Universidade Estadual Paulista

"Julio de Mesquita Filho"

Instituto de Biociências de Botucatu

Lucas Custódio Recco

Produção de Sensor Polimérico Reforçado com Nanotubos de Carbono

Botucatu

2016

Universidade Estadual Paulista

"Julio de Mesquita Filho"

Instituto de Biociências de Botucatu

Lucas Custódio Recco

Produção de Sensor Polimérico Reforçado com Nanotubos de Carbono

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de mestre em Ciência dos Materiais ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Materiais (POSMAT) da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho

Orientador: Prof. Dr. Valber de Albuquerque Pedrosa

Botucatu

2016

Ficha Catalográfica

Recco, Lucas Custódio. Produção de sensor polimérico reforçado com nanotubos de carbono/ Lucas Custódio Recco, - 2016 63 f.; il.; graf.; quadros.;fotos Orientador: Prof. Dr. Valber de Albuquerque Pedrosa Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciencias, Bauru, 2016 1.Sensores Eletroquímicos. 2. ITO. 3. Polímero Escova 4. Nanotubos de Carbono. 5. Compósito. 6. pH. 7. força iônica. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências. II. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Bauru



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE LUCAS CUSTODIO RECCO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE

Aos 22 dias do mês de setembro do ano de 2016, às 09:00 horas, no(a) Sala da Pós-Graduação_Instituto de Biociências, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. VALBER DE ALBUQUERQUE PEDROSA - Orientador(a) do(a) Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Prof. Dr. SERGIO ANTONIO SPINOLA MACHADO do(a) Instituto de Química / USP / São Carlos, Prof. Dr. GUSTAVO ROCHA DE CASTRO do(a) Departamento de Química e Bioquímica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de LUCAS CUSTODIO RECCO, intitulada **Produção de Sensor Polimérico reforçados com Nanotubos de Carbono**. Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:_<u>APROUNDO</u>____

____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. VALBER DE ALBUQUERQUE PEDROSA

MATERIAIS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS.

Faculdade de Ciências - Câmpus de Bauru -Av, Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01, 17033360, Bauru - São Paulo

Lucas Custódio Recco

Produção de Sensor Polimérico Reforçado com Nanotubos de Carbono

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Valber de Albuquerque Pedrosa – Orientador Departamento de Química e Bioquímica Instituto de Biociências – IBB/UNESP Faculdade de Ciências de Bauru – FC/UNESP

Prof. Dr. Gustavo Rocha de Castro – Membro Departamento de Química e Bioquímica Instituto de Biociências – IBB/UNESP

Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado – Membro Departamento de Físico – Química Instituto de Química – IQSC/USP

Data da defesa: 22/09/2016

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus por me guiar do inicio até o fim deste trabalho, dando-me força e paciência para superar as dificuldades encontradas nesta jornada.

Ao professor Dr. Valber de Albuquerque Pedrosa, pela oportunidade, pela confiança e por todo apoio desde o início da minha caminhada acadêmica contribuindo muito para meu crescimento.

À minha família, meus pais Maximiliano e Ercília, meus irmãos Max e Lívia por acreditarem e sempre apoiar minhas decisões dando incentivo vital para a conclusão do presente trabalho.

À minha namorada Munique por todo apoio em momentos difíceis dessa caminhada.

Aos meus colegas de trabalho do laboratório de Biomateriais e Técnicas Eletroquímicas Caroline, Juliane, Bruno, João e Naira por toda troca de conhecimento científico que com certeza fizeram muita diferença para meu crescimento.

Aos professores do programa de Pós Graduação de Ciência e tecnologia dos Materiais (POSMAT), Dr. Luis Vicente de Andrade Scalvi, Dr. Carlos Roberto Grandini, Dr. Carlos Frederico de Oliveira Graeff e ao professor Dr. Antonio Carlos Dias Angelo, por todo conhecimento adquirido com as disciplinas ministrado pelos mesmos.

À todos os profissionais do Departamento de Química e Bioquímica UNESP-Botucatu pela amizade e apoio.

À fundação CAPES pelo suporte financeiro integral para a realização do trabalho.

O meu muito obrigado à todos que de alguma maneira fizeram parte dessa jornada.

Índice de Figuras

Figura 1: Regimes dos polímeros escovas mostrados através das densidades das escovas
Figura 2: A) Diagrama de formação de nanotubos de carbono a partir de uma folha de grafeno e B) respectivas geometrias dos CNTs formadas: a) armchair, b) zig-zag e c) chiral
Figura 3: Representação esquemática do processo de limpeza e modificação do eletrodo ITO
Figura 4: Processo de adsorção do PAA/CNTs e PVI/CNTs no eletrodo ITO
Figura 5: Representação esquemática da célula eletroquímica utilizada durante os experimentos, com W (eletrodo de trabalho – ITO modificado), R (eletrodo referência) e C (contra eletrodo)
Figura 6: Cubetas contendo os filmes. (A) CNTs amorfo, (B) CNTs oxidado com solução sulfonítrica, e (C) os CNTs funcionalizados com a matriz polimérica15
Figura 7: Espectroscopia Raman A) CNTs amorfo. B) CNTs oxidado16
Figura 8: Micrografias MEV A) ITO revestido com CNTs amorfo, barra de escala: 1 μm. B) ITO revestido com CNTs oxidado, barra de escala: 1 μm
Figura 9: A) EDX dos CNTs em seu estado amorfo. B) EDX dos CNTs oxidado17
Figura 10: Voltamogramas cíclicos para os eletrodos: ITO (curva vermelha), ITO/CNTs não funcionalizados (curva verde) e ITO/CNTs funcionalizados (curva azul) em 0,01 mol L^{-1} tampão fosfato (PBS) e 0,5 mol L^{-1} de ferrocianeto de potássio K_3 [Fe(CN) ₆] ⁻⁴
Figura 11: Espectroscopia de Impedância Eletroquímica para os eletrodos: ITO (curva preta), ITO/CNTs não funcionalizados (curva vermelha) e ITO/CNTs funcionalizados (curva verde)
Figura 12: Circuito de Randles modificado19
Figura 13: Comparação dos valores de resistência a transferência de elétrons em cada etapa de modificação do eletrodo20
Figura 14: Micrografias MEV A) eletrodo ITO, barra de escala de: 5 μm, B) eletrodo ITO/PAA, barra de escala de: 5 μm. C) eletrodo ITO/PAA/CNTs, barra de escala: 5 μm. D) ITO/PAA/CNTs, barra de escala:10 μm
Figura 15: EDX do eletrodo ITO modificado com PAA/CNTs22
Figura 16: Voltamograma cíclico do eletrodo ITO/PAA/CNTs em diferentes taxas de varredura (a-i): 20, 30, 50, 60, 90, 100, 150, 200, e 250 mV s ⁻¹ em 0,01 mol L ⁻¹ PBS (pH 3) e 0,5 mol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ⁻⁴ 23
Figura 17: Correlação da raiz quadrada da velocidade de varredura pelos picos anódicos e catódicos do par redox

Figura 18: Correlação do logaritmo da velocidade de varredura (log v/ mV s ⁻¹) pela diferença dos potenciais de pico catódico e anódico ($\Delta E/V$)24
Figura 19: Estrutura química do Poli Acido Acrílico (PAA)25
Figura 20: Escova de PAA. Configurações variam dependendo do pH25
Figura 21: A) Voltametria cíclica do eletrodo ITO/PAA/CNTs, ferrocianeto de potássio 0,5 mol L ⁻¹ , tampão fosfato 0,01 mol L ⁻¹ , velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹ ; B) Espectroscopia de impedância eletroquímica do eletrodo
Figura 22: A) Eletrodo ITO/PAA/CNTs variação de potencial de pico vs pH; B) Variação de corrente de pico VS pH
Figura 23: Eletrodo modificado ITO/PAA/CNTs. A) Variação da resistência superficial, R _{ct} VS pH. B) Variação da resistência solução, R _s VS pH
Figura 24: A) ITO/PAA/CNTs em pH < 4,7, superfície hidrofóbica deixando os CNTs mais próximos a superfície. B) ITO/PAA/CNTs em pH > 4,7, superfície hidrofílica, porém carregada negativamente
Figura 25: Eletrodo ITO/PAA/CNTs variando-se os valores de força iônica A) Voltametria cíclica, ferrocianeto de potássio 0,5 mol L ⁻¹ , tampão fosfato 0,01 mol L ⁻¹ , velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹ . B) Espectroscopia de Impedância Eletroquímica28
Figura 26: Eletrodo ITO/PAA/CNTs A) [NaCl] vs variação de potencial de pico a 50 mV s ⁻¹ . B) [NaCl] vs variação de corrente de pico a 50 mV s ⁻¹ . Os inserts em cada gráfico correspondente a uma ampliação da região selecionada no gráfico
Figura 27: Eletrodo modificado ITO/PAA/CNTs. A) Resistencia de superfície R_{ct} vs [NaCl] mol L ⁻¹ . B) Resistência da solução R_s vs [NaCl] mol L ⁻¹
Figura 28: Esquema da transição dos regimes osmóticos para o regime salino30
Figura 29: Micrografias MEV A) eletrodo ITO, barra de escala de: 5 μm, B) eletrodo ITO/PVI, barra de escala de: 5 μm. C) eletrodo ITO/PAA/CNTs, barra de escala: 5 μm. D) eletrodo ITO/PVI/CNTs, barra de escala: 10 μm
Figura 30: EDX do eletrodo ITO, modificado com PVI/CNTs32
Figura 31: Voltamograma cíclico do eletrodo ITO/PVI/CNTs em diferentes taxas de varredura (a-i): 20, 30, 50, 60, 90, 100, 150, 200, e 250 mV s ⁻¹ em 0,01 mol L ⁻¹ PBS (pH 3) e 0,5 mol L ⁻¹ [Fe(CN) ₆] ⁻⁴
Figura 32: Correlação da raiz quadrada da velocidade de varredura pelos picos de corrente anódico e catódico do par redox
Figura 33: Correlação do logaritmo da velocidade de varredura (log v/ mV s ⁻¹) pela diferença dos potenciais de pico catódico e anódico ($\Delta E/V$)
Figura 34: Estrutura química do Poli Vinil Imidazol (PVI)
Figura 35: Escova de PVI. Configurações variam dependendo do pH35

Figura 36: A) Voltametria cíclica do eletrodo ITO/PVI/CNTs, ferrocianeto de potássio 0,5 mol L ⁻¹ , tampão fosfato 0,01 mol L ⁻¹ , velocidade de varredura 50 mV s ⁻¹ ; B) Espectroscopia de impedância eletroquímica do eletrodo
Figura 37: A) Eletrodo ITO/PVI/CNTs variação de potencial de pico VS pH; B) variação de corrente de pico VS pH
Figura 38: Eletrodo modificado ITO/PVI/CNTs. A) Variação da resistência superficial, R _{ct} VS pH. B) Variação da resistência solução, R _s VS pH
Figura 39: A) Eletrodo ITO/PVI/CNTs em pH > 6,0, cadeias colapsadas impedem o íon $[Fe(CN)_6]^{-4}$ de chegar a superfície do ITO. B) ITO/PVI/CNTs com as cadeias37
Figura 40: A) Eletrodo ITO/PVI/CNTs variação de potencial de pico vs [NaCl]; B) variação de corrente de pico VS [NaCl]
Figura 41: A) Eletrodo ITO/PVI/CNTs variação de potencial de pico vs [NaCl]; B) variação de corrente de pico VS [NaCl]
Figura 42: Eletrodo modificado ITO/PVI/CNTs. A) Resistencia de superfície R_{ct} vs [NaCl] mol L ⁻¹ . B) Resistência da solução R_s vs [NaCl] mol L ⁻¹
Figura 43: Esquema da transição dos regimes osmóticos para o regime salino39
Figura 44: A) Dispersão dos nanotubos na matriz polimérica; B) Voltametria cíclica caracterizando a superficie de ambos os eletrodos, na ausência de tubo e com os CNTs. C) eletrodo ITO/PVI. D) eletrodo ITO/PVI/CNTs40
Figura 45: Voltametria de pulso diferencial do eletrodo ITO/PVI/CNTs em PBS (pH 3) a uma velocidade de 10 mV s ⁻¹ na presença de 100 mmol L ⁻¹ de acido ascórbico e 100 mmol L ⁻¹ de acido úrico com uma faixa de detecção de a-n: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 e 30 μ mol L ⁻¹
Figura 46: Voltametria de pulso diferencial do eletrodo ITO/PVI/CNTs a uma velocidade de 10 mV s ⁻¹ na presença de 100 mmol L ⁻¹ de acido ascórbico e 100 mmol L ⁻¹ de acido úrico e 10% de soro humano com uma faixa de detecção de a-f: 2, 4, 6, 8, 10, 12 μ mol L ⁻¹
Figura 47: Voltametria de pulso diferencial. I) Eletrodo ITO/PVI. II) Eletrodo ITO/PVI/CNTs velocidade de varredura de 10 mV s ⁻¹ na presença de 100 mmol L ⁻¹ de acido úrico e 100 mmol L ⁻¹ de acido ascórbico e 16 mmol L ⁻¹ de Dopamina42
Figura 48: Analise de interferente do eletrodo ITO/PVI/CNTs por voltametria cíclica de pulso diferencial a velocidade de 10 mV s ⁻¹ na presença de 10 μ mol L ⁻¹ de acido ascórbico como função da concentração do Estriol de a-f: 0, 2, 4, 6, 8 e 10 μ mol L ⁻¹ 43
Figura 49: Analise de interferente do eletrodo ITO/PVI/CNTs por voltametria cíclica de pulso diferencial a velocidade de 10 mV s ⁻¹ na presença de 10 μ mol L ⁻¹ de acido ascórbico como função da concentração do Estriol de a-f: 0, 2, 4, 6, 8 e 10 μ mol L ⁻¹ 44

