



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
INSTITUTO DE QUÍMICA



LABORATÓRIO DE FILMES POLIMÉRICOS E NANOTECNOLOGIA

RAFAEL DA SILVA

**PREPARAÇÃO DE PASTA DE CARBONO COM POLI(4-AMINOFENOL) E
DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO DE TRABALHO COM APLICAÇÃO
EM BIOSSENSORES**

Uberlândia

2018

RAFAEL DA SILVA

**PREPARAÇÃO DE PASTA DE CARBONO COM POLI(4-AMINOFENOL) E
DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO DE TRABALHO COM APLICAÇÃO
EM BIOSENSORES**

Dissertação apresentada ao programa
de Pós-Graduação em Química da
Universidade Federal de Uberlândia
como exigência para obtenção do
Título de Mestre em Química.

Áreas de Concentrações: Ciência dos
Materiais; Química do Estado Sólido;
Eletroquímica Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. João Marcos
Madurro

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Graci
Brito Madurro

Uberlândia

2018

RAFAEL DA SILVA

**PREPARAÇÃO DE PASTA DE CARBONO COM POLI(4-AMINOFENOL) E
DESENVOLVIMENTO DE ELETRODO DE TRABALHO COM APLICAÇÃO
EM BIOCENSORES**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade
Federal de Uberlândia como exigência para
obtenção do Título de Mestre em Química.

Uberlândia, 26 de fevereiro de 2018

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. João Marcos Madurro
Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – MG

Banca: Prof^ª. Dr^ª. Sheila Cristina Canobre
Universidade Federal de Uberlândia
Uberlândia – MG

Banca: Prof^ª. Dr^ª. Valéria Almeida Alves
Universidade Federal do Triângulo Mineiro – UFTM
Uberaba – MG

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

- S586p
2018
- Silva, Rafael da, 1993-
Preparação de pasta de carbono com poli(4-aminofenol) e desenvolvimento de eletrodo de trabalho com aplicação em biossensores / Rafael da Silva. - 2018.
106 f.
- Orientador: João Marcos Madurro.
Coorientador: Ana Graci Brito Madurro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.222>
Inclui bibliografia.
1. Química - Teses. 2. Carbono - Teses. 3. Biossensores - Teses. 4. Eletrodos - Teses. I. Madurro, João Marcos. II. Madurro, Ana Graci Brito. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 280/PPQUI.

DATA: 26/02/2018

DISCENTE: Rafael da Silva

MATRÍCULA: 11612QMI013

TÍTULO DO TRABALHO: Preparação de pasta de carbono com poli(4-aminofenol) e desenvolvimento de eletrodo de trabalho com aplicação em biossensores.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Ciência de Materiais: Química do Estado Sólido

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de eletrodos modificados voltados para catálise

Às quatorze horas do dia vinte e seis de fevereiro do ano dois mil e dezoito, no(a) Auditório A do Bloco 50 no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Profª Dra. Sheila Cristina Canobre, Universidade Federal de Uberlândia, Profª Dra. Valeria Almeida Alves, Universidade Federal do Triângulo Mineiro e Prof. Dr. João Marcos Madurro, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e 2 provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

O mesmo.

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 18 horas e 20 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Profª Dra. Sheila Cristina Canobre


Profª Dra. Valeria Almeida Alves


Prof. Dr. João Marcos Madurro

AGRADECIMENTOS

Quando se faz um agradecimento, sempre colocamos em uma ordem de prioridade aqueles que achamos mais importantes na conquista de algo. Nesta etapa da minha vida, queria agradecer todas as pessoas que me rodearam, de maneira igual e de um jeito mais especial.

Todo dia que acordo e vejo quem ajudei no dia anterior, vejo que posso ajudar mais alguém no dia de hoje ou no amanhã.

A minha maior felicidade é quando vejo o sorriso na cara das pessoas que me circundam e nem ligo se estou perdendo ou se não estou ganhando, basta que essas pessoas me reconheçam e lembrem de mim, pois uma coisa é certa, lembro de cada pessoa que cruzei, olhei, ajudei ou compartilhei um momento simples ou mais do que especial.

Só queria deixar bem claro para os meus mentores, que o “tripé” vai existir por muito tempo e será a coisa mais forte e inexplicável que vi até a hoje. Muito obrigado por herdar de vocês essas qualidades e esse amor tão grande. Semearei em cada lugar que for essa semente que vocês me deram. Esta dissertação representa só mais um “tijolinho” de algo maior que está por vir.

Ao Professor João, um abraço bem forte, representando o meu agradecimento a tudo que ele pode fazer por mim nesta etapa. À Universidade Federal de Uberlândia, ao Instituto de Química e aos órgãos de fomento: CAPES, CNPQ e Fapemig, pelo apoio financeiro e pela disponibilidade de bolsas.

“Rafa, você tem dois ouvidos e uma boca”

Pai

RESUMO

Este trabalho relata o preparo de uma pasta de carbono baseada em grafite em flocos, negro de fumo, resina Vinisol® e poli(4-aminofenol) para utilização como superfície de eletrodo de trabalho, com aplicação na área de biossensores. O objetivo central do trabalho foi a aplicação desta pasta de carbono no desenvolvimento do eletrodo de trabalho com materiais de baixo custo, entre eles um fio de cobre, uma ponteira universal de polipropileno, capa de acrílico de CD-ROM e a pasta de carbono. O poli(4-aminofenol) foi preparado por oxidação por via química do monômero com persulfato de amônio em uma proporção 1:10 monômero:oxidante e caracterizado por espectroscopia no infravermelho, análise reológica de viscosidade, difratometria de raio-X, microscopia eletrônica de varredura e voltametria cíclica. A pasta de carbono é composta de materiais carbonáceos, uma resina e o poli(4-aminofenol), foi preparada a temperatura ambiente sob agitação mecânica e ultrassom e caracterizada pelas mesmas técnicas utilizadas para caracterização do poli(4-aminofenol). A pasta de carbono desenvolvida foi utilizada como superfície eletródica de um eletrodo de trabalho desenvolvido artesanalmente, no qual utilizou-se materiais de baixo custo, entre eles uma ponteira universal de polipropileno de 200 μ L, um fio de cobre de 1,5 mm e capa de acrílico provida de CD-ROM. Foi efetuada a imobilização de oligonucleotídeos (sonda de poli[GA] sobre a superfície do eletrodo e, em sequência, a interação com o alvo complementar poli[CT]), sendo confirmada a ocorrência de hibridização entre os oligonucleotídeos por voltametria de pulso diferencial, indicando que este eletrodo de trabalho apresenta potencial para sua aplicação como superfície eletródica para desenvolvimento de biossensores eletroquímicos.

Palavras chave: Poli(4-aminofenol). Pasta de carbono. Eletrodo de trabalho. Biossensores.

ABSTRACT

This work reports the preparation of a carbon paste based on carbon flake, carbon black, Vinisol® resin and poly (4-aminophenol) for use as a working electrode surface, with application in the biosensor area. The main objective of this study was the application of this carbon paste in the development of the working electrode with low cost materials, including a copper wire, a universal polypropylene tip, acrylic CD-ROM cover and carbon paste. The poly (4-aminophenol) was prepared by chemical oxidation of the monomer with ammonium persulfate in a ratio of 1:10 monomer: oxidant and characterized by infrared spectroscopy, rheological viscosity analysis, X-ray diffractometry, scanning electron microscopy and cyclic voltammetry. The carbon paste is composed of carbonaceous materials, a resin and poly (4-aminophenol), was prepared at room temperature under mechanical stirring and ultrasound and characterized by the same techniques used for the characterization of poly (4-aminophenol). The developed carbon paste was used as the electrode surface of a handcrafted working electrode in which low cost materials were used, among them a universal 200 μ L polypropylene tip, a 1.5 mm diameter copper wire and Acrylic cover from CD-ROM. Immobilization of oligonucleotides (poly [GA] probe on the surface of the electrode and, in sequence, interaction with the complementary poly [CT] target) was carried out, confirming the occurrence of hybridization between oligonucleotides by differential pulse voltammetry, indicating that this work electrode presents potential for its application as an electrode surface for the development of electrochemical biosensors.

Keywords: Poly(4-aminophenol). Carbon paste. Working electrode. Biosensors.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Representação esquemática da interfase dinâmica eletrodo/solução. Em (A) ocorre a extração, em três principais etapas, de espécies solúveis na resina utilizada localizada no “Bulk” do eletrodo e em (B) a re-extração destas espécies do “Bulk” para o meio eletrolítico.....	18
Figura 2	Representação esquemática da (a) sobreposição dos orbitais sp^2 e p dos planos basais do grafite e da (b) interação eletrônica entre estes.	19
Figura 3	Esquema representativo e comparativo da superfície de contato de floco (a) e microesfera de grafite (b).....	20
Figura 4	Microestrutura esquemática de uma mistura de pasta de carbono (A) “seca” e (B) “molhada” com os respectivos voltamogramas cíclicos para o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ Pasta de carbono a base de pó de carbono C com óleo de silicone OL, mistura “seca”: 0,5 g C + 0,2 mL OL, mistura “molhada”: 0,5 g C + 0,4 mL OL; -1,0 V à 1,0 V vs. $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(s)}/\text{Cl}^{-}_{(\text{aq})}$; 20 mV s^{-1} ; 0,2 mol L^{-1} KCL; 0,005 mol L^{-1} $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$	21
Figura 5	Fluxograma representativo para desenvolvimento e caracterização de um eletrodo a base de pasta de carbono.....	23
Figura 6	Esquema representativo das duas formas de monocamadas formados: (A) Estrutura básica de uma monocamada auto-montada (MAM's), (B) – defeitos encontrados nas monocamadas auto-montadas [“Self-Assembled” - (MAMs)] e (C) – monocamadas de Langmuir-Blodgett	27
Figura 7	Esquema representativo da formação de um filme “layer-by-layer”	28
Figura 8	Esquema representativo da situação onde o sistema está abaixo do limiar de percolação (a) e acima do limiar de percolação (b)....	29
Figura 9	Propagação da onda mecânica ultrassom pelas partículas em suspensão.....	32

Figura 10	Representação esquemática de um recipiente com formação de filete de sólido em seus cantos não abaulados.....	34
Figura 11	Construção básica de suporte de pasta de carbono. (A) Tubo de vidro ou de plástico: 1 – Tubo (seringa, por exemplo), 2 – Pistão, 3 – Fio metálico (contato elétrico), 4 – Preenchimento de pasta de carbono. (B) Construção de Adam: 1 – Fio metálico de platina ou cobre, 2 – Tubo de vidro (Estreito conicamente), 3 – Plug de Teflon [®] , 4 – Preenchimento de pasta de carbono. (C) Eletrodo de pasta de carbono com disco rotativo; 1 – Contato elétrico dentro do tubo, 2 – Contato elétrico fora do tubo, 3 – Corpo de Teflon [®] , R – Anel, D – Eletrodo em forma de disco.....	35
Figura 12	Esquema de construção de três diferentes eletrodos planares de pasta de carbono. (A) Eletrodo de cavidade. Esquerda: 1 – Barra prismática, 2 – Cavidade com pasta de carbono, 3 – Inserto de plástico, 4 – Contato de latão; Direita: eletrodo desmontado e escala métrica de comparação. (B) Eletrodo de pasta de carbono aquecido eletricamente; 1 – Preenchimento de pasta de carbono, 2 – Corpo de PTFE. (C) Eletrodo de filme de pasta de carbono (esquema simplificado); 1 – Camada/filme de pasta de carbono, 2 – Suporte do eletrodo, 3 – Três trilhas de cobre.....	36
Figura 13	Diagrama esquemático das etapas de impressão dos materiais para o desenvolvimento de um eletrodo <i>screen-printed</i>	38
Figura 14	Esquema representativo do modelo de bandas de valência para materiais semi-condutores e isolantes, representando a dopagem do tipo <i>n</i> e <i>p</i>	42
Figura 15	Esquema representativo da transição eletrônica entre os orbitais n <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> \square^{\square} → </div>	43
Figura 16	Representação dos isômeros do aminofenol.....	44
Figura 17	Esquema representativo de um biossensor, onde está ocorrendo o biorreconhecimento do analito de interesse em uma plataforma e a consequente transdução do sinal gerado.....	45

Figura 18	Esquema representativo do processo faradaico que ocorre na superfície do eletrodo, evidenciando a transferência eletrônica e de massa.....	46
Figura 19	Procedimento experimental de síntese do poli(4-aminofenol).....	50
Figura 20	Procedimento experimental da síntese da pasta de carbono.....	51
Figura 21	Desenho técnico da peça de encaixe no béquer de 50 mL com pá giratória concêntrica.....	52
Figura 22	Desenho técnico do suporte de teflon usado para estabilização do béquer de 50 mL no sonicador.....	53
Figura 23	Sistema de ultrassom (Sonicador) e agitação mecânica (pá giratória acoplada a um mandril de um rotor mecânico).....	54
Figura 24	Esquema representativo da etapa de solubilização do acrílico em diclorometano.....	54
Figura 25	Esquema representativo da superfície do fio de cobre antes e depois do polimento em esponja de aço já introduzido dentro da ponteira.....	55
Figura 26	Esquema representativo da preparação do fio de cobre e a sua inserção na ponteira.....	55
Figura 27	Peça de alumínio circular usinada utilizada para o corte da ponta da ponteira.....	56
Figura 28	Esquema representativo da adição da solução de acrílico/diclorometano no interior da ponteira.....	56
Figura 29	Esquema representativo da deposição da pasta de carbono na ponta da ponteira.....	57
Figura 30	Desenho técnico do eletrodo de trabalho.....	58
Figura 31	Imagem do eletrodo de trabalho construído na fase final.....	59
Figura 32	Esquema representativo de algumas formas de polimento.....	59
Figura 33	Superfície do eletrodo de trabalho após o polimento.....	60
Figura 34	Espectrofotômetro FTIR-ATR modelo Spectrum Two da Perkim Elmer.....	60
Figura 35	Difratômetro XRD-6000 da Shimadzu.....	61
Figura 36	(a) Microscópio eletrônico de varredura ZEISS modelo EVO	

	MA10 e (b) metalizador Leica EM SCD050.....	62
Figura 37	Reômetro Brookfield R/S plus com a amostra de pasta de carbono.....	62
Figura 38	Esquema representativo da célula de três compartimentos e o capilar de Luggin sendo indicado pela seta, assim como este direcionado na superfície do eletrodo de trabalho.....	63
Figura 39	Contra-eletrodo de fio de platina.....	64
Figura 40	(a) Construção do eletrodo de referência em etapas resumidas e (b) imagem do eletrodo de referência.....	64
Figura 41	Esquema representativo da avaliação do perfil voltamétrico do eletrodo de trabalho.....	65
Figura 42	Esquema representativo de detecção dos oligonucleotídeos.....	66
Figura 43	Imagens da pasta de carbono recém preparada (A) e após o tratamento térmico (B) e o poli(4-aminofenol) após o tratamento térmico, na forma de pó (C).....	67
Figura 44	Medida de viscosidade para a pasta de carbono.....	68
Figura 45	Resistência elétrica para um espaço amostral de dez eletrodos.....	70
Figura 46	Imagens representativas da estrutura do negro de fumo (a) e do grafite em flocos (b) nos seus cinco tipos: I-) distribuição uniforme, orientação aleatória; II-) Agrupamento de “rosetas”, orientação aleatória; III-) Flocos com tamanhos diferentes sobrepostos, orientação aleatória; IV-) Segregação interdendrítica, orientação aleatória; V-) Segregação interdendrítica, orientação preferencial.....	71
Figura 47	Espectro de infravermelho comparativo entre o negro de fumo e o grafite em flocos.....	71
Figura 48	Formas representativas dos principais segmentos encontrados no poli(4-aminofenol), entre eles as aminas benzenóides, iminas quinóides, iminoquinona, éter aromático, hidroxila e amino.....	72
Figura 49	Espectro de infravermelho do poli(4-aminofenol).....	73
Figura 50	Forma iminoquinona e os sítios possíveis de continuidade da polimerização.....	74

Figura 51	Espectro de infravermelho da resina Vinisol®	75
Figura 52	Sobreposição dos espectros de infravermelho da pasta de carbono, resina Visinol® e poli(4-aminofenol).....	76
Figura 53	Sobreposição dos espectros de infravermelho da pasta de carbono, resina Visinol® e poli(4-aminofenol) entre 2000 cm ⁻¹ e 600 cm ⁻¹	77
Figura 54	Difratograma do monômero 4-aminofenol.....	79
Figura 55	Difratograma do poli(4-aminofenol).....	80
Figura 56	Difratograma comparativo entre a pasta de carbono e os quatro componentes sólidos que a compõem, entre eles: grafite em flocos, negro de fumo, resina Vinisol® e o poli(4-aminofenol).....	81
Figura 57	Microscopias eletrônicas de varredura do poli(4-aminofenol) (A e B), da pasta de carbono seca/curada sem polimento (C e D) e com polimento (E e F) nas magnificações de 1000x e 10000x.....	82
Figura 58	Microscopia eletrônica de varredura para o grafite em flocos (A – 1000X e B – 10000X).....	83
Figura 59	Microscopia eletrônica de varredura do negro de fumo à 10.000X (A) e 70.000X (B).....	84
Figura 60	Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho produzido com a pasta de carbono sem a presença do poli(4-aminofenol), em HClO ₄ (0,5 mol L ⁻¹), 50 mV s ⁻¹	85
Figura 61	Voltamograma cíclico utilizando eletrodo de trabalho produzido com a pasta de carbono com a presença do poli(4-aminofenol), em HClO ₄ (0,5 mol L ⁻¹), 50 mV s ⁻¹	86
Figura 62	Voltamogramas cíclicos sobrepostos obtidos, utilizando a pasta de carbono com e sem a presença do poli(4-aminofenol) como eletrodo de trabalho em um eletrólito suporte de HClO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ . Velocidade de varredura: 50 mV s ⁻¹ ; Ciclo voltamétrico: 15 ^a varredura..	87

Figura 63	Voltamograma de pulso diferencial da pasta de carbono na ausência e na presença do poli(4-aminofenol) como eletrodo de trabalho em tampão fosfato (0,10 mol L ⁻¹ , pH 7,4). (—) Alvo Poli[CT] – Pasta de carbono sem polímero; (—) Sonda Poli[GA] – Pasta de carbono sem polímero; (—) Sonda Poli[GA] – Pasta de carbono com polímero; (—) Alvo Poli[CT] – Pasta de carbono com polímero. Velocidade de varredura: 20 mV s ⁻¹ ; Amplitude de pulso: 25 mV.....	88
Figura 64	Processo de interação entre a simples fita poli[GA] (A) e a dupla fita poli[GA] : poli[CT] (B) com a superfície do eletrodo de trabalho.....	89
Figura 65	Histograma em função da corrente de pico da sonda poli[GA] e o alvo complementar poli[CT] para a pasta de carbono com e sem poli(4-aminofenol) em sua composição, representando a hibridização. n=5.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Processos de agitação, mistura e dispersão.....	33
Tabela 2	Reagentes utilizados, grau de pureza e marca.....	48
Tabela 3	Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho para o poli(4-aminofenol), resina Vinisol [®] e pasta de carbono....	78

LISTA DE ABREVIATURAS

APS – Persulfato de amônio

EGM – Eletrodo gotejante de mercúrio

EGG – Eletrodo gotejante de gálio

EPC – Eletrodo de pasta de carbono

MEK – *methylethylketone* (butanona ou etilmetilcetona)

OL – Óleo de silicone

UV – Ultravioleta

DNA – Ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic acid*)

AdSV – Análise voltamétrica de remoção por adsorção (*Adsorptive Stripping Voltametry*)

MAMs - Monocamadas Auto-Montadas

CTAB - Brometo de cetrimônio (*Cetrimonium bromide*)

PTFE – Politetrafluoretileno (*Polytetrafluoroethylene*)

PET – Tereftalato de polietileno (*Polyethylene terephthalate*)

SPE – Eletrodos impressos serigraficamente (*Screen Printing Electrode*)

FPE – Filmes poliméricos impressos

PTF – Filmes poliméricos impressos (*Polymer Thick Films*)

HOMO – Orbital molecular ocupado de maior energia (*Highest Occupied Molecular Orbital*)

LUMO – Orbital molecular ocupado de menor energia (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*)

CD-ROM – Disco compacto – Memória somente de leitura (*Compact Disc Read-Only Memory*)

Poli(4-AF) – Poli(4-aminofenol)

MIBC – Metilisobutilcetona (2-butanona)

ABG - Acetato de butilglicol

FTIR-ATR – Infravermelho com transformada de Fourier – Reflexão total atenuada (*Fourier transform infrared – Attenuated Total Reflectance*)

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

VC – Voltametria Cíclica

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

Poli[GA] - 5'-GGG GGG GGA AAA AAA A-3'

Poli[CT] - 3'-CCC CCC CCT TTT TTT T-5'

BET - Análise de área superficial – (Brunauer–Emmett–Teller)

cP - Centipoise

Sumário

1. INTRODUÇÃO	21
1.1. Eletrodos de Pasta de Carbono	21
1.2. Modificadores de Pasta de Carbono	30
1.2.1. Modificação Biológica	30
1.2.2. Modificação Física	30
1.2.3. Modificação Química	31
1.3. Técnicas para o preparo da pasta de carbono:	38
1.3.1. Cavitação e agitação mecânica	38
1.4. Construção dos eletrodos a base de pasta de carbono	40
1.5. Filmes poliméricos espessos (FPE)	44
1.6. Polímeros	46
1.7. Poli(4-aminofenol)	48
1.8. Biossensores	50
2. OBJETIVOS	53
2.1. Objetivos específicos	53
3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	54
3.1. Materiais utilizados	54
3.2. Metodologias	55
3.2.1. Síntese química do poli(4-aminofenol)	55
3.2.2. Síntese da pasta de carbono	56
3.2.3. Método de agitação e ultrassom	57
3.2.4. Desenvolvimento e preparo do eletrodo de trabalho	Erro! Indicador não definido.
3.2.5. Caracterização da pasta de carbono	60
3.2.6. Aparatos eletroquímicos e preparo do eletrodo de referência	63
3.2.7. Caracterização eletroquímica da pasta de carbono	64
3.2.8. Imobilização de biomoléculas na plataforma do eletrodo de trabalho	64
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1. Caracterização do poli(4-aminofenol) e da pasta de carbono	66

4.1.1.	Análise de Viscosidade da pasta de carbono	67
4.1.2.	Análise da resistência elétrica da pasta de carbono seca/curada	68
4.1.3.	Caracterização espectroscópica no Infravermelho dos materiais sintetizados	69
4.1.4.	Caracterização estrutural difratométrica de raios -X dos materiais sintetizados.	77
4.1.5.	Caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura dos materiais sintetizados	80
4.1.6.	Voltametria cíclica da pasta de carbono.....	83
4.2.	Imobilização do oligonucleotídeo na superfície da pasta de carbono	86
5.	CONCLUSÕES	90
6.	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	Erro! Indicador não definido.
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

INTRODUÇÃO

1.1. Eletrodos de Pasta de Carbono

Adams, em 1958, desenvolveu o primeiro eletrodo de pasta de carbono (EPC), que era composto de pó de grafite (microesferas) e bromofórmio como aglutinante/dispersante. Esta combinação foi definida como pasta de carbono, sendo composta de carbono (elemento condutor) e um líquido orgânico, cuja mistura possuía uma aparência uniformemente “molhada”, com consistência semelhante a uma pasta^{1,2}.

A utilização de eletrodos baseados em pastas veio com a necessidade de substituir eletrodos gotejantes, como o eletrodo gotejante de mercúrio (EGM)^{3,4} e o eletrodo gotejante de gálio (EGG)^{5, 6}, devido a toxicidade desses metais gotejantes, assim como a estreita faixa de trabalho na região anódica. Já os EPC's, possuem a capacidade de utilizar materiais em sua composição com menor toxicidade, uma ampla faixa de trabalho na região anódica e possuem um tempo rápido de preparo⁷.

Os materiais mais utilizados e interessantes para a fabricação de eletrodos à base de pasta são os materiais carbonáceos, entre eles o floco e a microesfera de grafite, negro de acetileno (derivado da combustão do acetileno em atmosfera inerte), negro de fumo (derivado da combustão incompleta de frações “mais pesadas” do petróleo em uma atmosfera inerte), nanofibras, nanopartículas, nanotubos de carbono, fulereno, diamante, grafeno (forma alotrópica do carbono) e o carbono vítreo, que foi testado na década de 90⁸ e, somente após alguns anos, se estabeleceu no mercado como base para eletrodos de pasta de carbono^{7,9}.

Dentre os eletrodos a base de materiais carbonáceos, os eletrodos de grafite têm se destacado e vêm sendo utilizados até hoje nas medidas eletroanalíticas e eletroquímicas^{7, 9}. Ademais, os principais derivados de grafite utilizados para a fabricação de EPC's são os flocos, microesferas e nanotubos, por possuírem bom controle de interface eletrodo/solução, inércia química, baixa corrente de fundo, baixo preço em relação à maioria dos outros materiais carbonáceos e facilidade de serem modificados quimicamente⁹.

Além da aplicação na construção de eletrodos polarizáveis, a pasta de carbono pode ser utilizada na fabricação de tintas para impressão (“*ink jet printing*”) ou na

preparação de eletrodos impressos sobre materiais não porosos ou materiais hidrofóbicos como plásticos, metais e vidro^{2, 7}.

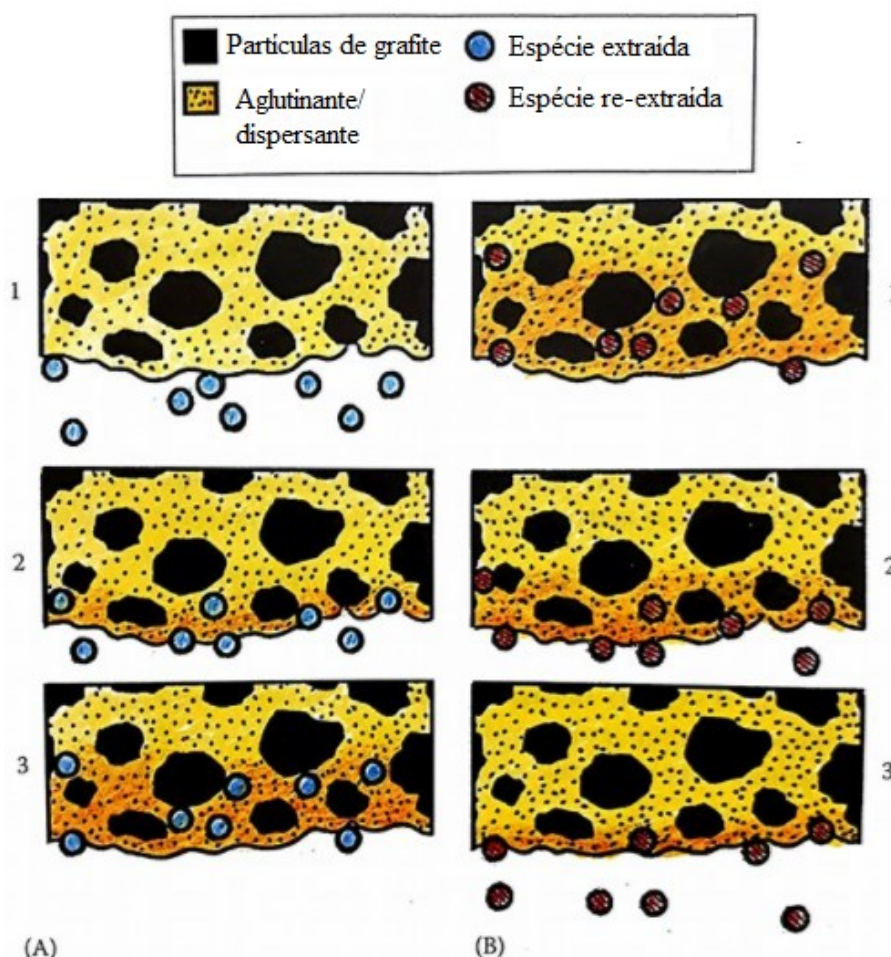
A mistura entre materiais carbonáceos ou outro material condutor em um material orgânico (aglutinante/dispersante) deve apresentar adequada inércia química e eletroquímica e baixa eletroatividade (perfil predominantemente capacitivo), ou seja, as interações com substâncias que tiverem contato com a superfície deste material devem ser estritamente físicas, além de não apresentar resposta eletroquímica em uma ampla faixa de potencial. Esta mistura deve também apresentar baixa volatilidade e baixa solubilidade em solventes polares. Alguns exemplos de aglutinantes/dispersantes são: borracha de silicone, borracha de butadieno, cera de parafina, óleo de parafina, ceresinas, Nujol[®], Uvasol[®], Kel-F[®] e resinas em geral⁷.

Quanto ao solvente a ser utilizado, este deve apresentar uma volatilidade controlada, ou seja, para a pasta de carbono apresentar uma consistência adequada ao determinado trabalho após a mistura ter sido feita, necessita-se de um solvente com volatilidade lenta ou rápida. Há alguns tipos de pasta de carbono que possuem um tempo de cura muito rápido e para isso, utilizam-se solventes orgânicos mais voláteis. O tempo de cura rápido evita a etapa de aquecimento da pasta, que às vezes pode degradar algum de seus componentes. Um exemplo de pasta com tempo de cura rápida são as pastas à base de 2-butanona, ou comumente chamadas de metiletilcetona (“MEK - methylethylketone”), que são pastas à base de uma cetona com alta volatilidade (PE = 79,5°C) e solúvel em água. Existem outras cetonas que também são utilizadas com o mesmo propósito observadas, por exemplo, na patente US5902390A, entre elas: undecan-6-ona, 4-etil ciclohexanona, 2-acetil ciclohexanona, 2-hidroxiciclohepta-2,4,6-triona, 2-acetil tetral-1-ona, entre outras¹⁰. Outras classes de solventes voláteis que podem ser utilizados são os ésteres¹¹ (ex.: acetato de etila¹²), éteres (ex.: 2-butoxietanol¹³) e alcoois¹⁰ (ex.: 2-propanol e etanol¹⁴).

Um outro fator que deve ser levado em consideração é a solubilidade da pasta de carbono em solventes polares, pois esta pode lixiviar em virtude da possível presença de materiais com caráter polar em sua composição, portanto deve-se estar atento aos componentes da pasta de carbono. Alguns exemplos de solventes orgânicos muito polares são: metanol, etanol, acetonitrila, dimetilsulfóxido e dimetilformamida⁷. Mesmo utilizando aglutinantes/dispersantes que sejam extremamente apolares (hidrofóbicos), ainda é possível a ocorrência de lixiviação para solventes polares⁷.

Uma outra característica que deve ser associada à hidrofobicidade do aglutinante/dispersante é a possibilidade da penetração de espécies contidas no seio da solução para a pasta de carbono (*bulk* do EPC). Este tipo de transporte é chamado de extração e re-extração (Figura 1), sendo que a força motriz responsável por essa difusão e re-difusão destas espécies é o gradiente de concentração⁷. Para que ocorra esse tipo de penetração é necessário que a espécie contida no eletrólito suporte tenha alguma solubilidade no aglutinante/dispersante.

Figura 1 – Representação esquemática da interfase dinâmica eletrodo/solução: (A) extração de espécies solúveis na resina utilizada localizada no “Bulk” do eletrodo em três principais etapas; (B) re-extração destas espécies do “Bulk” para o meio eletrolítico.

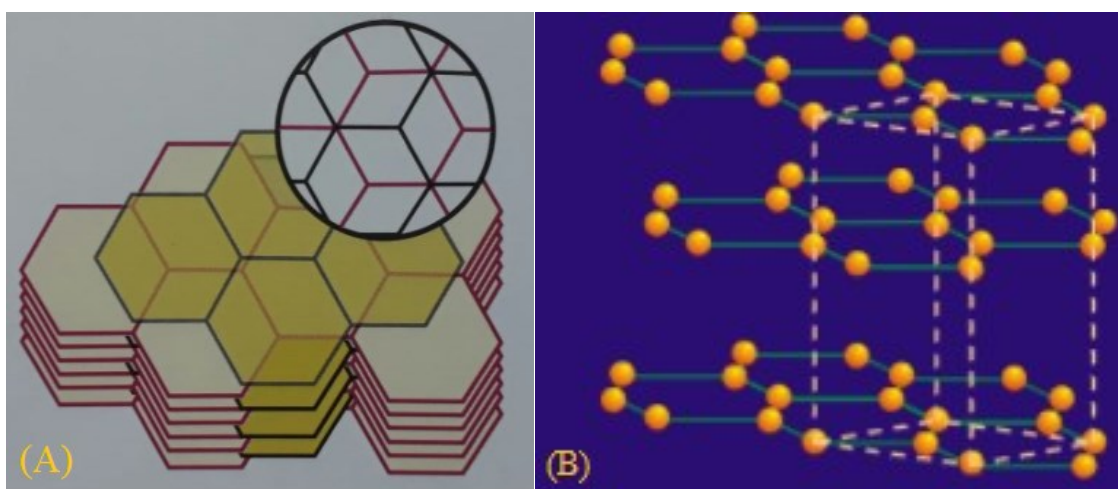


Fonte: adaptado⁷

Já a porção condutora da pasta de carbono, constituída de material carbonáceo grafite, confere condutividade elétrica ao sistema, gerada pela transição eletrônica existente nas nuvens π de elétrons ($1,25 \times 10^3 - 2,00 \times 10^3$) S cm⁻¹ a 20 °C para material

carbonáceo com característica amorfa (qualquer matéria carbonácea que não possua estrutura cristalina, como o negro de fumo, fuligem ou carvão), $(2,00 \times 10^5 - 3,00 \times 10^5)$ S cm⁻¹ para grafite com planos basais paralelos e $3,30 \times 10^2$ S cm⁻¹ para grafite com planos basais perpendiculares¹⁵. Esta nuvem π de elétrons é gerada pela sobreposição dos orbitais híbridos sp^2 e p perpendiculares (Figura 2 A) e mantida pela força de Van der Waals (destacados em pontilhado na Figura 2 B).

