



PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS COM POLY (2VINIL PIRIDINA) (P2VP)

GERALDO GABRIEL PEREZ

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica

Orientador: Valber de Albuquerque Pedrosa
Departamento de Química e Bioquímica

Botucatu

2014

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS COM POLY (2VINIL PIRIDINA) (P2VP)

GERALDO GABRIEL PEREZ

Monografia apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"- UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica

Orientador: Valber de Albuquerque Pedrosa
Departamento de Química e Bioquímica

Botucatu

2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CÂMPUS DE BOTUCATU

TERMO DE APROVAÇÃO

GERALDO GABRIEL PEREZ

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ELETRODOS MODIFICADOS COM POLY (2VINIL PIRIDINA) (P2VP)

Relatório final aprovado como requisito para a obtenção de créditos da disciplina Estágio Curricular do curso de graduação em Física Médica do Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, pelos seguintes examinadores:

Orientador: Prof. Dr. Valber de Albuquerque Pedrosa
Departamento de Química e Bioquímica

Prof^a. Dr^a. Giuseppina Pace Pereira Lima
Departamento de Química e Bioquímica

Prof. Dr Vladimir Eliodoro Costa
Departamento de Física e Biofísica

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, e àqueles que entendem que nada se faz sozinho, que sabem que a partir de muitas opiniões pode se formar uma ideia e que acreditam que toda e qualquer contribuição é importante para o crescimento científico e pessoal.

Agradeço ao Professor Valber que sempre encontrou um tempo para me atender e tirar minhas dúvidas. Eu me sinto honrado pela excelente orientação, confiança e empolgação transmitida; por compartilhar um pouco de seu vasto conhecimento comigo, tanto pelas discussões sobre assuntos do cotidiano tanto quanto científicos.

Agradeço à minha família por confiar e investir em mim, que sempre acreditou que seria capaz de ingressar e me formar em uma universidade estadual, e hoje posso mostrar os frutos de sua confiança em dedicação. Em especial agradeço à minha mãe, pois sei se não fossem os esforços dela, eu não chegaria aonde cheguei.

Agradeço à minha segunda família, à República Radiotreparia, que me acolheu e me proporcionou conhecer e conviver com pessoas fantásticas, pessoas essas que se tornaram mais que meus amigos, tornaram-se meus irmãos. Agradeço também aos meus amigos de turma em especial ao Matheus Andrade por todos os momentos que compartilhamos juntos, desde festas a trabalhos em grupo.

Agradeço à minha namorada Lígia por estar sempre ao meu lado, por me apoiar e me fazer acreditar que nem sempre tudo está perdido, que sempre há uma esperança e que a melhor saída sempre é tentar.

Agradeço aos membros do laboratório: Lucas, Juliane, Bruno e Carol pela amizade e por me auxiliar nas atividades rotineiras do laboratório.

Agradeço à CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO

Durante a última década o desenvolvimento de sensores tem sido objeto de grande atenção devido o aumento da demanda de plataformas de sensoriamento para monitoramento do ambiente e saúde. A combinação de polímeros com nanopartículas de metais nobres resultam na formação de filmes finos, que podem ser utilizados na fabricação de nanosensores. Esses filmes finos possuem propriedades únicas como a mudança conformacional do mesmo. Essa variação é causada pela interação com analito ou por estímulo externo, podendo ser analisada por espectroscopia de absorção na região do UV-vis. Este simples e econômico meio de transdução de sinal apresenta-se como ferramenta bastante promissora, e se combinado com alta seletividade encontrada em reações biológicas torna-se mais promissor no desenvolvimento de sensores.

Neste trabalho foram realizados experimentos de voltametria cíclica e impedância eletroquímica em diferentes valores de pH e concentração de cloreto de sódio (NaCl). Também foram efetuados experimentos por espectroscopia de absorção na região ultravioleta-visível diferentes valores de pH e concentrações de NaCl.

Pode-se observar que em pH mais ácidos e em baixas concentrações de NaCl o polímero se mostrou mais condutor e de acordo com a literatura este efeito é causado pela expansão polimérica, que deixa o mesmo em estado ativo ON (expandido). Já para pH mais básicos e maiores concentrações de NaCl, o polímero demonstrou um comportamento inverso, logo estará em seu estado inativo OFF (contraído) que dificulta a passagem eletrônica [1].

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 06 |
| 1.1 VOLTAMETRIA CÍCLICA..... | 09 |
| 1.2 IMPEDÂNCIA..... | 11 |
| 1.3 RESSONÂNCIA PLASMÔNICA DE SUPERFÍCIE..... | 12 |
| 2. OBJETIVO..... | 14 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 15 |
| 3.1 MATERIAIS..... | 15 |
| 3.2 MÉTODOS..... | 16 |
| 3.2.1 Preparação da solução de ouro coloidal..... | 16 |
| 3.2.2 Desenvolvimento do eletrodo..... | 16 |
| 3.3 Medições eletroquímicas..... | 17 |
| 3.4 Espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)..... | 17 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES..... | 18 |
| 4.1 Força iônica..... | 18 |
| 4.2 pH..... | 20 |
| 5. CONCLUSÃO..... | 23 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 24 |

1. INTRODUÇÃO

Durante os últimos anos os Polímeros Escova (Polymer Brushes – PBs) emergiram como uma nova classe de materiais avançados. A formação das suas cadeias de versatilidade funcional permitem a criação de estruturas moleculares com potencial para aplicação em diversas áreas da ciência de materiais[2].

A grande procura em pesquisa dos Polímeros Escova deve-se a sua flexibilidade para criar filmes de composição química, espessura e densidade de enxertia também em pequena escala (até 100nm) [3]. Entretanto a combinação de tais polímeros com a técnica de litografia permite a criação de superfícies complexas a partir de modelos planejados [4,5]

Os também chamados Materiais Inteligentes são estruturas poliméricas macromoleculares formadas por cadeias que se ligam a um substrato [6]. Esses Materiais Inteligentes se diferenciam dos polímeros de enxerto tradicionais pela atuação de forças intermoleculares que causam o alongamento das cadeias na direção normal ao substrato onde estão ligadas [7].

Os filmes de Polímeros Escova simulam muitos aspectos da membrana celular. Pode-se citar a formação de poros que são seletivos ao pH [8] e a mudança de topologia de superfícies em decorrência da interação com diferentes solventes [9–14]. As superfícies dinâmicas dos Polímeros Escova quando em contato com fluidos biológicos tanto podem impedir a adesão celular em dispositivos implantáveis [15–18] quanto favorecer a ligação de biomoléculas de interesse em mecanismos de sensoriamento [19–21].

As características únicas dos Polímeros Escova oferecem uma variedade de possibilidades funcionais. A sua reorganização molecular em diferentes meios possibilita a fabricação de superfícies de estímulo-resposta altamente eficientes. Essa característica adaptável ao meio externo faz dos Polímeros Escovas materiais de grande interesse para a interface com o meio biológico [22].

As primeiras pesquisas realizadas com polímeros escovam ocorreram na década de 1950 [23,24]. A abordagem teórica da formação das cadeias poliméricas nos polímeros escovas foi introduzida por Gennes [25]. Hoje em dia, o conhecimento adquirido nos estudos anteriores permite o desenvolvimento e as aplicações dos polímeros escovas como em biomateriais, por exemplo [26].

Portanto, os polímeros escovas têm potencial para o desenvolvimento de dispositivos com a capacidade de interagir com fluidos fisiológicos, como os biossensores. Dispositivos bioeletroquímicos compostos por tais polímeros demonstram o potencial de integração entre o meio biológico, químico e microeletrônico [27,28].

Os também chamados filmes finos poliméricos se localizam em uma área multidisciplinar do conhecimento que representa a química, a física e mesmo a biologia através da ciência de polímeros. A possibilidade do controle eficiente da sua síntese em pequena escala (10 a 100 nm) garante o acesso a novas rotas para a criação de superfícies especializadas no reconhecimento de biomoléculas [29–31].

