# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 03/09/2022.

CAIO CÉSAR GONÇALVES SILVA

# SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ELETRODOS DE W/$WO_3$ MODIFICADOS COM FILMES DE POLIDOPAMINA PARA A IMOBILIZAÇÃO DE CLOROPLASTOS VISANDO APLICAÇÕES EM SISTEMAS FOTOBIOELETROQUIMICOS

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

**Orientador:** prof. Dr. Saulo Santesso Garrido
**Co-Orientadora:** profa. Dra. Maria Valnice Boldrin

**Araraquara-SP**
**2021**

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Caio César Gonçalves
S586s Síntese e caracterização de eletrodos de $W/WO_3$ modificados com filmes de polidopamina para a imobilização de cloroplastos intactos visando aplicações em sistemas fotobioeletroquímicos / Caio César Gonçalves Silva. – Araraquara : [s.n.], 2021
80 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Saulo Santesso Garrido
Coorientador: Maria Valnice Boldrin

1. Bioeletroquímica. 2. Semicondutores. 3. Eletroquímica. 4. Biotecnologia. 5. Fotossíntese. I. Título.

Bibliotecária Responsável: Ana Carolina Gonçalves Bet - CRB8/8315

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**Câmpus de Araraquara**

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ELETRODOS DE W/$WO_3$ MODIFICADOS COM FILMES DE POLIDOPAMINA COMO PLATAFORMA PARA A IMOBILIZAÇÃO DE CLOROPLASTOS INTACTOS VISANDO APLICAÇÕES EM SISTEMAS FOTOBIOELETROQUIMICOS"

**AUTOR: CAIO CÉSAR GONÇALVES SILVA**
**ORIENTADOR: SAULO SANTESSO GARRIDO**
**COORIENTADORA: MARIA VALNICE BOLDRIN**

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. SAULO SANTESSO GARRIDO (Participaçao Virtual)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Dra. LILIAN DANIELLE DE MOURA TORQUATO (Participaçao Virtual)
Departamento de Química Analítica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. DIEGO LEONI FRANCO (Participaçao Virtual)
Laboratório de Eletroanalítica Aplicada a Biotecnologia e a Engenharia de Alimentos (LEABE) / Universidade Federal de Uberlândia - UFU - Patos de Minas

Araraquara, 03 de setembro de 2021

**DADOS CURRICULARES**

## 1. DADOS PESSOAIS

**Nome:** Caio César Gonçalves Silva

**Nascimento:** 31/01/1995

**Nacionalidade:** Brasileiro

**Naturalidade:** Taguatinga Do Norte- DF- Brasil

**Estado Civil:** Solteiro

**Filiação:** Nelson Pereira da Silva e Vanilde Pereira Gonçalves Silva

**E-mail:** ccg.silva@unesp.br / caiocesarsilva201473@gmail.com

**Endereço:** Rua Prof. Francisco Degni, 55 Bairro: Quitandinha. CEP: 14800-060 Araraquara/SP.

## 2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

**Mestrado em Biotecnologia**

UNESP - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara/SP.

Período: 04/2019 – 09/2021

Título da dissertação: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ELETRODOS DE W/$WO_3$ MODIFICADOS COM FILME DE POLIDOPAMINA PARA A IMOBILIZAÇÃO DE CLOROPLASTOS VISANDO APLICAÇÕES EM SISTEMAS FOTOBIOELETROQUIMICOS

Orientador: Prof. Dr. Saulo Santesso Garrido

Co-orientadora: Profa. Dra. Maria Valnice Boldrin

Bolsa: CAPES

**Graduação em Biotecnologia**

UFU - Universidade Federal de Uberlândia, Campus - Patos de Minas, Patos de Minas/MG

Período: 2013-2 / 2018-2
Título do trabalho de conclusão de curso: Polished silver solid amalgam electrodes in eletroanalytical determination of carbamates pesticides: The methomyl case.
Orientadora: Djenaine De Souza.

## 3. TRABALHOS PUBLICADOS

**SILVA, C. C. G.,** SOUZA, Djenaine de. Polished silver solid amalgam electrode and cationic surfactant as tool in electroanalytical determination of methomyl pesticide. **Talanta**, v. 189, p. 389-396, nov. 2018.

FILHO, D. G.; **SILVA, C. C. G.;** SOUZA, D. D. Pesticides determination in foods and natural waters using solid amalgam-based electrodes: challenges and trends. **Talanta**, v. 212, p. 120756, maio 2020.

**SILVA, C.C.G.,** SILVA, L.M., SILVA, B.C., GARRIDO, S.S, ZANONI, M.V.B e SOUZA, D. D. Cathodic stripping voltammetric determination of β-cyfluthrin, a pyrethroid insecticide, using polished silver solid amalgam electrode. **Journal of Solid State Electrochem** v 24**,** p. 1819–1826, março 2020.

## 4. Participação em eventos científicos:

**SILVA, C.C.G.;** GARRIDO, S.S e ZANONI, M.V.B "Construção de biossensor fotoeletroquímico baseados em fotossistema 1, enzima fotossintética, visando o monitoramento e a conversão de $CO_2$ em produtos economicamente viáveis. " In: III Workshop INCT DATREM,2020, Araraquara-SP.

**SILVA, C.C.G.;** SILVA, L.M.; ZANONI, M.V.B. e SOUZA, D. D "Electrochemical sensor for β-cyfluthrin, a pyrethroid insecticide, by cathodic stripping voltammetry at p-AgSAE electrode". In: XXII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica - XXII SIBEE, 2019, Ribeirão Preto-SP.

**SILVA, C. C. G.**; MARTINS, F.C.O.L. e SOUZA, D. D. " Estudo do mecanismo redox e determinação eletroanalitica do pesticida metomil em alimentos in-natura. " In: 19º Encontro Nacional de Quimica Analitica e 7º Congresso Iberoamericano de Química Analítica,2018, Caldas Novas-GO.

GONÇALVES, L. M.; **SILVA, C. C. G.** e SOUZA, D. D. "Electroanalytical methodology for the simultaneous analysis of Pb+2 and Cd+2 ions using p-AgSAE". In: XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química- XXXI ERSBQ, 2018, Juiz de Fora-MG.

**SILVA, C.C.G.;** e SOUZA, D. D "Metodologia eletroanalítica para a quantificação do pesticida metomil em amostras ambientais". In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica - XXI SIBEE, 2017, Natal-RN.

PAULA, M. Jr.; **SILVA, C. C. G**. e SOUZA, D. D. " Determinação eletroanalítica de bht, antioxidante sintético, em amostras alimentícias". In: 1º Workshop em Engenharia de Alimentos- "Ciência e Tecnologia de alimentos: um benefício para a região do Alto Paranaíba",2017, Patos de Minas-MG.

GONÇALVES, L. M.; SOARES, M. G.; **SILVA, C. C. G.** e SOUZA, D. D. "Uso de p-AgSAE para a detecção de metais pesados: o caso do $Pb^{+2}$". In: 1º Workshop em Engenharia de Alimentos- "Ciência e Tecnologia de alimentos: um benefício para a região do Alto Paranaíba",2017, Patos de Minas-MG.

**SILVA, C.C.G.;** e SOUZA, D. D "Determinação Eletroanalítica de metomil em amostras complexas". In: 2º Encontro Nacional de Química Biotecnológica e Agroindustrial- 2º ENQ-BIOTEC, 2017, Ribeirão Preto-SP.

**SILVA, C.C.G.;** e SOUZA, D. D "Avaliação do mecanismo redox e determinação eletroanalítica do pesticida metomil". In: XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química- XXXI ERSBQ, 2017, Itajubá-MG.

GONÇALVES, L. M.; SOARES, M. G.; **SILVA, C. C. G.** e SOUZA, D. D. “Metodologia eletroanalítica para detecção de $Pb^{+2}$ empregando-se p-AgSAE”. In: XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química- XXXI ERSBQ, 2017, Itajubá-MG.

SOARES, M. G.; GONÇALVES, L. M.; **SILVA, C. C. G.** e SOUZA, D. D. “ O uso do eletrodo sólido de amálgama de prata na quantificação de íons metálicos: O caso do íon $Cd^{+2}$”. In: XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química- XXXI ERSBQ, 2017, Itajubá-MG.

PAULA, M. Jr.; **SILVA, C. C. G**. e SOUZA, D. D. “Uso de eletrodo sólido de amálgama de prata na determinação analítica de antioxidante em alimentos. ” In: XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química- XXXI ERSBQ, 2017, Itajubá-MG.

**SILVA, C. C. G.** e SOUZA, D. D. “Detecção e quantificação do pesticida metomil em amostras de sistemas ambientais e alimentícios”. In: 2º Simpósio de Tecnologia e Ciência ,2016, Patos de Minas-MG.

