



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
CAMPUS DE BAURU- FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**JÉSSICA CLEIDIANE PARAIZO MAGALHÃES**

**OXIDAÇÃO DE CARBOIDRATOS VIA CATÁLISE  
METÁLICA NÃO ENZIMÁTICA PARA APLICAÇÃO EM  
SENSORES ELETROQUÍMICOS**

**BAURU - SP  
2015**

**JÉSSICA CLEIDIANE PARAIZO MAGALHÃES**

**OXIDAÇÃO DE CARBOIDRATOS VIA CATÁLISE METÁLICA NÃO  
ENZIMÁTICA PARA APLICAÇÃO EM SENSORES  
ELETROQUÍMICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Química da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Licenciatura em Química

Orientador: Prof. Dr. João Roberto Fernandes

**BAURU – SP  
2015**

Magalhães, Jéssica Cleidiane Paraizo

Oxidação de carboidratos via catálise metálica não enzimática para aplicação em sensores. / Jéssica Cleidiane Paraizo Magalhães, 2015.

31 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. João Roberto Fernandes.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Estadual Paulista, Licenciatura em Química. Faculdade de Ciências, Bauru, 2015.

1. Oxidação de Glicose 2. Sensores Não Enzimáticos  
3. Catálise Metálica.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha mãe, Conceição Leolina Paraizo pelo amor incansável e dedicação ilimitada e ao meu pai Gerson Magalhães Neto por confiar e acreditar em minha capacidade durante todos os anos da graduação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família; pais, irmãos, avós e tios pois sem sua dedicação, apoio e sem seu amor eu não teria conseguido chegar até aqui.

Para agradecer todos os meus amigos, tanto os da faculdade como os da vida inteira, eu cito as palavras de Vinícius de Moraes “... *eu poderia suportar, embora não sem dor, que tivessem morrido todos os meus amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos! Até mesmo aqueles que não percebem o quanto são meus amigos e o quanto minha vida depende de suas existências... Se um deles morrer, eu ficarei torto para um lado. Se todos eles morrerem, eu desabo!*”.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. João Roberto Fernandes, pela grande ajuda não só como conselheiro, mas como amigo.

Agradeço também aos colaboradores, técnicos de laboratórios, funcionários do campus àqueles todos que fazem a universidade funcionar nas entrelinhas.

Agradeço aos professores de graduação Aguinaldo Robinson de Souza, Antônio Carlos Dias Ângelo, Daniel Rinaldo, Fenelon Martinho Lima Pontes, Gilbert Bannach, Lucídio de Sousa Santos, Luiz Carlos da Silva Filho, Manoel Lima de Menezes, Mário Sérgio Galhiane, Sandra Regina Rissato, Silvia Zuliane e Valdecir Ximenes Farias, que doaram um pouco do seu ser para todos àqueles que passaram por suas aulas.

E por fim meus sinceros agradecimentos a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação.

## RESUMO

**Palavras - Chaves:** 1. Oxidação de Glicose 2. Sensores Não Enzimáticos 3. Catálise Metálica.

Este trabalho tem como escopo propor a síntese e a caracterização de materiais nanoestruturados para a oxidação de carboidratos, como a glicose, através de catálise não enzimática. A proposta da via de síntese dos catalizadores metálicos é o método poliol e as técnicas de caracterização física propostas para análise do catalizador preparado passam pela técnica de Difração de Raios-X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios -X (EDX). As técnicas para a caracterização eletroquímica dos catalisadores são Voltametria Cíclica (CV) e Voltametria de Pulso Diferencial (DPV). As perspectivas deste trabalho passam pela comparação da atividade catalítica dos sensores não enzimáticos e também biossensores já conhecidos na literatura.

## ABSTRACT

**Key - Words:** 1. Glucose Oxidation 2. Sensors no Enzymatic 3. Metallic Catalysis.

This work has main aim of is to propose the synthesis and characterization of nanostructured materials for oxidation of carbohydrates such as glucose, with non-enzymatic catalysis. The proposed pathway of synthesis of metal catalysts is the polyol method and techniques of physical characterization proposals for analysis of prepared catalyst pass through diffraction technique of ray-x (DRX), scanning electron microscopy (SEM) and Energy Dispersive Spectroscopy ray-x (EDX). Technical proposals for the electrochemical characterization of the synthesized catalysts are Cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV). The prospects of this work are compared by the catalytic activity of the sensor designed with non-enzymatic sensors and biosensors also known in the literature.

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	<b>9</b>
1.1 Sensores enzimáticos para glicose.....	9
1.2 Sensores não enzimáticos para glicose .....	10
1.2.1 Metais nobres.....	10
1.2.2 Compósitos .....	11
1.2.3 Micro- ou nano-materiais .....	11
1.3 Detecção eletroquímica da glicose .....	13
1.4 Mecanismo de oxidação da glicose na superfície do eletrodo.....	13
<b>2. Objetivo</b> .....	<b>15</b>
<b>3. Experimental</b> .....	<b>15</b>
3.1 Síntese de Eletrocatalisadores .....	15
3.2 Avaliação eletroquímica dos catalisadores para eletrooxidação de glicose .....	16
3.3 Avaliação das propriedades físicas e superficiais dos eletrocatalisadores .....	20
<b>4. Perspectivas</b> .....	<b>24</b>
<b>5. Referências bibliográficas</b> .....	<b>26</b>

# 1. Introdução

## 1.1 Sensores enzimáticos para glicose

O primeiro sensor enzimático para a análise de glicose foi desenvolvido em 1962 por Clark e Lyons e, depois disso, o número e variedade desse tipo de sensor cresceu expressivamente. O sensor para glicose foi proposto, primeiramente, para detecções em amostras de sangue, mas nos dias atuais os campos para esse tipo de sonda, tanto de glicose como de outros carboidratos, passam pelos ramos alimentícios, controle de qualidade, processos de fermentação e diagnósticos clínicos em geral. (Satheesh Babu, Ramachandran e Nair 2010) (Zhou, et al. 2013)

O primeiro biossensor foi baseado na enzima glicose oxidase (GOx-E.C1134) que catalisa a oxidação da glicose em microrganismos. A GOx é amplamente utilizada para a determinação de glicose livre em fluidos corporais, em matéria-prima vegetal, e na indústria alimentícia. É uma proteína com duas sub unidades extraída, principalmente, do microrganismo *Aspergillus niger*. Os últimos biossensores apresentados para a oxidação de glicose têm o modelo enzimático via catálise da  $\beta$  - D (+) -glicose em glico- $\delta$ -lactona na presença de oxigênio molecular como pode ser visto na Figura 1 e para ser analisado calcula-se a concentração de peróxido de hidrogênio que é produzido simultaneamente na reação. (Mallesha, et al. 2012)

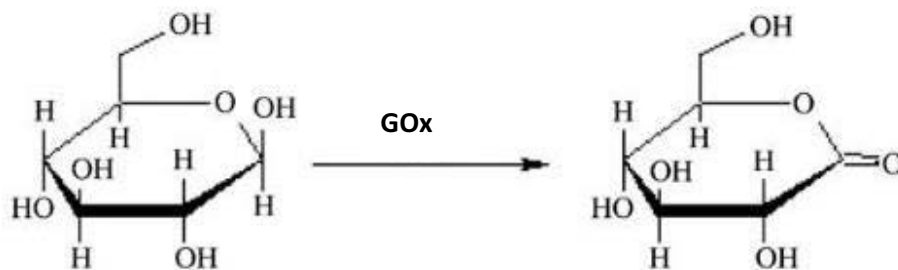
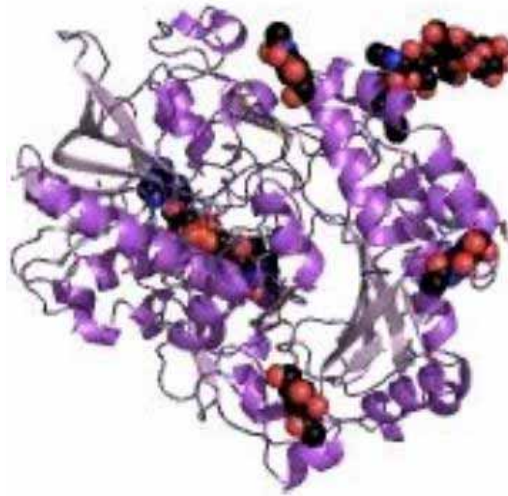


Figura 1 Representação da reação de oxidação da glicose pela GOx. (Witt et al., 2000)

Os sensores enzimáticos são os mais tradicionais na oxidação da glicose e sua principal vantagem é que são bem seletivos, essa característica está ligada à alta quimioseletividade, regioseletividade e enantioseletividade presentes nas biomoléculas enzimáticas. (Toghill, et al. 2010) Porém, para que a enzima mantenha sua atividade catalítica sua estrutura terciária precisa estar em sua conformação nativa, na Figura 2 representa-se a estrutura terciária da enzima glicose oxidase. Alguns fatores podem alterar a conformação estrutural da enzima e, deste modo, afetar a eficiência da catálise. As enzimas apresentam baixa estabilidade térmica, são influenciados drasticamente por variações de pH, são de difícil imobilização e estabilização na superfície dos eletrodos, além de ter baixa reprodutibilidade devido à baixa resistência intrínseca da enzima. Uma das limitações dos biossensores enzimáticos é a interferência de espécies com atividade redox como ácido

ascórbico e ácido úrico que normalmente estão presentes nas amostras reais. (Mahshid, et al. 2011)



*Figura 2* Representação da enzima glicose oxidase. (Santos 2012)

Nos últimos anos diferentes tipos de sensores enzimáticos foram apresentados na literatura, porém, os mais utilizados para detecção de glicose são os sensores eletroquímicos para os mais variados substratos, como nanopartículas baseadas em metais nobres, polímeros, nanocarbonácios e moléculas com interações bioespecíficas. (Kucherenko, et al. 2014) (W. Li, et al. 2011) (Qianfang, Dan e Zaijun 2012) (Li, et al. 2012) (Zhang, et al. 2010) (Erdem, Zeybek e Aydogdu 2014) (Guo, et al. 2014) (Liu, et al. 2013) (J. Li, et al. 2010) (Berkkan, Seçkin e et al. 2010) (Ferreira, et al. 2013). Porém, todos são baseados na enzima GOx. A mudança dos substratos vem com o objetivo de aumentar a eficiência da catálise enzimática, eles auxiliam aumentando a área superficial, a melhoria de condutividade elétrica e aumento da transferência de carga entre a enzima e o analito, fazendo com que o biossensor se torne além de seletivo e sensível um pouco mais robusto, do ponto de vista analítico.