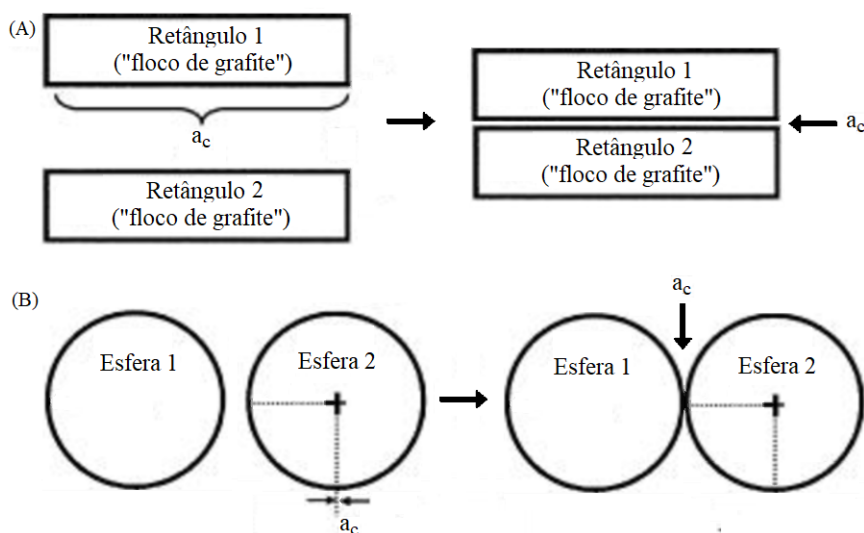
Figura 2 – Representação esquemática da (A) sobreposição dos orbitais sp^2 e p dos planos basais do grafite e da (B) interação eletrônica entre estes.



Fonte: adaptado^{16,17}

A granulometria aceitável para se fazer uma pasta de carbono tem de ser na ordem de micrômetros (entre 170 e 400 mesh), para que o contato entre as partículas seja efetivo em função da sua área superficial^{7,18,19}. Em geral, flocos de grafite possuem uma área superficial maior em relação ao pó de grafite. Partindo da proposição que um floco de grafite seria um retângulo perfeito, por possuir uma geometria mais planar, e uma microesfera de grafite fosse uma circunferência perfeita, tem-se que a área de contato seria muito diferente.

Figura 3 – Esquema representativo e comparativo da superfície de contato do floco de grafite (A) e da microesfera de grafite (B).



Fonte: o autor, 2018

Ao analisar a Figura 3, é possível observar que o retângulo 1 consegue encaixar perfeitamente no retângulo 2, com uma área de contato observável (a_c). Quanto à junção das esferas, têm-se que a esfera 1 só consegue tocar a esfera 2 em um ponto (a_c).

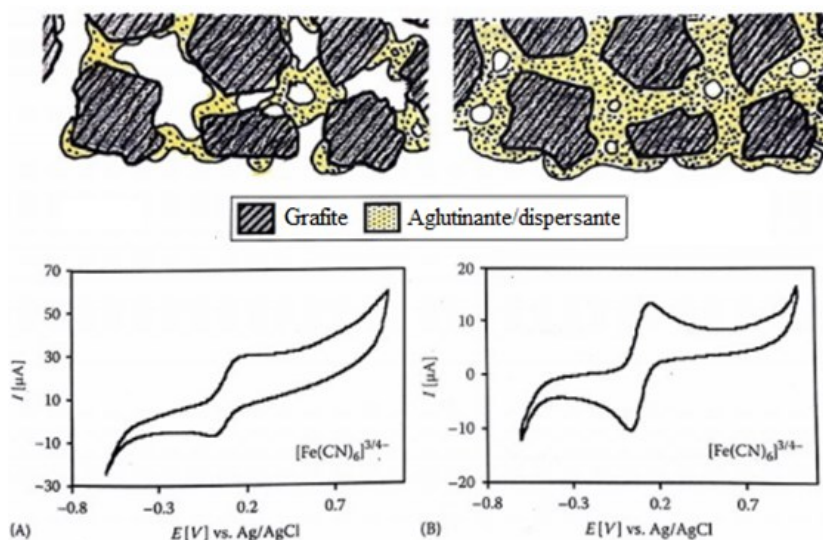
Em analogia com os retângulos da Figura 3, os planos basais do grafite, na forma de floco, estão sobrepostos uns aos outros de maneira mais efetiva que na forma de microesfera. Este tipo de empacotamento sugere uma maior interação entre as suas camadas e, conseqüentemente, um aumento da condutividade eletrônica e homogeneidade na pasta de carbono^{20, 21}.

Em relação à proporção entre o elemento condutor e o aglutinante/dispersante, necessita-se de uma quantidade, em média, entre 50% - 90% do elemento condutor para garantir a condutividade da pasta de carbono^{7, 21}. Quanto ao aglutinante/dispersante a ser utilizado, este deve possuir entre 5% e 25% na composição, garantindo uma maior homogeneidade ao sistema, assim como a não aglomeração do material carbonáceo e possibilidade de formação de filmes desta pasta de carbono^{7, 21; 22}. Quando se utiliza um aglutinante/dispersante líquido, este já atua como a porção líquida da pasta de carbono e, conseqüentemente, utiliza-se pouco solvente. Se o aglutinante/dispersante for sólido,

necessita-se de uma maior porção de líquido na composição da pasta e a quantidade de elemento condutor é diminuída.

A consistência da pasta de carbono formada pode ser “seca” ou “molhada”, na qual há uma variação na quantidade de aglutinante/dispersante. Se a pasta de carbono possuir uma quantidade baixa de aglutinante/dispersante, a pasta de carbono pode ser considerada como “seca”, em que há uma determinada porosidade quando esta fica curada, em virtude dos interstícios presentes entre as partículas de grafite. Se houver uma maior quantidade de aglutinante/dispersante na composição da pasta, esta pode ser considerada como “molhada”, em que tais interstícios são preenchidos pelo líquido orgânico e a porosidade é evitada, fazendo com que a pasta fique mais homogênea e mais líquida (geralmente uma viscosidade menor em relação à pasta de carbono considerada “seca”)⁷. O exemplo mostrado na Figura 4 ilustra a representação esquemática da microestrutura resultante da mistura de grafite e aglutinante/dispersante em proporções diferentes, assim como o comportamento eletroquímico destas duas pastas de carbono em solução eletrolítica contendo par redox de ferrocianeto/ferrocianeto de potássio ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]/\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$).

Figura 4 – Microestrutura esquemática de uma mistura de pasta de carbono (A) “seca” e (B) “molhada” com os respectivos voltamogramas cíclicos para o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Pasta de carbono a base de pó de carbono C com óleo de silicone (OL), mistura “seca”: 0,5 g C + 0,2 mL OL, mistura “molhada”: 0,5 g C + 0,4 mL OL; -1,0 V à 1,0 V vs. $\text{Ag(s)}/\text{AgCl(aq)}/\text{Cl}^-(\text{aq})$; 20 mV s⁻¹; KCl (0,2 mol L⁻¹); $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ (0,005 mol L⁻¹).



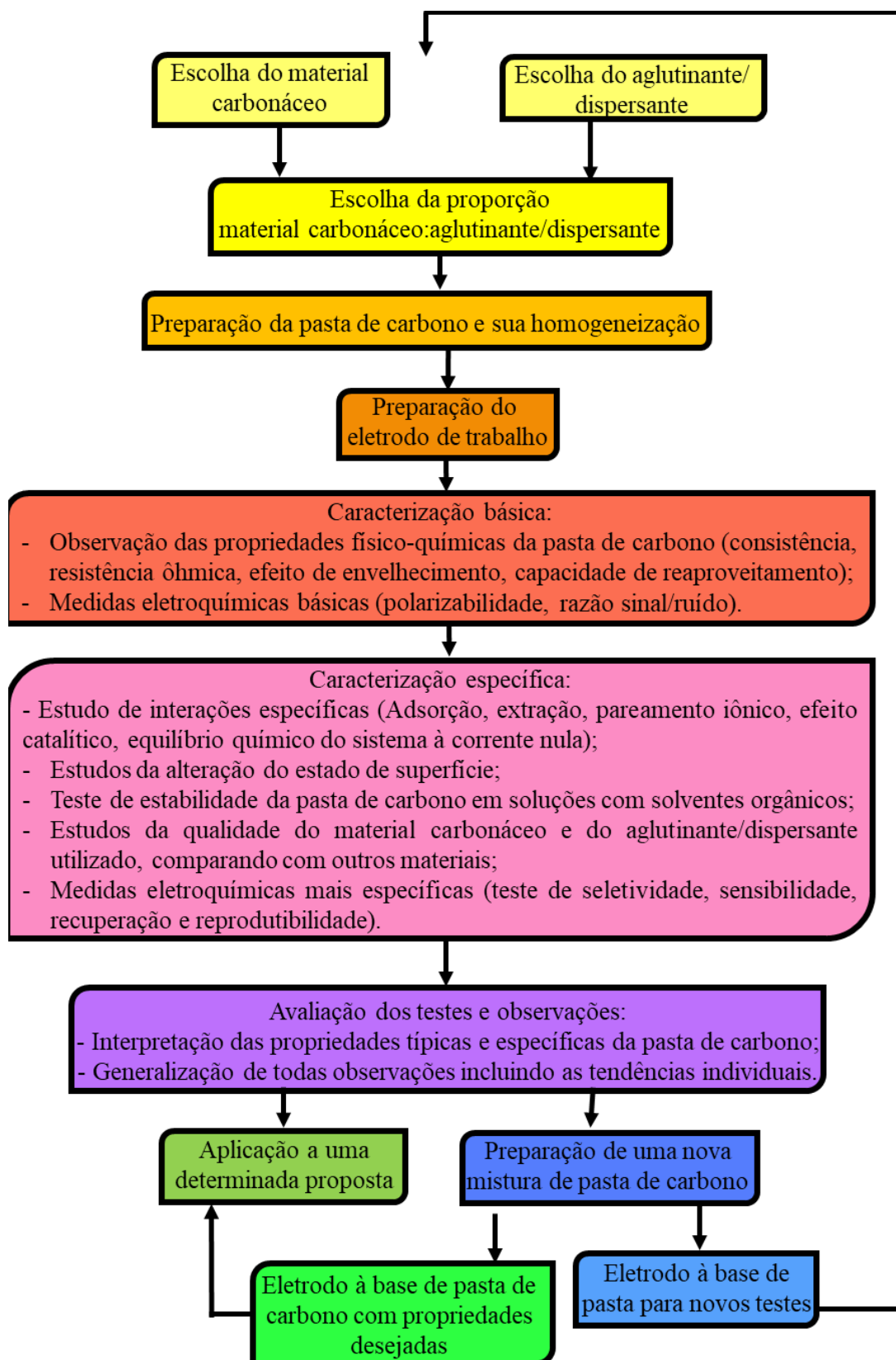
Fonte: adaptado⁷

De acordo com a Figura 4 verifica-se que pastas de carbono com pequenas quantidades de aglutinante/dispersante em sua composição, ao receberem um tratamento de cura, ficam com interstícios entre os materiais particulados, tornando a pasta de carbono porosa. Estes interstícios gerados fazem com que as transições eletrônicas sejam dificultadas e, automaticamente, torna o sistema mais resistivo, como pode ser observado pelo perfil inclinado do voltamograma cíclico (A).

Pastas de carbono com quantidades maiores de aglutinante/dispersante se tornam menos porosas, ou seja, os interstícios entre os materiais particulados são menores, fazendo com que a transição eletrônica seja mais favorecida e o perfil eletroquímico do sistema seja menos resistivo (voltamograma cíclico B). Além disso, pode ser observado entre os voltamogramas da Figura 4 que o perfil é predominantemente faradaico, assim como houve um aumento significativo da corrente no voltamograma cíclico (A), em virtude da corrente de fundo ser maior em sistemas mais resistivos²³.

A Figura 5 ilustra um fluxograma representativo enumerando todas as etapas necessárias para a construção de um EPC.

Figura 5 – Fluxograma representativo para desenvolvimento e caracterização de um eletrodo a base de pasta de carbono.



Fonte: Adaptado⁷

Como pode ser observado na Figura 5, as características físico-químicas e eletroquímicas são essenciais para o desenvolvimento de um eletrodo, assim como

conferir estas características ao eletrodo não é uma tarefa fácil. Acaba sendo um desafio pelo fato de que quanto mais aglutinante/dispersante for adicionado, mais homogênea ficará a pasta do EPC, porém, nem todo aglutinante/dispersante é condutor e, consequentemente, isto atrapalhará as propriedades elétricas da pasta/tinta do EPC.

Os EPC também possuem a capacidade de serem modificados, por modificação do “bulk” ou somente da superfície do eletrodo, sendo que estes interstícios podem ser aproveitados para a inserção de modificadores.

1.2. Modificadores de Pasta de Carbono

As modificações dos eletrodos de pasta de carbono podem ser feitas de três principais maneiras, descritas a seguir.

1.2.1. Modificação Biológica

Este tipo de modificação é realizada sobre a superfície da pasta de carbono ou no “bulk” desta. Este material biológico pode ser: tecidos ou substrato de plantas em geral (líquens²⁴, musgos²⁵, tabaco²⁶, mudas de ervilhas²⁷ ou folhas de grama²⁸), tecidos derivados de frutas e vegetais (banana²⁹ maçã³⁰, pêra³¹, abacate³² coco³³, entre outros) e até microrganismos vivos (bactérias³⁴ e vírus³⁵). Estas variedades de materiais biológicos proveem de uma matriz extracelular gelatinosa/viscosa que confere a pasta de carbono uma característica de aglutinante/dispersante^{24,25}, assim como são responsáveis por atuarem como mediadores de reações específicas que acontecem na superfície do eletrodo ou por interagir diretamente com o analito de interesse^{30, 32, 35}.

1.2.2. Modificação Física

Os modificadores físicos, geralmente, são procedimentos menos típicos e são usados com o objetivo de melhorar algum processo químico em questão, entre eles: luz do dia (estudos de fotorradiação³⁶ ou para funcionamento como células solares³⁷), irradiação – UV (para ativação da superfície do EPC³⁷), elevação de temperatura (aquecimento: para melhoramento das interações entre as moléculas de DNA³⁸, aumento do transporte difusional do(s) analito(s) e do transporte de massa na solução³⁹),

um curto “choque” de resfriamento (como forma de secagem antes da preparação da pasta de carbono visando uma quantidade e reprodutibilidade desejada⁴⁰), ultrassom (para ativação da superfície do EPC por meio do crescimento e colapso físico das microbolhas em solução) e por fim uma indução magnética do meio reacional (para reorientação de algumas macromoléculas de DNA, para aumentar, novamente, o transporte de massa ou para realizar um imunoensaio^{41,42}.

1.2.3. Modificação Química

Inicialmente, este grupo de EPCs foram chamados de pasta de carbono modificados com filmes metálicos, sendo que os primeiros testes foram realizados com filmes metálicos de mercúrio^{43, 44}. Modificações, tais como a substituição dos filmes metálicos de mercúrio por ouro ou filmes ambientalmente amigáveis de bismuto foram realizadas. Este último podendo ainda ser utilizado de várias maneiras para servir de elemento condutor de um eletrodo de pasta, entre elas: BiF₃ (filme de bismuto gerado *in situ*, Bi₂O₃ (filme formado a partir do óxido de bismuto), Bi(s) (pó de bismuto em dispersão) e BiF₄⁻-EPC (no qual o bismuto está coordenado com átomos de flúor)^{7, 45, 46}.

As modificações podem ser realizadas de maneira intrínseca ou extrínseca. A modificação intrínseca pode ser feita das seguintes maneiras: oxidação (com ácido nítrico, por exemplo) da superfície do EPC, visando à formação de grupamentos oxigenados, como fenóis ou quinonas; a pré-anodização, que usualmente é realizada *in situ* na superfície do eletrodo^{7, 47, 48}, protonação ou desprotonação de algum componente da pasta como, por exemplo, o veículo orgânico (resina ou aglutinante/dispersante)⁴⁹.

Já as modificações extrínsecas se caracterizam pela adição de constituintes na pasta de carbono, via ligação covalente ou por forças de Van der Waals, de modo que esses adicionem grupos funcionais no eletrodo por inteiro ou somente na superfície. Este tipo de modificação pode ser feita somente na superfície do eletrodo ou durante a preparação da pasta de carbono, também chamada de modificação do *bulk*. Quanto a modificação na superfície do EPC, esta pode ser feita com a adição de traços do modificador ou com a incorporação de diferentes números de camadas do modificador⁷.

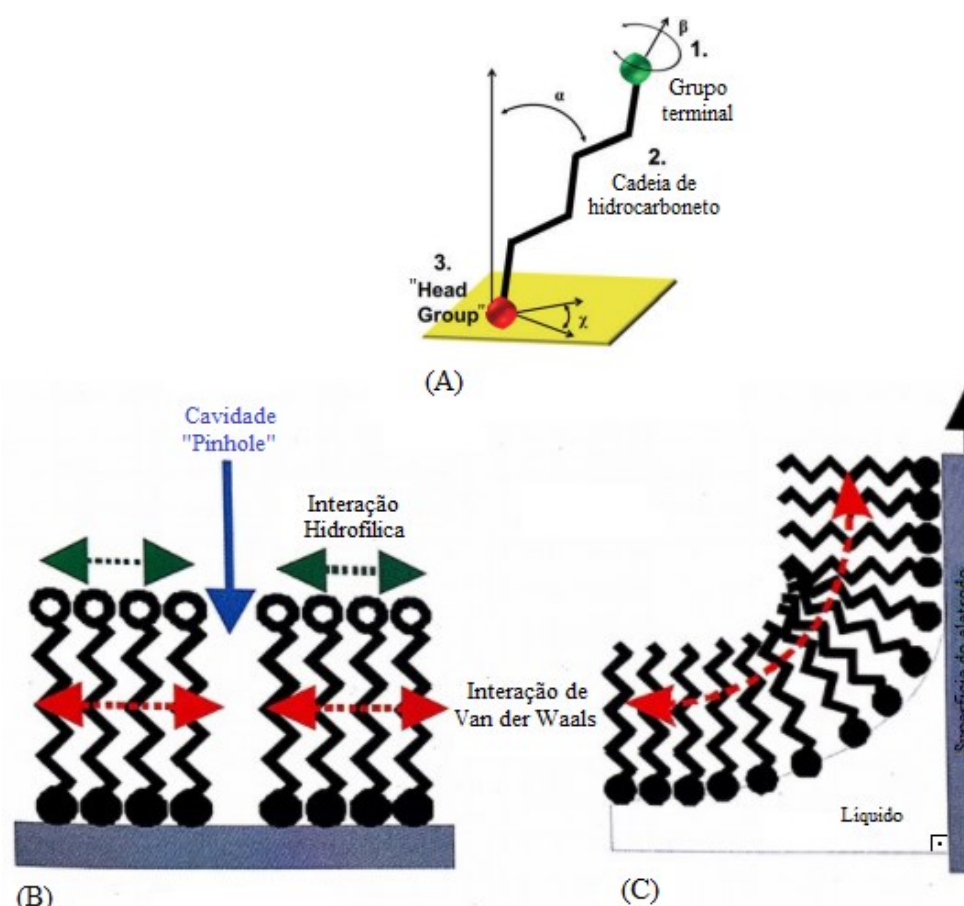
No caso da adição de pequenas concentrações (traços) do modificador na superfície do EPC, o processo consiste num irregular preenchimento da superfície, ou seja, de maneira que não cubra totalmente a superfície. Um exemplo desta modificação

é a pré-concentração do analito com análise de remoção por adsorção (“Adsorptive Stripping Voltametry” – (AdSV) – técnica eficiente para ensaios de traços de uma gama de espécies que possuem caráter adsorptivo interfacial na superfície do eletrodo de trabalho) ^{50, 51}. A modificação da superfície do EPC com somente uma camada do modificador na superfície do EPC, cobrindo totalmente ou quase por completo, pode ser efetuada via formação de monocamadas de Langmuir-Blodgett ou de monocamadas auto-montadas (MAMs) - (“*Self-Assembled*”) ^{7, 52, 53}.

O método de Langmuir-Blodgett permite a fabricação de camadas/filmes geralmente finos, consideravelmente organizados, com espessura e composição controlada a um nível nanométrico e formação de filmes eletroativos, sendo muito utilizado no desenvolvimento de sensores químicos, eletrodos modificados ou dispositivos eletrônicos ⁵⁴⁻⁵⁶.

Já as monocamadas auto-montadas (MAM's), observadas no esquema representativo da Figura 6 A, são filmes depositados sobre um substrato que possuem, basicamente, a seguinte estrutura: (1) um grupo funcional em uma extremidade da molécula (“*head group*”), (2) um “esqueleto” composto de uma cadeia alifática ou um oligômero aromático e (3) um grupo terminal que determina a polaridade ⁵⁷, a topografia ⁵⁸ e a energia da superfície ^{57,59}. São interessantes por serem de fácil preparação, possuírem uma homogeneidade e estabilidade aceitável e a capacidade de serem modificadas quimicamente ^{7,60,61}. Metais, óxidos ou materiais semicondutores podem servir de substrato para a construção das MAM's através de uma interação adsorptiva para diferentes moléculas ⁶².

Figura 6 – Esquema representativo das duas formas de monocamadas: (A) Estrutura básica de uma monocamada auto-montada (MAM's), (B) – defeitos encontrados nas monocamadas auto-montadas [*"Self-Assembled"* - (MAMs)] e (C) – monocamadas de Langmuir-Blodgett.



Fonte: adaptado^{7, 59}

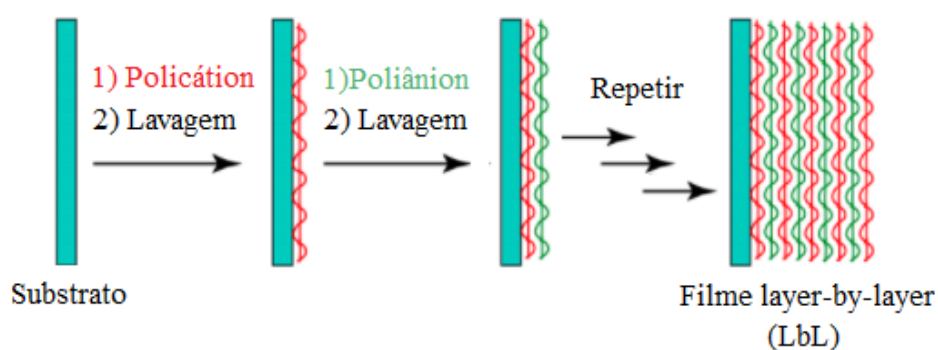
Nas monocamadas auto-montadas (MAMs) observadas na Figura 6 B há o aparecimento de defeitos no recobrimento do eletrodo, formando assim cavidades entre as espécies que foram adsorvidas sobre a superfície. Estes defeitos ou cavidades também são chamados de *"pin holes"*. Estes filmes, geralmente de moléculas orgânicas, são formados espontânea e desordenadamente, com a possibilidade de formar aglomerados. As interações que são observadas em tais monocamadas são as de Van der Waals. Em cada molécula adsorvida há um grupo funcional que interage com a superfície do eletrodo (servindo de estabilização), assim como há um outro grupo funcional na outra extremidade da molécula, que servirá para interação com o meio reacional⁷. Quanto às monocamadas de Langmuir-Blodgett observadas na Figura 6 C, os modificadores adsorvidos estão dispostos de forma unitária e homogênea sobre toda

a superfície do eletrodo de maneira que a espessura seja conhecida, mesmo quando este se encontra em, aproximadamente, 90° com a interface líquido/ar⁵⁴.

Já as policamadas, que são inúmeras camadas de modificadores na superfície do EPC, podem se distribuir de maneira homogênea ou heterogênea sobre esta. A modificação da superfície pode aumentar a área eletroativa do eletrodo⁶³, por meio de alguns nanomateriais, tal como o grafeno, o qual confere uma excelente condutividade térmica e elétrica, alta resistência mecânica e biocompatibilidade⁶⁴. Um outro exemplo de modificador via policamadas, são os polímeros condutores e semi-condutores, que apresentam muitas vantagens, tais como a condutividade e permeabilidade intrínseca e a introdução de grupos funcionais que facilitam a interação com biomoléculas via ligações covalentes ou iônicas⁶⁵⁻⁶⁸. Os polímeros podem ser eletrodepositados sobre a superfície do eletrodo, com a aplicação de um potencial definido ou em uma faixa de potencial ou somente gotejando sobre a superfície do eletrodo e levados ao vácuo ou a uma temperatura específica ou ambiente^{63, 69, 70}.

Uma outra modificação que pode ser feita na superfície do eletrodo utilizando polímeros é a técnica “*layer by layer*”, que se caracteriza pela deposição camada a camada de materiais poliméricos na superfície de um substrato sólido através de forças atrativas, incluindo interações eletrostáticas, ligações de hidrogênio, ligações covalentes e afinidade biológica⁷¹.

Figura 7 – Esquema representativo da formação de um filme “*layer-by-layer*”.



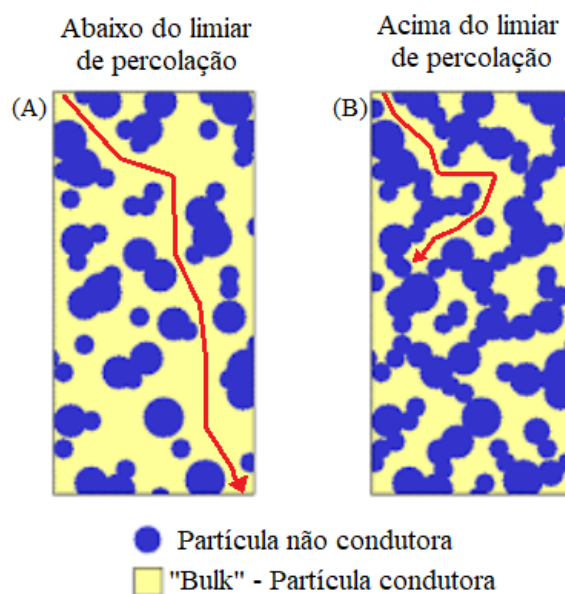
Fonte: Adaptado⁷¹

Como pode ser observado na Figura 7, ocorre um processo adsortivo do polieletrólito na superfície carregada com uma carga oposta à da primeira camada e para ocorrer uma compensação eletrônica, faz-se a eletrodeposição de uma camada polimérica de carga contrária e assim sucessivamente. Sendo assim uma técnica que

permite controlar a espessura do filme formado, pois a espessura aumenta com o número de deposições^{72, 73}.

Em referência a modificação química da parte interna da pasta, ela é homogênea, sendo realizada durante a preparação da pasta de carbono, com a adição dos modificadores, sendo que estes podem ser misturados ou somente adsorvidos no material carbonáceo ou solubilizados em líquido orgânico, antes da adição do material carbonáceo. Um fator que conduzirá a uma boa homogeneidade da pasta do EPC é o tamanho das partículas do modificador, sendo que isso pode dificultar a interação com o aglutinante/dispersante e com o material carbonáceo, visto que, se possuir um tamanho menor ou semelhante com os dos outros componentes da pasta de carbono, obterá uma maior área de contato com estes⁷⁴, assim como não influenciará no limiar de percolação (Figura 8). O limiar de percolação é um parâmetro físico que determina a quantidade crítica de partículas não condutoras que interferem na condutividade elétrica em um sistema de uma maneira não linear⁷⁵, ou seja, mesmo se este sistema estiver em desordem e com um arranjo particulado irregular, quanto mais partículas não condutoras, mais difícil será para o sistema conduzir corrente elétrica (a flecha vermelha na Figura 8 representa o “caminho” da corrente elétrica).

Figura 8 – Esquema representativo da situação onde o sistema está abaixo do limiar de percolação (A) e acima do limiar de percolação (B).



Fonte: o autor, 2018

Uma das técnicas que auxiliam muito na dispersão das partículas é a sonicação, pois confere ao sistema uma maior homogeneidade e, consequentemente, uma maior reprodutibilidade^{7, 76}. Existem vários exemplos de modificadores químicos, devido à facilidade e versatilidade da matriz pasta de carbono aceitar muitos materiais incorporadores, entre eles:

- **Materiais inorgânicos:** Geralmente utilizados na forma de pó ou material sólido particulado. Para fazer a imobilização de tais materiais sobre a superfície do eletrodo, utiliza-se a técnica de aprisionamento físico ou uma simples incorporação na matriz na pasta de carbono utilizada; exemplos: hexacianoferrato (II) de ferro (III) – $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{77}$, hexacianoferrato (II) de cobre (II)⁷⁸, de cobalto (II)⁷⁹, de rutênio(III)⁸⁰, de estanho(IV)⁸¹ e de tálio(IV)⁸² e metais em geral, como platina⁸³, ródio⁸⁴, irídio⁸⁵ e nanopartículas de ouro⁸⁶;
- **Argilas e zeólitas:** A composição destes materiais é, de maneira geral, de aluminossilicatos em camadas, o que possibilita uma boa estabilização sobre a superfície do eletrodo, em virtude da área de contato ser maior e melhor que geometrias esféricas. Por possuir uma estrutura em camadas, as folhas de argila tendem a organizar os analitos de modo que ocorra um aprisionamento deste, ou seja, além da detecção, conseguir pré-concentrar analitos específicos de interesse antes da detecção voltamétrica (usualmente cátions por troca iônica ou compostos orgânicos por adsorção)^{87, 88}.
- **Metais oxidados:** O objetivo de utilizar óxidos metálicos como modificadores de EPCs é pelo fato de possuírem propriedades de catálise, suporte para uma próxima modificação ou uma simples fonte de depósito de metais; exemplos: óxido de rutênio⁸⁹, de cobre⁹⁰, de cobalto⁹¹ e níquel⁹² na identificação de carboidratos, aminoácidos ou peróxido de hidrogênio.
- **Sílica:** As sílicas geralmente utilizadas são as sílicas-gel, por possuírem propriedades adsorptivas e catalíticas. Uma característica física das sílicas é que possuem uma área superficial muito grande ($>100 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$) em relação a outros materiais porosos. A modificação da pasta de carbono pode ser realizada direto na matriz desta, ou podem ser introduzidas no momento de preparo da pasta^{93, 94}

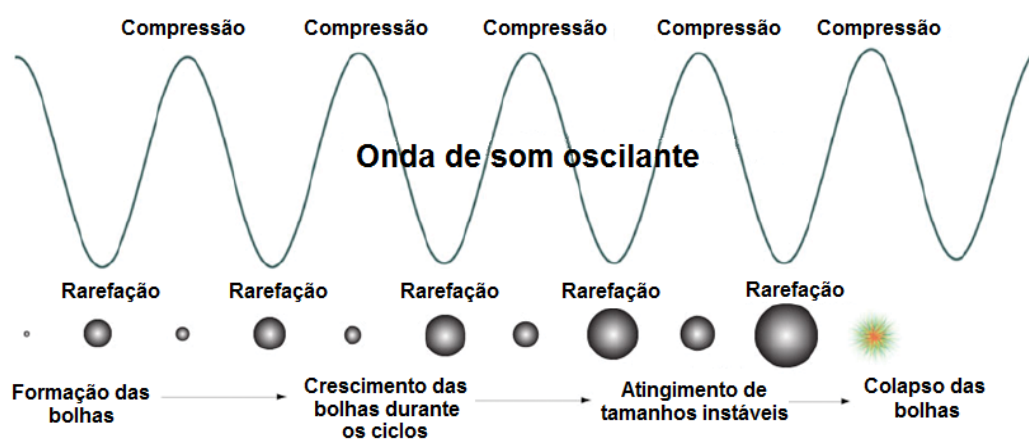
- Compostos macrocíclicos e macromoléculas: São moléculas muito empregadas na modificação da superfície dos EPCs, geralmente depositados na forma de filmes ou incorporados na matriz da pasta durante a preparação da mesma. As características que a pasta pode obter a partir da modificação com esses tipos de moléculas são: adsorção, troca-iônica, atividade redox/mediador, condutividade eletrônica, entre outras; exemplos: β -ciclodextrina⁹⁵, calixarenos⁹⁶ e compostos tetra e octa-azomacrocíclicos⁹⁷;
- Quinonas: Estes materiais foram os primeiros modificadores a serem incorporados em pastas de carbonos. Os derivados de quinonas são amplamente utilizados em pastas de carbono por causa da sua capacidade eletrocatalítica. Alguns exemplos de quinonas utilizadas são: 2-benzoquinona⁹⁸, 1,4-naftoquinona⁹⁹, ubiquinona¹⁰⁰;
- Surfactantes: Os surfactantes utilizados podem ser aniônicos, catiônicos e não-iônicos. A incorporação destes materiais na pasta de carbono, geralmente é feita através de sua introdução na produção da matriz. Alguns exemplos de surfactantes utilizados são:
 - Catiônicos: brometo de cetrimônio (CTAB)¹⁰¹, cloreto de cetilpiridínio¹⁰², Septonex^{®103},
 - Aniônicos: octadecilamina¹⁰⁴, triisooctalamina¹⁰⁵, 1-amino-12-(octadecanoilamino)dodecano¹⁰⁶;
 - Não-iônicos: Triton X-100^{®107}, Tween^{®108}, Brij^{®109}.
- Polímeros condutores: São modificadores atrativos por possuírem uma boa condutividade eletrônica, sendo utilizados na forma de filmes poliméricos sobre a superfície do eletrodo. Estes materiais aderem muito bem na superfície hidrofóbica do EPC e possuem uma aplicação muito grande em supercapacitores, baterias, dispositivos eletrocromáticos, células solares e, especialmente, na área de biossensores amperométricos, potenciométricos, condutimétricos e ópticos. Sendo que os polímeros mais utilizados para realizar essa modificação no eletrodo são: polianilina¹¹⁰, polipirrol¹¹¹, polifenilenodiamina¹¹², politiofeno¹¹³, entre outros.