**SILVA, C. C. G.** e SOUZA, D. D. “Identificação e quantificaçãodo pesticida fenpropimorfe, desregulador endócrino, em amostras de alimentos e águas naturais”. In: 2º Simpósio de Tecnologia e Ciência, 2016, Patos de Minas-MG.

**SILVA, C.C.G.;** FILHO, D. G. e SOUZA, D. D “Detecção voltamétrica de pesticidas morfolínicos”. In: XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química- XXX ERSBQ, 2016, Uberlândia-MG.

**5. Outros:**

**2016 – 2017:**

Bolsista de Iniciação científica:

Instituo de Química;

Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Brasil;

Orientadora: Prof.ª Drª. Djenaine de Souza;

Bolsista da: Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG);
Projeto: “Construção, caracterização e aplicação de eletrodos sólidos de amalgamas para estudos mecanísticos e determinação analítica de pesticidas promotores de desregulação endócrina. Aplicação em amostras de interesse ambiental”.

**2017 – 2018:**

Bolsista de Iniciação científica:
Instituo de Química;
Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Brasil;
Orientador: Prof. Dr. Diego Leoni Franco;
Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);
Projeto: “Modificação de eletrodos com ácido 4-mercaptofenilpropiônico para desenvolvimento de biossensores enzimáticos aplicados na área alimentícia”.

**2018 - 2019:**

Bolsista de Iniciação científica:
Instituto de Química;
Universidade Federal de Uberlândia, UFU, Brasil;
Orientadora: Profª. Drª. Djenaine De Souza;
Bolsista do: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq);
Projeto: “Utilização de eletrodos sólidos de amalgama de prata (p-AgSAE) na determinação eletroanalítica de contaminantes em hortifrutigranjeiros: Inseticidas piretróides”.

- Monitor da disciplina de Química Analítica nos cursos de graduação em Biotecnologia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Uberlândia - Campus Patos de Minas, no período de 10/10/2014 a 24/02/2015, perfazendo 12 horas semanais, sob a orientação da Professora Drª. Djenaine de Souza;

- Participou da organização, colaborou e ministrou um mini-curso no evento “Métodos eletroanalíticos para identificação e quantificação de moléculas de

interesse ambiental, biológico e industrial", na Universidade Federal de Uberlâdia- Campus de Patos de Minas, sob a coordenação da professora Drª. Djenaine De Souza, no período de 08/08/2018 a 10/08/2018.

- Bolsista no projeto "**Caminhando pela Bioquímica: Desenvolvimento e aplicação de metodologias pedagógicas para ensino de Bioquímica**", coordenado pelo professor Dr. Robson José de Oliveira Junior, promovido pelo Instituto de Biotecnologia (IBTEC) da Universidade Federal de Uberlândia, vinculado ao programa 'PROSSIGA/PROCOR - Programa de Combate à Retenção e Evasão', realizado no período de 08/08/2016 a 30/11/2016;

- Participou como ouvinte do 1º Simpósio de Tecnologia e Ciência (SimTeCi), UFU, 2014, Patos de Minas-MG.

- Participou do minicurso "METODOS ELETROANALÍTICOS APLICADO A ANALISE EM SISTEMAS ALIMENTÍCIOS, BIOLÓGICOS E AMBIENTAIS", Universidade Federal de Uberlândia- Campus de Patos de Minas, no período de 18 a 20 de março de 2015. (Carga horária12h)

- Realizou estágio extracurricular no Grupo De Eletroanalítica de Araraquara (GEAR), no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" campus de Araraquara, sob a orientação da professora Drª. Maria Del Pilar Taboada Sotomayor no período de 20/03/2017 até 31/03/2017, com carga horária total de 80 horas de atividade.

- Realizou estágio extracurricular no Laboratório de Eletroanalítica Aplicado a Biotecnologia e a Engenharia de Alimentos (LEABE), Universidade Federal de Uberlâdia- Campus de Patos de Minas, sob a orientação da professora Drª. Djenaine De Souza no período de 01/08/2014 até 31/12/2014, com carga horária total de 240 horas de atividade.

- Participou curso de extensão universitária na modalidade difusão: 1ª Escola de Inverno em Química Analítica na Agricultura e no Ambiente, ocorrido

no Centro de Energia Nuclear na Agricultura- CENA/USP, na cidade de Piracicaba- SP, período do curso 12/07/2016 a 15/07/2016.

- Participou como membro da coordenadoria administrativa do Diretório Acadêmico “César Mansueto Giulio Lattes”, inscrito sob CNPJ de número 20.894.951/0001-69, no período de junho de 2014 a julho de 2015.

- Participou como voluntário do “**Treinamento de discentes para atividades do Programa Pomar**”, promovido pela Faculdade de Engenharia Química (FEQUI) da Universidade Federal de Uberlândia, vinculado ao programa “**Propostas de Desenvolvimento da Fruticultura e da Olericultura no Alto Paranaíba – POMAR**”, realizado no período de 09/04/2018 a 09/10/2018, sob a coordenação de Rodrigo Aparecido Moraes de Souza, com carga horária de 240 horas.

- Participou do curso de extensão online “Competências Profissionais, Emocionais e Tecnológicas para Tempos de Mudança”, no período de 24/08/2020 e 30/08/2020 com carga horária total de 4 horas.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus pelo dom da vida, aos meus pais Nelson e Vanilde, aos meus irmãos Marcos e Fabíola e a minha tia Lúcia por todos os sacrifícios e apoio sempre.

“A persistência é o caminho do êxito.” (Charles Chaplin)

“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.” (Cora Coralina)

“Escrevo. E pronto.

Escrevo porque preciso,

preciso porque estou tonto...Eu escrevo apenas.

Tem que ter por quê?”

(Razão de ser, Paulo Leminski)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo cuidado, pela proteção, e por me abençoar todos os dias com um novo amanhecer dando-me força nos momentos difíceis, coragem e sabedoria.

Aos meus pais, Vanilde e Nelson, aos meus irmãos Marcos e Fabíola, minha sobrinha Anna Clara e minha tia Lúcia sou infinitamente grato por todo sacrifício, apoio e cuidado que têm comigo. Vocês são minha força e fonte de inspiração. Amo vocês.

À minha família, pelo apoio, e por entender os momentos que eu não pude estar com vocês.

Ao Vitor, mais que amigo, sempre me apoiando em minhas escolhas. Obrigado pelo seu amor e carinho. Te amo. Obrigado também, a sua família por todo apoio e acolhimento.

Aos meus queridos amigos Daniele Freitas, Amanda Brandão, Octavio Augusto, Ailton Pereira, Carol Brasil e Leticia Schiavon, que apesar da distância física, sempre estão presentes, prontos para ouvir, me fazer sorrir e ajudar nos dias difíceis.

Aos amigos feitos no *power jump* que estarão sempre em meu coração, Iara, Renata, Juliana, Raquel, Fernanda, Nádia e Gabi.

Ao professor Doutor Saulo Santesso Garrido, pela paciência e pela disposição e incentivo que tornaram possível a conclusão desta dissertação.

À professora Doutora Maria Valnice Boldrin, pela paciência na coorientação, colaboração, ensinamentos e discussões sempre pertinentes e instigantes, que levaram a execução deste trabalho.

Á professora Dra. Hideko Yamanaka e a Dra. Lilian Danielle de Moura Torquato pela avaliação e contribuições para o desenvolvimento deste trabalho no Exame Geral de Qualificação.

A minha amiga e professora Dra. Djenaine de Souza por todo o apoio. minha grande tutora, obrigado por todas oportunidades, dedicação e ensinamentos, profissionais e pessoais, que levarei comigo por toda a minha vida.

Aos meus amigos do apartamento 81 Dara Baldi, Gustavo Oliveira, Vitor Becaro e Silvio Pereira que levarei eternamente em meu coração.

Aos meus amigos, Lucas Silva, Barbara Camila, Rafael Fonseca, Fabiana Sayão, Lilian Danielle e Kallyni Irikura Obrigado pela amizade construída, por todos os momentos de descontração, pelo suporte, e por toda a parceria. E a todos os colegas do GEAr pelas discussões científicas e momentos de descontração durante os cafés.

Agradeço aos funcionários da seção de Pós-Graduação do Instituto de Química por todo suporte dado durante o desenvolvimento do mestrado.

A todos os técnicos pelas análises realizadas e discussões dos resultados, bem como aos funcionários e servidores do Instituto de Química.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)- Código de Financiamento 001.

Ao INCT-Datrem, processo 2014/50945-4, pelo suporte técnico proporcionado.

Meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma doaram um pouco de si para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível. Muito obrigada!