## **1.2 Sensores não enzimáticos para glicose**

Com o avanço nas pesquisas em detecção de glicose, o interesse nos sensores a base de enzimas foi sendo substituído pelo interesse nos sensores não enzimáticos. Os sensores não enzimáticos são excelentes alternativas para o desenvolvimento de sensores mais robustos com equiparada sensibilidade e seletividade. (Chang, et al. 2013) (Chen, Tian, et al. 2014) (Tian, Prestgard e Tiwari 2014) Entre os diferentes tipos de sensores não enzimáticos eletroquímicos presentes na literatura, os sensores baseados em metais nobres, compósitos e micro- ou nano-materiais são os que aparecem como alternativas para o desenvolvimento de sensores tão sensíveis quanto os sensores enzimáticos. (Satheesh Babu e Ramachandran 2010)

### **1.2.1 Metais nobres**

Os sensores baseados em metais nobres vêm sendo estudados nas últimas décadas para a aplicação em sensores para glicose, afim de substituir os sensores enzimáticos. Sabe-se que a eletrocatalise nos sensores baseados em metais nobres varia de forma significativa dependendo do metal catalisador. Dentre os principais catalisadores, aqueles a base de platina (Pt), ouro (Au), níquel (Ni), cobre (Cu) e prata (Ag), normalmente não são utilizados em sua forma simples ou como óxidos de metal, eles são frequentemente utilizados como compósitos metálicos ou híbridos, com propósito de integrar diferentes características dos materiais e diminuir as desvantagens dos eletrodos tradicionais de metais nobres. (Tian, Prestgard e Tiwari 2014)

### **1.2.2 Compósitos**

Os sensores baseados em compósitos oferecem uma grande versatilidade em suas características físico-químicas e, em consequência, em sua eletrocatalise. Os compósitos podem ser compostos pela mistura de metais, compostos orgânicos, polímeros, óxidos e ligas metálicas, materiais com alta condutividade, cerâmicas e outra infinidade de materiais com diferentes características, podendo ser misturados entre si. Essa possibilidade de misturas confere aos sensores baseados em compósitos um grande campo de possibilidade para a detecção de glicose e outros carboidratos, para a minimização dos problemas encontrados em cada um destes compostos isoladamente.

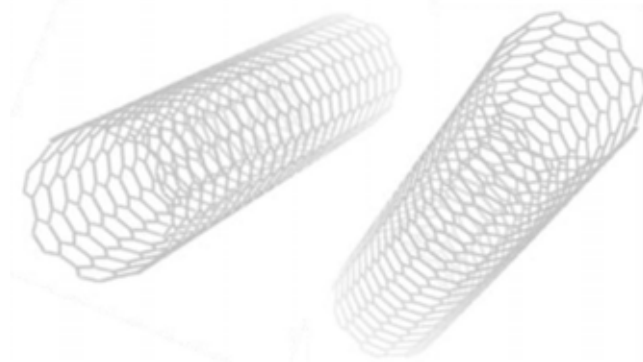
### **1.2.3 Micro- ou nano-materiais**

Os sensores baseados em micro- ou nano-materiais são a grande alternativa para a eletrocatalise não somente dos sensores para glicose e carboidratos, mas para todas as detecções eletroanalíticas, visto que a área superficial dos sensores micro- ou nano- é aumentada de forma exponencial, comparando com superfícies lisas.

Uma vertente dos sensores não enzimáticos mais utilizada para a detecção de glicose ou carboidratos são os nanocarbonácios que suportam metais nobres. Os substratos de carbono são universalmente utilizados na fabricação de sensores eletroquímicos devido à larga faixa de condutividade elétrica e o fato de geralmente serem eletroquimicamente inertes, porém a funcionalização dos substratos é uma linha crescente na fabricação de eletrodos, que o auxiliem na catálise e propriedades além daquelas observadas em substratos tradicionais. As variedades mais comuns de substratos funcionalizados são os nanotubos de carbono e grafeno, seguidos por outras variedades menos comuns de alótropos de carbono como nanocubos, nanofibras e variedades de diamante dopado. (Han, Zhu, et al. 2010)

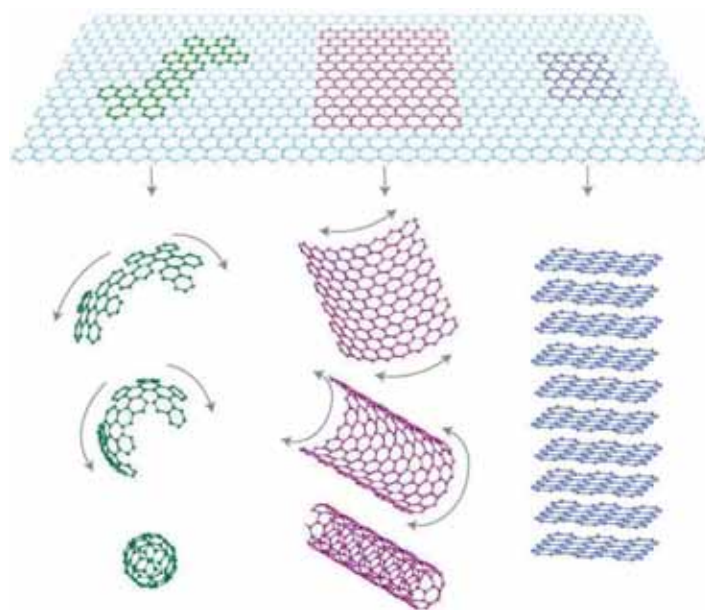
Os nanotubos de carbono são nanomateriais relativamente novos, comparando-os aos materiais nanoestruturados baseados em carbono e são alternativas comparados aos nanoalótropos convencionais, pois, apresentam alta área superficial, alta resistência mecânica, estabilidade química e excelente condutividade elétrica e térmica. (Yi, et al. 2014) Sua performance é atribuída a sua rugosidade, porosidade, compatibilidade química com substratos biológicos e sua estrutura tubular que permite a promoção da transferência eletrônica entre o analito e a superfície do eletrodo. Os nanotubos de carbono normalmente

são substratos para dispersão de outros catalisadores, como metais, óxidos metálicos e compósitos além de poderem ser funcionalizados com grupos como carbonila, oxigênio, hidroxilas entre outros, afim de se obter maior atividade catalítica. (Chang, et al. 2013) (Zhao, et al. 2013) (Shaidarova, et al. 2014) A representação de sua estrutura cristalina é apresentada na figura 3.



*Figura 3* Representação da estrutura cristalina de nanotubos de carbono. (Santos 2012)

O grafeno consiste em uma folha bidimensional de átomos de carbonos ligados em conjugação  $sp^2$  que lhe confere característica de semimetal com baixo “*band gap*”. (Mallesha, et al. 2012) O grafeno tem característica de estrutura primária frente às outras alotropias de carbono, como pode ser visto na figura 4. A hibridização do grafeno somado com as características dos nanomateriais suportados confere a esse material propriedades físicas e químicas como o deslocamento eletrônico nas ligações  $\pi$  abaixo do plano basal que aumentam sua condutividade elétrica, baixam a sua resistência a transferência de carga, aumentam a resistência mecânica, além de promover variedades catalíticas, magnéticas e optoeletrônicas. (Wu, et al. 2013) (Tian, Prestgard e Tiwari 2014) (Chen, Tian, et al. 2014) (Zhu, et al. 2013)



*Figura 4* Ilustração mostrando o caráter primário da estrutura do grafeno frente às outras estruturas cristalinas de carbono, como nanotubos, fulerenos e grafite. (Geim e Novoselov 2007)

Dentre as outras variedades de alótropos de carbono sabe-se que os fatores determinantes nas suas propriedades catalíticas são a sua geometria, número de sítios ativos e aumento de área superficial, sendo assim com o planejamento de síntese visando a junção dessas propriedades catalíticas pode-se obter materiais impares para serem utilizados nos mais diversos tipos de catálise.

Os sensores micro- ou nano- métricos podem unificar as características favoráveis dos sensores de metais nobres e compósito com a vantagem de ter a área ativa aumentada. Deste modo, o estudo de variedade de sínteses com intuito de diminuir o tamanho de partículas, para manter ou melhor características físico-químicas desses materiais, é um campo com grandes possibilidades de desenvolvimentos.