1.3. Técnicas para o preparo da pasta de carbono

1.3.1. Cavitação e agitação mecânica

No preparo da pasta de carbono, a interação entre os analitos de interesse pode ser dificultada devido à falta de homogeneização, sendo minimizada pela aplicação de duas técnicas simples como: a agitação mecânica com o auxílio de chicanas ou o ultrassom. O ultrassom é uma onda longitudinal com compressão e rarefação, com propagação circunférica com relação a sua fonte, tendo frequência superior ao audível pelo ser humano, ou seja, acima de 20.000 Hz e com propriedades que podem se propagar pelo meio físico e material¹¹⁴.

Figura 9 – Propagação da onda mecânica de ultrassom pelas partículas em suspensão



Fonte: adaptado¹¹⁴

No banho de ultrassom ocorre o fenômeno de cavitação, observado na Figura 9, que se caracteriza pelo crescimento e colapso de cavidades e/ou microbolhas em um líquido ou suspensão pelo efeito da redução da pressão total, em virtude do campo de alta frequência aplicado (onda mecânica)¹¹⁵. Estes fortes distúrbios de pressão, resultantes das emissões de ondas de choque, levam a efeitos mecânicos, como mistura e o cisalhamento que, ao se tratar de uma reação química, podem servir para aumentar os choques entre os analitos, acelerar a dissolução/solvatação ou auxiliar a renovação na superfície de um reagente sólido¹¹⁴.

A agitação mecânica também pode auxiliar na homogeneização, com o objetivo de manter o material particulado em suspensão, assim como aumentar o choque entre

essas partículas, ou seja, aumentando a interação entre o sólido e o líquido (solventes), que pode ser chamada de transferência de massa. A agitação concede movimento de um líquido e auxilia na realização de processos físicos e químicos em diferentes sistemas. Entre estes sistemas, lista-se abaixo cinco tipos de processamentos físicos existentes:

Tabela 1 – Processos de agitação, mistura e dispersão¹¹⁶.

Aplicação	Processamento Físico
Líquido-sólido	Suspensão
Líquido-gás	Dispersão
Líquidos imiscíveis	Emulsão
Líquidos miscíveis	Mistura
Movimentação de fluido	Bombeamento

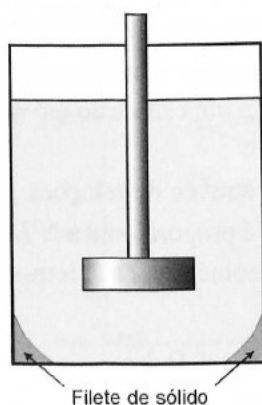
O processo físico utilizado no presente trabalho é do tipo suspensão. O grau de suspensão de sólidos pode ser dividido de três maneiras¹¹⁶: suspensão parcial, mínima suspensão completa e suspensão homogênea.

- *Suspensão parcial*: As partículas estão em contato com o fundo do recipiente e a movimentação destas é facilmente observada. Geralmente, o problema está na dissolução do material particulado, assim como a área total deste não está disponível para a reação ou a transferência de massa necessária;
- *Mínima suspensão completa*: Esta ocorre quando todas as partículas estão em movimento e nenhuma partícula permanece na base do recipiente em um período de aproximadamente 2 segundos. Uma variável importante neste tipo de sistema é a velocidade de agitação ou movimentação, que varia em função da geometria do recipiente, assim como das chicanas ou impelidores utilizados.
- *Suspensão homogênea*: Todas as partículas encontradas no sistema estão suspensas de maneira homogênea por todo o tanque.

Para realizar uma melhor homogeneização de uma suspensão (suspensão parcial ou mínima suspensão completa), é utilizado sistemas de agitação que, geralmente, formam fluxos verticais. Estes fluxos verticais, também chamados de vortex, são formados pela movimentação das partículas no sistema e podem ser digeridos com o auxílio de chicanas, evitando que ocorra a formação de aglomerados, assim como o redirecionamento do fluxo¹¹⁶. O objetivo de introduzir uma turbulência facilita o choque

entre as partículas, pois não há a formação de linhas de corrente. O sistema mais comum é com quatro chicanas que apresentam largura de até 10% em relação ao diâmetro do recipiente. Para sistemas mais concentrados, a viscosidade se aproxima das propriedades pseudoplásticas e larguras menores de chicanas são utilizadas, ou seja, abaixo de 10%. Quando o sistema apresenta um teor de sólidos acima de 20% em massa, há a ocorrência de filetes do material sólido nas bordas do fundo do tanque¹¹⁶, como pode ser observado na Figura 10.

Figura 10 – Representação esquemática de um recipiente com formação de filete de sólido em seus cantos não abaulados.



Fonte: adaptado¹¹⁶

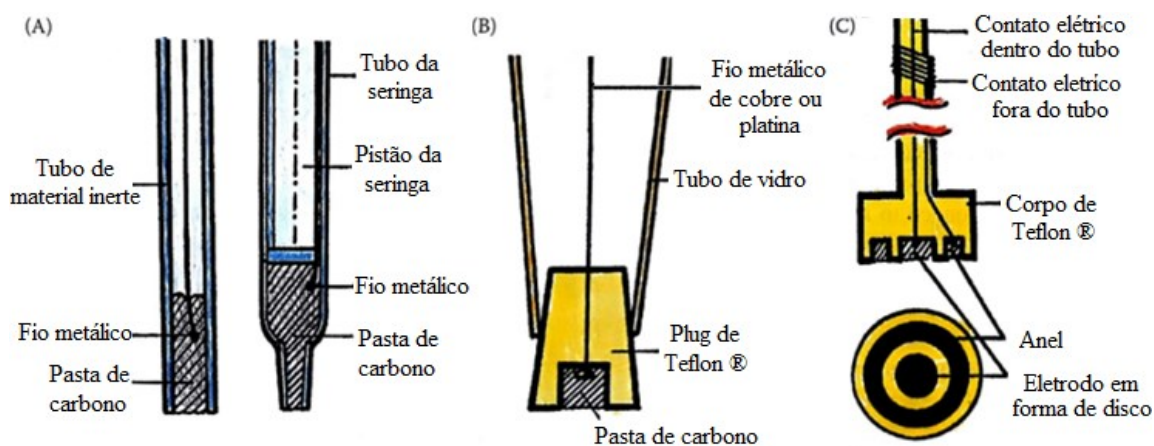
1.4. Construção dos eletrodos a base de pasta de carbono

Um eletrodo, de trabalho ou referência, pode ser construído de maneira simples no laboratório (em comparação com métodos de construção industrial), usando materiais que são baratos e de fácil disponibilidade, de modo que podem ser descartáveis ou até mesmo reutilizáveis. Estes eletrodos artesanais, chamados por alguns autores como "*home made electrodes*", geralmente possuem semelhanças entre si nos grupos de pesquisas, pois os elementos essenciais de construção são similares e as principais variações são as áreas e dimensões, os modificadores da superfície do eletrodo de trabalho e o aparato de conexão do eletrodo^{7, 117}.

O emprego de pastas de carbono, mecanicamente, mais ou menos compactas em medidas eletroquímicas, faz com que o construtor escolha um suporte adequado e apropriado para a construção do eletrodo. Após a construção, o eletrodo representa o

EPC propriamente dito^{7, 118}, como pode ser observado na Figura 11 por meio de alguns exemplos.

Figura 11– Construção básica de suporte de pasta de carbono. (A) Tubo de vidro ou de plástico: 1 – Tubo (seringa, por exemplo), 2 – Pistão, 3 – Fio metálico (contato elétrico), 4 – Preenchimento de pasta de carbono. (B) Construção de Adam: 1 – Fio metálico de platina ou cobre, 2 – Tubo de vidro (Estreito conicamente), 3 – Plug de Teflon®, 4 – Preenchimento de pasta de carbono. (C) Eletrodo de pasta de carbono com disco rotativo; 1 – Contato elétrico dentro do tubo, 2 – Contato elétrico fora do tubo, 3 – Corpo de Teflon®, R – Anel, D – Eletrodo em forma de disco.



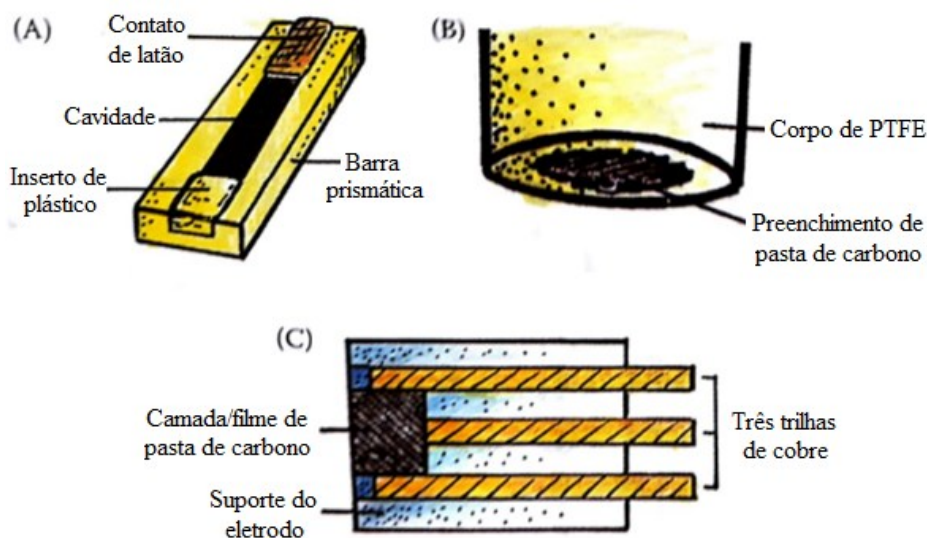
Fonte: adaptado^{7, 119}

De acordo com a Figura 11 é possível observar as representações esquemáticas de algumas maneiras de se construir um eletrodo de trabalho artesanal à base de pasta de carbono. Na Figura 11 A têm-se dois tipos de eletrodos que são revestidos (1) de tubos de vidro (também podem ser utilizados plásticos, como Teflon®, PTFE ou PET) com um diâmetro específico (seringas médicas com pistão (2), por exemplo). Para realizar o contato elétrico é utilizado um fio de cobre (3) ou platina, no qual ocorrerá a transferência eletrônica da pasta de carbono (4) para o potenciostato. Na Figura 11 B há um esquema representativo de um eletrodo de trabalho semelhante ao de (A), no qual a única variação é no revestimento do eletrodo de trabalho, que foi feito por meio de Teflon® na forma de um “plug” (3) em um tubo de vidro (1)⁷.

Os *screen-printed electrodes* (SPEs) são os eletrodos que fazem parte da classe dos eletrodos planares e, geralmente, são descartáveis e apresentam, de acordo com a empresa fabricante, diferentes substratos e materiais condutores (tinta condutora ou

pasta à base de materiais carbonáceos condutores)¹²⁰. Uma das principais vantagens da utilização dos SPEs é a simplicidade de operação, confiabilidade e portabilidade, assim como a economia de substrato¹²¹. Os eletrodos planares ou eletrodos de cavidade, que podem ser observados na Figura 12, foram desenvolvidos como uma alternativa para a posterior utilização nos eletrodos serigraficamente impressos, ou (SPEs) com tinta/pasta de carbono solidificada, em virtude de possuírem geometrias e tamanhos semelhantes^{7, 121}.

Figura 12 – Esquema de construção de três diferentes eletrodos planares de pasta de carbono. (A) Eletrodo de cavidade. Esquerda: 1 – Barra prismática, 2 – Cavidade com pasta de carbono, 3 – Inserto de plástico, 4 – Contato de latão; Direita: eletrodo desmontado e escala métrica de comparação. (B) Eletrodo de pasta de carbono aquecido eletricamente; 1 – Preenchimento de pasta de carbono, 2 – Corpo de PTFE. (C) Eletrodo de filme de pasta de carbono (esquema simplificado); 1 – Camada/filme de pasta de carbono, 2 – Suporte do eletrodo, 3 – Três trilhas de cobre.



Fonte: adaptado^{7, 122}.

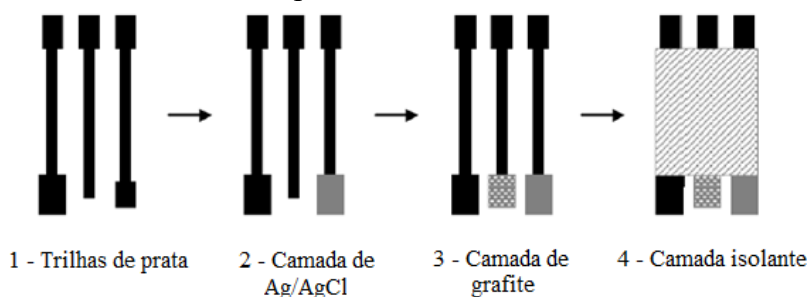
Como pode ser observado na Figura 12 A, o primeiro exemplo é o eletrodo de cavidade, no qual as barras prismáticas (delimitadoras da área eletroativa do eletrodo) são compostas de Teflon[®] e estão dispostas horizontalmente no eletrodo e paralelamente à cavidade. A cavidade será preenchida por pasta de carbono e o inserto de plástico terá como objetivo delimitar a área do eletrodo, assim como na outra extremidade se encontra o contato de latão, que irá conferir conexão da pasta de carbono com o

potenciostato. A Figura 12 B representa um eletrodo em forma de disco no qual a área eletroativa é uma camada ou um filme da pasta de carbono e somente esta entra em contato com o eletrólito suporte. Um fio ou bastão metálico é responsável pela conexão elétrica entre a superfície da pasta de carbono e o potenciostato. Geralmente o isolamento e delimitação da área do eletrodo são feitas por materiais inertes, como o próprio Teflon[®]. Já no eletrodo representado na Figura 12 C tem-se o eletrodo planar em que as trilhas de material condutor, geralmente compostas de prata, que conferem a transferência eletrônica entre superfície da pasta de carbono e o potenciostato. Para delimitação da área do eletrodo de trabalho são utilizados materiais isolantes, como tintas isolantes ou adesivos.

O eletrodo representado na Figura 12 C, normalmente é produzido pela técnica de serigrafia, que consiste, basicamente, no preparo de uma tela que será utilizada como um negativo para a impressão. O processo de revelação geralmente é feito por uma emulsão fotossensível sobre a tela que recebe uma luz UV e promove a polimerização por emulsão. Na impressão a pasta/tinta é colocada sobre a tela e realizada uma varredura com rodo especial ou por uma impressora serigráfica automática²¹.

Este tipo de impressão, chamada de *silk screen* (Figura 13), é uma técnica ideal e simples (em comparação com outros métodos de impressão, como *ink jet*¹⁴, litografia^{123, 124} ou impressão 3D¹²⁵) para preparar eletrodos com filmes ou camadas finas em suportes inertes, não necessitando de equipamento sofisticado¹²⁶.

Figura 13 – Diagrama esquemático das etapas de impressão dos materiais para o desenvolvimento de um eletrodo impresso.



Fonte: adaptado¹²⁷

Para a construção de um SPE, pode-se seguir os passos observados na Figura 13, sendo que na primeira etapa ocorre a impressão das trilhas de prata, que ficarão embaixo das outras trilhas e serão responsáveis por conferir a transferência eletrônica da área eletroativa do eletrodo (onde será realizada a leitura do analito de interesse) para o potenciostato. A segunda etapa é a impressão de uma camada de Ag/AgCl que atuará como eletrodo de referência, responsável por definir um potencial constante ao longo do tempo da medida. O eletrodo de trabalho é formado quando ocorre a impressão de uma camada de grafite ou outro material que servirá de eletrodo de trabalho (no presente trabalho foi utilizado uma pasta de carbono a base de flocos de grafite). O eletrodo de trabalho deve ser inerte, condutor elétrico e polarizável (perfil puramente capacitivo), bem como ser responsável por onde ocorre a reação de interesse. Por fim, a última camada a ser impressa é a de uma camada isolante, que delimitará a área de inserção da trilha de prata do eletrodo no potenciostato e área dos eletrodos de trabalho, referência e contra eletrodo, da mesma maneira que protegerá as trilhas de prata¹²⁷. Este tipo de proteção é necessário, pois irá conferir ao eletrodo uma estabilidade, evitando processos oxidativos ou que interfiram na medida eletroquímica. O recobrimento das trilhas pode ser feito por meio de adesivos ou por uma tinta isolante²¹. O principal objetivo de isolar as trilhas do material condutor é deixar exposta somente a região que entrará em contato com o eletrólito suporte/analito de interesse, pois a tinta dielétrica ou isolante não é eletroativa e delimita a área de interesse^{128, 129}.

1.5. Filmes poliméricos espessos (FPE)

Na área de construção de circuitos, Thomas Edison foi o pioneiro a propor sua fabricação em 1904, sugerindo inclusive alguns conceitos para a eliminação de fios, a partir de circuitos adesivos onde eram borrifados pó de grafite (partículas condutoras). Este conceito vai ao encontro do conceito básico dos chamados “*polymer thick films*” (PTF) ou filmes poliméricos espessos (FPE). Porém sua ideia foi abandonada, devido ao seu fascínio por outras invenções¹³⁰. Durante a II Guerra Mundial houve necessidade de produzir circuitos para uso militar, especialmente fusíveis eletrônicos, para

desenvolvimento de projetos governamentais secretos, uma vez que a supremacia sobre equipamentos eletrônicos poderia decidir a guerra¹³⁰.

O termo FPE foi criado por F. Wayne Martin¹³¹ com a finalidade de diferenciar o método “tinta/pasta polimérica impressa” do método “circuitos impressos”. A descrição e as discussões relacionadas aos métodos de fabricação de circuitos foram pautadas em um simpósio promovido pelo governo dos Estados Unidos em 1947, definindo-se duas categorias de filmes: os filmes finos produzidos por deposição a vácuo e os filmes serigraficamente impressos que, por possuírem uma espessura um pouco maior, foram chamados de filmes espessos. Portanto, a tecnologia que utiliza impressão serigráfica de polímeros condutores associados ou não a metais foi designada de FPE¹³⁰.

O FPE ocupa um espaço entre os filmes finos ($< 1 \mu\text{m}$) e os materiais volumosos ($> 100 \mu\text{m}$) e, numa definição mais alternativa, pode-se dizer que o limite inferior da espessura do FPE está logo acima do ponto no qual o papel de um átomo individual não é mais crítico, enquanto seu limite superior está localizado no limiar no qual um filme se torna autossuportado, não requerendo mais um substrato¹³².

FPE é uma tecnologia na qual determinados materiais poliméricos são seletivamente aplicados em substratos ou plásticos flexíveis, ou a circuitos, com a finalidade de produzir características elétricas/eletrônicas desejadas ou para criar junções eletromecânicas. Materiais baseados em FPE podem ser classificados como condutores, resistores, dielétricos e agentes de ligação, e estes podem ser serigrafados, separadamente ou em combinação, visando à fabricação de biossensores, potenciômetros, interconectores, sensores de pressão, diodos, etc¹³⁰.

Para impressões serigráficas, preparam-se pastas baseadas em FPE, que devem apresentar boas características físicas, químicas, mecânicas e elétricas. Para isso, adiciona-se ao material polimérico diversos tipos de solventes, aditivos e compostos para preenchimento (“fillers”), conforme sua aplicação. Virtualmente, todos os polímeros utilizados em FPE são materiais sintéticos desenhados para atender as características descritas anteriormente, sendo a pasta, uma mistura complexa de ingredientes customizados¹³⁰.

A tecnologia do FPE representa uma aproximação limpa, simples e logicamente notável para a construção de circuitos impressos. Acredita-se que num futuro próximo, circuitos baseados em FPE irão substituir os circuitos convencionais de silício. Algumas

vantagens relacionadas ao FPE são: secagem eficiente em baixas temperaturas ($< 150^{\circ}\text{C}$)¹⁵, baixo custo de produção, ambientalmente favorável, podem ser utilizados em uma grande variedade de substratos, capacidade de ser adicionado em multicamadas e possível integração com componentes passivos¹³⁰.

Dentre as diversas aplicações dos FPE, são relatadas sua utilização no desenvolvimento de eletroencefalograma a partir de polímeros com alta resistência, com a finalidade de melhorar a qualidade na aquisição de dados obtidos¹³³ e também na construção de sensores de pressão utilizando polímeros resistores¹³⁴. Arshak, Ajina e Egan¹³⁵ utilizaram FPE na fabricação de um transformador miniaturizado a partir da impressão de camadas condutoras, isolantes e magnéticas para aplicação em fontes de alimentação. Esses eletrodos planares que utilizam a técnica de FPE também são utilizados no desenvolvimento de sensores bioquímicos, sendo uma técnica de produção de larga escala¹². Além da produção em larga escala, os polímeros utilizados na técnica de FPE são utilizados cada vez mais em vários campos de aplicação tecnológica, como: agrícola^{136, 137}, ambiental¹³⁸⁻¹⁴⁰, clínico¹⁴¹⁻¹⁴³, eletrônico¹⁴⁴⁻¹⁴⁷ e alimentício^{148,149}.

1.6. Polímeros

Os polímeros, também chamados de macromoléculas, são constituídos de cadeias com átomos encadeados e ligados entre si por ligações covalentes, cujas unidades são chamadas de meros, sendo que o conjunto destes formam o polímero. Estes tipos de ligação podem ser realizadas de forma intra ou intermolecular e, quanto mais meros ligados, maior será o polímero formado, caracterizado pelo grau de polimerização. Os polímeros possuem propriedades diferentes em relação ao seu monômero, tais como viscosidade, elasticidade, dureza, resistência ao calor e à umidade, ponto de ebulição e fusão, entre outras¹⁵⁰.

Quanto à origem dos polímeros, eles podem ser classificados de duas formas: polímeros de origem natural ou polímeros sintéticos. Os polímeros naturais são encontrados diretamente na natureza, ou seja, sem a intervenção direta do ser humano, tais como os polinucleotídeos, proteínas, polissacarídeos, resinas como celulose^{151, 152}, entre outros. Já os polímeros sintéticos são aqueles produzidos pelo ser humano, são divididos em duas classes quanto a sua preparação: condensação ou adição¹⁵³.

A polimerização por condensação consiste na combinação de duas moléculas, onde estas possuem grupos funcionais reativos nas suas extremidades, ou seja, a polimerização ocorre por mais de uma direção. Quando ocorre a condensação, há liberação, geralmente, de água ou hidroxila para o meio. Já na polimerização por adição, o monômero é adicionado um a um na cadeia polimérica. A polimerização pode ser efetuada por via radicalar, catiônica ou aniônica, bem como por catalisador de Ziegler Natta¹⁵³.

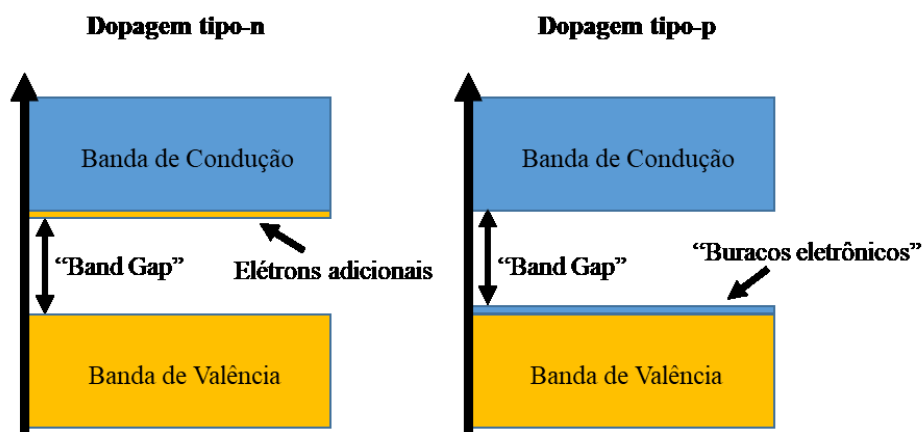
Uma outra classificação quanto aos polímeros está relacionada com a capacidade de conduzir corrente elétrica, no qual ele pode ser totalmente isolante, semicondutor ou condutor. Os polímeros conjugados fazem parte dos dois últimos casos, tendo extensa cadeia polimérica com carbonos insaturados entre si, formando ligações π , onde as mesmas são formadas por orbitais p , formando assim a nuvem de elétrons, que proporciona o transporte eletrônico. Os polímeros condutores possuem condutividade de cerca de $10^3 - 10^6$ S/cm e os semi-condutores, possuem condutividade de cerca de $10^{-7} - 10^2$ S/cm¹⁵⁴.

A condutividade elétrica gerada pelos polímeros condutores e semicondutores pode ser explicada pelo modelo das “bandas de valência”, que se assemelha ao modelo dos semicondutores inorgânicos. Neste modelo há dois níveis principais de energia, chamados de banda de valência, nível menos energético, e banda de condução, nível mais energético. Os limites de energia entre a banda de valência e de condução são, respectivamente, o HOMO (do inglês, *Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*)¹⁵⁵. A diferença de energia entre estas duas bandas é chamada de *Band Gap*, que é uma propriedade intrínseca do material¹⁵⁵. Esta condutividade intrínseca do material polimérico é produzida pela formação de cargas geradas por agentes oxidantes ou redutores. O aumento da condutividade é gerado pelo aparecimento de “defeitos” na região dos orbitais ligantes e antiligantes, ou seja, na região do *Band Gap*, através do processo de dopagem, os quais possibilitam a movimentação de cargas nos estados chamados de sólitons, pólarons e bipólarons¹⁵⁶. Quando se faz uma dopagem com um agente doador de elétrons, ocorre uma dopagem do tipo n e quando se faz uma dopagem com um receptor de elétrons (“buracos eletrônicos”), ocorre uma dopagem do tipo p , como pode ser observado na Figura 14. O tipo de dopagem realizada no polímero do presente trabalho foi a dopagem do tipo p , no

qual o íon cloreto foi utilizado como dopante, que atuava como contra-íon (via interação eletrostática) do agrupamento mais oxidado do polímero.

Vários polímeros são conhecidos na literatura por possuírem a capacidade de serem dopados, tais como, polianilina¹⁵⁷, polipirrol¹⁵⁸, polifenilenodiamina¹⁵⁹ e poliaminofenol¹⁶⁰.

Figura 14 – Esquema representativo do modelo de bandas de valência para materiais semi-condutores e isolantes, representando a dopagem do tipo *n* e *p*.



Fonte: adaptado¹⁶¹

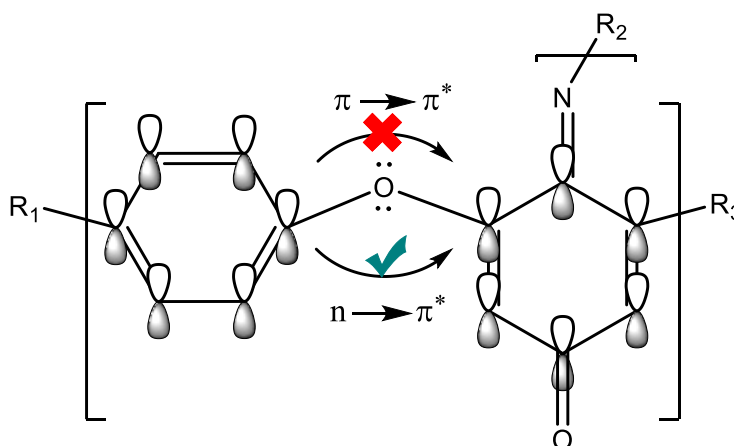
1.7. Poli(4-aminofenol)

Os aminofenóis são moléculas que possuem dois grupamentos doadores de elétrons ligados em um anel aromático, sendo a hidroxila (-OH) e a amina (-NH₂). O aminofenol pode ser considerado um derivado da anilina e do fenol, sendo moléculas que também podem ser oxidadas e levam a formação de polímeros. Polímeros derivados da anilina geralmente formam polímeros semicondutores e possuem uma maior solubilidade em solvente polares, em virtude do par de elétrons não-ligantes do nitrogênio realizar ligações de hidrogênio com solventes protônicos como a água.

Estes polímeros também podem ser formados por ligações anel-oxigênio-anel, a partir da oxidação dos grupos fenólicos, formando éteres aromáticos, os quais podem sofrer um processo oxidativo a ponto de comportar uma carga positiva, ainda mais quando se realiza uma dopagem deste material, porém, não é um processo oxidativo eletroquimicamente reversível^{162,163}.

A transição eletrônica entre o átomo de carbono sp^2 do anel aromático e o átomo de oxigênio é a $n \rightarrow \pi^*$, na qual possui uma energia (dada em eV) menor que a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ (ver Figura 15), mas de qualquer maneira o elétron consegue ser excitado até um nível energético maior, que é a da banda de condução (a condutividade do material polimérico aumenta consideravelmente ao se realizar uma dopagem), ou seja, ocorre a transição eletrônica¹⁶⁴.

Figura 15 – Esquema representativo da transição eletrônica entre os orbitais $n \rightarrow \pi^*$.

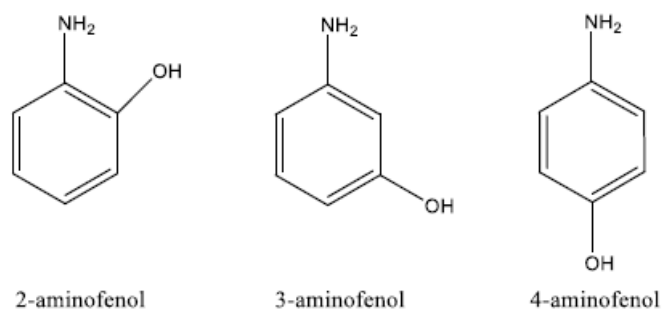


Fonte: o autor, 2018

Uma propriedade muito interessante dos polímeros derivados de compostos fenólicos é que podem formar filmes com uma alta resistência mecânica¹⁶⁵, devido a essa forte ligação C-O da função orgânica éter de aromático (360 kJ mol^{-1})¹⁶¹.

Há três isômeros do aminofenol (Figura 16), sendo que o mais estudado é o 2-aminofenol, desde a sua polimerização eletroquímica realizada por Barbero *et al*¹⁶⁶. Kunimura *et al.*¹⁶⁷ também foi responsável por estudar este isômero do aminofenol, no qual explorou a sua polimerização e as suas propriedades espectroscópicas e eletroquímicas. Com o passar dos anos, veio se tornando um polímero com aplicações diretas em biossensores¹⁶⁸⁻¹⁷¹.

Figura 16 - Representação dos isômeros do aminofenol.



Fonte: o autor, 2017

O nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo vários trabalhos com os isômeros do aminofenol, no qual se destacaram os sensores biológicos voltados para a detecção e quantificação de bases nitrogenadas do DNA, bactérias, assim como dos genes causadores da hepatite B, meningite e câncer de próstata¹⁷²⁻¹⁷⁸.

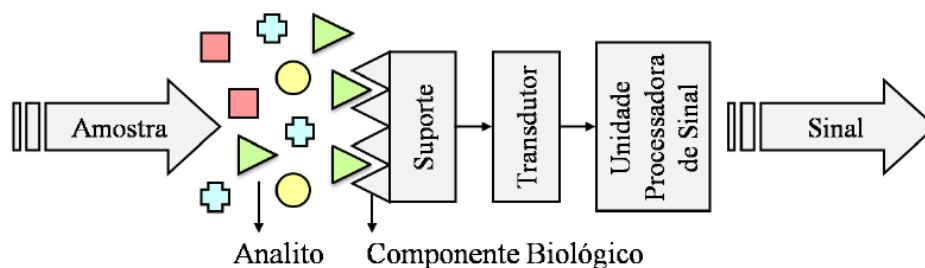
A utilização de filmes poliméricos modificados, assim como a modificação da superfície de um eletrodo polarizável é uma ferramenta muito utilizada para otimizar as propriedades desta plataforma e os aminofenóis atuam com eficiência neste campo, pois os grupamentos -OH e -NH₂ interagem muito bem com biomoléculas, principalmente bases nitrogenadas^{175, 178}.

Vários tipos de eletrodos, como por exemplo, grafite, carbono vítreo, ouro, platina, mercúrio, pasta de carbono, são utilizados como matrizes para a funcionalização com polímeros visando aplicações em bactérias^{179,180}, catálise^{181,182}, sensores¹⁸³⁻¹⁸⁵ e biossensores^{186,187}, dentre outras.

