

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA

Cleverson Siqueira Santos

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES *LbL* DE FTALOCIANINA DE
NÍQUEL E POLIELETRÓLITO SILSESQUIOXANO**

Ponta Grossa

2012

Cleverson Siqueira Santos

PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES *LbL* DE FTALOCIANINA DE NÍQUEL E POLIELETRÓLITO SILSESQUIOXANO

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Química Aplicada no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Christiana A. Pessoa

Ponta Grossa

2012

Santos, Cleverton Siqueira

Preparação e caracterização de filmes LbL de ftatocianina de níquel e polieletrólito silsesquioxano / Cleverton Siqueira Santos. Ponta Grossa, 2012.

109 f.

Dissertação (Mestrado em Química Aplicada) – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Orientadora : Profa. Dra. Christiana A. Pessoa.

1. Sensores eletroquímicos. 2. Técnica Layer-by-Layer (LbL).
3. Filmes LbL. 4. Molécula ftatocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc).

I. Pessoa, Christiana A. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Mestrado em Química Aplicada. III.T

CDD: 541.37

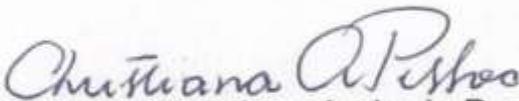
TERMO DE APROVAÇÃO

CLEVERSON SIQUEIRA SANTOS

"PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES LBL DE FTALOCIANINA DE NÍQUEL E POLIELETRÓLITO SILSESQUIOXANO."

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientadora:


Profa. Dra. Christiana Andrade Pessoa
UEPG/PR


Prof. Dr. Marcio Bergamini
UFPR/PR


Prof. Dr. Mauro Chierici Lopes
UNICENTRO/PR

Ponta Grossa, 13 de março de 2012.

Agradecimentos

A um ser superior o qual muitos o chamam de Deus, que nos momentos mais difíceis sempre esteve ao meu lado.

A Profa. Dra Christiana A. Pessoa pela confiança, amizade e orientação, enfim por me guiar durante esta caminhada.

A Profa. Dra Karen Wohnrath pelo incentivo e sugestões.

Ao Prof. Dr Jaren Raul Garcia pelos esclarecimentos de dúvidas, pela companhia no cafezinho.

Ao Prof. Dr. Sergio Toshio Fujiwara pelo fornecimento do polieletrólito SiPy^+Cl^- .

A uma pessoa muito especial que contribuiu muito na minha formação, mas que infelizmente não se encontra presente fisicamente.

A minha namorada Francine, pelo carinho, incentivo, apoio e compreensão.

Ao meu amigo Vagner, que foi meu professor durante o cursinho pré vestibular e hoje é meu colega de profissão, mas que continua me auxiliando em minhas aulas com seus macetes e regras, e pelos momentos de descontração no laboratório.

A minha amiga Cliciane que sempre esta disponível para esclarecer dúvidas e trocar informações.

A minha amiga Michelle, pela amizade, discussões e pelos momentos de descontração.

Aos meus amigos Paulo Roberto, Rodolfo e Rolf que no início desta caminhada me auxiliaram muito.

Ao meu amigo Fabinho pelo cafezinho diário, pela amizade e contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu amigo Mauro Carvalho que têm me auxiliado muito a administrar minhas “heranças”.

A todos os meus colegas e amigos que fazem parte do grupo GDEM.

A todas as pessoas que contribuíram diretamente ou indiretamente no desenvolvimento deste trabalho.

Ao mestrado em Química Aplicada da UEPG, por todo suporte e infraestrutura fornecida.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