A modificação de superfície por filmes finos poliméricos condutores é uma metodologia amplamente utilizada para adaptar as propriedades de superfície como a biocompatibilidade e a resistência a corrosão, é a modificação de superfície por filmes finos poliméricos condutores. Na superfície de tais filmes finos pode-se depositar polímeros por diversas técnicas como: deposição ou pulverização a partir de solução [32]. Alternativamente, os polímeros com grupos funcionais reativos podem ser enxertados sobre as superfícies, resultando em chamados polímeros escovas. A vantagem do polímero escova em relação a métodos de modificação de superfície é a sua robustez mecânica e química, juntamente com elevado grau de flexibilidade sintética para a introdução de uma variedade de grupos funcionais. Há também o interesse cada vez maior de uso de escova de copolímero dibloco ou funcionais para superfícies “inteligentes” ou responsivo, que podem mudar de uma propriedade física (biocompatibilidade) mediante a um estímulo externo, tal como o calor, pH e a concentração de sal.

Frequentemente os polímeros escovas são preparados por deposição em uma superfície modificada, que através da formação de ligação química entre os grupos reativos na superfície e grupos reativos do polímero, se adsorvem. Esta técnica é muito difícil de alcançar altas densidades de enxerto devido à aglomeração estérica dos sítios reativos na superfície dos polímeros já adsorvidos. A espessura do filme é limitada por meio de pesos moleculares do polímero em solução. Neste trabalho utilizamos a técnica grafting to, onde as cadeias terminais do polímero se ligam a um substrato sólido. O enxerto de polímero escova a uma superfície sólida proporciona uma ferramenta versátil para a modificação da superfície e funcionalização [33].

Diferentes metodologias vêm sendo empregadas para projetar novos polímeros com características estímulo-responsivo, dentre os quais se incluem: síntese

de polímeros funcionais com composição específica; mistura de material polimérico por adição de aditivo molecular; e modificação de polímeros por diferentes tratamentos físico-químicos.

Alguns estudos mostram a preparação e caracterização relacionada com estruturas/propriedades desses filmes poliméricos estímulo-responsivos depositado sobre diferentes superfícies [34,35]. O grupo do professor Nicolas Peppas foi um dos primeiros a relatar o desenvolvimento de um nano sensor utilizando polímeros escova para análise do pH e os resultados mostraram uma deflexão de um nanômetro para cada variação de $5 \times 10^{-5} \Delta \text{pH}$ [36].

Sobre os polímeros escovas pode-se dizer que são um dos tipos mais eficientes de filme fino com propriedades estímulo responsivas para o desenvolvimento de nanosensores, pois sua topologia apresenta propriedades de dilatação e contração não encontradas em outras estruturas [37,38]. Essas mudanças conformacionais na sua estrutura têm levado ao aumento da sensibilidade para detecção de alguns compostos [39-41]. Há diversos parâmetros que foram testados para controlar tais propriedades: densidade dos compostos, comprimento das cadeias poliméricas, dispersão e composição química dos grupos funcionais.

Adicionalmente, as propriedades de contração e dilatação também foram dilatadas para polieletrólitos e polímeros orgânicos de cadeias longas [42,43]. Em contraste com as estruturas e propriedades físico-químicas encontradas em filmes poliméricos neutros, os polieletrólitos escova são controlados exclusivamente por interações eletrostática. Uma mútua repulsão entre as cargas dos polímeros e a pressão osmótica presente nos contra-íons do polímero escova afetam fortemente as propriedades físico-químicas do filme. Polieletrólitos escova também possuem propriedades estímulo-responsivas, e apresentam capacidade de mudança conformacional quando recebem um estímulo externo causado por variação de pH, temperatura, forma iônica, e por mudança de polaridade do solvente [44].

Os estudos sobre polímeros escova demonstram que estes têm inúmeras aplicações. Elas podem ser enumeradas aplicações em sistemas coloidais [45,46], na manipulação de superfícies de estímulo e resposta [47-49], na combinação de materiais porosos de estímulo e resposta [50,51], na catálise e biocatálise em microrreatores [52-54], conjugando nanopartículas de polímeros escovas esféricas para transdução óptica e catálise [55,56], em eletrodos quimicamente modificados [57,58], como nanomembranas coloidais modificadas [59], em eletrólitos de polímero no estado sólido

[60], como membranas condutoras de prótons [61], na integração com mecanismos de transdução [62,63], em filmes finos poliméricos com resposta mecano-crômicas [64,65].

1.1 Voltametria Cíclica (CV)

A voltametria cíclica é a técnica mais comumente usada para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos. A eficiência desta técnica resulta de sua habilidade de rapidamente fornecer informações sobre a termodinâmica de processos redox, da cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons e sobre reações químicas acopladas a processos adsorptivos (66).

Inicia-se a aplicação do potencial de um valor no qual nenhuma redução ocorre, com o aumento do potencial para regiões mais negativas (catódica) ocorre a redução do composto em solução, gerando um pico de corrente proporcional a concentração deste composto, quando o potencial já tiver atingido um valor no qual nenhuma reação de redução ocorre, o potencial é varrido no sentido inverso, até o valor inicial, e no caso de uma reação reversível, os produtos que tiverem sido gerados no sentido direto (e se localizam ainda próximos à superfície do eletrodo) serão oxidados, gerando um pico simétrico ao pico da redução. O tipo de voltamograma gerado depende do tipo de mecanismo redox que o composto em questão sofre no eletrodo, o que faz da voltametria cíclica uma ferramenta valiosa para estudos mecanísticos.

Há dois componentes principais que determinam as reações que ocorrem no eletrodo, existe a transferência difusional de massa do analito em solução para a superfície do eletrodo, e a transferência heterogênea de carga entre o analito e o eletrodo, em alguns casos ainda pode ocorrer reações químicas acopladas a algum destes processos. A equação de Butler-Volmer [67], equação básica da cinética eletroquímica, expressa estas relações.

$$\begin{aligned} i/nF = Ca_{(0,t)}K_s \exp \left[-\frac{\alpha n_a F}{RT} (E_{pc} - E^0) \right] \\ - Cb_{(0,t)}K_s \exp \left[\frac{(1 - \alpha) n_a F}{RT} (E_{pc} - E^0) \right] \end{aligned}$$

Para uma reação reversível, ou seja, uma reação que ocorre com velocidade suficientemente alta para estabelecer um equilíbrio dinâmico na interface, a equação de Butler-Volmer se reduz na equação de Nerst, pois como a cinética da reação de transferência de carga é rápida ($K_s > 10^{-1} \text{ cm s}^{-1}$) apenas a etapa de transferência de

massa irá ditar as regras do processo. A corrente do pico (em amperes) neste caso é dada por:

$$i_{pc} = (2,69 \times 10^5)n^{2/3}AD_0^{1/2}v^{1/2}C_0$$

Sendo que n é o número de elétrons envolvidos no processo, A é a área do eletrodo (cm^2), D_0 é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) e C_0 é a concentração da espécie em solução (mol cm^{-3}), v é a velocidade de varredura (V s^{-1}).

Para uma reação reversível a corrente de pico varia linearmente com a raiz quadrada da velocidade de varredura. Outros critérios para reversibilidade são a razão da corrente de pico anódico e catódico igual a unidade e independente de v , o potencial de pico não variando com a velocidade de varredura de potencial e a razão $i_p/v^{1/2}$ constante e independente de v^{50} .