### **1.3 Detecção eletroquímica da glicose**

As formas mais comuns de leitura dos detectores de glicose são eletroquímicas e fotométricas que requerem, geralmente, de pequenas alíquotas de amostras para a análise. A maioria dos sensores não enzimáticos são eletroquímicos pois esses sensores são, comumente, eletrodos confeccionados com metais nobres, compósitos de metais nobres ou alótropos de carbono. (Yi, et al. 2014)

Para analisar a glicose em sensores livre de enzimas, bem como outros carboidratos, deve ser feita a oxidação dessas substâncias em um conjunto de eletrodos por onde se aplica uma corrente elétrica. Os detectores eletroquímicos apresentam rápido tempo de resposta, baixos limites de detecção, além da possibilidade de aplicações miniaturizadas e *in situ*, que são vantagens quando comparados com as análises fotométricas. (Li, et al. 2010) (Han, Zhu, et al. 2010)

Existem dois métodos mais comuns de aplicações eletroquímicas para eletrooxidação de carboidratos; os amperométricos e os potenciométricos, que podem ser explanados conforme a necessidade da detecção. O método amperométrico consiste em aplicar um potencial constante no eletrodo onde se encontra o analito, também chamado de eletrodo de trabalho, e pela resposta de corrente tem-se a concentração do analito, que é proporcional à corrente. O método potenciométrico consiste na aplicação de variações de potenciais entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de potencial zero, também chamado de eletrodo de referência, as respostas de corrente são relacionadas de forma proporcional à concentração do analito.

### **1.4 Mecanismo de oxidação da glicose na superfície do eletrodo**

O mecanismo de eletrooxidação da glicose na superfície do eletrodo ainda não foi completamente compreendido, mas existem dois principais modelos para eletrocatalise da glicose. O primeiro modelo, proposto por Pletcher em 1984, mostra que a molécula de um ácido carboxílico ou carboidrato se adsorva na superfície do eletrodo e, assim, se inicia o processo oxidação. Primeiramente o carbono hemiacetal se liga à superfície do eletrodo e o hidrogênio ligado à ele é extraído, como pode ser observado na Figura 5. Depois de extraído o hidrogênio da superfície do eletrodo, ocorre uma mudança no estado de oxidação do carbono

hemiacetal ocasionando uma mudança na interação entre a molécula do carboidrato e o metal. A ligação entre o metal e o carbono é enfraquecida causando a desorção do carboidrato intermediário. O processo de eletrocatalise consiste, então, na adsorção do carboidrato na superfície do eletrodo, a sua oxidação e depois a sua desorção com um estado de oxidação diferente do início do processo. Na proposta de Pletcher o metal tem papel fundamental na eletrooxidação de carboidratos, visto que ele participa diretamente da reação, mudando o estado de oxidação da molécula do carboidrato para que a reação aconteça.

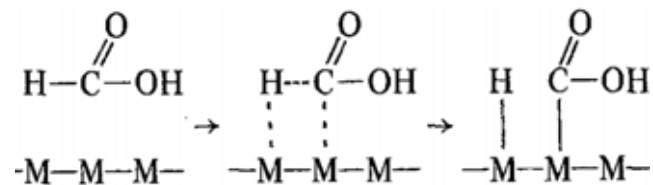


Figura 5 Ilustração da eletroadsorção de carboidratos na superfície do eletrodo. Teoria de adsorção proposta por Pletcher. (Pletcher 1984)

A segunda proposta de eletrooxidação de carboidratos foi apresentada por Burker e é conhecida como modelo “*Incipient Hydrous Oxide Adatom Mediator*” (IHOAM) que consiste na oxidação, ou passagem de elétrons, do carboidrato para o óxido hidratado ( $[\text{OH}]_{\text{ads}}$ ) metálico formado pela adsorção de hidretos ( $\text{OH}^-$ ) presentes na água, formando um metal redutor, e depois este libera esse elétron para um óxido reduzido presente no meio oxidando-o. Na proposta apresentada por Buker o metal teria a função de um transportador de elétrons, ou catalisador, não fazendo parte diretamente da reação de oxidação, apresentado na figura 6.

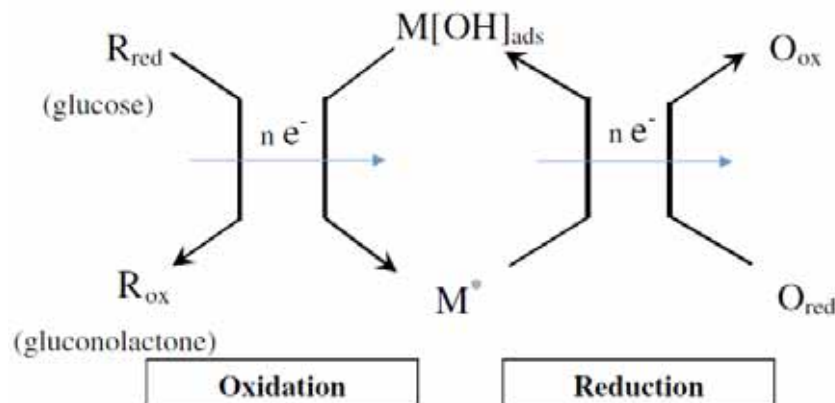


Figura 6 Esquema de ilustração do modelo IHOAM. Apresentando por Burker.  $\text{M}^*$ : Sítio de adsorção do metal redutor.  $\text{M}[\text{OH}]$ : Radical do oxidado hidratado na adsorção. (Tian, Prestgard e Tiwari 2014)

Os catalisadores metálicos mais utilizados são platina (Pt), ouro (Au), paládio (Pd) e prata (Ag) (Zhu, et al. 2013), porém, perspectivas apontam para os mais diferentes tipos de catalisadores metálicos incluindo rutênio (Ru), ródio (Rh) e nióbio (Nb) que muitas vezes são combinados com metais de transição como cobre (Cu), cobalto (Co), níquel (Ni) e estanho (Sn) visando a melhoria na propriedades catalíticas desses eletrodos devido à adsorção de intermediários advindos do processo de eletrooxidação. (Lee, et al. 2010) Dentro deste

contexto a busca por novas combinações metálicas com diferentes substratos orgânicos constituem um campo que promete muitas inovações e vastas possibilidades dentro da determinação de glicose via oxidação de carboidratos.

## 2. Objetivo

O trabalho consiste em propor um método de síntese e métodos de caracterização de catalisadores metálicos para que através de técnicas de caracterização física e química possa-se determinar suas propriedades e propor aplicações no estudo da eletrooxidação da glicose para compara-los com biossensores e sensores não enzimáticos já existentes.

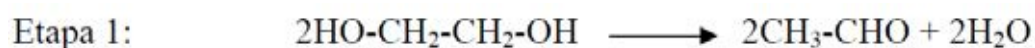
## 3. Experimental

### 3.1 Síntese de Eletrocatalisadores

Um dos métodos de síntese de nanopartículas metálicas, semicondutoras, bimetálicas e óxidos é o método poliol. Esse método foi primeiramente desenvolvido por Fievet em 1989 e consiste na redução química de sais de metais de transição na presença de agentes estabilizantes, em meio alcoólico, normalmente um poliálcool. O poliol atua no meio reacional simultaneamente como solvente, para o crescimento das partículas, passivante e agente redutor, devido a desidratação do poliálcool em altas temperaturas e a consequente formação do aldeído, que atua no processo de redução do íon metálico ao estado de oxidação zero. O modelo de reação geral pode ser estabelecido como uma reação em solução, e possui as seguintes etapas:

- (i) dissolução de um sal metálico no poliálcool;
- (ii) redução do metal em solução
- (iii) agregação e crescimento.

Na obtenção de nanopartículas metálicas existe a formação de uma biacetila, um hidrogênio molecular e o metal no estado zero, como pode ser observado pela sequência de reações a seguir:



O método poliol é uma via de síntese de vários materiais nano ou micro estruturados devido à sua versatilidade, pois, apresenta grande número de variáveis em todo o processo. As principais variáveis são; temperatura, presença de água, presença de íons  $\text{OH}^-$ , tipos de precursores e estabilizantes, além da adição, ou não, de agentes redutores além do polialcool. As principais vantagens do método poliol são:

- (i) precursores inorgânicos são facilmente solubilizados, devido à característica polar dos poliálcoois;
- (ii) agregação e crescimento normalmente ocorrem no ponto de ebulição do poliálcool;
- (iii) altas temperaturas produzem materiais com alta cristalinidade;
- (iv) a passivação do material ocorre concomitantemente com os processos de agregação e crescimento, fazendo com que as partículas sejam menores.
- (v) os resíduos são compostos de baixa massa molar, portanto, podem ser facilmente removidos da superfície das partículas;
- (vi) é considerado um método de produção de grande quantidade de material.

Deste modo a proposta de síntese de catalisadores metálicos à base de materiais nobres como platina, nióbio, ródio, rutênio, níquel e cobre suportados em alótropos de carbono via processo polioli se torna uma possibilidade atrativa.

### **3.2 Avaliação das propriedades físicas e superficiais dos eletrocatalisadores**

Para a caracterização estrutural dos catalisadores metálicos pode-se utilizar técnicas como a Difração de Raios-X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios -X (EDX).