1.8. Biossensores

Os sensores biológicos, também chamados de biossensores, se caracterizam por serem dispositivos analíticos que contém uma plataforma de reconhecimento biológico incorporada a um transdutor, cujo objetivo é transformar um sinal físico-químico em um sinal elétrico ou digital mensurável^{188,189}. Os receptores encontrados em tal plataforma possuem a capacidade de se ligar, de forma adsortiva ou absortiva, a um analito de interesse, encontrado em amostras simples ou complexas, por meio de uma interação específica entre receptor e analito (Figura 17).

Figura 17 – Esquema representativo de um biossensor, onde está ocorrendo o biorreconhecimento do analito de interesse em uma plataforma e a consequente transdução do sinal gerado.



Fonte: adaptado¹⁹⁰

Os biossensores surgiram no mercado com o objetivo de facilitar e substituir os testes convencionais, realizados por métodos de gravimetria, titulometria, espectroscopias de massa e Raman, interferometria, fotometria e refratometria¹⁹¹. Tais testes são bem precisos e muito utilizados, porém a leitura necessita ser feita em um laboratório específico e de mão de obra especializada¹⁹².

Os biossensores eletroquímicos foram os que mais se destacaram, por sua excelência em especificidade, seletividade, sensibilidade, baixos limites de detecção, portabilidade, baixo custo em relação a outros testes convencionais, capacidade de miniaturização e tempo rápido de resposta, além de atuar em áreas de grande importância, tais como: clínica, alimentar, ambiental, de segurança e defesa, entre outras¹⁹³.

As principais interações entre os elementos de reconhecimento, que são a sonda e o seu alvo complementar, são: biomiméticos celulares (biossensor biomimético); enzima/substrato (biossensor enzimático); antígeno/anticorpo (imunossensor); sequências de DNA complementares (genossensor); sistemas celulares (biossensor celular)²¹.

Quanto ao sinal obtido, ele é mensurável e pode ser obtido de várias maneiras. Estes sinais são gerados pelo transdutor que podem ser classificados em ópticos, eletroquímicos, gravimétricos, eletromagnéticos, piezoelétricos ou calorimétricos^{7, 194, 195, 196}.

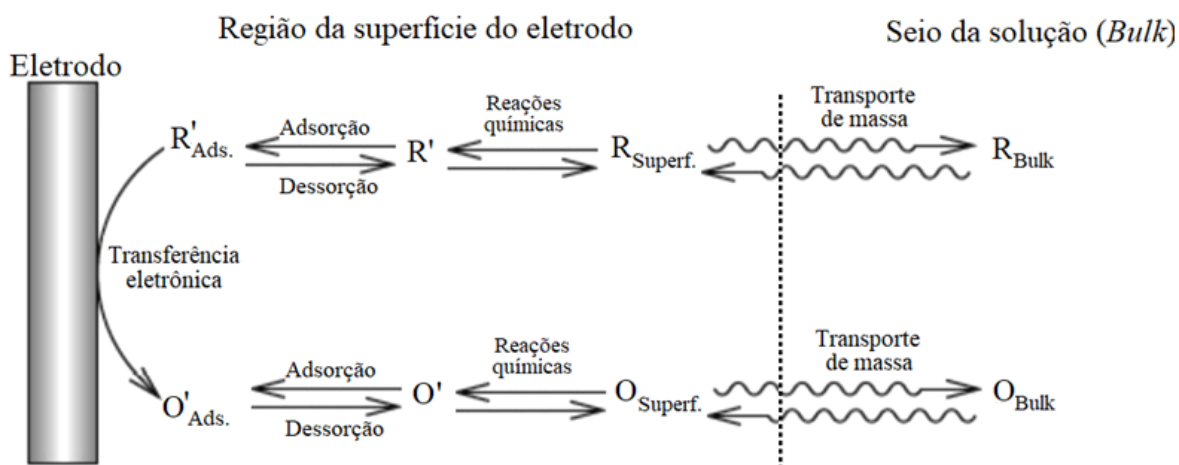
O sinal obtido num biossensor eletroquímico envolve a interpretação das interações do receptor e o alvo específico, no qual ocorrem processos oxidativos ou redutivos das espécies eletroativas, via transferência eletrônica do meio reacional para a

superfície do eletrodo e vice-versa^{197, 7}. As reações envolvidas nesse processo faradaico são de oxi-redução (Eq. 1 e Eq. 2), sendo que a equação que rege esse processo é representada abaixo:



A espécie O representa a espécie oxidada, já a espécie R representa a espécie reduzida e a letra n representa o número de elétrons transferidos no processo oxidativo e redutivo. Esta transferência de elétrons do seio da solução para a superfície do eletrodo ocasiona um esgotamento da espécie do analito de interesse, no qual, ao chegar na superfície do eletrodo (transferência de massa: migração, convecção ou, geralmente, por difusão), este sofre uma transferência eletrônica e ocorre o processo de oxidação. Logo, a transferência de massa e eletrônica determinam a cinética de um processo faradaico⁷ (Figura 18).

Figura 18 – Esquema representativo do processo faradaico que ocorre na superfície do eletrodo, evidenciando a transferência eletrônica e de massa.



Fonte: adaptado¹⁹⁸

2. OBJETIVOS

O objetivo geral do trabalho foi o desenvolvimento de uma pasta de carbono baseada em grafite em flocos, negro de fumo, resina Vinisol® e poli(4-aminofenol) para utilização como superfície eletródica de um eletrodo de trabalho e aplicação em biossensores.

2.1. Objetivos específicos

- Síntese química e caracterização do poli(4-aminofenol);
- Síntese e caracterização de uma pasta de carbono constituída por grafite em flocos, negro de fumo, resina Vinisol® e poli(4-aminofenol);
- Desenvolvimento de um eletrodo de trabalho utilizando materiais de baixo custo (fio de cobre, capa de acrílico de CD-ROM, ponteira de propileno e pasta de carbono);
- Caracterização e teste biológico da plataforma desenvolvida por meio da imobilização de uma sonda de oligonucleotídeo poli[GA] e interação com seu alvo complementar poli[CT].

3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Materiais utilizados

Todos os reagentes utilizados apresentam grau analítico e foram utilizados conforme recebidos, sem nenhum pré-tratamento (Tabela 2). Todas as vidrarias utilizadas nas etapas de síntese foram bem lavadas e, em seguida, lavadas em água deionizada.

Tabela 2 – Reagentes utilizados, grau de pureza e marca.

Reagentes	Pureza	Marca
4-aminofenol	>99,9%	Merck
Persulfato de amônio	98%	Synth
Hidróxido de sódio micropérolas P.A.	99,9%	Neon
Grafite em flocos (325 mesh)	>99,9%	Sigma Aldrich
Negro de fumo – 7055[®]	-	Columbian Chemicals
Resina Vinisol[®]	15,5 % PVA; 84,5 % PVC	Vinisol
Acetato de butilglicol	98%	Dinâmica
4-metilpentan-2-ona	99%	Reagen
Diclorometano	99,5%	Vetec
Ácido clorídrico	38%	Fmaia
Ácido perclórico	70%	Quimibras
Cloreto de potássio	99,89%	Neon
Monohidrogenofosfato de sódio	98%	Neon
Dihidrogenofosfato de sódio	98%	Neon

Na preparação das soluções foi utilizada água deionizada provida de um sistema Master System (Gehaka), com condutância de $0,05 \pm 0,01 \mu\text{S}$. As massas dos reagentes foram pesadas em uma balança analítica da marca Shimadzu AUW220D.

3.2. Metodologias

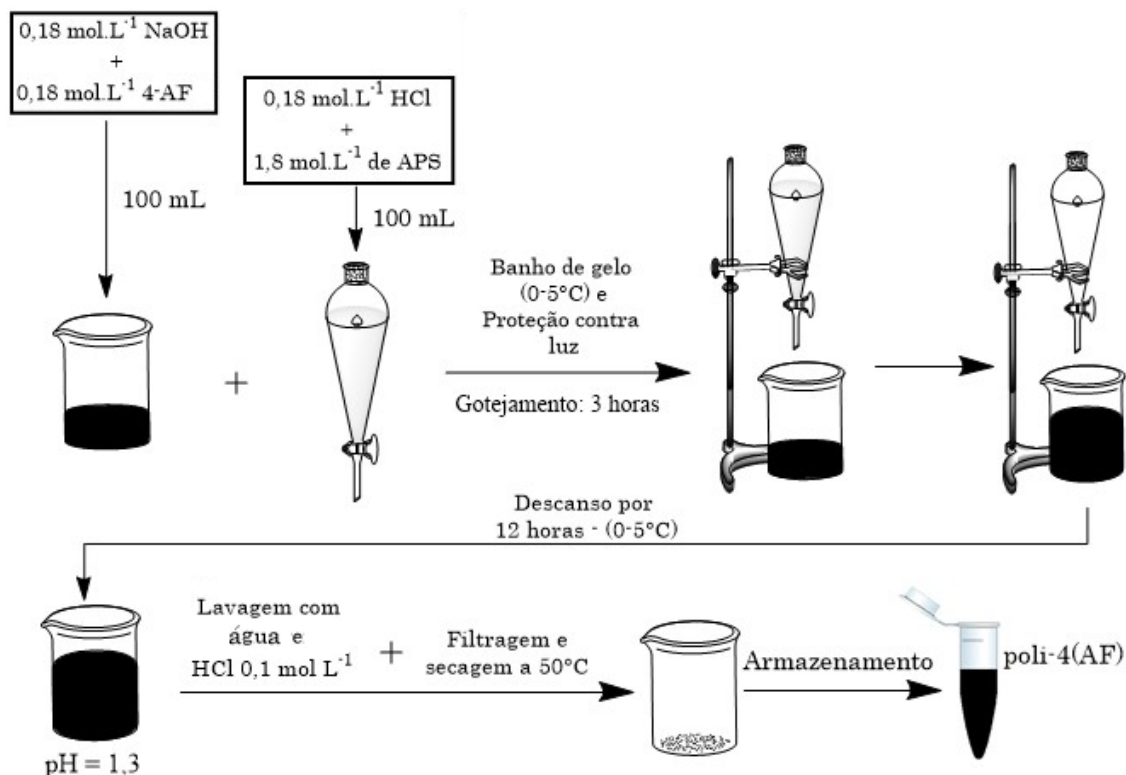
3.2.1. Síntese química do poli(4-aminofenol)

A síntese química do poli(4-aminofenol) foi realizada mediante a mistura de 100 mL de uma solução monomérica, contendo o monômero 4-aminofenol ($0,18 \text{ mol L}^{-1}$), hidróxido de sódio ($0,18 \text{ mol L}^{-1}$) e 100 mL de uma solução oxidante, contendo persulfato de amônio ($1,8 \text{ mol L}^{-1}$) e ácido clorídrico ($0,18 \text{ mol L}^{-1}$). A solução monomérica foi preparada a partir de 2,000 g do monômero 4-aminofenol e 0,733 g de hidróxido de sódio em água deionizada. Já a solução oxidante consistiu na adição de 152 mL de HCl e 41,760 g de persulfato de amônio em água deionizada. A solução de persulfato de amônio foi adicionada gota a gota à solução do monômero, num intervalo de 3 horas, com agitação em banho de gelo, com manutenção da temperatura reacional entre 0 e 5 °C.

A síntese foi realizada no escuro até o final para evitar processos oxidativos paralelos do monômero. Em seguida, a solução reacional ficou em repouso durante 12 horas na geladeira com o mesmo intervalo de temperatura (0 - 5 °C), formando-se uma solução mãe e um sólido escuro. Esta solução, que apresentou pH em torno de 1,3, foi filtrada a vácuo e o precipitado foi lavado com água deionizada em uma solução de HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$.

O precipitado foi levado à estufa à 50 °C por 24 h e estocado na geladeira. Um esquema representativo da síntese química do poli(4-aminofenol) é mostrado na Figura 19.

Figura 19 – Procedimento experimental de síntese do poli(4-aminofenol).



Fonte: o autor, 2018

3.2.2. Síntese da pasta de carbono

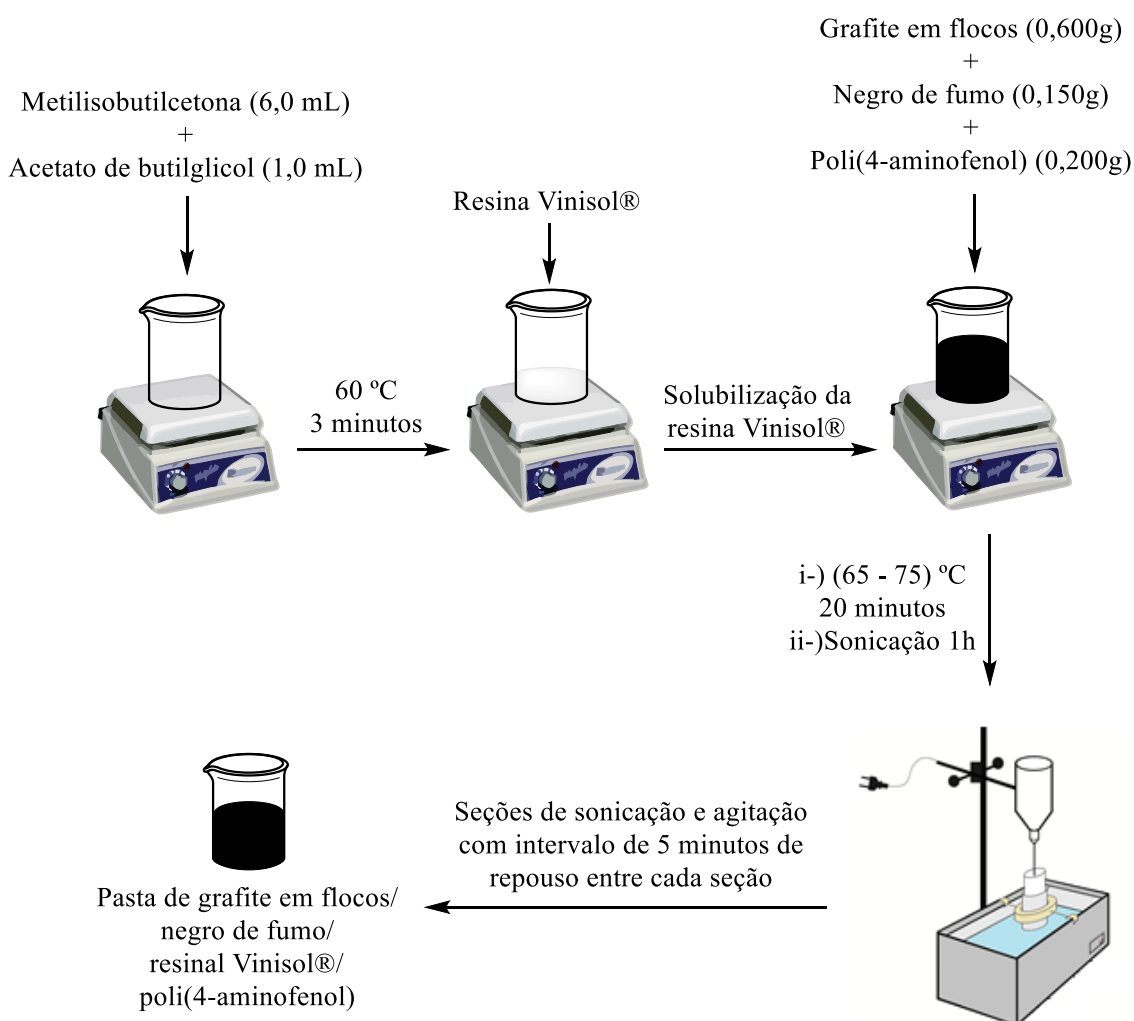
A pasta de carbono foi composta de grafite em flocos com uma gramatura de 325 mesh, negro de fumo, resina Vinisol® e poli(4-aminofenol) preparado quimicamente. Após diversos testes preliminares, a formulação escolhida foi a de 6,0 : 1,5 : 1,0 : 2,0 para grafite, negro de fumo, resina Vinisol® e poli(4-aminofenol), respectivamente. A primeira etapa foi a solubilização à quente (cerca de 60 °C) da resina Vinisol® (1,0 g) em 6,0 mL de metilisobutilcetona + 1,0 mL de acetato de butilglicol. Em seguida, após a solubilização da resina, foi adicionado o grafite em flocos (0,600 g), o negro de fumo (0,150 g) e o poli(4-aminofenol) (0,200 g), que é a parte condutora elétrica da pasta. Nesta primeira etapa de adição dos reagentes líquidos e sólidos, foi utilizado um transporte mecânico de massa, por meio de um agitador magnético.

Depois da homogeneização inicial, foi feita uma alternância entre a chapa aquecedora (65 – 75 °C, por 20 minutos) e o banho de ultrassom (utilização da agitação mecânica com auxílio das chicanas por meio de um rotor mecânico) durante 1 hora.

Este procedimento foi feito por 4 vezes. Observou-se uma queda no volume da solução em função da evaporação do solvente, e aumento da viscosidade da pasta de carbono.

O volume de pasta de carbono produzida com estas proporções e quantidades de solvente foi cerca de 20,0 mL. A Figura 20 mostra o preparo da pasta de carbono.

Figura 20 - Procedimento experimental da síntese da pasta de carbono.



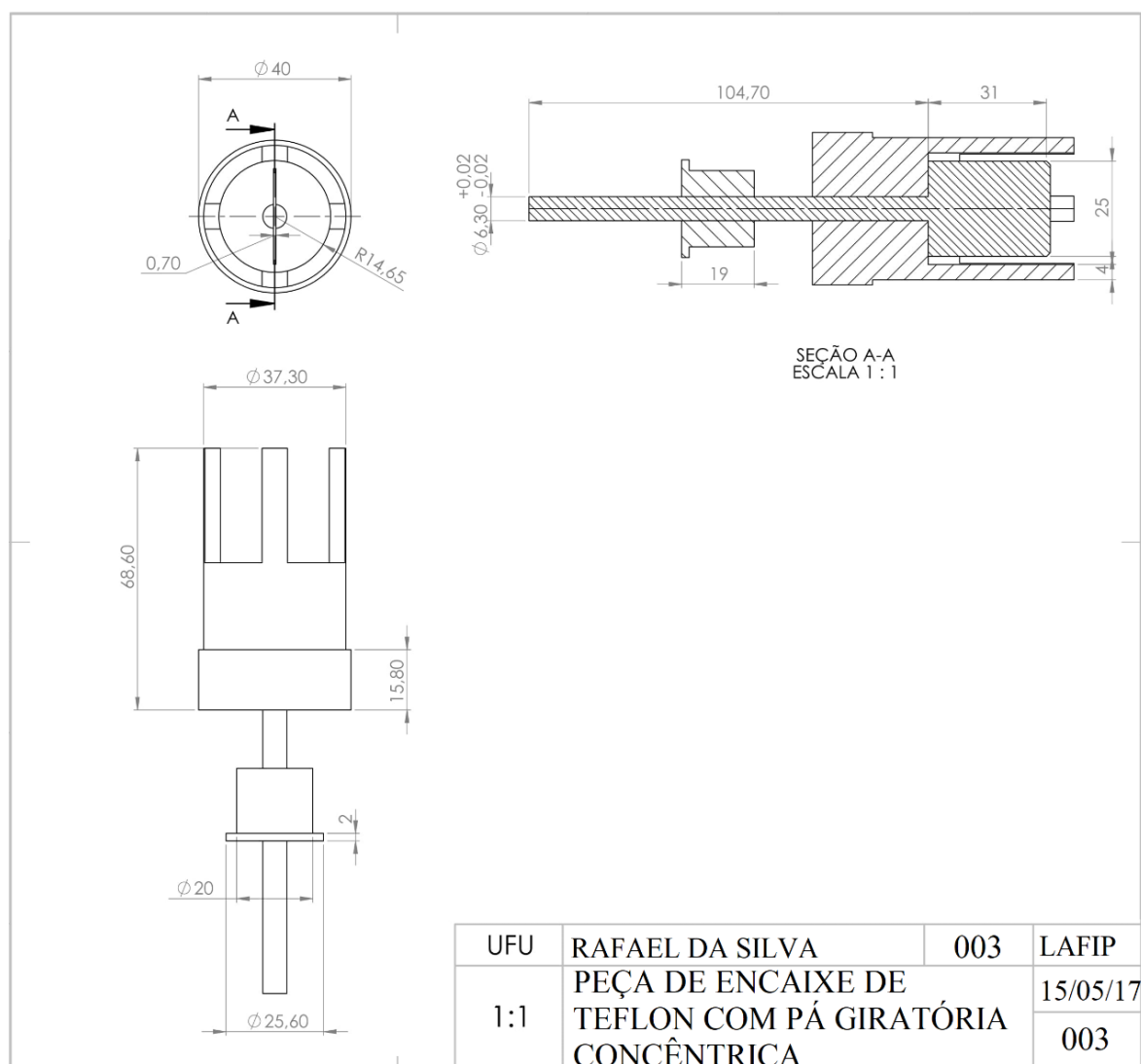
Fonte: o autor, 2018

3.2.3. Método de agitação e ultrassom

Visando obter uma melhor homogeneização da pasta de carbono, foram combinados dois métodos de mistura, entre eles o ultrassom (fenômeno da cavitação) e a agitação mecânica. O sistema de agitação mecânica consiste numa peça de Teflon® com encaixe em um béquer de 50 mL, a qual possui 4 chicanas que vão auxiliar na

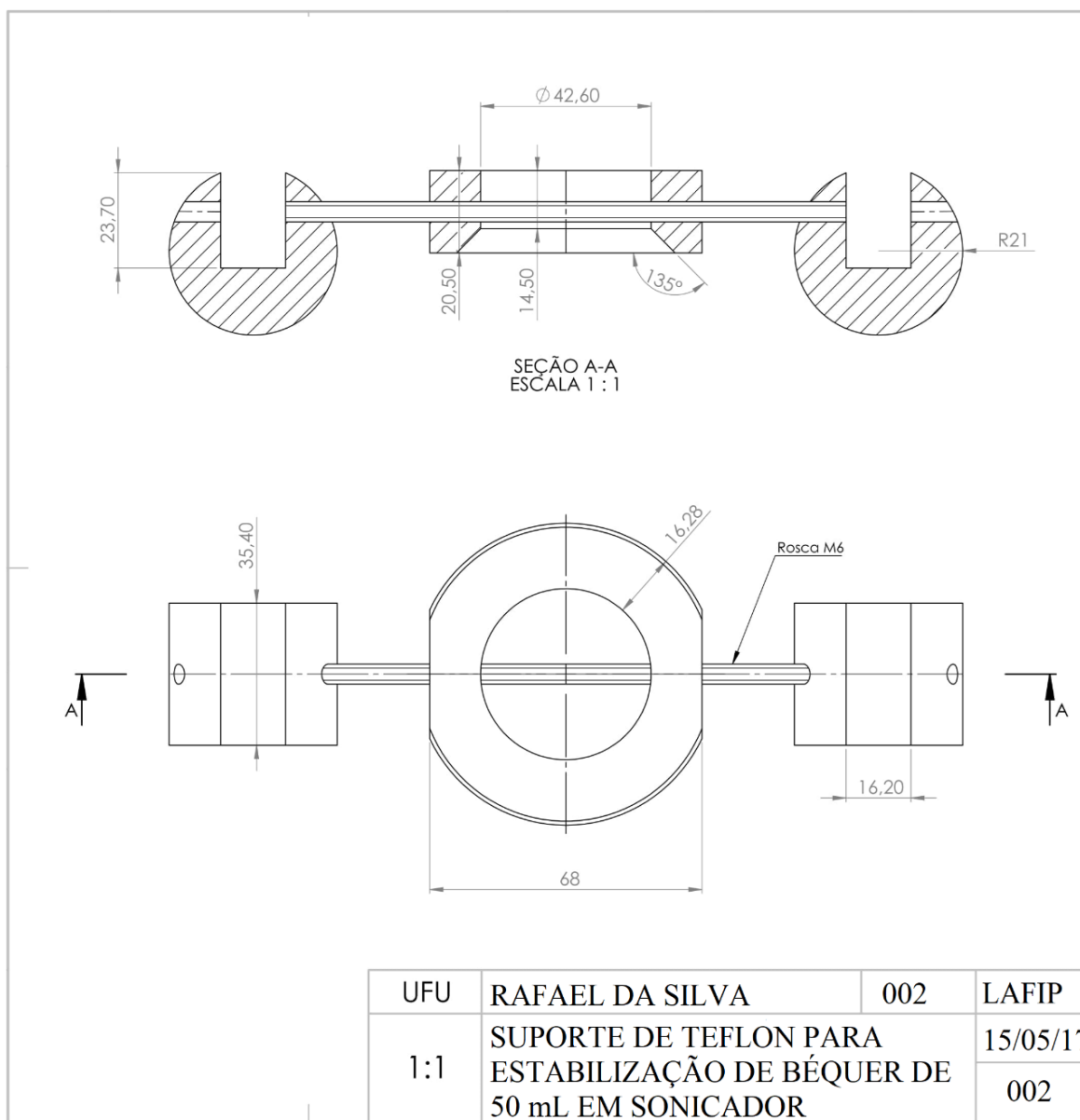
mistura (Figura 21). Para a estabilização deste béquer em um sonicador Maxi Clean 1600, com auxílio de garras, foi construído uma segunda peça (Figura 22). Esta segunda peça tem como objetivo manter o béquer estático dentro do sonicador para que não se movimente junto com a pá giratória quando esta sofrer agitação em virtude do rotor mecânico. Para realizar o movimento circular foi adaptado um rotor mecânico sobre o sonicador, no qual a pá giratória é acoplada em um mandril do próprio rotor mecânico. O sistema por inteiro pode ser melhor visualizado na Figura 23.

Figura 21 – Desenho técnico da peça de encaixe no béquer de 50 mL com pá giratória concêntrica.



Fonte: o autor, 2018

Figura 22 – Desenho técnico do suporte de teflon usado para estabilização do béquer de 50 mL no sonicador.



Fonte: o autor, 2018

Figura 23 – Sistema de ultrassom (Sonicador) e agitação mecânica (pá giratória acoplada a um mandril de um rotor mecânico).



3.2.4. Caracterização da pasta de carbono

Análises de infravermelho foram realizadas com o objetivo de avaliar as principais bandas da pasta de carbono, assim como para comparar com os espectros dos outros componentes da pasta. As leituras foram realizadas diretamente no cristal de seleneto de zircônio em um espectrofotômetro FTIR-ATR modelo Spectrum Two da Perkin Elmer, com uma resolução de 4 cm^{-1} num total de oito varreduras entre 600 e 4000 cm^{-1} , (Figura 34).

Figura 34 – Espectrofotômetro FTIR-ATR modelo Spectrum Two da Perkin Elmer.



As análises de difração de raio-X foram realizadas em um difratômetro de raios-X modelo XRD-6000 da Shimadzu com os seguintes parâmetros: radiação de Cu K α (1,5406 Å), ângulo de espalhamento de 5° à 85°, velocidade de varredura de 2 ° min⁻¹, potência de 40 kV, corrente de 30 mA e resolução de 0,02° (Figura 35).

Figura 35 – Difratômetro XRD-6000 da Shimadzu.



Análises da superfície dos materiais desenvolvidos foram efetuadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O polímero poli(4-aminofenol) foi solubilizado em acetona, gotejado e evaporado no suporte de leitura (“*stub*”). Para realizar a varredura microscópica da pasta de carbono seca e curada, foi realizado um pré-tratamento da pasta, no qual esta foi gotejada sobre uma superfície de vidro e secada ao ambiente. Em seguida a pasta seca foi retirada, por raspagem, e colocada sobre o *stub* de alumínio de leitura do microscópio eletrônico de varredura. Foram feitas duas análises na pasta de carbono, uma sem realizar o polimento e outra realizando o polimento no papel sulfite A4 Chamex Office 75 g/m², com o objetivo de fazer uma comparação da superfície, visto que antes de realizar a leitura eletroquímica é feito o polimento. O suporte foi colocado no metalizador Leica EM SCD050 e foi aplicado uma corrente de 75 mA, durante 180 s, para deposição do ouro. Em seguida, as amostras foram colocadas no microscópio eletrônico de varredura da Zeiss, EVO MA10, para obtenção das imagens, (Figura 36). As análises foram realizadas em um

microscópio eletrônico de varredura Zeiss EVO MA 10 com uma tensão de aceleração de 15,00 kV e ampliações de 1000x e 10000x.

Figura 36 – (a) Microscópio eletrônico de varredura ZEISS modelo EVO MA10 e (b) metalizador Leica EM SCD050.



As análises de viscosidade tiveram como objetivo avaliar a viscosidade da pasta de carbono recém preparada. O viscosímetro utilizado foi um reômetro Brookfield R/S plus (geometria cone & placa) acoplado ao *software* Rheo3000 (Figura 37), com controle de temperatura via banho termostático (TC – 602). Como o volume de amostra era pequeno foi utilizada a técnica cone-prato com *spindle* modelo 50-1.

Figura 37 – Reômetro Brookfield R/S plus com a amostra de pasta de carbono.



3.2.5. Aparatos eletroquímicos e preparo do eletrodo de referência

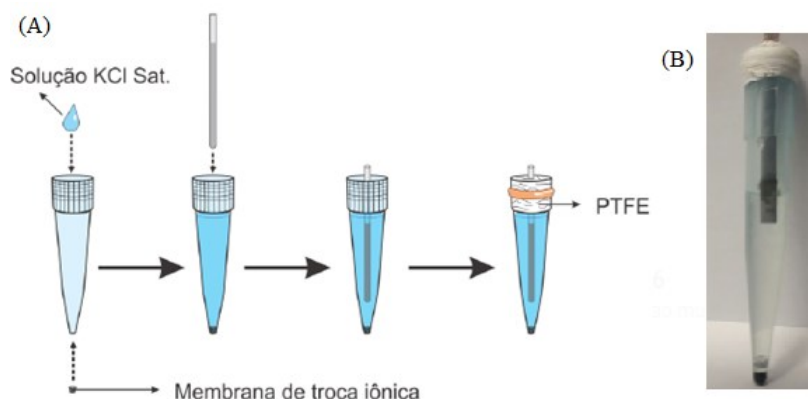
Para realizar as leituras eletroquímicas foi utilizado um potenciostato/galvonostato do tipo Autolab modelo PGSTAT302N do laboratório LAFIP-BioSENS. O programa/*software* utilizado para a aquisição das medidas foi o GPES. As técnicas eletroquímicas utilizadas foram voltametria cíclica (VC) e voltametria de pulso diferencial (VPD). A célula eletroquímica utilizada, com um volume aproximado de 50 mL, foi uma célula de três compartimentos. Para minimizar a queda ôhmica, um capilar de *Luggin* foi direcionado do compartimento do eletrodo de referência para o de trabalho. O contra-eletrodo utilizado foi um fio de platina em espiral com uma área geométrica de 232,5 mm² em que o contato elétrico foi feito diretamente no fio de platina. Para ele não ficar solto e ter um manuseio simples, este foi introduzido dentro de uma ponteira de 1 mL e vedado com fita veda rosca (Figura 39).

Figura 39 – Contra-eletrodo de fio de platina.



O eletrodo de referência utilizado foi de $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$ construído de maneira artesanal, no qual uma placa de prata de 99,9 % de pureza, de dimensões de 5,0 cm x 0,2 cm, foi polida com palha de aço e limpa com água deionizada em abundância. A placa de prata foi imersa em solução de HCl 0,1 mol L⁻¹ e submetida à técnica de cronoamperometria, sendo o fio de platina como contra-eletrodo e um outro eletrodo de $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(s)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$ utilizado como eletrodo de referência (eletrodo de referência comercial). O potencial aplicado foi de +0,7 V vs $\text{Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$ por 3 minutos. O armazenamento deste eletrodo foi em solução de KCl saturado ($\cong 3,0$ mol L⁻¹) contida em uma ponteira universal de 1,0 mL, em cuja extremidade foi inserida uma membrana de troca iônica semipermeável. A Figura 40 mostra uma melhor visualização do eletrodo de referência e da construção deste.

Figura 40 – (A) Construção do eletrodo de referência em etapas resumidas e (B) imagem do eletrodo de referência.



Fonte: adaptado²¹

3.2.6. Caracterização eletroquímica da pasta de carbono

Os eletrodos de trabalho recém construídos foram submetidos a testes para verificar a resistência elétrica dos mesmos, visto que há a possibilidade de formar sulcos na pasta na extremidade da ponteira, ocasionando aumento da resistência elétrica e impedimento da passagem de corrente elétrica. Para isso, foram feitas leituras em um multímetro, entre a ponta do fio de cobre e ponta da ponteira com a pasta de carbono, nas quais a resistência elétrica média deveria ficar entre 10 Ω e 25 Ω . Se os eletrodos ficassem com uma resistência acima disso, eram descartados.

Em seguida foi realizada a caracterização eletroquímica, na qual o eletrodo de trabalho foi mergulhado em uma solução contendo ácido perclórico 0,5 mol L⁻¹ e efetuadas voltametrias cíclicas entre +0,2 V e +1,0 V, 50 mV s⁻¹ até estabilização da corrente dos voltamogramas.

A estabilização de corrente ocorreu a partir da 15^a varredura com um valor aproximado de corrente na faixa de 60,0 – 100,0 μ A.