As pesquisas voltadas para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos a base de filmes *LbL* têm crescido exponencialmente nos últimos anos. Neste âmbito, este trabalho relata o desenvolvimento de um sensor eletroquímico, utilizando a técnica *Layer-by-Layer (LbL)*, a qual possibilita a construção de filmes ultrafinos a partir de interações eletrostáticas entre polieletrólitos de cargas opostas. Para tanto foi utilizado como poliânion a molécula ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc), e como polication o cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano (SiPy⁺Cl⁻). Tal composto constitui um excelente trocador iônico, além de apresentar alta capacidade de formação de filmes estáveis sobre a superfície de substratos sólidos. Foram construídos filmes em duas arquiteturas: uma com a ftalocianina na camada mais externa designada como (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_n e outra com esta na camada mais interna, (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)_n com diferentes bicamadas, (onde n= número de bicamadas). A deposição das bicamadas foi monitorada utilizando-se a técnica de espectroscopia de absorção na região do *UV-VIS*, mais precisamente na região de 500 a 800 nm, onde as ftalocianinas apresentam duas bandas de absorção, uma referente a forma agregada em 630 nm e outra referente a forma monomérica em 669 nm. Foi observado que as variáveis: tempo de imersão, pH e concentração dos polieletrólito influenciam diretamente na construção dos filmes e portanto estas foram otimizadas. Os parâmetros otimizados foram: tempo de imersão de 280 s, pH = 8 e concentrações de 2 mg mL⁻¹ obtendo-se filmes estáveis e homogêneos, com maiores concentrações de espécies monoméricas em relação a espécies agregadas. O monitoramento da deposição das bicamadas na região do *UV-VIS* mostrou uma relação linear entre absorbância e o número de bicamadas depositadas. Os espectros de FTIR e Raman, evidenciaram as interações entre os grupos SO₃⁻ presentes na estrutura das ftalocianinas tetrassulfonadas com os grupos piridínicos presentes na estrutura do SiPy⁺Cl⁻. Utilizando a técnica de microscopia de força atômica foi possível verificar que a rugosidade média dos filmes diminuiu em função do aumento do número de bicamadas. Por outro lado, a espessura dos filmes aumentou com o número de bicamadas, sendo que a espessura média de cada bicamada foi de 22 nm para a configuração (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_n, e de 19,2 nm para a configuração oposta. Os eletrodos foram aplicados na determinação simultânea de dopamina (DA) em meio aos interferentes ácido ascórbico (AA) e úrico (AU). Observou-se que a arquitetura assim como a espessura dos filmes influenciaram de maneira significativa na resposta eletroquímica na presença dos analitos. O filme que apresentou maior intensidade de corrente e valores de potencial de pico menos positivos foi (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂. Para este eletrodo, a partir da técnica de voltametria cíclica, foram observados picos anódicos em 0,30 V, 0,68 V e 0,74 V, na presença de DA, AA e AU, respectivamente. Estudos da variação da velocidade de varredura para dopamina mostraram que a cinética de transferência eletrônica é controlada pela difusão de espécies a superfície do eletrodo. Utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, detectou-se DA na presença de AA, com separação de potenciais de pico de 350 mV. No entanto, para uma concentração fixa de DA, foi observado um aumento da intensidade de corrente de pico com o aumento da concentração de AA, o que é um indicativo de que o AA eletrocatalisa a reação de oxidação de dopaminaquinona a DA novamente, o que impossibilita a determinação precisa destes analitos simultaneamente. Por outro lado, na presença de AU com concentração fixa de 4,7 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, foi possível quantificar DA na faixa de 1,0 x 10⁻⁵ a 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ com limite de detecção de 2,4 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ e quantificação de 7,9 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ com separação de potencial de pico de 500 mV. Variando-se simultaneamente a concentração das duas espécies, DA e AU, na faixa de 1,0 x 10⁻⁴ a 9,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ para DA e 1,0 x 10⁻⁵ a 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ para AU, obteve-se coeficiente de correlação iguais a R = 0,997 e R = 0,988, para AU e DA respectivamente. Os resultados mostram que o eletrodo é seletivo e sensível a determinação de DA em meio aos interferentes AA e AU.

Palavras chaves: ftalocianina tetrassulfonada de níquel, n-propilpiridínio silsesquioxano, filmes *LbL*, sensores eletroquímicos, dopamina, ácido úrico, ácido ascórbico.