Os raios X são radiações eletromagnéticas de alta energia no espectro. Ocupam a região entre os raios gama e ultravioleta no espectro eletromagnético como pode ser visto na figura 7. Os comprimentos de onda dos raios-x têm valores próximos dos das distâncias entre os planos cristalográficos, fazendo com que possa-se estudar as estruturas cristalinas.

Na técnica de difração de raios-x mede-se diretamente a distância entre planos paralelos de pontos do reticulado cristalino. Deste modo pode-se determinar os parâmetros do retículo de um cristal, medindo os ângulos entre os planos ou os chamados ângulos interaxiais do cristal.

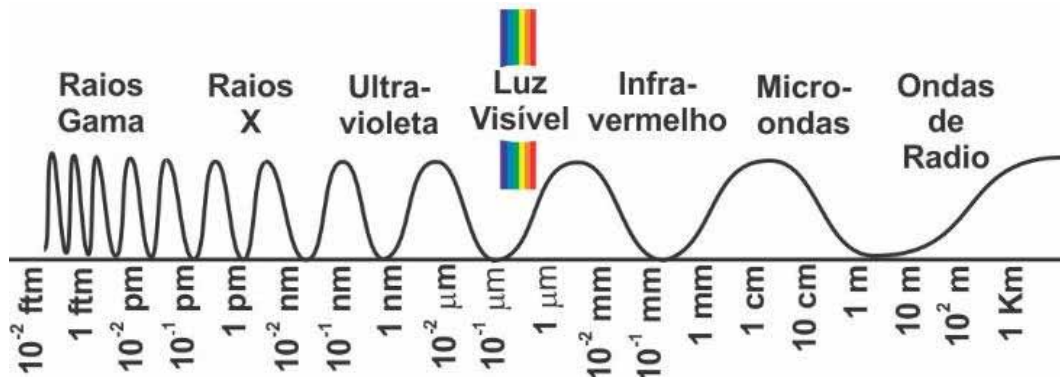


Figura 7 Esquema do espectro eletromagnético. (Ponto Ciência 2012)

Os raios  $\gamma$  utilizados para difração são ondas com comprimento entre 0,05 e 0,025nm e são produzidos sempre que elétrons, acelerados por alta voltagem, colidem com um alvo metálico, essa diferença de potencial é da ordem de 35 kV entre um cátodo e o alvo metálico que funciona como ânodo, mantidos em vácuo e resfriamento, conforme se mostra na Figura 8.

Os tubos de raios-x podem ser divididos em dois tipos básicos, de acordo com a maneira pela qual os elétrons são produzidos:

- (i) tubos de filamento; onde a fonte de elétrons é um filamento de Tungstênio é aquecido,
- (ii) e os tubos a gás, onde elétrons são produzidos pela ionização de gás contida no tubo.

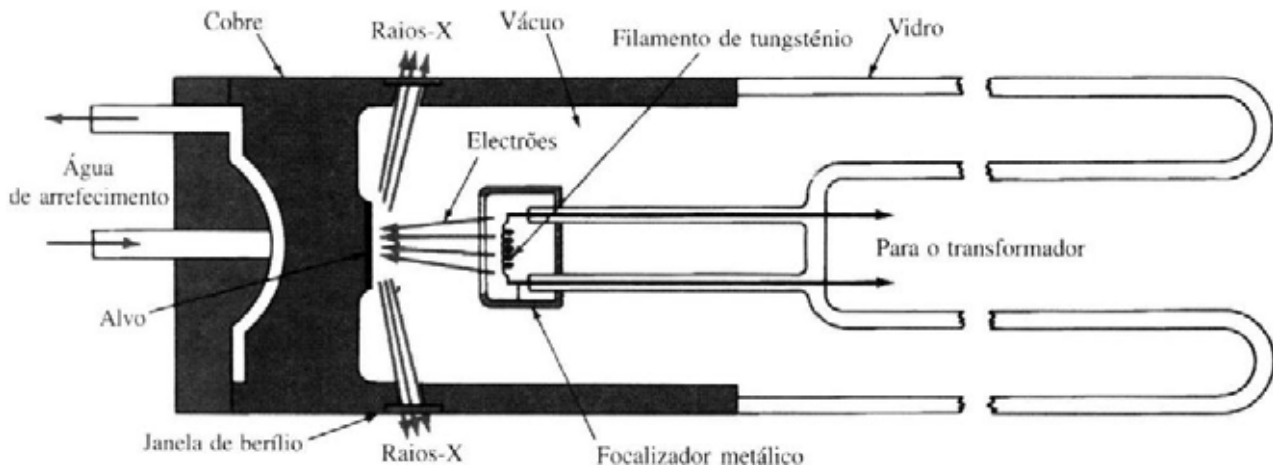


Figura 8 Esquema da seção longitudinal de um tubo de raios-X com filamento de Tungstênio. (Smith 1998)

Para determinação de estruturas cristalinas, podemos considerar que em um feixe que contenha somente um comprimento de onda (monocromático), incida na superfície de um cristal, como pode ser observado na figura 9, as linhas horizontais representam conjuntos cristalográficos paralelos, de índices de Miller (h k l). Quando o feixe de raio-x monocromático, de comprimento de onda  $\lambda$ , incide neste conjunto de planos a diferença de caminho óptico não é um número inteiro de comprimentos de onda, então, as ondas estão fora de fase, pois produzem um ângulo tal que as ondas deixam o plano de forma arbitrária, sendo assim, não se produzirá qualquer feixe reforçado (Figura 9.a). Deste modo ocorre, então, uma

interferência destrutiva. Porém se as ondas refletidas pelos vários planos estiverem em fase, então ocorre um reforço do feixe ou interferência construtiva, que é a diferença de caminho óptico entre dois feixes é igual a um número inteiro de comprimentos de onda (Figura 9.b). A Lei de Bragg (Equação 1) mostra a relação entre as posições angulares dos feixes difratados reforçados, que indica a interferência construtiva, ou seja, que se produza um pico de difração de radiação intensa.

$$n\lambda = 2 d \operatorname{sen}\theta$$

Equação 1

onde;

$n$ = um número inteiro (ordem de difração)

$\lambda$ =comprimento de onda

$d$ = distância interplanar para o conjunto de planos (h k l)

$\theta$ =ângulo de incidência

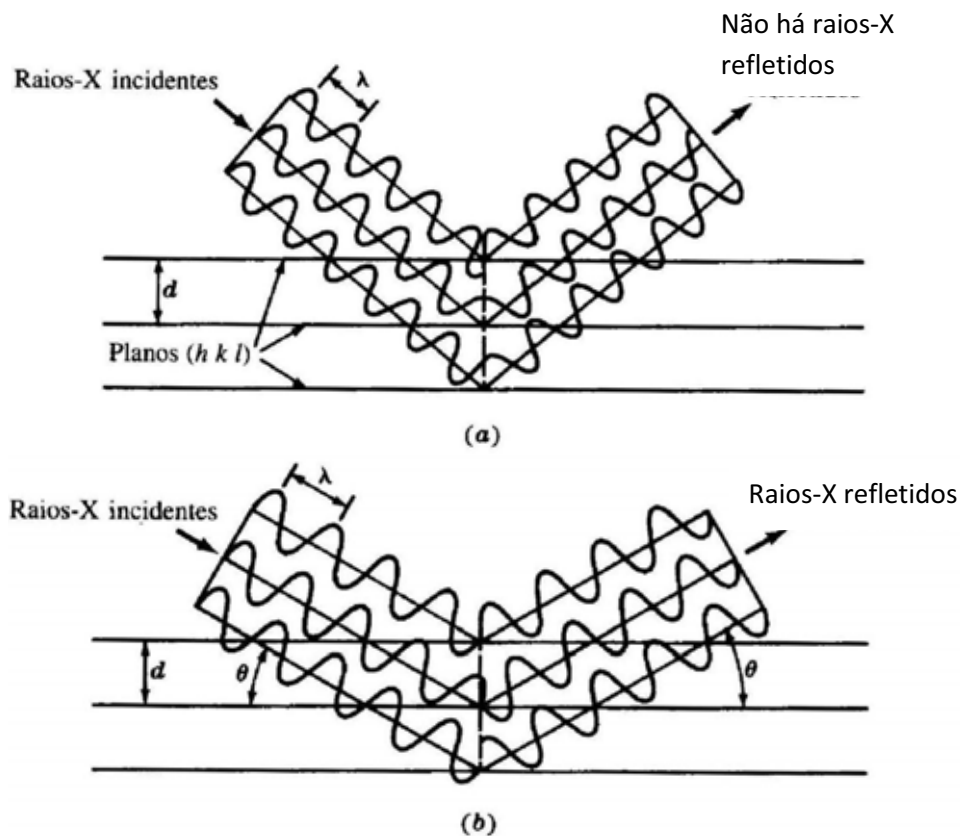


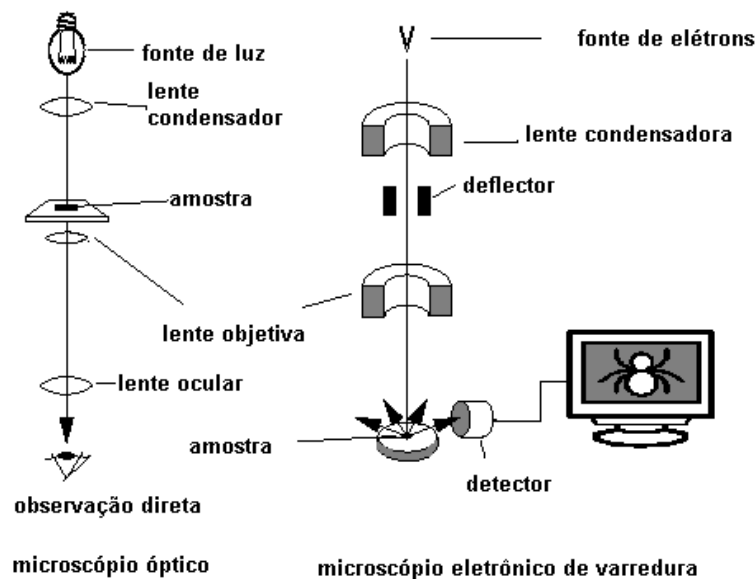
Figura 9 Esquema de reflexão de um feixe de raios-X pelos planos de Miller (h k l) de um cristal. (a) Quando o ângulo de incidência não for em fase, não se produz feixe refletido. (b) Para o ângulo de Bragg ( $\theta$ ), os raios refletidos estão em fase e reforçam-se uns aos outros. (Smith 1998)

A técnica de difração de raios-x se enquadra como caracterização estrutural de sólidos cristalinos orgânicos ou inorgânicos, utilizada para determinação morfológica das estruturas sintetizadas e de suas estruturas cristalinas básicas.

A técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) emite, detecta e processa sinais sobre a interação entre o feixe de elétrons emitido e a superfície da amostra, utilizando todas as informações geradas por essa interação, como elétrons secundários, elétrons

retroespalhados, raios-X característicos, elétrons “Auger”, fóton entre outros, para coletar uma grande multiplicidade de informações sobre os materiais, como topografia da superfície, composição, cristalografia, etc.

O funcionamento de um MEV tem os mesmos princípios do microscópio óptico, exceto que utiliza elétrons ao invés de luz para produzir suas imagens, e lentes magnéticas ao invés de lentes de vidro para focalizar o feixe, como pode ser visto na figura 10. Utiliza-se um feixe de elétrons de 5-50 KeV para varrer a superfície da amostra, por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está sincronizada com a do feixe incidente. Conforme o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra estes sinais vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície. Os elétrons secundários fornecem imagem topográfica da superfície da amostra e são responsáveis pela obtenção das imagens em alta resolução, já os retroespalhados fornecem imagem característica de variação de composição, pois elétrons retroespalhados possuem maior energia do que os elétrons secundários, assim, o detector de elétrons retroespalhados irá operar na faixa de energia maior e o de elétrons secundários na faixa menor. Um microscópio eletrônico de varredura, trabalha em vácuo e tem seu poder de resolução na escala nanométrica, de forma geral, com efeitos destrutivos para a amostra.



*Figura 10* Esquema de comparação entre microscópio óptico e microscópio eletrônico de varredura. (Dedavid 2007)

No momento em que o feixe primário incide sobre a amostra, parte dos elétrons se difunde, e assim, constituem um volume de interação cuja forma depende da tensão de aceleração e do número atômico da amostra. Os elétrons e as ondas eletromagnéticas são utilizadas para formar as imagens ou para efetuar análises físico-químicas. A profundidade máxima de detecção depende da energia com que estas partículas ou raios atingem o detector, ou são capturadas por ele. No MEV podem ser obtidos aumentos de até 900 000 vezes para determinadas análises e para serem detectados as partículas e/ou os raios eletromagnéticos

resultantes da interação do feixe eletrônico com a amostra devem retornar à superfície da amostra e, então, atingirem o detector.

O MEV, conforme pode ser visto na figura 11, consiste basicamente da coluna em alto vácuo (fonte de elétrons, ânodo, condensadoras, bobinas de varredura e objetiva), câmara em alto ou baixo vácuo (amostra), bombas de vácuo e o sistema de detectores.

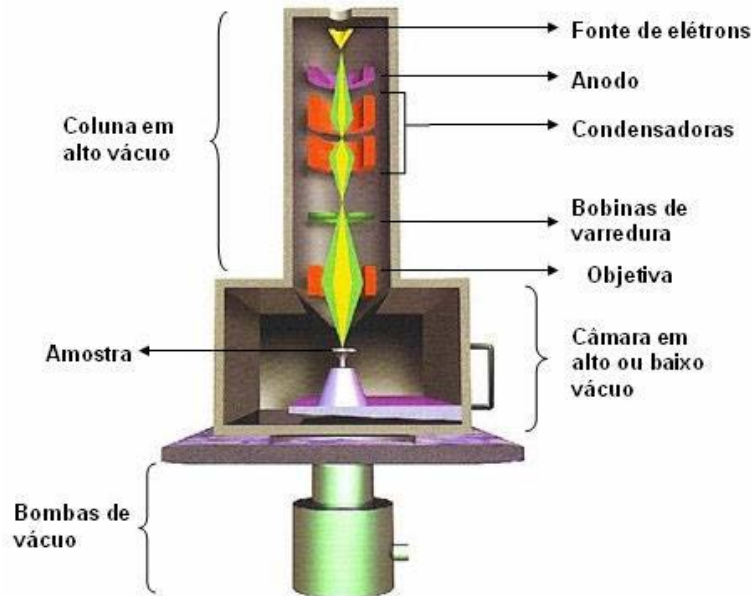


Figura 11 Representação de um microscópio eletrônico de varredura. (Dedavid 2007)

O MEV é uma das técnicas de caracterização mais versáteis disponíveis para a observação e análise de características estruturais de sólidos. A principal razão de sua utilidade é a alta resolução e característica tridimensional que a imagem pode ser obtida quando as amostras são analisadas, garantindo variadas aplicações de caracterização como, tamanho de partículas e sua distribuição pela superfície analisada.

A espectroscopia por energia dispersiva (EDX) é um acessório de caracterização microscópica normalmente acoplado ao MEV que é utilizada para determinação dos elementos presentes em amostras metálicas e cerâmicas.

A técnica de EDX funciona a partir da incidência de feixe de elétrons sobre uma amostra cristalina e, assim, os elétrons mais externos dos átomos e os íons constituintes são excitados, mudando de níveis energéticos. Ao retornarem para sua posição inicial estes liberam a energia adquirida em comprimento de onda no espectro de raios-X que, distribuídos no espectro por ordem de sua energia, vão do número atômico mais baixo (baixa energia) para o mais elevado (alta energia) e pode-se, também, caracterizar elementos pelas energias características que cada átomo emite a partir de um detector instalado na câmara de vácuo do MEV que mede a energia associada a esses elétrons captados.

O conjunto MEV e EDX é um aparato valioso para a caracterização cristalina, pois enquanto o MEV proporciona imagens em alta resolução o EDX permite a identificação e distribuição dos elementos na superfície da amostra.

### 3.3 Avaliação eletroquímica dos catalisadores para eletrooxidação de glicose

Para avaliar eletroquimicamente as nanopartículas sintetizadas, para o estudo da oxidação de glicose na superfície metálica, pode-se utilizar técnicas eletroquímicas como Voltametria Cíclica (CV) e Voltametria de Pulso Diferencial (DPV).

Os estudos de caracterização eletroquímica dos eletrodos podem ser efetuados em sistemas eletroquímicos compostos por 3 eletrodos e a solução eletroquímica, onde:

- (i) o eletrodo de trabalho; que contém o catalisador e é também onde o analito, sob ação do potencial aplicado, reage se oxidado ou reduzindo,
- (ii) eletrodo de referência; de Ag/AgCl (KCl) ou Calomelano, onde o potencial permanece constante, que arbitrariamente tem a denominação de eletrodo de potencial zero.
- (iv) contra-eletrodo; eletrodo de platina por onde passa a corrente.
- (v) e a solução eletroquímica; que contém íons para a passagem da corrente elétrica mais analito a ser oxi-reduzido na superfície do catalisador.

Em um sistema eletroquímico convencional o conjunto de eletrodos mais a solução eletroquímica estão em uma célula eletroquímica, que pode seguir o modelo da figura 12, porém, os sistemas miniaturizados são uma excelente alternativa às células tradicionais.

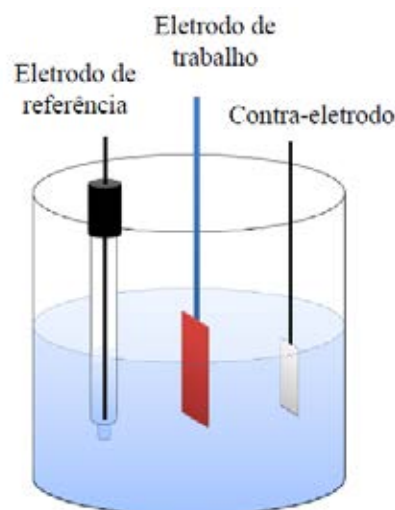


Figura 12 Ilustração de uma célula eletroquímica tradicional. (Santos 2012)

Um sistema miniaturizado tem vantagens frente ao modelo tradicional pois o sistema eletroquímico funciona por polarização da interface eletrodo/solução eletrolítica fazendo que se crie uma diferença de concentração entre a superfície do eletrodo e o seio da solução e, por

transporte de massa, o analito novamente chega à superfície do eletrodo pra ser analisado. A velocidade de transferência eletrônica depende do potencial químico e da concentração tanto do analito quanto do eletrodo em processos governados por difusão. (Ohlweiler 1981) Assim, em um sistema miniaturizado o analito chegaria à superfície do eletrodo de forma mais facilitada, pois o seio da solução seria menor em distância, considerando a mesma conjuntura de sistema eletroquímico.