## RESUMO

As reações de transferência de elétrons impulsionadas pela luz na fotossíntese usualmente envolvem um complexo clorofila-proteína presente na membrana tilacóide, que apresentam várias aplicabilidades em processos eletrocatalíticos. Este projeto investigou a extração, caracterização e aplicação de uma solução rica em material fotossintético de folhas de espinafres para desenvolver sistemas de detecção fotobioeletroquímico. Inicialmente, investigou-se o comportamento eletroquímico do composto 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI) usado como sonda redox sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo. Este estudo permitiu o desenvolvimento de uma metodologia eletroquímica simples e rápida para a reação de Hill. Para isto, monitorou-se a diminuição do sinal voltamétrico de onda quadrada por meio da oxidação da sonda sobre eletrodo de carbono vítreo usando uma suspensão rica em material fotossintético na ausência e na presença de luz. Além disso, na segunda parte do projeto foi realizado os testes iniciais para a construção de um biossensor fotoeletroquimico utilizando a imobilização de material fotossintético extraídos de folhas de espinafre, *Spinacia oleracea,* sobre substrato semicondutor de trióxido de tungstênio ($W/WO_3$) como transdutor eletroquímico e como agente ancorante do material biológico, a polidopamina (PDA).

## ABSTRACT

The light-driven electron transfer reactions in photosynthesis usually involve a chlorophyll-protein complex present in the thylakoid membrane, which has several applicability in electrocatalytic processes. This project investigated the extraction, characterization and application of a solution rich in photosynthetic material obtained from spinach leaves to develop photobioelectrochemical detection systems. Initially, he investigated the electrochemical behavior of the compound 2,6-dichlorophenolindophenol (DCFI) was investigated, using it as a redox probe on the surface of the glassy carbon electrode. From this study, a simple and fast methodology for the Hill reaction was developed, in which the square wave voltammetric signal was monitored from the oxidation of the DCFI redox probe immobilized on the surface of glassy carbon, in the absence and in the presence of light, using a suspension rich in photosynthetic material as electrolyte. For this, the decrease of the square wave voltametric signal was monitored through the oxidation of the probe on a glassy carbon electrode using a suspension rich in photosynthetic material in the absence and presence of light. In addition, in the second part of the project, tests were carried out for the construction of a photoelectrochemical biosensor using the immobilization of photosynthetic material extracted from spinach leaves, *Spinacia oleracea*, using the substrate of tungsten trioxide ($W/WO_3$) as an electrochemical transducer and polidopamine as anchoring agent.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1:** Ilustração do organismo fotossintético oxigênico, uma planta **(A)**, a célula vegetal com suas respectivas organelas **(B)**, com o enfoque no cloroplasto **(C)**, mostrando a sua estrutura, onde em **(D)** membranas tilacóides em **(E)** o estroma..... 27
**Figura 2:** Cadeia transportadora de elétrons e prótons que ocorre na fotossíntese durante a fase clara. ..... 28
**Figura 3:** Esquema do processo transferência de elétrons na superfície do eletrodo, por mecanismos de transferência direta de elétrons (TDE) e por meio de transferência mediada de elétrons (TME)..... 31
**Figura 4:** Ilustração do processo de isolamento de cloroplastos por meio de gradiente de percoll 40%..... 35
**Figura 5:** Formula estrutural do DCFI. ..... 38
**Figura 6:** Ilustração de uma célula eletroquímica de três eletrodos. ..... 39
**Figura 7: (A)** Espectro de absorção UV-visível do extrato contendo material fotossintético, mostrando a presença das bandas de absorção dos pigmentos fotossintéticos, em meio de acetona 80%. **(B)** SDS-PAGE do material fotossintético extraído de folhas de espinafre..... 44
**Figura 8:** Imagem de microscopia confocal de fluorescência dos cloroplastos intactos em solução com uma objetiva de 40x. ..... 45
**Figura 9:** Curva de decaimento da absorbância do DCFI na presença do extrato contendo o material fotossintético na presença e na ausência da luz. ..... 46
**Figura 10:** Voltamogramas cíclicos obtidos para redução (A) e oxidação (B) de $1{,}0x10^{-4}$ mol $L^{-1}$ de DCFI em tampão BR pH=7,0 sobre GCE, v=100 mV $s^{-1}$... 47
**Figura 11: (A)** Voltamogramas cíclicos de $1{,}0x10^{-4}$ mol $L^{-1}$ de DCFI em 0,04 mol $L^{-1}$ tampão BR pH 7,0 em diferentes velocidades de varredura de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 300 mV.$s^{-1}$. **(B)** Relação entre a v e Ip com r: 0,9976. ..... 48
**Figura 12:** Efeito do pH sobre os voltamogramas cíclico obtidos para oxidação $1x10^{-4}$ mol $L^{-1}$ de DCFI em 0,04 mol $L^{-1}$ de tampão BR pH 2 a 10 sobre GCE, v=100 mV $^{s-1}$. ..... 49
**Figura 13:** Gráficos do efeito do pH sobre o potencial de pico anódico **(A)** e da corrente de pico **(B)** correspondentes aos voltamogramas da Figura 10. ..... 50

**Figura 14:** Voltamogramas de VOQ 0,25 até 8,00 µmol $L^{-1}$ de DCFI em 0,1 mol $L^{-1}$ PBS pH 7.2, os parâmetros utilizados foram a: 50mV, ∆Es: 2mV e f: 150 $s^{-1}$ **(A)**. Curva de calibração construída com os dados da Figura 11A bem como a respectiva equação da reta **(B)**, com r=0,998. ..... 52
**Figura 15:** Voltamogramas de onda quadrada na presença de 0,59 mmol L- 1 de DCFI em 0,1 mol L- 1 PBS pH 7.2 e material fotossintético, onde em (A) reação acontecendo no escuro e em (B) reação acontecendo no claro, onde em (a) medida realizada no momento em que adiciona o DCFI, (b) a medida após 1minuto de exposição a luz, (c) a medida após 2 minutos de exposição a luz, (d) a medida após 3minutos de exposição a luz, (e) a medida após 4 minutos de exposição a luz, (f) a medida após 5minutos de exposição a luz e (g) branco. Branco é a solução de 0,1mol L-1 de PBS + material fotossintético. ..... 53
**Figura 16:(**A) Esquema proposto para o mecanismo de transferência de elétrons das membranas tilacóides (suspensas em solução) para o GCE por meio dos complexos proteicos diferentes, por exemplo, FTI, PQ, Citb6f, Ptc, FTI e Fdx. Para simplificação, outros componentes das membranas tilacóides não são mostrados. (B) Reação de redução química do DCFI na presença dos complexos fotossintéticos e luz. ..... 55
**Figura 17:** Difratogramas de Raios-X obtidos para a placa de W e após a formação do filme de $WO_3$ em meio de $NH_4F$ 0,7% com $Na_2SO_4$ 0,1 mol $L^{-1}$, aplicando-se 40 V por um período de 15 minutos. ..... 56
**Figura 18:** Imagens de microscopia eletrônica de alta resolução (FEG-MEV) da placa de W, com magnificação de 25,000x **(A)**, eletrodos de W/$WO_3$ preparados por anodização em meio de NH4F 0,7% e $Na_2SO_4$ 0,1 mol $L^{-1}$, 40 V, 15 minutos 25,000x **(B)**, filme de $WO_3$ com magnificação de 50,000x **(C)** e histograma de distribuição de tamanho dos poros **(D)**. ..... 57
Figura **19:**Imagem de microscopia eletrônica de alta eficiência com o respectivo resultado das análises de EDS da região escolhida da placa de W **(A)** e do eletrodo após a formação do filme de $WO_3$ **(B)**. ..... 58
**Figura 20:** Curva de reflectância difusa obtida para o eletrodo de W/$WO_3$ **(A).** Gráfico de Tauc construído para o cálculo do band gap do eletrodo de W/$WO_3$ obtido **(B)**. ..... 59
**Figura 21:** Espectros de emissão dos dispositivos **(A)** LED-1 e **(B)** LED-2. ... 59