3.2.7. Imobilização de biomoléculas na plataforma do eletrodo de trabalho

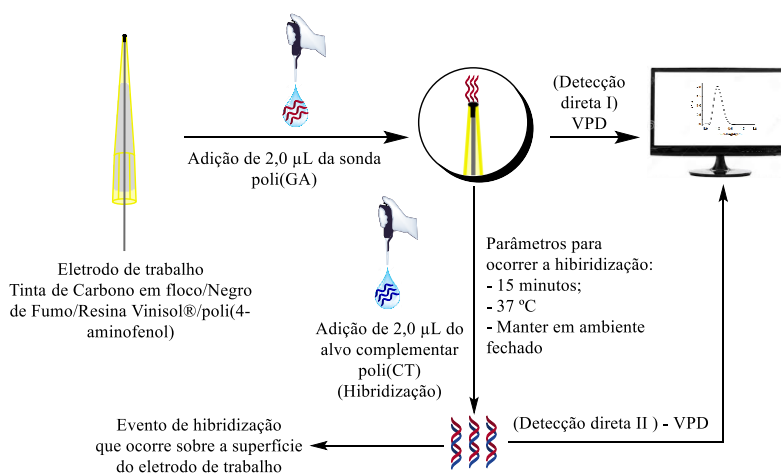
Oligonucleotídeos sintéticos foram imobilizados sobre a superfície do eletrodo de trabalho com o objetivo de avaliação de resposta da plataforma construída frente a biomoléculas modelo para biossensores de DNA. A detecção da sonda e do alvo complementar foi realizada de forma direta (sem a utilização de agente intercalantes)

por meio da voltametria de pulso diferencial (VPD), em eletrólito suporte tampão fosfato pH = 7,4 (0,10 mol L⁻¹). Os parâmetros empregados foram: amplitude de pulso de 0,07 mV e velocidade de varredura de 30 mV s⁻¹ com faixa de potencial entre +1,0 V e +1,4 V.

Os oligonucleotídeos sintéticos utilizados possuem 16 mer, sendo o [poli(GA)] (5'-GGG GGG GGA AAA AAA A-3') e [poli (CT)] (3'-CCC CCC CCT TTT TTT T-5'). Primeiramente foi construída a linha base dos eletrodos, no qual é realizada uma voltametria de pulso diferencial em tampão fosfato pH = 7,4 (0,10 mol L⁻¹) até a estabilização da corrente (quando os voltamogramas de pulso diferencial referente as linhas base estão sobrepostos), para a subsequente subtração e correção da linha base do voltamograma. Em sequência foram gotejados 2,0 µL da sonda poli(GA) sobre a superfície do eletrodo de trabalho e deixado em repouso por 15 minutos sob vácuo, seguido de lavagem em tampão fosfato pH = 7,4 (0,10 mol L⁻¹) por 10 segundos.

Para realizar a detecção da atividade eletroquímica da sonda poli(GA) sobre a superfície eletródica foi realizado uma varredura em VPD, caracterizados pela (Detecção direta I) na Figura 42. Depois, 2,0 µL do alvo poli(CT) foram gotejados sobre os outros eletrodos sensibilizados com a sonda e mantidos à 37 °C por 15 minutos. Neste caso, os eletrodos foram mantidos dentro de um recipiente fechado para evitar a evaporação do solvente, otimizando assim a hibridização. Após a interação, os eletrodos foram lavados em tampão fosfato por 10 segundos, secos à 37 °C em uma estufa e avaliado por VPD, caracterizados pela (Detecção direta II) na Figura 42. Para melhor visualização desta etapa de detecção do material biológico, ver Figura 42.

Figura 42 – Esquema representativo de detecção dos oligonucleotídeos.



Fonte: o autor, 2018

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

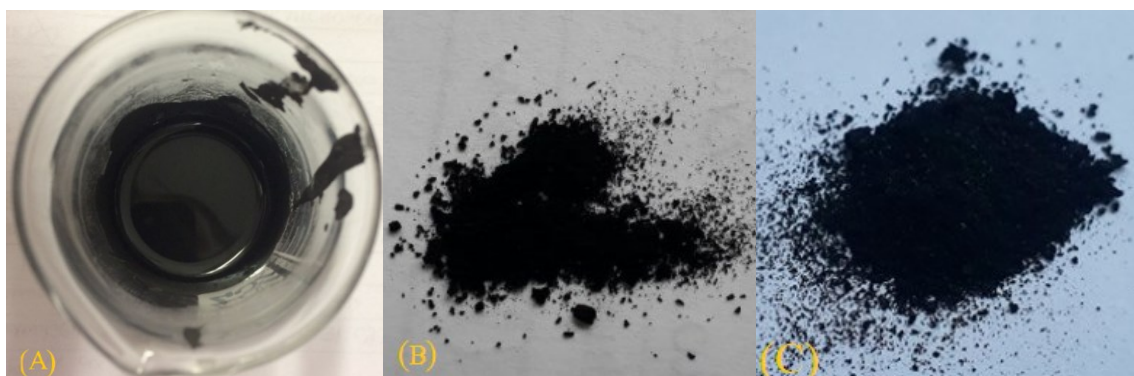
4.1. Caracterização do poli(4-aminofenol) e da pasta de carbono

Para a produção do eletrodo de trabalho foi necessária a preparação do poli(4-aminofenol) por via química, o qual foi utilizado na pasta de carbono contendo os outros componentes (negro de fumo, grafite em flocos e resina Vinisol[®], proporções de 1,5 : 6 : 1, respectivamente). Após a pasta de carbono ser preparada, esta foi submetida a algumas caracterizações, juntamente com o poli(4-aminofenol), para melhor entendimento da estrutura e morfologia destes. Visando efetuar a caracterização reológica de viscosidade, a pasta de carbono foi submetida a esta imediatamente após a síntese, para evitar que a evaporação do solvente não alterasse qualquer propriedade.

Para realizar as caracterizações de espectroscopia no infravermelho, difratometria de raios-X e microscopia eletrônica de varredura, a pasta de carbono e o poli(4-aminofenol) foram secos em uma estufa à aproximadamente 60 °C, para retirada do solvente (evaporação) e, posteriormente, macerados.

A pasta de carbono recém preparada apresenta coloração negra brilhante (Figura 43 A) e uma consistência/viscosidade mais líquida do que viscosa, que foi a adequada para o presente trabalho. Após o tratamento térmico, a pasta de carbono formou um pó em grânulos finos e quebradiços, com uma coloração preta (Figura 43 B). O poli(4-aminofenol), mostrado na Figura 43 C, também se encontra na forma de um pó de coloração negra, porém, visualmente, é verifica-se que a sua granulometria é maior que da pasta de carbono tratada termicamente.

Figura 43 – Imagens da pasta de carbono recém preparada (A) e após o tratamento térmico (B) e o poli(4-aminofenol) após o tratamento térmico, na forma de pó (C).



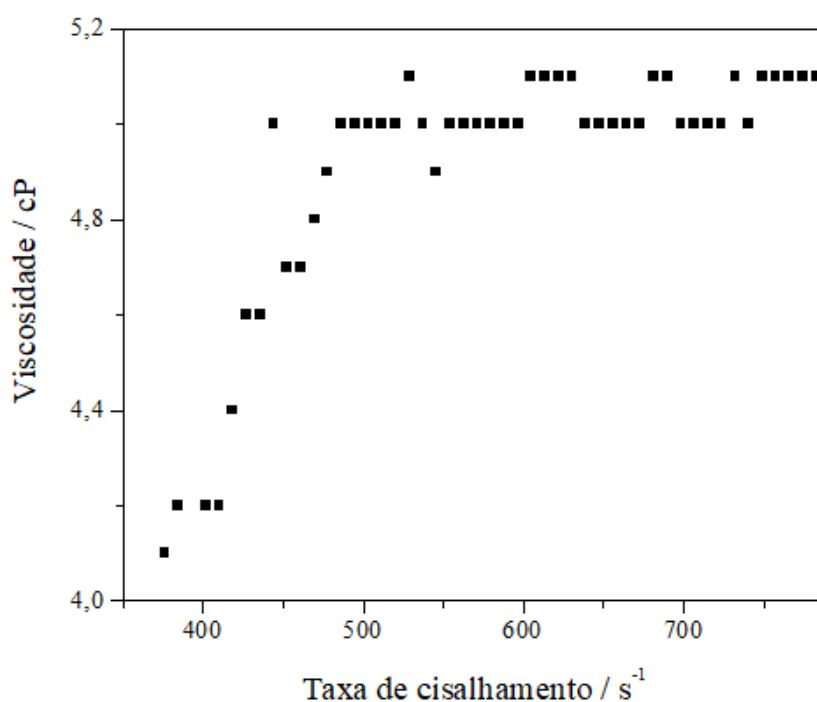
A consistência da pasta tem uma relação direta com a viscosidade, sendo uma importante propriedade, visto que influencia diretamente no momento de impressão/deposição ou reprodução da pasta de carbono.

4.1.1. Análise de Viscosidade da pasta de carbono

A reologia é o estudo da deformação e escoamento/fluxo da matéria sob a aplicação de forças de cisalhamento ou por tração^{200, 201}. A viscosidade é uma propriedade reológica que avalia a resistência à deformação progressiva por meio desta força de cisalhamento ou tração e que pode ser aumentada com o aumento da quantidade de material sólido ou aglutinantes em relação ao solvente utilizado^{202, 203}.

A pasta de carbono desenvolvida apresentou propriedades reopéticas (propriedade na qual a viscosidade de um fluido não newtoniano muda quando sofre uma perturbação mecânica, ou seja, aumenta com a taxa de cisalhamento) e um teor de 15,6 % (m/m) de material particulado, sendo este resultado semelhante aos encontrados na literatura^{204,205}

Figura 44 – Medida de viscosidade para a pasta de carbono em função da taxa de cisalhamento.



Fonte: o autor, 2018

Valores de viscosidade entre 4 e 12 centipoise (cP) entram na classificação de pasta de carbono²⁰⁶, sendo que a viscosidade da pasta do presente trabalho foi de 5 cP (Figura 44).

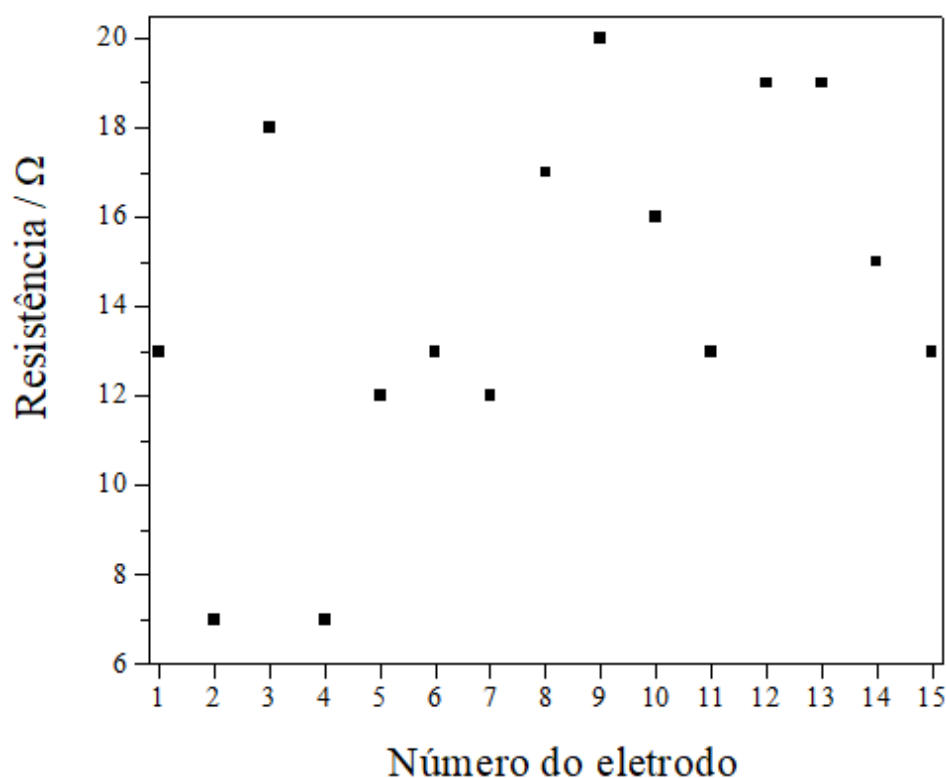
Um problema gerado ao possuir uma pasta de carbono com uma alta viscosidade seria, quando fosse realizar a secagem/cura desta, ocorresse a formação de sulcos nos vértices da cavidade destinada a deposição da pasta (principalmente no *bulk* do eletrodo) e, conseqüentemente, formaria uma pasta de carbono porosa. Para evitar tal problema, optou-se por trabalhar com uma pasta de carbono com baixa viscosidade, ou seja, com uma menor quantidade de material particulado em sua composição. O problema da porosidade, como dito no item 1.1, gera dificuldade na transferência eletrônica, ocasionando aumento da resistência elétrica.

A viscosidade da pasta de carbono produzida foi baixa (em torno de 5 cP), indicando que a quantidade de material particulado é pouca, ou seja, ainda havia uma grande quantidade de solvente na composição desta. Como os solventes utilizados (MIBC/ABG) são bem voláteis (Ponto de ebulição_{MIBC}: 131,6 °C; Ponto de ebulição_{ABG}: 126 °C)²⁰⁷, foram realizadas várias adições da pasta de carbono na cavidade, até a pasta ultrapassar o limite de altura da ponta da ponteira. Após a última seção de aquecimento, foi realizado um leve polimento da superfície de cada eletrodo de trabalho desenvolvido para averiguar a ausência de bolhas na cavidade, pois há a possibilidade de mais injeção de pasta e a recuperação da superfície do eletrodo. O problema gerado pela porosidade acarretaria no aumento significativo da resistência, assim como na possível ausência de condutividade entre o fio de cobre e a superfície do eletrodo de trabalho.

4.1.2. Análise da resistência elétrica da pasta de carbono seca/curada

Após 24 h de aquecimento dos eletrodos à aproximadamente 50 °C, como descrito no item 3.2.3., foi determinada a resistência elétrica do eletrodo de trabalho utilizando um multímetro. A Figura 45 mostra os resultados da avaliação da resistência elétrica de 15 eletrodos preparados com a pasta de carbono, em que a resistência elétrica se mostrou aceitável para os testes eletroquímicos, ou seja, da ordem de $10\ \Omega$ ^{208–210}. A média dos 15 eletrodos foi de $14,2 \pm 3,8\ \Omega$. Na literatura também são descritas resistências elétricas maiores, da ordem de 50 – 200 Ω , como observado em pastas de carbono com tricresil fosfato^{211,212} como aglutinante/dispersante.

Figura 45 – Resistência elétrica para um espaço amostral de quinze eletrodos.

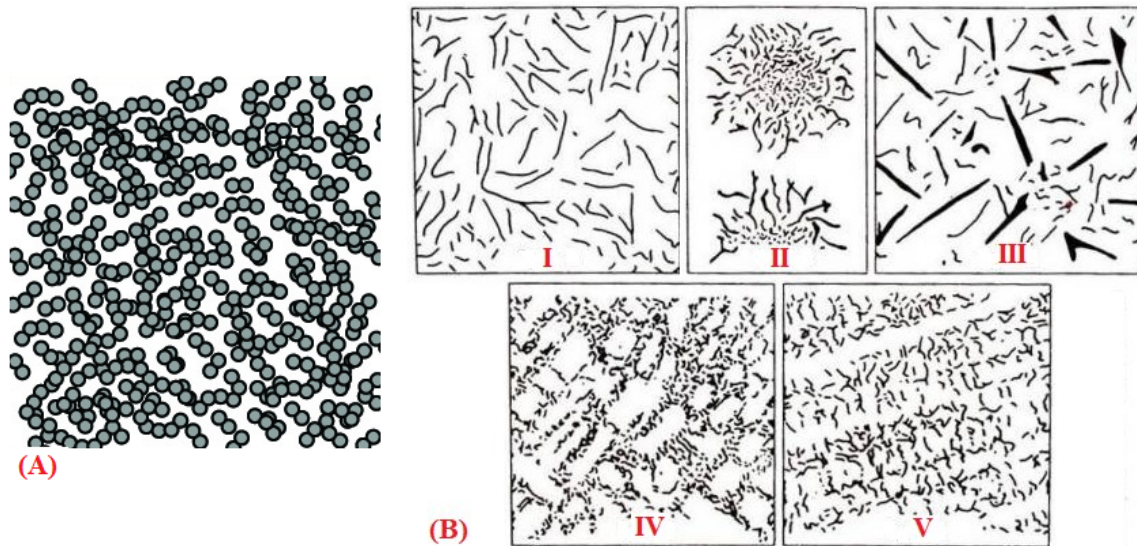


Fonte: o autor, 2018

4.1.3. Caracterização espectroscópica no Infravermelho dos materiais sintetizados

O negro de fumo é uma forma alotrópica do carbono e possui uma morfologia acinoforme em que suas cadeias estão todas “emaranhadas” e constituídas de “partículas primárias” esferoidais fortemente fundidas, ou seja, estão de forma aglomerada e uma irregular disposição no espaço²¹³ (Figura 46 A). Já o grafite em floco, possui planos basais sobrepostos de maneira irregular e com tamanhos diferentes, mas com o máximo de contato entre eles²¹⁴ (Figura 46 B).

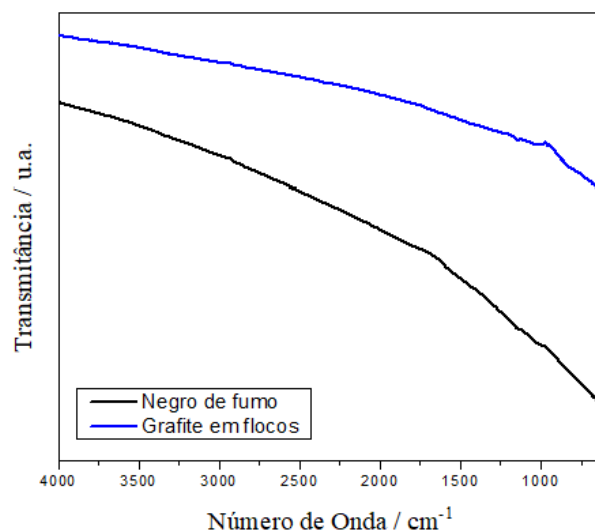
Figura 46 – Imagens representativas da estrutura do negro de fumo (A) e do grafite em flocos (B) nos seus cinco tipos: I-) distribuição uniforme, orientação aleatória; II-) Agrupamento de “rosetas”, orientação aleatória; III-) Flocos com tamanhos diferentes sobrepostos, orientação aleatória; IV-) Segregação interdendrítica, orientação aleatória; V-) Segregação interdendrítica, orientação preferencial.



Fonte: adaptado²¹⁴

O espectro de infravermelho do negro de fumo e do grafite em flocos está representado pela Figura 47.

Figura 47 – Espectro de infravermelho comparativo entre o negro de fumo e o grafite em flocos.

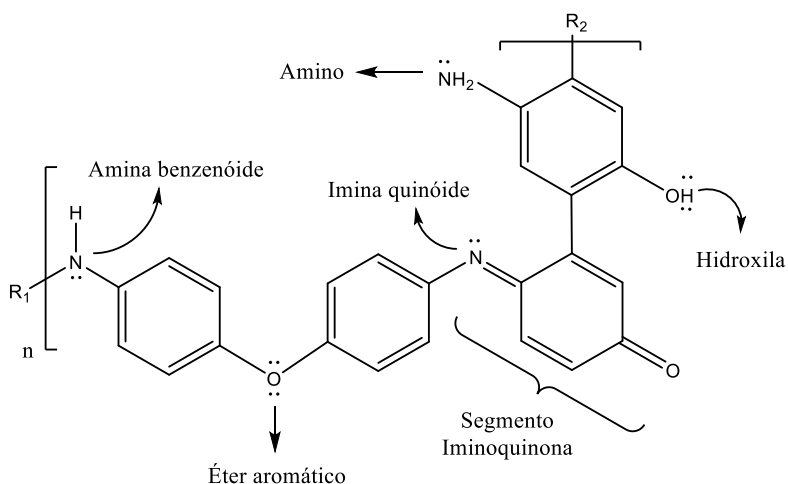


Fonte: o autor, 2018

O espectro de infravermelho representado na Figura 47 é do negro de fumo e do grafite em flocos, que foram os materiais carbonáceos utilizados na produção da pasta de carbono, e que foram responsáveis por conferir condutividade ao sistema. Como pode ser observado, o negro de fumo e o grafite em flocos não possuem funções orgânicas que influenciassem no espectro de infravermelho da pasta de carbono^{215 - 217}. Seria esperado que houvesse algumas bandas na região aproximada de 3000 cm^{-1} no espectro do grafite em flocos, entretanto, por este possuir uma simetria na sua estrutura faz com os momentos dipolos se cancelem.

O poli(4-aminofenol) é o polímero derivado da oxidação do monômero 4-aminofenol, o qual possui os grupos funcionais hidroxila (-OH) e amino (-NH₂) e estes grupos foram essenciais para a formação do polímero, por meio de acoplamentos anel/heteroátomo e anel/anell. Os principais grupamentos orgânicos encontrados no poli(4-aminofenol) são amina benzenóide, imina quinóide, iminoquinona e éter aromático, assim como os grupamentos hidroxila e amino livres (Figura 48).

Figura 48 – Formas representativas dos principais segmentos encontrados no poli(4-aminofenol), entre eles as amins benzenóides, iminas quinóides, iminoquinona, éter aromático, hidroxila e amino.

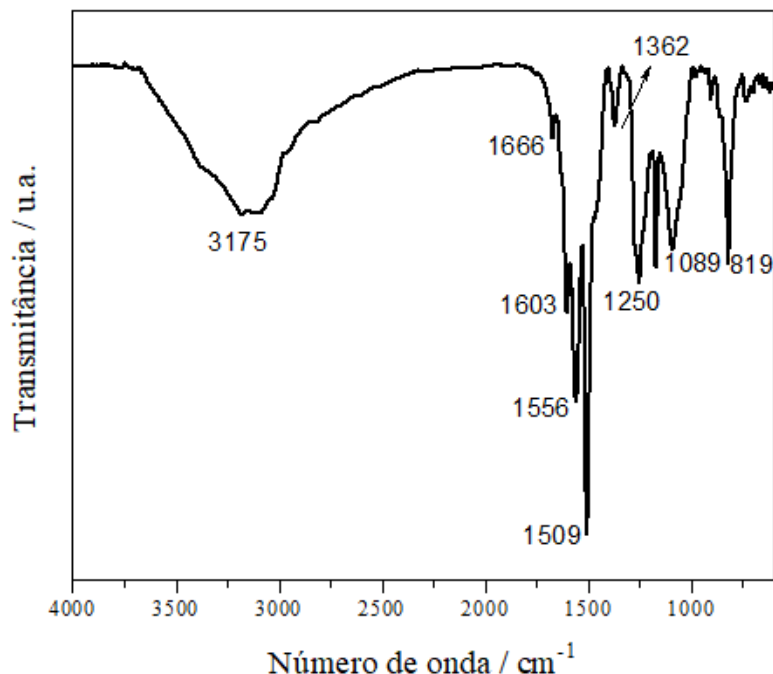


Fonte: o autor, 2018

Pelo espectro de infravermelho do poli(4-aminofenol), mostrado na Figura 49, é possível observar algumas bandas relacionadas a estiramento axial simétrico (1089 cm^{-1}) e axial assimétrico (1250 cm^{-1}) de éteres (C-O-C), estiramentos axiais de

imina quinóide ($R=N-R$) (1603 cm^{-1}) e de amina benzenóide ($R-NH-R$) (1556 cm^{-1}), indicando que a polimerização formou grupamentos de éter, amina e imina aromáticas.

Figura 49 – Espectro de infravermelho do poli(4-aminofenol).

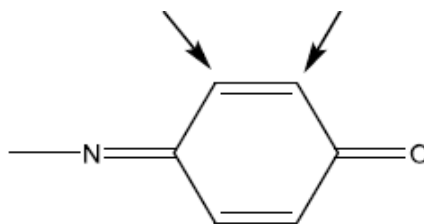


Fonte: o autor, 2018

As bandas das aminas benzenóides e iminas quinóides, obtiveram semelhança em relação ao número de onda das bandas do polímero do presente trabalho com a literatura^{169,170}. Como a ressonância da cadeia polimérica é alta (transferência de elétrons alta) ocorreu uma pequena deslocização (aproximadamente 50 cm^{-1})^{218 - 220} das bandas de amina benzenóide e imina quinóide para maiores números de onda.

Houve o aparecimento de uma banda intensa em 1509 cm^{-1} referente à ligação $C=C$ de anel aromático. Em 1666 cm^{-1} é possível encontrar uma pequena banda referente ao segmento iminoquinona (Figura 50), devido a maior quantidade de agente oxidante na síntese química, ocorrendo assim a oxidação da hidroxila e principalmente da amina livre na cadeia polimérica. As setas indicadas na Figura 50 mostram os possíveis sítios da molécula em que a polimerização pode dar continuidade, sugerindo um acoplamento anel/anéis ou heteroátomo/anéis.

Figura 50 – Forma iminoquinona e os sítios possíveis de continuidade da polimerização.



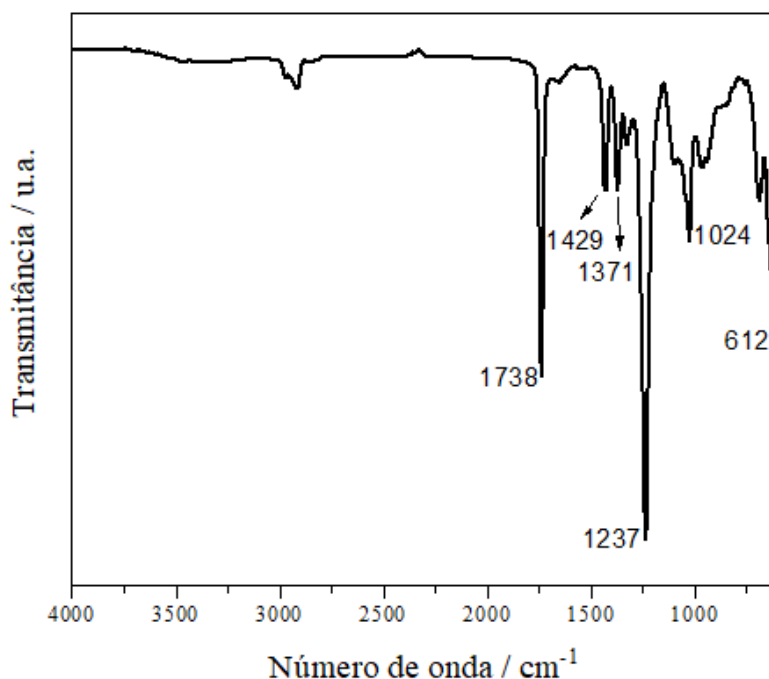
Fonte: o autor, 2018

Na região entre 3700 cm^{-1} e 2700 cm^{-1} é possível observar uma banda larga referente ao estiramento de -OH livre. Como nesta região ocorre a absorção referentes aos estiramentos simétricos e assimétricos da H_2O , sugere-se que dentre os retículos poliméricos da cadeia ocorreu a oclusão de moléculas de água, mesmo passando por um tratamento térmico antes da caracterização.

Outra banda de significativa importância é referente ao desdobramento no plano de -OH em 1362 cm^{-1} , sugerindo que nem toda hidroxila foi oxidada ou formou um éter com anel aromático. Para comprovar que o material polimérico foi dopado com o íon cloreto, é possível observar a banda de média intensidade do estiramento da ligação C-Cl em 819 cm^{-1} .

A Figura 51 representa o espectro da resina Vinisol® (copolímero do cloreto de vinila com acetato de vinila) que foi utilizado como aglutinante/dispersante da pasta de carbono.

Figura 51 – Espectro de infravermelho da resina Vinisol®.

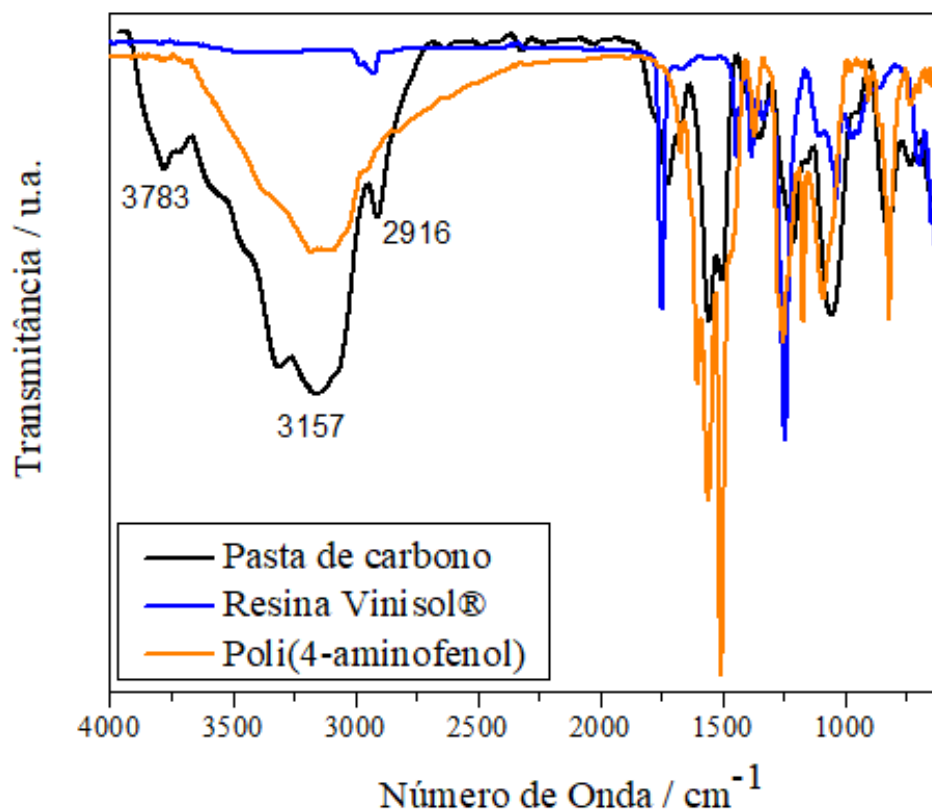


Fonte: o autor, 2018

De acordo com a Figura 51, é possível observar o espectro da resina Vinisol® no qual as principais bandas foram: 1738 cm⁻¹, referente ao estiramento simétrico de carbonila, 1429 cm⁻¹ referente a deformação angular de C-H, 1371 cm⁻¹ referente a deformação angular de C-H geminal, 1237 cm⁻¹, referente ao estiramento assimétrico de C-O-C, 1024 cm⁻¹, referente ao estiramento simétrico de C-O-C e 612 cm⁻¹ referente ao estiramento da ligação C-Cl.

Como a pasta de carbono é uma junção dos materiais citados acima, é de se esperar que a maioria das bandas sejam encontradas no espectro da pasta. Como somente o poli(4-aminofenol) e a resina Vinisol® apresentaram bandas no infravermelho médio analisado, tem-se que todas as bandas citadas acima foram encontradas no espectro de infravermelho da pasta de carbono. Para melhor visualização das bandas do poli(4-aminofenol) foi feita uma sobreposição dos espectros da resina Vinisol®, do poli(4-aminofenol) e da pasta de carbono, como pode ser observado na Figura 52.

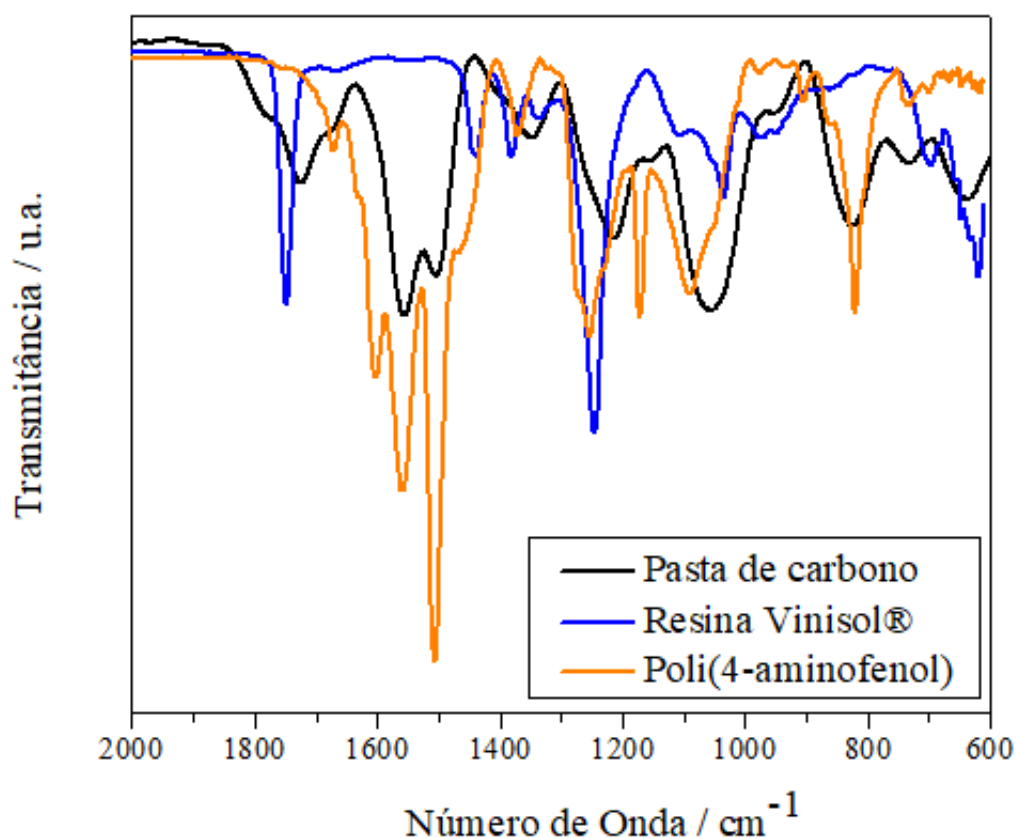
Figura 52 – Sobreposição dos espectros de infravermelho da pasta de carbono, resina Vinisol® e poli(4-aminofenol)



Fonte: o autor, 2018

As únicas bandas que surgiram no espectro da pasta (Figura 52), que não estavam presentes no espectro do poli(4-aminofenol) e da resina Vinisol® foram as observadas em 3783 cm⁻¹, referente ao estiramento axial de -OH livre e 2916 cm⁻¹ referente ao estiramento axial de C-H de alcano. Também foi observado um aumento da intensidade da banda referente ao estiramento axial intermolecular de -OH (ligação de hidrogênio intermolecular) no número de onda 3157 cm⁻¹. Fazendo uma ampliação da região entre 2000 cm⁻¹ e 600 cm⁻¹ pode-se observar melhor a sobreposição das bandas, assim como a distinção destas (Figura 53).