Quando a velocidade de transferência de carga é lenta comparada com a velocidade de varredura ($K_s < 10^{-5} \text{ cm/s}$) as concentrações das espécies oxidadas (O) e reduzidas (R) não serão mais função apenas do potencial, não possuindo, portanto um comportamento nerstiano. Neste caso, os termos α (coeficiente de transferência) e K_s (velocidade de transferência de carga) devem ser considerados. Nestas circunstâncias, a equação que descreve a corrente de pico (i_{pc}) é dada por:

$$i_{pc} = (2,99 \times 10^5)n(\alpha n)^{1/2}AC_0D_0^{1/2}v^{1/2}$$

Nestes casos, o voltamograma costuma apresentar apenas pico anódico, que irá deslocar-se como aumento da velocidade de varredura. Além disso, este pico varia também com α e K_s .

Para uma reação eletródica quase reversível ($10^{-1} > K_s > 10^{-5} \text{ cm/s}$) a corrente é controlada tanto pela etapa de transferência de massa como pela etapa de transferência de carga. A equação de Nernst é apenas aproximadamente satisfeita.

A voltametria cíclica (CV) compreende um grupo de métodos eletroanalíticos nos quais as informações sobre a concentração do analito são derivadas a partir das medidas de corrente em função do potencial aplicado. Neste experimento, através da técnica de voltametria cíclica estudou-se a espécie eletroativas do sistema reversível $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, utilizando como eletrodo de trabalho o sensor modificado com P2VP, como eletrodo de referencia Ag/AgCl e como contra-eletrodo o eletrodo de platina.

Observa-se que é possível gerar eletroquimicamente as espécies $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ a partir da espécie $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e isto é indicado pela corrente catódica (redução). No sentido de variação inversa e potencial, a espécie $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ é oxidada em $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e isto é indicado pela corrente anódica (oxidação). Assim através da voltametria cíclica é possível estudar o mecanismo de eletro-oxidação de espécies eletroativas. Os parâmetros importantes extraídos do voltamograma cíclico são: o potencial de pico catódico (E_{pc}); o potencial de pico anódico (E_{pa}); a corrente de pico catódico (i_{pc}) e a corrente de pico anódico (i_{pa}).

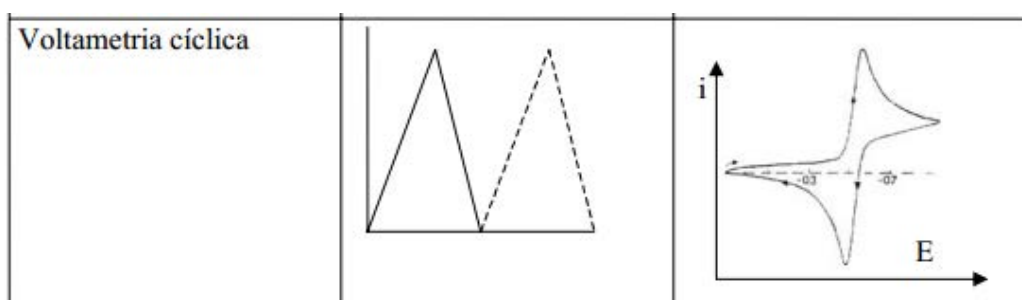


Figura 1. Forma de aplicação do potencial para voltametria cíclica

1.2 Impedância

Nesta técnica, é aplicada uma pequena perturbação sobre o eléctrodo de trabalho. O sinal aplicado aos eléctrodos é baseado na AC (corrente contínua). Esta perturbação ocorre apenas na proximidade do equilíbrio [68].

A lei de Ohm é usada para fazer a relação entre o potencial e corrente aplicada.

$$E = I \times R$$

Em que E é o potencial (em V), que atravessa uma resistência, R (em Ohm), resultando numa corrente, I (em A). Se o sinal for de corrente alternada, a resposta de um circuito para um regime sinusoidal forçada é dada pela lei de

Ohm generalizada.

$$E = I \times Z$$

$$I = \left(\frac{1}{Z}\right) \times E = Y \times E$$

Onde Z é a impedância do circuito (em Ohm) e Y é a admitância.

A impedância, Z , é o fator de proporcionalidade entre o potencial E e I . A impedância de corrente é constituída por resistências de reatância (derivado de elementos capacitivos) e indutâncias. A medida que a impedância é uma quantidade complexo, a sua representação pode ser feita de várias maneiras [69].

No caso da corrente alternada, o potencial e a corrente variável com o tempo são tipicamente representados por uma onda sinusoidal.

Muitos processos de eletrodos são mais complexos do que os descritos acima. Um diagrama de Nyquist ideal, apresenta um semicírculo na região de altas frequências e uma variação linear nas médias e baixas frequências, como se observa na **Figura 2**. Na região de altas frequências, o efeito de relaxação de transferência de carga é mostrada por um semicírculo, que podem ser obtidos valores de R_s e R_p . Onde R_s é a resistência do eléctrodo e eletrólito e podem ser obtidos por primeiro cruzamento do semicírculo com o eixo real. O segundo cruzamento do semicírculo da linha real, é o valor de $R_s + R_p$ em que R_p é a resistência de transferência de carga associada à interface polímero/electrólito [70].

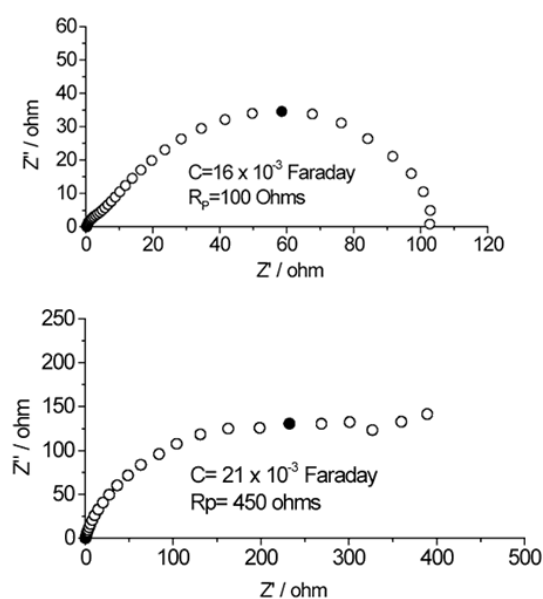


Figura 2. Representação de estudo de impedância eletroquímica [46].

1.3 Ressonância Plasmônica de Superfície Localizada (LSPR)

A técnica de ressonância plasmônica de superfície (SPR) baseia-se em propriedades ópticas e pode ser empregado para estudos de fenômenos de superfície monitorando a mudança do índice de refração devido, por exemplo, a ligação de uma camada orgânica à superfície de metal [71]. O efeito de ressonância plasmônica de

superfície é criado pela oscilação da densidade de carga longitudinal, ao longo da interface de dois meios com constantes dielétricas de sinais opostos, onde um é metal e outro um dielétrico. Normalmente SPR é aplicado em superfícies planares, já ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR) é utilizado para as fibras com dimensões nanométricas como nanopartículas ou nanoilhotas de metais nobres [72,73]. LSPR se manifesta na forma de espectros altamente intensos de extinção.

A ressonância plasmônica de superfície localizada tem sido utilizada em estudo de metais nanoestruturados depositados em substratos transparentes como no caso o vidro-ITO. Neste caso, adota-se o termo TSPR (transmissão de ressonância plasmônica de superfície), para se referir especificamente a esta configuração. As faixas de absorção de LSPR dessas nanoestruturas são dependentes do tamanho da forma da organização espacial e das propriedades dielétricas da solução [74]. A intensidade e a posição da faixa de absorção plasmônicas obtidas para nanoestruturas, geradas pela luz em determinado comprimento de onda onde ocorre a ressonância plasmônica nas nanopartículas ou nanoilhas depositadas, são características de cada tipo de material utilizado e são altamente sensíveis ao ambiente que os cercam.