Índice de Tabela

Tabela	1:	Parâmetros	do	circuito	equivalente	dos	Espectros	de	Impedância
Eletroqu	11M1	са	•••••	•••••		•••••	•••••	•••••	20
Tabela 2: Comparação da performance do eletrodo estudado por diferentes métodos									
analítico	os pa	ara detecção c	le Do	pamina		•••••	•••••	•••••	
Tabela 3	3: Co	omparação da	ı perf	formance	do eletrodo es	tudad	o por difere	ntes 1	métodos
analítico	os pa	ara detecção I	Estric	ol					44

SUMARIO

RESUMO1
1. INTRODUÇÃO
2.OBJETIVOS
2.1. Objetivos específicos10
3. MATERIAIS E MÉTODOS11
3.1. Reagentes e Soluções11
3.2. Metodologia11
3.2.1. Funcionalização do nanotubo de carbono11
3.2.2. Suspensão dos CNTs e CNTs/Polímero11
3.2.3. Lavagem do eletrodo ITO11
3.2.4. Modificação do eletrodo ITO11
3.3 Procedimento Experimental13
3.3.1. Análises Eletroquímicas13
3.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO15
4.1. Efeitos da funcionalização química dos nanotubos de carbono15
4.1.1. Caracterização morfológica dos CNTs funcionalizados16
4.1.2. Caracterização eletroquímica avaliando as etapas de funcionalização
4.1.3. Caracterização eletroquímica avaliando as etapas de funcionalização
4.2. Caracterização morfológica dos eletrodos ITO, ITO/PAA e ITO/PAA/CNTs
4.2.1. Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PAA/CNTs22
4.2.2. Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PAA/CNTs frente a variação de pH
4.2.3 Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PAA/CNTs frente a variação de força iônica

4.3. Caracterização morfológica dos eletrodos ITO, ITO/PVI e ITO/PVI/CNTs
4.3.1. Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PVI/CNTs32
4.3.2. Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PVI/CNTs frente a variação de pH
4.3.3. Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PVI/CNTs frente a variação de força iônica
4.4 Aplicações do sensor eletroquímico ITO/PVI/CNTs
4.4.1. Determinação de Dopamina
4.4.2. Determinação de Estriol43
5. CONCLUSÕES
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS46

Resumo

Neste trabalho foram estudadas síntese e caracterização de filmes finos híbrido de polímeros escovas constituídos de polieletrolíticos reforçados com nanotubos de carbono sobre o substrato de óxido de índio e estanho (ITO). Para a caracterização das superfícies dos filmes foram utilizadas as técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV), energia dispersiva de raio-x (EDX) e espectroscopia Raman. Foram avaliadas diferentes propriedades estímulo-responsivas dos polímeros escovas que levam a modificações estruturais dos filmes como a influência de pH e da força iônica. Os polímeros escolhidos como modelos foram os polímeros Poli (Vinil Imidazol)-(PVI) e Poli (Àcido Acrilíco)-(PAA). Os ensaios eletroquímicos evidenciaram uma dependência da conformação dos polímeros escovas com a variação de pH e da força iônica e também revelaram o aumento da capacitância desses polímeros quando reforçados com os nanotubos de carbono, sendo que, o PVI obteve melhor resposta quando exposto a pH ácido, uma vez que suas cadeias poliméricas estavam estendidas e carregadas positivamente, permitindo a difusão da espécie redox carregada negativamente até a superfície do eletrodo. O PAA também obteve melhor resposta em meio ácido. Nesse caso as cadeias colapsadas aproximam os tubos do transdutor (ITO), facilitando a troca do par redox. Após a caracterização dos referidos polímeros, os mesmos foram testados como sensores para o monitoramento de hormônios e neurotransmissores que desempenham funções importantes no nosso organismo.

Abstract

This study describes the synthesis and characterization of hybrid polyelectrolyte based on polymer brush reinforced multi-layer type carbon nanotubes. The characterization of the thin films we used the scanning electron microscopy techniques (SEM), energy dispersive x-ray (EDX) and Raman spectroscopy . The influence of pH and ionic strength were evaluated by electrochemical technique. The polymers Poly (vinyl imidazole) - (PVI) and poly (acrylic acid) - (PAA) were used as matrix brush for anchoring the nanotubes. Electrochemical tests showed a dependence of the conformation of the brush polymers with pH change and ionic strength, and also showed the increase in capacitance of these polymers when reinforced with carbon nanotubes, and the PVI obtained a better response when exposed to acidic pH since its polymer chains were extended and positively charged, allowing the diffusion of negatively charged redox species to the electrode surface. The PAA also obtained better response in acid. In this case the collapsed chains near the transducer tubes (ITO) facilitate the electrons transference. The made electrodes were applied to monitor hormones and neurotransmitters that play important functions in our body.

Keywords: Electrochemical sensors; polymer brush; PVI, PAA; carbon nanotube (CNTs); pH; ionic strength

1. Introdução

O desenvolvimento de novos materiais é importante em diversas áreas como: geração de energia, monitoramento analítico ambiental e diagnósticos médicos. O crescente setor da tecnologia e desenvolvimento de materiais na escala nano, deixam em evidência a importância do conhecimento desses novos materiais e suas aplicabilidades, visto que a escala permite elaborar materiais complexos como alto valor agregado. Para isso novos sistemas e combinações de materiais se fazem indispensável para esse desenvolvimento.

Nesse contexto, novas superfícies estão sendo desenvolvidas e aplicadas ao setor de sensores e biossensores. Com o desenvolvimento da nanotecnologia a diversidade de materiais cada vez mais robustos e inteligentes tem aumentado exponencialmente. Assim os compósitos aparecem como excelente alternativa para recobrimentos de superfície, uma vez que a superfície comanda a interação entre o material e o meio externo.

Os compósitos poliméricos são formados a partir da fusão de uma matriz de um material em outra matriz de outro material, gerando propriedades normalmente amplificadas. Nos últimos anos, inúmeros compósitos a base de cerâmica, metal e polímero vem sendo desenvolvidos [1-3]. Compósitos a base de polímero vêm recebendo bastante atenção no desenvolvimento e caracterização de novos sensores e recentemente uma classe utilizada por pesquisadores são os polímeros escovas. Este material é um tipo de material inteligente, muito sensível a estímulos externos. Os polímeros escovas são moléculas orgânicas que apresentam uma de suas extremidades fixas em um substrato. Assim, quando uma grande densidade de cadeias poliméricas está fixada na superfície do substrato, o sistema adquire uma configuração de escova. A técnica de imobilização do polímero escova no substrato traz vantagens ao material, de visto que apresentam capacidade mudança de conformação (hidrofobicidade/hidroficilidade), sendo muito sensível a variações de pH e a outros estímulos externos [4-5].

Existem basicamente dois métodos para imobilização dos polímeros escovas em substratos: o método de grafting to e grating from [6-7]. Ambos os métodos se diferenciam basicamente pela forma de ancoragem a superfície do substrato, que sempre estará modificado primeiramente para se tornar possível a interação física ou química das cadeias poliméricas. O método de grafting to é uma maneira de modificar o substrato utilizando a propriedade de monocamadas auto-organizáveis dos copolímeros em blocos, onde pelo menos um desses blocos possui interação física ou química preferencial à superfície. A eficiência dessa técnica está diretamente ligada à interação de solvente com a matriz polimérica, hidrofobicidade/hidrofilicidade e/ou interações coulombianas entre o substrato e o polímero. Na interação física as cadeias poliméricas estão reversivelmente ancoradas ao substrato e podem sofrer clivagem com mudança de solvente [8], tratamento térmico [9] ou deslocamento de equilíbrio [10]. A ligação não covalente causa uma baixa estabilidade do filme no substrato, comprometendo o tempo de vida útil. Assim quando as cadeias poliméricas se ligam covalentemente o ganho de estabilidade é considerável e amplia ainda mais a gama de aplicações. O método grafting to possui um fator limitante que é a densidade de cadeias enxertadas no substrato, visto que cada cadeia precisa se difundir até chegar ao substrato para ser clivado.

Já o método de *grafting from* aparece como um método mais eficiente e eficaz quando se trata de imobilização de polímeros em substratos. É um método onde a formação do filme se dá a partir do substrato que é previamente modificada com iniciadores poliméricos que são colocados em contato com os monômeros favorecendo a ligação covalente. Com esse método é possível controlar o tamanho da cadeia do polímero, simplesmente interrompendo a reação de polimerização. Esse método traz vantagens em relação ao anterior, pois pelo fato da difusão dos monômeros ser mais fácil do que a difusão dos blocos de polímero essa técnica produz filmes mais densos e com maior força de ligação, promovendo ao sensor maior estabilidade e durabilidade.

A densidade dos polímeros escovas é importante, pois nos ajuda a compreender melhor os parâmetros de revestimento dos polímeros escovas. A estrutura de um polímero escova pode ser avaliada pela relação inversa da distância entre os pontos de enxerto (D). A medida que o tamanho das cadeias de polímero enxertado aproxima à distância entre os pontos de enxerto, as cadeias enxertadas se sobrepõem. Este ponto é um ponto de transição entre uma cadeia enxertada e a cadeia em regime de pincel. Um parâmetro comumente usado na literatura para uso quantitativo dessa transição é a densidade dos blocos da escova (Σ), definido pela equação 1:

$$\Sigma = \sigma \pi R_g^2$$
 Equação 1

onde, R_g é o raio de giro de um fio de escova em condições específicas de solvente e temperatura, σ é determinado por $\sigma = (h \rho N_A) / M_n$ (h, bloco escova; ρ , densidade *bulk* da composição da escova e N_A, numero de Avogadro). Ou a densidade às vezes é medida por $\sigma = 1/D^2$ [11]. A interpretação física de Σ é a quantidade de cadeias que ocupam uma área que uma cadeia de polímero livre de sobreposição não iria ocupar sob mesmas condições experimentais. Assim com esse parâmetro bem definido podemos caracterizar os regimes dos polímeros escovas.

Os regimes das escovas são divididos em 3 partes: para $\Sigma < 1$ o regime é denominado "mushroom" ou regime fracamente interagido, para $\Sigma = 1$ ou aproximadamente 1 regime de cruzamento ou sobreposição, e para $\Sigma > 1$ regime escova. O regime denominado "mushroom" se caracteriza quando o substrato possui uma baixa densidade de cadeia polimérica clivada. Nesse regime, a distancia entre uma cadeia e outra é menor que o raio de giro (Rg) da cadeia e quando colapsadas, as cadeias poliméricas aglomeram, formando "ilhas" na superfície e não chegam a se sobrepor. Quando a distância entre uma cadeia enxertada e outra é menor que o Rg ocorre a sobreposição das cadeias quando elas se colapsam. De modo inverso, quando a densidade de povoamento polimérico na superfície do eletrodo for grande, acontece uma repulsão de cargas das próprias cadeias, deixando elas alongadas, longe da superfície, caracterizando um regime denominado "brush" ou escova. Esse regime também pode ser encontrado utilizando o método de *grafting to*, onde é necessário terse as condições de síntese apropriadas, como tempo de reação, temperatura e pressão. A figura 1 mostra a transição de regimes para os polímeros escovas



Figura 1: Regimes dos polímeros escovas mostrados através das densidades das escovas.

As mudanças conformacionais dos polímeros escovas ajudam a compreender as respostas geradas a estímulos externos, quando ancorados na superfície. Por exemplo, quando um estímulo positivo é aplicado, como um solvente de mesma polaridade do polímero, as cadeias poliméricas interagem com a solução e se afastam da superfície. O inverso é verdadeiro, quando um solvente com polaridade inversa ao polímero é aplicado na superfície, as cadeias se colapsam. São respostas reversíveis e inteligentes dos polímeros, a ambientes adversos que aumentam seu potencial de aplicações.

Neste trabalho foram utilizados os polímeros escovas Poli (ácido acrílico) (PAA) e o Poli (vinil imidazol) (PVI). Esses polímeros foram escolhidos por possuírem características de ácidos e bases fracos, uma vez que a dissociação dos grupos ácidos/base depende fortemente de fatores externos. O PAA é um polieletrólito de ácido fraco, isto significa que suas cadeias poliméricas não se dissociam completamente, a dissociação dos grupamentos ácidos fica dificultada conforme os primeiros grupos se dissociam. A dissociação das cadeias deste polímero (grupamentos carboxílicos) depende fortemente das condições do meio, o que o torna excelente candidato a estudos de variação de condições do meio externo, como pH, temperatura, força iônica, além da capacidade de solvatação do solvente. Já o PVI é um polieletrólito de base fraca e que possui nitrogênio na sua composição polimérica, que se faz responsável pela dissociação das cadeias poliméricas obtendo um caráter catiônico quando exposto a uma perturbação do meio externo.

Assim, houve um interesse de amplificar as propriedades inteligentes dos polímeros escovas utilizando uma nanoestrutura, para deixar o sistema mais catalítico e mais específico. Desde a sua descoberta em 1991 pelo físico Sumio Iijima [12] os nanotubos de carbono aparecem como um material de caráter promissor e muito utilizado como eletromateriais em áreas como: nanoeletrônica e dispositivos fotovoltaico [13], supercondutores [14], capacitor eletroquímico [15], nanofios [16] e também muito utilizado em materiais nanocompósito [17], assim como compósitos a base de polímero [18].