**Figura 22:** Curvas de Fotocorrentes vs potencial geradas sobre eletrodo de $W/WO_3$ em 0,1 mol $L^{-1}$ de PBS pH 7,0 no escuro e irradiados pelo sistema de LEDS e. v= 10mV $s^{-1}$..... 60
**Figura 23:** Fotocorrentes obtidas pelo eletrodo de $W/WO_3$ em diferentes eletrólitos de suporte **(A)** $Na_2SO_4$ 0,1 mol L-1 (curva verde) e **(B)** PBS 0,1 mol $L^{-1}$ (curva azul) ambos em pH 7,0. Apli-cando potencial de +0,25V e +0,80V. ... 61
**Figura 24:** Reação de polimerização da dopamina. ..... 62
**Figura 25**: Imagens de microscopia eletrônica de alta resolução (FEG-MEV) do eletrodo de W/WO3 modificados com filmes de PDA em diversos tempos de polimerização **(A)** filme de 2 horas, **(B)** filme de 4 horas e **(C)** filme de 6 horas. Onde **(A.1, B.1, C.1)** são magnificações de 25,000x e **(A.2, B.2, C.2)** são magnificações de 50,000x..... 63
**Figura 26:** Diagramas de Nyquist obtidos **(A)** com eletrodo de W/WO3 sem modificação e modificado com a PDA em diferentes tempos, **(B)** 2 horas, **(C)** 4 horas e **(D)** 6 horas. Medidas realizadas em meio de ferricianeto de potássio $5,0x10^{-3}$mol $L^{-1}$ preparada em 0,5 mol $L^{-1}$ de KCl. ..... 64
**Figura 27:** Fotocorrentes geradas em **(A)** eletrodo de W/WO3 sem modificação, **(B)** W/WO3-PDA2h, **(C)** W/WO3-PDA4h e **(D)** W/WO3-PDA6h. Utilizando voltametria de varredura linear com v= 10mV s-1 em meio de 0,1 mol L-1 PBS pH 7,0. ..... 65
**Figura 28:** Mapeamento elementar do eletrodo de $WO_3$/PDA-4h. ..... 66
**Figura 29:**Fotocorrentes obtidas em **(A)** eletrodo de $W/WO_3$, **(B)** $WO_3$-PDA4h em meio de 0,1 mol $L^{-1}$ PBS pH 7,0. ..... 67
**Figura 30:** Fotocorrentes obtidas em **(A)** eletrodo de $W/WO_3$, **(B)** $WO_3$/PDA e em **(C)** $WO_3$/PDA/Cloroplastos em meio de 0,1 mol $L^{-1}$ PBS pH 7,0 aplicando E=+0,25V. ..... 68
**Figura 31: (A)** A relação da fotocorrente em diferentes concentrações de cloroplastos. **(B)** E relação da fotocorrente em diferentes tempos de imobilização. As medidas foram realizadas em meio de PBS 0,1 mol L-1 em pH 7,0 aplicando E=+0,25V. ..... 69
**Figura 32:** Imagens de microscopia confocal de fluorescência, onde em **(A)** eletrodo de $WO_3$, em **(B)** eletrodo de $WO_3$/PDA e em **(C)** eletrodo de

$WO_3$/PDA/Cloroplastos. Utilizando uma objetiva de 40x com imersão em óleo. ..... 71
**Figura 33:** Comparação da geração de fotocorrente mediada nas etapas de montagem do dispositivo fotobioeletroquímico, $WO_3$ (preto), $WO_3$/PDA (vermelho), $WO_3$/PDA/Clp (verde) e $WO_3$/PDA/Clp/ DCFI (azul) na presença de 60μM de DCFI dissolvido no eletrólito. Condições: eletrólito, 0,1mol L-1 PBS pH 7,0 e E= +0,25V. Onde Clp= cloroplastos e sob iluminação de LED-2 (395nm). ..... 72

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$K_3[Fe(CN)_6]^{-3}$: Ferricianeto de Potássio

ATP: Adenosina trifosfato

CdTe: Telureto de cadmio

$CH_2O$: carboidratos

$Citb_6f$: Citocromo $b_6f$

CSSC: Células solares sensibilizadas por corante

CuInSe\Ga: Seleneto de cobre, índio e gálio

DCFI: 2,6-diclorofenolindofenol

DRX: Difração de Raios-X

$e^-$: Elétron

EDS: (do inglês *Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy*)

EIS: Espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês *Electrochemical Impedance Spectroscopy*)

Fdx: Ferredoxina

$Fe_2O_3$: Hematita

FEG-SEM: Microscópio eletrônico de varredura com campo de emissão

FNR: Ferredoxina–NADP+ redutase

FTI: Fotossistema 1

FTII: Fotossistema 2

GCE: Eletrodo de carbono vítreo (do inglês *Gassy Carbono Electrode*)

$H^+$: Próton

LED: Diodo emissor de luz (do inglês *Light-Emitting Diode*)

LHC: Complexo de coleta de luz (do inglês *Light-Harvesting Complex*)

$N_2O$: Óxido nitroso

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

$O_3$: Ozônio

OPV: Fotovoltaica orgânica (do inglês *Organic Photovoltaic*)

PBS: tampão fosfato salino (do inglês *Phosphate Buffer Solution*)

PDA: Polidopamina

PQ: Plastoquinona na forma oxidada

$PQH_2$: Plastoquinona na forma reduzida

Ptc: Plastocianina

SDS-PAGE: Eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante

TDE: Transferencia direta de elétrons

$TiO_2$: Dióxido de titânio

TME: Transferencia mediada de elétrons

TW: Terawatt

UV: Ultravioleta

UV-Vis: Ultravioleta- visível

VOQ: Voltametria de onda quadrada

W: Tungstênio

$WO_3$: Trióxido de tungstênio

ZnO: Óxido de zinco

Φ: Ângulo de Fase

**SUMÁRIO**

**1. Introdução** ..... 25

**2. Objetivos** ..... 33

**3. Material e Métodos** ..... 34

**3.1. Obtenção do material fotossintético** ..... 34

**3.2. Determinação da concentração de clorofila** ..... 35

**3.3. Eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante (SDS-PAGE)** 36

**3.3.1. Preparo do gel de resolução** ..... 36

**3.3.2. Preparo do gel de empacotamento (*stacking gel*) 4,5%** 36

**3.3.3. Processo de eletroforese** ..... 37

**3.3.4. Revelação do gel** ..... 37

**3.4. Teste de atividade do material fotossintético (Reação de Hill)** 37

**3.5. Construção do biossensor fotoeletroquímico** ..... 39

**3.5.1. Preparo do eletrodo de W/$WO_3$** ..... 39

**3.5.2. Modificação do eletrodo de W/$WO_3$ com filme polimérico de polidopamina** ..... 40

**3.5.3. Modificação do eletrodo de $WO_3$/PDA com os cloroplastos** 40

**3.6. Medidas fotoeletroquímicas** ..... 41

**3.7. Caracterização do eletrodo** ..... 41

**3.8. Caracterização do eletrodo por meio da técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS)** ..... 41

**4. Resultados e discussão** ..... 43

**4.1. Caracterização do extrato contendo material fotossintético** 43

**4.2. Reação de Hill**..... 45

**4.3. Abordagem eletroquímica para Reação de Hill**..... 46

**4.3.1. Comportamento eletroquímico do DCFI sobre o eletrodo de carbono vítreo**..... 47

**4.4. Curva analítica para determinação de DCFI em meio aquoso** 51

**4.5. Abordagem eletroquímica para reação de Hill**..... 52

**4.6. Etapas de construção do sistema foto-bioeletroquímico** 55

**4.6.1. Caracterização estrutural, morfológica e fotocatalítica do eletrodo W/$WO_3$**..... 55

**4.6.2. Modificação do eletrodo de W/$WO_3$ com filmes de polidopamina**..... 62

**4.6.3. Imobilização dos cloroplastos intactos sobre a superfície do eletrodo de $WO_3$-PDA** ..... 67

**5. Conclusão** ..... 73

**6. Perspectivas** ..... 74

**7. Referências** ..... 75

## 1. Introdução

Concomitante ao vertiginoso crescimento da população, o mundo moderno se depara com a crescente demanda por fontes de energia sustentáveis, ecologicamente corretas e economicamente viáveis como alternativas ao consumo de combustíveis fósseis (carvão mineral, petróleo e gás natural) (ORT et al., 2015), que tem sustentado a matriz energética desde longa data. Esta necessidade se deve ao esgotamento das reservas de combustível fósseis além do fato que seu uso vem contribuindo acentuadamente para o aumento dos níveis de emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa ($CO_2$, $CH_4$, $N_2O$, $O_3$, clorofluorcarbonetos e hidrofluorcarbonetos) que prejudicam o meio ambiente e alteram o ciclo de carbono vital para a proteção dos organismos vivos (FRIEDLINGSTEIN et al., 2020).

Atualmente, diversos tipos de fontes renováveis são explorados como alternativa para sanar o problema da crise energética, como a luz solar, vento, chuva, marés e calor geotérmico, dentre outros. Dentre essas fontes de energia, a luz solar é a fonte de energia mais abundante no planeta. A Terra recebe aproximadamente cerca de 120.000 TW de energia solar, e tem sido bastante usada para a construção de sistemas fotovoltaicos (também chamados de células solares), os quais convertem a energia luminosa em energia elétrica (KALYANASUNDARAM; GRAETZEL, 2010).