2. OBJETIVO

O objetivo deste projeto é estudar o desenvolvimento de uma metodologia para a fabricação de uma nova plataforma de sensores baseados nos polímeros escovas modificados com nanopartículas de ouro. A metodologia será baseada nas mudanças estruturais provocadas nesses filmes finos com propriedades estímulo-responsivas.

Objetivos específicos:

a) Desenvolvimento de filmes finos poliméricos incorporados na sua plataforma, permitindo a detecção dos analitos em solução. Diferentes procedimentos experimentais serão estudados para a fixação dos polímeros escovas no sensor e das nanopartículas do ouro;

b) Avaliação da mudança do pH na resposta óptica e eletroquímica obtida na sensibilidade do sensor pela: espessura do filme polimérico depositado, concentração de grupos funcionais e nanopartículas incorporadas ao filme.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Neste trabalho foi utilizado o polímero poli (2-vinilpiridina) (P2VP) comercial produzido pela Polymer Sourc INC. Com massa molar média de $200.000 \text{ g mol}^{-1}$, apresenta T_g na faixa de $92 \text{ }^\circ\text{C}$ a $104 \text{ }^\circ\text{C}$ e se caracteriza como um polímero amorfo. A fórmula estrutural da unidade monomérica do polímero esta apresentada na **Figura 3**.

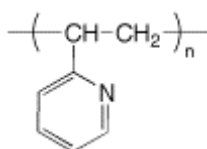


Figura 3. Estrutura da unidade monomérica do polímero poli(2-vinilpiridina) P2VP.

Os reagentes utilizados no trabalho estão apresentados na Tabela 1, juntamente com suas procedências.

| Reagentes | Peso molar | Procedência |
|--|------------|------------------------|
| Álcool etílico absoluto | 46,07 | Impex |
| MEK (2-Butanone) | | |
| Tolueno | 92,14 | Chemis |
| GPS (3-Glycidyloxypropyl Trimethoxysilane) | 236,34 | Sigma-Aldrich |
| Ammonium Hydroxide | 211,256 | J. T. Baker |
| Peróxido de Hidrogênio | 34,1 | VETEC |
| Cloreto de Sódio | 58,44 | VTEC Química Fina LTDA |
| Ácido Clorídrico | 36,46 | Sigma-Aldrich |
| P2VP (Poly(2-vinilpiridina)) | 200.000 | Polymer Sourc, INC |
| Gold(III) Chloride Trihydrate | 258,03 | Sigma-Aldrich |

Tabela 1. Reagentes utilizados e seus respectivos pesos molares e procedência.

Para tampão fosfato pH 7,4 foi utilizado a mistura pronta da Sigma na concentração de $10 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$. O pH foi ajustado conforme o necessário com NaOH 1 mol/L ou com HCl 1 mol/L. Todas as soluções foram preparadas com água purificada, em sistema Milli-Q, procedência Millipore Corporation.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparação da solução de ouro coloidal (diâmetro 14nm)

Primeiramente aqueceu-se até a ebulição 100,0 mL de uma solução de $2,5 \times 10^{-4}$ mol/L de HAuCl_4 em um Erlenmeyer, com agitação. Adicionou-se 5,0 mL de solução de 1% de citrato de sódio e manteve-se a solução em ebulição, por 10 minutos, ainda sob agitação. Decorrido esse tempo o aquecimento do sistema foi suspenso e a agitação mantida por mais 15 minutos em outra placa de agitação, porém sem aquecimento. A barra magnética foi, então, removida e a solução foi resfriada à temperatura ambiente sem a utilização de banho de gelo. Obteve-se imediatamente o espectro eletrônico da suspensão resultante.

3.2.2 Desenvolvimento do eletrodo

-Limpeza do eletrodo

O primeiro passo foi cortar o ITO em pedaços de 1,0 cm de largura e 3,0 cm de comprimento, tamanho este adequado para que possam ser realizadas as medidas eletroquímicas. Após esta primeira etapa os mesmos foram imersos em etanol absoluto e deixados no ultrassom por 5 minutos para a esterilização. Posteriormente, foram lavados com água Milli-Q e imersos em uma solução contendo MEK (2-Butanone) por mais 5 minutos, para completa remoção de material orgânico presente no ITO. Após este período os eletrodos foram lavados novamente com água Milli-Q. Então, foram inseridos em um terceiro béquer para mais uma etapa de limpeza numa solução contendo: 6 mL de hidróxido de amônio (NH_4OH), 8 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e 6 mL de água Milli-Q, por 30 minutos. Transcorrido o tempo, os eletrodos foram lavados com água Milli-Q por 20 minutos, e em seguida secados no nitrogênio.

-Modificação do eletrodo

Os eletrodos foram quimicamente modificados com P2VP, de acordo com o procedimento descrito a seguir:

.Os eletrodos foram modificados em uma solução contendo 1% de 3-Glycidyloxypropyl Trimethoxysilane (GPS) em tolueno, por 12 horas à temperatura ambiente. Após esta etapa, foram lavados com tolueno para remover o excesso de GPS que não reagiu.

.Adicionou-se então 60 μL do polímero P2VP (solução de 0,01% em tolueno) às superfícies do ITOs, para obter um filme fino. A reação dos polímeros com o GPS foi

feita no forno a vácuo 1 bar, à temperatura de 140°C por 5 horas. Passado o tempo, os eletrodos foram lavados com tolueno para remover os polímeros não ligados.

.Após a etapa de modificação com polímero, adicionou-se ouro coloidal sob a superfície dos eletrodos, e esperou por 5 h para a fixação do mesmo no eletrodo. Finalizando, os eletrodos foram lavados com água Milli-Q para retirar o excesso de ouro.

3.3 Medições Eletroquímicas:

Para a utilização de medidas eletroquímicas de voltametria cíclica e por impedância utilizou-se uma célula eletroquímica composta por três eletrodos: eletrodo modificado como eletrodo de trabalho, eletrodo de referência Ag/AgCl e contra eletrodo de platina.

Nesta célula eletroquímica, colocou-se 20 µL uma solução de $K_4Fe(CN)_6$ 0,1 mol L⁻¹ e em seguida foram realizadas dois métodos de caracterização do sensor, sendo eles, variação de pH e a variação da força iônica, sendo o pH variando de 3 a 7,4 e a força iônica pela a concentração de cloreto de sódio (NaCl) de uma concentração de 0,001 mol L⁻¹ a 1,0 mol L⁻¹.

Todas as medidas eletroquímicas foram obtidas utilizando a interface µAutolab III/FRA 2 e o software NOVA 1.10 tanto para voltametria quanto para impedância.

3.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis)

Para as medidas de espectroscopia UV-Vis, foram inseridos eletrodos em cubetas contendo solução com pH variando de 3 à 7,4 e concentração de NaCl de 0,001 molL⁻¹ a 1,0 molL⁻¹. Estas, por sua vez, foram colocadas no espectrômetro e as medidas foram registradas pelo software Acquire Toolbar.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Força Iônica

Primeiramente analisou-se o efeito da voltametria cíclica da força iônica variando-se a concentração de NaCl. Como podemos observar na **Figura 4** o aumento da concentração de NaCl implica na diminuição da corrente, o que caracteriza o eletrodo em estar em processo inativo em altas concentrações. Quando variamos a concentração de íons na solução, fenômenos mais complexos ocorrem, esta complexidade se reflete nas formas não definidas das voltametrias e no comportamento da transferência de carga do sistema. Apesar de complexos, os resultados estão de acordo com o entendimento teórico da resposta de um polieletrólito escova fraco.

Com estes resultados é possível distinguir dois tipos de regimes osmóticos para escovas de polieletrólitos fracos. O regime osmótico convencional está presente quando usamos pequena concentração de sal, neste caso, a concentração de sal no bulk da solução é pequena e a concentração de contra íons dentro da escova é quase igual a das cargas das cadeias poliméricas. Já o regime osmótico não convencional é caracterizado quando temos relativamente grande concentração de sal no sistema, neste caso, os íons carregados positivamente do sal atuam como íons hidrônios (H_3O^+), mudando o grau de ionização do polímero escova, fazendo com que as cadeias se estendam por repulsão eletrostática, aumentando o sinal eletroquímico, facilitando o transporte do $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ através das cadeias positivamente carregadas, a mudança do regime convencional para o não convencional.