ABSTRACT

The research focused on the development of electrochemical sensors based on *LbL* films have grown exponentially in recent years. In this context, this paper reports the development of an electrochemical sensor using the Layer-by-layer (*LbL*) technique, which enables the construction of ultrathin films from electrostatic interactions between oppositely charged polyelectrolytes. For this purpose, the tetrasulfonated nickel phthalocyanine (NiTsPc) was used as polyanion molecule and the 3-*n*-propilpyridinium silsesquioxane chloride (SiPy⁺Cl⁻) as the polycation. This silsesquioxane polyelectrolyte is an excellent ion exchange and has high ability to form stable films on the surface of solid substrates. The *LbL* films were built using two different architectures: one with an outer layer of phthalocyanine designated as (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_{*n*} and another with the phthalocyanine as the inner layer, (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)_{*n*} with different bilayers, (where *n* = number of bilayers). The deposition of the bilayers was monitored using the *UV-VIS* spectroscopy in the region from 500 to 800 nm, where the phthalocyanines exhibit two absorption bands, one related to the dimeric species at 630 nm and another at 669 nm related to monomeric form. It was observed that the parameters: immersion time, pH and concentration directly influenced the construction of these films and therefore they were optimized. The optimized parameters were: immersion time of 280 s, pH = 8 and concentrations of polyelectrolytes solutions of 2 mg mL⁻¹, which provided stable and homogeneous films, with higher concentrations of monomeric species. Monitoring the bilayers deposition in the *UV-VIS* region, a linear relationship was obtained between the absorbance and the number of bilayers deposited. *FTIR* and *Raman* spectra showed that the interactions between the polyelectrolytes occurs by the SO₃⁻ groups in the structure of tetrasulfonated phthalocyanines with the pyridinium groups present in the structure of the SiPy⁺Cl⁻. Using the AFM technique, it was observed that the average roughness of the films decreased with the increase of bilayers. On the other hand, the thickness of the films increased with the number of bilayers, and the average thickness of each bilayer was 22 nm for the architecture (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_{*n*}, and 19.2 nm for the opposite configuration. The electrodes were applied for simultaneous determination of dopamine (DA) in the presence of the interfering species, such as ascorbic acid (AA) and uric (UA). It was observed that the architecture as well as the thickness of the films has influenced significantly the electrochemical response in the presence of analytes. The film with the highest current density and less positive potential values for these analytes was (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂. For this electrode, from the cyclic voltammetry technique, anodic peaks were observed at 0.30 V, 0.68 V and 0.74 V in the presence of DA, AA and UA, respectively. Studies in different scan rates in presence of dopamine showed that the kinetics of electron transfer is controlled by diffusion of species to the electrode surface. Using the square wave voltammetry, DA was detected in presence of AA with a peak separation potential of 350 mV. However, for a fixed concentration of DA, it was observed an increase of the intensity of peak current with increasing of AA concentration, which is an indication that the AA electrocatalyzes the oxidation reaction of DA to dopaminequinone, causing an increase in the current, which prevents the accurate determination of these analytes simultaneously. On the other hand, in the presence of UA in a fixed concentration of 4.7 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, it was possible to quantify DA in the range of 1.0 x 10⁻⁵ to 9.9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ with a detection limit of 2.37 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ and quantification limit of 7.9 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ with peak separation ΔE_p= 500 mV. By varying both the concentration of DA and UA, in the range of 1.0 x 10⁻⁴ to 9.0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ for DA and 1.0 x 10⁻⁵ to 9.9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ for UA, it was obtained a correlation coefficient of R = 0.997 and R = 0.988 for AU and DA respectively. The results showed that the electrode (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ is selective and sensitive for DA determination in presence of interfering species AA and UA.

Keywords: tetrasulfonated nickel phthalocyanine, silsesquioxane, electrochemical sensors, *LbL*, dopamine, acid uric, acid ascorbic.

Lista de Figuras

Figura 1	Representação esquemática do processo de construção de filmes finos através da técnica <i>LbL</i> , (1) solução de policação, (2) solução de lavagem, (3) solução de poliânion, (4) solução de lavagem.....	6
Figura 2	Representação idealizada da automontagem dos filmes (PAMAM-Pt/NiTsPc) _n	9
Figura 3	Idealização da formação do filme (PB/PEI/UOx), e o mecanismo envolvendo a detecção do ácido úrico com geração de peróxido de hidrogênio.....	11
Figura 4	Representação esquemática do processo de construção do eletrodo (LDH/HB/LDH/HRP) _n , as letras a, b, c, d, representam a ordem de deposição dos polieletrólitos.....	12
Figura 5	Representação estrutural da molécula de dopamina e o produto de sua oxidação dopaminaquinona.....	13
Figura 6	Representação idealizada da estrutura do polieletrólito cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano.....	16
Figura 7	Espectros de <i>UV-VIS</i> da solução de CoTsPc e do filme (PAH/CoTsPc) ₂₀	18
Figura 8	Espectros de absorção na região no IV dos filmes cast de PANI e CuTsPc, e dos filmes <i>LbL</i> (PANI/CuTsPc).....	19
Figura 9	Espectros Raman obtidos utilizando um laser de 633 nm, (I) pó de nanotubo de carbono, (II) cast PAMAM-NT, (III) pó NiTsPc, (IV) filme <i>LbL</i> (PAMAM-NT/NiTsPc) ₁₀	21
Figura 10	Figuras (A) rugosidade média, (B) espessura média dos filmes (AuNP/MWNT) _n em função do número de bicamadas.....	22
Figura 11	Varredura triangular de potencial aplicado na técnica de voltametria cíclica em função da velocidade de varredura.....	24
Figura 12	Voltamograma cíclico e seus principais parâmetros (E _{pa} , E _{pc} , I _{pa} , I _{pc}).....	25
Figura 13	O efeito de reações homogêneas acopladas, ilustrando uma oxidação. Mecanismos (A) CE, (B) EC, (C) EC', na presença (—), na ausência (---) de reações acopladas.....	27