Atualmente, as células solares podem ser classificadas em três gerações:

a) células convencionais à base de silício cristalino;

b) células solares composta de um filme fino de silício amorfo, CdTe (telureto de cádmio) e CuInSe/Ga (seleneto de cobre, índio e gálio);

c) emprego de várias arquiteturas, como fotovoltaica orgânica (OPV), células solares sensibilizadas por corante (CSSC) e células solares de pontos quânticos.

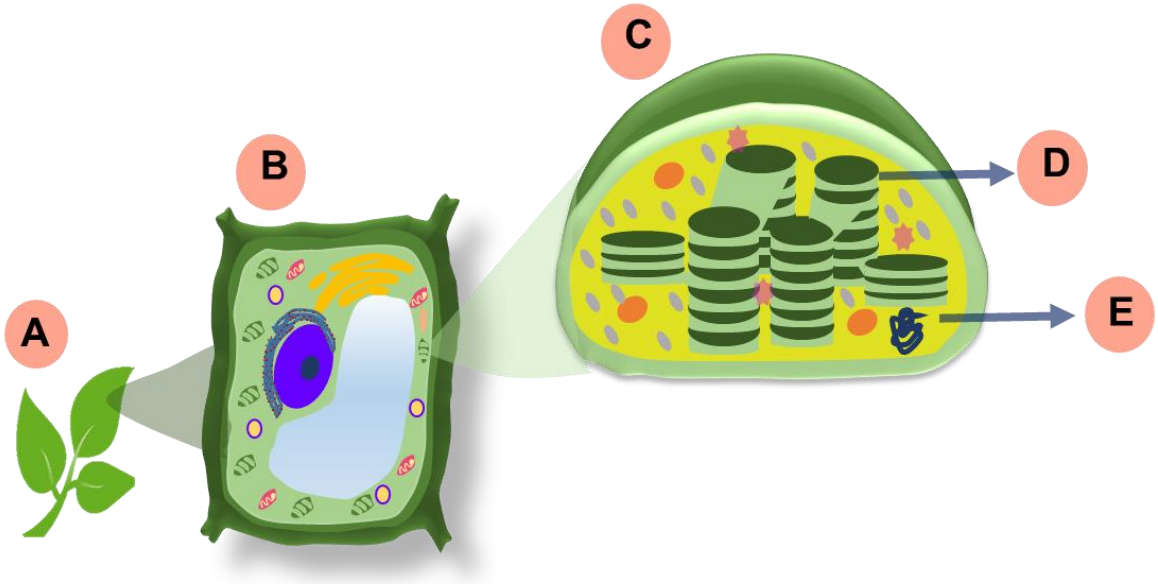
Cada tipo de célula solar tem limites de eficiência, vantagens de design e limitações de recursos. Coletivamente, as tecnologias atuais têm várias desvantagens, tais como, limitação de recursos naturais e geopolíticos e toxicidade am-

biental de certos componentes usados em sua fabricação. Devido a esses desafios, diversas pesquisas vêm explorando abordagens mais naturais, como o processo de conversão de energia solar via fotossíntese (MUSAZADE et al., 2018).

A fotossíntese é indiscutivelmente um dos processos naturais mais importante e complexos que existe, transformando nosso planeta antes sem vida em um mundo vivo. Enquanto as bactérias fotossintéticas primitivas, como as bactérias sulfurosas roxas e verdes, realizam fotossíntese anoxigênica, produzindo enxofre elementar a partir de sulfeto de hidrogênio com a ajuda da luz solar, já as cianobactérias, algas e plantas realizam fotossíntese oxigenada para converter $H_2O$ e $CO_2$ em açúcares, liberando gás oxigênio como um subproduto. Neste processo há conversão da energia luminosa em energia química com uma eficiência quântica de 100%. A, fotossíntese resulta em energia armazenada em ligações químicas produzindo biocombustíveis ou biomassa. Diante disto o processo fotossintético tem sido utilizado com sucesso para aplicações de conversão de energia em uma variedade de maneiras (geração de $H_2$, produção de eletricidade e produção de biocombustíveis) (KALYANASUNDARAM; GRAETZEL, 2010; SEKAR; RAMASAMY, 2015; MUSAZADE et al., 2018).

O processo fotossintético ocorre nas membranas dos organismos em duas etapas, a fase dependente da luz (também chamada de fase clara ou etapa fotoquímica) e a fase independente da luz (chamada de fase escura ou etapa química) em estruturas celulares (organelas) denominadas cloroplastos. É importante ressaltar que as reações que ocorrem tanto na fase clara quanto na fase escura, acontecem em locais distintos no cloroplasto, onde a fase fotoquímica ocorre nas membranas tilacóides e fase química ocorre no estroma (JOHNSON, 2017), conforme ilustrado na Figura 1.

**Figura 1:** Ilustração do organismo fotossintético oxigênico, uma planta **(A)**, a célula vegetal com suas respectivas organelas **(B)**, com o enfoque no cloroplasto **(C)**, mostrando a sua estrutura, onde em **(D)** membranas tilacóides em **(E)** o estroma




Fonte: Próprio autor.

As reações que ocorrem na etapa fotoquímica e a transferência de elétron/próton da fotossíntese ocorrem principalmente dentro das membranas. Em muitos organismos fotossintéticos, a fotossíntese ocorre em membranas especializadas chamadas membranas tilacóides e em alguns organismos procarióticos, a membrana citoplasmática serve como membrana fotossintética. A unidade mínima, funcional e estrutural da fotossíntese é chamada de fotossistema. Inicialmente a fotólise da água, que é impulsionada pela luz em gás oxigênio, prótons e elétrons todo esse processo ocorre pela cadeia transportadora de elétrons localizadas nas membranas tilacóides. Já as reações que ocorrem na etapa química, os prótons e elétrons produzidos são usados para reduzir o $CO_2$ a carboidrato ($CH_2O$), em um processo chamado Ciclo de Calvin (também chamado de Ciclo das Pentoses) (JOHNSON, 2017). Os dois processos podem ser resumidos assim:

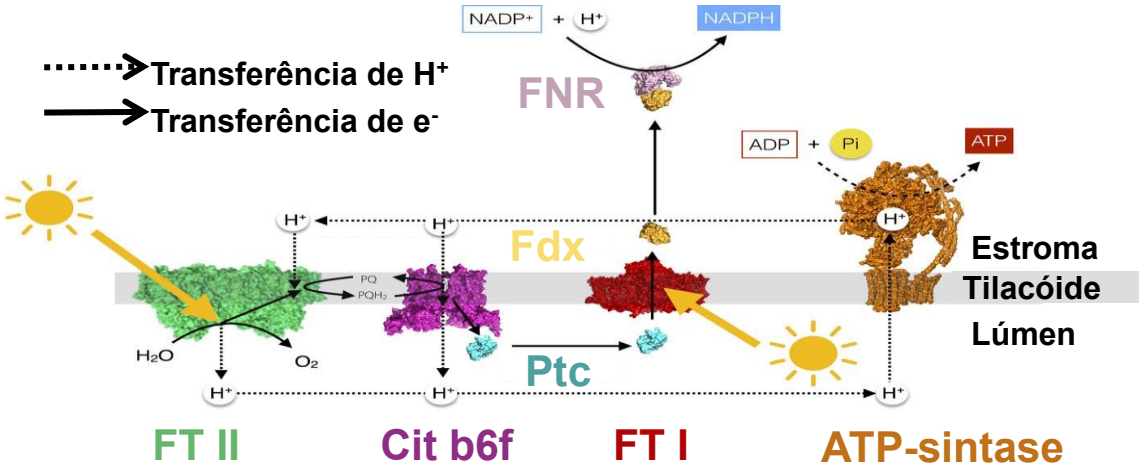
**1)** Reações que ocorrem na etapa fotoquímica: $2H_2O + luz \rightarrow O_2 + 4e^- + 4H^+$

**2)** Reações que ocorrem na fase química: $CO_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow CH_2O + H_2O$

**3)** Reação geral: $H_2O + luz + CO_2 \rightarrow CH_2O + O_2$

As reações de transferência de elétrons impulsionadas pela luz na fotossíntese começam com a fotólise da água pelo Fotossistema II (FTII), o qual é um complexo clorofila-proteína presente na membrana tilacóide que usa luz para oxidar água em oxigênio e reduzir o aceptor de elétrons plastoquinona (PQ) em plastoquinol ($PQH_2$). Em sequência, o $PQH_2$, transporta os elétrons provenientes da fotólise da água para outros complexos proteicos embutidos na membrana tilacóide, denominado citocromo *b*$_6$*f* (citb$_6$f), que oxida o $PQH_2$ a PQ e reduz uma pequena proteína transportadora de elétrons, plastocianina (Ptc). Uma segunda reação conduzida pela luz é então realizada por outro complexo de clorofila-proteína, Fotossistema I (FTI), que oxida a Ptc e reduz outra proteína transportadora de elétrons. A ferredoxina (Fdx), que reside no estroma. A Fdx, pode então ser usada pela enzima ferredoxina–$NADP^+$ redutase (FNR) para reduzir $NADP^+$ a NADPH (JOHNSON, 2017), esse processo é mostrado na Figura 2.