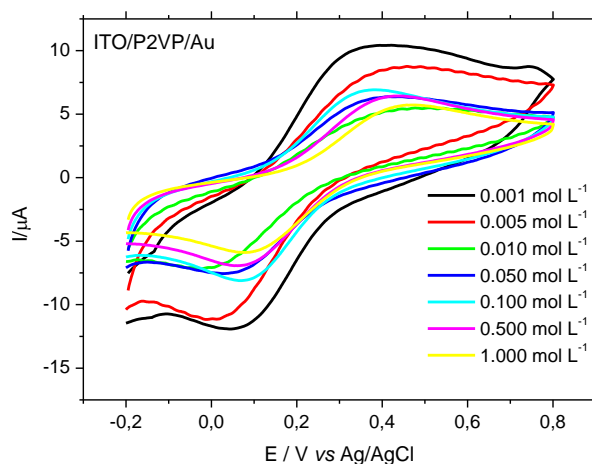


Figura 4. Influencia das concentrações de NaCl em voltametria cíclica, utilizando eletrodo de ITO modificado com polímero P2VP.

Em seguida foi o mesmo efeito utilizando-se a impedância eletroquímica. Como se observa a **Figura 5**, quanto menor o diâmetro do semicírculo menor a resistência para o transporte de elétrons, portanto em baixas concentrações de NaCl o eletrodo se encontra em estado ativo, pois apresenta menor resistência.

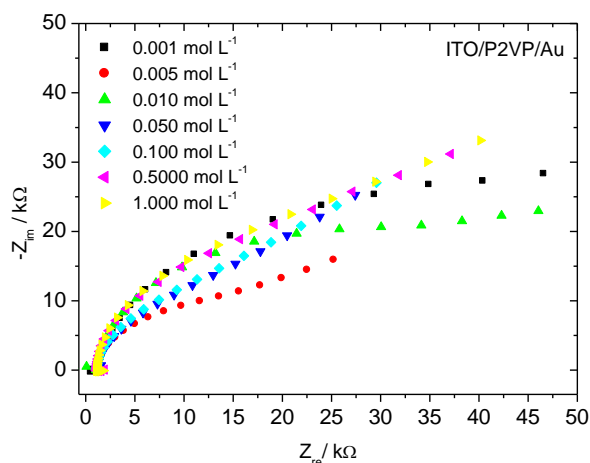
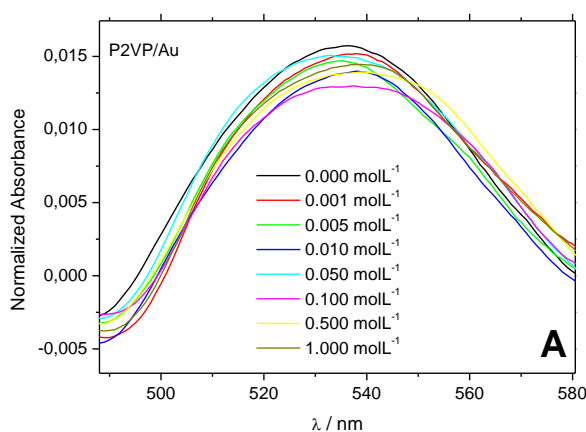


Figura 5. Influencia da variação de força iônica em impedância, utilizando eletrodo de ITO modificado com polímero P2VP.

Finalizando, utilizou-se o mesmo eletrodo para observar o efeito do LSPR pela mudança da concentração de sal. Como observado na **Figura 6A** através do UV-vis, há deslocamento da curva para a direita ocasionada pelo o aumento da força iônica. Conforme analisado em CV e em Impedância, podemos afirmar que esse deslocamento do comprimento de onda representa o aumento da bloqueio da superfície do eletrodo. Na **Figura 6B** podemos observar que em altas concentrações de sais o eletrodo se encontra em estado saturado.



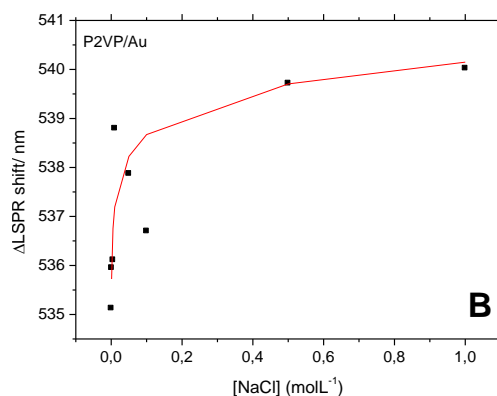


Figura 6.A) Espectro LSPR do eletrodo modificado P2VP com adsorção de nanopartículas de ouro em sua superfície para valores de concentrações de NaCl. **B)** Força iônica para determinada concentração de NaCl, onde pode-se observar a saturação do eletrodo.

4.2 pH

Inicialmente analisou-se o efeito da voltametria cíclica para cada pH. Como podemos observar na **Figura 7**, o aumento do pH implica na diminuição progressiva da corrente, o que caracteriza o eletrodo em estar em processo ativo em pH ácido. Os resultados obtidos com os ensaios eletroquímicos revelaram um comportamento interessante do eletrodo. Segundo a literatura, esperava-se que pelo fato das cadeias poliméricas estarem colapsadas em valores básicos o sinal, corrente, obtida nos ensaios eletroquímicos deveria ser pequeno, isto devido ao filme hidrofóbico formado na superfície que dificultaria a troca eletrônica entre o par redox e a superfície do eletrodo.

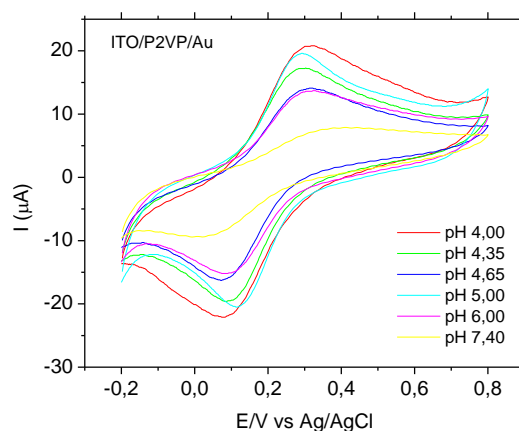


Figura 7. Influencia do pH em voltametria cíclica, utilizando eletrodo de ITO modificado com polímero P2VP.

Posteriormente foi estudada a variação de pH pela impedância eletroquímica. Como se observa a **Figura 8**, quanto menor o diâmetro do semicírculo, menor a resistência para o transporte de elétrons. Portanto em pH ácido o eletrodo se encontra em estado ativo, pois apresenta menor resistência e assim maior facilidade de transporte de elétrons.

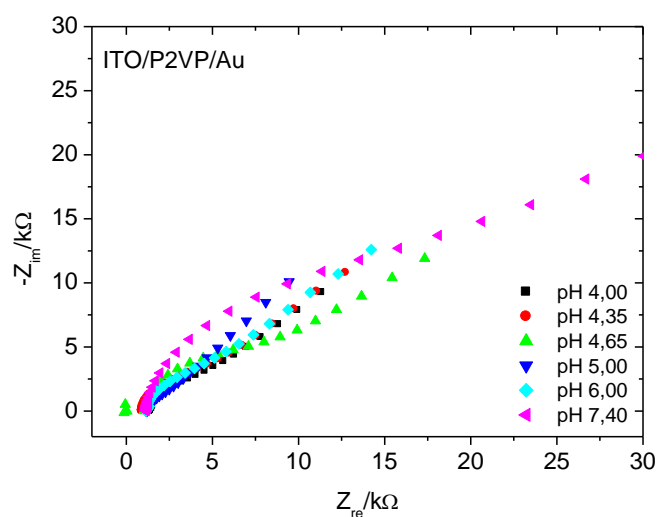


Figura 8. Influencia do pH em impedância, utilizando eletrodo de ITO modificado com polímero P2VP.