Os nanotubos de carbono (CNTs) apresentam em sua morfologia arranjos hexagonais de carbono dispostos em folhas de grafeno, que são enrolados em formato cilíndrico, formando a estrutura de fibra que possuem comprimento que variam da ordem de centímetro a milímetro e raio na escala de nanômetros. Conhecer a morfologia dos nanotubos de carbono é indispensável para uma adequada aplicação desse material. Os nanotubos de carbono aparecem em dois formatos de fibra, uma com apenas uma folha de grafeno enrolada, formando os nanotubos de carbono de parede simples (SWNTs) ou com três ou mais folhas de grafeno, dando origem aos nanotubos de carbono de parede multipla (MWNTs). Essas estruturas também apresentam excelente resistência mecânica e condutividade térmica [19-20]. As características dos CNTs o tornam modelos ideais de nanoestruturas para líquidos e sólidos poliméricos nas propriedades dos filmes nanocompositos.

Varias técnicas de dispersão dos nanotubos de carbono são discutidas por diversos pesquisadores [21-24], esses grupos trabalham com rotas de funcionalização covalentes e não covalentes, visto que a rota covalente ataca mais as paredes dos tubos proporcionando a ele uma ligação mais forte e estável quando aplicado a matriz de um material resultando em uma melhora na propriedade mecânica. O caminho não covalente preserva mais as paredes dos tubos de modo a preservar sua camada eletrônica sp³, acentuando as propriedades elétricas.

Os CNTs tem se apresentado como nanoestruturas ideais para desenvolvimentos de plataformas para sensores eletroquímicos, visto que apresentam duas propriedades interessantes diretamente ligadas a processos de superfície. A primeira característica é a grande área superficial, permitindo amplificação de sinal. A segunda característica é a eletrocatálise, pois possuem um mecanismo muito eficaz no transporte eletrônico que pode variar desde o tipo metálico até o tipo semicondutor, dependendo do seu diâmetro e ângulo chiral (ϕ), esses dois parâmetros são denominados índices de Hamada (n,m) [25]. Como o nanotubo de carbono é formado a partir da folha do grafeno enrolada de tal forma que coicidam dois sítios cristalograficamente equivalentes da sua rede hexagonal, um vetor C chamado de "chiral" define a posição relativa dos dois sítios mediante aos valores de Hamada e pelos vetores unitários da rede hexagonal a₁ e a₂ (C = na₁ + ma₂). A figura 2, ilustra o vetor "chiral".

Figura 2: A) Diagrama de formação de nanotubos de carbono a partir de uma folha de grafeno e B) respectivas geometrias dos CNTs formadas: a) armchair, b) zig-zag e c) chiral. [26] adaptado da tese de Moraes, F. Nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. 2010, 126 f. Tese (Doutorado em Físico-Quimica) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.



Se os valores de n e m forem iguais os CNTs podem ser chamados de "armchair", se n = m = 0, então os CNTs são denominados "zig-zag" e se n for diferente de m e diferente de zero são "chiral". Se o ângulo φ varia de 0° a 30° podem ser gerados tubos do tipo "zig-zag" até o "armchair" como limites, passando pelos tubos chiral. Assim, um nanotubo apresenta caracteristicas metálicas quando n-m é múltiplo de 3, em caso contrário ele é semicondutor. Todos os nanotubos do tipo *armchair* são metálicos, enquanto que os *zig-zag* e *chiral* podem ser metálicos ou semicondutores [27].

Baughman *et al.* [28] descreveram que o transporte eletrônico no CNTs ocorre de forma balística, ou seja, sem espalhamento no decorrer do tubo, possibilitando a condução rápida em grandes extensões. Nessa mesma linha Masheter *et al* [29], demonstraram que o transporte eletrônico nos CNTs pode ocorrer de forma balística no plano basal das fibras. Porém, a catálise ocorreria devido aos grupos funcionais que se ancoram na parede do tubo devido à exposição a meios oxidantes, expondo os planos de borda e aumentando a área de superfície. Portanto essas propriedades de transporte eletrônico fazem dos nanotubos um material ideal para aplicações em sensoriamento eletroquímico.

Os CNTs apresentam excelentes propriedades físico-quimica, porém existe um grande desafio dos nanotubos no contexto das propriedades da mistura e dos compósitos. Pelo fato das estruturas dos CNTs apresentarem arranjos de carbono hexagonais fortemente ligados existe uma dificuldade de misturar essa estrutura em meios poliméricos e formar o material compósito [30]. Logo a primeira barreira a se vencer na manipulação dos CNTs é a funcionalização da parede lateral, gerando CNTs compatíveis com a matriz polimérica.

Métodos de funcionalização covalentes e não covalentes dos CNTs aparecem como alternativa para aumentar a dispersão e a solubilidade dessas estruturas [31-35]. Atualmente a metodologia mais utilizada para ligar os nanotubos de carbono à matriz de polímero é a técnica de tratamento com solventes orgânicos ultrassonificado, onde a presença de solventes com a mesma polaridade e a grande energia fornecida pelo ultrassom, favorecem as interações intermoleculares entre o polímero e as fibras de carbono, resultando em uma adsorção física. Esse procedimento é uma forma interessante de manipulação para aumentar o potencial de reação dos nanotubos de carbono. Brison e colaboradores [36] foram um dos pioneiros a descrever o tratamento da superfície dos nanotubos com ácido afim de gerar grupos carboxílicos nas paredes dos CNTs, que servem de ancoragem para a reação com o solvente da matriz polimérica. No trabalho ambas as matrizes foram dispersas em um mesmo solvente a base de amida, criando meio adequado para a reação de amidação. Após a dispersão da matriz, via ultrassom, o grupo citado comprovou que os nanotubos de carbono são capazes de criar compostos poliméricos com menos volume e com acentuada propriedades mecânica, elétrica e térmica quando comparadas com os polímeros puros.

Modificar o eletrodo com o filme compósito para aplicações em sensores eletroquímicos traz algumas vantagens, visto que exploramos as propriedades de um material e amplificamos essas propriedades com outro material, assim podemos construir um sensor mais robusto que atua em diferentes condições sempre gerando um sinal de saída amplificado. Zou, X. *et. al.* [37], construíram um biosensor amperometrico utilizando um material compósito a base de quitosana/sílica e nanotubos de carbono hibridizado nessa matriz orgânica/inorgânica. Esse filme foi utilizado para

imobilizar a enzima colesterol oxidase na superfície do eletrodo de carbono vítreo. O grupo comparou dois tipos de eletrodos, um com a ausência de nanotubos de carbono e outro com os CNTs, afim de comparar a eficiência das fibras quando utilizadas para obtenção de um sistema mais catalítico. O tempo de resposta para o eletrodo sem CNTs foi de 25s, enquanto que para o eletrodo com CNTs foi de 13s. O limite de detecção do colesterol no eletrodo sem CNTs foi de 4 x 10^{-6} M e de 1 x 10^{-6} M para o eletrodo que apresentava a nanoestrutura de carbono. Assim, evidenciaram a importância dos nanotubos de carbono para uma detecção mais sensível e catalítica.

Nesse mesmo contexto, Yang, M. *et al.* [38] elaboraram um sensor eletroquímico utilizando quitosana dopada com nanopartícula de platina e posteriormente dispersaram nanotubos de carbono nesse filme, mais uma vez na busca de deixar os eletrodos mais catalíticos e obter respostas mais sensíveis. Relataram um tempo de detecção de 20s e um limite de detecção baixo na faixa de 3 x 10^{-6} M. Demonstrando um caráter de alta condutividade quando o elétron é capturado na superfície do eletrodo.

Os nanotubos de carbono modificados com tratamento de solvente se mostraram com grande afinidade a molécula de DNA, sendo muito aplicada a área de genossensor. Yan *et al.* [39] desenvolveram um genossensor no qual um elétrodo de carbono vítreo foi recoberto com um filme de MWNTs modificado com ssDNA (DNA com uma única hélice) para detecção do antibiótico daunorubicina. O sensor foi feito dispersando os CNTs em uma solução contendo ssDNA a foi observada uma interação entre os nucleotídeos aromáticos do DNA com os grupos carboxílicos presentes nos CNTs. O sensor mostrou-se extremamente eficiente na detecção do antibiótico.

Outro genossensor utilizando compósito a base de dispersão de nanotubos de carbono foi relatado por Wang, Q. *et al* [40], onde revestiram um eletrodo de carbono vítreo com o compósito a base de quitosana e CNTs e posteriormente ativaram esse filme utilizando glutaraldeído como um ligante covalente para enxertar a 5'-amino DNA, que faz o papel de sonda modificada a superfície do compósito através da reação de condensação aldeído-amônia. Assim o eletrodo é capaz de detectar pequenos fragmentos de DNA relacionadas com gene de plantas transgênicas do vírus do mosaico da couve-flor.

As fibras de carbono também são relatadas para sensores com enfoque em monitoramento de moléculas relacionadas ao bem estar e ao estresse dos seres humanos. As catecolaminas são neurotransmissores presentes no sistema nervoso central, porém são sintetizadas pela glândula adrenal, são moléculas que em situações de estresse provocam alterações nas frequências cardíaca e respiratória, pressão arterial e força muscular. A dosagem das catecolaminas no organismo mostra indícios de uma serie de doenças. Altas concentrações dessas moléculas podem causar danos ao sistema nervoso central, danos ao tronco cerebral, alem de tumores neuroendócrinos [41], diabetes e hipertensão arterial. Baixas concentrações de catecolaminas podem acarretar em serias doenças neurológicas, déficit de aprendizado, dificuldade no controle da pressão arterial, mal de Parkinson e esquizofrenia. Nosso grupo de pesquisa desenvolveu um biossensor com um nanocomposito a base de polímero escova (PVI) disperso em uma rede de nanotubos de carbono, afim de avaliar a interação de Dopamina na superfície do eletrodo ITO modificado [42]. Foi verificada a importância da nanoestrutura de carbono uma vez que, o eletrodo modificado apenas com o polímero escova, foi incapaz de distinguir interferentes como ácido ascórbico e acido úrico presentes na amostra de soro. A dopamina foi detectada em uma faixa de 0,1 μ mol L⁻¹ até 10 μ mol L⁻¹. Foi observado também um limite de detecção baixo na ordem de 40,5 nmol L⁻¹ de Dopamina.

Cheemalapati, S. *et al.* [43] desenvolveram um sensor eletroquímico modificando o eletrodo de carbono vítreo com um filme nanocomposito a base de óxido de grafeno e nanotubos de carbono, em busca de detecção mais especifica de Dopamina e Paracetamol. Os resultados mostraram uma grande faixa de detecção que variou de 0,2 a 400 μ mol L⁻¹ para Dopamina e 0,5 a 400 μ mol L⁻¹ para o Paracetamol com os limites de detecção de 22 nmol L⁻¹ e 47 nmol L⁻¹ respectivamente. O sensor proposto exibiu boa seletividade, sensitividade e estabilidade com apreciável consistência e precisão.

Lu, G. *et al.*[44] desenvolveu um novo biosensor para peróxido baseado no encapsulamento de hemoglobina no filme compósito de polímero eletrolítico com nanotubos de carbono carboxilado. Foi observado uma transferência direta de elétrons pelo aprisionamento da hemoglobina no filme compósito. Esse eletrodo obteve resposta linear com a concentração de peróxido que variou na faixa de 5 x 10^{-6} a 6 x 10^{-4} mol L⁻¹, observando um platô para concentrações maiores. O coeficiente de correlação foi de 0,997 e limite de detecção foi de 8 x 10^{-7} mol L⁻¹.

Assim, com todos esses mecanismos de estudos apresentados podemos afirmar que o desenvolvimento de nanocompositos a base de materiais inteligentes possuem grande potencial de aplicação que podem ser aplicados desde monitoramento de moléculas de interesse na área da saúde, quanto a áreas do agronegócio em busca de contaminantes. Essas são apenas algumas áreas de atuação dessa nova tecnologia a ser desenvolvida. Contudo, os sistemas inteligente/responsivo, que utilizam polímeros escovas polieletroliticos, devem ser introduzidos no desenvolvimento de alguns produtos a fim de aperfeiçoar o custo, visto que, apenas uma pequena quantidade de reagente é necessária para obter grandes respostas dessas estruturas, agregando muito valor a esse sistema inteligente. Portanto, neste trabalho é estudado dois tipos de polímeros reforçado com nanotubos de carbono, afim de se estudar as propriedades de nanocompósito (utilizado especificamente o PVI e o PAA). Ambos os materiais foram expostos a estímulos externos, tais como a variação de pH e de força iônica, que abrangem grande faixa de aplicação. Após a caracterização de ambos polímeros por diversas técnicas, os mesmos foram testados analiticamente para detecção de neurotransmissor dopaminérgico (dopamina) e hormônio estrógeno (striol) como moléculas modelos. Assim, o desenvolvimento de novos sensores permanece como o foco desta dissertação, pois a realidade deste mercado a fim de se obter testes de diagnósticos mais simples, rápidos e com menor custo ainda é grande.

2. Objetivo

Este trabalho tem como objetivo central a produção de um compósito formado por filmes finos polieletrolíticos reforçados com CNTs. Foi realizada a caracterização do nanocomposito desenvolvido e estudada as propriedades estímulo-responsivas do políemro pela variação de pH e força iônica que podem causar modificações na superfície. Por fim os respectivos sensores foram testados e aplicados para detecção e monitoramento de neurotransmissores dopaminérgicos (Dopamina) e hormônios progesteronas (Estriol).

2.1 Objetivos específicos

- Modificação superficial do eletrodo de ITO com o filme híbrido, PVI reforçado com CNTs, PAA reforçado com CNTs por diferentes procedimentos experimentais;
- Avaliação da resposta eletroquímica, ótica e superficial do material formado pela variação da espessura do filme polimérico depositado, identificação de grupos funcionais e CNTs incorporado ao filme;
- Caracterização do filme compósito realizada por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia Raman;
- Estudo das propriedades estimulo-responsivas dos filmes híbridos formado frente a variações do meio externo, como variação de pH, temperatura, polaridade do solvente e força iônica;
- Produção de uma plataforma, sensível, específica e viável para a detecção de biomoléculas neurotransmissoras e hormonais.