Figura 53 – Sobreposição dos espectros de infravermelho da pasta de carbono, resina Vinisol® e poli(4-aminofenol) entre 2000 cm^{-1} e 600 cm^{-1} .



Fonte: o autor, 2018

Como observado na Figura 53, no qual houve uma ampliação da região entre 600 cm^{-1} e 2000 cm^{-1} , a banda de C=C de anel aromático diminui do espectro do poli(4-aminofenol) para o espectro da pasta de carbono. Uma sugestão em relação a esse abaixamento, é que o sistema de agitação mecânica e ultrassom utilizado, quebrou as cadeias poliméricas em cadeias menores.

De acordo com a Tabela 3 é possível verificar os números de onda referentes às principais bandas observadas no poli(4-aminofenol), resina Vinisol® e a pasta de carbono.

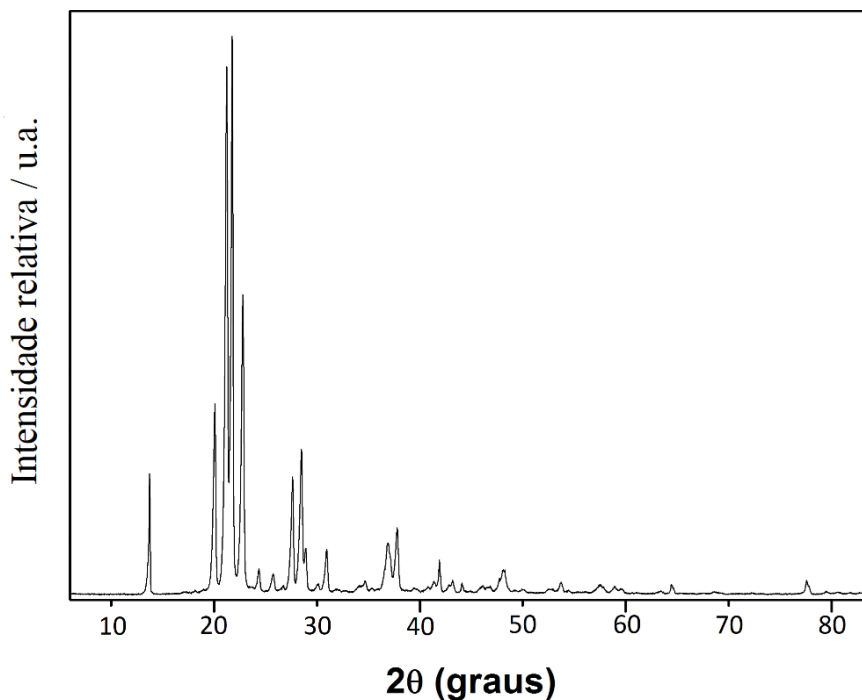
Tabela 3 – Principais bandas observadas nos espectros de infravermelho para o poli(4-aminofenol), resina Vinisol® e pasta de carbono

Amostra	Número de onda (cm⁻¹)	Modo de vibração
Poli(4-aminofenol)	3157	Estiramento axial intermolecular de -OH
	1666	Estiramento simétrico de iminoquinona
	1603	Estiramento axial de imina quinoide (R=N-R)
	1556	Estiramento axial de amina benzenoide (R-NH-R)
	1509	Estiramento de C=C de anel aromático
	1362	Estiramento angular de -OH livre
	1250	Estiramento axial assimétrico de C-O-C
	1089	Estiramento axial simétrico de C-O-C
	819	Estiramento axial da ligação C-Cl
Resina Vinisol®	1738	Estiramento axial de C=O
	1429	Estiramento angular de C-H
	1371	Estiramento angular de C-H geminal
	1237	Estiramento axial assimétrico de C-O-C
	1024	Estiramento axial simétrico de C-O-C
	612	Estiramento axial da ligação C-Cl
Pasta de carbono	3783	Estiramento axial de -OH livre
	2916	Estiramento axial de C-H de alceno

4.1.4. Caracterização estrutural difratométrica de raios -X dos materiais sintetizados

Quando é realizada uma polimerização, geralmente ocorre a mudança da estrutura do material, no qual foi observado na formação do poli(4-aminofenol) a partir do monômero 4-aminofenol. A Figura 54 representa o difratograma do monômero 4-aminofenol.

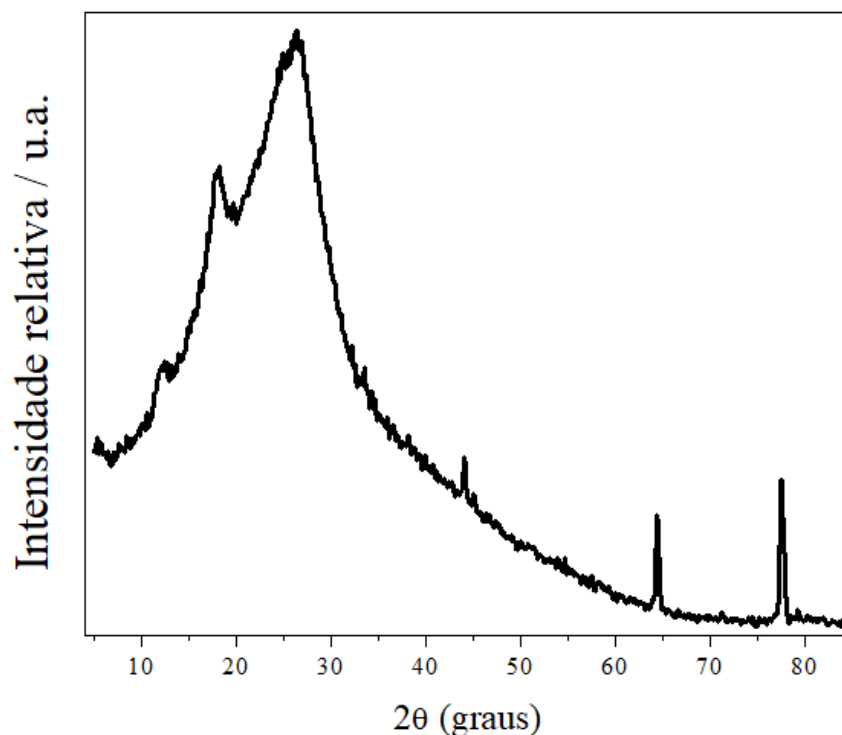
Figura 54 – Difratoograma do monômero 4-aminofenol.



Fonte: o autor, 2018

De acordo com a Figura 54, tem-se que os planos do monômero 4-aminofenol estão todos ordenados e organizados espacialmente, representados por picos agudos e com boa resolução. Em comparação com o poli(4-aminofenol), representado pela Figura 55, tem-se que houve a polimerização, visto que houve mudança do perfil e alargamento dos picos, sugerindo que o material passou a ser classificado como semi cristalino. Como houve uma mudança de cristalinidade, tem-se que o rearranjo conformacional dos planos poliméricos foram alterados, afirmando que o material ficou com uma estrutura irregular e tridimensional.

Figura 55 – Difratoograma do poli(4-aminofenol).



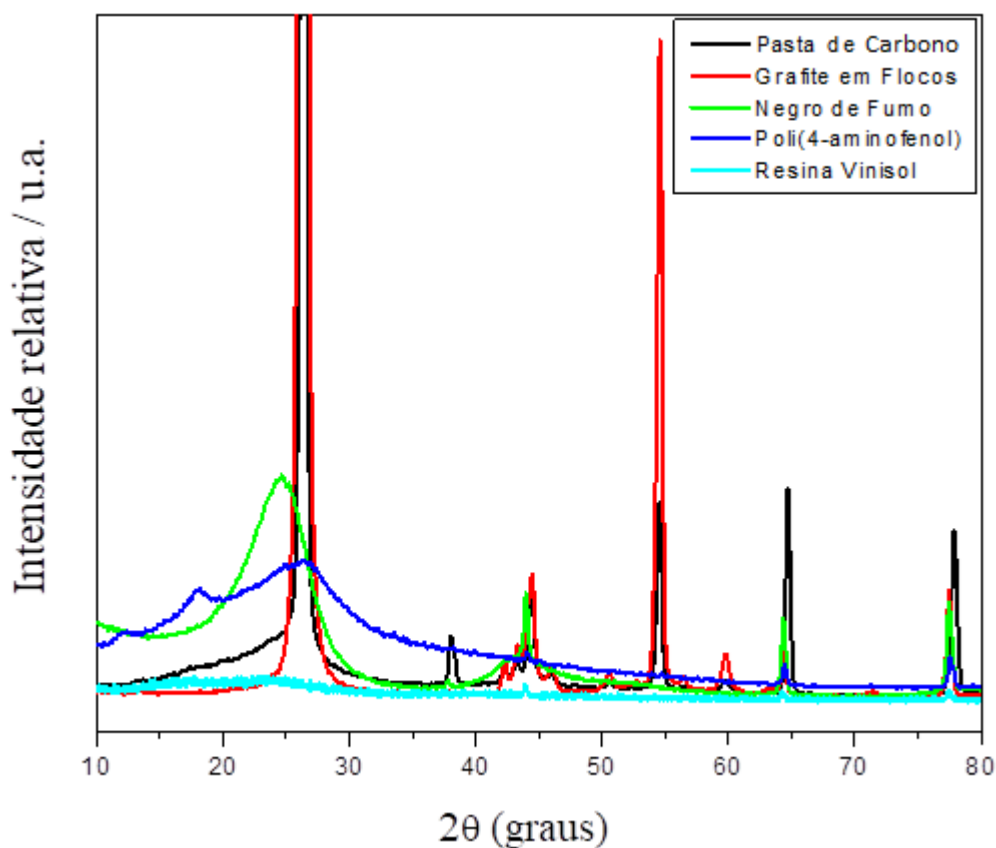
Fonte: o autor, 2018

O resultado mostrou que os picos característicos são de um material de baixa cristalinidade por possuir picos alargados, porém máximo agudos. Os picos de difração de Bragg do difratograma do poli(4-aminofenol) são $2\theta = 5,30^\circ$; $12,1^\circ$; $17,9^\circ$; $26,2^\circ$.

Os picos de difração de Bragg em $2\theta = 64,4^\circ$; $77,5^\circ$ representam o material de alumínio do porta amostra utilizado no laboratório de multiusuário do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.

A Figura 56 é um difratograma com os quatro componentes sólidos encontrados na pasta de carbono, entre eles o grafite em flocos, o negro de fumo, a resina Vinisol[®] e o poli(4-aminofenol), bem como o difratograma da pasta de carbono.

Figura 56 - Difrátograma comparativo entre a pasta de carbono e os quatro componentes sólidos que a compõem, entre eles: grafite em flocos, negro de fumo, resina Vinisol® e o poli(4-aminofenol).



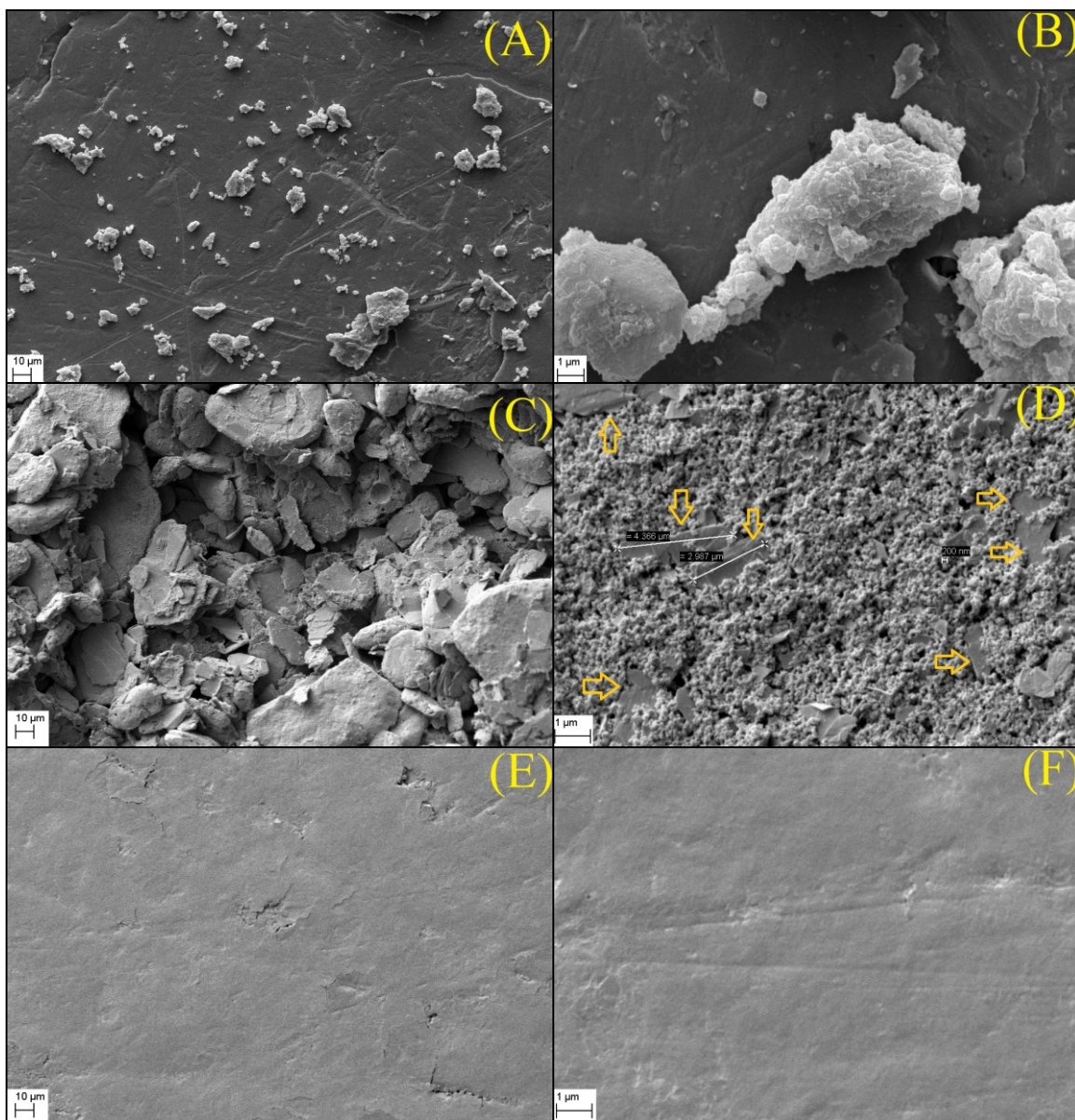
Fonte: o autor, 2018

Há o aparecimento de dois picos no difratograma do grafite em flocos, representado a sua alta cristalinidade, que também aparecem no difratograma da pasta de carbono, porém, houve uma diminuição da intensidade deles em virtude da incorporação dos outros componentes da pasta, que são semi-cristalinos, como a resina Vinisol®, o negro de fumo e o poli(4-aminofenol).

4.1.5. Caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura dos materiais sintetizados

A Figura 57 mostra um conjunto de imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) que comparam o poli(4-aminofenol) e a pasta de carbono seca/curada sem polir e polida.

Figura 57 – Microscopias eletrônicas de varredura do poli(4-aminofenol) (A e B), da pasta de carbono seca/curada sem polimento (C e D) e com polimento (E e F) nas magnificações de 1000x e 10000x.

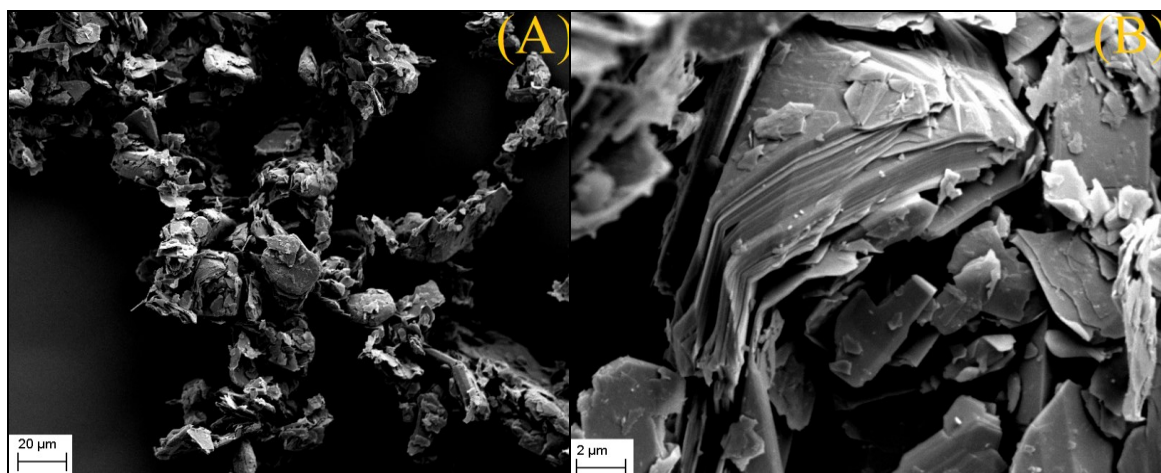


As Figuras 57 (A e B) representam as imagens de MEV do poli(4-aminofenol), nas quais é possível observar aglomerados, com tamanhos e superfícies semelhantes e homogêneos. Uma outra característica que se pode atribuir às imagens de microscopia do poli(4-aminofenol) é que os aglomerados lembram escamas sobrepostas e de formas irregulares.

As Figuras 57 (C, D, E e F) referem-se à pasta de carbono seca e curada, respectivamente. A Figura 57 (C e D) representa a pasta seca e curada sem polimento. A pasta seca apresentou cristais em pequenos flocos. Foi possível observar que a pasta seca apresentou cristais em pequenos flocos, no qual os flocos de grafite (Figura 57 C) possuem um tamanho maior em relação aos outros componentes da pasta. Ao observar a Figura 57 D tem-se que também há flocos de grafite (indicado pelas setas amarelas) com tamanho reduzido, na ordem de 2 a 4 micrômetros, e as pequenas esferas todas espalhadas pelos retículos são as moléculas de negro de fumo, que apresentam tamanho de aproximadamente 200 nm, conforme descrito na literatura (tamanho entre 80 e 800 nm)²¹³. As imagens de MEV representadas pela Figura 57 (E e F) retratam a superfície da pasta de carbono curada e polida. É possível observar que a superfície se mostrou homogênea com pequenos detalhes porosos, ou seja, sem nenhuma protuberância ou cavidade muito aparente.

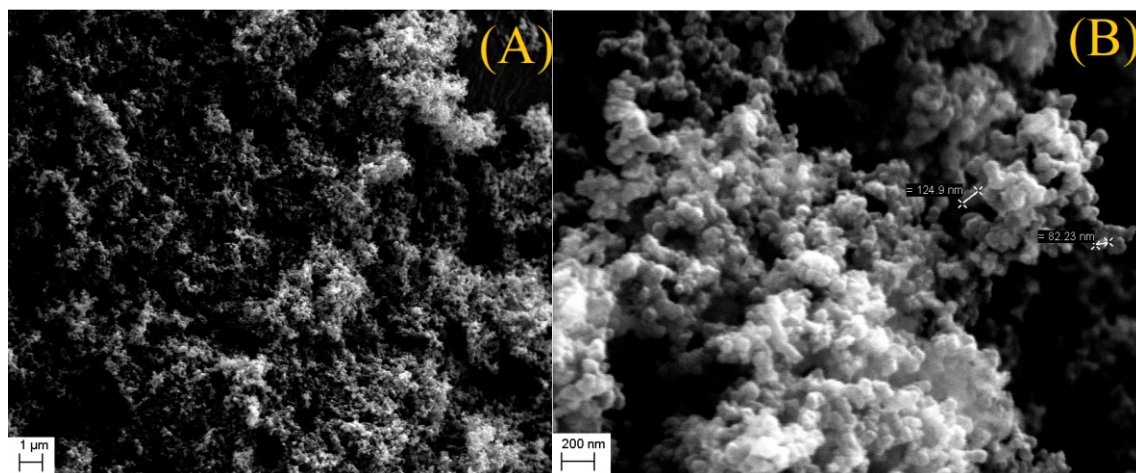
Já o poli(4-aminofenol), por estar na mesma faixa dimensional dos flocos de grafite, ou seja, na ordem de 10-15 micrômetros, não se torna evidente sua diferenciação, por apresentar comportamento espacial semelhante. Para uma melhor visualização desta diferença, a Figura 58 mostra o grafite em flocos cuja magnificação foi de 1000x e 10000x.

Figura 58 – Microscopia eletrônica de varredura para o grafite em flocos (A – 1000x e B – 10000x).



Para visualização das partículas aciniformes no negro de fumo foi realizada microscopia eletrônica de varredura deste material à uma magnificação de 10000x e 70000x (Figura 59).

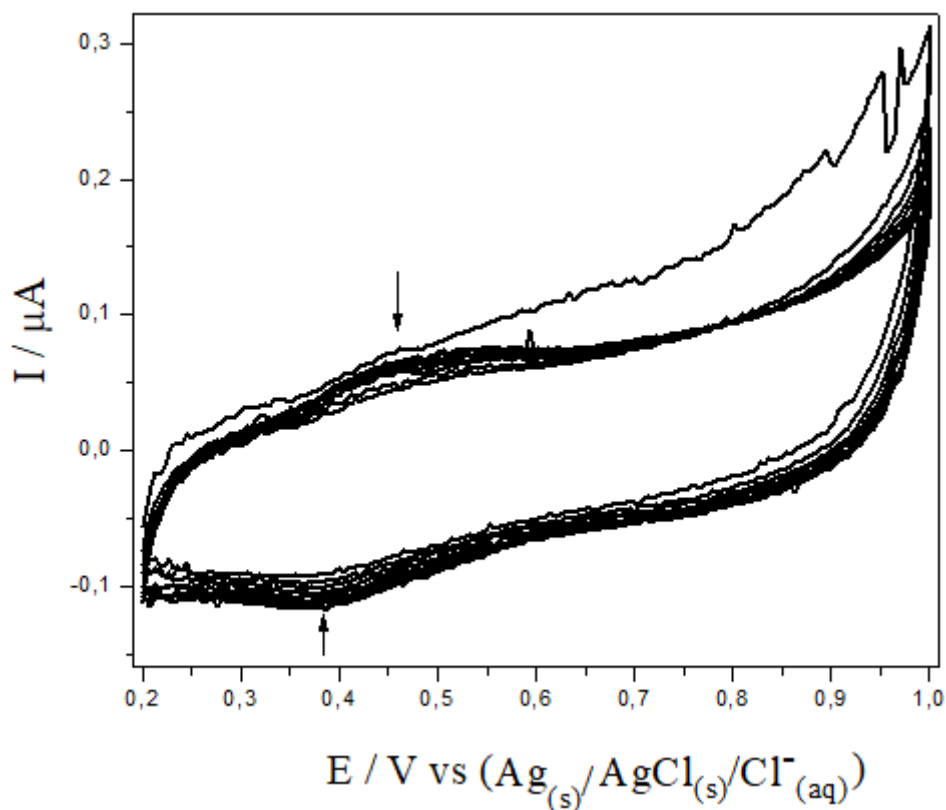
Figura 59 – Microscopia eletrônica de varredura do negro de fumo à 10.000x (A) e 70.000x (B).



4.1.6. Voltametria cíclica da pasta de carbono

A pasta de carbono também foi sintetizada sem a presença do poli(4-aminofenol), com o objetivo de ter uma melhor concepção dos picos de oxidação e redução que apareceram na pasta com a presença do polímero, assim como servir de parâmetro comparativo. Para realizar uma limpeza eletroquímica da superfície do eletrodo e verificar o perfil eletroquímico desta, foram realizadas varreduras de potencial por voltametria cíclica. A Figura 60 apresenta o voltamograma cíclico para a pasta de carbono como eletrodo de trabalho sem a presença de poli(4-aminofenol).

Figura 60 - Voltamogramas cíclicos utilizando eletrodo de trabalho produzido com a pasta de carbono sem a presença do poli(4-aminofenol), em HClO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), 50 mV s^{-1} .

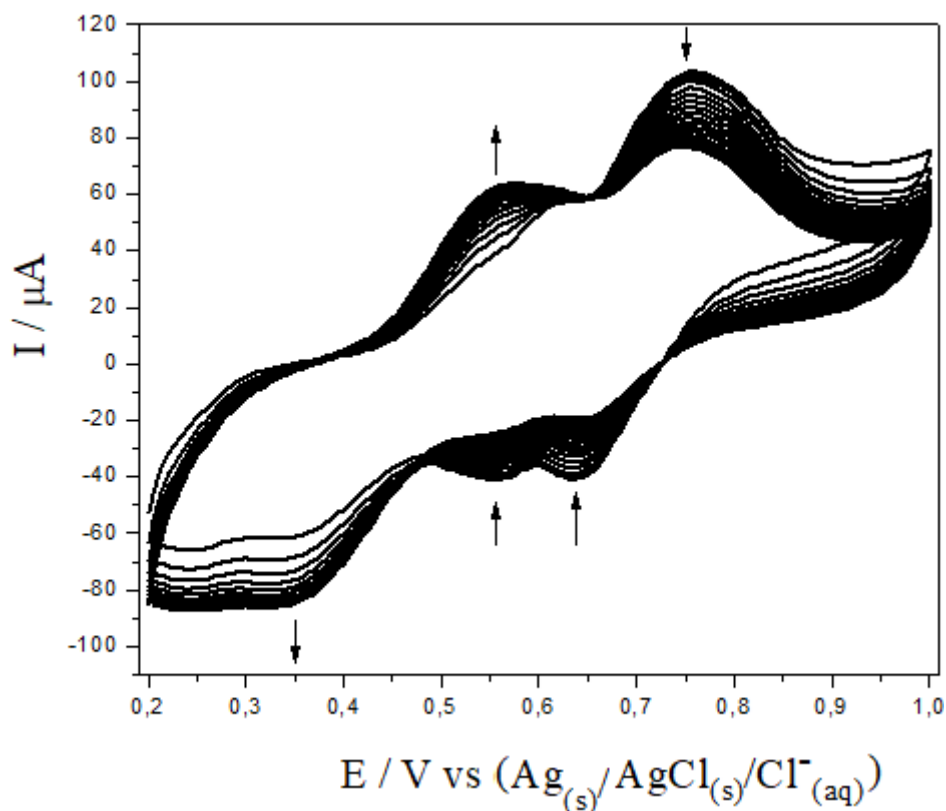


Fonte: o autor, 2018

Como é possível observar pela Figura 60, o perfil eletroquímico do voltamograma cíclico da pasta de carbono sem o poli(4-aminofenol) foi faradaico com a presença de picos sutis de oxi-redução, um pico anódico em $0,45 \text{ V vs Ag(s)/AgCl(aq)/Cl}^{-}(\text{aq})$ e um pico catódico em $0,38 \text{ V vs Ag(s)/AgCl(aq)/Cl}^{-}(\text{aq})$. As setas indicam que existia algum material sobre a superfície do eletrodo de trabalho provindo da pasta de carbono ou do seio da solução que foi consumido no decorrer da reação, assim como a possibilidade de formação de óxidos sobre a superfície do eletrodo.

A Figura 61 mostra o voltamograma cíclico da pasta de carbono com a presença do poli(4-aminofenol). As varreduras foram realizadas em HClO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ até total estabilização da corrente (praticamente constante), que foi a partir da 15ª varredura em um valor de corrente de pico, aproximadamente, $75 \text{ } \mu\text{A}$ para o potencial de $0,75 \text{ V vs Ag(s)/AgCl(aq)/Cl}^{-}(\text{aq})$.

Figura 61 – Voltamogramas cíclicos utilizando eletrodo de trabalho produzido com a pasta de carbono com a presença do poli(4-aminofenol), em HClO_4 ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$), 50 mV s^{-1} .

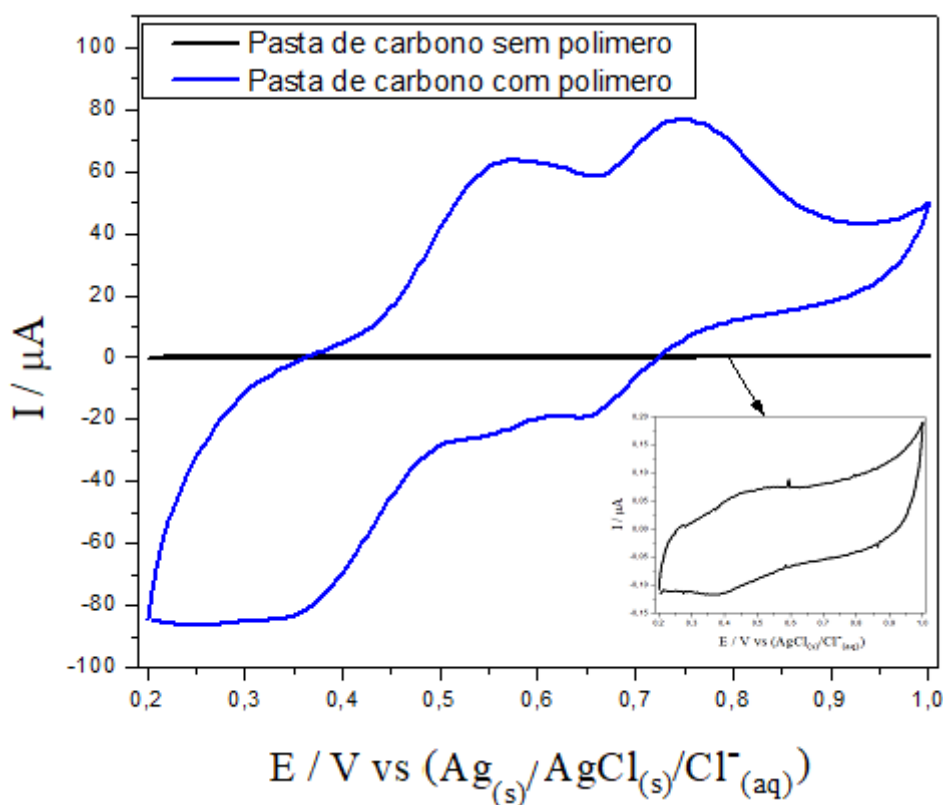


Fonte: o autor, 2018

Os picos de oxidação em $0,55 \text{ V vs Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$ e $0,75 \text{ V vs Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$ e os de redução em $0,35 \text{ V vs Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$, $0,55 \text{ V vs Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$ e $0,63 \text{ V vs Ag}_{(s)}/\text{AgCl}_{(aq)}/\text{Cl}^{-}_{(aq)}$, evidenciam a presença de um material eletroativo na estrutura da pasta de carbono, sugerindo que sejam dos grupamentos aminos livre provindos do poli(4-aminofenol). Os valores de potencial de oxidação e redução para o poli(4-aminofenol) citados acima estão de acordo com a literatura^{128,130}.

Para uma melhor visualização dos picos de oxidação e redução do poli(4-aminofenol) foi realizada uma sobreposição da última varredura cíclica do voltamograma cíclico da pasta de carbono com e sem o poli(-4aminofenol) na composição (Figura 62).

Figura 62 – Voltamogramas cíclico sobrepostos obtidos, utilizando a pasta de carbono com e sem a presença do poli(4-aminofenol) como eletrodo de trabalho em um eletrólito suporte de HClO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Velocidade de varredura: 50 mV s^{-1} ; Ciclo voltamétrico: 15ª varredura.

