (-) ECV modificado com dispersão de OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f= 0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}= 1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .. 71
- Figura 34.** Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) usando eletrodo de carbono vítreo: (-) sem

modificação, (-) modificado com dispersão de OG-RE 0,5 mg mL ⁻¹ e (-) modificado com dispersão de OG-RE 1 mg mL ⁻¹ . Ei=Ef=0V e Einv=1,4V. Velocidade de varredura= 50 mV s ⁻¹ .	72
Figura 35. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR 100 µmol L ⁻¹ em tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH=6,8) usando eletrodo de carbono vítreo: (-) sem modificação e (-) ativado. Ei=Ef=0V e Einv=1,4V. Velocidade de varredura= 50 mV s ⁻¹ .	73
Figura 36. Imagens MEV: (A) superfície do ECV modificado com OG-RE e (B) folhas de OG-RE agregadas.	75
Figura 37. Espectros Raman dos materiais baseados em carbono utilizados na modificação do ECV.	76
Figura 38. Espectros de fotoelétrons excitados por raios-X das transições O1s e C1s: (A) OG e (B) OG-RE.	77
Figura 39. Espectros de fotoelétrons excitados por raios-X com alta-resolução C1s: (A) OG e (B) OG-RE.	78
Figura 40. Imagens MFA: (A) ECV não modificado e (B) ECV modificado com OG-RE.	78
Figura 41. Espectros de impedância eletroquímica: (▶) ECV não modificado; (●) ECV modificado com OG e (♦) ECV modificado com OG-RE. No detalhe: zoom do espectro de impedância do ECV não modificado.	80
Figura 42. Circuito equivalente proposto para o ECV modificado com OG-RE.	81
Figura 43. Mecanismo de oxidação da FUR em eletrodo de grafite –poliuretana proposto por Shett e Bukkitgar (2016).	81
Figura 44. Voltamogramas de pulso diferencial de uma solução de FUR 100 µmol L ⁻¹ em ECV modificado com OG-RE 1 mg mL ⁻¹ registrados em tampão fosfato em diferentes valores de pH: (-) 1,46; (-) 2,03; (-) 3,09; (-) 4,77; (-) 5,50; (-) 6,80; (-) 7,19; (-) 8,00; (-) 10,02 e (-) 12,08. Amplitude= 50 mV. Step= 10 mV.	82
Figura 45. Dependência dos potenciais de pico da FUR em função da variação do pH do meio reacional.	83
Figura 46. Voltamogramas de pulso diferencial registrados utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com OG-RE 1 mg mL ⁻¹ em diferentes concentrações de soluções de FUR: (a) eletrólito suporte tampão fosfato (pH = 6,8); (b) 10, (c) 20, (d) 40,	

(e) 60, (f) 80 e (g) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros: Amplitude = 50 mV. Step = 10mV. Abaixo na figura: curvas de calibração dos processos de oxidação da FUR, denominados como I e II.	85
Figura 47. Voltamogramas de pulso diferencial registrados utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} em diferentes concentrações de soluções de FUR: (a) tampão fosfato (pH = 6,8), (b) 10, (c) 20, (d) 40, (e) 60, (f) 80 e (g) 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Amplitude=50 mV. Step=10mV.	86
Figura 48. Otimização da vazão no sistema FIA utilizando solução padrão de FUR 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} . Potencial de trabalho: 0,9 V.....	87
Figura 49. Otimização do volume da alça de amostragem no sistema FIA utilizando solução padrão de FUR 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} . Potencial de trabalho: 0,9 V.....	88
Figura 50. Injeções repetidas (n=15) de solução padrão de FUR 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} . Potencial de trabalho: 0,9 V. Vazão: 7,2 mL min^{-1} . Volume da alça: 100 μL	89
Figura 51. Injeções de soluções padrão de FUR em ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} : (a) 2,5; (b) 5,0; (c) 10; (d) 20 e (e) 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Potencial de trabalho: 0,9 V. Vazão: 7,2 mL min^{-1} . Volume da alça: 100 μL	90
Figura 52. Curva analítica de soluções padrão de FUR em ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} : (a) 2,5; (b) 5,0; (c) 10; (d) 20, (e) 30 e (f) 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$. No detalhe: curva de calibração das soluções padrão de FUR. $R^2=0,998$, coeficiente linear=0,0880 e coeficiente angular=0,0230. Potencial de trabalho: 0,9 V. Vazão: 7,2 mL min^{-1} . Volume da alça: 100 μL	91
Figura 53. Voltamogramas cíclicos registrados nos (-) EP_G e (-) EP_L para soluções padrão de (A) $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ 1 mmol L^{-1} em meio de KCl 0,1 mol L^{-1} e (B) $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 3 mmol L^{-1} em meio de KCl 0,1 mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 10 mV s^{-1}	92
Figura 54. Voltamogramas cíclicos registrados nos (-) EP_G e (-) EP_L para soluções padrão de (A) AA 1 mmol L^{-1} em meio de tampão fosfato 0,1 mol L^{-1} (pH=6,8) e (B) ACT 0,27 mmol L^{-1} em meio de NaOH 0,1 mol L^{-1} . Velocidade de varredura: 10 mV s^{-1}	93
Figura 55. Voltamogramas cíclicos registrados no EP_L com solução padrão de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ 1 mmol L^{-1} em meio de KCl 0,1 mol L^{-1} em diferentes velocidades de varredura: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 mV s^{-1}	94

Figura 56. Voltamogramas cíclicos registrados no (-) ECV, (-) EP _G e (-) EP _L em solução padrão de FUR 1 mmol L ⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L ⁻¹ (pH=6,8). No detalhe: voltamograma cíclico da solução de FUR no ECV. Velocidade de varredura medida com ECV= 50 mV s ⁻¹ . Velocidade de varredura medidas nos EP _G e EP _L : 10 mV s ⁻¹	95
Figura 57. Imagens MEV das superfícies (A) papel; (B) EP _G e (C) EP _L	96
Figura 58. Espectros Raman das superfícies de (-) papel; (-) grafite e (-) grafite ativada por <i>laser</i>	97
Figura 59. Espectros de impedância do (-) EP _G e (-) EP _L	98
Figura 60. Voltamogramas de pulso diferencial registrados utilizando EPL em diferentes concentrações de soluções de FUR: (--) eletrólito suporte tampão fosfato (pH = 6,8); (-) 25, (-) 49, (-) 93, (-) 170, (-) 264 e (-) 316 μmol L ⁻¹ . Parâmetros: Amplitude = 50 mV. Step = 10mV. Detalhe: curvas de calibração dos processos de oxidação da FUR, denominados como I e II. R ² pico I=0,993 e R ² pico II=0,970.	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Otimização do número de ciclos para a redução eletroquímica do OG. Os valores de corrente mostrados são referentes ao pico I.	74
Tabela 2. Otimização do número de ciclos para a redução eletroquímica do OG. Os valores de corrente mostrados são referentes ao pico II.	74
Tabela 3. Parâmetros otimizados na voltametria de pulso diferencial para detecção de FUR.	84
Tabela 4. Resultados do método analítico proposto (sistema FIA com detecção amperométrica) e do método comparativo (cromatografia líquida de alta eficiência) de quantificação da FUR em amostra de fármaco.	91

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. $E=E^0+RT/nF \ln a^O/a^R$	24
Equação 2. $F=-k.x$	43
Equação 3. $E_L = h\nu - E_c - \phi$	44
Equação 4. $n\lambda=2d\sin\theta$	46

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
1.1. Sensores químicos	22
1.1.1. Sensores eletroquímicos	23
1.1.1.1. Sensores potenciométricos	23
1.1.1.2. Sensores voltamétricos	24
1.1.1.3. Sensores condutométricos	25
1.1.1.4. Sensores baseados em papel.....	26
1.1.1.4.1. Sensores de grafite de lápis	28
1.2. Materiais de carbono	29
1.2.1. Grafeno	31
1.3. Materiais baseados em grafeno: óxido de grafeno e óxido de grafeno reduzido	35
1.4. Técnicas de caracterização	38
1.4.1. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)	38
1.4.2. Espectroscopia Raman	40
1.4.2.1. Microscopia Eletrônica de Força Atômica (MFA)	42
1.4.2.2. Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios- X	44
1.4.2.3. Difração de Raios- X.....	46
1.5. Furosemida	48
1.6. Análise por Injeção em Fluxo (FIA)	49
2. OBJETIVO.....	51
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	51
3.1. Reagentes e Soluções	51
3.2. Síntese do óxido de grafeno.....	52
3.3. Dispersão do óxido de grafite.....	53
3.4. Redução eletroquímica do óxido de grafeno	53
3.5. Instrumentação e condições experimentais	54
3.6. Fabricação dos dispositivos utilizando lápis de desenho	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.1. Redução eletroquímica do óxido de grafeno (OG)	60

4.2.	Estudo da resposta eletroquímica de diferentes sondas utilizando o óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente	61
4.3.	Estudo da resposta eletroquímica da FUR em diferentes materiais eletródicos	66
4.4.	Estudo da resposta eletroquímica da FUR em diferentes condições experimentais de redução eletroquímica do OG	70
4.4.1.	Estudo do número de ciclos para redução eletroquímica do OG.....	73
4.5.	Caracterizações da superfície do ECV modificado	75
4.6.	Mecanismo de oxidação da FUR	81
4.7.	Detecção eletroquímica da FUR empregando voltametria de pulso diferencial	84
4.8.	Detecção eletroquímica da FUR empregando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica	86
4.9.	Dispositivo em papel utilizando lápis de desenho	92
4.9.1	Estudo da resposta eletroquímica de diferentes sondas utilizando eletrodos em papel pintados com lápis de desenho	92
4.9.2.	Caracterizações da superfície dos eletrodos em papel pintados com lápis de desenho.....	96
4.9.3.	Detecção eletroquímica de FUR empregando voltametria de pulso diferencial	98
5.	CONCLUSÕES	100
5.1.	ECV modificado com OG-RE	100
5.2.	Dispositivo em papel pintado com lápis de desenho	101
6.	PERSPECTIVAS	102
6.1.	ECV modificado com OG-RE	102
6.2.	Dispositivo baseado em papel pintados com lápis de desenho	102
7.	REFERÊNCIAS	103
	SÚMULA CURRICULAR	111

1. INTRODUÇÃO

1.1. Sensores químicos

A *International Union of Pure and Applied Chemistry* (HULANICKI; GLAB; INGMAN, 1991)) define sensor químico como um dispositivo que transforma informações químicas, seja a concentração de apenas uma espécie química estudada ou a composição total das espécies em uma amostra, em um sinal analítico útil. Essa informação química se origina a partir de uma reação química do analito ou de uma propriedade física do sistema em estudo.

Outra definição mais recente e concordante com a proposta pela IUPAC é apresentada por Stradiotto et al. (2003) que define sensor químico como um dispositivo que fornece informações sobre o ambiente no qual está inserido. Todo sensor químico deve conter um transdutor, que transforma a resposta obtida em um sinal analítico pela instrumentação utilizada, e um reconhecedor químico capaz de garantir seletividade, isto é, capaz de isolar a resposta da espécie de interesse do ambiente químico em que esta se encontra. Os sensores químicos podem ser classificados de acordo com a propriedade que se deseja estudar, dentre eles estão sensores ópticos, térmicos, piezoelétricos (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006). Além desses, existem os sensores eletroquímicos, que podem ser divididos em potenciométricos, condutométricos e amperométricos ou voltamétricos (PAIXÃO; REDDY, 2017).

A figura 1 exemplifica de maneira resumida os constituintes de um sensor químico, de acordo com as definições apresentadas anteriormente.

Figura 1. Esquema representativo dos constituintes de um sensor químico. Retirado com permissão de Lowinsohn e Bertotti (2006).

Na seção seguinte será apresentado com mais detalhes os princípios de funcionamento dos sensores eletroquímicos.

1.1.1. Sensores eletroquímicos

A história dos sensores eletroquímicos se iniciou em 1906 quando o biólogo Max Cremer observou que ocorriam mudanças na acidez de uma solução aquosa em contato com uma membrana de vidro e, que esse contato provocava uma mudança no potencial em torno desta membrana (DOLE, 1980). Outros cientistas contribuíram para o desenvolvimento de análises potenciométricas e, particularmente da utilização de eletrodos de vidro para medidas de pH (LUBERT; KALCHER, 2010).

Outro sensor eletroquímico que se destaca é o eletrodo de oxigênio de Clark, que foi inventado pelo Professor Leland Clark em 1953, com o objetivo de determinar a concentração de oxigênio visando aplicações médicas (CLARK et al., 1953). Sua invenção propiciou para as gerações futuras de cientistas a base para o desenvolvimento de diversos sensores para gases (XIONG; COMPTON, 2014).

Os sensores eletroquímicos continuam atraindo a atenção de diversos pesquisadores que buscam suas aplicações na resolução de diversos problemas práticos combinados com métodos simples, rápidos e econômicos (POWER; MORRIN, 2013).

Segundo Janata (2009) o princípio geral de funcionamento de um sensor eletroquímico se baseia na transferência de carga do eletrodo para outra fase, que pode ser líquida ou sólida. Durante esse processo, ocorrem mudanças químicas no eletrodo e a carga é conduzida para a solução.

Uma definição mais geral do princípio de funcionamento de um sensor eletroquímico afirma que o seu modo de funcionamento depende do sinal de transdução que se deseja obter. Desta maneira, este tipo de sensor pode funcionar com diferentes modos de detecção, tais como: potenciométrico, voltamétrico ou amperométrico e condutométrico (POWER; MORRIN, 2013).

1.1.1.1. Sensores potenciométricos

Os sensores potenciométricos se baseiam na medida de potencial sem a presença de corrente apreciável, isto é, a corrente é igual a zero. O potencial é medido

em relação a um eletrodo de referência e é proveniente da atividade das espécies em solução. A relação entre potencial e atividade das espécies redox é descrita por meio da equação de Nernst (Equação 1) (POWER; MORRIN, 2013). Pode-se assumir que a atividade é igual a concentração somente quando se trabalha com soluções diluídas (PAIXÃO; REDDY, 2017).

$$\text{Equação 1. } E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a^O}{a^R}$$

Em que E^0 é potencial padrão do eletrodo, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura absoluta, n é o número de elétrons envolvidos no processo redox, F é a constante de Faraday, a^O e a^R são as atividades das espécies que sofrem oxidação e redução.

Os sensores potenciométricos estão divididos em duas categorias:

1. Eletrodos metálicos, que desenvolvem um potencial determinado pelo equilíbrio redox na interface eletrodo-solução;
2. Eletrodos íon-seletivo, uma diferença de potencial é medida em torno de uma membrana. Essa diferença de potencial é resultante da atividade de espécies em ambos os lados da membrana (PAIXÃO; REDDY, 2017).

1.1.1.2. Sensores voltamétricos

Os sensores voltamétricos se baseiam na relação entre o potencial aplicado e corrente. Existem duas maneiras principais de realizar experimentos envolvendo métodos voltamétricos: **i)** aplicar um potencial e medir uma variação no sinal de corrente e **ii)** aplicar uma corrente e medir um potencial (PAIXÃO; REDDY, 2017). Algumas técnicas voltamétricas comuns são a voltametria cíclica, a voltametria de onda quadrada e voltametria de redissolução (POWER; MORRIN, 2013).

A instrumentação utilizada em um sensor voltamétrico geralmente emprega 3 eletrodos, sendo: eletrodo de trabalho (ET); eletrodo de referência (ER) e eletrodo auxiliar (EA). A relação entre essa configuração é a seguinte: uma diferença de potencial é aplicada entre o ET e o ER e a corrente elétrica flui entre o ET e o EA. O fato de não circular corrente no ER é importante quando se utiliza sensores voltamétricos, uma vez que a função desse eletrodo é manter o potencial constante durante as medidas (PACHECO et al., 2013). A resposta da espécie de interesse

analisada é proveniente de sua oxidação ou redução e a corrente medida é chamada de corrente faradaica (BRETT; BRETT, 1993).

Os sensores amperométricos são uma subclasse dos sensores voltamétricos (PAIXÃO; REDDY, 2017; POWER; MORRIN, 2013) e essencialmente a diferença entre eles é que o sensor amperométrico mede uma corrente em função de um potencial aplicado fixo. A relação entre um sensor voltamétrico e amperométrico está no fato de que o primeiro registra vários pontos em uma curva corrente-potencial, enquanto o segundo registra um ponto em uma curva corrente-potencial (BRETT; BRETT, 1993). Pode-se relacionar a corrente medida com a concentração do analito estudado (WANG et al., 2008).

Quando se utiliza sensores voltamétricos ou amperométricos uma forma de garantir seletividade, isto é, garantir que a resposta obtida seja resultante somente dos processos redox da espécie de interesse na presença de espécies interferentes (JANATA, 2009) é o potencial aplicado. Porém, muitas vezes os potenciais de oxidação ou redução de espécies diferentes estão próximos, e nesses casos, só o potencial aplicado não garante total seletividade. Desta maneira, é necessário escolher corretamente as condições para estudar a espécie desejada, dentre essas condições encontram-se: o material do eletrodo, isto significa dizer, que às vezes deve-se utilizar eletrodos com alguma modificação em sua superfície; as técnicas de aplicação de potencial, como por exemplo, aplicação de varredura de potencial ou pulso de potencial e o uso de eletrodos que favoreçam um transporte de massa mais eficiente (eletrodos hidrodinâmicos) (BRETT; BRETT, 1993).

1.1.1.3. Sensores condutométricos

Os sensores condutométricos baseiam-se na condutância de íons em solução. A condutância é um processo que resulta da contribuição individual de cada íon presente em solução. O movimento dos íons em solução se deve à migração de íons carregados positiva e negativamente em relação a aplicação de um campo eletrostático (OHLWEILER, 1981). Pode-se fazer um paralelo entre os sensores condutométricos e voltamétricos, no caso, dos sensores condutométricos a resposta avaliada não é seletiva, uma vez que todas as espécies iônicas em solução irão contribuir na medida. No caso de sensores voltamétricos, a resposta obtida deve ser preferencialmente proveniente do processo redox de uma espécie de interesse (PAIXÃO; REDDY, 2017).

Como já foi discutido na seção anterior, é necessário um ajuste nas condições do experimento para que exista o compromisso da seletividade.

Estes sensores podem ser empregados de duas maneiras: **i)** medidas de condutância direta, que encontram uma aplicação mais restrita, uma vez que a medida de condutância obtida não é específica; **ii)** medidas de condutância indireta, em que a medida de condutividade é realizada em função da mudança de um meio químico através de uma titulação (OHLWEILER, 1981). Uma aplicação interessante dos sensores condutométricos é combiná-los com cromatografia ou eletroforese capilar, pois pode-se alcançar seletividade para o método analítico (FRACASSI DA SILVA et al., 2003; LAU; MOK, 1995).