3. Materiais e Métodos

3.1 Reagentes e Soluções

Poli (Vinil Imidazole) (PVI) (P-6140-VI, MW = 7,9 g mol⁻¹, Polymer Source), Poli (ácido acrílico) (PAA) (P-3981-AA, MW = 1700 g mol⁻¹, Polymer Source), nanotubos de carbono de múltiplas paredes (Sigma-Aldrich), 3-glicidiloxipropiltrimexissilano (GPS- Sigma-Aldrich), peróxido de hidrogênio (Sigma-Aldrich), tolueno (Sigma-Aldrich), hidróxido de amônio (Sigma-Aldrich), hexacianoferrato de potássio (II) tri-hidratado (Sigma-Aldrich), cloreto de sódio (Sigma-Aldrich), tampão fosfato salino PBS (Sigma-Aldrich). Uma folha de óxido de índio e estanho (ITO)-coated PET (resistividade superficial de 60 Ω sq⁻¹, Sigma-Aldrich) foi usado como substrato para eletrodo de trabalho, Pt/Ti (fio anódico de titânio ETO78) foi usado como contra eletrodo e eletrodo de referência de Ag/AgCl (3,0 mol L⁻¹). Água ultrapura do sistema de purificação Milli-Q (Millipore Inc.) 18,2 M Ω cm, foi utilizadas tanto na lavagem dos materiais quanto na preparação de soluções.

3.2 Metodologia

3.2.1. Funcionalização do nanotubo de carbono

A funcionalização consistiu em misturar 5 mg de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWNTs) 100 mL de uma soluçao concentrada de sulfonítrica (3 H_2SO_4 : 1 HNO_3). Essa mistura foi sonicada por 6 horas, posteriormente foi realizado o processo de filtração, lavagem com água Mili-Q e secagem em estufa a 60 °C *overnight*.

3.2.2. Suspensões dos CNTs e CNTs/Polímeros

A suspensão dos CNTs na matriz do polímero escova ocorreu a partir da mistura de 5% m/m de nanotubos de carbono (MWNTs) funcionalizados com 5% m/m de PVI ou PAA utilizando etanol como solvente dos filmes. As misturas foram levadas para o banho de ultrassom por 30 min ou até a obtenção de uma suspensão homogênea.

3.2.3. Lavagem do Eletrodo ITO

O método "grafting to" foi utilizado para modificar quimicamente os eletrodos de ITO com polímeros escovas reforçados com nanotubos de acordo com o seguinte procedimento [45]. Os eletrodos foram cortados possuindo medidas de 30 mm x 8 mm e limpos utilizando-se 30 mL de etanol em banho ultrassônico por 15 min e secos em atmosfera ambiente, foi repetido o mesmo procedimento utilizando-se 2-butanona.

3.2.4. Modificação do Eletrodo ITO

Os eletrodos foram imersos em solução composta de NH₄OH, H₂O₂, e H₂O na razão 1:1:1 (v/v/v) durante 30 min, lavados com água e secos com nitrogênio. Em seguida, os eletrodos foram colocados para reagir com 0,1% v/v GPS em tolueno seco (evitando hidrolização por moléculas de água), em um período de *overnight*. Os eletrodos silanizados foram lavados com tolueno para remoção das ligações não aderidas a superfície. Após esta etapa 60 μ L do filme híbrido foram depositados sobre a superfície dos eletrodose espalhados por *spin-coating* a 3000 rpm e posteriormente colocado para reagir em forno a 140 °C com vácuo por 4 horas. Após a modificação os

eletrodos foram lavados várias vezes com etanol. O procedimento de limpeza e modificação empregado neste trabalho é mostrado na figura 3.



Figura 3: Representação esquemática do processo de limpeza e modificação do eletrodo ITO

A reação da solução composta de NH₄OH, H₂O₂, e H₂O na razão de 1:1:1 (v/v/v) na superfície do ITO favorece a formação de grupamentos hidroxilas expostos na superfície. Após a hidroxilação, a superfície foi deixada por um período de 12h em contato com GPS afim de ocorrer a silanização. A reação libera uma molécula de metanol favorecendo a ligação química do GPS com a superfície do eletrodo.

Após a silanização, o eletrodo recebe o filme compósito apresentando ao longo de sua matriz grupos capazes de reagir com o grupamento epóxi do GPS. No caso dos polímeros e do nanotubo de carbono, ambos apresentam grupamentos carboxílico que reagem com os grupos epóxi realizando uma reação de esterificação resultando na quimissorção do filme na superfície do eletrodo por meio de ligação química em uma configuração na qual parte das cadeias poliméricas pode estar estendida para longe da superfície, promovendo as propriedades de polímero escova ao sistema.

Os passos de modificação podem ser observados na Figura 4

Figura 4: Processo de adsorção do PAA e do PVI no eletrodo. [45] adaptado da tese SEMPIONATO, J. "Estudo das propriedades estímulo responsivas dos polímeros escovas". 29 de maio de 2015. 100 f. Tese (Mestrado em química dos materiais), programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Materiais (POSMAT), Universidade o Estado de São Paulo – UNESP. 2015.



A probabilidade dos grupamentos carboxílico de uma única cadeia ocupar todos os sítios ativos é baixa, pois se a quantidade de ligações fosse significativas ela ficaria completamente imobilizada na superfície, reduzindo drasticamente a entropia do sistema.

A clivagem do polímero nos nanotubos de carbono ocorreu por meio de adsorção física nas paredes dos tubos modificados com grupos hidroxilas.

3.3. Procedimento Experimental

3.3.1. Análises Eletroquímicas

As caracterizações eletroquímicas foram realizadas com um equipamento ECO Chemie Autolab Microautolab III/FRA2 com um analisador eletroquímico e o auxílio do software NOVA 1.0 (Metrohm Autolab). As medidas de Voltametria Cíclica (CV), Voltametria cíclica "scan rate" e Impedância eletroquímica (IE) foram realizadas com um sistema de três eletrodos em uma célula padrão eDAQ (Australia) ET-073, utilizando o ITO modificado com o filme híbrido como eletrodo de trabalho, o eletrodo de referência usado foi o de Ag/AgCl/KCl 3 mol L⁻¹ e um fio anódico de platina Pt/TiETO78 como contra eletrodo. A Figura 4 mostra o esquema da célula eletroquímica. Figura 5: Representação esquemática da célula eletroquímica utilizada durante os experimentos, com W (eletrodo de trabalho – ITO modificado), R (eletrodo referência) e C (contra eletrodo).



As voltametrias cíclicas foram realizadas de -0.2V até 0.7V e velocidade de 50 mV s⁻¹. As análises de voltametrias cíclicas com taxa de varredura foram obtidas em um intervalo de velocidade de 20 a 250 mV s⁻¹. As análises de impedância eletroquímica foram realizadas aplicando-se um potencial de 0,3V e usando uma perturbação de 10 mV na faixa de frequência de 100 KHz-100 mHz. Todas as soluções foram tamponadas com tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ titulado com NaOH ou HCl para atingir os valores de pH especificados no texto. As medidas foram feitas utilizando-se como eletrólito 0,5 mol L⁻¹do íon ferrocianeto [Fe(CN)₆]⁻⁴. Os experimentos foram realizados a temperatura ambiente (25 °C aproximadamente) e foi considerado apenas a segunda varredura nos voltamogramas obtidos. As medidas de pH foram realizadas com equipamento Metrohm 827 pH Lab com 98% de acuracidade. Para as análises de variação de força iônica foram adicionados ao tampão PBS de pH constante e igual a 7,4 as respectivas concentrações de NaCl em mol L⁻¹: 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0.

3.3.2. Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

As micrografias de MEV foram realizadas utilizando-se o Microscópico Eletrônico de Varredura Quanta 200 da Fei Company. Os eletrodos foram cortados em retângulos de 2 mm por 6 mm. As amostras foram colocadas sobre os *stubs* com fita dupla face. As análises foram realizadas após a metalização de uma camada de 50 nm de espessura de ouro.

3.3.3. Espectroscopia Raman

Os espectros Raman obtidos foram utilizando um modelo T64000 (Groupe Horiba – Longjumeau/France), com radiação de laser de argônio definida em 514,5 nm e 2,41 eV para excitação da amostra.

4. Resultados e Discussões

4.1. Efeitos da funcionalização química dos nanotubos de carbono

Primeira etapa do projeto foi entender o processo de funcionalização dos nanotubos de carbono quimicamente. Este processo tem por finalidade desbloquear os planos de borda, criar defeitos ao longo do corpo dos tubos, diminuindo o comprimento e o diâmetro dos tubos o que leva a favorecer a formação de grupos funcionais, principalmente, grupos carboxila que são formados nos planos de borda e nos defeitos dos CNTs devido à alta energia fornecida por ultrassom em meio ácido. Esta nanoestruturação e funcionalização dos CNTs manifestam um caráter mais eletrocatalítico e condutor por expor mais a área de contato, além de potencializar a aplicação dessa nanoestrutura em diferentes áreas, como a formação de novos nanocompósitos. A solubilidade dos CNTs na matriz polimérica ocorreu utilizando solventes com mesma polaridade para ambas as matrizes, facilitando o processo de adsorção do polímero nas paredes do tubo. A figura 6 mostra a diferença de dispersão dos nanotubos amorfo, dos nanotubos oxidados com solução sulfonítrica e posteriormente disperso na matriz polimérica. Nota-se, que a metodologia proposta resultou em um filme compósito com fase homogênea, indicando uma boa dispersão.

Figura 6: (A) CNTs amorfo em água Mili-Q, (B) CNTs oxidado com solução sulfonítrica, e (C) os CNTs misturados com a matriz polimérica.



4.1.1. Caracterização física utilizando espectro Raman

Após realizado a funcionalização química dos nanotubos de carbono, foi realizado ensaio de espalhamento Raman. Espectroscopia Raman forneceu caracterização complementar da estrutura eletrônica MWNTs. As bandas Raman D e G, que mostra a ordem e desordem da ligação do carbono hibridizado-SP2. Na figura 7B podemos notar que a banda D em 1350 cm⁻¹ e a banda G em 1610 cm⁻¹ mudam após a funcionalização. A proporção D/G dos MWNTs antes e após a funcionalização foi calculada em torno de 1,3 e 2,4, respectivamente. O que corrobora com o entendimento que houve a dispersão dos nanotubos em solução após a etapa de funcionalização.

Figura 7: Espectroscopia Raman



4.1.2. Caracterização morfológica dos CNTs funcionalizados

A figura 8A é uma caracterização feita por MEV da superfície do eletrodo (ITO) modificado com os nanotubos de carbono amorfo, onde foram observados nanotubos de até 1,0 µm de comprimento e 61,0 nm de diâmetro e também pouco efeito de borda dos nanotubos, evidenciando características de tubos inertes. A figura 8B mostra o eletrodo modificado com nanotubos de carbono oxidados com solução sulfonítrica, em que, podem ser observados tubos menores com aproximadamente 45 nm de diâmetro e maior efeito de borda nas paredes dos tubos, aumentando a área de contato e também a sua reatividade química possibilitando a fusão das fibras com outros materiais, como por exemplo, matriz polimérica.

Figura 8: Micrografias MEV A) ITO revestido com CNTs amorfo, barra de escala: 1 μm. B) ITO revestido com CNTs oxidado, barra de escala: 1 μm.



Na sequencia, foram realizados os espectros de EDX para a caracterização da superfície. As figuras 9A e 9B mostram os espectros de EDX da etapa de modificação, obtidos nas mesmas amostras da figura 6. A figura 9A revelou que o pico de carbono (C) correspondente ao tubo de carbono e o pico de ouro (Au) referente a metalização da amostra. A figura 9B apresentou um pico de carbono (C) com maior intensidade, provavelmente causado pelos efeitos de borda e mais exposição de contato da amostra, o pico de oxigênio (O) representando a modificação feita nas paredes do tubo e o ouro (Au) referente a metalização da amostra.



Figura 9: A) EDX dos CNTs em seu estado amorfo. B) EDX dos CNTs oxidado

4.1.3. Caracterização eletroquímica avaliando as etapas de funcionalização

Após a caracterização morfológica, foram realizados experimentos eletroquímicos para melhor entendimento das superfícies analisadas. A figura 10 demonstra diferentes eletrodos estudados. O eletrodo ITO, o eletrodo ITO modificado com CNTs amorfo e o eletrodo ITO modificado com filme de CNTs funcionalizados foram analizados. O experimento foi realizado em meio a 10 mmol L⁻¹ de tampão fosfato em pH 4;0, contendo como o par redox de 0,5 M de [Fe(CN)₆]⁴⁻, com velocidade de varredura de potencial 50 mV s⁻¹. A figura 9 mostra os voltamogramas cíclicos para o eletrodo de ITO, eletrodo de ITO/CNTs não funcionalizados e o eletrodo de ITO/CNTs funcionalizado. Não foi possível comparar a reversibilidade do eletrodo ITO com as demais etapas de modificação, porém se comparar a reversibilidade do eletrodo ITO modificado com nanotubos de carbono amorfo com o eletrodo ITO modificado com os nanotubos de carbono oxidado houve um aumento de corrente de pico catódica e anódica e principalmente a capacidade de reversibilidade devido aos potenciais terem se deslocado para valores mais negativos, fato ocorrido possivelmente por expor mais os planos de borda dos tubos, aumentando significativamente a área de contato da superfície. O eletrodo ITO/CNTs amorfo apresentou um $\Delta E = 310$ mV enquanto que o eletrodo ITO/CNTs oxidado apresentou um $\Delta E = 200 \text{ mV}$.

Figura 10: Voltamogramas cíclicos para os eletrodos: ITO (curva vermelha), ITO/CNTs não funcionalizados (curva verde) e ITO/CNTs funcionalizados (curva azul).