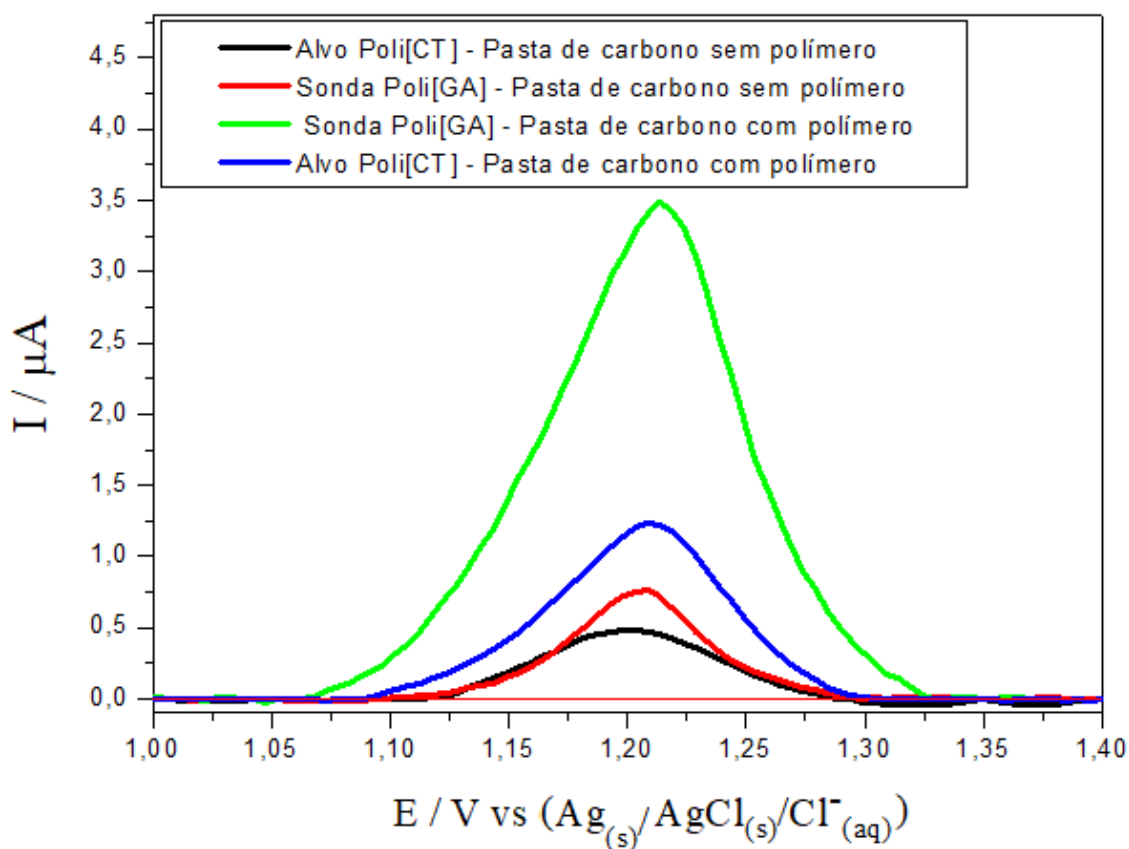


Fonte: o autor, 2018

4.2. Imobilização do oligonucleotídeo na superfície da pasta de carbono

A fim de verificar a potencialidade da plataforma para o desenvolvimento de genossensores, uma sonda de oligonucleotídeo poli[GA] (5'-GGG GGG GGA AAA AAA A-3') foi imobilizada por adsorção, seguido da incubação com o alvo complementar poli[CT] (3'-CCC CCC CCT TTT TTT T-5'). Foi avaliada a detecção direta em solução de tampão fosfato de sódio do pico de oxidação da adenosina. A Figura 63 representa os voltamogramas de pulso diferencial da imobilização da sonda poli[GA] e hibridização do alvo complementar poli[CT] na pasta de carbono na ausência e na presença do poli(4-aminofenol) em sua composição.

Figura 63 – Voltamograma de pulso diferencial da pasta de carbono na ausência e na presença do poli(4-aminofenol) como eletrodo de trabalho em tampão fosfato ($0,10 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,4). (—) Alvo Poli[CT] – Pasta de carbono sem polímero; (—) Sonda Poli[GA] – Pasta de carbono sem polímero; (—) Sonda Poli[GA] – Pasta de carbono com polímero; (—) Alvo Poli[CT] – Pasta de carbono com polímero. Velocidade de varredura: 20 mV s^{-1} ; Amplitude de pulso: 25 mV .



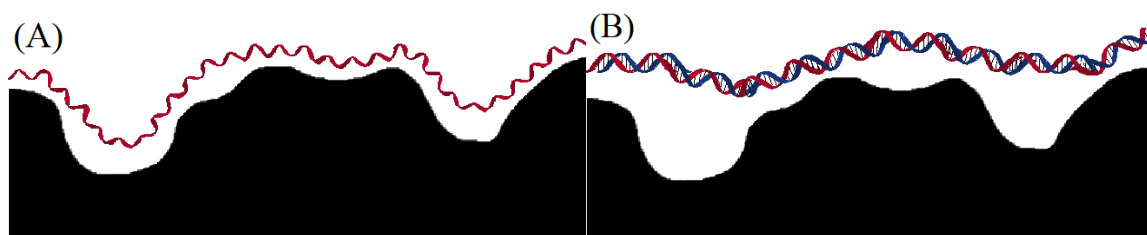
Fonte: o autor, 2018

A Figura 63 demonstra que a sonda poli[GA] foi imobilizada sobre a superfície, uma vez que o pico de oxidação em $1,21 \text{ V}$ é referente à oxidação da adenosina. As duas pastas de carbono (ausência e presença do poli(4-aminofenol)) obtiveram o mesmo potencial de oxidação. Quanto a corrente observada nos voltamogramas, tem-se que houve uma maior diferenciação para a hibridização entre as bases nitrogenadas ocorrida na pasta de carbono contendo o poli(4-aminofenol), assim como uma maior quantidade de sonda poli[GA] imobilizada sobre a superfície do eletrodo. Após a interação com o

alvo poli[CT], observou-se uma diminuição no valor de corrente de 3,48 μA (curva verde) para 1,23 μA (curva azul), indicando que houve a hibridização (decréscimo para cerca de 1/3 do valor de corrente inicial).

Esta diminuição de corrente observada nos voltamogramas, ocorre devido a simples fita possuir uma maior flexibilidade na estrutura da fita simples permitindo maior proximidade com a superfície do eletrodo, facilitando assim, a oxidação das bases nitrogenadas. Após a hibridização e consequentemente formação das ligações de hidrogênio da dupla hélice, essa estrutura se torna mais rígida conforme demonstrado na Figura 64. Neste caso, dificultando a oxidação das bases nitrogenadas, podendo ser observada pela diminuição do valor de pico de corrente. A Figura 64 ilustra esse processo de interação da superfície do eletrodo de trabalho com a simples fita e a dupla fita.

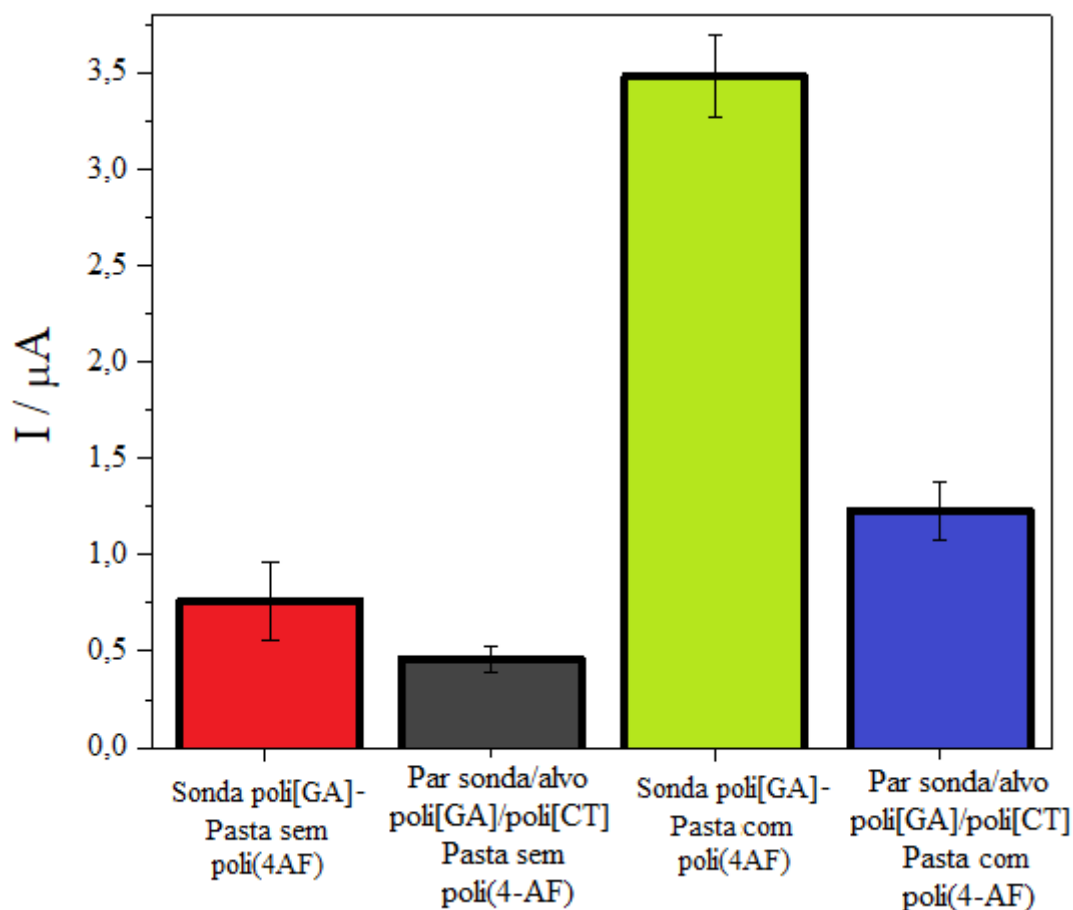
Figura 64 – Processo de interação entre a simples fita poli[GA] (A) e a dupla fita poli[GA]:poli[CT] (B) com a superfície do eletrodo de trabalho.



Fonte: o autor, 2018

A Figura 65 mostra o histograma referente à corrente de pico de oxidação da adenosina, antes e após a hibridização para as pastas de carbono na ausência e na presença de poli(4-aminofenol) e os valores obtidos mostraram um valor de desvio padrão médio de 4,5% (campo amostral $n=5$).

Figura 65 – Histograma em função da corrente de pico da sonda poli[GA] e o alvo complementar poli[CT] para a pasta de carbono com e sem poli(4-aminofenol) em sua composição, representando a hibridização. n=5.



Fonte: o autor, 2018

Houve uma redução para cerca de 1/3 do valor de corrente inicial da sonda poli[GA] para a corrente obtida após a hibridização com o alvo complementar poli[CT], na pasta de carbono contendo o poli(4-aminofenol) em sua composição. Este resultado indica que a incorporação do polímero na pasta de carbono aumentou significativamente a imobilização da sonda poli[GA], assim como hibridizar uma maior quantidade de poli[CT] à sonda poli[GA].

5. CONCLUSÕES

A síntese química do poli(4-aminofenol) utilizando persulfato de amônio como agente oxidante, na proporção 1:10 de monômero:oxidante, se mostrou satisfatória para obtenção do produto desejado. Este polímero foi utilizado como um dos componentes da pasta de carbono, que foi preparada a partir do grafite, negro de fumo, resina Vinisol® e o poli(4-aminofenol), utilizando o par de solventes metilisobutilcetona/acetato de butilglicol. A caracterização realizada por espectroscopia no infravermelho para o poli(4-aminofenol) retratou bandas relacionadas aos grupamentos oxigenados e nitrogenados. Já para a pasta de carbono sintetizada, apresentou as bandas respectivas ao poli(4-aminofenol) e à resina Vinisol®, sendo que tais grupamentos são essenciais para a imobilização dos oligonucleotídeos. Quanto a caracterização por difratometria de raios-X, têm-se que a maior porção da pasta (grafite em floco) é cristalina com picos estreitos e agudos já os outros elementos da pasta, são semi-cristalinos. Com a formação da pasta, houve uma pequena diminuição dos picos característicos do grafite encontrados nesta, tendendo a concluir que houve uma diminuição da cristalinidade da pasta de carbono em virtude dos outros materiais semi-cristalinos. As caracterizações realizadas por MEV demonstraram que os componentes da pasta de carbono foram discriminados um dos outros nas imagens da pasta, assim como não houve nenhuma cavidade aparente até uma magnificação de 10.000x na superfície do eletrodo polida. A viscosidade da pasta de carbono foi determinada e comparada com a literatura, estando na janela de viscosidade indicada para classificação de pasta e não de tinta. Ademais, esta foi adequada para o trabalho desenvolvido, sendo possível sua deposição na cavidade destinada à pasta no eletrodo de trabalho desenvolvido, assim como a viabilidade de produzir uma pasta sem porosidade. Análises eletroquímicas realizadas por voltametria cíclica, forneceram valores de potenciais de oxidação e redução que nos permitiu comparar a pasta de carbono com e sem poli(4-aminofenol) em sua composição. Tais caracterizações foram essenciais para determinar a estrutura e composição do polímero e da pasta preparada, viabilizando a construção do eletrodo de trabalho. O eletrodo de trabalho desenvolvido foi feito a partir de materiais de baixo custo, entre eles o fio de cobre, ponteira de polipropileno e a pasta

de carbono em pequenas quantidades. Os resultados obtidos suportaram a possibilidade de imobilização dos oligonucleotídeos na superfície do eletrodo de trabalho contendo a pasta de carbono com poli(4-aminofenol) em sua composição, assim como a hibridização destes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ADAMS, R.N. Carbon paste electrodes, **Analytical Chemistry**, 30, 1576, 1958.
<https://doi.org/10.1021/ac60141a600>
- 2 –ADAMS, R.N. Carbon paste electrodes: A review. **Polarography**, 11. 71-78, 1963.
<https://doi.org/10.5189/revpolarography.11.71>
- 3 –HEYROVSKÝ, J. Elektrolýsa se rtufovou kapkovou katódou. **Chemické listy**, 16, 256-264, 1922.
- 4 –COOPER, W.C., WRIGHT, M.M. Dropping mercury electrode apparatus. **Analytical chemistry**, 22, 1213-1214, 1950.
<https://doi.org/10.1021/ac60045a042>
- 5 – GIGUERE, P.A., LAMONTAGNE, D. Polarography with a dropping gallium electrode. **Science**, 3, 1954.
- 6 –ESCUE, R.B., TIDWELL, T.H., DICKIE, D.K. The dropping gallium electrode in fused LiNO₃ – KNO₃ eutetic. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 12, 220-224, 1966.
- 7 –SVANCARA, I., KALCHER, K., WALCARIUS, A., VYTAS, K. **Electroanalysis with carbon paste electrodes**. Boca Raton, London, New York: CRC Press, 10-126. 2012.
- 8 - SVANCARA, I., HVIZDALOVA, M., VYTRAS, K., KALCHER, K., NOVOTNY, R. A microscopic study on carbon paste electrodes, **Electroanalysis**, 8, 61-65, 1996.
<https://doi.org/10.1002/elan.1140080113>
- 9 - APETREI, C., APETREI, IM., DE SAJA, J. A., RODRIGUEZ-MENDEZ, M. L. Carbon Paste Electrodes Made from Different Carbonaceous Materials: Application in the Study of Antioxidants. **Sensors**, 11, 1328-1344, 2011.
<https://doi.org/10.3390/s110201328>
- 10 - MALHOTRA S. L., BOILS, D. C. **Ink compositions containing ketones**. Patente: Privilégio de inovação. US5902390 A. 11 maio 1999. Instituto de registro: USPTO - United States Patent and Trademark Office.
- 11 – Tinta condutiva: Disponível em: <<https://smtnet.com/library/files/upload/Conductive-Inks-Advances.pdf>>. Acesso em: 15/11/2017.
- 12 - KRIHA, J. A., HOWELLS, S. D. **Conductive ink formulations**. Patente: Privilégio de inovação. US7857997 B2. 28 dezembro 2010. Instituto de registro: USPTO - United States Patent and Trademark Office.
- 13 - ALI, M. K. **Ink jet composition**. Patente: Privilégio de inovação. WO2009034394 A1. 19 março 2009. Instituto de registro: GBO – United Kingdom Office.
- 14 - HUNGER, K. **Industrial dyes: Chemistry, properties and application**. Wiley-VCH: Weinheim, 505, 2003.
- 15 - RAYMOND A. S. **Principles of physics**. 2.ed. Fort Worth, Texas, London Saunders College Pub, 602, 1998.
- 16 - SHRIVER, D.F., ATKINS, P. W. **Química Inorgânica**. Tradução Roberto de Barros Faria. – 4. Ed. – Porto Alegre: Bookman, 342, 2008.
- 17 – Estrutura do grafite: Disponível em: <<https://asbury.com/technical-presentations-papers/introduction-to-graphite/structural-description/>> Acesso em: 08/12/2017.
- 18 – Tamanho de partícula: Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/chemistry/stockroom-reagents/learning-center/technical-library/particle-size-conversion.html>>. Acesso em: 03/02/2018.

- 19 - DE PAULA, L., MADURRO, J. M., MADURRO, A. G. B. **Composição e método de preparo de tinta condutiva de prata**. Patente: Privilégio de inovação. BR102013 0014591A2. 26 agosto 2014. Instituto de registro: INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial.
- 20 - MANTELL, C.L. **Carbon and graphite handbook**. New York: John Wiley e Sons, 61, 1968.
- 21 - DE PAULA, L. F. **Desenvolvimento de tintas condutivas e sua aplicação em eletrodos Impressos**. 2013, 178 p. Tese (Pós-graduação em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia - MG.
- 22 – WANQIN, J., PENG, J., CHU, Z..Advanced nanomaterial inks for screen-printed chemical sensors. **Sensors and Actuators B**, 243, 919-926, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.022>
- 23 - KEIL, R. G. Resistive electrodes effects on cyclic voltammetry. **Journal of Electrochemical Society**, 133, 1375-1379, 1965.
- 24 - CONNOR, M., DEMPSEY, E., SMYTH, M. R., RICHARDSON, D. H. S. Determination of some metal ions using lichen-modified carbon paste electrodes. **Electroanalysis**, 3, 331-336, 1991.
<https://doi.org/10.1002/elan.1140030414>
- 25 – RAMOS, J.A., BERMEJO, E., ZAPARDIEL, A., PÉREZ, J. A., HERNANDEZ, L. Direct determination of lead by bioaccumulation at a moss-modified carbon paste electrodes. **Analytica Chimica Acta**, 273, 219-227, 1993.
[https://doi.org/10.1016/0003-2670\(93\)80161-D](https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)80161-D)
- 26 – NAVARATNE, A., RECHNITZ, G.A. Improved plant tissue-based biosensor using in-vitro cultured tobacco callu tissue. **Analytica Chimica Acta**, 257, 59-66, 1992.
[https://doi.org/10.1016/0003-2670\(92\)80150-6](https://doi.org/10.1016/0003-2670(92)80150-6)
- 27 – WIJESURIYA, D., RECHNITZ, G.A. Mixed carbon paste-pea seedling electrochemical sensor for measuring plant growth-regulating activity of amines. **Analytica Chimica Acta**, 243, 1-8, 1991.
[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)82533-7](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)82533-7)
- 28 – OUANGPIPAT, W., LELASATTARATHKUL, T., DONGDUEN, C., LIAWRUANGRATH, S. Bioaccumulation and determination of lead using treated-Pennsetum-modified carbon paste electrode. **Talanta**, 61, 455-464, 2003.
[https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(03\)00316-3](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(03)00316-3)
- 29 – WANG, J., LIN, M.-S. Dual electrode configurations with a plant tissue as generator reactor. **Analytica Chimica Acta**, 218, 281-290, 1989.
[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)80304-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)80304-9)
- 30 – CUMMINGS, E.A., MAILLEY, P., LINGUETTE-MAILLEY, S., EGGINS, B. R., MCADAMS, E. T., MCFADDEN, S. Amperometric carbon paste biosensor based on plant tissue for the determination of total flavanol content in beers. **Analyst**, 123, 1975-1980, 1998.
<https://doi.org/10.1039/a804021d>
- 31 – FORZANI, E.S., RIVAS, G.A., SOLIS, V.M. Amperometric determination of dopamine on vegetal-tissue enzymatic electrodes. Analysis of interferers and enzymatic selectivity. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 435, 77-84, 1997.
- 32 – FATIBELLO FILHO, O., LUPETTI, K.O., VIEIRA, L.D. Chronoamperometric determination of paracetamol using an avocado tissue (*Persea americana*) **Biosensor Talanta**, 55, 685-692, 2001.
[https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00482-9](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00482-9)
- 33 – KOZAN, J.V.B., SILVA, R. P., SERRANO, S. H. P., LIMA, A. W. O., ANGNES, L. Amperometric detection of benzoyl peroxide in pharmaceutical preparations using

carbon past electrodes with peroxides naturally immobilized on coconut fibers. **Biosensors and Bioelectronics**, 25, 1143-1148, 2010.

<https://doi.org/10.1016/j.bios.2009.09.044>

34 – ITO, Y., YAMAZAKI, S., KANO, K., IKEDA, T. *Escherichia coli* and its application in a mediated amperometric glucose sensor. **Biosensors and Bioelectronics**, 17, 993-998, 2002.

35 – ERDEM, A., KERMAN, K., MERIC, B., AKARCA, U. S., OZSOZ, M. Novel hybridization indicator methylene blue for the electrochemical detection of short DNA sequences related to the hepatitis-B virus. **Analytica Chimica Acta**, 422, 139-140, 2000.

[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)01058-8](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)01058-8)

36 – TORIMURA, M. MIKI, A., WADANO, A., KANO, K., IKEDA, T. Electrochemical investigation of photoreduction catalyzed by cyanobacteria *Synechococcus* sp. PCC7942 in exogenous quinones and photoelectrochemical oxidation of water. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 496, 21-28, 2001.

37 – KUREISHI, Y., SHIRAISHI, H., TAMIAKI, H. Self-aggregate of synthetic zinc chlorins as the photosensitizer on carbon paste electrodes for a novel solar cell. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 496, 13-20, 2001

38 – WANG, J., LIU, J., CEPRA, G. Thermal stabilization of enzymes immobilized within carbon paste electrodes. **Analytical Chemistry**, 69, 3124-3127, 1997.

<https://doi.org/10.1021/ac9702305>

39 – FLECHSIG, G. –U., KORBOUT, O., HOCEVAR, S. B., THONGNGAMDEE, S., OGOREVC, B., GRUNDLER, P., WANG, J. Electrically heated bismuth-film electrode for voltammetric stripping measurements of trace metals. **Electroanalysis**, 14, 192-196, 2002.

[https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200202\)14:3<192::AID-ELAN192>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200202)14:3<192::AID-ELAN192>3.0.CO;2-6)

40 – LOPES DA SILVA, W.T., THOBIE-GAUTIER, C., REZENDE, M. O. O., MURR, N. E., Electrochemical behavior of Cu(II) on carbon paste electrode modified by humic acid. A cyclic voltammetry study. **Electroanalysis**, 14, 71-77, 2002.

[https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200201\)14:1<71::AID-ELAN71>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200201)14:1<71::AID-ELAN71>3.0.CO;2-B)

41 – WANG, J., KAWDE, A.N. Magnetic-field stimulated DNA oxidation. **Electrochemistry Communications**, 4, 349-352, 2002.

[https://doi.org/10.1016/S1388-2481\(02\)00311-9](https://doi.org/10.1016/S1388-2481(02)00311-9)

42 – DUNWOODY, D.C., UNLU, M., WOLF, A. K. H., GELLETT, W. L., LEDDY, J. Magnet incorporated electrodes: Methods for construction and demonstration of increased electrochemical flux. **Electroanalysis**, 17, 1487-1494, 2005.

<https://doi.org/10.1002/elan.200503297>

43 – KAUFFMANN, J.-M., LAUDET, A., PATRIARHE, G. J. The graphite spray electrode and its application in the anodic stripping voltammetry of bismuth. **Analytica Chimica Acta**, 135, 153-158, 1982.

[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)85275-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)85275-2)

44 – KAUFFMANN, J. –M., LAUDET, A., PATRIARCHE, G.J. The modified carbon paste electrode. On its use by differential pulse anodic stripping voltammetry in the presence of a mercury film (in French). **Analytical Letters**, 15, 763-774, 1982.

45 – WANG, J. Stripping Analysis at Bismuth Electrodes: A Review, **Electroanalysis**, 17, 1341-1346, 2005.

46 – ECONOMOU, A. Bismuth-film electrodes: recent developments and potentialities for electroanalysis. **Trends in Analytical Chemistry**, 24, 334-340, 2005

- 47 – HUO, J., SHANGGUAN, E., LI, Q. A pre-anodized inlaying ultrathin carbon paste electrode for simultaneous determination of uric acid and folic acid. **Electrochimica Acta**, 89, 600–606, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.11.073>
- 48 – HUO, J., QUANMIN, L., LI, J. Study on electrochemical behaviors and the reaction mechanisms of dopamine and epinephrine at the pre-anodized inlaying ultrathin carbon paste electrode with nichrome as a substrate. **Materials Science and Engineering**, 33, 507–511, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.09.022>
- 49 – SVANCARA, I., KONVALINA, J., SCHACHL, K., KALCHER, K., VYTRAS, K. Stripping voltammetric determination of iodide at carbon paste electrode. **Electroanalysis**, 10, 435–441, 1998.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(199805\)10:6<435::AID-ELAN435>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(199805)10:6<435::AID-ELAN435>3.0.CO;2-J)
- 50 – BAREK, J., PECKOVA, K., VYSKOCIL, V. Adsorptive stripping voltammetry of environmental carcinogens. **Current Analytical Chemistry**, 4, 242–249, 2008.
<https://doi.org/10.2174/157341108784911325>
- 51 – TASDEMİR, İ.H., AKAY, M. A., ERK, N., KILIÇ, E. Voltammetric behavior of telmisartan and cathodic adsorptive stripping voltammetric method for its assay in pharmaceutical dosage forms and biological fluids. **Electroanalysis**, 22, 2101–2109, 2010.
- 52 – ARRIETA, A., RODRIGUEZ-MENDEZ, M. L., SAJA, J. A. Langmuir–Blodgett film and carbon paste electrodes based on phthalocyanines as sensing units for taste. **Sensors and Actuators B**, 95, 357–365, 2003.
[https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(03\)00438-6](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(03)00438-6)
- 53 – DONG, H. D., LIN, L., ZHENG, H., ZHAO, G., YE, B. Electrode Modified with Langmuir – Blodgett (LB) Film of Calixarenes for Preconcentration and Stripping Analysis of Hg (II). **Electroanalysis**, 18, 1202–120, 2006.
- 54 – GIANCANE, G., VALLI, L. State of art in porphyrin Langmuir-Blodgett films as chemical sensors. **Advances in colloid and interface Science**, 17–35, 2012.
- 55 – LEÓN, M. C., CORONADO, E., SORIANO-PORTILLO, A., MINGOTAUD, C., DOMINGUEZ-VERA, J. M. Langmuir-Blodgett films based on inorganic molecular complexes with magnetic or optical properties. **Advances in Colloid and interface Science**, 116, 193–203, 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2005.03.005>
- 56 – ULMAN, A. An introduction to ultrathin organic films: from Langmuir-Blodgett to self-assembly. Academic Press, Boston. 1991.
- 55 – SAGIV, J. Organized monolayers by adsorption. Formation and structure of oleophobic mixed monolayers on solid surfaces. **Journal of the American Chemical Society**, 102, 92–98, 1980.
- 57 – BAIN, C. D., WHITESIDES, G. M. Formation of monolayers by the coadsorption of thiols on gold: variation in the length of the alkyl chain. **Journal of the American Chemical Society**, 111, 7164–7175, 1989.
<https://doi.org/10.1021/ja00200a040>
- 58 – CASALINI, S., BORTOLOTTI, C., A., LEONARDI, F., BISCARINI, F. Self-assembled monolayers in organic electronics. **Chemical Society Reviews**, 46, 40–71, 2017.
<https://doi.org/10.1039/C6CS00509H>
- 60 – GANESH, V., PAL, S. K., KUMAR, S., LAKSHMINARAYANAN, V. Self-assembled monolayers (SAMs) of alkoxycyanobiphenyl thiols on gold surface using a lyotropic liquid crystalline médium. **Electrochimica Acta**, 52, 2987–2997, 2007.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2006.09.037>

- 61 – RAOOF, J. –B., OJANI, R., NADIMI, S. R. Fabrication of a stable, switchable An/SAM-Au electrode with tunable electron transfer and excellent electrochemical properties. **Electrochimica Acta**, 53, 7261–7265, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2008.03.074>
- 62 – LOVE, J. C., ESTROFF, L. A., KRIEBEL, J. K., NUZZO, R. G., WHITESIDES, G. M. Self-Assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology. **Chemical Reviews**, 105, 1103-1170, 2005.
- 63 – FERREIRA, F. P., HONORATO-CASTRO, A. C., SILVA, J. V., SARA-CUADROS, O., OLIVEIRA, G. C., MADURRO, J. M., BRITO-MADURRO, A. G. A novel Polymer-based genosensor for the detection and quantification of Streptococcus pneumoniae in genomic DNA sample. **Polymer Engineering & Science**, 2017.
- 64 - SHAO, Y., WANG, J., WU, H., LIU, J., AKSAY, I. A., LIN, Y. Graphene based electrochemical sensors and biosensors: a review. **Electroanalysis**. 22.1027-1036. 2010.
- 65 - CASTRO, A. C., BALVEDI, R., CASTRO, A., MADURRO, J., MADURRO, A. Detection of a specific biomarker for epstein-barr virus using a polymer-based genosensor. **International Journal of Molecular Sciences**, 15, 9051-9066, 2014.
<https://doi.org/10.3390/ijms15059051>
- 66 – GRANERO, A.M., FERNANDEZ, H., AGOSTINI, E., ZÓN, M. A. An amperometric biosensor for transresveratrol determination in aqueous solutions by means of carbon paste electrodes modified with peroxidase basic isoenzymes from Brassica napus. **Electroanalysis**, 20, 858-864, 2008.
<https://doi.org/10.1002/elan.200704109>
- 67 – IKEDA, T., HASHIMOTO, Y., SENDA, M., ISONO, Y. Nucleoside oxidase-modified carbon paste electrode containing quinone: Cathodic current response to nucleosides. **Electroanalysis**, 3, 891-897, 1991.
<https://doi.org/10.1002/elan.1140030904>
- 68 - X22 – CIUCU, A. A. Chemically modified electrodes in biosensing – A Review. **J. Biosensors and Bioelectronics**, 5, 1-10, 2014.
- 69 – DERONZIER, A., MOUTET, J.C. Functionalized polypyrroles as versatile molecular materials for electrode modification. **Current Topics in Electrochemistry**, 3. 159-200, 1994.
- 70 – BOBACKA, J., IVASKA, A., LEWENSTA. Potentiometric ion sensors based on conducting polymers. **Electroanalysis**, 15, 366-374, 2005.
- 71 – WANG, B., YOSHIDA, K., SATO, K., ANZAI, J. –I. Phenylboronic acid-functionalized layer-by-layer assemblies for biomedical application – A Review. **Polymers**, 9, 1-16, 2017.
- 72 – PICART, C., LAVALLE, PH., HUBERT, P., CUISINIER, F. J. G., DECHER, G., SCHAAF, P., VOEGEL, J. –C. Buildup mechanism for poly(L-lysine)/hyaluronic acid films onto a solid surface. **Langmuir**, 17, 7414-7424, 2001.
<https://doi.org/10.1021/la010848g>
- 73 – PARK, S., BHANG, S. H., LA, W. G., SEO, J., KIM, B. –S., CHAR, K. Dual roles of hyaluronic acids in multilayer films capturing nanocarriers for drug-eluting coatings. **Biomaterials**, 33, 5468–5477, 2012.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.04.005>
- 74 - ALLEN JR., L. V. **Introdução à farmácia de Remington**. Porto Alegre: Artmed, 2016. p. 157-158.
- 75 – MOTAGHI, A., HRYMAK, A., MOTLAGH, G. H. Electrical conductivity and percolation threshold of hybrid carbon/polymer composites. **Journal of applied polymer Science**. 41744. 1-9. 2014.