**Figura 2:** Cadeia transportadora de elétrons e prótons que ocorre na fotossíntese durante a fase clara.




Fonte: Adaptado de Johnson (2017).

O processo ilustrado acima ocorre com a liberação de oxigênio e a formação de NADPH e ATP, o quais são dependentes de reações de oxidação-redução catalisadas pela cadeia transportadora de elétrons. Neste contexto, a incorporação dos componentes fotossintéticos na construção de dispositivos fotobioeletroquímicos tem sido bastante explorados, como cloroplastos (HASAN et al., 2017a; DIACCI et al., 2020; WELIWATTE et al., 2021), membranas tilacóides

(DEWI et al., 2015; PANKRATOV et al., 2017, 2019; PANKRATOVA et al., 2018a; BUNEA et al., 2018; TAKEUCHI et al., 2018), fotossistema 1 (FT I) (MERSHIN et al., 2012; FEIFEL, S. C. et al., 2015; BEAM et al., 2015; FEIFEL, SVEN C. et al., 2015; TAPIA et al., 2017; KILISZEK et al., 2018; ZHAO et al., 2019) e fotossistema 2 (FT II) (WANG et al., 2015; SOKOL et al., 2016; LI et al., 2016; STONES et al., 2017; RIEDEL et al., 2019; HARTMANN et al., 2020), nas últimas décadas tem sido uma alternativa interessante para a conversão de energia. Neste universo, os usos de catalisadores e biocatalisadores versáteis e inteligentes utilizados para aperfeiçoar estas reações são cada vez mais intrigantes (KIM; NAM; et al., 2014). Dentre as biomoléculas fotossintéticas citadas acima os cloroplastos são as estruturas menos estudadas em fotobioeletroquímica em comparação com suas contrapartes para conversão de energia fotossintética. Diante da deficiência de trabalhos na literatura, os cloroplastos foi a organela escolhida para o desenvolvimento do projeto.

Na construção de uma plataforma fotobioeletroquímica, algumas etapas são cruciais, como a escolha do material utilizado como transdutor, a estratégia para a imobilização do material biológico e sua comunicação o eletrodo. Na literatura estas estruturas fotossintéticas citadas acima têm sido incorporadas como um filme fino sobre diversos tipos de eletrodos, assim podendo ser exploradas como fotobiocatalisadores na transferência de elétrons entre o eletrodo e a fase da solução (mediadores com potenciais formais adequados) produzindo fotocorrentes amplificadas.

Os principais materiais explorados como substratos são os eletrodos de ouro (YEHEZKELI et al., 2012; HASAN et al., 2014; ZHAO; HARDT; et al., 2018) e materiais baseados em carbono como, eletrodo de carbono vítreo(GCE) (LEE, J. et al., 2016), nanotubos de carbono (CALKINS et al., 2013; DEWI et al., 2015), óxido de grafeno (CAI et al., 2015; KILISZEK et al., 2018; PANKRATOVA et al., 2018b) e papel de carbono (Toray Carbon) (SJOHOLM et al., 2012; HASAN et al., 2017b; ZHOU et al., 2019; WELIWATTE et al., 2021). Porém, o uso de materiais semicondutores também vêm sendo aplicados de forma satisfatória como substrato para ancorar estas biomoléculas como $Fe_2O_3$ (WANG et al., 2015), $TiO_2$ (KAVADIYA et al., 2016; LI et al., 2016), ZnO (MERSHIN et al., 2012) e $WO_3$ (PANG et al., 2018). Dentre os materiais semicondutores o trióxido de tungstênio

($WO_3$), semicondutor do tipo-n, tem sido muito utilizado para ancorar biomoléculas, devido suas propriedades que o tornam um material favorável como substrato para ancorar estas biomoléculas, como: material de baixo custo, ecologicamente correto, quimicamente estável, absorção na região do visível, baixa energia de *band-gap* (2,5eV – 2,8eV) e biocompatibilidade (SANTOS et al., 2016), diante disto o $WO_3$ foi escolhido como substrato para o desenvolvimento da plataforma fotobioeletroquímica.

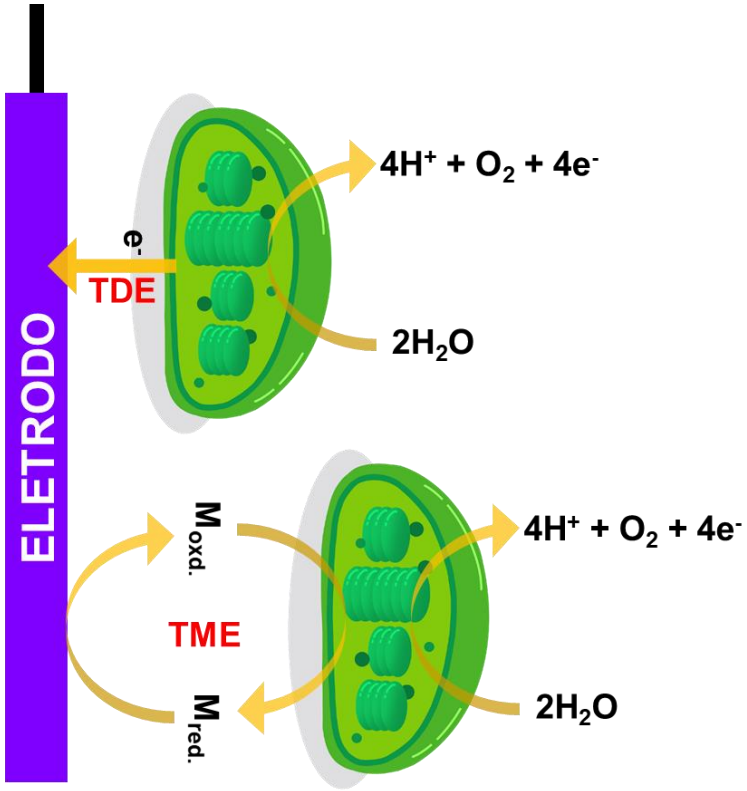
Na literatura os aparatos fotossintéticos estão sendo imobilizados e a comunicação com seus substratos tem sido feita de duas formas: por transferência direta de elétrons (TDE) e por transferência mediada de elétrons (TME), conforme ilustrado na Figura 3, entre o biomaterial e o eletrodo (MILTON et al., 2016). Basicamente a TDE ocorre quando os elétrons produzidos no biocatalisador são transferidos para um eletrodo sem a necessidade de um mediador de elétrons (SJOHOLM et al., 2012; DEWI et al., 2015; LEE, J. et al., 2016; PANKRATOVA et al., 2018b).

Já para o método TME pequenas porções redox-ativas transportam elétrons entre um biocatalisador e um eletrodo, os mediadores comumente usados são filmes poliméricos redox baseados em polivinilimidazol de ósmio ($Os^{2+/3+}$) (ZHAO; HARTMANN; et al., 2018), poli(etilenimina) funcionalizada com naftoquinona (HASAN et al., 2017b), polihidroxianilina (WELIWATTE et al., 2021), entre outros.

Como os cloroplastos são protegidos por complexos sistemas de membrana lipídica, a comunicação direta de elétrons torna o processo de TDE se torna mais difícil, então os trabalhos na literatura têm explorado o uso TME, A vantagem de se utilizar polímeros redox é que eles cumprem simultaneamente o papel de um mediador redox e uma matriz de imobilização tridimensional, aumentando assim a taxa de transferência de elétrons e a quantidade de complexos que podem ser imobilizadas produtivamente na superfície do eletrodo. Porém este material polimérico tem algumas desvantagens como o seu elevado custo e a complexidade envolvida na síntese (HARTMANN et al., 2020; WANG et al., 2020). O uso de mediadores de elétrons em solução entre as biomoléculas fotossintéticas também é explorado na literatura, como o uso de 2,6-diclorofeno-

lindofenol e moléculas derivadas de quinonas (p-benzoquinona, diclorobenzo-quinona, duroquinona, tetracloro-benzoquinona entre outros) (HASAN et al., 2014).

**Figura 3:** Esquema do processo transferência de elétrons na superfície do eletrodo, por mecanismos de transferência direta de elétrons (TDE) e por meio de transferência mediada de elétrons (TME).




Fonte: Próprio autor.