A partir dos estudos dos voltamogramas, evidenciou uma melhora no caráter eletrocatalítico do eletrodo, estes resultados foram corroborados pelo estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Os experimentos de EIS foram utilizados com a finalidade de se obter os valores da resistência de transferência de cargas, para a reação de oxidação do par redox na superfície do eletrodo. A figura 11 apresenta o resultado da EIS na forma de diagramas de Nyquist, no qual o plano complexo consiste na formação de um semicírculo, em altas e médias frequências e uma reta em baixas frequências, sugerindo um controle cinético e difusional respectivamente.

Figura 11: Espectroscopia de Impedância Eletroquímica para os eletrodos: ITO (curva preta), ITO/CNTs não funcionalizados (curva vermelha) e ITO/CNTs funcionalizados (curva verde).



Para análise quantitativa dos resultados desses experimentos foi utilizados um circuito equivalente de Randles modificado apresentado na figura 12, que consiste na resistência da solução R_s , ligada em série com uma combinação em paralelo de um capacitor não ideal e uma resistência de transferência de carga R_{ct} , no qual, esse sistema está ligada em série com uma impedância de Warburg Z_w correspondente ao domínio difusional do sistema.

Figura 12: Circuito de Randles modificado



Foi observado, que o eletrodo de ITO/CNTsCOOH obteve o menor tamanho de semicírculo, indicando o menor valor de resistência a transferência de carga R_{ct} . A diminuição de R_{ct} pode ser atribuída à etapa de funcionalização das paredes dos nanotubos, que gerou uma nova nanoestruturação e aumento da área de planos de borda disponíveis, que são as regiões mais eletroativas dos CNTs devido à alta quantidade de grupos funcionais. Os valores de cada componente do circuito equivalente foram obtidos a partir do auxílio da ferramenta *electrochemical circle fit* do software NOVA

1.0. A figura 13 mostra os valores de resistência superficial de cada etapa de modificação.

Figura 13: Comparação dos valores de resistência a transferência de elétrons em cada etapa de modificação do eletrodo.



A tabela 1 mostra os valores de cada componente do circuito de randles modificado, bem como o valor da constante aparente de velocidade (k_{app}) que é calculada pela seguinte relação:

$$k_{app} = \frac{RT}{F^2 R c t C}$$
 Equação 2

onde, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura, F a constante de Faraday, R_{ct} é a resistência referente à superfície do eletrodo e C a concentração do eletrólito redox.

Tabela 1: Parâmetros do circuito equivalente dos Espectros de Impedancia Eletroquímica.

Eletrodo	$R_s(K\Omega)$	$R_{ct}(K\Omega)$	CPE (μ F cm ⁻²)	CPE-N	$k_{app}(cm s^{-1})$
ITO	15,4	669620	7,7	0,98	7,08 x 10 ⁻¹⁵
ITO/CNTs	16,2	25098	40,9	0,94	1,92 x 10 ⁻¹³
ITO/CNTsCOOH	15,9	18320	47,2	0,92	2,62 x 10 ⁻¹³

Como esperado, os valores de R_s são similares para os três eletrodos. Os valores de capacitância aumentaram drasticamente e os de resistência relacionados a superfície diminuíram muito, comprovando a eficiência dos nanotubos quando aplicados para sensores eletroquímicos. Os valores de CPE-N entre 0,9 e 1,0 indicam características de

capacitores [46]. Essas alterações dos parâmetros nos mostram evidencias que o aumento da rugosidade da superfície do eletrodo atua de maneira positiva em busca de um sistema mais catalítico.

4.2. Caracterização morfológica dos eletrodos ITO, ITO/PAA e ITO/PAA/CNTs

A figura 14A mostra uma micrografia feita por MEV do eletrodo ITO utilizado como substrato. A figura 14B mostra o ITO modificado com o polímero PAA, a figura 14C mostra o ITO modificado com o filme híbrido PAA/CNTs e a figura 14D mostra o eletrodo modificado em uma escala maior para ter evidencias de como os CNTs se clivaram na liga de polímero. Comparando principalmente a figura A com a figura B é possível notar o aumento de rugosidade na superfície do eletrodo e também a eficiência das etapas de modificações.

Figura 14: Micrografias MEV A) eletrodo ITO, barra de escala de: 5 μm, B) eletrodo ITO/PAA, barra de escala de: 5 μm. C) eletrodo ITO/PAA/CNTs, barra de escala: 5 μm. D) eletrodo ITO/PAA/CNTs, barra de escala: 10 μm.



Na figura 15 a composição do eletrodo modificado foi decifrada por meio da técnica de EDX com os picos de indio (In) correspondentes ao eletrodo ITO, oxigênio (O) e carbono (C) caracterizam o polímero PAA e os picos de ouro (Au) são derivados

do processo de metalização. Todos os picos eram esperados e não foram encontrados átomos que não correspondiam a composição do material analisado.



Figura 15: EDX do eletrodo ITO, modificado com PAA/CNTs

4.2.1 Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PAA/CNTs

A voltametria cíclica foi utilizada como ferramenta para estudar as propriedades eletroquímicas do eletrodo ITO/PAA/CNTs, a fim de investigar a cinética das reações do eletrodo e verificar se a difusão é a única etapa que controla o transporte de massa. A figura 16 mostra a voltametria cíclica do eletrodo ITO/PAA/CNTs em diferentes velocidades de varredura na presença de 0,5 mol L⁻¹ de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em 0,01 mol L⁻¹ de tampão PBS.

Figura 16: Voltamograma cíclico do eletrodo ITO/PAA/CNTs em diferentes taxas de varredura (a-i): 20, 30, 50, 60, 90, 100, 150, 200, e 250 mV s⁻¹ em 10 mM PBS (pH 3) e 0,5 M $[Fe(CN)_6]^{-4}$.



Os voltamogramas cíclicos demonstraram que os picos de oxidação e redução ocorreram na faixa de 0,2 V e 0,17 V, respectivamente. Os resultados obtidos revelaram que com o aumento da velocidade de varredura a corrente de pico aumenta gradualmente de forma proporcional a raiz quadrada da velocidade de varredura aplicada (figura 17), indicando um comportamento difusional da espécie eletroativa. Os picos nos voltamogramas cíclicos eram estáveis e reprodutíveis depois de muitos ciclos de potencial e depois da lavagem do eletrodo, confirmando que o processo eletroquímico é originário das espécies redox confinada na superfície.

Figura 17: Correlação da raiz quadrada da velocidade de varredura pelos picos anódicos e catódicos do par redox.



A figura 18 mostra a correlação entre o logaritmo da velocidade de varredura (log v) e a variação do potencia de pico (Δ Ep). O resultado da figura 18 permite analisar que a reação tem caráter reversível até a velocidade de 90 mV s⁻¹ e irreversível para velocidades mais elevadas.

Figura 18: Correlação do logaritmo da velocidade de varredura (log v/ mV s⁻¹) pela diferença dos potenciais de pico catódico e anódico ($\Delta E/V$).



4.2.2 Caracterização eletroquímica ITO/PAA/CNTs frente à variação de pH

O Poli(ácido acrílico) (PAA) é um poliácido (grupamento carboxilas) fraco com pK_a de 4,7 [47], assim, em pH = 4,7 suas cadeias poliméricas estão quase neutras, aumentando a hidrofibicidade da superfície, em pH > 4,7 nos quais 90% dos grupos

carboxilas encontram-se desprotonados e carregados negativamente a superfície tornase mais hidrofílica. A figura 19 mostra a estrutura química do PAA.

Figura 19: Estrutura química do Poli Acido Acrílico (PAA)



A configuração das cadeias torna-se então muito sensível a variação de pH. A figura 20 mostra o esquema ilustrativo da mudança conformacional da superfície, quando desprotonado, as cadeias de PAA estão estendidas, longe da superfície do ITO, e quando neutras, as cadeias se colapsam, ficando mais próximas à superfície do eletrodo. Estas mudanças conformacionais afetam as propriedades eletroquímicas, para todos os pHs estudados.

Figura 20: Escova de PAA com CNTs. Configurações variam dependendo do pH.



A figura 21A são mostradas as voltametrias cíclicas do eletrodo ITO/PAA/CNTs em uma faixa de pH de 3,00 a 6,00, buscando avaliar pontos onde a superfície se encontrava hidrofóbica e hidrofílica. Podemos observar que o pH ótimo, que fornece maior amplitude de corrente e menor diferença de potencial anódica e catódica, é o 3,00, e o pH em que o menor valor de corrente foi observado foi pH 6,00. A figura 21B mostra as espectroscopias de impedância eletroquímica para os mesmos valores de pH. Assim, o pH ótimo observado foi pH 3,00 onde se observou menor diâmetro de semicírculo e portanto menor resistência superficial e maior capacitância, e a maior resistência foi obtida para o pH 6,00.

Figura 21: A) Voltametria cíclica do eletrodo ITO/PAA/CNTs, ferrocianeto de potássio 0,5 mol L⁻¹, tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹, velocidade de varredura 50 mVs⁻¹; B) Espectroscopia de impedância eletroquímica do eletrodo.



As figuras 22A e 22B ilustram o comportamento do potencial de pico e da corrente de pico no eletrodo frente a variação do pH. Na figura 22A a diferença de potencial pouco se alterou com a mudança de pH mantendo a reação em caráter reversível. Figura 22B mostra o decaimento da corrente de pico com o aumento do pH.

Figura 22: A) Eletrodo ITO/PAA/CNTs variação de potencial de pico vs pH; B) Variação de corrente de pico VS pH.



Na figura 23A e 23B verificou-se os valores de R_{ct} e R_s (resitencia relativa a transferência de carga e resistência relativa a solução respectivamente) variando com o pH. A figura 23A é a que melhor ilustra o comportamento observado na superfície do eletrodo. Quanto maior o valor do pH, maior a resistência oferecida pela superfície do eletrodo.



Figura 23: Eletrodo modificado ITO/PAA/CNTs. A) Variação da resistência superfial, R_{ct} VS pH. B) Variação da resistência solução, R_s VS pH.

Os resultados eletroquímicos revelaram um comportamento interessante e contraditório ao esperado pelo eletrodo ITO modificado com PAA/CNTs. Segundo o trabalho publicado em TAM, T. K. *et al.*[47], esperava-se que pelo fato das cadeias poliméricas estarem colapsadas (superfície hidrofóbica) em valores de pH < 4,7 o sinal de corrente de pico deveria ser pequeno, isto devido ao filme hidrofóbico formado na superfície que dificultaria a troca do par redox na superfície. No entanto, o observado nestes ensaios foi um aumento do sinal eletroquímico quando em valores de pH < 4,7. Este fato interessante é ilustrado na figura 24.

Figura 24: A) ITO/PAA/CNTs em pH < 4,7, superfície hidrofóbica deixando os CNTs mais próximos a superfície. B) ITO/PAA/CNTs wm pH > 4,7, superfície hidrofílica, porém carregada negativamente, impedem o íon [Fe(CN)₆]⁴⁻ de chegar a superfície do ITO.



Os resultados mostraram um fato pouco intuitivo bem observado nas medidas eletroquímicas que foi o comportamento do sistema quando as cadeias poliméricas de PAA encontram-se estendidas. Em pH > 4,7 as cadeias de PAA estão estendidas deixando a superfície em estado hidrofílico e assim sendo, esperava-se um sinal eletroquímico com alto valor de corrente de pico, porém, como já mencionado, o pH 6,00 foi o que forneceu o menor sinal, isto porque o *probe* utilizado no trabalho foi o [Fe(CN)₆]⁻⁴, como o íon em solução encontrava-se inicialmente carregado negativamente a troca eletrônica foi dificultada devido a repulsão eletrostática entre as

cadeias poliméricas negativas do PAA e o $[Fe(CN)_6]^{-4}$. Se um *probe* com cargas positivas fosse utilizado, poderíamos observar o comportamento esperado.

4.2.3. Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PAA/CNTs frente à variação de força iônica.

Os ensaios eletroquímicos da variação de força iônica, utilizando concentrações de cloreto de sódio (NaCl), mostraram que além de ser sensível as mudanças de pH, o eletrodo de ITO/PAA/CNTs também pode ser sensível as mudanças de força iônica.

Os valores de força iônica foram calculados de acordo com a equação 3:

$$\mu = \frac{1}{2} \left(c_1 z_1^2 + c_2 z_2^2 + \dots + C_n z_n^2 \right) = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N c_i z_i^2$$
 Equação 3

onde, c é a concentração analítica e z a carga do íon presente. Como NaCl possui íons com cargas unitárias e é completamente dissociado, a força iônica possui o mesmo valor da concentração analítica.

Na figura 25A é mostrada as voltametrias cíclicas variando-se a força iônica em um intervalo de 0,001 a 1,0 mol L^{-1} de NaCl. A força iônica ótima observada foi de 0,001 mol L^{-1} e o menor valor de corrente obtido foi com a força iônica de 1,0 mol L^{-1} . Na figura 25B podemos ver as análises de espectroscopia de impedância.

Figura 25: Eletrodo ITO/PAA/CNTs variando-se os valores de força iônica A) Voltametria cíclica, tampão fosfato , velocidade de varredura 50 mV s⁻¹. B) Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.



Na figura 26A e 26B podemos observar o comportamento do eletrodo variandose a força iônica. Nota-se um aumento da corrente quando se adiciona a primeira concentração de sal e posteriormente um decaimento no sinal da corrente conforme se aumenta o valor das concentrações de sal (Figura 26B). Os potenciais dos picos anódicos e catódicos aumentam até uma força iônica de 1,0 mol L⁻¹, assim o sistema tende a deixar de ser reversível. Figura 26: Eletrodo ITO/PAA/CNTs A) [NaCl] vs variação de potencial de pico a 50 mV s⁻¹. B) [NaCl] vs variação de corrente de pico, 50 mV s⁻¹. Os inserts em cada gráfico correspondente a uma ampliação da região selecionada no gráfico.