- 76 – CAMPANIELLO, D., BEVILACQUA, A., SINIGAGLIA, M., CORBO, M. R. Using homogenization, sonication and thermo-sonication to inactivate fungi. **Peer J**, 4, 1 – 16, 2016.
- 77 – LI, K., WEI, X., YUAN, Y. Synthesis of magnetic nanoparticles composed by Prussian blue and glucose oxidase for preparing highly sensitive and selective glucose biosensor. **Sensors and Actuators B**, 39, 400-406, 2009.
- 78 – ALAMO, L.S.T., TANGKUARAM, T., SATIENPERAKUL, S. Determination of sulfite by pervaporation-flow injection with amperometric detection using copper hexacyano-ferrate-carbon nontube modified carbon paste electrode. **Talanta**, 81, 793-799, 2010.
- 79 – ABBASPOUR, A., MEHRGARDI, M.A. Electrocatalytic oxidation of guanine and DNA on a carbon paste electrode modified by cobalt hexacyanoferrate films. **Analytical Chemistry**, 76, 5690-5696, 2004.
<https://doi.org/10.1021/ac049421f>
- 80 – SHAIDAROVA, L.G., et al. Electrocatalytic oxidation and flow-injection determination of sulfur-containing amino acids at graphite electrodes modified with a ruthenium hexacyanoferrate film. **Journal of Analytical Chemistry**, 58, 1144-1150, 2003.
- 81 – HOSSEINZADEH, R., SABZI, R.E., GHASEMLU, K. Effect of cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) in determination of dopamine and ascorbic acid using carbon paste electrode modified with tin hexacyanoferrate. **Colloids Surface B**, 68, 213-217, 2009.
- 82 – FARHADI, K., KHEIRI, F., GOLZAN, M. Th(IV)-hexacyanoferrate modified carbon paste electrode as a new electrocatalytic probe for simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine from acidic media. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 19, 1405-1412, 2008..
- 83 – WANG, J., NASER, N., ANGNES, L., WU, H., CHEN, L. Metal-dispersed carbon paste electrodes. **Analytical Chemistry**, 64, 1285-1288, 1992.
<https://doi.org/10.1021/ac00035a016>
- 84 – WANG, J., LIU, J., CHEN, L., FU, F. Highly selective membrane-free, mediator-free, glucose biosensor. **Analytical Chemistry**, 66, 3600-3603, 1994.
- 85 – RUBIANES, M. D., RIVAS, G. A. Amperometric biosensor for phenols and catechols based on iridium-polyphenol oxidase-modified carbon paste. **Electroanalysis**, 12, 1159-1162, 2000.
- 86 – BERISTAIN ORTIZ, G., GUEVARA, E. H., SOTO, E. R., ESPEJEL, I. R., GUZMAN, T. O. Electrochemical characterization of CPEs modified with gold nanoparticles deposited by immersion. **ECS Transactions**, 20, 251-258, 2009.
- 87 – NAVRATILOVA, Z., KULA, P. Clay modified electrodes: Present application and prospects. **Electroanalysis**, 15, 837-846, 2003.
<https://doi.org/10.1002/elan.200390103>
- 88 – ROLISON, D. R. Zeolite-modified electrodes and electrode-modified zeolites. **Chemical Reviews**, 90, 867-878, 1990.
<https://doi.org/10.1021/cr00103a011>
- 89 – WANG, J., TAHA, Z. Catalytic oxidation and flow detection of carbohydrates at ruthenium dioxide modified electrodes. **Analytical Chemistry**, 62, 1413-1416, 1990.
<https://doi.org/10.1021/ac00213a013>
- 90 – CATALDI, T. R. I., CENTONZE, D., Development and treatment of a carbon paste (composite) electrode made from polyethylene and graphite powder modified with Cu₂O, **Analytica Chimica Acta**, 326, 107-115, 1996

- 91 – MANNINO, S., COSIO, M.S., RATTI, S. Cobalt(II, III) oxide chemically modified electrode as amperometric detector in flow-injection systems. **Electroanalysis**, 5, 145-148, 1993.
- 92 – CHENG, X., ZHANG, H., WANG, Q., HE, P., FANG, Y. Determination of carbohydrates by capillary zone electrophoresis with amperometric detection as a nano-nickel oxide modified carbon paste electrode. **Food Chemistry**, 106, 830-835, 2007.
- 93 – WALCARIUS, A. Electroanalysis with pure, chemically modified, and sol-gel-derived silica-based materials (an overview). **Electroanalysis**, 13, 701-718, 2001.
- 94 – WALCARIUS, A. Analytical applications of silica-modified electrodes. A comprehensive review, **Electroanalysis**, 10, 1217-1235, 1998.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4109\(199812\)10:18<1217::AID-ELAN1217>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4109(199812)10:18<1217::AID-ELAN1217>3.0.CO;2-X)
- 95 – GUORONG, Z., XIAOLEI, W., XINGWANG, S., TIANLING, S., β -Cyclodextrin-ferrocene inclusion complex modified carbon paste electrode for amperometric determination of ascorbic acid. **Talanta**, 51, 1019-1025, 2000.
[https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00287-3](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00287-3)
- 96 – ARRIGAN, D.W.M., Stripping voltammetry with a polymeric calixarene modified carbon paste electrode. **Analytical Proceedings**, 29, 27-29, 1992.
- 97 – TARASZEWSKA, J., ROSLONEK, G., DARLEWSKI, W. Electrochemical behavior of nickel tetraazamacrocyclic complexes incorporated into carbon paste electrodes: Application in H_2O_2 electrocatalysis. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 371, 223-230, 1994.
- 98 – DICU, D., MUNTEANU, F. D., POPESCU, I. C., GORTON, L. Indophenol and o-quinone derivatives immobilized on zirconium phosphate for NADH electro-oxidation. **Analytical Letters**, 36, 1755-1779, 2003.
- 99 – RAOOF, D.B., GOLABI, S.M. Electrochemical properties of carbon-paste electrodes spiked with some 1,4-naphthoquinone derivatives. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, 68, 2253-2261, 1995.
<https://doi.org/10.1246/bcsj.68.2253>
- 100 – KAWAKAMI, M., URIUDA, N., KOYA, H., GONDO, S. Glucose sensor based on ubiquinone-modified carbon paste electrode. **Analytical Letters**, 28, 1555-1569, 1995.
- 101 – STADLOBER, M., KALCHER, K., RABER, G., NEUHOLD, C. Anodic Stripping voltammetric determination of titanium(IV) using a carbon paste electrode modified with cetyltrimethylammonium bromide. **Talanta**, 43, 1915-1924, 1996.
[https://doi.org/10.1016/0039-9140\(96\)01977-7](https://doi.org/10.1016/0039-9140(96)01977-7)
- 102 – VYTRAS, K., KHALED, E., JEZKOVA, J., HASSAN, H. N., BARSOUM, B. N. Studies on the potentiometric thallium(III)-selective carbon paste electrode and its possible application. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 367, 203-207, 2000.
<https://doi.org/10.1007/s002160051625>
- 103 – SVANCARA, I., FORET, P., VYTRAS, K. A study on the determination of chromium as chromate at a carbon paste electrode modified with surfactants. **Talanta**, 64, 844-852, 2004.
- 104 – EGASHIRA, N., ARAGAKI, S., IWANAGA, H., OHGA, K. Selective determination of pyridoxal with an octadecylamine-modified carbon-paste electrode. **Analytical Sciences**, 7, 691-694, 1991.
- 105 – PENG, T.-Z., LI, H.-P., WANG, S.-W. Selective extraction and voltammetric determination of gold at a chemically modified carbon paste electrode. **Analyst (U.K.)**, 118, 1321-1324, 1993.

- 106 – EGASHIRA, N., INAWAGA, H., OKABE, K., OHGA, K. Selective determination of phridoxal in nonfat dry milk using a carbon paste electrode modified with an amine having a long alkyl chain. **Analytical Sciences**, 8, 705-707, 1992.
<https://doi.org/10.2116/analsci.8.705>
- 107 – WANG, L.-H., TSENG, S.-W. Direct determination of d-panthenol and salt of pantothenic acid in cosmetic and pharmaceutical preparations by differential pulse voltammetry. **Analytica Chimica Acta**, 432, 39-48, 2001.
- 108 – ACUNA, J.A., FUENTE, C., VAZQUEZ, M. D., TASCÓN, M. L., BATANERO, P. S. Voltammetric determination of piroxicam in micellar media by using conventional and surfactant chemically-modified carbon paste electrodes. **Talanta**, 40, 1637-1642, 1993.
[https://doi.org/10.1016/0039-9140\(93\)80078-6](https://doi.org/10.1016/0039-9140(93)80078-6)
- 109 – POSAC, J.R., VASQUEZ, M. D., TASCÓN, M. L., ACUNA, J. A., FUENTE, C., VELASCO, E., BATANERO, P. S., Determination of aceclofenac using adsorptive stripping voltammetric techniques on conventional and surfactant chemically modified carbon paste electrodes. **Talanta**, 42, 293-304, 1995.
- 110 – OJANI, R., RAOOF, J. B., FATHI, S. Poly(o-aminophenol) film in the presence of sodium dodecylsulfate: Application to the Ni(II) dispersion and the electrocatalytic oxidation of methanol and ethylene glycol, **Electrochimica Acta**, 54, 2190-2196, 2009.
- 111 – LVOVA, L., KIM, S. -S., LEGIN, A., VLASOV, Y., YANG, J. -S. CHA, G. S., NAM, H. All-solid-state electronic tongue and its application for beverage analysis. **Analytica Chimica Acta**, 468, 303-314, 2002.
[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00690-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00690-6)
- 112 – AITSIDIMOU, A. QUARZANE, A., LAFDI, K., RHAZI, M. E. Electropolymerization characterization of paraphenylenediamine using exfoliated graphite doped carbon paste electrode. **Research and reviews in electrochemistry**, 5, 169-176, 2014.
- 113 – BALLARIN, B., ZANARDI, C., SCHENETII, L., SEEBER, R., HIDALGO, J. L., HIDALGO HIDALGO DE CISNEROS, J. L. Synthesis and electrochemical characterisation of novel sonogel-carbon-polythiophene microstructured electrodes. **Synthetic Metals**, 139, 29-33, 2003.
[https://doi.org/10.1016/S0379-6779\(02\)01252-3](https://doi.org/10.1016/S0379-6779(02)01252-3)
- 114 - LEONG, T., ASHOKKUMAR, M., KENTISH, S. The fundamentals of power ultrasound – A Review. **Acoustics Australia**, 39, 54, 2011.
- 115 – YOUNG, F.R. **Cavitation**. London: McGraw-Hill. p. 1-418. 1989.
- 116 – JOAQUIM JUNIOR, C F. **Agitação e mistura na indústria**. Rio de Janeiro: Ed. LTC. 37, 41, 46, 47. 2007.
- 117 – CARNEIRO, M. C. C. G., MOREIRA, F. T. C., DUTRA, R. A. F., FERNANDES, R., SALES, M. G. F. Homemade 3-carbon electrode system for electrochemical sensing: Application to microRNA detection. **Microchemical Journal**, 138, 35–44, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.microc.2017.12.026>
- 118 - KALCHER, K. J., KAUFFMANN, J. -M., WANG, J., SVANCARA, I., VYTRAS, K., NEUHOLD, C., YANG, Z. Sensors based on carbon paste in electrochemical analysis: A review with particular emphasis on the period 1990-1993. **Electroanalysis**, 5-22, 1995.
- 119 – ADAMS, R. N, **Electrochemistry at Solid Electrodes**, Marcel Dekker, New York, 1969.

- 120 – RENEDO, O. D., ALONSO-LOMILLO, M. A., MARTINEZ, K. J. A. Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications, **Talanta**, 73, 202–219, 2007.
- 121 – LI, M., LI, Y., LONG, Y. Recent developments and applications of screen-printed electrodes in environmental assays—A review, **Analytica Chimica Acta**, 734, 31– 44, 2012.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.05.018>
- 122 - Redraw from Flechsig, G.-U. **Electroanalysis**, 14, 192, 2002.
- 123 – WISSER, F. M., ECKHARDT, K., NICKEL, W., BOHLMANN W., KASKEL, S., GROTHE, J. Highly transparent metal electrodes via direct printing processes. **Materials Research Bulletin**, 98, 231-234, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2017.10.021>
- 124 – LIU, S., TOK, J. B. –H. BAO, Z. Nanowire lithography: Fabricating controllable electrode gaps using Au–Ag–Au nanowires. **Nano Letters**, 5, 1071-1076, 2005.
<https://doi.org/10.1021/nl050581w>
- 125 – CHENG, T. S. NASIR, M. Z. M. AMBROSI, A. PUMERA, M. 3D-printed metal electrodes for electrochemical detection of phenols. **Applied materials today**, 9, 212-219, 2007.
- 126 - WRING, S. A., HART, J. P. Development of screen-printed carbon electrodes, chemically modified with cobalt phthalocyanine, for electrochemical sensor application. **Analytical Chemical Acta**. 231, 203-212, 1990.
[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)86418-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)86418-1)
- 127 - MOHAMED, H. M. Screen printed disposable electrodes: pharmaceuticals applications and recent developments: a review. **Trends in Analytical Chemistry**. 82. 1-11. 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.02.010>
- 128 – TANGKUARAM, T., PONCHIO, C., KANGKASOMBOON, T., KATIKAWONG, P., VEERASAI, W. Design and development of a highly stable hydrogen peroxide biosensor on screen printed carbon electrode based on horseradish peroxidase bound with gold nanoparticles in the matrix of chitosan - **Biosensors and Bioelectronics**, 2, 2071 – 2078, 2007.
- 129 – ARWAY, G., EREMITY, F., SHRIVASTAVA, D. K. **Ink jet printer deflection electrode assembly having a dielectric insulator**. Patente: Privilégio de inovação. USEP1490229 A1. EP20030714912. 29 dezembro 2004. Instituto de registro: USPTO - United States Patent and Trademark Office.
- 130 – GILLES, K. Polymer Thick Film: Today's emerging technology for a clean environment tomorrow Ken Gilles Springer Science & Business Media, 31 outubro 1995 – 422.
- 131 - MARTIN, F.W. Polymer thick film circuits on printed circuit boards. **Electrical/Eletronics Insulation Conference EIC 13th**. 1977. p. 105-107.
- 132 - DOREY, R. **Ceramic Thick Films for MEMS and Microdevices**. Amsterdam, Boston, Heidelberg: Elsevier, 2012. p. xvii
- 133 - POULSEN, C. WAKEMAN, D. G., ATEFI, S. R., LUU, P., KONYN, A., BONMASSAR, G., Polymer thick film technology for improved simultaneous dEEG/MRI recording: Safety and MRI data quality. **Magnetic ressonance in medicine**. Wiley Periodicals. 2016. p. 1-9.
- 134 – HARSANYI, G. Polymer thick-film technology: a possibility to obtain very low cost pressure sensors. **Sensors and Actuators A**, 25 – 27, 853-857, 1991.

- 135 – PRUDENZIATI, M., HORMADALY, J. Printed Films: Materials Science and Applications in Sensors, Electronics and Photonics. **Woodhead Publishing Cambridge K.C. Honeychurch**, 13, 373, 2012.
- 136 – COELHO, N. M., MELO, E. I., REZENDE, H. C., MADURRO, A. G. B., MADURRO, J. M. Surface properties of sensors based on aminophenol-polymerized film. **Journal of Solid State Electrochemistry**, 16, 945-951, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10008-011-1458-9>
- 137 - MEHTA, R., BRAHMBHATT, H., MUKHERJEE, M., BHATTACHARYA, A., Tuning separation behavior of tailor-made thin film poly(piperazine-amide) composite membranes for pesticides and salts from water. **Desalination**, 404, 280-290, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2016.11.021>
- 138 - LIU, C., LIAO, Y., HUANG, X. Extraction of triazole fungicides in environmental waters utilizing poly(ionic liquid)-functionalized magnetic adsorbent. **Journal of Chromatography**, 1524, 13-20. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.09.066>
- 139 - BABA, T., TACHIBANA, Y., SUDA, S., KASUYA, K. -I. Evaluation of environmental degradability based on the number of methylene units in poly(butylene n-alkylenedionate). **Polymer degradation and stability**, 138, 18-26, 2007.
- 140 - MHAMADI, Z., ABDOLMALEKI, A. Heavy metal remediation via poly(3,4-ethylene dioxythiophene) deposition onto neat and sulfonated nonwoven poly(ether sulfone). **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 55, 164-172, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.06.041>
- 141 - JAIN, A., KUNDURU, K. R., BASU, A., MIZRAHI, B., DOMB, A. J., KHAN, W., Injectable formulations of poly(lactic acid) and its copolymers in clinical use. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 107, 213-227, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.07.002>
- 142 - CHEN, K.-C., HSIEH, M. S., LI, Y. R., LIN, Y. C., LAI, H. S., SHIEH, M. J., CHEN, J. S., YOUNG, T. H. Study of poly-ε-caprolactone membranes for pleurodesis. **Journal of the Formosan Medical Association**, 116 no.11, 880-887, 2017.
- 143 - KO, J. CHO, K., HAN, S. W., SUNG, H. K., BAEK, S. W., KOH, W. G., YOON, J. S. Hydrophilic surface modification of poly(methyl methacrylate)-based ocular prostheses using poly(ethylene glycol) grafting. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 158, 287-294, 2017.
- 144 - HUANG, X., XU, DONGHUI, CHEN, W., YIN, H., ZHANG, C., LUO, Y., YU, X., Preparation, characterization and properties of poly(propylene carbonate)/poly(methyl methacrylate)-coated polyethylene gel polymer electrolyte for lithium-ion batteries. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 804, 133-139, 2017.
- 145 - CHOI, C., KWON, S. -N., NA, S. -I. Conductive PEDOT:PSS-coated poly-paraphenylene terephthalamide thread for highly durable electronic textiles. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 50, 155-161, 2017.
- 146 - PROLONGO, S. G., PRINTZ, A. D., ROLSTON, N., WATSON, B. L. DAUSKARDT, R. H. Poly(triarylamine) composites with carbon nanomaterials for highly transparent and conductive coatings. **Thin Solid Films**. In press.
- 147 - TAVAKKOL, E. TAVANAI, H., ABDOLMALEKI, A., MORSHED, M. Production of conductive electrospun polypyrrole/poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers. **Synthetic Metals**, 231, 95-106, 2017.
- 148 - CHEN, J., Stripping voltammetric determination of cerium in food using an electropolymerized poly-catechol and ion-imprinted membrane modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. In press.

- 149 - HU, Y. DAUOD, W. A., FEI, B., CHEN, L., KWAN, T. H., LIN, C. S. K. Efficient ZnO aqueous nanoparticle catalysed lactide synthesis for poly(lactic acid) fibre production from food waste. **Journal of Cleaner Production**, 165, 157-167, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.07.067>
- 150 – MANO, Eloisa Biasotto, MENDES, Luís Cláudio. **Introdução a polímeros**. 2. ed. rev. e ampl. - São Paulo: Edgard Blucher. 2004, p 1, 2, 24, 25, 75.
- 151 – KLEMM, D., Heublein, B., Fink, H., and Bohn, A., "Cellulose: Fascinating Biopolymer / Sustainable Raw Material", **Angewandte Chemie International Edition**, 44, 3358, 2004. <https://doi.org/10.1002/anie.200460587>
- 152 - MOHANTY, A.K., MISRA, M., DRZAL, L. T. **Natural Fibers, Biopolymers and Biocomposites**. Taylor and Francis, CRC Press. 2005. p.1 – 36.
- 153 – BRUICE, Paula Yurkanis. **Organic Chemistry.4^o edition**. Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice Hall. 2006. p 1147, 1148, 1154, 1156, 1159, 1160.
- 154 – VETENSKAPSADEMIEN, K. The Nobel Prize in Chemistry: Conductive Polymers. The Royal Swedish Academy of Sciences, Sweden, 2000.
- 155 - HÜMMELGEN, I. A., ROMON, L. S., LIMA, J. R. Polímeros conjugados como camada ativa de diodos emissores de luz e fotodetectores. **Polímeros: Ciência e Tecnologia** – 55-63, 1998.
- 156 – DEKKER, M. **Handbook of conducting polymers**. 3^a ed.. Stokthei, Terje A., Reynolds, John R. editores. New Yrou: CRC Press, 1998, p. 1693.
- 157 – CABUK, M., GUNDUZ, B. Controlling the optical properties of polyaniline doped by boric acid particles by changing their doping agent and initiator concentration. **Applied Surface Science**, 424, 345-351, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.03.010>
- 158 – RAHMAN, N., NASIR, M. Development of Zr(IV)-Doped polypyrrole/zirconium (IV) iodate composite for efficient removal of fluoride from water environment. **Journal of Water Process Engineering**, 19, 172-184, 2017 <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.07.016>
- 159 – SAMANTA, S., ROY, P., KAR, P., Influence of pH of the Reaction Medium on the Structure and Property of Conducting Poly(o-Phenylenediamine). **Materials Today: Proceedings**, 2, n. 4-5, 1301 – 1308, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2015.07.046>
- 160 – KAR, P., PRADHAN, N. C., ADHIKARI, B., Induced doping by sodium ion in poly(m-aminophenol) through the functional groups, **Synthetic Metals**, 160, no. 13-14, 1524–1529, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2010.05.015>
- 161 - ATKINS, P. JONES, L. **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Tradução: Ricardo Bicca de Alencastro, 3^a ed. Porto Alegre: Bookman. 2006. p.226, 227, 337.
- 162 – ROGRIGUES, L. P., FERREIRA, D. C., SONODA, M. T., MADURRO, A. G. B., MADURRO, J. M. Electropolymerization mechanisms of hydroxyphenylacetic acid isomers. **Journal of Molecular Structure**, 1072, 298-306, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.05.031>
- 163 – DINGEMANS, T. J. PICKEN, S. T., MURTHY, N. S., MARK, P., ST CLAIR. T., SAMULSKI, E. Wholly Aromatic Ether-imides. Potential Materials for n-Type Semiconductors. **Chemistry of Materials**, 16. 966-974, 2004. <https://doi.org/10.1021/cm021723f>
- 164 – PADILLA, R.M.A. **Estudo de transporte de carga de polímeros de polianalina**. (Dissertação) (Programa de pós-graduação em engenharia elétrica) –

Departamento de Engenharia Elétrica, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 84, 2011.

165 – MENG, J. S., MENG, G. G. LIU, X., FU, JUN. Natural Polyphenols Enhance Stability of Crosslinked UHMWPE for Joint Implants. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, 473, 760 – 766, 2015.

<https://doi.org/10.1007/s11999-014-3850-0>

166 – BARBERO, C., ZERBINO, J., SERENO, L., POSADAS, D. Optical properties of electropolymerized orthoaminophenol. **Electrochimica Acta**, 32 no. 4, 693-697, 1987.

167 – KUNIMURA. S., OHSAKA, T., OYAMA, N. Preparation of thin polymeric films on electrode surfaces by electropolymerization of o-aminophenol. **Macromolecules**, 21, 894-900, 1988.

<https://doi.org/10.1021/ma00182a007>

168 – ABIDI, M., BERNABEU, S. L., HUERTA, F., MONTILLA, F., HENTATI, S. B., MORALLÓN, E. Spectroelectrochemical study on the copolymerization of o-aminophenol and aminoterephthalic acid. **European Polymer Journal**, 91, 386-395, 2017.

169 – PISHAHANG, J., BARZEGAR, H., HELI, H. Synthesis of carbon nanoparticles-poly(ortho-aminophenol) nanocomposite and its application for electroanalysis of iodate. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 256, 878-887, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.10.030>

170 – SASIKUMAR, R., RANGANATHAN, P., CHEN, S. –M., SIREESHA, P., CHEN, Y. –W., VEERAKUMAR, P., RWEI, S. –P., KAVITHA, T. Economically applicable Ti₂O₃ decorated 3-aminophenol-formaldehyde resin microspheres for dye-sensitized solar cells (DSSCs). **Journal of Colloid and Interface Science**, 494, 82-91, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.01.061>

171 – TUCCERI, R. Deactivation of poly(o-aminophenol) film electrodes by storage without use in the supporting electrolyte solution and its comparison with other deactivation processes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 739, 58-65, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.12.009>

172 - CAETANO, L., COSTA, K., SILVA, T., DIAS, L., RODOVALHO, V., MADURRO, J. M., MADURRO, A. G. B. Use of gold nanoparticles on graphite electrodes functionalized with poly(4-aminophenol) in the development of a bioelectrode for hepatitis B. **BMC Proceedings**, 8, 57, 2014.

<https://doi.org/10.1186/1753-6561-8-S4-P57>

173 - ABRAHÃO JUNIOR, O., PANÇONATO, T. S., MADURRO, J. M., MACHADO, E. H., MADURRO, A. G. B. Quantum mechanical investigation of polymer formation from aminophenols. **Journal of Molecular Structure**, 913, 28-37, 2009.

<https://doi.org/10.1016/j.theochem.2009.07.013>

174 - FRANCO, D. L., AFONSO, A. S., VIEIRA, S. N., FERREIRA, L. F., GONÇALVES, R. A., MADURRO, A. G. B., MADURRO, J. M. Electropolymerization of 3-aminophenol on carbon graphite surface: electric and morphologic properties. **Materials Chemistry and Physics**, 107, 404-409, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2007.08.006>

175 - FERREIRA, L. F., BOODTS, J. F. C., MADURRO, A. G. B., MADURRO, J. M. Gold electrodes modified with poly(4-aminophenol): incorporation of nitrogenated bases and an oligonucleotide. **Polymer International**, 57, 644-650, 2008.

176 - FRANCO, D. L., AFONSO, A. S., FERREIRA, L. F., GONÇALVES, R. A., BOODTS, J. F. C., MADURRO, A. G. B., MADURRO, J. M. Electrodes modified with

polyaminophenols: immobilization of purines and pyrimidines. **Polymer Engineering and Science**, 48, 2043-2050, 2008.

<https://doi.org/10.1002/pen.21044>

177 - MADURRO, A. G. B., FERREIRA, L. F., VIEIRA, S. N., GOLÇALVES, R. A., FILHO, L. R. G., MADURRO, J. M. Immobilization of purine bases in poly-4-aminophenol matrix. **Journal of Materials Science**, 42, 3238-3243, 2007.

178 - VIEIRA, S. N., FERREIRA, L. F., FRANCO, D. L., AFONSO, A. S., GONCALVES, R. A., MADURRO, A. G. B., MADURRO, J. M. Electrochemical Modification of Graphite Electrodes with Poly(4-aminophenol). **Macromolecular Symposia**, 246, 236-242, 2006

179 - MUENCH, S., WILD, A., FRIEBE, C., HAUPLER, B., JANOSCHKA, T., ULRICH, S. Polymer-based organic batteries. **Chemical Reviews**, 16, 9438-9484, 2016.

180 - BITTIHN, R., NAEGELE, D. Electrically conductive polymers as rechargeable battery electrodes. **Solid state ionics**, 28-30, 983-989, 1988.

[https://doi.org/10.1016/0167-2738\(88\)90316-5](https://doi.org/10.1016/0167-2738(88)90316-5)

181 - SONG, J.M., et al. Preparation of High catalyst utilization electrodes for polymer electrolyte fuel cells. *Langmuir*. V. 22. 2006. p. 6422-6428.

182 - BONNEFONT, A., RUVINSKIY, P., ROUHET, M., ORFANIDI, A., NEOPHYTIDES, S., SAVINONA, E. Advanced catalytic layer architectures for polymer electrolyte membrane fuel cells. A Review. **Wire's - Energy and environmental**, 3, 505-521, 2014.

183 - JIMÉNEZ, O.T., ROLDAN, G. R., RIVERA, D. H., GOMEZ, E. S. Sensors based on conducting polymers for measurement of physiological parameters. **IEE Sensors Journal**, 17, 2492-2497, 2017.

<https://doi.org/10.1109/JSEN.2017.2671448>

184 - DADARWAL, R., NAMVAR, A., THOMAS, D. F., HALL, J. C., WARRINER, K. Organic conducting polymer electrode based sensors for detection of *Salmonella* infecting bacteriophages. **Materials Science and engineering: C**, 29, 761-765, 2009.

<https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.07.010>

185 - SHEN, Q., KIM, K.J., WANG, T. Electrode of ionic polymer-metal composite sensors: Modeling and experimental investigation. **Journal of Applied physics**, 115, 1-14, 2014.

186 - GOFF A, L., HOLZINGER, M., COSNIER, S. Enzymatic biosensors based on SWCNT-conducting polymer electrodes. **Analyst**, 136, 1279-1287, 2011.

<https://doi.org/10.1039/c0an00904k>

187 - ALEGRET, S., FÁBREGAS, E.M. Biosensors based on conducting filled polymer all-solid-state pvc matrix membrane electrodes. **Biosensors**, 4, 287-297, 1989.

[https://doi.org/10.1016/0265-928X\(89\)80010-0](https://doi.org/10.1016/0265-928X(89)80010-0)

188 - HEALY, D.A., HAYES, C.J., LEONARD, P., MCKENNA, L., O'KENNEDY, R., Biosensor developments: application to prostate-specific antigen detection. **Trends in biotechnology**, 25, 125-131, 2007.

<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.01.004>

189 - SHENGBO S., WENDONG Z., YUAN Z., Review on the design art of biosensors. State of the art in biosensors - General aspects, Chapter 4. 2013.p.89-110.

190 - OLIVEIRA, A., E. F., PEREIRA, A., C. Biossensores e a Indústria Alimentar - Revisão. Revista. **Virtual Química**, 2016.

191 - SKOOG, A.D., HOLLER, F.J., NIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**, Bookman, Porto Alegre, 2002

- 192 - MOREIRA, C.S., Biosensores: Tecnologia e aplicações. V Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. 2010.
- 193 - VIGNESHVAR, S., Recent advances in biosensor technology for potential applications – A Review. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, 4 2016.
- 194 – Pavel Damborsky, Juraj Svitel, Jaroslav Katrlík. Optical biosensors. **Essays in Biochemistry**, 60, 91–100, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.01.004>
- 195 – WANG, T., ZHOU, Y., LEI, C., LUO, J., XIE, S., PU, H. Magnetic impedance biosensor: A review. **Biosensors and Bioelectronics**. 90. 418-435, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.031>
- 196 – Parikha Mehrotra. Biosensors and their applications – A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 6, 153-159, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2015.12.002>
- 197 - LUONG, J. H. T., MALE, K. B. GLENDON, J. D. Biosensor technology: Technology push versus Market pull. **Biotechnology Advances**, 26, 492-500, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.05.007>
- 198 – BARD, A.J., FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications** 2^a ed. John Wiley & Sons, Inc, 23, 2002.
- 199 – RODOVALHO, V. R. **Biossensor baseado em peptídeo mimético ligante de imunoglobulina G: uma plataforma para diagnóstico de artrite idiopática juvenil** (Dissertação). (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia. 2016.
- 200 – Reologia: Disponível em: <<https://www.malvern.com/br/products/measurement-type/rheology-viscosity>>. Acessado: 04/02/2018
- 201 – SCHOWALTER, W. R. Mechanics of Non-Newtonian Fluids. **Chemie Ingenieur Technik**. 51. 766. 1979.
- 202 – MUECKER, R., BUCHLER, O., MENZLER, N. H., LINDL, B., VASBEN, R., BUCHKREMER, H. P. High-precision green densities of thick films and their correlation with powder, ink, and film properties. **Journal of the European Ceramic Society**, 34, 3897-3916, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2014.04.012>
- 203 – ZHANG, Y.H. HUANG, X., LU, Z., LIU, Z., GE, X., XU, J., XIN, X., SHA, X., SU, W. A study of the process parameters for yttria-stabilized zirconia electrolyte films prepared by screen-printing. **Journal of Power Sources**, 160, 1065-1073, 2006.
<https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2006.02.074>
- 204 – SOMALU, M.R., BRANDON, N.P. Rheological studies of nickel/scandia-stabilized-zirconia screen printing inks for solid oxide fuel cell anode fabrication. **Journal of the European Ceramic Society**, 95, 1220-1228, 2012.
- 205 – SOMALU, M.R., YUFIT, V., BRANDON, N.P. The effect of solids loading on the screen-printing and properties of nickel/scandia-stabilized-zirconia anodes for solid oxide fuel cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, 38, 9500-9510, 2013.
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2012.06.061>
- 206 – RIED, P., LORENZ, C., BRONSTRUP, A., GRAULE, T., MENZLER, N. H., SITTE, W., HOLTAPPELS, P. Processing of YSZ screen printing pastes and the characterization of the electrolyte layers for anode supported SOFC., **Journal of the European Ceramic Society**, 28, 1801-1808, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2007.11.018>
- 207 – Ponto de ebulição e fulgor: Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>>. Acessado em: 05/02/2018.
- 208 - SVANCARA, I., VYTRAS, K., KALCHER, K., WALCARIUS, A., WANG, J. Carbon paste electrodes in facts, numbers and notes: A review on the occasion of the 50

- years jubille of carbon paste in electrochemistry and electroanalysis. **Electroanalysis**, 21, 7 – 28, 2009.
- 209 – BEILBY, A.L., MATHER, B.R. Resistance effects of two types of carbon paste electrodes. **Analytical Chemistry**, 37, 766 – 768, 29165. <https://doi.org/10.1021/ac60225a039>
- 210 - MIKYSEK, T., SVANCARA, I., KALCHER, K., BARTOS, M., VYTRAS, K., LUDVIK, J. New approaches to the characterization of carbon paste electrodes based on ohmic resistance and qualitative carbon paste indexes. **Analytical Chemistry**, 81, 6327 – 6333, 2009.
- 211 - SVANCARA, I., VYTRAS, K. Voltammetry with carbon paste electrodes containing membrane plasticizers used for PVC-based ion-selective electrodes. **Analytica Chimica Acta**, 274, 195-204, 1993.
- 212 – SVANCARA, I., OGOVERC, B., NOVIC, M., VYTRAS, K. Simples and rapid determination of iodide in table salt by stripping potentiometry at a carbon paste electrode. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 372, 795 – 800, 2002. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1263-5>
- 213 – **ASTM D3053-04b, Standard Terminology Relating to Carbon Black**, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2004. Disponível em: <www.astm.org>.
- 214 – **ASTM A247-17, Standard Test Method for Evaluating the Microstructure of Graphite in Iron Castings**, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2017. Disponível em: <www.astm.org>
- 215 – Grafite: Disponível em: <<http://rruff.info/Graphite/R050503>>. Acesso em: 09/12/2017.
- 216 – ROSITANI, F., et al. Infrared analysis of carbon blacks. **Carbon**, 25 n. 3, 325-332, 1987. [https://doi.org/10.1016/0008-6223\(87\)90002-9](https://doi.org/10.1016/0008-6223(87)90002-9)
- 217 – When black is white: Disponível em: <<https://www.pcimag.com/articles/86552-when-black-is-white>>. Acesso em: 09/12/2017.
- 218 – AMEEN, S., ALI, V., ZULFEQUAR, M., HAQ, M. M., HUSAIN, M. Preparation and measurements of electrical and spectroscopic properties of praseodymium (III) chloride-doped polyaniline, **Physica E**, 40, 2805-2809, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2007.12.008>
- 219 – FORNAZIER FILHO, Y. **Síntese, dopagem e caracterização da polianilina com sais de Fe (II) e Fe (III)** – (Dissertação) (Programa de pós-graduação em química), Vitória: Universidade Federal do Espírito Santo, 58-60, 2009.
- 220 – IBRAHIM, K.A. Synthesis and characterization of polyaniline and poly(aniline-co-o-nitroaniline) using vibrational spectroscopy. **Arabian Journal of Chemistry**, 10, 2668-2674, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.10.010>