A interface polarizada eletrodo/solução é denominada dupla camada elétrica, como pode ser visto na figura 13 quando na superfície do eletrodo é aplicado um potencial, as cargas iônicas opostas presentes na solução eletrolítica tendem a se organizar para neutralizar a polarização gerada pelo potencial aplicado (a), e conforme a energia do potencial aplicado é aumentada existe o aumento da distância da dupla camada (b).

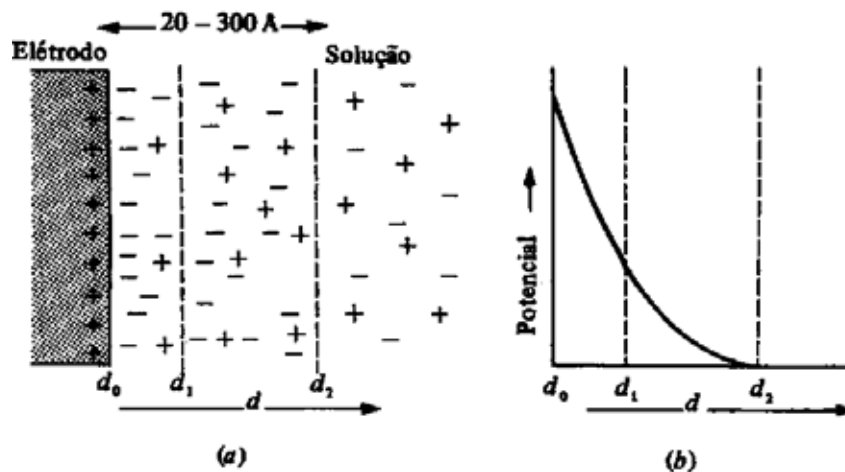


Figura 13 Dupla camada elétrica na interface eletrodo/solução (a) modelo (b) potencial vs. distância. (Ohlweiler 1981)

A CV consiste na aplicação de potencial entre o eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar (contra-eletrodo) mantendo o potencial do eletrodo de referência constante, e como resposta mede-se a corrente gerada por esse sistema. Essa técnica se baseia nas reações que ocorrem na região de dupla camada elétrica, onde a corrente gerada é utilizada para fornecer informações, termodinâmicas, cinéticas e mecanísticas, que são empregadas para a caracterização qualitativa do dispositivo estudado. A resposta de corrente da CV sofre influência do transporte de massa, transporte de carga e de reações advindas de transferências eletrônicas.

O transporte de massa trata-se da locomoção de espécies do meio da solução para a região de dupla camada elétrica e essa locomoção pode ocorrer por três processos distintos;

(i) migração; trata-se da atração ou repulsão entre as espécies presentes em solução e o eletrodo de trabalho,

(ii) difusão; é a movimentação espontânea das espécies do analito que se locomovem do meio da solução eletrolítica para interface eletrodo/solução, devido a um gradiente de concentração gerado pelo consumo das espécies, pelas reações de oxi-redução, na superfície do eletrodo

(iii) e convecção; que trata-se da perturbação mecânica advinda de um agente externo ao sistema eletroquímico.

Nas análises eletroquímicas busca-se diminuir os efeitos causados por migração e convecção, para que o transporte de massa só seja produto de difusão. Para minimizar os efeitos de migração dificulta-se a polarização das espécies através da introdução de excesso de eletrólito não reativo na solução. A convecção é minimizada eliminando agentes externos que possam causar perturbação mecânica como, por exemplo, o borbulhamento de gás durante a análise.

Na região de dupla camada elétrica ocorrem as transferências de carga e as reações químicas advindas de transferências eletrônicas, essas reações geram corrente elétrica na superfície do eletrodo e quando a corrente é devido à oxi-redução das espécies na interface eletrodo/solução ela é chamada de corrente faradaica, que é a corrente de interesse para análise do analito, porém quando a corrente vem da carga polarizada na dupla camada elétrica esta é chamada de corrente capacitiva, que não fornece informações sobre as reações do analito.

A curva de corrente vs. potencial é chamada de voltamograma, como pode ser visto na figura 14 (a). Na VC os potenciais são variados entre dois eletrodos em função do tempo e a resposta de corrente de cada potencial pode ser visto no voltamograma (b) que contém o pico catódico (de oxidação) e o anódico (de redução) deste processo.

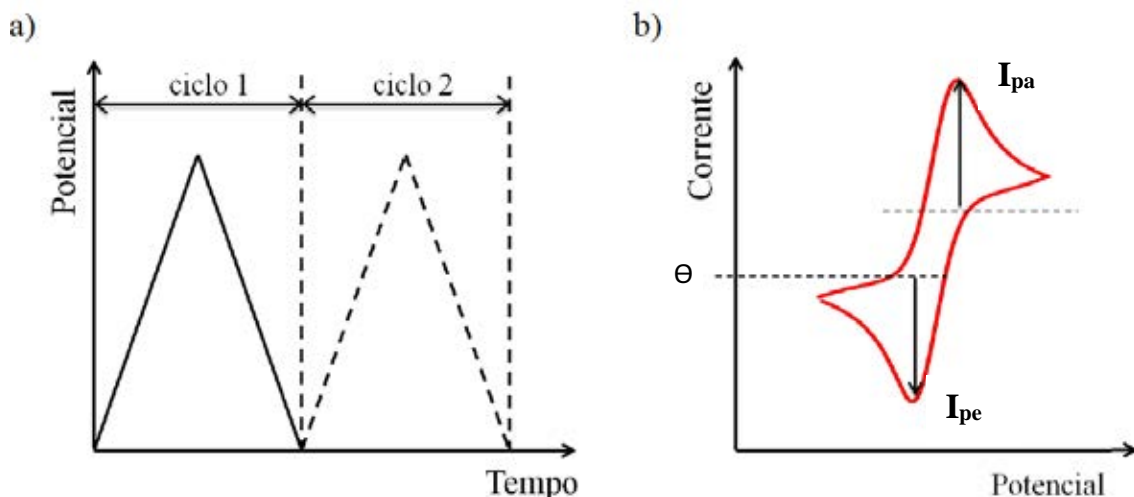


Figura 14 (a) Forma de aplicação do potencial na voltametria cíclica (b) Resposta de corrente para cada potencial aplicado. (Santos 2012)

As voltametrias de pulso diferencial, como a de onda quadrada, tem como característica comum a corrente de resposta variando tanto com a largura do pulso, quanto

com o degrau de potencial que é aplicado no eletrodo de trabalho para a promoção do processo faradaico.

A DPV tem como objetivo diminuir a influência da corrente capacitiva, pois quando se aplica um potencial em forma de onda quadrada simétrica de amplitude  $\Delta E_p$  sobreposta a uma rampa de potencial na forma de escada caracterizada pela amplitude  $\Delta E_s$ , largura ( $a$ ) e período  $\tau$  no eletrodo de trabalho, a leitura da corrente capacitiva é minimizada pois esta é medida ao final da aplicação do pulso, o processo de aplicação pode ser observado na figura 15 (a) e a resposta de corrente para cada potencial aplicado pode ser observado em (b).

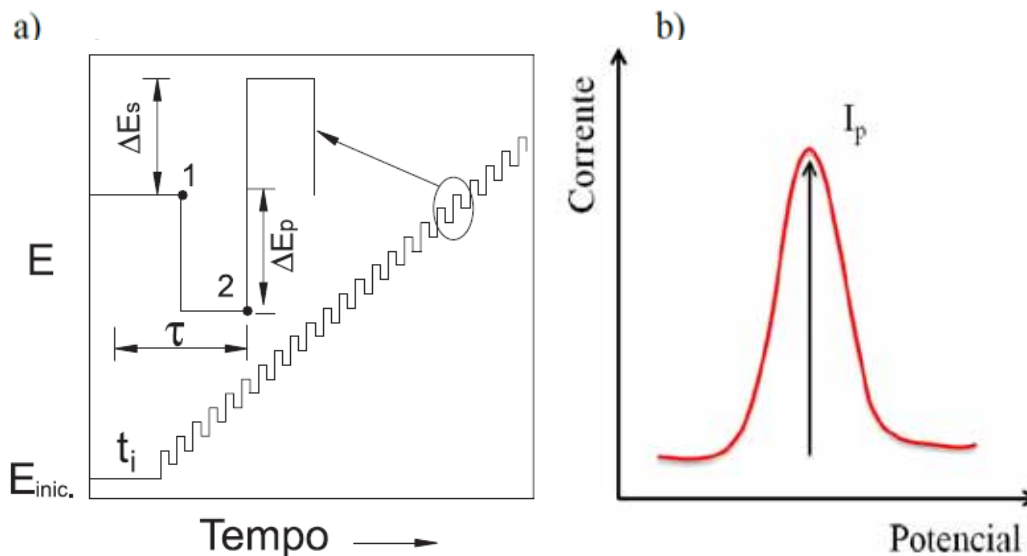


Figura 15 (a) Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada (b) Resposta de corrente para cada potencial aplicado. (Santos 2012) (De Souza 2003)

## 4. Perspectivas

Dentro da análise quantitativa é determinante que as sondas sigam padrões para garantia das análises efetuadas em grau analítico e estatístico. Para obter informações analíticas sobre a sensibilidade do método é necessário avaliar as figuras de mérito como a sensibilidade analítica, coeficiente de correlação, robustez limite de detecção e quantificação, que são encontrados a partir da curva analítica do procedimento.