Por fim, utilizou-se o mesmo eletrodo para observar o efeito do LSPR pela mudança de pH. Como observado na **Figura 9A** através do UV-vis, há deslocamento da curva para a direita, isso ocorre devido o aumento do pH, conforme analisado em CV e em Impedância, podemos afirmar que esse deslocamento do comprimento de onda representa o aumento da inatividade do eletrodo em estudo. Na **Figura 9B** pode-se analisar a sensibilidade do sensor e o valor de pKa do mesmo, pois trata-se de uma curva de titulação.

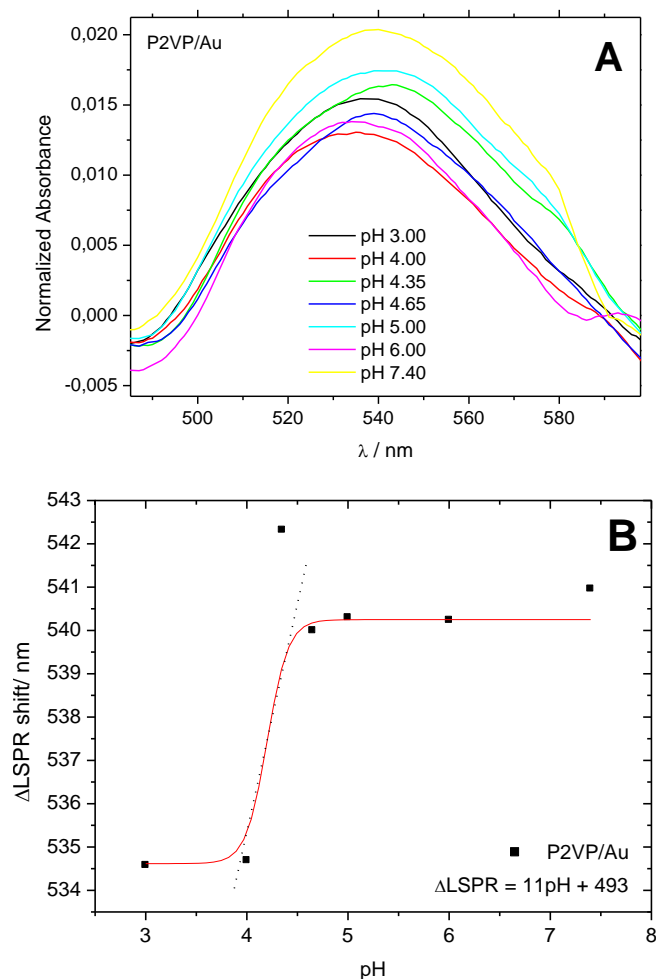


Figura 9.A) Espectro LSPR do eletrodo modificado P2VP com adsorção de nanopartículas de ouro em sua superfície para valores distintos de pH. B) Curva de titulação para a análise do pKa do sensor.

O P2VP é um polímero que possui grupos ionizáveis, em meio ácido, ao longo da estrutura da sua cadeia (aminas terciárias). Dessa forma, o polímero possui melhor condutividade em pH ácido. À medida que o pH aumenta, um pequeno aumento na viscosidade começa a ser evidenciado, tornando-se cada vez mais pronunciado à medida que o pH aumenta para valores cada vez mais elevados de basicidade. Dada esta dependência da resposta ao pH do meio, é evidente que à medida que o pH aumenta e as aminas são desprotonadas (polímero neutro), o aumento da hidrofobicidade do polímero leva à diminuição da passagem de íons (polímero se encontra contraído), diminuindo assim a corrente elétrica e aumentando a impedância do eletrodo.

5.CONCLUSÃO

Neste trabalho foi demonstrada a fabricação de um nanosensor extremamente simples, mas altamente sensível, via pH e força iônica. Concluiu-se que o polímero se comporta como uma chave, podendo estar ativo ou inativo, e que este por sua vez encontra-se em forma ativa em pH ácido e em baixas concentrações de NaCl. Além disso, a metodologia descrita demonstra uma maneira eficaz para a organização homogênea de nanopartículas em superfícies macroscópicas. Futuramente o desenvolvimento desses nanosensores terá impacto em diversas áreas como bioanalítica, físico-químicas e de biociências, aplicada assim na análise de sistemas biológicos.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- [1] Tam, T. K.; Zhou, J.; Pita, M.; Ornatska, M.; Minko, S.; Katz, E.; J. Am. Chem. Soc. **2008**, *13*, 010880.
- [2] AZZARONI, O. **Polymer Brushes Here, There, and Everywhere: Recent Advances in Their Practical Applications and Emerging Opportunities in Multiple Research Fields**. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, v. 50, n. 16, p. 3225–3258, 2012.
- [3] AONO, Masakazu; Bando, Yoshio; Ariga, K. **Nanoarchitectonics: pioneering a new paradigm for nanotechnology in materials development**. Advanced Materials, v. 24, n. 2, p. 150–151, 2012.
- [4] DUCKER, Robert; Garcia, Andres; Zhang, Jianming; Chen, Tao; Zauscher, S. **Polymeric and biomacromolecular brush nanostructures: progress in synthesis, patterning and characterization**. Soft Matter, v. 4, n. 9, p. 1774–1786, 2008.
- [5] ORSKI, Sara V.; Fries, Kristen H.; Sontag, S. Kyle; Locklin, J. **Fabrication of nanostructures using polymer brushes**. Journal of Materials Chemistry, v. 21, n. 37, p. 14135–14149, 2011.
- [6] ZHAO, B.; Brittain, W.J. **Polymer brushes: surface-immobilized macromolecules**. Polymer Science, v. 25, p. 677–710, 2000.
- [7] BRITTAİN, William J.; Minko, S. **A Structural Definition of Polymer Brushes**. Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, v. 45, n. 16, p. 3505–3512, 2007.
- [8] AZZARONI, O.; Brown, A. A.; Huck, W.T.S. **Tunable Wettability by Clicking Counterions Into Polyelectrolyte Brushes**. Advanced Materials, v. 19, n. 1, p. 151–154, 2007.
- [9] MINKO, S.; Müller, M.; Usov, D.; Scholl, A.; Froeck, C.; Stamm, M. **Lateral versus Perpendicular Segregation in Mixed Polymer Brushes**. Physical Review Letters, v. 88, n. 3, p. 2–5, 2002.
- [10] STROOCK, Abraham D.; Whitesides, G.M. **Controlling flows in microchannels with patterned surface charge and topography**. Accounts of Chemical Research, v. 36, n. 8, p. 597–604, 2003.
- [11] ISMAGILOV, R. F.; Rosmarin, T. D.; Kenis, J. A.; Chiu, D. T.; Zhang, W.; Stone, H. A.; Whitesides, G.M. **Pressure-driven laminar flow in tangential microchannels: an elastomeric microfluidic switch**. Analytical Chemistry, v. 73, n. 19, p. 4682–4687, 2001.
- [12] LIANG, Liang; Feng, Xiangdong; Martin, Paul F. C.; Peurrung, L.M. **Temperature-Sensitive Switch from Composite Poly (N-isopropylacrylamide) Sponge Gels**. Journal of Applied Polymer Science, v. 75, p. 1735–1739, 1999.
- [13] YU, Cong; Mutlu, Senol; Selvaganapathy, Ponnambalam; Mastrangelo, Carlos H.; Svec, Frantisek; Fréchet, J.M.J. **Flow control valves for analytical microfluidic chips without mechanical parts based on thermally responsive monolithic polymers**. Analytical Chemistry, v. 75, n. 8, p. 1958–1961, 2003.
- [14] XU, Chang; Wu, Tao; Drain, Charles Michael; Batteas, James D.; Beers, K.L. **Microchannel Confined Surface-Initiated Polymerization**. Macromolecules, v. 38, n. 1, p. 6–8, 2005.
- [15] MURATA, Hironobu; Koepsel, Richard R.; Matyjaszewski, Krzysztof; Russell, A.J. **Permanent, non-leaching antibacterial surface-2: how high density cationic surfaces kill bacterial cells**. Biomaterials, v. 28, n. 32, p. 4870–4879, 2007.
- [16] GLINEL, Karine; Jonas, Alain M.; Jouenne, Thierry; Leprince, Jérôme; Galas, Ludovic; Huck, W.T.S. **Antibacterial and Antifouling Polymer Brushes Incorporating Antimicrobial Peptide**. Bioconjugate Chemistry, v. 20, n. 1, p. 71–77, 2009.