Diante disto o grande desafio consiste no preparo dos eletrodos usando destas estruturas fotossintéticas, em configurações funcionais que permitem a comunicação de transferência de elétrons entre as espécies primárias de elétrons (fotogeradas nas estruturas fotossintéticas) e a superfície do eletrodo. Deste modo, seria relevante para o trabalho investigar novas formas de imobilização de cloroplastos (material fotossintético) utilizando filmes de polidopamina depositados sobre o eletrodo de $WO_3$. A escolha da polidopamina foi atribuída a suas características de ser facilmente depositadas em uma variedade de substratos, a espessura do filme pode ser controlada, estabilidade, grupos funcionais (catecol, amina e imina) que permitem imobilizar biomoléculas além de melhorar

a absorção do material na região do visível (LIU et al., 2014). Além destas características, na literatura o potencial da polidopamina de agir como agente ancorante e como mediador e elétrons já vem sendo explorados de forma satisfatória (KIM; LEE; et al., 2014; LEE, S. Y. et al., 2016).

## 5. Conclusão

Por meio dos resultados obtidos, foi extraído e caracterizado uma solução rica em material fotossintético de folhas de espinafres. Investigou-se ainda o comportamento eletroquímico do composto DCFI sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo, bem como o desenvolvimento de uma metodologia eletroquímica simples e rápida visando a aplicação eletroquímica para a reação de Hill usando uma suspensão rica em material fotossintético em solução na ausência e na presença de luz utilizando-se da técnica de voltametria de onda quadrada utilizando o DCFI como mediador artificial de elétrons. Além disso, foi construído e caracterizado um eletrodo semicondutor de $W/WO_3$ como substrato, onde foi imobilizado cloroplastos intactos a partir de filmes de polidopamina construídos previamente como agente ancorante e testou-se o comportamento fotoeletrocatalítico do material imobilizado sobre eletrodo de $W/WO_3$. Também foi construído e caracterizado os sistemas de iluminação LED.

## 7. Referências

ARNON, D. I. Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1–15, 1949.

BARD, A; FAULKNER, L. Allen J. Bard and Larry R. Faulkner, Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, New York: Wiley, 2001. **Russian Journal of Electrochemistry**, 2002.

BEAM, J. C.; LEBLANC, G.; GIZZIE, E. A.; et al. Construction of a Semiconductor–Biological Interface for Solar Energy Conversion: p-Doped Silicon/Photosystem I/Zinc Oxide. **Langmuir**, v. 31, n. 36, p. 10002–10007, 2015.

BUNEA, A.-I.; HEISKANEN, A.; PANKRATOVA, G.; et al. Micropatterned Carbon-on-Quartz Electrode Chips for Photocurrent Generation from Thylakoid Membranes. **ACS Applied Energy Materials**, v. 1, n. 7, p. 3313–3322, 2018.

CAI, P.; FENG, X.; FEI, J.; et al. Co-assembly of photosystem II/reduced graphene oxide multilayered biohybrid films for enhanced photocurrent. **Nanoscale**, v. 7, n. 25, p. 10908–10911, 2015.

CALKINS, J. O.; UMASANKAR, Y.; O'NEILL, H.; RAMASAMY, R. P. High photo-electrochemical activity of thylakoid–carbon nanotube composites for photosynthetic energy conversion. **Energy & Environmental Science**, v. 6, n. 6, p. 1891–1900, 2013.

COMPTON, R. G.; BANKS, C. E. **Understanding voltammetry**. 2007.

DEWI, H. A.; SUN, G.; ZHENG, L.; LIM, S. Interaction and charge transfer between isolated thylakoids and multi-walled carbon nanotubes. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 5, p. 3435–3440, 2015.

DIACCI, C.; LEE, J. W.; JANSON, P.; et al. Real-Time Monitoring of Glucose Export from Isolated Chloroplasts Using an Organic Electrochemical Transistor. **Advanced Materials Technologies**, 2020.

FEIFEL, SVEN C.; LOKSTEIN, H.; HEJAZI, M.; ZOUNI, A.; LISDAT, F. Unidirectional Photocurrent of Photosystem I on π-System-Modified Graphene Electrodes: Nanobionic Approaches for the Construction of Photobiohybrid Systems. **Langmuir**, v. 31, n. 38, p. 10590–10598, 2015.

FEIFEL, S. C.; STIEGER, K. R.; LOKSTEIN, H.; LUX, H.; LISDAT, F. High photocurrent generation by photosystem I on artificial interfaces composed of π-system-modified graphene. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 3, n. 23, p.

12188–12196, 2015.

FRIEDLINGSTEIN, P.; O'SULLIVAN, M.; JONES, M. W.; et al. Global Carbon Budget 2020. **Earth System Science Data**, 2020.

HARTMANN, V.; HARRIS, D.; BOBROWSKI, T.; et al. Improved quantum efficiency in an engineered light harvesting/photosystem II super-complex for high current density biophotoanodes. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 8, n. 29, p. 14463–14471, 2020.

HASAN, K.; DILGIN, Y.; EMEK, S. C.; et al. Photoelectrochemical Communication between Thylakoi[1] K. Hasan, Y. Dilgin, S.C. Emek, M. Tavahodi, H.-E. Åkerlund, P.-Å. Albertsson, L. Gorton, Photoelectrochemical Communication between Thylakoid Membranes and Gold Electrodes through Different Quinone D. **ChemElectroChem**, v. 1, n. 1, p. 131–139, 2014.

HASAN, K.; MILTON, R. D.; GRATTIERI, M.; et al. Photobioelectrocatalysis of Intact Chloroplasts for Solar Energy Conversion. **ACS Catalysis**, v. 7, n. 4, p. 2257–2265, 2017a.

HASAN, K.; MILTON, R. D.; GRATTIERI, M.; et al. Photobioelectrocatalysis of Intact Chloroplasts for Solar Energy Conversion. **ACS Catalysis**, 2017b.

HAYASHI, K.; OHBA, Y. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. **Tanpakushitsu kakusan koso. Protein, nucleic acid, enzyme**, 1. Apr. 1972.

JOHNSON, M. P. Correction: Photosynthesis (Essays in Biochemistry (2016) 60:3 (255-273) DOI: 10.1042/EBC20160016). **Essays in Biochemistry**, 31. Oct. 2017.

KALANUR, S. S.; YOO, I. H.; EOM, K.; SEO, H. Enhancement of photoelectrochemical water splitting response of WO3 by Means of Bi doping. **Journal of Catalysis**, v. 357, p. 127–137, 2018.

KALYANASUNDARAM, K.; GRAETZEL, M. Artificial photosynthesis: Biomimetic approaches to solar energy conversion and storage. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 298–310, 2010.

KAVADIYA, S.; CHADHA, T. S.; LIU, H.; et al. Directed assembly of the thylakoid membrane on nanostructured TiO2 for a photo-electrochemical cell. **Nanoscale**, v. 8, n. 4, p. 1868–1872, 2016.

KILISZEK, M.; HARPUTLU, E.; SZALKOWSKI, M.; et al. Orientation of photosystem i on graphene through cytochrome: C 553 leads to improvement in

photocurrent generation. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 6, n. 38, p. 18615–18626, 2018.

KIM, J. H.; LEE, M.; PARK, C. B. Polydopamine as a biomimetic electron gate for artificial photosynthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 53, n. 25, p. 6364–6368, 2014.

KIM, J. H.; NAM, D. H.; PARK, C. B. Nanobiocatalytic assemblies for artificial photosynthesis. **Current Opinion in Biotechnology**, 1. Aug. 2014.

LAI, C. W. Photocatalysis and photoelectrochemical properties of tungsten trioxide nanostructured films. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

LEE, J.; IM, J.; KIM, S. Mediatorless solar energy conversion by covalently bonded thylakoid monolayer on the glassy carbon electrode. **Bioelectrochemistry**, v. 108, p. 21–27, 2016.

LEE, S. Y.; LIM, S. Y.; SEO, D.; LEE, J. Y.; CHUNG, T. D. Light-Driven Highly Selective Conversion of CO2 to Formate by Electrosynthesized Enzyme/Cofactor Thin Film Electrode. **Advanced Energy Materials**, v. 6, n. 11, 2016.

LI, JIAO; FENG, X.; FEI, J.; et al. Integrating photosystem II into a porous TiO2 nanotube network toward highly efficient photo-bioelectrochemical cells. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 4, n. 31, p. 12197–12204, 2016.

LILLEY, R. M.; FITZGERALD, M. P.; RIENITS, K. G.; WALKER, D. A. CRITERIA OF INTACTNESS AND THE PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF SPINACH CHLOROPLAST PREPARATIONS. **New Phytologist**, v. 75, n. 1, p. 1–10, 1975.

LIU, Y.; AI, K.; LU, L. Polydopamine and its derivative materials: Synthesis and promising applications in energy, environmental, and biomedical fields. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 9, p. 5057–5115, 2014.