As figuras 27A e 27B indicam respectivamente a dependência da força iônica em relação às resistências de superfície e da solução. A figura 27A revela que os valores de resistência de superfície tem uma variação até 0,01 mol L⁻¹ depois o sistema tende a uma saturação, e os valores de resistência de solução representada pela figura 27B aumentam conforme o aumento da concentração de NaCl.

Figura 27: Eletrodo modificado ITO/PAA//CNTs. A) Resistencia de superfície R_{ct} vs [NaCl] mol L⁻¹. B) Resistência da solução R_s vs [NaCl] mol L⁻¹.



Com os dados analisados é possível tirar algumas conclusões quanto a regimes salinos. Quando a concentração de íons foi variada, alguns eventos mais complexos ocorrem, fato que se observa ao comparar um voltamograma na ausência de sal e na presença de sal. Apesar de complexos, os resultados estão de acordo com o entendimento teórico de resposta de um polieletrolítico escova fraco frente a variação de concentração de sal.[48]

Dois tipos de regimes osmóticos para escovas de polieletrolíticos fracos são definidos com os resultados obtidos. O regime osmótico convencional se caracteriza quando usamos pequena concentração de sal. Neste caso, a concentração de sal no bulk da solução e nas vizinhanças do eletrodo é menor em relação à concentração de contra

íons dentro da escova. Quanto maior a quantidade de contra íons no interior do polímero, menor a intensidade das forças repulsivas entre as cadeias, resultando em quase neutralidade do polímero e queda de sinal. Além do fato do próprio *probe* ter sua eficiência reduzida devido à camada de solvatação de íons ao seu redor. O regime osmótico não convencional é caracterizado pela alta concentração de sal no bulk, neste caso, os íons carregados positivamente do sal atuam como íons hidrônios (H₃O⁺), mudando o grau de ionização do polímero escova, diminuindo a carga liquida dos segmentos de cadeias, o que diminui o sinal, dificultando o transporte do *probe* através do polímero, a mudança do regime osmótico convencional para o não convencional pode ser observado nos inserts da figura 27, onde valores de força iônica maiores que 0,01 mol L⁻¹ apresentam regime osmótico não convencional pela intensidade da corrente permanecer quase constante e a diferença de potencial começam a aumentar. O esquema da figura 28 ilustra o fenômeno dos regimes salinos descritos.

Figura 28: Esquema da transição dos regimes osmóticos para o regime salino.



Quando um valor muito alto de força iônica é usado, o regime muda de osmótico para salino. No regime salino, os íons do sal dominam em comparação as cargas das cadeias poliméricas dentro da escova, assim, o polímero fica completamente neutralizado pelos contra íons e a intensidade do sinal diminui. A saturação ocorre a uma força iônica de 0,01 mol L^{-1} de NaCl, pois a intensidade do sinal torna-se constante,demonstrando que as escovas atingiram a saturação de íons e estão neutras.

4.3. Caracterização morfológica dos eletrodos ITO, ITO/PVI e ITO/PVI/CNTs

A figura 29A mostra a micrografia feita por MEV do substrato utilizado no trabalho. A figura 29B mostra o MEV feito do ITO revestido com poli Vinil imidazol onde se notou grande homogeneidade do recobrimento. A figura 29C mostra a caracterização do eletrodo modificado com o compósito onde foi possível notar as estruturas de carbono reforçando mecanicamente a matrix de polímero, isso também foi notado na figura 29D.

Figura 29: Micrografias MEV A) eletrodo ITO, barra de escala de: 5 μ m, B) eletrodo ITO/PVI, barra de escala de: 5 μ m. C) eletrodo ITO/PAA/CNTs, barra de escala: 5 μ m. D) ITO/PVI/CNTs, barra de escala de 10 μ m.



A figura 30 mostra a caracterização do eletrodo ITO/PVI/CNTs feita por EDX, onde os picos de índio (In) está presente na composição do eletrodo, os elementos de carbono (C), oxigênio (O) e nitrogênio (N) fazem parte da composição química do polímero e o ouro (Au) referente a metalização da amostra



Figura 30: EDX do eletrodo ITO, modificado com PVI/CNTs.

4.3.1 Caracterização eletroquímica do eletrodo ITO/PVI/CNTs

Analisando o voltamograma da figura 31 podemos observar os picos de oxidação e redução na faixa de 0,3 V e 0,19 V respectivamente e também nota-se um aumento da corrente de pico ao passo que a velocidade de varredura aumenta.

Figura 31: Voltamograma cíclico do eletrodo ITO/PVI/CNTs em diferentes taxas de varredura (a-i): 20, 30, 50, 60, 90, 100, 150, 200, e 250 mV s⁻¹ em 0,01 mol L^{-1} PBS (pH 3) e 0,5 mol L^{-1} [Fe(CN)₆]⁻⁴.



A fim de se verificar a cinética das reações foi feito um estudo da dependência da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura, mostrado na figura 32. Observou-se um comportamento difusional do par redox indicado pelo aumento proporcional da corrente de pico com a raiz quadrada da velocidade de varredura.

Figura 32: Correlação da raiz quadrada da velocidade de varredura pelos picos de corrente anódico e catódico do par redox.



Os picos nos voltamogramas cíclicos utilizados nos gráficos foram feitos em triplicatas e se mostraram estáveis e reprodutíveis depois de muitos ciclos de potencial e depois da lavagem do eletrodo, confirmando que o processo eletroquímico é originário das espécies redox confinada na superfície. Para entender melhor o caráter de reversibilidade do eletrodo ITO/PVI/CNTs, foi feito o estudo do logaritmo da velocidade de varredura pela variação de potencial de pico catódico e anódico (ΔE). O resultado da figura 33 permite analisar que a reação tem caráter reversível até a velocidade de 90 mV s⁻¹ e irreversível para velocidades mais elevadas.

Figura 33: Correlação do logaritmo da velocidade de varredura (log v/ mV s⁻¹) pela diferença dos potenciais de pico catódico e anódico ($\Delta E/V$).



4.3.2 Caracterização eletroquímica ITO/PVI/CNTs frente à variação de pH.

O Poli (vinil imidazole) é uma polibase (anel imidazólico) com pK_a de 6,0 (citar referencia PVI), assim, em pH = 6,0 as cadeias poliméricas estão quase neutras, colapsam na superfície aumentando a hidrofibicidade, e em pH < 6,0 os grupos com nitrogênio encontram-se protonado deixando a superfície menos hidrofóbica. A figura 34 mostra a composição química do PVI.

Figura 34: Estrutura química do Poli Vinil Imidazol (PVI).



Devido a repulsão eletrostática, entre o pH ácido e o os prótons presentes na escova, as cadeias ficam estendidas mostrando uma grande sensibilidade a variação de pH. A figura 35 representa o esquema ilustrativo da mudança conformacional da superfície do eletrodo.





A figura 36A são mostrado os voltamogramas do eletrodo ITO/PVI/CNTs variando em diferentes faixas de pH que foram de 4,0 a 7,4. Podemos observar que o pH ótimo que é o que fornece maior valor de corrente de pico foi o pH 4,0 e o pior valor de corrente ocorreu em 7,4. A figura 36B revela as espectroscopia de impedância eletroquímica para os mesmos valores de pH. O pH ótimo também foi 4,0 e a maior resistência ocorreu em pH 7,4, resultados que confirmam os voltamogramas.

Figura 36: A) Voltametria cíclica do eletrodo ITO/PVI/CNTs, ferrocianeto de potássio 0,5 M, tampão fosfato 10 mM, velocidade de varredura 50 mV s⁻¹; B) Espectroscopia de impedância eletroquímica do eletrodo.



Podemos observar também o comportamento dos potencias de pico que diminuem a medida que o valor do pH aumenta (figura 37A) e os valores de corrente diminuem com o aumento do pH (figura 37B). Essa reação apresenta um caráter reversível pela diminuição dos potenciais de pico.





A figura 38A e 38B revela os valores de R_{ct} (resistência da superfície) e R_s (resistência da solução) que variam com o pH. Quanto maior o valor do pH maior a resistência oferecida pela superfície do eletrodo.

Figura 38: Eletrodo modificado ITO/PVI/CNTs. A) Variação da resistência superfial, R_{ct} VS pH. B) Variação da resistência solução, R_s VS pH.



Mesmo com as cadeias poliméricas colapsadas em valores de pH > 6,9, foi possível notar um sinal pequeno de corrente de pico, isso devido ao filme se encontrar no estado hidrofóbico dificultando a troca eletrônica entre a superfície do eletrodo e o *probe*. Já em valores de pH < 6,9 as cadeias poliméricas se encontram carregadas positivamente, resultando na repulsão da escova e facilitando o contato entre o *probre* negativo e a superfície do eletrodo, gerando um sinal intenso. O sinal é mais intenso se comparado ao eletrodo ITO/ PAA/CNTs pois nesse caso o *probe* tem sinal oposto a superfície, gerando uma atração de cargas e não uma repulsão.

Mesmo os nanotubos de carbono se encontrando mais perto do eletrodo no estado colapsado, ainda o sinal é menor do que aqueles com as cadeias estendidas, isso pelo fato do PVI ser um polibase e se carregar positivamente quando em pH apropriado, facilitando a transferência de carga. A figura 39 mostra o comportamento observado no eletrodo ITO/PVI/CNTs com relação ao *probe* negativo.

Figura 39: A) Eletrodo ITO/PVI/CNTs em pH > 6,0, cadeias colapsadas impedem o íon $[Fe(CN)_6]^{-4}$ de chegar a superfície do ITO. B) ITO/PVI/CNTs com as cadeias. estendidas, carregadas positivamente favorecem que o íon $[Fe(CN)_6]^{-4}$ chegue a superfície do eletrodo.



4.3.3. Caracterização eletroquímica ITO/PVI/CNTs frente à variação de força iônica.

As medidas eletroquímicas avaliando a variação de força iônica, utilizando concentrações de cloreto de sódio, revelaram que além do sensor ser sensível as mudanças de pH, o eletrodo de ITO/PVI/CNTs também é sensível as mudanças de força iônica.

Na figura 40A e 40B são mostradas as voltametrias cíclicas e os espectros de impedância eletroquímica respectivamente, em uma faixa de concentração de 0,001 a 1,000 mol L⁻¹ de NaCl. A força iônica ótima observada foi de 0,005 mol L⁻¹ e o menor valor de corrente de pico obtido foi com a força iônica a partir de 0,010 mol L⁻¹.

Figura 40: A) Eletrodo ITO/PVI/CNTs variando-se os valores de força iônica A) Voltametria cíclica, tampão fosfato , velocidade de varredura 50 mV s⁻¹. B) Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.



As figuras 41A e 41B revelam o comportamento eletroquímico do eletrodo ITO/PVI/CNTs variando-se a força iônica em relação ao potencial de pico anódico e catódico e as correntes anódicas e catódicas. Nota-se um um aumento da variação do potencial até a força iônica de 0,010 mol L⁻¹. Em seguida há um decaimento dos valores de potencial até a força iônica de 0,050 mol L⁻¹ e posteriormente um aumento da variação de potencial até 0,100 mol L⁻¹ permanecendo quase constante até a força iônica de 1,000 mol L⁻¹. Analisando a figura 41B a corrente de pico aumentou até a força iônica de 0,010 mol L⁻¹, esse comportamento se deve ao fato das poucas cargas presentes na escova em pH 7,4, fazendo com que o filme se encontre no estado hidrofóbico resultando na atenuação do sinal pela dificuldade do par redox chegar na superfície do ITO. A partir desse valor a força iônica de 1,000 mol L⁻¹.

Figura 41: A) Eletrodo ITO/PVI/CNTs variação de potencial de pico vs [NaCl]; B) variação de corrente de pico VS [NaCl].



As figuras 42A e 42B, revelam a variação do sinal de resistência de superfície (R_{ct}) e a variação do sinal da solução (R_s) respectivamente, em função da variação das concentrações de NaCl. O eletrodo obteve grande variação de sinal até a força iônica de 0,100 mol L^{-1} e depois obteve-se a saturação do sinal, onde o sinal da resistência da superfície diminui a partir da concentração de saturação e os valores da resistência de solução aumenta drasticamente.



Figura 42: Eletrodo modificado ITO/PVI/CNTs. A) Resistencia de superfície R_{ct} vs [NaCl] mol L⁻¹. B) Resistência da solução R_s vs [NaCl] mol L⁻¹

Os resultados obtidos mostram que o eletrodo ITO modificado com o filme de PVI/CNTs ocorre mudanças no regime osmótico. Na faixa de 0,001 a 0,010 mol L⁻¹, as escovas encontram-se no regime osmótico, o regime osmótico não convencional ocorreu na faixa de 0,010 a 0,100 mol L⁻¹ e a transição para o regime salino ocorreu de 0,100 a 1,000 mol L⁻¹. A figura 43 ilustra as transições de regime osmótico para osmótico não convencional e finalmente salino.

Figura 43: Esquema da transição dos regimes osmóticos para o regime salino.



4.4. Aplicações do sensor eletroquímico ITO/PVI/CNTs

4.4.1 Determinação de Dopamina

Após a caracterização do nanocomposito formado de polímero escova e nanotubo de carbono, foi escolhido o polímero PVI para ser aplicado no monitoramento de Dopamina. A metodologia descrita nas seções 3,2 e 3,3 foram utilizadas na construção de um sensor eletroquímico para detecção de Dopamina.