1.1.1.4. Sensores baseados em papel

A busca por sensores químicos baseados em novas plataformas que forneçam informações rápidas, e de modo confiável, tem representado uma alternativa tecnológica aos sensores convencionais. Neste sentido, sensores baseados em papel apresentam diversas vantagens, tais como: processo de fabricação simples e de baixo custo; portabilidade; possibilidade de serem descartáveis e aplicados nas áreas de diagnóstico clínico, análises ambientais e controle de qualidade da indústria alimentícia (LIANA et al., 2012). Outras características desse substrato que o tornam atraente também para serem empregados como dispositivo de análise química são suas propriedades mecânicas, estrutura fibrosa tridimensional, biocompatibilidade, biodegradabilidade, facilidade de modificação e disponibilidade no mundo todo (NERY; KUBOTA, 2013).

Um aspecto importante dos sensores baseados em papel é o fato de serem descartáveis. Essa é uma tendência recente na área de sensores eletroquímicos, pois possibilita substituir os eletrodos sólidos, que exibem algumas desvantagens em seu uso, como: dificuldade na renovação/limpeza e reprodução da superfície eletroativa e, talvez o ponto mais importante, a dificuldade de realizar análises em campo com o auxílio de potenciostatos portáteis (FIGUEIREDO-FILHO et al., 2012).

A portabilidade é também uma característica interessante dos sensores baseados em papel, uma vez que vão de encontro com um tipo de análise que está em desenvolvimento na área clínica, chamada "*point of care*". Se baseia em um dispositivo analítico que realiza testes portáteis e descentralizados proporcionando o diagnóstico

e/ou coleta de informações no local onde o paciente está, ou ainda, em locais afastados e sem infraestrutura (PASSOS, 2010).

Dispositivos baseados em papel têm sido largamente empregados em diversas áreas, mas especialmente como sensor em diagnóstico clínico. Observando essa tendência, pode-se entender que é importante garantir métodos de análises que sejam rápidos, precisos e baratos.

Os testes do tipo *point of care* visam tornar o procedimento de obtenção da informação desejada muito mais rápida, o que em termos de diagnósticos de doenças representa um grande avanço, uma vez que facilita identificar as formas de tratamento adequadas.

A potencialidade deste tipo de proposta de análise pode ser evidenciada no trabalho de Ge et al. (2012), onde os autores apresentam um sensor eletroquímico baseado em papel com arranjo de eletrodos modificados com materiais nanoestruturados e enzimas a fim de realizar a detecção de marcadores de tumores.

Outro exemplo relevante e que está presente na vida cotidiana são os dispositivos medidores de glicose no sangue. Seu funcionamento consiste de uma medida amperométrica acoplada com um ensaio enzimático, que consome o analito (glicose) e forma um produto que pode sofrer oxidação ou redução na superfície de um eletrodo (MAXWELL;MAZZEO;WHITESIDES, 2013), conforme mostrado na figura 2.

Figura 2. (a) Eletrodo baseado em papel e **(b)** glucômetro comercial. Adaptado com permissão de Maxwell; Mazzeo; Whitesides (2013).

1.1.1.4.1. Sensores de grafite de lápis

A fabricação de eletrodos em papel utilizando materiais de carbono como sensores eletroquímicos é uma alternativa interessante, uma vez que eletrodos de carbono são amplamente empregados em medidas eletroquímicas (HONEYCHURCH, 2015).

Neste sentido, eletrodos têm sido feitos utilizando lápis de escrita/desenho como fonte de grafite (em inglês chamados de *pencil drawing* ou *pencil lead* ou *pencil graphite electrode*). Algumas abordagens de fabricação desses eletrodos são descritas na literatura, tais como: o lápis é inserido em solução e funciona como um eletrodo de trabalho; compósitos de pó de grafite com diversos materiais (nanopartículas, polímeros condutores, entre outros) são prensados, formando um bastão de grafite que é utilizado para pintar trilhas no papel; lápis de desenho de diversas durezas é usado para pintar eletrodos de trabalho no papel, entre outras (CHAGAS et al., 2015; DOSSI et al., 2014; FOSTER et al., 2016; LIN et al., 2014; PARK; PARK; LEE, 2017; SANTHIAGO; KUBOTA, 2013).

O grafite utilizado na fabricação de lápis é composto de ~65% de grafite e ~30% de argila e agente aglutinante (cera, resina ou polímeros). São classificados pelo grau de dureza que apresentam, esse parâmetro varia de acordo com composição do lápis, em uma escala de 9H a 8B, em que as letras H e B significam *hardness* (duro, em uma tradução livre) e *blackness* (mole). Desta forma, nas extremidades da escala o lápis 9H é o mais duro e o 8B é o mais mole. Os lápis do tipo B contém mais grafite em sua composição e são mais macios e os lápis HB possui proporções iguais de grafite e argila (DAVID; POPA; BULEANDRA, 2017).

As propriedades eletroquímicas e o grau de desordem estrutural das superfícies de grafite são influenciados pela quantidade de planos basais e bordas presentes. Os planos basais e bordas são duas regiões estruturais diferentes no grafite, sendo que o plano basal é uma região que contém átomos de carbono com hibridização sp^2 conjugados e a borda é composta por átomos de carbono que faz ligações na margem da estrutura grafítica com grupamentos oxigenados (hidroxilas, carboxilas e carbonilas). Além disso, as bordas do grafite contêm ligações erráticas, isto é, ligações incompletas, que são responsáveis pela reatividade dos átomos de carbono nesta região. Desta forma, essas regiões possuem reatividades químicas e eletroquímicas diferentes, conferindo ao grafite um comportamento anisotrópico (KARIUKI, 2012; MCCREERY,

2008; YUAN et al., 2013). Acredita-se que a região de borda na estrutura do grafite é muito mais reativa, no que diz respeito a transferência eletrônica e adsorção, do que a região basal (CHEN; MCCREERY, 1996).

O grafite de lápis têm atraído a atenção como material de eletrodo, devido as potencialidades que eles apresentam: podem ser utilizados como eletrodos descartáveis evitando etapas de limpeza de sua superfície assim como ocorre quando se trabalha com eletrodos sólidos de carbono; baixo custo; boa reprodutibilidade; elevada sensibilidade, entre outras (DAVID; POPA; BULEANDRA, 2017).

1.2. Materiais de carbono

O carbono é um elemento que fascina, devido sua flexibilidade em ser transformado em diferentes materiais dependendo da hibridização que apresenta (sp , sp^2 ou sp^3) (DRESSELHAUS; TERRONES, 2013).

O desenvolvimento dos materiais de carbono pode ser dividido em 3 períodos: antes de 1960; entre 1960 e 1985 e depois de 1985. Em 1960 ocorreu a invenção das fibras de carbono a partir da poli (acrilonitrila), carbono pirolítico obtido pelo método de deposição química a vapor, carbonos vítreos a partir de resina termoendurecível e carbonos ativados. Este ano marca um período conhecido como uma “era de novos carbonos”. Até 1960 os carbonos empregados nas indústrias eram o grafite artificial e os “*carbon black*”. Os novos materiais que surgiram a partir de 1960 possuíam processos de produção diferentes e novas propriedades em relação aos materiais de carbono até então conhecidos (INAGAKI; KANG, 2014).

Em 1985 houve a descoberta de um material que possuía 60 átomos de carbono e foi chamado de “*buckminsterfullerene C₆₀*” ou fulereno, formado por moléculas simétricas em um icosaedro semelhante a uma bola de futebol (Figura 3) (DRESSELHAUS; TERRONES, 2013; KROTO et al., 1985).

Figura 3. Representação da estrutura do fulereno. Adaptado com permissão de Dresselhaus (2013).

No início dos anos 90, foram descobertos os nanotubos de carbono *multi-wall* e *single-wall* (Figura 4), que em uma tradução aproximada seriam nanotubos de carbono com paredes múltiplas e nanotubos de carbono com uma única parede, respectivamente (IIJIMA; ICHIHASHI, 1993; IJIMA, 1991).

Figura 4. Representação da estrutura dos nanotubos de carbono: **(a)** *single-wall* e **(b)** *multi-wall*. Retirado com permissão de Shrimali et al (2016).

Os trabalhos científicos pioneiros envolvendo a descoberta e elucidação da estrutura dos fulerenos e nanotubos de carbono abriram um precedente, no que diz respeito ao rápido desenvolvimento da Nanotecnologia (GROW, 2006). Além disso, a pesquisa com nanotubos de carbono *single-wall* inspirou pesquisadores a pensarem mais profundamente a respeito das propriedades eletrônicas de monocamadas de átomos de carbono (DRESSELHAUS; TERRONES, 2013).

Em 2004, os pesquisadores Novoselov e Geim isolaram pela primeira vez o grafeno, uma monocamada de átomos de carbono densamente empacotada em um arranjo bidimensional, utilizando o método de esfoliação mecânica do grafite (NOVOSELOV et al., 2004). Devido sua contribuição científica, estes pesquisadores ganharam o Prêmio Nobel de Física em 2010.

O grafeno é a unidade básica que dá origem aos outros materiais grafíticos de outras dimensões (Figura 5), essa afirmação se justifica no fato de o grafeno pode ser “enrolado” em fulerenos (0D-dimensão zero) ou em nanotubos de carbono (1D-unidimensional) ou empilhados como grafite (3D-tridimensional) (GEIM; NOVOSELOV, 2007; INAGAKI; KANG, 2014). Mais detalhes a respeito das características físicas e químicas do grafeno serão abordados na seção seguinte.

Figura 5. Representação das estruturas do fullereno, nanotubo de carbono e grafite a partir do grafeno. Retirado com permissão de Geim; Novoselov (2007).

1.2.1. Grafeno

O nome grafeno é dado a uma monocamada bidimensional de átomos de carbono com hibridização sp^2 e possui uma estrutura plana semelhante a estrutura do benzeno (estrutura de rede hexagonal), conforme apresentado na figura 6 (ALLEN; TUNG; KANER, 2009; NOVOSELOV et al., 2004).

Figura 6. Representação da estrutura do grafeno. Adaptado com permissão de Jia et al (2011).

A célula unitária do grafeno é um losango com 2 átomos de carbono não equivalentes, representados por A e B (Figura 7a). A célula unitária recíproca, conhecida como zona de Brillouin é mostrada na figura 7b junto com os planos de alta

simetria Γ , M, K e K' (WARNER, 2013). Em um plano cartesiano no espaço real os vetores da célula unitária a_1 e a_2 são escritos como a seguir:

$$\mathbf{a}_1 = \begin{pmatrix} \sqrt{3}a/2 \\ a/2 \end{pmatrix} \quad \text{e} \quad \mathbf{a}_2 = \begin{pmatrix} \sqrt{3}a/2 \\ -a/2 \end{pmatrix}$$

Os vetores da rede recíproca b_1 e b_2 podem ser expressos:

$$\mathbf{b}_1 = \begin{pmatrix} 2\pi/\sqrt{3}a \\ 2\pi/a \end{pmatrix} \quad \text{e} \quad \mathbf{b}_2 = \begin{pmatrix} 2\pi/\sqrt{3}a \\ -2\pi/a \end{pmatrix}$$

Figura 7. Estrutura cristalina do grafeno: **(a)** rede 2D hexagonal do grafeno no espaço real com os vetores a_1 e a_2 . A célula unitária é destacada em cinza e **(b)** Rede recíproca com os vetores b_1 e b_2 . A 1ª zona de Brillouin é destacada em cinza e os pontos de alta simetria estão indicados. Adaptado com permissão de Warner (2013).

Os pontos K e K' são importantes no que se refere a compreender a física do grafeno. Esses dois pontos são chamados de pontos de Dirac (NETO et al., 2007). O papel dos pontos de Dirac nas propriedades eletrônicas do grafeno será explicado mais detalhadamente a seguir.

As propriedades eletrônicas do grafeno explicam a sua flexibilidade estrutural, a hibridização sp^2 entre um orbital s e dois orbitais p originam uma estrutura trigonal plana, que forma uma ligação σ entre os átomos de carbono, cujo comprimento de ligação é 1,42 Å. Essas ligações σ são fortes e são responsáveis pela estabilidade estrutural presente nos alótropos de carbono, ou seja, são responsáveis pelas

propriedades mecânicas dos materiais (NETO et al., 2007). Cada átomo de carbono se liga covalentemente a outros 3 átomos de carbono vizinhos. Três ligações C-C são do tipo σ e estão localizadas no plano e, a quarta ligação C-C é do tipo π , localizada fora do plano (Figura 8). Os elétrons da ligação π estão deslocalizados e por ocuparem o orbital π ligantes são responsáveis pelas propriedades óticas e eletrônicas do grafeno (SILVA, 2015). Os elétrons dos orbitais ligantes π (menor energia) formam a banda de valência e os elétrons dos orbitais antiligantes π^* formam a banda de condução (maior energia) deste material (DASH; PATTANAIAK; BEHERA, 2014).

Figura 8. Representação das 3 ligações sigma C-C e uma ligação pi C-C presentes no grafeno. Adaptado com permissão de Dash; Pattanaik; Behera (2014).

O grafeno é considerado um semicondutor de *gap* zero, isto significa que a banda de valência (BV) e a banda de condução (BC) se encontram nos pontos de Dirac, mas não se superpõem. Para entender o que isso significa, pode-se pensar a respeito de como as bandas de valência e condução estão separadas em um material condutor e um material isolante. No primeiro caso, uma a BV está parcialmente preenchida ou incompleta e a BC está vazia e o processo de condução ocorre pela excitação dos elétrons as regiões não preenchidas da BV. No segundo caso, BV geralmente está completa e BC vazia e há uma grande separação entre essas bandas no que se refere a energia (ALLCOCK, 2008). No caso do grafeno não há separação entre BV e BC, como nos materiais isolantes e nem bandas parcialmente preenchidas, como nos materiais condutores.

A energia dos elétrons pode ser representada em função de seu momento e BV e BC tornam-se parábolas, porém no caso do grafeno, essas bandas formam dois cones circulares, que se encontram nos pontos K, isto é, nos pontos de Dirac (Figura 9). Existem dois pares de 3 pontos de Dirac, que não são equivalentes e, são os pontos

K e K'. Em um semicondutor tradicional quando se estuda as propriedades eletrônicas o ponto mais importante a ser considerado é o Γ , mas no caso do grafeno os pontos de interesse são K e K' (COOPER et al., 2011; SILVA, 2015).

Figura 9. Dispersão eletrônica na rede cristalina do grafeno. No detalhe: as bandas de valência (BV) e condução (BC) próximas ao ponto de Dirac. Adaptado com permissão de Neto et al (2007).

A mobilidade dos portadores de carga (partículas livres que são portadoras de carga elétrica – elétrons, lacunas ou íons) na estrutura do grafeno é governada pela equação relativística de Dirac, ou seja, os elétrons se comportam como se sua massa fosse igual a zero e com velocidades comparáveis a velocidade da luz, em consequência disso, os portadores de carga são denominados férmions de Dirac. Essas características físicas do material conferem a ele propriedades eletrônicas surpreendentes, tais como elevados valores de mobilidade de portadores de carga da ordem de $15000 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ a temperatura ambiente. Esse valor de mobilidade elevado permite o transporte balístico, isto é, os elétrons do grafeno podem percorrer longas distâncias em sua rede antes de sofrerem qualquer tipo de espalhamento (BRANT, 2011; DASH; PATTANAIK; BEHERA, 2014; SILVA, 2015).

Apesar de o enfoque nessa seção ter sido em relação às propriedades eletrônicas do grafeno, este material apresenta outras propriedades que têm atraído o interesse da comunidade científica, dentre essas propriedades podem-se destacar: elevada transparência ótica de 97,7%; alta condutividade térmica até $5000 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$; área superficial nominal de $2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e força de ruptura de 23 N m^{-1} (BROWNSON; KAMPOURIS; BANKS, 2012).

1.3. Materiais baseados em grafeno: óxido de grafeno e óxido de grafeno reduzido

Materiais derivados de grafeno que sofrem processos químicos, modificando suas estruturas, são denominados grafenos modificados quimicamente (CMG, do inglês *chemically modified graphene*). Ambrosi e colaboradores (2011) definem CMG's como materiais que mantêm em sua superfície grupos funcionais ligados covalentemente aos carbonos que o constituem. Diferentes tipos de CMG's são representados pelos seguintes materiais: óxido de grafite (OX-grafite); óxido de grafeno (OG); óxido de grafeno reduzido termicamente (OG-RT); óxido de grafeno reduzido quimicamente (OG-RQ) e óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente (OG-RE). A síntese destes materiais tem como material de partida o grafite, que geralmente é oxidado empregando agentes oxidantes fortes, tais como KMnO_4 ; KClO_3 ; H_2O_2 ; entre outros; e ácidos concentrados fortes (H_2SO_4 e HNO_3), seguido de um processo de esfoliação/redução, que pode ser realizado por meio de tratamentos térmicos, químicos ou eletroquímicos (AMBROSI et al., 2011). A figura 10 apresenta um resumo dos tratamentos que levam a produção dos grafenos quimicamente modificados.

Figura 10. Esquema dos processos de produção dos grafenos quimicamente modificados empregando grafite como material de partida. Inicialmente, um tratamento oxidativo é realizado e o produto formado é o óxido de grafite. Em seguida: **i)** esfoliação/redução térmica do óxido de grafite para produzir OG-RT; **ii)** esfoliação via sonicação produzindo óxido de grafeno, **iii)** redução química do óxido de grafeno empregando NaBH_4 para produzir OG-RQ e **iv)** redução eletroquímica produzindo OG-RE. Adaptado com permissão de Ambrosi et al (2011).

O OG é uma folha individual de grafeno que contém, além de carbono, grupamentos oxigenados, tais como grupos epóxi; hidroxila e carboxílicos (Figura 11) (COMPTON; NGUYEN, 2010; RAY, 2014). A elucidação da estrutura do OG têm sido alvo de estudos e discussões ao longo dos anos e, ainda não há consenso sobre a

estrutura exata deste material. Isso se deve ao fato do material ser complexo, ou seja, há muita variação entre as amostras; possuir uma composição não estequiométrica e a falta de técnicas analíticas para caracterização que sejam mais precisas (DREYER et al, 2015).

Figura 11. Representação da estrutura do OG. Retirado com permissão de Compton; Nguyen (2010).

Existem alguns modelos de estrutura do OG propostos por Hoffmann e Holst, Ruess, Scholz-Boehm e Nakajima-Matsuo (DREYER et al, 2015). O modelo mais aceito atualmente é o proposto por Lerf e Klinowski, que demonstra que o plano basal da folha de OG contém grupamentos hidroxila e epóxi (1,2-éter) e nas bordas da folha estão presentes grupamentos carboxílicos. Esses grupamentos oxigenados são pontos reativos na estrutura de OG e fornecem a possibilidade de modificação desta superfície para obtenção de materiais baseados em grafeno funcionalizados com outras moléculas (COMPTON; NGUYEN, 2010; LERF et al., 1998).

As ligações dos átomos de carbono com os átomos de oxigênio no OG são principalmente ligações sp^3 , devido ao rompimento das ligações sp^2 na folha original de grafeno. Essas ligações C-O com hibridização sp^3 torna o OG um material com características isolantes. Para que esse material se torne um semicondutor é necessário realizar sua redução, esse processo pode ser feito utilizando tratamentos químicos e físicos (BAGRI et al., 2010).