MERSHIN, A.; MATSUMOTO, K.; KAISER, L.; et al. Self-assembled photosystem-I biophotovoltaics on nanostructured TiO2 and ZnO. **Scientific Reports 2012 2:1**, v. 2, n. 1, p. 1–7, 2012.

MILTON, R. D.; WANG, T.; KNOCHE, K. L.; MINTEER, S. D. Tailoring Biointerfaces for Electrocatalysis. **Langmuir**, v. 32, n. 10, p. 2291–2301, 2016.

MUSAZADE, E.; VOLOSHIN, R.; BRADY, N.; et al. Biohybrid solar cells: Fundamentals, progress, and challenges. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 35, p. 134–156, 2018.

ORT, D. R.; MERCHANT, S. S.; ALRIC, J.; et al. Redesigning photosynthesis to

sustainably meet global food and bioenergy demand. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 112, n. 28, p. 8529–8536, 2015.

PANG, H.; ZHAO, G.; LIU, G.; et al. Interfacing Photosynthetic Membrane Protein with Mesoporous WO 3 Photoelectrode for Solar Water Oxidation. **Small**, v. 14, n. 19, p. 1800104, 2018.

PANKRATOV, D.; PANKRATOVA, G.; DYACHKOVA, T. P.; et al. Supercapacitive Biosolar Cell Driven by Direct Electron Transfer between Photosynthetic Membranes and CNT Networks with Enhanced Performance. **ACS Energy Letters**, v. 2, n. 11, p. 2635–2639, 2017.

PANKRATOV, D.; ZHAO, J.; NUR, M. A.; et al. The influence of surface composition of carbon nanotubes on the photobioelectrochemical activity of thylakoid bioanodes mediated by osmium-complex modified redox polymer. **Electrochimica Acta**, v. 310, p. 20–25, 2019.

PANKRATOVA, G.; PANKRATOV, D.; BARI, C. DI; et al. Three-Dimensional Graphene Matrix-Supported and Thylakoid Membrane-Based High-Performance Bioelectrochemical Solar Cell. **ACS Applied Energy Materials**, v. 1, n. 2, p. 319–323, 2018a.

PANKRATOVA, G.; PANKRATOV, D.; BARI, C. DI; et al. Three-Dimensional Graphene Matrix-Supported and Thylakoid Membrane-Based High-Performance Bioelectrochemical Solar Cell. **ACS Applied Energy Materials**, v. 1, n. 2, p. 319–323, 2018b.

RIEDEL, M.; WERSIG, J.; RUFF, A.; et al. A Z-Scheme-Inspired Photobioelectrochemical H 2 O/O 2 Cell with a 1 V Open-Circuit Voltage Combining Photosystem II and PbS Quantum Dots. **Angewandte Chemie - International Edition**, 2019.

ROLLAND, N.; FERRO, M.; SEIGNEURIN-BERNY, D.; et al. Proteomics of chloroplast envelope membranes. **Photosynthesis Research**, 2003.

SALAZAR, P.; MARTÍN, M.; GONZÁLEZ-MORA, J. L. Polydopamine-modified surfaces in biosensor applications. **Polymer science: research advances, pratical applications and educational aspects**, v. 1, n. July, p. 385–396, 2007.

SANTOS, L.; SILVEIRA, C. M.; ELANGOVAN, E.; et al. Synthesis of WO3 nanoparticles for biosensing applications. **Sensors and Actuators, B:**

**Chemical**, v. 223, p. 186–194, 2016.

SEKAR, N.; RAMASAMY, R. P. Journal of Photochemistry and Photobiology C : Photochemistry Reviews Recent advances in photosynthetic energy conversion. **"Journal of Photochemistry & Photobiology, C: Photochemistry Reviews,"** v. 22, p. 19–33, 2015.

SJOHOLM, K. H.; RASMUSSEN, M.; MINTEER, S. D. Bio-solar cells incorporating catalase for stabilization of thylakoid bioelectrodes during direct photoelectrocatalysis. **ECS Electrochemistry Letters**, v. 1, n. 5, p. 13–15, 2012.

SOKOL, K. P.; MERSCH, D.; HARTMANN, V.; et al. Rational wiring of photosystem II to hierarchical indium tin oxide electrodes using redox polymers. **Energy and Environmental Science**, v. 9, n. 12, p. 3698–3709, 2016.

SOUZA, B. C. A.; GUARALDO, T. T.; BRUGNERA, M. F.; et al. Antifungal properties of high efficient W/WO3 electrodes acting under UV-Vis and visible light and chloride medium. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 11, p. 2084–2093, 2017.

STONES, R.; HOSSEIN-NEJAD, H.; GRONDELLE, R. VAN; OLAYA-CASTRO, A. On the performance of a photosystem II reaction centre-based photocell. **Chemical Science**, v. 8, n. 10, p. 6871–6880, 2017.

TAKEUCHI, R.; SUZUKI, A.; SAKAI, K.; et al. Construction of photo-driven bioanodes using thylakoid membranes and multi-walled carbon nanotubes. **Bioelectrochemistry**, v. 122, p. 158–163, 2018.

TAPIA, C.; MILTON, R. D.; PANKRATOVA, G.; et al. Wiring of Photosystem I and Hydrogenase on an Electrode for Photoelectrochemical H2 Production by using Redox Polymers for Relatively Positive Onset Potential. **ChemElectroChem**, v. 4, n. 1, p. 90–95, 2017.

TORQUATO, L. D. M.; PASTRIAN, F. A. C.; PERINI, J. A. L.; et al. Relation between the nature of the surface facets and the reactivity of Cu2O nanostructures anchored on TiO2NT@PDA electrodes in the photoelectrocatalytic conversion of CO2 to methanol. **Applied Catalysis B: Environmental**, 2020.

VASELBEHAGH, M.; KARKHANECHI, H.; MULYATI, S.; TAKAGI, R.; MATSUYAMA, H. Improved antifouling of anion-exchange membrane by polydopamine coating in electrodialysis process. **Desalination**, v. 332, n. 1, p.

126–133, 2014.

VIVIANI, V. R. Aula prática de Fotossíntese: Demonstração da reação de Hill em cloroplastos com dissipação de energia por fluorescência mediante desacoplamento ou inibição dos fotossistemas pelo herbicida Diuron. **Revista de Ensino de Bioquímica**, v. 14, n. 1, p. 73, 2016.

WANG, P.; ZHAO, F.; HARTMANN, V.; et al. Reassessing the rationale behind herbicide biosensors: The case of a photosystem II/redox polymer-based bioelectrodefs. **Bioelectrochemistry**, v. 136, p. 107597, 2020.

WANG, W.; WANG, Z.; ZHU, Q.; et al. Direct electron transfer from photosystem II to hematite in a hybrid photoelectrochemical cell. **Chemical Communications**, v. 51, n. 95, p. 16952–16955, 2015.

WELIWATTE, N. S.; GRATTIERI, M.; SIMOSKA, O.; RHODES, Z.; MINTEER, S. D. Unbranched Hybrid Conducting Redox Polymers for Intact Chloroplast-Based Photobioelectrocatalysis. **Langmuir**, v. 37, n. 25, p. 7821–7833, 2021.

XIONG, Y.; LI, R.; YUE, Y. MIN. Quantitative estimation of photosynthetic pigments using new spectral indices. **Journal of Forestry Research**, v. 24, n. 3, p. 477–483, 2013.

YEHEZKELI, O.; TEL-VERED, R.; WASSERMAN, J.; et al. Integrated photosystem II-based photo-bioelectrochemical cells. **Nature Communications**, v. 3, 2012.

YU, Y.; HUANG, Z.; ZHOU, Y.; et al. Facile and highly sensitive photoelectrochemical biosensing platform based on hierarchical architectured polydopamine/tungsten oxide nanocomposite film. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 126, p. 1–6, 2019.

ZHAO, F.; HARDT, S.; HARTMANN, V.; et al. Light-induced formation of partially reduced oxygen species limits the lifetime of photosystem 1-based biocathodes. **Nature Communications 2018 9:1**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2018.

ZHAO, F.; HARTMANN, V.; RUFF, A.; et al. Unravelling electron transfer processes at photosystem 2 embedded in an Os-complex modified redox polymer. **Electrochimica Acta**, v. 290, p. 451–456, 2018.

ZHAO, F.; WANG, P.; RUFF, A.; et al. A photosystem i monolayer with anisotropic electron flow enables Z-scheme like photosynthetic water splitting. **Energy and Environmental Science**, 2019.

ZHOU, X.; ZHOU, L.; ZHANG, P.; et al. Conducting Polymers–Thylakoid Hybrid Materials for Water Oxidation and Photoelectric Conversion. **Advanced Electronic Materials**, v. 5, n. 3, p. 1–10, 2019.