A figura 44 mostra a caracterização do eletrodo pela: A) dispersão dos CNTs na matriz de polímero (I- Nanotubos de carbono amorfo, II- Nanotubos de carbono tratado em solução sulfonítrica e III- Nanotubos de carbono disperso na matriz polimérica). B) voltametria cíclica, e as imagens de microscopia eletrônica de varredura da superfície dos eletrodos C) ITO/PVI e D) ITO/PVI/CNTs.

Figura 44: A) Dispersão dos nanotubos na matriz polimérica; B) Voltametria cíclica caracterizando a superficie de ambos os eletrodos, na ausência de tubo e com os CNTs. C) eletrodo ITO/PVI. D) eletrodo ITO/PVI/CNTs.



Outro resultado importante obtido foi que na ausência de nanotubos de carbono um sensor produzido sem os nanotubos não foi capaz de distinguir os picos de interferentes quando avaliados simultaneamente, provando que a incorporação dos nanotubos na rede polimérica ajudou na eletrocatalise do processo acima. A figura 45 ilustra o resultado obtido.

Figura 45: Voltametria de pulso diferencial. I) Eletrodo ITO/PVI. II) Eletrodo ITO/PVI/CNTs velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹ na presença de 100 mmol L⁻¹ de acido úrico e 100 mmol L⁻¹ de acido ascórbico e 16 mmol L⁻¹ de Dopamina.



Após a optimização dos parâmetros experimentais foi construída uma curva analítica pelo método de adição de padrão. Foi utiliza foi utilizada para obter a faixa de detecção de Dopamina, em meio de tampão PBS com 10% de soro Humano, na busca de se obter o mesmo padrão de detecção, conferindo uma detecção mais próxima da realidade. A figura 46 mostra o resultado obtido.

A proposta da aplicação do sensor eletroquímico foi de Dopamina simultaneamente na presença de possíveis interferentes como: ácido ascórbico e ácido úrico. Para isso foi utilizado à técnica de voltametria cíclica de pulso diferencial. Os resultados da Figura 46 mostram que os picos dos interferentes não aumentavam com a adição de Dopamina, indicando uma minimização do efeito desses dois interferentes. Os picos de oxidação do ácido ascórbico e ácido úrico apresentaram picos em torno de 0,2 V e 0,5 V respectivamente e a Dopamina foi detectado na faixa de 0,4 V. A partir desses experimentos pudemos pensar na possibilidade de detecção de Dopamina em sistemas mais complexos.

Figura 46: Voltametria de pulso diferencial do eletrodo ITO/PVI/CNTs em PBS (pH 3) a uma velocidade de 10 mV s⁻¹ na presença de 100 mmol L⁻¹ de acido ascórbico e 100 mmol L⁻¹ de acido úrico com uma faixa de detecção de a-n: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 e 30 μmol L⁻¹.



Figura 47: Voltametria de pulso diferencial do eletrodo ITO/PVI/CNTs a uma velocidade de 10 mV s⁻¹ na presença de 100 mmol L⁻¹ de acido ascórbico e 100 mmol L⁻¹ de acido úrico e 10% de soro humano com uma faixa de detecção de a-f: 2, 4, 6, 8, 10, 12 μmol L⁻¹.



O eletrodo ITO/PVI/CNTs se demonstrou sensível a Dopamina. A relação linear estabelecida entre a corrente de pico e a concentração de Dopamina foi descrita por $I_a = 0,002 \text{ mA} + 0,20 \text{ mA mmol}^{-1} L^{-1}$, e o coeficiente de correlação foi de R = 0,996. O limite de detecção (S/N=3) para a Dopamina foi de 40,5 nmol L⁻¹ e foi utilizado 3s/ razão de inclinação, onde s representa o desvio padrão do valor médio para 10 voltamogramas do branco, como determinado por recomendações da IUPAC. A tabela 2 compara os resultados obtidos desse eletrodo com os demais encontrados na literatura.

Eletrodo	Técnica	Limite de	Referência
		Detecção (mol L ⁻¹)	
REOG-porfirina	VPD	3,5 x 10 ⁻⁸	49
NPH-PtTi	VPD	3,2 x 10 ⁻⁶	50
MWCNTs-N	VC	1,4 x 10 ⁻⁶	51
NG-CDs-	UV-vis	5,5 x 10 ⁻¹¹	52
Aptamero			
HRF-GAD-	VC	11 x 10 ⁻⁶	53
Tirosina-CNTs-			
PEDOT			
Nanorode Au@Ag	SERS	6,0 x 10 ⁻¹⁵	54
ITO/PVI/MWNTs	VPD	4,0 x 10 ⁻⁸	41

Tabela 2: Comparação da performance do eletrodo estudado por diferentes métodos analíticos para detecção de Dopamina.

4.4.2 Determinação de Estriol

Outra proposta de aplicação para esse mesmo tipo de eletrodo foi no estudo de biomoléculas hormonais, como por exemplo o estrógeno. O Estriol é o estrógeno mais abundante no sistema circulatório feminino responsável por diversas funções, dentre elas, o controle neuroendócrino da ovulação, sendo de extrema importância na área da endocrinologia. Nesse estudo foi obtido a detecção de baixos níveis de Estriol. Essa molécula por apresentar eletroafinidade, se torna um modelo interessante para ser estudada eletroquimicamente.

A detecção electroquímica do Estriol foi realizada usando voltametria de pulso diferencial medindo-se a oxidação de estriol em diferentes concentrações. Figura 48A mostra um único pico a 0,50 V vs. Ag/AgCl em 0,1 mM de tampão PBS (pH 6,0). A dependência da corrente de pico em relação ao aumento da concentração é linear conforme mostrado na figura 48B. A relação linear entre IP e concentração de estriol pode ser descrito por $I_{pa} = 0,034$ mA + 0,15 mA/mmol L⁻¹ e o coeficiente de correlação foi de 0,998. O limite de detecção obtido foi de 90 nmol L⁻¹, calculado utilizando a equação 3Sb/B, onde sb é o desvio padrão do valor médio para 10 voltamogramas. A repetibilidade calculado foi de 5,1% da corrente obtida para cinco injeções da mesma concentração de estriol em diferentes momentos ao longo de 7 dias.

Figura 48: A) Voltametria cíclica de pulso diferencial do eletrodo ITO/PVI/CNTs a velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹ e diferentes concentrações medidas em uma faixa de a-g: 0, 2, 4, 6, 8, 12 e 14 µmol L⁻¹. B) Curva de calibração obtida para o eletrodo ITO/PVI/CNTs.



A capacidade para determinar o estriol na presença de outros compostos orgânico também foi investigada. Figura 49A mostra curvas de DPV de diferentes concentrações de estriol, em PBS a 0,1 mM (pH 6,0), contendo 10 uM de ácido ascórbico. AA exibe um pico de oxidação bem definida a 0,1 V vs Ag / AgCl, sob as mesmas condições experimentais utilizadas para a determinação de estriol. Os resultados mostraram que I_{pc} aumenta proporcionalmente em relação ao aumento da concentração de estriol no intervalo de 2,0x10⁻⁶ 1,0x10⁻⁵ mol L⁻¹. Logo podemos os resultados indicam que é possível determinar estriol na presença de ácido ascórbico, um interferente muito comum em medidas de amostras reais.

Figura 49: Analise de interferente do eletrodo ITO/PVI/CNTs por voltametria cíclica de pulso diferencial na presença de 10 μmol L⁻¹ de acido ascórbico como função da concentração do Estriol de a-f: 0, 2, 4, 6, 8 e 10 μmol L⁻¹.



A fim de avaliar a validade do método proposto, foi detectado estriol em amostras de soro, sem qualquer extração ou etapa de pré-concentração. Sob as mesmas condições experimentais tal como descrito acima, as curvas de calibração lineares foram obtidos para determinação de estriol em amostras de soro, correspondendo a relação linear Ipa = 0,0034 uA + 0,13 mA / mmol / L⁻¹, com um limite de detecção de 70 nM (R = 0,985). Os ensaios de recuperação foram realizadas por adição de uma quantidade de conhecida de estriol ($1.0x10^{-7}$ M), minimizando os efeitos de diluição ($\leq 1\%$), seguido por adição de padrão a partir da solução stock de estriol e traçando a curva analítica solução resultante. Todas as experiências foram realizadas em triplicado. A recuperação de todas as amostras medidas situou-se entre 94,5% e 96%. Estes resultados indicaram que o sistema proposto pode ser aplicado para análise de estriol em amostras de soro reais. A tabela 3 ilustra uma comparação dos valores de limite de detecção do eletrodo desenvolvido com os demais encontrados na literatura.

Tabela 3: Comparação da performance do eletrodo estudado por diferentes métodos analíticos para detecção de Estriol.

Eletrodo	Técnica	Limite de detecção (mol L ⁻¹)	Referência
DBB	SWV	1,7 x 10 ⁻⁷	55
CPE/NPs MMIPs	VC	1,0 x 10 ⁻⁷	56
ECG/SB ₂ O ₅ /GOr/LAC	Amperométrico	1,1 x 10 ⁻⁸	57
ECG-NI	VC	1,0 x 10 ⁻⁷	58
ECG/MWNTs/PT	SWV	6,2 x 10 ⁻⁷	59
МСРРО	SWV	5,0 x 10 ⁻⁹	60
ITO/PVI/CNTs	VPD	9,0 x 10 ⁻⁸	61

5. Conclusões

Os resultados obtidos até esta etapa da dissertação é possível extrair importantes conclusões do sensor eletroquímico construído no trabalho.

- A silanização do ITO e posteriormente adsorção do filme nanocomposito na superfície do transdutor (ITO) foi bem estabelecida, pois mesmo após os experimentos e processos de lavagem, pouca lixiviação ocorria na superfície do eletrodo.
- A etapa de funcionalização dos CNTs viabilizou a aplicação dos nanotubos de carbono nas matrizes de polímeros escovas utilizada formando um filme fino com propriedades eletroquímicas interessantes.
- As propriedades da matriz polimérica permaneceram ativas na superfície do eletrodo após a incorporação de CNTs, visto que quando se alterava o pH do meio o eletrodo respondia com grande sensibilidade a essa mudança. Com esse tipo de resposta inteligente dos polímeros aliados ao aumento de sensibilidade provocada pelos tubos, faz do eletrodo uma ferramenta promissora para canais de estado sólido onde sua configuração no estado "ON" e "OFF" permite aplicações em campos de sistemas eletrônicos lógicos.
- As análises de MEV comprovaram que a etapa de funcionalização modifica a morfologia das fibras de carbono, diminuindo o comprimento dos tubos, promovendo o aparecimento de defeitos ao longo do tubo e nas extremidades e desbloqueio dos planos de borda, aumentando a área de contato dos CNTs e expondo mais sítios ativos para reação de oxi-redução, fazendo dos nanotubos de carbono material ideal para aplicações em sensores eletroquímicos.
- Os sensores eletroquímicos produzidos no trabalho se demonstraram aptos para se detectar Dopamina e Estriol em amostras de soros dopadas com ambos os analitos e na presença de intereferentes.

6. Referencias Bibliográficas

[1] CHEN, H., DONG, S. "Direct electrochemistry and electrocatalysis of horseradish peroxidase immobilized in sol-gel-derived ceramic-carbon nanotube nanocomposite film". *Biosensors and Bioelectronics*, v. 22 pp. 1811-1815, 2007.

[2] YANG, J., DENG, S., LEI, J., JU, H., GUNASEKARAN, S. "Electrochemical synthesis of reduced graphene sheet-AuPd alloy nanoparticle composite for enzymatic biosensing". *Biosensors and Bioelectronics*, v. 29 pp. 159-166, 2011.

[3] HUANG, K. J., WANG, L., WANG, HB., GAN, T., WU, T. T., LI, J., LIU, Y. M. "Electrochemical biosensor based on silver nanoparticles-polydopamine-graphene nanocomposite for sensitive determination of adenine e guanine". *Talanta*, v.114 pp. 43-48, 2013.

[4] ANTONIO, T., BASSO, C. "Electrochemical Studies Based on Local Interfacial pH Changes og Gold Nanoparticles Immobilized on Polystyrene Brushes". *International Journal of Electrochemical Science*, v. 8 pp. 4150-4159, 2013.

[5] AHUJA, T. MIR, I. A., KUMAR, D., REJESH. "Biomolecular immobilization on conducting polymers for biosensing applications" *Biomaterials*, v. 28, pp. 791-805, 2007.

[6] ZHAO, B.; BRITTAIN, W. "Polymer brushes: surface-immobilized macromolecules". *Progress in Polymer Science*, v. 25, pp. 137-156, 1998.

[7] BRITTAIN, W. J., MINKO, S. "A Structural Definition of Polymer Brushes", *Polymer Science*, v 45, pp. 3505-3512, 2007.

[8] AHN, S. J. "Surface-initiated Polymerization on Nanopatterns Fabricated by Electron-Beam Lithografy". *Advanced Materials*, v. 16, pp. 2141-2145, 2004.

[9] SUN, T. "Reversible Switching between Superhydrophilicity and Superhydrophobicity". *Angewantdte Chemie International Edition*, v. 43, pp. 357-360, 2004.

[10] MOTORNOV, M. "Chemical gating with nanostructured responsive polymer brushes: mixed brush versus homopolymer brush". *ACS nano*, v. 2, pp .41-52, 2008.

[11] MATTHEW, T., PATEL, S., HADZIIOANNOUT, G. "Polymeric amphiphilies at solid-fluid interfaces: Forces between layers of adsorbed block copolymers". *Proced. Natio. Acad. Science of the United States of America*, v. 84, pp. 4725-4728, 1987.

[12] IIJIMA, S. "Helical microtubules of graphitic carbon". *Nature*, v.354 pp.56-58, 1991.

[13] BACHTOLD, A., HADLEY, P., DEKKER, C. "Logic circuits with carbon nanotubes transistors" *Science* v. 294 pp. 1317-1320, 2001.