A redução do OG pode aumentar a condutividade do material, no caso da redução química do OG o valor de condutividade tem um aumento de até 4 ordens de magnitude. No entanto, a condutividade no OGr ainda é bem menor, por um fator de 10-100 vezes, em relação a condutividade do grafeno esfoliado mecanicamente.

As diferenças no que se refere ao desempenho elétrico desses materiais pode ser atribuída aos grupamentos oxigenados residuais (Figura 12) que permanecem na estrutura do OGr após a redução (GÓMEZ-NAVARRO et al., 2010). Como já foi

mencionado, as ligações entre C-O no OG e, conseqüentemente no OGr são sp^3 , portanto, sua presença interrompe o fluxo dos portadores de carga através das ligações sp^2 parcialmente restauradas. Desta maneira, o transporte dos elétrons no OGr ocorre preferencialmente por “saltos” e não é balístico, como no caso do grafeno “puro” (BAGRI et al., 2010).

Figura 12. Representação da estrutura do OGr. Retirado com permissão de Compton; Nguyen (2010).

1.4. Técnicas de caracterização

Nas subseções a seguir serão apresentados os aspectos teóricos de algumas técnicas empregadas na caracterização do OG e OGr. Compreender as teorias que fundamentam as técnicas de caracterização utilizadas neste trabalho é uma ferramenta útil para relacionar o que será discutido a partir dos resultados experimentais obtidos.

1.4.1. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)

Nesta seção serão abordados os fundamentos e aspectos qualitativos que envolvem a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE). A fundamentação matemática e física, que envolvem cálculos estão fora dos objetivos dessa dissertação e há na literatura diversas fontes (livros, artigos científicos, entre outros) que abordam esses aspectos detalhadamente, caso se deseje um maior aprofundamento no assunto.

A EIE é uma técnica de caracterização elétrica e dá informações completas e detalhadas a respeito das características elétrica de uma interface eletrodo/solução (DE CARVALHO; DE ANDRADE; BUENO, 2006). O termo espectroscopia utilizado no nome desta técnica é uma analogia, não significando que seu princípio de funcionamento esteja baseado em incidência de luz na célula eletroquímica (CAMPOS, 2016).

A impedância de um circuito elétrico pode ser entendida como o nível de dificuldade pelo qual um sinal elétrico, corrente ou potencial, sofre ao percorrer esse circuito (RIBEIRO; SOUZA; ABRANTES, 2015). As medidas de impedância se baseiam na aplicação de uma pequena perturbação, que pode ser um potencial aplicado ou uma corrente aplicada. O sinal aplicado é uma tensão alternada em uma faixa de frequências amplas e em diversos potenciais e a resposta à perturbação é do tipo senoidal medindo-se as partes real e imaginária da impedância complexa (BRETT; BRETT, 1993; CHINAGLIA; GOZZI, 2008; DE CARVALHO; DE ANDRADE; BUENO, 2006).

Em um circuito AC (do inglês *alternating current*) resistores, capacitores e indutores oferecem resistência a passagem de corrente. Essa resistência é denominada reatância ou resistência reativa. A diferença entre resistência e reatância se dá em relação a energia dissipada. Na resistência, a energia é dissipada em forma de calor; e na reatância a energia é armazenada em campos elétricos ou magnéticos e não há perda de calor. A impedância é definida em termos da ação tanto da reatância quanto da resistência (CHINAGLIA; GOZZI, 2008).

A medida de impedância de uma interface eletrodo/solução está relacionada a velocidade de transferência de elétrons (processo cinético), da capacitância na região interfacial e do transporte de massa. O comportamento da interface eletrodo/solução pode ser representada fazendo-se analogia a uma combinação de um resistor (R_{tc}) e um capacitor (C_{dc}) em paralelo, formando um circuito equivalente. Esse circuito é um modelo que representa o comportamento da resposta AC da célula eletroquímica. A R_{tc} está relacionada com o processo de transferência de carga e C_{dc} com a capacitância associada à dupla camada elétrica, ambas dependem do potencial e do material do eletrodo (DE CARVALHO; DE ANDRADE; BUENO, 2006).

Um exemplo prático de análise da relação entre os processos de eletrodo e circuitos equivalentes pode ser expressado pelo circuito de Randles. Este modelo descreve que a corrente faradaica, proveniente das transferências eletrônicas está associado ao componente capacitivo. O processo eletroquímico global é representado pelos componentes do circuito equivalente e pelas frequências. A figura 13 apresenta um gráfico que utiliza números complexos chamado diagrama de Nyquist (CAMPOS, 2016; DE CARVALHO; DE ANDRADE; BUENO, 2006).

Muitas informações importantes sobre os processos que ocorrem no eletrodo são retiradas do diagrama de Nyquist. Na região de alta frequência está relacionada com a resistência da solução (eletrólito) e é representada no circuito equivalente pela componente R_e ; a região de frequência intermediária representa a transferência de carga na interface eletrodo/solução e é representada pela componente R_{tc} . O elemento de Warburg (Z_w) é adicionado quando o processo eletroquímico estudado é governado por difusão (CAMPOS, 2016; DE CARVALHO; DE ANDRADE; BUENO, 2006).

Figura 13. Circuito equivalente de Randles e diagrama de Nyquist, ambos representam os processos eletroquímicos que ocorrem na interface eletrodo/solução. Retirado com permissão De Carvalho; De Andrade; Bueno (2006).

1.4.2. Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman recebeu esse nome como homenagem ao cientista indiano C.V. Raman, que em colaboração com seu aluno K.S. Krishnan publicou o primeiro artigo sobre esta técnica em 1928 (DEVANARAYANAN, 2015).

A espectroscopia Raman é uma técnica de espalhamento e está baseada no Efeito Raman, em que uma pequena fração da frequência da radiação é espalhada. O espalhamento da radiação eletromagnética é inelástico, isto é, a interação dos fótons provenientes da radiação eletromagnética com as moléculas presentes em uma

amostra, provoca um espalhamento com energia ou frequência diferentes da inicial (BUMBRAH; SHARMA, 2016; ROSTRON et al., 2016; SALA, 2008).

No efeito Raman, o campo elétrico da radiação eletromagnética incidente está ligada com a polarizabilidade da molécula com a qual interage, isto é, na presença de um campo elétrico a nuvem eletrônica desta molécula é deformada, gerando um momento de dipolo. A mudança na polarizabilidade da molécula é resultado do deslocamento dos átomos de suas posições de equilíbrio e, isso é consequência das vibrações moleculares. Portanto, o valor da polarizabilidade será modulado pela frequência da radiação eletromagnética incidente e, também pelas frequências de vibração das moléculas (ANDO, 2005; ROSTRON et al., 2016).

Quando a radiação eletromagnética incide em uma amostra e interage com a mesma, ocorre um espalhamento em todas as direções e, a maior parte da radiação espalhada (R_e) possui frequência igual a frequência da radiação incidente (R_i), a esse efeito é dado o nome de espalhamento Rayleigh. Apenas uma pequena fração da R_e possui frequência diferente da frequência da R_i . Diante disso, se a frequência da R_i for menor que a frequência da R_e , o espalhamento é chamado de Stokes; quando a frequência da R_i é maior que a frequência da R_e , o espalhamento é anti-Stokes (Figura 14) (ROSTRON et al., 2016).

Figura 14. Esquema dos mecanismos de espalhamento de uma radiação eletromagnética incidente. Os traços contínuos representam os níveis de energia da molécula estudada e os tracejados representam os níveis de energia intermediários, que são muito curtos (da ordem de 10^{-15} s). $h\nu_0$ é a radiação incidente e $h\nu_v$ é a radiação espalhada. Retirado de Ando (2005).

A diferença de energia provocada pela interação descrita anteriormente é de extrema importância quando se deseja conhecer como os átomos estão ligados em

uma determinada material. Isto é possível, pois esta variação na energia corresponde à energia com que os átomos estão vibrando e a frequência dessas vibrações fornece a informação sobre as ligações químicas. Além disso, a espectroscopia Raman possibilita conhecer a geometria molecular, como as espécies químicas interagem entre si e com o ambiente químico em que estão inseridas, entre outras (FARIA, 2011).

1.4.2.1. Microscopia Eletrônica de Força Atômica (MFA)

A microscopia de eletrônica de força atômica (do inglês *atomic force microscopy* ou AFM) se baseia na interação entre os átomos presentes na ponta de pequena sonda e os átomos presentes na superfície de uma amostra, ao longo de uma varredura (Figura 15). A natureza das forças de interação entre a ponta-amostra pode ser proveniente de diferentes tipos de força, tais como: forças de van de Waals; força eletrostática; força capilar, entre outras.

Figura 15. Esquema da interação entre ponta-amostra na MFA. Adaptado com permissão de Giessibl (2003).

Dentre os componentes básicos de microscópio eletrônico de força atômica estão: uma pequena sonda (*tip*) que está localizada na ponta de uma haste flexível chamada cantiléver; um feixe de laser que incide sobre o cantiléver e cerâmicas piezoelétricas. As forças de interação entre ponta e a superfície da amostra são medidas através de um sistema de deflexão do cantiléver. Em regiões de forças atrativas o cantiléver se curva na direção da amostra, por outro lado, em regiões de forças repulsivas ele se curva na direção de forças repulsivas (PINTO; RAMOS; DA FONSECA FILHO, 2015; RÓZ et al., 2015).

A deflexão do cantiléver pode ser descrita pela lei de Hooke para uma sistema massa-mola (Equação 2):

$$\text{Equação 2. } F = -k \cdot x$$

Em que, x é a deflexão do cantiléver e k a sua constante elástica (determinado pelo material que constitui o cantiléver e sua geometria).

O movimento do cantiléver devido à topografia da amostra desvia a luz do laser para um fotodetector. As mudanças na saída do fotodetector são usadas para o ajuste do deslocamento da cerâmica piezoelétrica no eixo z , que ocorre devido a uma variação de uma tensão aplicada. Este valor é registrado em função das coordenadas x e y da varredura e a partir dela é construída uma imagem tridimensional, que é visualizada em um computador (Figura 16). Um sistema de realimentação é utilizado para controlar o deslocamento da cerâmica piezoelétrica, cuja função é manter a força e/ou a altura constante (HERRMANN et al., 1997; RÓZ et al., 2015).

Figura 16. Representação dos componentes básicos de microscópio eletrônico de força atômica. Retirado com permissão de Herrmman et al (1997).

As imagens utilizando a MFA podem ser geradas de três modos operacionais: **i)** modo contato; **ii)** modo contato intermitente e **iii)** modo não contato. Esses modos estão relacionados com a distância entre a ponta-superfície da amostra.

No **modo contato**, a sonda tem um leve contato físico com a superfície da amostra, resultado da flexão do cantiléver, que atua na região de forças repulsivas. O cantiléver utilizado nesse tipo de modo, geralmente, tem formato de “V” para minimizar as forças de atrito e não prejudicar a qualidade das imagens. Este é o modo de operação mais empregado para obter imagens, possui maior velocidade de varredura e boa resolução. No **modo intermitente**, o cantiléver toca a superfície da amostra periodicamente (contato intermitente). As forças de repulsão entre ponta-superfície da amostra neste modo são desprezíveis e a força é controlada pela oscilação do cantiléver. Este modo pode ser usado para obter imagens de amostras sensíveis, pois promove poucas modificações na superfície da amostra, resultado das baixas forças de arraste aplicadas. No **modo não contato**, o cantiléver não toca a amostra e oscila em sua frequência de ressonância com uma amplitude baixa. As forças que atuam neste modo são atrativas, por isso o cantiléver precisa ser rígido. É utilizado para gerar imagens de amostras moles e fornecem menos detalhes em relação ao modo *tapping*, uma vez que a ponta está afastada da superfície da amostra na varredura (HERRMANN et al., 1997; PINTO; RAMOS; DA FONSECA FILHO, 2015; RÓZ et al., 2015).

1.4.2.2. Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios- X

A espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-x (do *inglês X-ray photoelectron spectroscopy* ou XPS) também conhecida como ECSA (*electron spectroscopy for chemical analysis*) é uma técnica que permite analisar uma camada mais externa, da ordem de 5-50 Å, de uma superfície. Esta técnica permite identificar e quantificar a composição química de uma superfície e fornece informações a respeito do ambiente químico em que um elemento está inserido (ALLCOCK, 2008; RODRIGUES, 2011).

O princípio de funcionamento desta técnica consiste na irradiação de raios-X, com energia $h\nu$, sobre uma superfície, provocando a emissão de fotoelétrons originários dos níveis mais internos dos átomos. Por meio da equação do efeito fotoelétrico (Equação 3) pode-se calcular a energia de ligação do elétron no nível em que ele se situava

$$\text{Equação 3. } EL = h\nu - E_c - \phi$$

Onde, E_L é a energia de ligação do elétron, $h\nu$ é a energia do raio-X, E_c é a energia do fotoelétron e ϕ é a função trabalho.

A equação do efeito fotoelétrico demonstra que para que ocorra a emissão de fotoelétrons, a energia do elétron ejetado deve ser maior que a função trabalho, uma vez que ela representa a barreira de potencial da superfície analisada (RODRIGUES, 2011).

Os raios-X são a fonte de energia empregada para retirar os elétrons dos níveis atômicos da superfície, eles são obtidos da aceleração de elétrons em relação a um alvo metálico. Geralmente, os alvos metálicos são o alumínio ou o magnésio, porque apresentam energias elevadas e menores larguras de linhas, Mg $K\alpha$ tem energia de 1253,6 eV e largura a meia altura de 0,7 eV, e Al $K\alpha$ tem energia de 1486,3 eV e largura a meia altura de 0,85 eV. Estes dois parâmetros são importantes, uma vez que a energia dos raios-X incidentes devem ser maior que a energia dos elétrons nos níveis atômicos; e a largura da linha é responsável pela resolução da medida, por isso ela deve ser pequena (DE MENDONÇA, 2011; RODRIGUES, 2014).

No processo de emissão de fotoelétrons um átomo é ionizado pela energia fornecida pelos raios-X, que “arranca” um elétron de um nível mais interno, produzindo uma lacuna. Como resultado desse processo podem ocorrer dois fenômenos: **i)** um elétron de uma camada mais externa ocupa a lacuna deixada pelo fotoelétron e emite um fóton, esse processo é chamado de fluorescência de raios-X; **ii)** a lacuna deixada pelo fotoelétron é ocupada por um elétron de uma camada superior e a energia proveniente é transmitida a um outro elétron, que é “expulso” do átomo, esse processo é conhecido como emissão de elétrons Auger. Esses processos competem e a emissão de elétrons Auger ocorre mais frequentemente em átomos leves, já a emissão de fótons possui maior ocorrência em átomos mais pesados (RODRIGUES, 2011).

A instrumentação básica empregada para medidas de XPS é composta de fonte de raios-X, manipulador de amostras e analisador de elétrons com detector, todo esse aparato está instalado em uma câmara de vácuo (Figura 17). A fonte de raios-X já foi discutida nos parágrafos anteriores. O analisador de elétrons é formado por duas calotas esféricas metálicas, onde existe uma diferença de potencial. Essa diferença de potencial cria um campo elétrico, que seleciona os fotoelétrons que possuem energia cinética suficiente para chegar ao detector. O detector de elétrons funciona como um contador do número de elétrons provenientes da amostra. As condições de vácuo na

câmara devem ser de ultra alto vácuo, a fim de evitar a contaminação pela adsorção de moléculas gasosas na superfície analisada e, também garantir que os elétrons ejetados não sofram perda de energia ou sejam espalhados antes de atingir o detector (RODRIGUES, 2014).

Figura 17. Esquema dos componentes básicos para realizar uma medida de XPS. Adaptado de https://en.wikipedia.org/wiki/X-ray_photoelectron_spectroscopy. Acesso em 25 de fevereiro de 2018.

1.4.2.3. Difração de Raios- X

A difração de raios-X é uma técnica de caracterização que fornece informações a respeito de estruturas, fases, orientações preferenciais, espaçamento entre átomos e outros parâmetros estruturais em um determinado material (ALLCOCK, 2008; BUNACIU; UDRIȘTIOIU; ABOUL-ENEIN, 2015). Esta técnica se baseia na interferência construtiva (difração) de raios-X monocromáticos e amostras cristalinas. A interação entre a radiação incidente na superfície da amostra é descrita pela lei de Bragg (Equação 4):

$$\text{Equação 4. } n\lambda = 2d\sin\theta$$

Em que, n é a ordem de difração (1,2,3...); λ é o comprimento de onda dos raios-X; d é a distância entre os planos cristalográficos e θ é o ângulo entre a direção do feixe incidente e o plano cristalográfico (ângulo de difração) (BUNACIU; UDRIȘTIOIU; ABOUL-ENEIN, 2015; RÓZ et al., 2015).

Em resumo, a lei de Bragg relaciona o comprimento de onda de uma radiação eletromagnética com um ângulo de difração e espaçamento entre os átomos em uma amostra (Figura 18), uma vez que átomos ou moléculas com um arranjo regular tridimensional funcionam como uma rede de difração para os raios-X incidentes (BUNACIU; UDRIȘTIOIU; ABOUL-ENEIN, 2015; RÓZ et al., 2015).

Figura 18. Descrição esquemática da lei de Bragg. Retirado com permissão de Agrawal; Barron (2013).

A instrumentação básica para realizar experimentos de difração de raios-X é composta de um tubo de raios-X, um compartimento para a amostra e um detector de raios-X (Figura 19). A fonte dos raios-X é um tubo de raios catódicos, em que um filamento de tungstênio (cátodo) é aquecido produzindo elétrons. Esses elétrons possuem alta velocidade e são acelerados em direção a um material alvo (ânodo), através da aplicação de um potencial. Os raios-X característicos são produzidos quando os elétrons incidentes têm energia suficiente para “expulsar” os elétrons dos níveis atômicos mais internos da amostra. Menos de 1% do feixe elétrons incidentes é convertido em raios-X, a maior parte é perdida na forma de calor (BUNACIU; UDRIȘTIOIU; ABOUL-ENEIN, 2015; SURYANARAYANA; NORTON, 1998).

Os comprimentos de onda são específicos para cada material utilizado no alvo. Os materiais que constituem o alvo podem ser Cu, Fe, Mo, Cr e, geralmente o alvo de Cu é o mais usado. Filtros ou monocromadores são necessários para garantir a produção de raios-X monocromáticos. Os raios-X são apontados em direção a amostra, que é rotacionada junto com o detector. A intensidade de picos de padrões de raios-X só irá aparecer como um gráfico, se a lei de Bragg for satisfeita, isso significa que, precisa ocorrer uma interferência construtiva entre duas ondas eletromagnéticas. Outro componente de um difratômetro de raios-X é o goniômetro; um instrumento que mede

ângulos e rotaciona a amostra. A amostra é rotacionada em um ângulo θ em direção ao feixe de raios-X incidente enquanto o detector coleta os raios-X difratados e rotaciona em um ângulo 2θ (BUNACIU; UDRIȘTIOIU; ABOUL-ENEIN, 2015).

Figura 19. Esquema dos componentes de um difratômetro de raios-X. Adaptado de Agrawal; Barron (2013).

1.5. Furosemida

A furosemida (FUR) (ácido 4-cloro-N-furufuril-5-sulfamoil-antranílico ou ácido 5-(aminosulfonil) -4-cloro-2- (2-furanilmetil) amino benzoico) (Figura 20) (LARINI, 2000).