A sensibilidade analítica determinada é obtida pelo coeficiente angular “*slope*” da curva analítica e mede quanto o método consegue distinguir concentrações próximas. Esse dado deve ser analisado junto ao coeficiente de correlação que mede a linearidade da curva, que significa dizer que existe uma relação linear ideal ( $r^2 = 1$ ) entre corrente e concentração. O limite de detecção (LOD) refere-se à quantidade do analito que pode ser detectada pelo método, mesmo que não se possa quantificá-la. O limite de quantificação (LOQ) refere-se à menor quantidade do analito que realmente pode ser quantificado pelo método analítico. A equação que expressa o LOD e LOQ pode ser observada na Equação 2:

$$LOX = \frac{cS}{s}$$

Equação 2

onde;

LOX= Limite de detecção ou quantificação

s= Desvio padrão do branco

S= Coeficiente angular

c= 3 para LOD e 10 para LOQ

Deste modo, a Tabela 1, que contém o limite de detecção de alguns sensores para oxidação de glicose pode ser utilizada como parâmetro de comparação entre o sistema a ser sintetizado e outros trabalhos encontrados na literatura, tanto de biossensores como de sensores não enzimáticos.

*Tabela 1* Comparação do limite de detecção dos sistemas eletroquímicos não enzimáticos e biossensores.

	<b>Sensores</b>	<b>LOD (µM)</b>	<b>Referências</b>	
<b>Sensores</b>	Cu <sub>2</sub> O/Carbon Vulcan XC-72	2,40	(El Khatib e Abdel Hameed 2011)	
	Cu/MnO <sub>2</sub> -modified glassy carbon	0,10	(Meng, Sheng e Zheng 2012)	
	Gold Micropillar Array	60,00	(Prehn, et al. 2012)	
	Pt/Ni nanowires	1,50	(Mahshid, et al. 2011)	
	Nickel/Copper modified TiO <sub>2</sub>	5,00	(Li, et al. 2013)	
<b>Não</b>	Composite of Cu / Nanotube	2,00	(Zhao, et al. 2013)	
	Ordered Mesoporous Carbon	20,00	(Ndamanisha e Guo 2009)	
<b>Enzimáticos</b>	Cu <sub>x</sub> O	49,00	(Li, et al. 2010)	
	<b>CuO/CuO<sub>x</sub></b>	<b>0,05</b>	<b>(Satheesh Babu e Ramachandran 2010)</b>	
	CuO/Cu	1,00	(Satheesh Babu, et al. 2010)	
	Nickel Oxide/ Nanotube	0,06	(Yi, et al. 2014)	
	Platinum on poly (glutamic acid)	11,00	(Zhou, et al. 2013)	
	Platinum Nanoflowers/Graphene	2,00	(Wu, et al. 2013)	
	Nickel (II) oxide/Graphene	5,00	(Zhu, et al. 2013)	
	Manganese Oxyhydroxide/ Graphene	0,20	(Wushuang, et al. 2014)	
	Graphene functionalized	10,00	(Mallesha, et al. 2012)	
	<b>Sensores</b>	PMMA microreactor	1,40	(Ferreira, et al. 2013)
<b>Platinum/Nanotube/Lectin</b>		<b>0,40</b>	<b>(W. Li, et al. 2011)</b>	
GOx/Graphene		1,70	(Qianfang, Dan e Zaijun 2012)	
GOx/Hydroxyapatite TiO <sub>2</sub>		2,00	(Li, et al. 2012)	
NiONPS- GOx		110	(Erdem, Zeybek e Aydogdu 2014)	
<b>Enzimáticos</b>		Rh-GOx	30,0	(Guo, et al. 2014)
		Pt/Iron Oxide/Nanotube/GOx	2,00	(J. Li, et al. 2010)
	Pt doped TiO <sub>2</sub> /Nanotube/GOx	1,00	(Han, Zhu, et al. 2010)	

Para obter informações estatísticas sobre a validade do método é necessário avaliar suas performances dentro do campo de validações de hipóteses como, por exemplo, a validação estatística pelo teste de Student ou teste t-Student, que pode ser utilizado para refutar ou confirmar hipóteses imperativas sobre o funcionamento ou comparação de dispositivos e suas características em uma mesma variável. O teste de Student é definido, de forma geral, pela equação 3.

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s/\sqrt{n}}$$

Equação 3

Onde;

$\bar{X}$  = Média da amostra

$\mu$  = Medida da população =  $en$  = Tamanho da amostra

$s/\sqrt{n}$  = Desvio padrão

Deste modo, a partir dos conceitos de síntese, caracterização, comparação possíveis aplicações apresentados neste trabalho entende-se que seja possível desenvolver sondas eletroquímicas não enzimática para detecção de glicose a partir da sua oxidação.

## 5. Referências Bibliográficas

- Ammam, Malika, e Brandley E Easton. "High-performance glucose sensor based on glucose oxidase encapsulated in new synthesized platinum nanoparticles supported on carbon Vulcan/Nafion composite deposited on glassy carbon." *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011: 340-346.
- Berkkan, Aysel, Ali Ihsan Seçkin, e et all. "Amperometric enzyme electrode for glucose determination based on poly(pyrrole-2-aminobenzoic acid)." *J Solid State Electrochem*, 2010: 975-980.
- Burke, L D. "Premonolayer oxidation and its role in electrocatalysis." *Electrochimica Acta*, 1994: 1841-1848.
- Chang, Han-Wei, Yu-Chen Tsai, Chung-Wei Cheng, e et all. "Preparation of platinum/carbon nanotube in aqueous solution by femtosecond laser for non-enzymatic glucose determination." *Sensors and actuators B: Chemical*, 2013: 34-39.
- Chen, Xiaomei, Genghuang Wu, Zhixiong Cai, e et all. "Advances in enzyme-free electrochemical sensors for hydrogen peroxide, glucose, and uric acid ." *Microchim*, 2014: 689-705.

- Chen, Xiaomei, Xiaotian Tian, Limin Zhao, e et all. "Nonenzymatic sensing of glucose at neutral pH values using a glassy carbon electrode modified with graphene nanosheets and Pt-Pd bimetallic nanocubes." *Microchim Acta*, 2014: 783-789.
- Chen, Xiao-mei, Zhi-jie Lin, De-jun Chen, e et all. "Nonenzymatic amperometric sensing of glucose by using palladium nanoparticles supported on functional carbon nanotubes." *Biosensors and bioelectronics*, 2010: 1803-1808.
- Clark, L C, e C Lyons. "Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery." *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 1962: 29-45.
- Daniele, Salvatore, Dario Battistel, Simone Bergamin, e et all. "Voltammetric determination of glucose at bismuth-modified mesoporous platinum microelectrodes." *Electroanalysis*, 2010: 1511-1518.
- De Souza, D. "Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos." *Química Nova*, 2003: 81-89.
- Dedavid, Berenice Anina. *Microscopia eletrônica de varredura : aplicações e preparação de amostras : materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.
- El Khatib , K M, e R M Abdel Hameed. "Development of Cu<sub>2</sub>O/Carbon Vulcan XC-72 as non-enzymatic sensor of glucose determination." *Biosensors and bioelectronics*, 2011: 3542-3548.
- Erdem, Ceren, Derya Koyuncu Zeybek, e Gozde Aydogdu. "Electrochemical glucose biosensor based on nickel oxide nanoparticles-modified carbon paste electrode." *Artificial cells nanomedicine and biotechnology*, 2014: 237-244.
- Ferreira, Luís Marcos Cerdeira, Eric Tavares Da Costa, Claudimir Lucio Do Lago, e et all. "Miniaturized flow system based on enzyme modified PMMA microreactor for amperometric determination of glucose." *Biosensors and Bioelectronics*, 2013: 539-544.
- Fievet, F, J P Lagier, e M Figlarz. "Preparing monodisperse metal powders in micrometer and submicrometer sizes by the polyol process." *Materials Research Bulletin*, 1989: 29-34.
- Geim, A K, e K S Novoselov. "Graphene ." *Nature Material* 6, 2007: 183.
- Guo, Xishan, Bo Liang, Jinming Jian, e et all. "Glucose biosensor based on platinum electrode modified with rhodium nanoparticles and with glucose oxidase immobilized on gold nanoparticles." *Microchim Acta*, 2014: 519-525.
- Gutés, Albert, Carlo Carraro, e Roya Maboudian. "Nonenzymatic glucose sensing based on deposited palladium nanoparticles on epoxy-silver electrodes." *Electrochimica Acta*, 2011: 5855-5859.