- [17] TILLER, Joerg C.; Lee, Sang Beom; Lewis, Kim; Klibanov, A.M. **Polymer surfaces derivatized with poly(vinyl-N-hexylpyridinium) kill airborne and waterborne bacteria.** *Biotechnology and Bioengineering*, v. 79, n. 4, p. 465–471, 2002.
- [18] ZDYRKO, Bogdan; Klep, Viktor; Li, Xiaowei; Kang, Qian; Minko, Sergiy; Wen, Xuejun; Luzinov, I. **Polymer brushes as active nanolayers for tunable bacteria adhesion.** *Materials Science and Engineering: C*, v. 29, n. 3, p. 680–684, 2009.
- [19] VAISOCHEROVÁ, Hana; Yang, Wei; Zhang, Zheng; Cao, Zhiqiang; Cheng, Gang; Piliarik, Marek; Homola, Jiri; Jiang, S. **Ultralow fouling and functionalizable surface chemistry based on a zwitterionic polymer enabling sensitive and specific protein detection in undiluted blood plasma.** *Analytical Chemistry*, v. 80, n. 20, p. 7894–7901, 2008.
- [20] BILEN, Bukem; Skarlatos, Yani; Aktas, Gulen; Inci, Mehmet Naci; Dispinar, Tugba; Kose, Meliha Merve; Sanyal, A. **In situ measurement of humidity induced changes in the refractive index and thickness of polyethylene glycol thin films.** *Journal of Applied Physics*, v. 102, n. 7, p. 073534, 2007.
- [21] FRIES, Kristen; Samanta, Satyabrata; Orski, Sara; Locklin, J. **Reversible colorimetric ion sensors based on surface initiated polymerization of photochromic polymers.** *Chemical Communications (Cambridge, England)*, v. 47, p. 6288–6290, 2008
- [22] CHEN, Tao; Ferris, Robert; Zhang, Jianming; Ducker, Robert; Zauscher, S. **Stimulus-responsive polymer brushes on surfaces: Transduction mechanisms and applications.** *Progress in Polymer Science*, v. 35, n. 1, p. 94–112, 2010.
- [23] WAARDEN, M.V.D. **Stabilization of carbon-black dispersions in hydrocarbons.** *Journal of Colloid Science*, v. 5, p. 317–325, 1950.
- [24] WAARDEN, M.V.D. **Adsorption of aromatic hydrocarbons in nonaromatic media on carbon black.** *Journal of Colloid Science*, v. 6, p. 443–449, 1951.
- [25] GENNES, P.G.D. **Conformations of Polymers Attached to an Interface.** *Macromolecules*, v. 13, n. 5, p. 1069–1075, 1980.
- [26] AYRES, N. **Polymer brushes: Applications in biomaterials and nanotechnology.** *Polymer Chemistry*, v. 1, n. 6, p. 769–777, 2010.
- [27] WILNER, I. **Biomaterials for sensors, fuel cells, and circuitry.** *Science*, v. 298, n. December, p. 2407–2408, 2002.
- [28] ZHANG, Z. B.; Yuan, S. J.; Zhu, X. L.; Neoh, K. G.; Kang, E.T. **Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared via successive surface-initiated atom-transfer radical polymerization.** *Biosensors & Bioelectronics*, v. 25, n. 5, p. 1102–1108, 2010
- [29] TOKAREV, Ihor, Iryna; Minko, S. **Optical nanosensor platform operating in near physiological pH range via polymer-bush-mediated plasmon coupling.** *ACS Applied Materials & Interface*, v.3, n.2, p. 143-146, 2011
- [30] TOKAREVA, Iryna; Minko, Sergiy; Fendler, Janos H.; Hutter, E. **Nanosensors based on responsive polymer brushes and gold nanoparticle enhanced transmission surface plasmon resonance spectroscopy.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, n. 49, p. 15950–15951, 2004.
- [31] IONOV, L.; Sapra, S.; Synytska, A.; Rogach, A. L.; Stamm, M.; Diez, S. **Fast and Spatially Resolved Environmental Probing Using Stimuli-Responsive Polymer Layers and Fluorescent**

- [32] <http://www.demar.eel.usp.br/EM.html>
- [33] Sergiy Minko, **Grafting on Solid Surfaces: “Grafting to” and “Grafting from” Methods..** Polymer Surfaces and Interfaces Characterization, Modification and Applications pp 215-234 2008, 978-3-540-73865-7
- [34] Prucker, O.; R  he, **Polymer Layer through Self-Assembled Monolayer of Inationrs.,** J. Langmuir 1998, 14, 6893-6898.
- [35] Nakayama, Y.; Matsuda, T. **Surface Macromolecular Archtectual Desing Using Photo-Graft Copolymeriation Based on Photochemistry of Benzil N,N-Diethyldithiocarbamate.,** Macromolecules 1996, 29, 8622-8630.
- [36] <http://www.che.utexas.edu/reserch/biomat/index.htm>
- [37] Handley D. A. **Colloidal Gold: Principles, Methods, and Aplication.,** Hayat, M. A., Ed.;Academic Press: San Diego, 1989
- [38] Collier, C P.; Vossmeier, T.; Heath, J. R. **Nanocrystal Superlattices.,** Annu. Rev.Phys.Chem.1998 49 371 and references therein.
- [39] Feldheim, D. L. et al. **Layer-by-layer self-assembly: The contribution of hydrophobic interacions.,** Am. Chem. Soc. 1996, 118, 7640.
- [40] Schimitt, J. et al **Metal nanoparticle/polymer superlattice film: Fabrication and control of layer structure.,** Adv. Mater. 1997,9,61.
- [41] Zhao, B.; Brittain, W. J. Prog. Polym. **Synthesis of Polymer Brush on Silicate Substrates via Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Technique.,** Sci. 2000, 25, 677.
- [42] Biggs, S.; Selb, J.; Candau, F. **Copolymer of acrylamideN-alkylacrylamide in aqueos solution: the effectes of hydrolysis on hydrophobic interations.,** Polymer 1993, 34, 580-591.
- [43] Lacik, I.; Selb, J.; Candau, F. **Compositional heterogeneity effects in hydrophobically associating water-soluble polymers prepared by micellar copolymerization.,** Polymer 1995, 36, 3179-3211.
- [44] P. L. Soo and A. Eisenberg, J. **pH-Sensive Vesicle Based on Biocompatible Zwitterionic Diblock Copolymer.,** Polymer. Sci: Polym.Phys., 2004, 42, 923-938.
- [45] SAIGAL, Trishna; Dong, Hongchen; Matyjaszewski, Krzysztof; Tilton, R.D. **Pickering Emulsions Stabilized by Nanoparticles with Thermally Responsive Grafted Polymer Brushes.** Langmuir, v. 26, n. 19, p. 15200–15209, 2010.
- [46] GOEL, Vivek; Pietrasik, Joanna; Dong, Hongchen; Sharma, Jitendra; Matyjaszewski, Krzysztof; Krishnamoorti, R. **Structure of Polymer Tethered Highly Grafted Nanoparticles.** Macromolecules, v. 44, n. 20, p. 8129–8135, 2011.
- [47] LUTZ, Jean-François; Akdemir, Ozg  r; Hoth, A. **Point by Point Comparison of Two Thermosensitive Polymers exhibiting a similar LCST: Es The Age of Poly(NIPAM) Over?** Journal of the American Chemical Society, v. 128, n. 40, p. 13046–13047, 2006.
- [48] LEMIEUX, M.; Usov, D.; Minko, S.; Stamm, M.; Shulha, H.; Tsukruk, V.V. **Reorganization of Binary Polymer Brushes: Reversible Switching of Surface Microstructures and Nanomechanical Properties.** Macromolecules, v. 36, n. 19, p. 7244–7255, 2003.