Figura 20. Representação da estrutura química da furosemida.

A FUR é uma substância classificada como diurético de alça, pois atua principalmente no néfron, cuja função é filtrar e formar a urina, e impede a reabsorção tubular de sódio nas alças de Henle. Ela inibe o co-transporte de sódio, potássio, cloreto, além de provocar a excreção dos íons cálcio, magnésio e bicarbonato. A eliminação excessiva de íons potássio pode causar hipocalemia e, consequentemente

atividade ectópica ventricular (arritmia) e fibrilação ventricular, podendo levar à morte (BOSCH et al., 2013; PEREIRA et al., 2016).

A FUR, assim como outros diuréticos de alça, são largamente empregados no tratamento de edema pulmonar agudo; insuficiência cardíaca crônica; cirrose hepática; síndrome nefrótica e insuficiência renal (SEMAAN, 2007).

Além da eliminação de íons, a ação da FUR pode aumentar a excreção de drogas utilizadas como agentes de *doping*, resultando em sua diluição e mascarando sua presença na urina. Por isso, este fármaco é uma das substâncias listadas como proibidas para atletas (BOSCH et al., 2013; WADA, 2017).

Diversos métodos analíticos empregando titulação, eletroforese capilar, colorimetria, espectrofotometria, técnicas eletroquímicas e cromatográficas, entre outros, vêm sendo desenvolvidos visando a determinação de FUR tanto em amostras de interesse clínico quanto em formulações farmacêuticas (BOSCH et al., 2013; DIAS; NETO; MARTINS, 2004; PEREIRA et al., 2016; SEMAAN, 2007).

1.6. Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

O desenvolvimento da análise por injeção em fluxo (do inglês *flow injection analysis*) surgiu da crescente demanda por análises nas áreas clínica, farmacêutica, industrial, agrícola e de controle analítico, em que havia a necessidade de automação dos instrumentos de análise, devido ao grande volume de amostras (RUZICKA; HANSEN, 1975).

O desenvolvimento de métodos analíticos, que empregam a análise por injeção em fluxo continua atraindo o interesse de diversos pesquisadores, tanto na área acadêmica quanto na indústria, devido às suas características, tais como: alta frequência de análise; instrumentação de baixo custo; menor contato do analista com os reagentes e as amostras; reprodutibilidade, pode ser combinado com diversos tipos de detectores; entre outras (GIMENES, 2013). Além disso, FIA apresenta grande versatilidade, pois através desta técnica é possível determinar parâmetros físico-químicos, dentre eles: viscosidade; coeficientes de difusão; parâmetros cinéticos, entre outros

A análise por injeção em fluxo está baseada na inserção de amostras e/ou reagentes em uma solução transportadora, através de um percurso analítico. Ao ser transportada a amostra (ou o reagente) sofre dispersão, resultando em uma zona de

amostra, que tem como característica a formação de um gradiente de concentração. Alguns parâmetros podem ser otimizados para controlar a dispersão ou a diluição da amostra e/ou reagente, a fim de obter um melhor sinal analítico, dentre eles encontram-se: volume injetado; vazão da solução carreadora; o comprimento e o diâmetro interno do tubo utilizado. Reações químicas podem ser realizadas durante a etapa de transporte da zona de amostra em direção ao detector. No sistema de detecção um sinal transiente, em que a altura pode ser relacionada a concentração, é obtido e isso se deve à existência de um gradiente de concentração e a zona de amostra estar em movimento até atingir o detector durante a medida (JUNIOR, 2011; ROCHA; MARTELLI; DOS REIS, 2000).

A instrumentação básica utilizada nos experimentos de FIA (Figura 21) é composta por: um sistema propulsor (pode ser utilizada uma bomba peristáltica) para o transporte da solução carreadora; um injetor (responsável pela injeção de um volume conhecido e reprodutível da amostra e/ou reagente); percurso analítico (tubulação-local em que ocorre o transporte da solução analisada); um detector e um computador para coleta e processamento dos dados (GIMENES, 2013; JUNIOR, 2011).

Figura 21. Configuração de um sistema FIA de linha única: **A)** bomba peristáltica; **B)** injetor de amostra, **C)** bobina de reação; **D)** detector espectrofotométrico e **E)** sinal analítico.

As configurações do sistema FIA podem ser adaptadas de acordo com a necessidade de cada análise, isto é, sua configuração pode permitir que fazer separações por extração em solventes; troca iônica, difusão gasosa ou diálise, preparar reagentes instáveis no momento da análise (*in situ*) e diluição de reagentes ou amostras. As configurações mais básicas deste sistema são: sistema de linha única; sistema em confluência e sistema com zonas coalescentes. É importante ressaltar que

essas configurações básicas podem ser alteradas introduzindo-se outras variáveis, dando origem a sistemas de análises mais complexos (HANSEN, 1997; JUNIOR, 2011; SKOOG et al., 2005).

2. OBJETIVO

Desenvolver um método analítico com eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente para detecção de furosemida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Reagentes e Soluções

- **Experimentos com eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente**

Os reagentes utilizados foram de grau analítico e sem purificação prévia.

Para o estudo com as sondas eletroquímicas empregaram-se soluções padrão de $K_3[Fe(CN)_6]$ 1 mmol L⁻¹; $[Ru(NH_3)]Cl_3$ 1 mmol L⁻¹ e como eletrólito suporte solução de KCl 0,1 mol L⁻¹. O $K_3[Fe(CN)_6]$ foi obtido da Merck e o $Ru(NH_3)]Cl_3$ da Sigma-Aldrich® e o KCl da Merck®.

As sondas eletroquímicas orgânicas utilizadas foram soluções padrão de ácido ascórbico (AA) 1 mmol L⁻¹ e furosemida (FUR) 100 µmol L⁻¹. Esses reagentes foram obtidos da Sigma-Aldrich®. O eletrólito suporte utilizado foi tampão $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ 0,1 mol L⁻¹ (pH=6,8). Os sais de KH_2PO_4 e K_2HPO_4 foram obtidos da Synth®.

A amostra de furosemida foi obtida da marca Teuto® (comprimidos 40 mg). Quatro comprimidos foram macerados com auxílio de um almofariz e pistilo, a fim de obter uma amostra mais homogênea. A massa pesada de um comprimido foi de 0,1942 g.

A amostra de FUR foi solubilizada utilizando uma mistura de 5 mL de metanol e 5 mL de tampão acetato 0,01 mol L⁻¹ (pH=3,9) /acetonitrila e, em seguida diluída na faixa de 2,5 a 40 µmol L⁻¹.

Para os estudos da variação do potencial de oxidação da FUR em função da variação do pH utilizou-se tampão fosfato em uma faixa de pH de 1 a 12.

- **Experimentos com dispositivo pintado com lápis de desenho**

As sondas eletroquímicas utilizadas foram AA 1 mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH=6,8), FUR 1mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, acetaminofeno 0, 27 mmol L⁻¹ em meio de NaOH 0,1 mol L⁻¹, [Ru(NH₃)]Cl₃ 1 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ e K₃[Fe(CN)₆] 3 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹.

3.2. Síntese do óxido de grafeno

Todos os reagentes utilizados na síntese do óxido de grafeno são provenientes da Merck®.

A síntese do óxido de grafite foi realizada utilizando o método de Hummers adaptado (HUMMERS; OFFEMAN, 1958). O material de partida empregado foi o grafite (massa aproximadamente 1g), adicionou-se a ele 60 mL de H₂SO₄ sob agitação e baixa temperatura (banho de gelo) por aproximadamente 15 minutos. Em seguida, adicionou-se NaNO₃ (~500 mg) e lentamente cerca de 3,5 g de KMnO₄. A função da mistura entre H₂SO₄ e KMnO₄ é formar a espécie Mn₂O₇, que é a espécie responsável pela oxidação do grafite (DREYER,D.R.; PARK, S.;BIELAWSKI,C.W.;RUOFF, 2015). O ácido sulfúrico funciona como um agente intercalante nas camadas de grafite, facilitando a ação do agente oxidante. Após esta etapa o sistema foi retirado do banho de gelo e resfriado por mais 120 minutos.

Posteriormente, colocou-se o balão em banho de gelo novamente e aproximadamente 200 mL de água desionizada foi adicionada ao sistema. Uma solução aquosa diluída de H₂O₂ foi inserida no balão de reação.

A dispersão resultante foi filtrada a vácuo e o sólido obtido lavado com diversos solventes: água destilada, HCl 10%, etanol e acetona. Como etapa final, o produto obtido foi seco sob vácuo.

Foram realizadas outras duas sínteses do OG variando a massa de KMnO₄ em ¼ (m= 0,875g) e ½ (m= 1,75g) em relação à massa original descrita no método de Hummers, a fim de avaliar se o grau de oxidação do OG influenciava na reposta eletroquímica das sondas estudadas sobre o eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com óxido de grafeno reduzido (OG-RE). Toda as outras etapas do

procedimento de síntese, nestes casos, foram feitas de maneira semelhante ao descrito no parágrafo anterior.

3.3. Dispersão do óxido de grafite

A dispersão do óxido de grafite foi realizada pesando-se o material na proporção de 1 mg para 1 mL de água desionizada. Nesta etapa foi utilizado um banho de ultrassom para esfoliar o material, isto é, separar as camadas que o constituem, originando o óxido de grafeno (OG). O tempo de esfoliação é de aproximadamente 60 minutos e a dispersão obtida possui cor marrom.

3.4. Redução eletroquímica do óxido de grafeno

Utilizou-se uma dispersão de OG 1 mg mL⁻¹ e com o auxílio de uma pipeta automática pipetou-se 2 µL desta dispersão. Em seguida, via *drop casting* colocou-se o material sobre a superfície de um eletrodo de carbono vítreo. O filme foi seco expondo a superfície do eletrodo a uma lâmpada infravermelho marca Philips de 150 W. O tempo de secagem é de aproximadamente 2-3 minutos e a temperatura da lâmpada é de 60 °C.

Após esta etapa, o eletrodo foi colocado em célula eletroquímica contendo uma solução de Na₂SO₄ 50 mmol L⁻¹ como eletrólito de suporte. O eletrólito foi desgaseificado com argônio durante 10 minutos antes do processo de redução ser iniciado. Durante a redução o fluxo de argônio é diminuído para não causar turbulência durante a medida e permanece durante todo o procedimento próximo da interface solução-ar. A técnica utilizada para redução eletroquímica foi a voltametria cíclica em uma faixa de potencial de 1 a -1,2 V e 0 a -1,2 V *versus* Ag/AgCl, 10 ciclos e velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

O procedimento experimental de redução eletroquímica do OG é mostrado na figura 22.

Figura 22. Esquema das etapas de modificação do eletrodo de carbono vítreo.

O procedimento de ativação eletroquímica do ECV foi realizado segundo descrito por Santhiago et al (2015).

Estudou-se o número de ciclos ótimos para a redução eletroquímica do OG. A redução eletroquímica utilizou como eletrólito suporte Na_2SO_4 50 mmol L^{-1} em uma faixa de potencial de 1 até -1,2 V com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Os números de ciclos foram 1, 5, 10, 20, 40 e 60 ciclos. Entre cada medida a superfície do ECV foi polida e novamente modificada com o OG-RE.

3.5. Instrumentação e condições experimentais

- **Experimentos com eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente**

Para as medidas de voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, amperometria e espectroscopia de impedância eletroquímica foram utilizados um potenciostato/galvanostato da Autolab® modelo PGSTAT 128 N e o software de aquisição de dados foi o NOVA 1.11. Os gráficos resultantes das medidas foram tratados através do software Origin® versão 8.

A célula eletroquímica utilizada é 3 eletrodos, sendo: eletrodo de trabalho de carbono vítreo ($\phi = 1,6 \text{ mm}$), eletrodo de referência de $\text{Ag/AgCl}_{\text{sat.}}/\text{KCl}_{(3 \text{ mol L}^{-1})}$ (PEDROTTI; ANGNES; GUTZ, 1996) e eletrodo auxiliar de fio de platina. O volume da célula foi de 10 mL.

O eletrodo de carbono vítreo foi polido utilizando alumina em pó ($0,35\text{-}0,49 \mu\text{m}$) e feltro.

Os parâmetros e as técnicas eletroquímicas utilizadas no estudo do comportamento eletroquímico de cada sonda estudada são descritos a seguir:

▪ **Furosemida**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de 0 V até 1,4V e velocidade de varredura de 50mV s^{-1} .

As condições na voltametria de pulso diferencial para a construção da curva de calibração da FUR foram: intervalo de potencial de 0,6 até 1,2 V, amplitude de 50 mV e step de 10 mV. Esta técnica também foi utilizada nas medidas de E_{pH} , em que o intervalo de potencial de 0,4 a 1,4 V, a amplitude de 50mV e o step de 10mV.

▪ **Ácido ascórbico**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de -0,4 V até 0,6 V e velocidade de varredura de 50mV s^{-1} .

▪ **Cloreto de hexamin rutênio (III)**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de 0,1 V até -0,3 V e velocidade de varredura de 50mV s^{-1} .

▪ **Ferricianeto de potássio**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de 0,6 V até -0,1 V e velocidade de varredura de 50mV s^{-1} .

Os experimentos que envolveram a ativação eletroquímica do ECV seguiram o procedimento descrito por Santhiago et al (2015).

A caracterização do OG e do óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente (OG-RE) foram feitas com o auxílio de espectroscopia Raman (Witec/laser verde, $\lambda=532 \text{ nm}$), microscopia eletrônica de varredura (Jeol-JSM 7401F/FEG), difratometria de raios-X (Bruker D2 Phaser/ Fonte de $\text{Cu K}\alpha$, $\lambda= 1,5418\text{\AA}$, 15 mA, passo= $0,05^\circ$) e espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X (Thermo Fischer Scientific/ Fonte $\text{Al K}\alpha$ com resolução de 0,1 eV, os espectros de alta resolução para o carbono foram adquiridos usando um tamanho de ponto de $400 \mu\text{m}$).

A superfície do ECV modificado em OG-RE foi caracterizada empregando as técnicas de microscopia de força atômica (FlexAFM-NanoSurf/Modo contato intermitente/ Cantilever TAP 190 AL-G- Budget Sensors/Raio da ponta nominal cerca de 10 nm) e espectroscopia eletroquímica de impedância. Os parâmetros das medidas de impedância utilizaram intervalo de frequência de 100 KHz até 10 mHz e amplitude de 10mV. Os potenciais medidos usando voltametria cíclica com solução de ferricianeto de potássio 1 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ e OCP (potencial de circuito aberto) foram de 0,23 V e 0,22 V, respectivamente.

Um método analítico para determinação da concentração de FUR no fármaco foi realizado utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *high performance liquid chromatography*, HPLC), a fim de comparar com os valores de concentração encontrados pelo método proposto neste trabalho. O equipamento utilizado foi da marca Shimadzu modelo VP-ODS com coluna C18 (250x4,6mm e 5 µm de diâmetro interno). O procedimento de análise do fármaco seguiu as condições descritas por Ram, Dave e Joshi (2012). A pressão foi de 6,9 MPa e o tempo da corrida foi de 6 minutos.

- **Experimentos com dispositivo em papel pintado com lápis de desenho**

As medidas de voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial e espectroscopia de impedância eletroquímica foram utilizados um potenciostato/galvanostato da Autolab® modelo PGSTAT 128 N e o software de aquisição de dados foi o NOVA 1.11. Os gráficos resultantes das medidas foram tratados através do software Origin® versão 8.

Os parâmetros e as técnicas eletroquímicas utilizadas no estudo do comportamento eletroquímico de cada sonda estudada são descritos a seguir:

- **Furosemida**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de 0 V até 1,4V e velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹.

As condições na voltametria de pulso diferencial para a construção da curva de calibração da FUR foram: intervalo de potencial de 0,6 até 1,2 V, amplitude de 50 mV e step de 10 mV.

▪ **Ácido ascórbico**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de -0,3 V até 0,6 V e velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹.

▪ **Cloreto de hexamin rutênio (III)**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de -0,6V até 0,1 V e velocidade de varredura de 10mV s⁻¹

▪ **Ferricianeto de potássio**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de 0,6V até -0,2 V e velocidade de varredura de 10mV s⁻¹.

▪ **Acetaminofeno**

O intervalo de potencial utilizado nas medidas de voltametria cíclica foi de -0,3V até 0,4 V e velocidade de varredura de 10mV s⁻¹.

A caracterização do dispositivo em papel pintado com lápis de desenho foi feita utilizando espectroscopia Raman (Invia Renishaw/laser verde, $\lambda=532$ nm) e microscopia eletrônica de varredura (Jeol-JSM 7401F/FEG). Sua superfície foi caracterizada utilizando a espectroscopia de impedância eletroquímica. Os parâmetros das medidas de impedância utilizaram intervalo de frequência de 100 KHz até 10mHz com amplitude de 0,01 V. Os potenciais medidos usando OCP (potencial de circuito aberto) em solução de ferricianeto de potássio 1 mmol L⁻¹ em KCl 0,1 mol L⁻¹ nos eletrodos em papel pintados com lápis de desenho sem e com ativação por *laser* foram de 0,15 V e 0,094 V, respectivamente.

3.6. Fabricação dos dispositivos utilizando lápis de desenho

Os eletrodos pintados com lápis de desenho foram fabricados segundo as etapas mostradas na figura 23. Inicialmente, foram projetados com auxílio do software Power Point® os quadrados (4x4 cm), que delimitavam as áreas pintadas com lápis. Eles foram impressos utilizando uma impressora convencional HP Deskjet 2546 em papel sulfite. Em seguida, foram pintados usando lápis Faber Castel® 6B. Após essa etapa, os quadrados pintados foram levados para corte e ativação da superfície em uma impressora de corte Work Special 9060C equipada com laser de CO₂. Utilizando o software que acompanha a impressora foram escolhidos o formato e as dimensões do eletrodo de trabalho (ET) e do contra eletrodo (CE). Somente o ET sofre ativação de

sua superfície com laser. Em uma etapa posterior, também com o auxílio do software Power Point® foi desenhado o *layout* da célula eletroquímica com três eletrodos: eletrodo de trabalho, eletrodo auxiliar e eletrodo de referência (ER).

Os parâmetros utilizados na impressora de laser para o corte dos eletrodos foram: potência= 30%, altura= 10mm e velocidade=20 mm s⁻¹. No caso da ativação da superfície do ePD essas condições experimentais foram: potência=8%, altura=10 mm e velocidade= 30 mm s⁻¹.

Este *layout* foi impresso em folha de sulfite em uma impressora a cera da marca Xerox® modelo ColorQube 8570. O objetivo de imprimir a célula eletroquímica com esta impressora foi criar barreiras hidrofóbicas na superfície do papel sulfite e, consequentemente confinar as soluções nas zonas de amostra.

O ET e CE foram fixados no *layout* da célula eletroquímica com auxílio de fita adesiva dupla face e o ER foi pintado com tinta de prata PC-9145/Lote: 111926, formando um eletrodo pseudo-referência de prata. O ER foi pintado no *layout* com tinta de prata e colocado na estufa a 80° durante 20 minutos para que a tinta secasse e a cera fosse derretida. Esta etapa é realizada antes dos outros eletrodos serem fixados no *layout* da célula eletroquímica.