- Han, Xiao, Yihua Zhu, Xiaoling Yang, et al. "Dendrimer-encapsulated Pt nanoparticles on mesoporous silica for glucose detection." *J solid state electrochem*, 2011: 511-517.
- Han, Xiao, Yihua Zhu, Xiaoling Yang, e Chunzhong Li. "Electrocatalytic activity of Pt doped TiO<sub>2</sub> nanotubes catalysts for glucose determination." *Journal of alloys and compounds*, 2010: 247-251.
- Hu, Yaojuan, Fengyun He, Ailing Ben, e et al. "Synthesis of hollow Pt-Ni-graphene nanostructures for nonenzymatic glucose detection." *Journal of electroanalytical chemistry*, 2014: 55-61.
- Kucherenko, Ivan S, Daria Yu Didukh, Oleksandr O Soldatkin, e Alexei P Soldatkin. "Amperometric Biosensor system for simultaneous determination of Adenosine-5'-triphosphate and glucose." *Analytical Chemistry*, 2014: 5455-5462.
- Lankelma, Jan, Zhihong Nie, Emanuel Carrilho, e George M Whiteside. "Paper-based analytical device for electrochemical flow-injection analysis of glucose in urine." *Analytical Chemistry*, 2012: 4147-4152.
- Lee, Chang-Soo, Dohyoung Kwon, Jeng Eun Yoo, e et al. "A highly sensitive enzyme-amplified immunosensor based on a nanoporous niobium oxide (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) electrode." *Sensors*, 2010: 5160-5170.
- Li, Cuiling, Yi Su, Senwang Zhang, e et al. "An improved sensitivity nonenzymatic glucose biosensor based on a Cu<sub>2</sub>O modified electrode." *Biosensors and bioelectronics*, 2010: 903-907.
- Li, Jingjing, Ruo Yuan, Yaqin Chai, e Xin Che. "Fabrication of a novel glucose biosensor based on Pt nanoparticles-decorated iron oxide-multiwall carbon nanotubes magnetic composite." *Journal of molecular catalysis B: Enzymatic*, 2010: 8-14.
- Li, Junhua, Daizhi Kuang, Yonglan Feng, e et al. "Glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized on a nanofilm composed of mesoporous hydroxyapatite, titanium dioxide, and modified with multi-walled carbon nanotubes." *Microchim Acta*, 2012: 73-80.
- Li, Wenjuan, Ruo Yuan, Yaqin Chai, e et al. "Study of the biosensor based on platinum nanoparticles supported on carbon nanotubes and sugar-lectin biospecific interactions for the determination." *Electrochimica Acta*, 2011: 4203-4208.
- Li, Xiaoling, Jianyu Yao, Feila Liu, e et al. "Nickel/Copper nanoparticles modified TiO<sub>2</sub> nanotubes for non-enzymatic glucose biosensors." *Sensors and actuators B: Chemical*, 2013: 501-508.
- Liu, Wenjuan, Hongjuan Wu, Bo Li, e et al. "Immobilization of platinum nanoparticles and glucose oxidase on eggshell membrane for glucose detection." *Analytical methods*, 2013: 5154-5160.

- Lu, Li-Min, Hong-Bo Li, Fengli Qu, e et all. "In situ synthesis of palladium nanoparticle-graphene nanohybrids and their application in nonenzymatic glucose biosensors." *Biosensors and Bioelectronics*, 2011: 3500-3504.
- Mahshid, Sahar Sadar, Sara Mahshid, Abolghasem Dolati, e et all. "Template-based electrodeposition of Pt/Ni nanowires and its catalytic activity towards glucose oxidation." *Electrochimica Acta*, 2011: 551-555.
- Mallesha, Malledevaru, Revanasiddappa Manjunatha, Gurukar Shivappa Suresh, e et all. "Direct electrochemical non-enzymatic assay of glucose using functionalized graphene." *J solid state electrochem*, 2012: 2675-2681.
- Meng, Zuchao, Qinglin Sheng, e Jianbin Zheng. "A sensitive non-enzymatic glucose sensor in alkaline media based on Cu/MnO<sub>2</sub>-modified glassy carbon electrode." *J Iran Chem Soc*, 2012: 1007-1014.
- Ndamanisha, Jean Chrysostome, e Liping Guo. "Nonenzymatic glucose detection at ordered mesoporous carbon modified electrode." *Bioelectrochemistry*, 2009: 60-63.
- Ohlweiler, Otto Alcides. *Fundamentos de análise instrumental*. Rio de Janeiro: Livros técnicos e Científicos, 1981.
- Pereira, Arnaldo C, Alexandre Kisner, Cesar Tarley, e et all. "Development of a carbon paste electrode for lactate detection based on meldola's blue adsorbed on silica gel modified with niobium oxide and lactate oxidase." *Electroanalysis*, 2011: 1470-1477.
- Pletcher, Derek. "Electrocatalysis: present and future." *Jornal of applied electrochemistry*, 1984: 403-415.
- Ponto Ciência*. 03 de 09 de 2012.  
[http://pontociencia.org.br/galeria/#/content/Fisica/Optica/Espectro%20Eletromagnetic o.jpg](http://pontociencia.org.br/galeria/#/content/Fisica/Optica/Espectro%20Eletromagnetic%20o.jpg) (acesso em 24 de 03 de 2015).
- Prehn, Ricard, Montserrat Cortina-Puig, e Francesc Xavier Munoz. "A non-enzymatic glucose sensor based on the use of gold micropillar array electrodes." *Journal of electrochemical society*, 2012: F134-F139.
- Qi, Bin, Haijing Yang, Kaiyue Zhao, e et all. "Three-dimensional macroporous Cu electrode: Preparation and electrocatalytic activity for nonenzymatic glucose detection." *Journal of electroanalytical chemistry*, 2013: 24-29.
- Qianfang, Xia, Luo Dan, e Li Zaijun. "Electrochemical fabrication and application of the glucose biosensor based on graphene." *Acta Chimica Sinica*, 2012: 2079-2084.
- Rahman, Md.Mahbubur, A.J.Saleh Ahammad, e Joon-Hyung Jin. "A comprehensive review of glucose biosensors based on nanostructured metal-oxides." *Sensors*, 2010: 4855-4886.

- Santos, Jaciara Cássia de Carvalho. *Imobilização da enzima glicose oxidase em filmes nanoestruturados para aplicação em biossensores*. São Carlos, 2012.
- Satheesh Babu, T G, e T Ramachandran. “Development of highly sensitive non-enzymatic sensor for the selective determination of glucose and fabrication of a working model.” *Electrochimica Acta*, 2010: 1612-1618.
- Satheesh Babu, T G, T Ramachandran, e Bipin Nair. “Single step modification of copper electrode for the highly sensitive and selective non-enzymatic determination of glucose.” *Microchim Acta*, 2010: 49-55.
- Shaidarova, L G, I A Chelnokova, G F Makhmutova, e et all. “Voltammetric and flow-injection determination of carbohydrates using composite electrodes based on carbon nanotubes and nickel(II) hexacyanoferrate.” *Journal of analytical chemistry*, 2014: 656-665.
- Singh , Baljit, e Eithne Dempsey. “Pt based nanocomposites for direct glucose determination sensitive nonenzymatic amperometric glucose detection by carbon supported PtAu based bimetallic nanomaterials.” *ECS meeting*, 2011: 75-91.
- Singh, Baljit, e Eithne Dempsey. “Effect of heat treatment on carbon supported PtAu based bimetallic nanomaterials for improved glucose sensitivity and electrocatalytic performace.” *Journal of solid state science and tecnologia*, 2012: M25-M32.
- Smith, W.F. *Principio de ciência e engenharia dos materiais*. Portugal: Portugal:McGraw-Hill, 1998.
- Tian, Kun, Megan Prestgard, e Ashutosh Tiwari. “A review og recent advances in nonenzymatic glucose sensors.” *Materials science and engineering C*, 2014: 100-118.
- Toghill, Kathryn E, Lei Xiao, Michael A Phillips, e Richard G Compton. “The non-enzymatic determination of glucose using an electrolytically fabricated nickel microparticle modified boron-doped diamond electrode or nickel foil electrode.” *Sensors and actuators B: Chemical*, 2010: 642-652.
- Wang, Hui-Chen, Hao Zhou, Baoqin Chen, e et all. “A bis-boronic acid modified electrode for the sensitive and selective determination of glucose concentrations.” *Analyst* , 2013: 7146-7151.
- Wu, Geng-huang, Xin-hong Song, Yan-fan Wu, e et all. “Non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on platinum nanoflowers supported on graphene oxide.” *Talanta*, 2013: 379-385.
- Yi, Wei, Duanguang Yang, Hongbiao Chen, e et all. “A highly sensitive nonenzymatic glucose sensor based on nickel oxide-carbon nanotube hybrid nanobelts.” *J Solid state electrochem*, 2014: 899-908.

- Zhang , Yafen, Gaiping Guo, Faqiong Zhao, e et all. “A novel glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized on AuPt nanoparticle- carbon nanotube- ionic liquid hybrid coated electrode.” *Eletroanalysis*, 2010: 223-228.
- Zhang, Ping, Li Zhang , Guangchao Zhao, e Fang Feng. “A highly sensitive nonenzymatic glucose sensor based on CuO nanowires.” *Microchim Acta*, 2012: 411-417.
- Zhao, Jiang, Liangming Wei, Chonghao Peng, e et all. “A non-enzymatic glucose sensor based on the composite of cubic Cu nanoparticles and arc-synthesized multi-walled carbon nanotubes.” *Biosensors and bioelectronics*, 2013: 86-91.
- Zhou, Xuechou, Xinyu Zheng, Rixin Lv, e et all. “Electrodeposition of platinum on poly(glutamic acid) modified glassy carbon electrode for non-enzymatic amperometric glucose detection.” *Electrochimica Acta*, 2013: 164-169.
- Zhu, Xiaohua, Qifang Jiao, Chuyi Zhang, e et all. “Amperometric nonenzymatic determination of glucose based on a glassy carbon electrode modified with nickel (II) oxides and graphene.” *Microchim Acta*, 2013: 477-483.