- [49] IONOV, Leonid; Minko, Sergiy; Stamm, Manfred; Gohy, Jean-François; Jérôme, Robert; Scholl, A. **Reversible Chemical Patterning on Stimuli-Responsive Polymer Film: Environment-Responsive Lithography**. *Journal of the American Chemical Society*, v. 125, n. 27, p. 8302–8306, 2003.
- [50] JUAN, F.; Ruiz-Hitzky, E. de **Selective Functionalization of Mesoporous Silica**. *Advanced Materials*, v. 12, n. 6, p. 430–432, 2000.
- [51] CASASÚS, Rosa; Marcos, María Dolores; Martínez-Mañez, Ramón; Ros-Lis, José V.; Soto, Juan; Villaescusa, Luis A.; Amorós, Pedro; Beltrán, Daniel; Guillem, Carmen; Latorre, J. **Toward the Development of Ionically Controlled Nanoscopic Molecular Gates**. *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, n. 28, p. 8612–8613, 2004.
- [52] COSTANTINI, Francesca; Benetti, Edmondo M.; Tiggelaar, Roald M.; Gardeniers, Han J. G. E.; Reinhoudt, David N.; Huskens, Jurriaan; Vancso, G. Julius; Verboom, W. **A brush-gel/Metal-Nanoparticle Hybrid Film as an Efficient Supported Catalyst in Glass Microreactors**. *Chemistry European Journal*, v. 16, n. 41, p. 12406–12411, 2010.
- [53] WUNDER, Stefanie; Polzer, F.; Yan, Mei, Yu; Ballauff, M. Lu, **Kinetic Analysis of Catalytic Reduction of 4-Nitrophenol by Metallic Nanoparticles Immobilized in Spherical Polyelectrolyte Brushes**. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 114, n. 19, p. 8814–8820, 2010.
- [54] Yan; Lunkenbein, Thomas; Preussner, Johannes; Proch, Sebastian; Breu, Josef; Kempe, Rhett; Ballauff, M. Lu, **Composites of Metal Nanoparticles and TiO₂ Immobilized in Spherical Polyelectrolyte Brushes**. *Langmuir*, v. 26, n. 6, p. 4176–4183, 2010.
- [55] KIM, Bo Yun; Ratcliff, Erin L.; Armstrong, Neal R.; Kowalewski, Tomasz; Pyun, J. **Ferrocene Functional Polymer Brushes on Indium Tin Oxide via Surface-Initiated Atom Transfer Radical Polymerization**. *Langmuir*, v. 26, n. 3, p. 2083–2092, 2010.
- [56] TAM, Tsz Kin; Pita, Marcos; Motornov, Mikhail; Tokarev, Ihor; Minko, Sergiy; Katz, E. **Modified Electrodes with Switchable Selectivity for Cationic and Anionic Redox Species**. *Electroanalysis*, v. 22, n. 1, p. 35–40, 2010.
- [57] SCHEPELINA, Olga; Zharov, I. **Polymer-Modified Opal Nanopores**. *Langmuir*, v. 22, n. 25, p. 10523–10527, 2006.
- [58] SATO, Takaya; Morinaga, Takashi; Marukane, Shoko; Narutomi, Takuya; Igarashi, Tatsuya; Kawano, Yuko; Ohno, Kohji; Fukuda, Takeshi; Tsujii, Y. **Novel Solid-State Polymer Electrolyte of Colloidal Crystal Decorated with Ionic-Liquid Polymer Brush**. *Advanced Materials*, v. 23, n. 42, p. 4868–4872, 2011.
- [59] YAMEEN, Basit; Kaltbeitzel, Anke; Langner, Andreas; Duran, Hatice; Muler, Frank; Gosele, Ulrich; Azzaroni, O.W.K. **Facile large-scale fabrication of proton conducting channels**. *Journal of American Chemical Society*, v. 130, n. 15, p. 13140–13144, 2008.
- [60] ZHOU, Feng; Shu, Wenmiao; Welland, Mark E.; Huck, W.T.S. **Highly Reversible and Multi-Stage Cantilever Actuation Driven by Polyelectrolyte Brushes**. *Journal of the American Chemical Society*, v. 128, n. 16, p. 5326–5327, 2006.
- [61] ABU-LAIL, Nehal I.; Kaholek, Marian; LaMattina, Bruce; Clark, Robert L.; Zauscher, S. **Micro-cantilevers with end-grafted stimulus-responsive polymer brushes for actuation and sensing**. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 114, n. 1, p. 371–378, 2006.
- [62] PUCCI, Andrea; Ruggeri, G. **Mechanochromic polymer blends**. *Journal of Materials Chemistry*, v. 21, n. 23, p. 8282–8291, 2011.

- [63] CARUSO, Mary M; Davis, Douglas A.; Shen, Qilong; Odom, Susan A.; Sottos, Nancy R.; White, Scott R.; Moore, J.S. **Mechanically-induced Chemical Changes in Polymeric Materials**. Chemical Reviews, v. 109, n. 11, p. 5755–5798, 2009.
- [64] Wang, J. Anal. Electrochem. VCH publishers: New York, 1994.
- [65] Bastos, M.B.R., **Contribuição ao estudo eletroanalítico das bases de Schiff SALEN e piridoxal-5'-fosfato e alguns de seus complexos com Cu²⁺, Co²⁺, Ni²⁺ e UO₂²⁺**. 1997. 146 f. Tese de Doutorado. Puc-Rio, Rio de Janeiro, 1997.
- [66] EG&G Princeton Applied Research, Operation and Service Manual, model 384B polarographic analyser
- [67] C. Brett and A. M. O. Brett, **Electroanalysis**. Coimbra, 1998. 0 19 854816 8.
- [68] R. Cottis and S. Turgoeses, **Corrosion testing made easy: electrochemical impedance and noise**, NACE., 1999.
- [69] E. A. H. Hall and N. G. Skinner Synth Met, pp. 63–163, 1994.
- [70] M. G. S. Ferreira and M. J. J. Ferreira Eds. INETI, p. 135, 1991.
- [71] Hutter, E; Fendler, J. H. **Exploitation of localized surface plasmon resonance.**, Adv.Matter.2004, 16, 1685-1706
- [72] Kreibitz, U. et al. **Optical properties of cluster-matter: Influences of interfaces.**, Phys. Status Solidi A 1999, 175, 351-366.
- [73] Roy, D.; Fender, J. **Reflection and absorption techniques for optical characterization of chemically assembled nanomaterials.**, Adv. Matter. 2004, 16, 479-508.
- [74] Kalyuzhny, G. et al. **Transmission surface-plasmon resonance (T-SPR) measurements for monitoring adsorption on ultrathin gold island film.**, Chem. Eur. J. 2002, 8, 3850-3857.