Como última etapa, foi fixada fita crepe Scotch Blue® para delimitar a área dos três eletrodos e garantir que a solução ficasse confinada na zona de amostra e, não entrasse em contato com os fios do contato elétrico. Esta fita foi também fixada na parte traseira do *layout* da célula eletroquímica para evitar que as soluções se infiltrassem no papel sulfite e, também para conferir maior rigidez ao conjunto. O dispositivo em papel final é apresentado na figura 24.

A resistência do eletrodo antes da ativação com laser foi de 0,6 kΩ em 3 cm e, após o tratamento com a laser o valor medido foi de 0,3 kΩ em 3 cm.

Figura 23. Etapas de fabricação do eletrodo pintado com lápis de desenho.

Figura 24. Imagem do dispositivo em papel pintado com lápis de desenho final.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Redução eletroquímica do óxido de grafeno (OG)

Na redução eletroquímica do OG, pode-se afirmar que o “reagente” utilizado são os elétrons, uma vez que, o potencial aplicado fornece a energia necessária para que ocorra a remoção dos grupamentos oxigenados presentes na estrutura deste material. O perfil típico da redução eletroquímica do OG é apresentado na figura 25.

Figura 25. Voltamogramas cíclicos ($n=10$) registrados com OG 1 mg mL^{-1} em meio de Na_2SO_4 50 mmol L^{-1} . $E_i=E_f=1,0$ e $E_{\text{inv}}=-1,2\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} . A seta vermelha na imagem em destaque indica o pico de redução do OG em aproximadamente $-0,8 \text{ V}$, que aparece no primeiro ciclo do voltamograma. As medidas foram realizadas após a desgaseificação do eletrólito suporte com argônio.

É possível observar nos voltamogramas da Figura 25 que um pico de redução aparece em aproximadamente $-0,8 \text{ V}$ no primeiro ciclo, índice I. Este pico desaparece à medida mais ciclos de potencial são aplicados ao sistema, indicando a remoção dos grupamentos oxigenados presentes inicialmente na estrutura de OG. Outro ponto importante a ser salientado é que o sinal de corrente diminui a cada ciclo, isto é, o sinal de corrente se torna cada vez menos negativo em função do número de varreduras no sentido da redução. Uma tentativa de explicar esse comportamento é que o fluxo de elétrons no sistema é menor, visto que os grupamentos oxigenados estão sendo

removidos da superfície do material e resultando em uma menor corrente no sistema eletroquímico. Analogamente, pode-se ilustrar essa explicação, como se houvesse a necessidade de uma quantidade menor de “reagente” (nesse caso, os elétrons) para reduzir os grupos contendo oxigênio, já que estes estão sendo retirados para restabelecer algumas ligações C-C.

Os picos I e II indicados na figura 25 são atribuídos ao par redox quinona-hidroquinona. Os OGs obtidos através do método de Hummers apresentam um comportamento químico reversível, como fica evidente ao analisar a reversibilidade eletroquímica nos voltamogramas da redução do OG (AMBROSI et al., 2016).

4.2. Estudo da resposta eletroquímica de diferentes sondas utilizando o óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente

Inicialmente o comportamento eletroquímico das seguintes sondas redox: ferricianeto de potássio, cloreto de hexamin rutênio (III), ácido ascórbico (AA) e furosemida (FUR) foram estudados utilizando um eletrodo de carbono vítreo (ECV) modificado com óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente (OG-RE).

A escolha dos complexos metálicos teve o intuito de avaliar qual a influência da carga da espécie na interação com a superfície eletródica e a resposta eletroquímica proveniente dessa interação.

A figura 26 mostra os voltamogramas registrados para o ferricianeto de potássio em ECV modificado com OG-RE em diferentes concentrações do modificante. Observa-se que a resposta eletroquímica dessa espécie é semelhante à sua resposta utilizando ECV sem modificação. No entanto, os perfis dos voltamogramas do analito tornam-se mais capacitivos quando há mais material na superfície do eletrodo, o que provavelmente se deve ao aumento da área superficial ocasionado pela modificação da superfície do ECV.

A sonda cloreto de hexamin rutênio (III) também foi estudada e os voltamogramas registrados são apresentados na figura 27. A resposta eletroquímica do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2/+3}$ foi semelhante à resposta do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$, no sentido de não ocorrer um aumento significativo do sinal de corrente. Neste caso, à medida que o ECV foi modificado com concentrações mais altas de OG-RE houve um alargamento do voltamograma, devido provavelmente ao aumento da área e consequente aumento do

caráter capacitivo da superfície. É interessante notar que os sinais de corrente de pico da sonda redox avaliada são bem próximos nas duas condições de modificação.

Figura 26. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de $K_3[Fe(CN)_6]$ 1 mmol L^{-1} em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes condições: (—) ECV; (—) ECV modificado com OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0,6\text{V}$ e $E_{inv}=-0,1\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

Figura 27. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de $[Ru(NH_3)_3]Cl_3$ 1 mmol L^{-1} em meio de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes condições: (—) ECV; (—) ECV modificado com OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0,1\text{V}$ e $E_{inv}=-0,3\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

O fator mais importante a ser considerado quando se estuda as respostas eletroquímicas dos complexos metálicos na superfície de eletrodos baseados em materiais de carbono, é o mecanismo que envolve a transferência de carga e não sua carga, embora inicialmente a escolha de utilizar as espécies $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ e $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2/+3}$ para avaliar seu comportamento eletroquímico no ECV modificado com OG-RE tenha sido devido às suas cargas.

O mecanismo de transferência de carga do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ e do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2/+3}$ para a do eletrodo são diferentes entre si. O $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ é um par redox de esfera interna, isto é, a transferência de elétrons ocorre através do ligantes. Já o $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2/+3}$ é de esfera externa, a transferência de elétrons acontece diretamente no íon metálico central.

Um complexo de esfera externa é chamado de “não sensível” a superfície de um eletrodo baseado em carbono, isto significa que sua constante cinética de reação (k) não é afetada se a superfície do eletrodo possui grupamentos oxigenados ou se foi modificada (salvo um aumento da área eletroativa) com algum filme, não ocorre interação química ou mecanismo catalítico entre a superfície do eletrodo ou algum grupamento presente na mesma. O eletrodo funciona como uma fonte de elétrons, em que a estrutura eletrônica do material do eletrodo é o fator decisivo para este tipo de mecanismo. Por esta razão, não foi observado um aumento no sinal de corrente quando se compara a resposta eletroquímica do $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2/+3}$ na superfície do ECV e do ECV modificado com OG-RE. No caso, do complexo de esfera interna a superfície do eletrodo possui grande influência no seu valor de k e ele é chamado de “sensível” (a superfície do eletrodo). As interações complexo-eletrodo dependem da presença e/ou ausência de grupamentos oxigenados na superfície eletródica e também da limpeza, microestrutura ou modificação desta superfície. A transferência eletrônica do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ é mais afetada pelas condições da superfície do eletrodo do que pela presença de grupamentos oxigenados (BROWNSON; BANKS, 2014; MCCREERY, 2008). Este fato pode explicar porque o aumento no sinal de corrente $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3/-4}$ na superfície modificada foi mais expressivo do que o observado para $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+2/+3}$, ainda que essa comparação seja qualitativa, uma vez que os sinais de corrente não foram normalizados de acordo com a área eletroativa. Outro aspecto a ser destacado é que o fato de existirem grupamentos oxigenados remanescentes na superfície do eletrodo

não melhorou a transferência de carga no ECV modificado e, conseqüentemente o sinal de corrente não aumentou de maneira expressiva em relação ao ECV.

Após o estudo empregando complexos metálicos optou-se por analisar o comportamento eletroquímico de espécies orgânicas frente à modificação da superfície do eletrodo de carbono vítreo com OG-RE em diferentes condições experimentais. Inicialmente o composto escolhido foi o ácido ascórbico (AA), devido ao seu monitoramento ser importante em meios biológicos, e por apresentar uma velocidade de transferência eletrônica mais lenta que os compostos anteriormente avaliados.

Diferentemente da resposta observada e já discutida das outras sondas redox, o AA apresentou tanto um expressivo efeito catalítico; com antecipação no seu potencial de oxidação de aproximadamente 300 mV; quanto um aumento no sinal de corrente, indicando que ao utilizar o ECV modificado com OG-RE houve um aumento de detectabilidade (Figura 28).

Figura 28. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de AA 1 mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH=6,8) em diferentes condições: (—) ECV; (—) ECV modificado com OG-RE 0,5 mg mL⁻¹ e (—) ECV modificado com OG-RE 1mg mL⁻¹. Ei=Ef= -0,4V e Einv=0,6V. Velocidade de varredura= 50 mV s⁻¹. As soluções foram desgaseificadas com argônio.

O efeito catalítico observado para o AA em superfícies de carbono que contém grupamentos oxigenados pode ser explicado pela formação de uma ligação de hidrogênio entre átomos de hidrogênio ligados a grupamentos que contém oxigênio na

estrutura do material de carbono e o átomo de oxigênio do grupamento carbonílico da estrutura do AA. Essa ligação química aumenta a acidez do hidrogênio do grupamento hidroxila do AA, resultando a facilitação da oxidação desta espécie em ácido dehidroascórbico (CHANG et al, 2010).

A resposta eletroquímica da furosemida (FUR) utilizando o ECV modificado com OG-RE também foi investigada. Os voltamogramas registrados são mostrados na figura 29.

Avaliando-se a resposta eletroquímica da FUR pode-se notar que houve um aumento expressivo dos sinais de corrente anódica, aproximadamente 77 vezes, quando se utilizou o ECV modificado com OG-RE em relação ao ECV sem modificação. Além disso, observou-se uma melhor definição dos picos de oxidação do analito. Diferente do que foi observado para o AA, no caso da FUR não houve uma antecipação dos potenciais dos processos de oxidação e o efeito causado pela modificação foi em relação ao aumento de detectabilidade.

Figura 29. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) em diferentes condições: (—) ECV; (—) ECV modificado com dispersão de OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) ECV modificado com dispersão de OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f= 0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}= 1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

Os mecanismos que envolvem os processos de eletrocatalise de espécies orgânicas em superfícies eletródicas de carbono ainda não são exatamente explicados na literatura e como foi observado nos casos do AA e da FUR, cada espécie interage de maneira distinta na mesma superfície. Porém, uma aproximação pode ser feita em relação ao comportamento dessas espécies frente à superfície do eletrodo observadas experimentalmente, uma vez que há uma tendência maior das moléculas orgânicas se adsorverem em uma superfície de carbono e a presença de grupos oxigenados funcionam como sítios ativos para reações redox (MCCREERY, 2008).

4.3. Estudo da resposta eletroquímica da FUR em diferentes materiais eletródicos

A FUR apresentou uma resposta eletroquímica bastante interessante do ponto de vista analítico no ECV modificado com OG-RE, desta maneira realizou-se uma investigação de como esta resposta seria influenciada modificando o ECV com materiais de carbono análogos.

Foi avaliada a resposta da FUR no ECV modificado com OG-RE provenientes de OGs menos oxidados do que o descrito na síntese de Hummers. Na síntese desses materiais foram empregadas quantidades diferentes do agente oxidante. Na síntese de OG* e OG** foi utilizado $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da massa de agente oxidante, respectivamente. O intuito de fazer essas modificações na síntese do material de partida foi estudar como o grau de oxidação do material usado influenciaria na resposta eletroquímica do analito.

A figura 30 apresenta os voltamogramas da FUR no ECV modificado com OG*-RE.

Figura 30. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato ($\text{pH}=6,8$) usando eletrodo de carbono vítreo: (—) sem modificação, (—) modificado com dispersão de OG^* -RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) modificado com dispersão de OG^* -RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}=1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

Pode-se notar que ocorreu um ganho no sinal de corrente para a oxidação do analito. Esse aumento foi mais expressivo, aproximadamente 14 vezes, quando o eletrodo foi modificado com OG^* -RE 1 mg mL^{-1} , indicando que uma quantidade maior de material promove um aumento no sinal de corrente. Isto pode acontecer devido a um aumento na área eletroativa da superfície do ECV.

O efeito verificado na resposta da FUR com ECV modificado com OG^{**} -RE foi diferente em relação a resposta do analito nos eletrodos modificados com OG^* -RE e OG-RE. Neste caso, o material estava menos oxidado, ou seja, utilizou-se uma massa $\frac{1}{4}$ menor de agente oxidante do que a descrita no método de Hummers e, consequentemente este material continha menos grupamentos oxigenados. Os voltamogramas da FUR (Figura 31) mostram que também ocorreu a definição dos processos de oxidação do analito, talvez pelo fato da superfície do eletrodo possuir alguns grupos com oxigênio e um aumento de aproximadamente 4 vezes na detectabilidade do analito em relação ao ECV sem modificação.

Figura 31. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato ($\text{pH}=6,8$) usando eletrodo de carbono vítreo: (—) sem modificação; (—) modificado com dispersão de OG^{**} -RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) modificado com dispersão de OG^{**} -RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}=1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

Os OGs provenientes da síntese de Hummers, tanto o OG “usual” (sintetizado com a massa de agente oxidante descrita no procedimento de Hummers) quanto os OG^* e OG^{**} foram caracterizados por meio da técnica de difração de raios-X (Figura 32)

Figura 32. Padrões de difração de raio X do grafite e dos OGs com diferentes graus de oxidação.

O padrão de raio-X para o grafite obtido experimentalmente apresenta um pico 2θ de aproximadamente 26° e está de acordo com o que está descrito na literatura (AMBROSI et al., 2014). A distância interplanar correspondente é de 0,334 nm. Nota-se, no entanto, que a medida que o grafite foi oxidado, este pico de difração intenso desaparece e surge outro pico 2θ em aproximadamente $10,6^\circ$ a 11° , que corresponde a um aumento na distância entre os planos do grafite, devido a introdução de grupos contendo oxigênio, de 0,80 a 0,83 nm

O pico de difração típico do grafite desapareceu completamente no OG, indicando que a oxidação foi bem-sucedida e que não há domínios residuais de estrutura grafítica. No caso do OG*, há um pico de difração que corresponde ao grafite de intensidade muito pequena, demonstrando que existem um domínio residual de estrutura grafítica e que o processo de oxidação não ocorreu completamente. A intensidade do pico característico do grafite é ainda maior no OG**, sinalizando que a quantidade de agente oxidante empregado na síntese não foi suficiente para promover uma oxidação eficiente, pois o material possui um grande domínio de estrutura grafítica. Isto é evidenciado também, no fato de o pico de difração que corresponde ao aumento da distância entre os planos do grafite ser muito pequeno, demonstrando que ocorreu uma variação sutil nesta distância.

A caracterização dos materiais modificadores trouxe informações que combinadas com a resposta eletroquímica da FUR nas diferentes superfícies são importantes para começar a compreender a reatividade dessas superfícies. Portanto, há indícios, através dos dados experimentais, que um material precursor da redução eletroquímica mais oxidado, isto é, que contenha mais grupamentos oxigenados, fornece mais pontos ativos na superfície para que ocorra os processos redox da espécie estudada. Se o aumento da detectabilidade da FUR, quando são comparados os diferentes materiais precursores com diferentes graus de oxidação, fosse só um efeito do aumento da área eletroativa, isto deveria ser visualizado nos voltamogramas obtidos. Desta maneira, acredita-se que a redução eletroquímica e, conseqüentemente o reestabelecimento de algumas ligações sp^2 , que conferem boa condutividade ao material, defeitos estruturais (serão discutidos através dos espectros Raman) e também a presença de grupamentos oxigenados no material são características importantes quando se estuda o processo de oxidação da FUR.

4.4. Estudo da resposta eletroquímica da FUR em diferentes condições experimentais de redução eletroquímica do OG

Foi estudado a influência da redução eletroquímica do OG em diferentes faixas de potenciais na resposta eletroquímica da FUR.

A figura 33 mostra os voltamogramas da FUR com ECV modificado com OG-RE em uma faixa de potencial de 1 até -1,2 V. Estes voltamogramas já foram mostrados na seção 5.2, mas serão novamente apresentados, com o intuito de facilitar a comparação e a discussão em relação as condições experimentais empregadas na modificação.

Como foi já mencionado anteriormente, o sinal de corrente dos processos de oxidação do analito aumentam em aproximadamente 14 vezes no ECV modificado em relação ao ECV não modificado.

Figura 33. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio de tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) em diferentes condições: (—) ECV; (—) ECV modificado com dispersão de OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) ECV modificado com dispersão de OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f= 0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}= 1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

A redução eletroquímica foi realizada em uma faixa de potencial restrita a região negativa (0 até $-1,2 \text{ V}$), a fim de avaliar se a resposta eletroquímica da FUR seria diferente daquela apresentada quando a redução foi feita em uma região mais de potencial mais ampla (1 até $-1,2 \text{ V}$).

A figura 34 apresenta os voltamogramas obtidos com o eletrodo modificado na faixa de 0 até $-1,2 \text{ V}$. O sinal de corrente anódica da FUR no ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} foi de aproximadamente 17 vezes em relação ao ECV sem modificação. Dessa forma, pode-se concluir que a resposta eletroquímica da espécie de interesse foi afetada quando a faixa de potencial da redução eletroquímica foi alterada.

Figura 34. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) usando eletrodo de carbono vítreo: (—) sem modificação, (—) modificado com dispersão de OG-RE $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ e (—) modificado com dispersão de OG-RE 1 mg mL^{-1} . $E_i=E_f=0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}=1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

Outra abordagem de modificação da superfície do ECV foi realizar a ativação de sua superfície. Segundo reportado por Santhiago et al. (2015) a superfície do ECV sofreu uma oxidação eletroquímica, que gerou um material com resposta eletroquímica semelhante ao do óxido de grafeno. Esta estratégia foi utilizada, a fim de comparar a resposta eletroquímica da FUR com ECV modificado com OG-RE e com o ECV ativado.

Os voltamogramas registrados são mostrados na figura 35. A resposta da FUR observada no ECV ativado foi interessante, o sinal de corrente anódica aumentou aproximadamente 3 vezes e houve uma boa definição nos processos de oxidação do analito. O aumento do sinal de corrente talvez não tenha sido tão expressivo quando comparado com o ganho de sinal de corrente nas outras modificações discutidas anteriormente, devido a efeitos de área, uma vez que na abordagem da ativação do ECV, sua superfície foi tratada eletroquimicamente e não se utilizou nenhum material que formasse um filme na mesma.

Figura 35. Voltamogramas cíclicos registrados com solução de FUR $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH}=6,8$) usando eletrodo de carbono vítreo: (—) sem modificação e (—) ativado. $E_i=E_f=0\text{V}$ e $E_{\text{inv}}=1,4\text{V}$. Velocidade de varredura= 50 mV s^{-1} .

Diante das estratégias de modificação do ECV com diferentes materiais de carbono optou-se, devido ao aumento expressivo na detectabilidade da FUR, pela modificação do ECV com OG-RE 1 mg mL^{-1} na realização de todas os estudos que serão mostrados nas seções seguintes.