[14] JARILLO-HERRERO, P. DAM, J. A., KOUWENHOVEN, L. P. "Quantum supercurrent transistors in carbon nanotubes". *Nature*, v. 439, pp 953-956, 2006.

[15] LEE, S. W., KIM, J., CHEN, S., HAMMOND, P. T., SHAO-HORN, Y."Carbon Nanotube/ Manganase Oxide Ultrathin Film Electrodes for Electrochemical Capacitors". v. 7 pp. 3889-3896, 2010.

[16] GAO, M., HUANG, S., DAÍ, L., WALLACE, G., GAO, R., WANG, Z. "Aligned Coaxial Nanowires of Carbon Nanotubes Sheathed with Conduting Polymers". *Angewandte Chemie*, v. 39, pp. 3664-3667.

[17] SHEN, J. N., YU, C. C., RUAN, H. M., GAO, C. J., BRUGGEN, B.V. "Preparation and characterization of thin-film nanocomposite membranes embedded with poly (methyl methacrylate) hydrophobic modified multiwalled carbon nanotubes by interfacial polymarization". *J. Membrane Science*, v. 442 pp. 18-26, 2013.

[18] X.L. Xie, Y.W. Mai, X. Ping, "Dispersion and alignment of carbon nanotubes in polymer matrix: a review", *Mater. Sci. Eng. Rep.* v. 49, pp. 89-112, 2005

[19] NADLER, M., WARNER, J., MAHRHOLZ, T., RIEDEL, U., HUFENBACH, W. "Effect of CNT surface functionalization on the mechanical properties of mult-walled carbon nanotube/epoxy-composite". *Composites: Part A*, v. 40 pp. 932-937, 2009.

[20] YANG, K., GU, M., GU, Y., PAN, X., UM, G."Effects of carbon nanotubes functionalization on the mechanical and thermical properties of epoxy composites". *Carbon*, v. 47 pp. 1723-1737, 2009.

[21] KE, G., GUAN, W., TANG, C., GUAN, W., ZENG, D., DENG, F. "Covalente functionalization of Multwalled Carbon Nanotubes with a low Molecular weight Chitosan". *Biomacromolecules*, v.8 pp. 322-326, 2007

[22] MIYAGAWA, H., DRZAL, T. L., "Thermo-physical and impact properties of epoxy nanocomposites reinforced by single-wall carbon nanotubes". *Polymer*, v. 45 pp. 5163-5170, 2004.

[23] BANERJEE, S., HEMRAJ-BENNY, T., WONG, S.S. "Covalent Surface Chemistry of Single-Walled Carbon Nanotubes". *Advanced Materials*, v. 17 pp.17-29, 2005.

[24] LI, H., CHENG, F., DUFT, A.M., ADRONOV, A. "Functionalization of Single-Walled Nanotubes with Well-Defined Polystyrene by "Click" Coupling". *Jour. Amer. Chem. Socie*, v 127 pp. 14518-14524, 2005.

[25] HAMADA, N., SAWADA, ., OSHIYAMA, A. "New one-dimensional conductors graphitic microtubules" *Physical Review Letters*, v. 68, pp. 1579-1581, 1992.

[26] MORAES, F. Nanotubos de carbono no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. 2010, 126 f. Tese (Doutorado em Físico-Quimica) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

[27] HERBST, M. H., MACEDO, M. I. F., ROCCO, A. M. "Tecnologia dos nanotubos de carbono: tendências e perspectiva de uma área multidisciplinar". *Química Nova*, v. 27 pp. 986-992, 2004.

[28] BAUGHMAN, R. H., ZAKHIDOV, A. A., DE HEER, W. A. "Carbon nanotubes – the route microtubules". *Science*, v. 297, pp. 787-792, 2002.

[29] MASHETER, A. T., ABIMAN, P., WILDGOOSE, G. G., WONG, E., XIAO, L., REES, N. V.M TAYLOR, R., ATTARD, G. A., GARY, A., BARON, R., CROSSLEY, A., JONES, J. H., COMPTON, R. G. "Investigating the reactive sites and the anomalously large changes in surface pKa values of chemically modified carbon nanotubes of different morphologies". *Journal Materials Chemical*, v. 17 pp. 2616-2626, 2007.

[30] DAÍ, H., "Carbon Nanotubes: Synthesis, Integration, and Properties". *American Chemical Society*, v. 35, pp. 1035- 1044, 2002.

[31] CUI, J. WANG, W. P., YOU, Y.Z., LIU, C. H., WANG, P.H. "Functionalization of multiwalled carbon nanotubes by reversible addition fragmentation chain-transfer polymerization". *Polymer*, v. 45, pp. 8717-8721, 2004.

[32] XIN, S., .YA, S., ZANRU, G., YUJUN, F. "Functionalization of Multi-Walled Carbon Nanotubes with Thermo-Responsive Azide-Terminated Poly(N-isopropylacrylamide) via Click Reactions". *Molecules*, v. 18: 4599-4612, 2013.

[33] ZHAO, Y., STODDART, J. F. "Noncovalent Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes". *Accounts of Chemical Research*, v. 42 pp. 1161-1171, 2009.

[34] STAR, A., LIU, Y., GRANT, K., RIDVAN, L., STODDART, J. F. STEUERMAN, D. W., DIEHL, M. R., BOUKAI, A., HEATH, J. R. "Noncovalente Side-Walled Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes". *Macromolecules*, v.36, pp.553-560, 2003.

[35] KIM, S. W., KIM, T. KIM, Y. S., CHOI, H. S., LIM, H. J., YANG, S. J., PARK, C. R. "Surface modifications for the effective dispersion of carbon nanotubes in solvents and polymers". *Carbon*, v. 50 pp. 3-33, 2012.

[36] RAMANATHAN, T., LIU, H., BRINSON, L.C. "Functionalized SWNT/Polymer Nanocomposite for Dramatic Property Improvement" *Polymer Phys.* v. 43, pp. 2269-2279, 2005.

[37] TAN, X., LI, M., CAI, P., LUO, L., ZOU, X. "Na amperometric cholesterol biosensor based multiwalled carbon nanotubes and organically modified sol gel/chitosan hybrid composite film". *Analytical Biochemistry*, v. 337, pp. 111-120, 2005.

[38] YANG, M., YANG, Y., YANG, H., SHEN, G., YU, R. "Layer-by-layer self-assembled multulayer films of carbon nanotubes and platinum nanoparticles with polyelectrolyte for the fabrication of biosensors". *Biomaterials*, v. 27, pp. 246-255, 2006.

[39] YAN, W., SHEN, X. C., ZHANG, Z. L., CHEN, C., PANG, D. W. "Electrochemical behavior of daunorubicin at DNA-MWCNT bioconjugates modified glassy carbon electrodes". *Analytical Letters*, v. 38 pp. 2579-2595, 2005.

[40] WANG, Q., ZHANG, B., LIN, X., WENG, W. "Hybridization biosensor based on the covalent immobilization of probe DNA on chitosan-multiwalled carbon nanotubes naocomposite by using glutaraldehyde as an arm linker". *Sensor and Actuators B: Chemical*, v. 156, pp. 599-605, 2011.

[41] LIMA, J. G., BANDEIRA, F., BANDEIRA, C. H., PAULA, M., NOBREGA, M. L. C., COSTA, S. O., NOBREGA, L. H. C. "Minimas alterações hormonais em pacientes com grande feocromocitoma" *Arq Bras Endocrinol Metab* v. 50 pp. 145-149, 2006.

[42] RECCO, L. C., CRULHAS, B. P., PARRA, J. P. R. L. L., PEDROSA, V. A. "A new strategy for detecting dopamine in human serum using polymer brushes reinforced with carbon nanotubes". *Royal Society of Chemistry*, v. 6 pp. 47134-47137, 2016.

[43] CHEEMALAPATI, S., PALANISAMY, S., MANI, V., CHEN, S. M. "Simultaneous electrochemical determination of dopamine and paracetamol on multiwalled carbon nanotubes/graphene oxide nanocomposite-modified glassy carbon electrode". *Talanta*, v. 117, pp. 297-304, 2013.

[44] CHEN, L., LU, G. "Novel amperometric biosensor based on composite film assembled by polyelectrolyte-surfactant polymer, carbon nanotube and hemoglobin". *Sensors and Actuators B: Chemical.* v. 121, pp. 423-429, 2007.

[45] SEMPIONATO, J. "Estudo das propriedades estímulo responsivas dos polímeros escovas". 29 de maio de 2015. 100f. Tese (Mestrado em química dos materiais), programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia dos Materiais (POSMAT), Universidade o Estado de São Paulo – UNESP. 2015.

[46] BREZESINSKI, T., WANG, J., TOLBERT, S. H., DUNN, B. "Next generation pseudocapacitor materials from gol-gel derived transition metal oxides". *J. Sol-gel Scien. Techno*, v. 57, pp. 330-335, 2010.

[47] TAM, T. K. "Polymer Brush-Modified Electrode with Switchable and Tunable Redox Activity for Bioelectronic Applications". *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 112, pp. 8438-8445, 2008.

[48] ZHULINA, E.; BIRSHTEIN, T.; BORISOV, O. "Theory of ionizable polymer brushes". *Macromolecules*, pp. 1491–1499, 1995.

[49] HAN, H. S.; LEE, H. K.; YOU, J. M.; JEONG, H. JEON, S. "Electrochemical biosensor for simultaneous determination of dopamine ans serotonin based on electrochemically reduced GO-porphyrin". *Sensors and Actuators B: Chamical*, v. 190, pp. 886-995, 2014.

[50] ZHAO, D.; YU, G.; TIAN, K.; XU, C. "A highly sensitive and stable electrochemical sensor for simultaneous detection towards ascorbici acid, dopamine, and uric acid based on the hierarchical nanoporous PtTi alloy". *Biosensors and Bioelectronics*, v. 82, pp. 119-126, 2016.

[51] TSIERKEZOS, N. G.; OTHMAN, S. H.; RITTER, U.; HAFERMANN, L.; KNAUER, A.; KÖHLER, M. J.; DOWNING, C.; McCARTHY, E. K. "Electrochemical analysis of ascorbic acid, dopamine, and uric acid on nobel metal modified nitrogendoped carbon nanotubes". *Sensors and Actuators B: Chamical*, v. 321, pp. 218-229, 2016. [52] ZHU, L.; XU, G.; SONG, Q.; TANG, T.; WANG, X.; WEI,F.; HU, Q. "Highly sensitive determination of dopamine by a turn-on fluorescent biosensor based on aptamer labeled carbon dots and nano-graphite". *Sensors and Actuators B:Chemical*, v. 231, pp. 506-512, 2016.

[53] LETE, C.; LUPU, S.; LAKARD, B.; HIHN, J. Y.; del CAMPO, F. J. "Multianalyte determination of dopamine and catechon at single-walled carbon nanotubes – Conduting polymer – Tytosinase based electrochemical biosensors". *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 744, pp. 53-61, 2015.

[54] TANG, L.; LI, S.; HAN, F.; LIU, L.; XU,L.; MA,W.; KUANG, H.; LI, A.; WANG, L.; XU, C. "SERS-active Au@Ag nanorod dimers for ultrasensitive dopamine detection" *Biosensors and Bioelectronics*, v. 71, pp. 7-12, 2015.

[55] SANTOS, K. D.; BRAGA, O. C.; VIEIRA, I. C.; SPINELLI, A. "Electroanalytical determination of striol hormone using a boron-doped diamond electrode" *Talanta*, v. 80, pp. 1999-2006, 2010.

[56] ZHU, L.; CAO, Y.; CAO, G. " Electrochemical sensor based on magnetic molecularly imprinted nanoparticles at surfactant modified magnetic electrode for determination of bisphenol A". *Biosensros and Bioelectronics*, v. 54, pp. 258-261, 2014.

[57] CINCOTTO, F. H.; CANEVARI, T. C.; MACHADO, S. A. S.; SANCHEZ, A.; BARRIO, A. R.; VILLALONGA, R.; PINGARRÓN, J. M. "Reduced graphene oxide-Sb₂O₅ hybrid nanomaterial for the design of a laccase-based amperometric biosensor for striol". *Electrochimica Acta*, v. 174, pp. 332-339, 2015.

[58] ARAQUE, E.; VILLALONGA, R.; GAMELLA, M.; RUIZ, P. M.; REVIEJO, J.; PINGARRÓN, M. J. "Crumpled reduced graphene oxide-polyamidoanime dendrimer hybrid nanoparticles for the preparation of an electrochemical biosensor". *Journal of Materials Chemistry B*, v. 17, pp. 2289-2296, 2013

[59] ARAQUE, E.; VILLALONGA, R.; GAMELLA, M.; RUIZ, P. M.; SÁNCHEZ, A.; BAONZA, V. G.; PINGARRÓN, M. J. "Water-Soluble Reduced Graphene Oxide-Carboxymethylcellulose Hybrid Nanomaterial for Electrochemical Biosensor Design". *ChemplusChem*, v. 79, pp. 1334-1341, 2014.

[60] BOUJAKHROUT, A.; SÁNCHEZ, A.; DÍEZ, P.; FALCAO, S. J.; RUIZ, P. M.; ÁLVAREZ, M. P.; PINGARRÓN, J. M.; VILLALONGA, R. "Decorating graphene oxide/nanogold with dextran-based polymer brushes for the construction of ultrasensitive electrochemical enzyme biosensors". *Journal of Materials Chemistry B*, v. 3 pp. 3518-3524.

[61] RECCO, L.; CRULHAS, B. P.; BASSO, C. R.; CASTRO, G. R.; PEDROSA, V. A. "Direct Electrochemical Detection of Estriol in Serum by Polymer Brushes

Reinforced with Carbon Nanotubes". *ECS Journal of Solid State Science and Tecnhology*, v. 5 pp. 3041-3044, 2016.