4.4.1. Estudo do número de ciclos para redução eletroquímica do OG

A condição experimental escolhida para a redução eletroquímica do OG 1 mg mL^{-1} para os estudos com a FUR foi escolhida baseada no ganho de sinal de corrente dos seus processos de oxidação, portanto como houve uma diferença apreciável entre modificar o ECV utilizando uma janela de potencial ampla (1 até $-1,2 \text{ V}$) em relação à janela de potencial restrita (0 até $-1,2 \text{ V}$), optou-se por empregar o primeiro procedimento. Essa escolha se deve ao aumento na detectabilidade do analito, aproximadamente 77 vezes, no ECV modificado em uma janela de potencial de 1 até $-1,2 \text{ V}$.

Outro parâmetro relevante considerado foi o número de ciclos ótimos na voltametria cíclica para realizar a redução eletroquímica.

As tabelas 1 e 2 relacionam os números de ciclos e os sinais de corrente provenientes do primeiro e segundo processo de oxidação da FUR. Como pode ser observado, tanto para o primeiro processo de oxidação (pico I) quanto para o segundo processo de oxidação (pico II), um sinal de corrente mais alto foi obtido quando a redução eletroquímica do OG foi realizada utilizando 10 ciclos.

Tabela 1. Otimização do número de ciclos para a redução eletroquímica do OG. Os valores de corrente mostrados são referentes ao pico I.

Número de ciclos	<i>I</i> /μA
1	1,89
5	4,21
10	7,91
20	7,39
40	4,68
60	7,87

Tabela 2. Otimização do número de ciclos para a redução eletroquímica do OG. Os valores de corrente mostrados são referentes ao pico II.

Número de ciclos	<i>I</i> /μA
1	3,32
5	8,95
10	17,2
20	16,8
40	9,68
60	16,3

4.5. Caracterizações da superfície do ECV modificado

A superfície do ECV modificado com OG-RE foi caracterizada utilizando a microscopia eletrônica de varredura, conforme ilustra a figura 36.

Figura 36. Imagens MEV: **(A)** superfície do ECV modificado com OG-RE e **(B)** folhas de OG-RE agregadas.

A figura 36 A mostra como o OG-RE está distribuído na superfície do ECV, este material não recobre de forma homogênea a superfície e são observadas “ilhas”, ou seja, regiões onde este material se concentra. Na figura 36 B a imagem MEV mostra mais detalhadamente as folhas agregadas que compõem as pequenas “ilhas”, formando um sólido desordenado.

A espectroscopia Raman também foi utilizada para a caracterização dos materiais modificadores da superfície do ECV. A figura 37 apresenta os espectros Raman para o OG e o OG-RE. O OG não foi utilizado para modificar a superfície do eletrodo, mas seu espectro é mostrado a fim de comparar as mudanças estruturais provenientes do processo de redução, seja química ou eletroquímica.

Pode-se observar a partir do espectro, a presença as bandas características de materiais baseados em grafeno. A banda G é resultado das vibrações no plano das ligações carbono com hibridização sp^2 e aparece aproximadamente em 1580 cm^{-1} . A banda D está relacionada a presença de defeitos estruturais (bordas, ligações carbono sp^3 , lacunas, entre outras) e é resultante das vibrações fora do plano das ligações carbono sp^2 , aparece em aproximadamente em 1360 cm^{-1} . A banda 2D aparece em

aproximadamente 2700 cm^{-1} e se relaciona com o número de camadas de grafeno. Quando há apenas uma camada de grafeno esta banda é intensa e fina, à medida que o número de camadas aumenta a banda 2D fica alargada (aparecem outras sub-bandas) e sua intensidade diminui (AMBROSI et al., 2014).

Figura 37. Espectros Raman dos materiais baseados em carbono utilizados na modificação do ECV.

Pode-se observar, a partir do espectro apresentado que as bandas D, G e 2D do OG, aparecem $1347,66\text{ cm}^{-1}$, $1589,13\text{ cm}^{-1}$ e 2709 cm^{-1} , respectivamente. No OG-RE elas aparecem em $1344,54\text{ cm}^{-1}$, $1600,80\text{ cm}^{-1}$ e $2693,32\text{ cm}^{-1}$, respectivamente.

A relação I_D/I_G para o OG e OG-RE foi de 0,98 e 1,15, respectivamente. Essa relação fornece um indício do grau de desorganização estrutural dos materiais. A relação I_D/I_G próximo de zero indica que o material possui uma estrutura cristalina gráfitica, quando o valor dessa relação aumenta, significa que o material perdeu sua característica cristalina, tornando-se mais desorganizado estruturalmente (JEZINI, 2015).

Analisando-se os valores de I_D/I_G pode-se perceber que o processo de redução do OG resultou em uma maior desorganização estrutural, que pode ser atribuído ao restabelecimento de algumas ligações sp^2 e defeitos na estrutura do material (diminuição de domínios gráfiticos na estrutura).

A espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X foi utilizada para quantificar a proporção entre átomos de C e O presentes na estrutura do OG e do OG-RE. Os espectros do OG e OG-RE são mostrados na figura 38, que apresentam os picos em 284 e 530 eV, que correspondem as transições C1s e O1s, respectivamente.

Figura 38. Espectros de fotoelétrons excitados por raios-X das transições O1s e C1s: **(A)** OG e **(B)** OG-RE.

A proporção entre as intensidades dos picos das transições O1s e C1s pode ser utilizada para estimar a quantidade de carbono e oxigênio nos materiais derivados de grafeno. A proporção C/O para o OG foi 2,35 e para o OG-RE foi 5,56, demonstrando que houve uma diminuição na quantidade de grupamentos oxigenados no material.

Os espectros de alta-resolução C1s foram deconvoluídos e são mostrados na figura 39. Na figura 39 A o espectro do OG indica a presença de uma quantidade considerável de grupamentos contendo oxigênio, especialmente ligações C-O (45,7%) que estão associadas a presença de grupamentos epóxi e hidroxílicos. Após a redução eletroquímica, a quantidade de ligações C-O diminuiu para 38,5%, enquanto que a quantidade de ligações C=C aumentou de 0,12 para 59,9% (Figura 39 B), sugerindo que a redução eletroquímica promoveu a restauração de ligações C-C com hibridização sp^2 na estrutura.

Figura 39. Espectros de fotoelétrons excitados por raios-X carde alta-resolução C1s: (A) OG e (B) OG-RE.

A rugosidade da superfície do ECV não modificado e modificado em OG-RE foi calculada através das imagens de MFA (Figura 40). Os valores de rugosidade obtidos para essas superfícies foram 14,20 e 19,96 nm, respectivamente.

Figura 40. Imagens MFA: (A) ECV não modificado e (B) ECV modificado com OG-RE.

O aumento no valor de rugosidade pode indicar que existe na superfície, após a modificação, uma maior superfície de contato (ou área de contato), ou seja, este parâmetro pode ser relacionado com a área do ECV não modificado e modificado. A rugosidade do ECV antes e depois da modificação aumentou por um fator de 1,4. Isto significa que, mesmo com o eletrodo modificado o aumento no valor de rugosidade não foi tão expressivo quanto se esperava, uma vez que analisando os voltamogramas cíclicos da FUR no ECV não modificado e modificado com OG-RE a variação no sinal de corrente anódica do analito aumentou 77 vezes. Logo, algum outro fator, além da área influenciou o aumento da detectabilidade da FUR no ECV modificado com OG-RE. Acredita-se que esse outro fator possa ser a presença de grupos funcionais remanescentes na estrutura do material modificador após a redução eletroquímica.

A resistência a transferência de carga na interface eletrodo-solução foi estudada empregando a espectroscopia eletroquímica de impedância. Neste caso, foi avaliado como a modificação da superfície do ECV com OG e OG-RE influenciou a transferência de carga, isto é, se este processo foi facilitado ou não com a modificação em relação a superfície do ECV não modificado.

A figura 41 apresenta o espectro de impedância do ECV sem modificação e modificado com OG e OG-RE 1 mg mL^{-1} . É possível notar que quando o ECV foi modificado com OG houve o aparecimento de um arco capacitivo bem definido, indicando que a resistência a transferência de carga nesta superfície aumentou em relação ao ECV não modificado. Este comportamento já era esperado, uma vez que o OG é considerado como um material isolante. O valor de resistência a transferência de carga (R_{tc}) para o ECV foi de $0,410 \text{ k}\Omega$ enquanto que para o ECV modificado com OG foi de $20,5 \text{ k}\Omega$.

O espectro de impedância para o ECV modificado com OG-RE não apresenta um arco capacitivo como no ECV modificado com OG. Isto significa que ocorreu uma diminuição na resistência a transferência de carga com um valor de R_{tc} de $0,012 \text{ k}\Omega$.

Comparando os valores de R_{tc} fica claro que a modificação do ECV com OG-RE melhorou a transferência de carga na interface eletrodo-solução.

Analisando de maneira mais atenta o espectro de impedância do ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} percebe-se que a difusão foi dificultada, este fato pode ser explicado levando-se em consideração a carga na superfície do eletrodo, que

devido aos grupamentos oxigenados remanescentes, estaria negativa, causando a repulsão dos ânions ferricianeto em solução.

Figura 41. Espectros de impedância eletroquímica: (►) ECV não modificado; (●) ECV modificado com OG e (◆) ECV modificado com OG-RE. No detalhe: zoom do espectro de impedância do ECV não modificado.

Um circuito equivalente (CE) foi proposto para explicar em termos elétricos o que acontece na superfície do ECV modificado com OG-RE, conforme é mostrado na figura 42.

O componente CPE (do inglês *constant phase elemento* ou elemento de fase constante) foi utilizado no CE, porque a superfície do eletrodo é naturalmente irregular, ou seja, ela não é um capacitor puro. Existem dois CPE no CE, o CPE1 se refere a área ativa do eletrodo não modificado e o CPE2 a área ativa modificada. A inclusão dessas duas componentes é importante, pois leva em consideração que quando a superfície do eletrodo é modificada resulta em uma superfície mista com um valor de capacitância próprio diferente daquele quando o eletrodo não está modificado. O componente de difusão empregado no CE foi Gerischer (G) e não Warburg (W), como é comumente visto em muitos trabalhos. A componente de difusão G foi utilizada considerando as reações químicas acopladas que o ferricianeto sofre.

Figura 42. Circuito equivalente proposto para o ECV modificado com OG-RE.

4.6. Mecanismo de oxidação da FUR

O mecanismo de oxidação da FUR foi investigado no ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} , a fim de comparar com as informações presentes na literatura.

Existem na literatura algumas propostas do mecanismo de oxidação da FUR em eletrodos baseados em carbono. Segundo Semaan et al. (2008) o processo de oxidação da FUR em um eletrodo composto de grafite-poliuretana envolve a perda de 2 elétrons e 1 próton. Inicialmente, o grupamento amina dá origem a um cátion radical seguida da perda de 1 elétron e um próton.

Malode et al. (2012) propôs que o mecanismo de oxidação da FUR em um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono envolve a perda de 2 elétrons e 2 prótons. Bukkitgar e Shetti (2016) também confirmam essa hipótese e o mecanismo de FUR em um eletrodo de grafite-poliuretana proposto é mostrado na figura 43.

Figura 43. Mecanismo de oxidação da FUR em eletrodo de grafite –poliuretana proposto por Shett e Bukkitgar (2016).

O número de elétrons envolvidos na oxidação da FUR foi obtido a partir dos valores de $w_{1/2}$ (largura a meia-altura do pico) dos voltamogramas de pulso diferencial, sendo que as médias dos valores de $w_{1/2}$ para o primeiro processo foi $0,090 \pm 0,01$ mV e, para o segundo processo foi de $0,094 \pm 0,01$ mV. Desta forma, pode-se concluir que o número de elétrons envolvidos em cada processo foi 1.

A figura 44 mostra a variação dos potenciais de oxidação em relação ao pH, sugerindo que o processo de oxidação do analito é dependente do pH. Analisando o gráfico nota-se que à medida que o valor do pH aumenta, o segundo processo de oxidação torna-se menos positivo. Além disso, as intensidades dos sinais de corrente diminuem à medida que o meio fica menos ácido. Em pH=12 o pico referente ao primeiro processo de oxidação da FUR desaparece e só o pico referente ao segundo processo é observado. Esses resultados estão de acordo com os resultados descritos na literatura a respeito da dependência do analito em função da variação do pH em eletrodos baseados em carbono (BARROSO; ALONSO; JIMÉNEZ, 1995; MALODE et al., 2012; SEMAAN et al., 2008).

Figura 44. Voltamogramas de pulso diferencial de uma solução de FUR $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ em ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} registrados em tampão fosfato em diferentes valores de pH: (■) 1,46; (■) 2,03; (■) 3,09; (■) 4,77; (■) 5,50; (■) 6,80; (■) 7,19; (■) 8,00; (■) 10,02 e (■) 12,08. Amplitude= 50 mV. Step= 10 mV.

O gráfico E_p em função do pH mostrado na figura 45 fornece informações a respeito da relação entre o número de prótons e o número de elétrons envolvidos na oxidação da FUR. Desta maneira, observa-se que na faixa de pH=1 até pH=5,5, o número de prótons é igual ao número de elétrons, uma vez que a inclinação da reta que une esses pontos no gráfico possui valores próximos a 60 mV, no primeiro processo a inclinação foi de 45,8 mV e no segundo foi de 52,9 mV. Portanto, pode-se afirmar que a oxidação do analito no ECV modificado com OG-RE 1 mg mL⁻¹ envolve a perda de 1 próton e um elétron.

Na faixa de pH=7,19 até pH=12, as inclinações das retas do primeiro e segundo processo foram 11,6 mV e 8,53 mV, respectivamente, e não geraram nenhuma informação a respeito do mecanismo. Nesses valores de pH a molécula de FUR está desprotonada, de modo que não há saída de prótons, somente elétrons serão perdidos.

Figura 45. Dependência dos potenciais de pico da FUR em função da variação do pH do meio reacional.

4.7. Detecção eletroquímica da FUR empregando voltametria de pulso diferencial

Empregou-se a técnica voltametria de pulso diferencial no desenvolvimento de método analítico para detecção de FUR utilizando ECV modificado com OG-RE 1 mg mL⁻¹. Os parâmetros otimizados são apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros otimizados na voltametria de pulso diferencial para detecção de FUR.

Amplitude	50 mV
Step	10 mV
Velocidade de varredura	50 mV s ⁻¹

A faixa de concentração das soluções padrão de FUR para a construção da curva de calibração foi de 10 a 100 µmol L⁻¹. Para cada ponto registrado da curva de calibração, a superfície do ECV foi polida e modificada com OG-RE, uma vez que o analito adsorveu na superfície do eletrodo. A figura 46 mostra a curva analítica da FUR obtida.

Os limites de detecção (LD) calculados para a detecção dos picos I e II foram de 0,25 e 0,39 mmol L⁻¹, respectivamente, e os limites de quantificação (LQ) foram 0,85 e 1,3 mmol L⁻¹, respectivamente.

As curvas de calibração obtidas para a detecção dos processos de oxidação da FUR apresentaram boa correlação. No entanto, a necessidade de polimento entre cada medida comprometeu a frequência de análise, uma vez que realizar o polimento da superfície do ECV e modificá-la novamente demanda tempo.

Figura 46. Voltamogramas de pulso diferencial registrados utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} em diferentes concentrações de soluções de FUR: **(a)** eletrólito suporte tampão fosfato ($\text{pH} = 6,8$); **(b)** 10, **(c)** 20, **(d)** 40, **(e)** 60, **(f)** 80 e **(g)** $100 \mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros: Amplitude = 50 mV. Step = 10mV. Abaixo na figura: curvas de calibração dos processos de oxidação da FUR, denominados como I e II.

Como alternativa para melhorar a frequência analítica optou-se por construir a curva analítica através de adições sucessivas do analito, sem polimento entre cada medida, o resultado é mostrado na figura 47.

Figura 47. Voltamogramas de pulso diferencial registrados utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} em diferentes concentrações de soluções de FUR: **(a)** tampão fosfato ($\text{pH} = 6,8$), **(b)** 10, **(c)** 20, **(d)** 40, **(e)** 60, **(f)** 80 e **(g)** $100 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Amplitude=50 mV. Step=10mV.

Nota-se que quando se realiza a adição sucessiva das soluções padrão de FUR na célula eletroquímica não é possível obter linearidade nas medidas. Isto acontece devido a adsorção do analito, que bloqueia a superfície eletroativa.

4.8. Detecção eletroquímica da FUR empregando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica

A fim de minimizar o problema da adsorção do analito na superfície do eletrodo modificado utilizou-se a análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica na detecção analítica da FUR, já que esta técnica permite um contato muito rápido entre o analito e a superfície do eletrodo.

Inicialmente, alguns parâmetros do FIA foram otimizados no desenvolvimento do método analítico, tais como: vazão, volume da alça de amostragem, repetibilidade, efeito de memória. O potencial de trabalho escolhido para detecção de FUR foi 0,9V, em que o primeiro processo de oxidação do analito ocorre.

A vazão ótima escolhida para a detecção de FUR foi de $7,2 \text{ mL min}^{-1}$ (Figura 48), devido ao maior sinal de corrente ($0,46 \text{ } \mu\text{A}$) em relação a vazões menores estudadas. Apesar da vazão de $8,2 \text{ mL min}^{-1}$ apresentar um sinal de corrente mais elevado ($0,58 \text{ } \mu\text{A}$) em relação à vazão escolhida, ela não foi utilizada para minimizar o consumo de eletrólito.

Figura 48. Otimização da vazão no sistema FIA utilizando solução padrão de FUR $20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ no ECV modificado com OG-RE 1 mg mL^{-1} . Potencial de trabalho: $0,9 \text{ V}$.

Outro parâmetro estudado foi o volume da alça de amostragem e o resultado obtido é mostrado na figura 49. Pode-se observar que o sinal de corrente aumenta ligeiramente com o aumento do volume da alça de amostragem.

O volume da alça de amostragem escolhido foi o de $100 \text{ } \mu\text{L}$, cujo valor de corrente foi de $0,48 \text{ } \mu\text{A}$. Analisando o gráfico é possível observar que os valores dos sinais de corrente para as alças de amostragem de 200 e $300 \text{ } \mu\text{L}$ foram de $0,53$ e $0,57 \text{ } \mu\text{A}$, respectivamente. Embora os sinais de corrente para as alças de 200 e $300 \text{ } \mu\text{L}$ tenham sido maiores, optou-se por utilizar uma alça com um volume menor a fim de garantir um consumo menor de solução padrão/amostra. Desta forma, pode-se aliar um gasto menor dos reagentes com um valor de corrente próximo aos apresentados para alças com volumes maiores.

Figura 49. Otimização do volume da alça de amostragem no sistema FIA utilizando solução padrão de FUR $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ no ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} . Potencial de trabalho: $0,9 \text{ V}$.

Avaliou-se também a repetibilidade ($n=15$) das injeções das soluções padrão de FUR $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura 50). O coeficiente de variação para essas medidas foi de $1,8\%$, indicando pequena variabilidade na resposta do ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} .

O valor do sinal de corrente para as injeções de FUR $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ neste experimento foi de $0,76 \mu\text{A}$ (considerando a média dos valores de corrente das injeções), enquanto que nos experimentos anteriores esse valor foi de aproximadamente $0,48 \mu\text{A}$, considerando as condições de vazão e volume da alça de amostragem otimizadas. Essa variação pode ser explicada devido à modificação do eletrodo, pois cada modificação é uma superfície diferente. Outro fator é a questão temporal, que está relacionada com a reprodutibilidade da modificação da superfície eletródica.

Figura 50. Injeções repetidas ($n=15$) de solução padrão de FUR $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ em ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} . Potencial de trabalho: $0,9 \text{ V}$. Vazão: $7,2 \text{ mL min}^{-1}$. Volume da alça: $100 \mu\text{L}$.

O “efeito de memória” do eletrodo modificado foi avaliado com o objetivo de verificar a duração da vida útil da superfície eletroativa após injeções sucessivas de concentrações crescentes do analito, conforme indicado na figura 51.

Nota-se a partir do diagrama, que os sinais de corrente anódica da FUR nas injeções de concentrações decrescentes das soluções padrão diminuem, indicando que houve alguma mudança na superfície eletroativa, provavelmente devido à adsorção do analito, ainda que as concentrações dos padrões fossem baixas e o tempo de contato com esta superfície fosse rápido. Outra informação relevante a ser considerada pela análise deste diagrama é que a queda nos sinais de corrente (considerando as injeções de concentrações de FUR decrescentes) foi mais expressiva para as concentrações mais baixas (de $2,5$ a $20 \mu\text{mol L}^{-1}$). Pode-se observar que mesmo empregando a análise por injeção em fluxo houve adsorção do analito na superfície eletródica, uma vez que após diversas injeções o sinal de corrente anódica da FUR decresce. Esse efeito causado pela adsorção é uma desvantagem quando se pensa na aplicação deste método em larga escala, pois poderia prejudicar a precisão e a exatidão da análise.

Figura 51. Injeções de soluções padrão de FUR em ECV modificado com OG-RE 1 mg mL⁻¹: **(a)** 2,5; **(b)** 5,0; **(c)** 10; **(d)** 20 e **(e)** 40 μmol L⁻¹. Potencial de trabalho: 0,9 V. Vazão: 7,2 mL min⁻¹. Volume da alça: 100 μL.

A figura 52 apresenta a curva analítica com diferentes concentrações de soluções padrão de FUR no ECV modificado com OG-RE 1mg mL⁻¹. A curva de calibração mostrou boa correlação entre os pontos com $R^2=0,998$.

A frequência analítica calculada foi de 450 determinações/hora, levando em consideração que em média o tempo de lavagem de cada injeção na curva analítica seja de 8 segundos.

Analisou-se uma amostra de fármaco como aplicação do método proposto. A análise da amostra foi realizada por meio de curva de calibração externa com os padrões de furosemida. Através da equação da reta da curva de calibração foi possível determinar as concentrações de FUR no fármaco. As medidas foram feitas em quadruplicata ($n=4$). Como técnica comparativa ao método proposto utilizou-se cromatografia líquida de alta eficiência e as medidas foram feitas em triplicata ($n=3$). Os resultados obtidos são mostrados na tabela 4.

Figura 52. Curva analítica de soluções padrão de FUR em ECV modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} : (a) 2,5; (b) 5,0; (c) 10; (d) 20, (e) 30 e (f) $40\ \mu\text{mol L}^{-1}$. No detalhe: curva de calibração das soluções padrão de FUR. $R^2=0,998$, coeficiente linear= $0,0880$ e coeficiente angular= $0,0230$. Potencial de trabalho: $0,9\ \text{V}$. Vazão: $7,2\ \text{mL min}^{-1}$. Volume da alça: $100\ \mu\text{L}$.

Tabela 4. Resultados do método analítico proposto (sistema FIA com detecção amperométrica) e do método comparativo (cromatografia líquida de alta eficiência) de quantificação da FUR em amostra de fármaco.

Amostra	Concentração de FUR		
	Concentração nominal (mg)	Método proposto (mg)	Método comparativo (mg)
Teuto®	40,0	$38,1 \pm 2$	$40,9 \pm 0,9$

Foi realizada a análise estatística dos dados de concentração de FUR obtidos pelos dois métodos através do teste T, utilizando um intervalo de confiança de 95% os resultados não apresentaram uma diferença significativa, indicando que eles podem ser comparados.

Os limites de detecção e quantificação calculados para o método proposto foram de 0,35 e 1,18 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Comparando esses valores para o sistema FIA com detecção amperométrica com os valores de LD e LQ obtidos empregando a voltametria de pulso diferencial pode-se notar que houve uma diminuição das concentrações detectáveis pelo método utilizado. Isto significa que houve um aumento na sensibilidade do ECV modificado com OG-RE 1 mg mL⁻¹ na detecção do analito.

4.9. Dispositivo em papel utilizando lápis de desenho

4.9.1 Estudo da resposta eletroquímica de diferentes sondas utilizando eletrodos em papel pintados com lápis de desenho

A resposta eletroquímica de diferentes sondas eletroquímicas foi avaliada utilizando o eletrodo em papel pintado com lápis de desenho antes e depois da ativação de sua superfície com o laser. Para facilitar a compreensão quando os resultados forem comparados, os eletrodos de papel pintado com lápis de desenho antes da ativação serão chamados de eletrodos de papel-grafite (EP_G) e os eletrodos de papel pintado com lápis de desenho ativado por *laser* serão chamados de eletrodos de papel-laser (EP_L). A figura 53 apresenta os voltamogramas registrados no EP_G e EP_L para as espécies [Ru(NH₃)₆]Cl₃ e K₃[Fe(CN)₆].

Figura 53. Voltamogramas cíclicos registrados nos (—) EP_G e (---) EP_L para soluções padrão de (A) [Ru(NH₃)₆]Cl₃ 1 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ e (B) K₃[Fe(CN)₆] 3 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹. Velocidade de varredura: 10 mV s⁻¹.

É possível notar comparando-se as respostas eletroquímicas das duas sondas nos EP_G e EP_L um comportamento semelhante ao observado no ECV modificado OG-RE. A resposta eletroquímica do complexo $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ não apresentou melhora em termos de reversibilidade dos processos, inclusive utilizando o EP_L seus picos de oxidação e redução ficaram mais afastados. Esse comportamento já era esperado, devido esse complexo ser de esfera externa e não sensível a mudanças na superfície eletródica. Por outro lado, a resposta eletroquímica do $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ melhorou, apresentando um comportamento mais reversível e com picos de oxidação e redução mais bem definidos no EP_L.

Os estudos de diferentes sondas eletroquímicas no ECV modificado com OG-RE trouxeram algumas “pistas” a respeito do comportamento eletroquímico esperado para complexos metálicos e espécies orgânicas em superfícies de carbono. Desta maneira, optou-se por explorar os comportamentos eletroquímicos de espécies orgânicas frente a uma superfície de grafite (EP_G) e grafite ativada por *laser* (EP_L), a figura 54 mostra os voltamogramas do AA e do acetaminofeno (ACT).

Figura 54. Voltamogramas cíclicos registrados nos (—) EP_G e (---) EP_L para soluções padrão de (A) AA 1 mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH=6,8) e (B) ACT 0,27 mmol L⁻¹ em meio de NaOH 0,1 mol L⁻¹. Velocidade de varredura: 10 mV s⁻¹.

Após a ativação por *laser* da superfície de grafite ocorreu uma melhora na resposta eletroquímica das espécies estudadas, onde os picos dos processos de oxidação de AA e ACT ficaram bem definidos.

O transporte de massa no EP_L foi estudado empregando [Ru(NH₃)₆]Cl₃ como molécula modelo. Verificou-se que neste dispositivo ele é controlado por difusão, devido ao comportamento linear dos sinais de corrente de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (Figura 55).

Figura 55. Voltamogramas cíclicos registrados no EP_L com solução padrão de [Ru(NH₃)₆]Cl₃ 1 mmol L⁻¹ em meio de KCl 0,1 mol L⁻¹ em diferentes velocidades de varredura: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 mV s⁻¹.

A resposta eletroquímica da FUR foi estudada no ECV, EP_G, e EP_L (Figura 56). A área eletroativa dos eletrodos foi calculada usando a equação de Randles-Sevick, a fim de normalizar os sinais de corrente provenientes dos processos de oxidação do analito e facilitar a análise comparativa. Os valores das áreas eletroativas para o ECV, EP_G, EP_L foram de 1,5; 0,80 e 0,84 mm², respectivamente.

Figura 56. Voltamogramas cíclicos registrados no ECV (—), EP_G (—) e EP_L (—) em solução padrão de FUR 1 mmol L⁻¹ em meio de tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH=6,8). No detalhe: voltamograma cíclico da solução de FUR no ECV. Velocidade de varredura medida com ECV= 50 mV s⁻¹. Velocidade de varredura medidas nos EP_G e EP_L: 10 mV s⁻¹.

Embora a área eletroativa do ECV seja maior em relação às áreas do EP_G e EP_L, observa-se um sinal de corrente anódica de FUR aproximadamente 14 vezes maior para esses eletrodos. Isto pode ser explicado pelas características do grafite, que pode apresentar regiões de bordas na superfície, resultando em uma transferência eletrônica mais eficiente e uma maior resistência a adsorção de moléculas em sua superfície (DAVID; POPA; BULEANDRA, 2017). A definição dos processos de oxidação da FUR foi melhorada quando o EP_L utilizado, além da corrente anódica ser um pouco maior em relação ao EP_G.

A reprodutibilidade da fabricação dos EPL foi medida através da comparação das correntes de oxidação e redução do [Ru(NH₃)₆]Cl₃ entre diferentes dispositivos (n=10), os coeficientes de variação para I_{pa} e I_{pc} foram de 5,9 e 8,2%.

4.9.2. Caracterizações da superfície dos eletrodos em papel pintados com lápis de desenho

A fim de compreender as mudanças estruturais que o processo de ativação por *laser* provocou na superfície de grafite e relacionar essas mudanças com a reposta eletroquímica observada, realizou-se a caracterização da superfície dos EP_G e EP_L.

Inicialmente, foi feita uma caracterização da morfologia dessas superfícies através da microscopia ótica de varredura. A figura 57 mostra as imagens MEV da superfície do papel e dos EP_G e EP_L. A imagem A mostra as fibras do papel, substrato utilizado para a fabricação dos eletrodos. As imagens B e C exibem a morfologia dos EP_G e EP_L, em que é possível observar que a superfície do eletrodo de grafite sem a ativação possui um aspecto mais “liso”. A superfície do eletrodo de grafite ativado por *laser* tem um aspecto mais “amassado”, onde se pode ver com mais clareza algumas folhas.

Figura 57. Imagens MEV das superfícies (A) papel; (B) EP_G e (C) EP_L.

Utilizou-se também a espectroscopia Raman para avaliar o efeito da ativação por laser na estrutura gráfica (Figura 58). Pode-se notar que o papel não possui modos de vibração ativos na espectroscopia Raman e, por isso não apresenta nenhuma banda. Portanto, as bandas D, G e 2D que aparecem nos espectros são atribuídas aos materiais gráficos. No EP_G as bandas D, G e 2D aparecem em 1351,7 cm⁻¹, 1581,6 cm⁻¹ e 2715 cm⁻¹, respectivamente. No EP_L essas bandas aparecem em 1347,3 cm⁻¹, 1577,8 cm⁻¹ e 2714 cm⁻¹, respectivamente. A relação I_D/I_G para o EP_G e EP_L foi de 0,44 e 0,25, respectivamente.

É interessante notar que, após o tratamento da superfície de grafite a desorganização estrutural diminuiu, como confirma a relação I_D/I_G. A superfície do grafite antes da ativação é mais desorganizada estruturalmente e, isso é compreensível, pois o processo de pintura do papel acaba rompendo o material. Os dados obtidos usando a espectroscopia Raman sozinhos não trazem muita informação que justifique a melhora da resposta eletroquímica quando o EP_L foi utilizado. Uma hipótese que explique a atividade catalítica da superfície do EP_L é que talvez ocorra uma degradação térmica das impurezas presentes no grafite do lápis, o que justificaria não observar grandes mudanças estruturais. Para compreender de maneira clara o efeito do tratamento da superfície gráfica pelo *laser* é necessário empregar outras técnicas de caracterização.

Figura 58. Espectros Raman das superfícies de (—) papel; (—) grafite e (—) grafite ativada por *laser*.

Estudou-se também a resistência a transferência de carga na interface eletrodo-solução por meio da espectroscopia de impedância eletroquímica. O EP_G apresentou a formação de um arco capacitivo, indicando uma resistência na transferência de elétrons entre a superfície do eletrodo e a sonda eletroquímica utilizada. No caso do EP_L, o arco capacitivo formado foi menor em relação ao EP_G, sugerindo que nesta superfície o processo de transferência de carga foi facilitado (Figura 59).

Figura 59. Espectros de impedância do (■) EP_G e (■) EP_L.

Os valores de R_{tc} calculados para o EP_G e EP_L foram de 2,76 kΩ e 0,593 kΩ, respectivamente, confirmando que na superfície de grafite ativada por laser houve uma melhora na transferência de carga, devido à diminuição da resistência.

4.9.3. Detecção eletroquímica de FUR empregando voltametria de pulso diferencial

A detecção eletroquímica de FUR no EP_L utilizou a técnica voltametria de pulso diferencial. A curva analítica é apresentada na figura 60. Quando a voltametria de pulso diferencial para detecção de FUR no ECV modificado com OG-RE foi usada observou-se que adsorção do analito impedia uma determinação analítica sem a renovação da superfície do eletrodo a cada medida. No caso do EP_L a construção da curva de calibração de FUR foi feita empregando apenas um dispositivo em papel, demonstrando que a superfície do EP_L tem uma boa resistência a adsorção de moléculas. Esse é um

aspecto interessante, pois se ganha frequência de análise, além disso, após cada medida não é necessário polir a superfície do eletrodo para utilizá-lo novamente, porque o EPL é descartável.

Figura 60. Voltamogramas de pulso diferencial registrados utilizando EPL em diferentes concentrações de soluções de FUR: (--) eletrólito suporte tampão fosfato (pH = 6,8); (-) 25, (-) 48, (-) 68, (-) 87, (-) 125, (-) 154 e (-) 196 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Parâmetros: Amplitude = 50 mV. Step = 10mV. Detalhe: curvas de calibração dos processos de oxidação da FUR, denominados como I e II. R^2 pico I=0,987 e R^2 pico II=0,979.

Os limites de detecção e quantificação para a quantificação do Pico I e Pico II foram de 9,30 e 30,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 3,50 e 11,7 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Os valores baixos de LD e LQ indicam que usando o EPL combinado com a voltametria de pulso diferencial possui boa sensibilidade.

5. CONCLUSÕES

5.1. ECV modificado com OG-RE

A redução eletroquímica do óxido de grafeno utilizando voltametria cíclica mostrou-se uma alternativa interessante para a obtenção deste material, visto que não emprega agentes redutores tóxicos, como o NaBH_4 .

O OG-RE demonstrou potencialidade como material modificador do ECV visando a detecção de moléculas orgânicas, tais como FUR e AA. Os processos eletroquímicos destas espécies foram catalisados, seja pela antecipação de processo eletroquímico ou pelo aumento do sinal de corrente.

As imagens MEV mostraram que o processo de modificação do ECV gerou uma superfície em que a cobertura pelo material modificador não foi homogênea, criando pequenas “ilhas”, regiões onde o OG-RE permaneceu agregado.

A espectroscopia Raman possibilitou analisar as mudanças estruturais que a redução eletroquímica promoveu no OG. Foi possível observar o aumento dos defeitos estruturais, devido ao restabelecimento de algumas ligações C-C com hibridização sp^2 , através do aumento na intensidade da banda D.

A espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X forneceu dados quantitativos dos grupamentos que permaneceram no OG após a redução, indicando que o processo de redução eletroquímica foi efetivo.

Através das imagens de MFA foram calculados os valores de rugosidade das superfícies do ECV não modificado e modificado com OG-RE 1mg mL^{-1} e pode-se verificar que esses valores estavam bem próximos, sugerindo que a diferença na superfície de contato (ou área de contato) não era expressiva, significando que a reposta eletroquímica excelente em termos do efeito catalítico da superfície eletródica para espécies orgânicas pode estar relacionada também com a presença dos grupamentos oxigenados remanescentes na estrutura do OG-RE.

O estudo da resistência a transferência de carga por meio da espectroscopia de impedância eletroquímica revelou que a modificação do ECV melhora a transferência de elétrons na interface eletrodo-solução.

Comparou-se o mecanismo de oxidação da FUR no ECV modificado com o OG-RE com outros trabalhos descritos na literatura, que empregaram diferentes eletrodos baseados em carbono e, os resultados obtidos neste trabalho foram semelhantes.

A voltametria de pulso diferencial demonstrou algumas desvantagens na detecção de FUR, devido à baixa frequência analítica, uma vez que o analito adsorveu na superfície do eletrodo modificado e houve a necessidade de renovação dela a cada medida. Além disso, adições sucessivas da espécie de interesse no ECV modificado mostraram que houve perda de linearidade.

A análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica mostrou-se uma técnica interessante, pois foi possível realizar medidas sucessivas de FUR sem a necessidade de polimento entre cada uma delas. Os limites de detecção e quantificação para este sistema foram menores aos obtidos na voltametria de pulso diferencial. Isto significa que conseguiu-se alcançar uma maior sensibilidade na detecção do analito.

5.2. Dispositivo em papel pintado com lápis de desenho

Foram fabricados dispositivos em papel pintados com lápis de desenho ativados por *laser* como uma alternativa de sensor descartável e de baixo custo para detecção de FUR em amostras de interesse clínico.

Os estudos voltamétricos utilizando o $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]\text{Cl}_3$ mostraram que o transporte de massa neste dispositivo é controlado por difusão e que a ativação com *laser* diminui a resistência a transferência de carga.

A área eletroativa calculada do ECV foi maior do que as áreas eletroativas dos eletrodos em papel pintados com lápis de desenho, apesar disso a resposta eletroquímica da FUR sofreu efeito catalítico nas superfícies de grafite, indicando que a transferência eletrônica neste material foi mais eficiente em relação ao ECV.

O método analítico para detecção de FUR usando o eletrodo em papel pintado com lápis de desenho ativado por *laser* apresentou boa sensibilidade.

Diante dos resultados obtidos, ficou claro que os materiais baseados em carbono são versáteis e que seu uso é possível em diversas plataformas, sejam elas convencionais ou alternativas. Além disso, demonstram grande potencialidade como materiais para aplicação em sensores eletroquímicos

6. PERSPECTIVAS

6.1. ECV modificado com OG-RE

- Comparar a resposta eletroquímica da FUR com o OG-RQ;
- Aplicar o sensor desenvolvido para mais amostras de FUR.

6.2. Dispositivo baseado em papel pintados com lápis de desenho

- Caracterizar o dispositivo utilizando técnicas como a espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X; que fornecem informações quantitativas da relação C e O antes e depois da ativação da superfície com o laser;
- Mapear a superfície do eletrodo através da espectroscopia Raman para obter uma informação a respeito da distribuição dos defeitos na estrutura do material causados pelo tratamento com *laser* em uma área superficial selecionada grande;
- Aplicar o dispositivo em amostras de interesse clínico; tais como: urina sintética e real;
- Estudar os possíveis interferentes nessas amostras.

7. REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A.; BARRON, A. R. **Wide Angle X-Ray Diffraction Studies of Liquid Crystals**. Disponível em: <https://cnx.org/contents/UX-PN_YZ@2/Wide-Angle-X-ray-Diffraction-S>. Acesso em: 25 fev. 2018.
- ALLCOCK, H. R. **Introduction to materials chemistry**. Nova Jersey: Wiley, 2008.
- ALLEN, M; TUNG, V.C.; KANER, R. B. Honeycomb carbon -- A study of graphene. **American Chemical Society**, p. 184, 2009.
- AMBROSI, A. et al. Electrochemistry at chemically modified graphenes. **Chemistry - A European Journal**, v. 17, n. 38, p. 10763–10770, 2011.
- AMBROSI, A. et al. Electrochemistry of Graphene and Related Materials. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 14, p. 7150–7188, 23 jul. 2014.
- AMBROSI, A. et al. Graphene and its electrochemistry – an update. **Chem. Soc. Rev.**, v. 45, n. 9, p. 2458–2493, 2016.
- ANDO, R. A. Espectroscopia Vibracional, Raman Ressonante e Eletrônica de Nitroderivados em Sistemas Conjugados. p. 144, 2005.
- BAGRI, A. et al. Structural evolution during the reduction of chemically derived graphene oxide. **Nature Chemistry**, v. 2, n. 7, p. 581–587, 2010.
- BARROSO, M. B.; ALONSO, R. M.; JIMÉNEZ, R. M. Electrochemical determination of the loop diuretics piretanide and furosemide in pharmaceutical formulations and urine. **Analytica Chimica Acta**, v. 305, n. 1–3, p. 332–339, 1995.
- BOSCH, M. E. et al. Review Article ANALYTICAL DETERMINATION OF FUROSEMIDE : THE LAST RESEARCHES. v. 3, n. 4, 2013.
- BRANT, J. C. Transporte elétrico em nanoestruturas de grafeno: influência da funcionalização , da geometria e da dopagem do substrato. 2011.
- BRETT, C.; BRETT, A. **Electrochemistry: principles, methods, and applications**. 2ª edição. Coimbra: Almedina, 1996.
- BROWNSON, D. A. C.; BANKS, C. E. **The handbook of Graphene Electrochemistry**. Londres: Springer, 2014.
- BROWNSON, D. A. C.; KAMPOURIS, D. K.; BANKS, C. E. Graphene electrochemistry : fundamental concepts through to prominent applications. **Chem Soc Rev**, v. 41(21), p. 6944-76, 2012.

- BUMBRAH, G. S.; SHARMA, R. M. Raman spectroscopy – Basic principle, instrumentation and selected applications for the characterization of drugs of abuse. **Egyptian Journal of Forensic Sciences**, v. 6, n. 3, p. 209–215, 2016.
- BUNACIU, A. A.; UDRIȘTIOIU, E. GABRIELA; ABOUL-ENEIN, H. Y. X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 289–299, 2015.
- CAMPOS, O. S. Estudo da oxidação eletroquímica da cafeína utilizando eletrodo de carbono vítreo. p. 151, 2016.
- CHAGAS, C. L. S. et al. Hand drawing of pencil electrodes on paper platforms for contactless conductivity detection of inorganic cations in human tear samples using electrophoresis chips. **Electrophoresis**, v. 36, n. 16, p. 1837–1844, 2015.
- CHANG, J. L. et al. Improved voltammetric peak separation and sensitivity of uric acid and ascorbic acid at nanoplatelets of graphitic oxide. **Electrochemistry Communications**, v. 12, p. 596–599, 2010.
- CHEN, P.; MCCREERY, R. L. Control of Electron Transfer Kinetics at Glassy Carbon Electrodes by Specific Surface Modification. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 22, p. 3958–3965, 1996.
- CHINAGLIA, D. L.; GOZZI, G. Espectroscopia de impedancia no laboratorio de ensino. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 30, n. 4, p. 4505, 2008.
- CLARK, L. C. et al. *Continuous Recording of Blood Oxygen Tensions by Polarography*. **Journal of Applied Physiology**, v. 6, n. 3, p. 189–193, set. 1953.
- COMPTON, O. C.; NGUYEN, S. T. Graphene oxide, highly reduced graphene oxide, and graphene: Versatile building blocks for carbon-based materials. **Small**, v. 6, n. 6, p. 711–723, 2010.
- COOPER, D. R. et al. Experimental review of graphene. v. 2012, 2011.
- DASH, G. N.; PATTANAIK, S. R.; BEHERA, S. Graphene for electron devices: The panorama of a decade. **IEEE Journal of the Electron Devices Society**, v. 2, n. 5, p. 77–104, 2014.
- DAVID, I. G.; POPA, D.; BULEANDRA, M. Pencil Graphite Electrodes : A Versatile Tool in Electroanalysis. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2017, n. Cv, 2017.
- DE CARVALHO, L. A.; DE ANDRADE, A. R.; BUENO, P. R. Espectroscopia de impedância eletroquímica aplicada ao estudo das reações heterogêneas em ânodos dimensionalmente estáveis. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 796–804, 2006.

- DE MENDONÇA, R. **Aplicação de espectroscopia de fotoelétrons ao estudo de processos de corrosão e oxidação de superfícies metálicas**. 2011. 114 páginas. Tese de Doutorado- Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais de REDEMAT, Universidade Federal de Ouro Preto, Belo Horizonte, 2011.
- DEVANARAYANAN, S. Raman Spectroscopy – Fundamentals. **Refresh Course in Physics**, 2015.
- DIAS, I. L. T.; NETO, G. O.; MARTINS, J. L. S. Metodologias analíticas para a determinação da furosemida. **Lecta**, v. 22, n. 1/2, p. 19–26, 2004.
- DOLE, M. The early history of the development of the glass electrode for pH measurements. **Journal of Chemical Education**, v. 57, n. 2, p. 134, 1980.
- DOSSI, N. et al. Doped pencil leads for drawing modified electrodes on paper-based electrochemical devices. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 722–723, p. 90–94, 2014.
- DRESSELHAUS, M. S.; TERRONES, M. Carbon-based nanomaterials from a historical perspective. **Proceedings of the IEEE**, v. 101, n. 7, p. 1522–1535, 2013.
- DREYER, D. R.; PARK, S.; BIELAWSKI, C. W.; RUOFF, R. S. The chemistry of graphene oxide. **Graphene Oxide: Reduction Recipes, Spectroscopy, and Applications**, p. 61–95, 2015.
- FARIA, D. L. A. Entenda o que é espectroscopia Raman. **Química Viva - CRQ-IV**, p. 4, 2011.
- FELIPE PACHECO, W. et al. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos Voltammetry: A Brief Review About Concepts Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.
- FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S. et al. Construção e aplicação de um minissensor de filme de bismuto utilizando materiais de baixo custo para determinações voltamétricas in loco. **Química Nova**, v. 35, n. 5, p. 1016–1019, 2012.
- FOSTER, C. W. et al. Pencil it in: pencil drawn electrochemical sensing platforms. **Analyst**, v. 141, p. 1016–1019, 2012.
- FRACASSI DA SILVA, J. A. et al. Improved separation of IA and IIA metal cations in matrices with high sodium concentration by capillary electrophoresis with contactless conductometric detection. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 265–268, 2003.

GEIM, A. K.; NOVOSELOV, K. S. The rise of graphene. **Nature Materials**, v. 6, n. 3, p. 183–191, mar. 2007.

GIMENES, D. T. **Uso de métodos do padrão interno em sistemas FIA e BIA e determinação de diclofenaco e codeína em formulações farmacêuticas por amperometria de múltiplos pulsos**. 2013. 137 páginas. Tese de Doutorado- Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

GÓMEZ-NAVARRO, C. et al. Atomic structure of reduced graphene oxide. **Nano Letters**, v. 10, n. 4, p. 1144–1148, 2010.

GROW, R. J. **Electromechanical properties and applications of carbon nanotubes**. Estados Unidos: Taylor&Francis Group, 2006.

HANSEN, E. H. **Flow injection analysis**. 2ª edição. Estados Unidos: Wiley, 1997.

HERRMANN, P. S. P. et al. Microscopia de varredura por força: uma ferramenta poderosa no estudo de polímeros. **Polímeros**, v. 7, n. 4, p. 51–61, 1997.

HONEYCHURCH, K. C. The voltammetric behaviour of lead at a hand drawn pencil electrode and its trace determination in water by stripping voltammetry. **Anal. Methods**, v. 7, n. 6, p. 2437–2443, 2015.

HULANICKI, A.; GLAB, S.; INGMAN, F. Chemical sensors: definitions and classification. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 1247–1250, 1991.

HUMMERS, W. S.; OFFEMAN, R. E. Preparation of Graphitic Oxide. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, n. 6, p. 1339–1339, mar. 1958.

IJIMA, S.; ICHIHASHI, T. Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. **Nature**, v. 363, n. 6430, p. 603–605, 1993.

IJIMA, S. Helical microtubes of graphitic carbon. **Nature**, v. 354, p. 56–58, 1991.

INAGAKI, M.; KANG, F. **Materials Science and Engineering of Carbon Fundamentals Materials Science and Engineering of Carbon Fundamentals**. 2ª edição. Estados Unidos: Elsevier, 2014.

JANATA, J. **Principles of Chemical Sensors**. 2ª edição. Nova York: Springer, 2009.

JEZINI, V. S. **Compósito Óxido De Ferro / Óxido De Grafeno Reduzido Compósito Óxido De Ferro / Óxido De Grafeno Reduzido**. 2015. 104 páginas. Dissertação de Mestrado-Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais da Universidade do Amazonas, Manaus, 2015.

- JUNIOR, R. C. S. **Desenvolvimento de um método de análise por injeção em fluxo (fia) para determinação de dissulfeto de tetrametiltiuram (Tiram) utilizando reagente imobilizado em reator de fase sólida (RFS)**. 2011. 47 páginas. Dissertação de Mestrado-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2011.
- KARIUKI, J. K. An Electrochemical and Spectroscopic Characterization of Pencil Graphite Electrodes. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 159, n. 9, p. H747–H751, 2012.
- KROTO, H. W. et al. C60: Buckminsterfullerene. **Nature**, v. 318, n. 6042, p. 162–163, 1985.
- LARINI, L. **Fármacos & medicamentos**. Porto Alegre: Artmed, 2008.
- LAU, I. W.; MOK, C. S. High-performance liquid chromatographic determination of active ingredients in cough-cold syrups with indirect conductometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 693, n. 1, p. 45–54, 1995.
- LERF, A. et al. Structure of Graphite Oxide Revisited ^{II}. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 102, n. 23, p. 4477–4482, 1998.
- LIANA, D. D. et al. Recent advances in paper-based sensors. **Sensors (Switzerland)**, v. 12, n. 9, p. 11505–11526, 2012.
- LIN, C. W. et al. Pencil drawn strain gauges and chemiresistors on paper. **Scientific Reports**, v. 4, p. 1–6, 2014.
- LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: Considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318–1325, 2006.
- LUBERT, K. H.; KALCHER, K. History of electroanalytical methods. **Electroanalysis**, v. 22, n. 17–18, p. 1937–1946, 2010.
- MALODE, S. J. et al. Voltammetric oxidation and determination of loop diuretic furosemide at a multi-walled carbon nanotubes paste electrode. **Electrochimica Acta**, v. 60, p. 95–101, jan. 2012.
- MAXWELL, E. J.; MAZZEO, A. D.; WHITESIDES, G. M. Paper-based electroanalytical devices for accessible diagnostic testing. **MRS Bulletin**, v. 38, n. 4, p. 309–314, 2013.
- MCCREERY, R. L. Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 7, p. 2646–2687, 2008.

- NERY, E. W.; KUBOTA, L. T. Sensing approaches on paper-based devices: A review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 405, n. 24, p. 7573–7595, 2013.
- NETO, A. H. C. et al. The electronic properties of graphene. v. 81, n. March, 2007.
- NOVOSELOV, K. S. et al. Electric field in atomically thin carbon films. **Science**, v. 306, n. 5696, p. 666–669, 2004.
- OHLWEILER, O. A. Condutometria. **Fundamentos de Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: LTC, 1981.
- PAIXÃO, T.R.LC.; REDDY, S. M. **Materials for Chemical Sensing**. Suíça: Springer, 2017.
- PARK, J.-H.; PARK, M.-J.; LEE, J.-S. Dry writing of highly conductive electrodes on papers by using silver nanoparticle–graphene hybrid pencils. **Nanoscale**, v. 9, n. 2, p. 555–561, 2017.
- PASSOS, R.F.C. **Desenvolvimento de dispositivos eletroquímicos descartáveis para análises rápidas**. 2010. 139 página. Tese de Doutorado- Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
- PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L.; GUTZ, I. G. R. Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. **Electroanalysis**, v. 8, n. 7, p. 673–675, 1 jul. 1996.
- PEREIRA, P. F. et al. A high-throughput BIA-MPA method for the simultaneous determination of amiloride and furosemide. **Anal. Methods**, v. 8, n. 44, p. 7959–7965, 2016.
- PINTO, E. P.; RAMOS, G. Q.; DA FONSECA FILHO, H. D. O Microscópio de Força Atômica (AFM): importante ferramenta no estudo da morfologia de superfícies na escala nanométrica. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 3, n. 2, p. 41–50, 2015.
- POWER, A. C.; MORRIN, A. Electroanalytical Sensor Technology. **Intech-open science**, n. May 2015, p. 141–65, 2013.
- RAM, V. R.; DAVE, P. N.; JOSHI, H. S. Development and validation of a stability-indicating HPLC assay method for simultaneous determination of spironolactone and furosemide in tablet formulation. **Journal of Chromatographic Science**, v. 50, n. 8, p. 721–726, 2012.
- RAY, S. C. Application and uses of graphene. In: **Applications of graphene and graphene-oxide based nanomaterials**. Elsevier, 2015, p. 1-38.

- RIBEIRO, D. V. .; SOUZA, C. A. C. .; ABRANTES, J. C. C. Use of Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) to monitoring the corrosion of reinforced concrete. **Revista Ibracon de estruturas e materiais**, v. 8, n. 4, p. 529–546, 2015.
- ROCHA, F. R. P.; MARTELLI, P. B.; DOS REIS, B. F. Experimentos didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 119–125, 2000.
- RODRIGUES, A. **Deposição, Caracterização e Aplicação de Filmes Nanoestruturados de ZnO: Biossensores de Glicose e Ureia**. 2014. 116 páginas. Tese de Doutorado-Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- RODRIGUES, J. G. **Caracterização por Espectroscopia de Fotoelétrons de nanotubos de carbono funcionalizados**. Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- ROSTRON, P. et al. Raman Spectroscopy , a review Raman Spectroscopy , Review. v. 869, n. November, p. 50–64, 2016.
- RÓZ, A. L. DA et al. **Coleção Nanociência e Nanotecnologia - Volume 3: Técnicas de Nanocaracterização**. São Paulo: Elsevier, 2015.
- RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow Injection Analysis. Part I. A New Concept of Fast Continuous Flow Analysis. **Analytica Chimica Acta**, 1975.
- SALA, O. **Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho**. 2ª edição. São Paulo;UNESP, 2008.
- SANTHIAGO, M.; KUBOTA, L. T. A new approach for paper-based analytical devices with electrochemical detection based on graphite pencil electrodes. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 177, p. 224–230, 2013.
- SEMAAN, F. S. **Desenvolvimento de estratégias analíticas para determinação do anti-hipertensivo furosemida**. 2007. 110 páginas. Tese de Doutorado- Instituto de Química de São Carlos-Universidade de São Paulo, 2007.
- SEMAAN, F. S. et al. A graphite-polyurethane composite electrode for the analysis of furosemide. **Electroanalysis**, v. 20, n. 21, p. 2287–2293, 2008.
- SILVA, C. C. C. **Desenvolvimento de Biossensores do tipo transistor de efeito de campo a base de grafeno (GraFET) decorados com nanopartículas de ouro aplicados na detecção ultra-sensível de biomarcadores de câncer de mama**. 2015. 136 páginas. Tese de Doutorado-Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª edição norte-americana. São Paulo: Thomson, 2005.

SURYANARAYANA, C., NORTON, M. G. **X-Ray Diffraction A practical Approach**. 1ª edição. Nova York: Springer, 2008.

World Anti-Doping Agency. Código mundial antidopagem 2017. Disponível em: <<https://www.wada-ama.org/en/resources/the-code/world-anti-doping-code>>

Acesso em: 26 fev. 2018.

WANG, Y. et al. Electrochemical Sensors for Clinic Analysis. **Sensors**, v. 8, n. 4, p. 2043–2081, 2008.

WARNER, J. H. **Graphene: fundamentals and emergent applications**. 1ª edição. Estados Unidos: Elsevier, 2013.

XIONG, L.; COMPTON, R. G. Amperometric gas detection: A review. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 9, n. 12, p. 7152–7181, 2014.

YUAN, W. et al. The edge- and basal-plane-specific electrochemistry of a single-layer graphene sheet. **Scientific Reports**, v. 3, n. Cvd, p. 1–7, 2013.

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Vanessa Neiva de Ataíde

Santo André, 30/07/1990.

EDUCAÇÃO

Escola Estadual Francisco D'Amico, Taboão da Serra, 2008.

Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, 2015.

Bacharelado em Química com Atribuições Tecnológicas

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

Técnico em Meio-Ambiente, São Paulo, 2010.

OCUPAÇÃO

Bolsista de Mestrado, CNPq, 03/2016 a 02/2018.

PUBLICAÇÕES

46th World Chemistry Congress-40a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química-IUPAC 49th General Assembly. Electrochemical studies of electrochemically reduced graphene oxide. 2017. (Congresso).

7º Congresso Brasileiro de Carbono. Sensor eletroquímico baseado em óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente. 2017. (Congresso).

XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica. Quantificação de furosemida empregando eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido eletroquimicamente. 2017. (Simpósio).

39^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Electrochemical reduction of graphene oxide (GO) on a gold microelectrode array. 2016. (Congresso).

XI Jornada de Iniciação Científica. Desenvolvimento e aplicação de método eletroanalítico para determinação de bismuto empregando arranjo de microeletrodos de ouro. 2015. (Congresso).

XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica de Eletroanalítica. Fast Batch Injection Analysis of Ascorbic Acid Using Array of Pt Modified Gold Microelectrodes. 2015. (Simpósio).

16^a Reunião Científica Anual do Instituto Butantan. Preliminary studies on chemical stability of expired chemical products. 2014. (Congresso).

36 Reunião Anual Científica Sociedade Brasileira de Química. Análise de ácido ascórbico por injeção em batelada empregando detecção amperométrica sobre redes de microeletrodos de platina. 2013. (Congresso).