Figura 14	Voltamograma cíclico característico de um sistema irreversível.....	29
Figura 15	Perfil do voltamograma (a) para um sistema reversível e (b) para um sistema quase reversível.....	30
Figura 16	Voltamogramas cíclicos (a) $\text{CuTsPc/SiPy}^+\text{Cl}^-)_5$, (b) $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{CuTsPc})_5$, (c) FTO, todas as medidas foram realizadas na presença de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	31
Figura 17	Voltamogramas cíclicos dos filmes $(\text{PAH/FeTsPc})_n$ utilizando diferentes números de bicamadas, em solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$	32
Figura 18	Aplicação da varredura de potencial na técnica de voltametria de onda quadrada, (a) amplitude de pulso, (ΔE_s) incremento de varredura, (τ) período do pulso.....	33
Figura 19	Voltamogramas de onda quadrada para sistemas de transferência de elétrons, (A) reversíveis e (B) irreversíveis.....	34
Figura 20	Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{CuTsPc})_5$ na presença de diferentes concentrações de prometazina em solução tampão BR pH 5,0.....	36
Figura 21	Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (DDAB/CG) a partir de diferentes concentrações de DA na presença de AA com concentração fixa de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	37
Figura 22	Representação esquemática da obtenção dos filmes finos através da técnica <i>Layer-by-Layer</i>	44
Figura 23	Esquema idealizado da automontagem dos filmes <i>LbL</i> , utilizando os polieletrólitos NiTsPc e SiPy^+Cl^-	50
Figura 24	Espectros de absorção na região do <i>UV-VIS</i> das soluções dos polieletrólitos utilizados para a construção dos filmes finos SiPy^+Cl^- e NiTsPc com concentrações de $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ em pH = 8.....	51
Figura 25	Espectros de absorção na região do <i>UV-VIS</i> dos filmes <i>LbL</i> nas arquiteturas $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$, (A) e (B) preparados em diferentes pH, com concentração fixa dos polieletrólitos de 2 mg mL^{-1} , (C) e (D) em diferentes concentrações dos polieletrólitos, em pH = 8, com tempo de imersão de 5 min.....	53

Figura 26	Correlação entre a absorbância e o tempo de imersão (soluções dos polieletrólitos e de lavagem em pH = 8 e concentrações das soluções dos polieletrólitos de 2 mg mL ⁻¹). Os espectros foram realizados na faixa de 400 a 800 nm, analisando-se a banda em 669 nm no filme (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₁₀	54
Figura 27	Espectros de absorção na região do <i>UV-VIS</i> referente à solução de NiTsPc 0,1 mg mL ⁻¹ , pH = 8, e ao filme <i>LbL</i> (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂₂	55
Figura 28	(A) Espectros de absorção na região do <i>UV-VIS</i> dos filmes (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) _n e a relação entre a absorbância em função do número de bicamadas (B) referente a banda em 630 nm e (C) referente a banda em 669 nm.....	58
Figura 29	(A) Espectros de absorção na região do <i>UV-VIS</i> dos filmes (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) _n e a relação entre a absorbância em função do número de bicamadas (B) referente a banda em 625 nm e (C) referente a banda em 669 nm.....	59
Figura 30	Correlação entre a absorbância referente a banda monomérica em 669 nm e o número de bicamadas para os filmes (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) _n e (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) _n	60
Figura 31	Espectros de FTIR dos filmes cast dos precursores (A) SiPy ⁺ Cl ⁻ , (B) NiTsPc, e dos filmes <i>LbL</i> (C) (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) ₃₅ , (D) (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₃₅	61
Figura 32	Espectros Raman, dos filmes cast dos polieletrólitos (A) NiTsPc, (B) SiPy ⁺ Cl ⁻ , e dos filmes <i>LbL</i> , (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) ₃₅ , (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₃₅	64
Figura 33	Imagens de AFM dos filmes nas diferentes configurações (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) (A) e (B), (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) (C) e (D), com 2 e 22 bicamadas. A janela de varredura utilizada foi de 5 x 5 μm.....	67
Figura 34	Voltamogramas cíclicos referentes aos eletrodos (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ e (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) ₂ , tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH = 7, v = 50 mV s ⁻¹	70
Figura 35	(A) Voltamogramas cíclicos obtidos dos eletrodos (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ e (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) ₂ (B) Voltamogramas cíclicos em diferentes potenciais de varredura obtidos a partir do eletrodo (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ , eletrólito suporte HNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹ , pH 2,5, ajustado com NaOH 1,0 mol L ⁻¹ , v = 50 mV s ⁻¹	71

Figura 36	Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o ITO e os diferentes eletrodos modificados, NiTsPc, SiPy ⁺ Cl ⁻ , (NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻) ₂ e (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ (A) na presença de DA 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , (B) AU 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , (C) na presença de AA 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH = 7, v = 50 mV s ⁻¹	73
Figura 37	Voltamogramas cíclicos do filme (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) _n , na presença de DA 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7, v = 50 mV s ⁻¹	76
Figura 38	(A) Voltamogramas cíclicos do filme (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ em diferentes velocidades de varredura na presença de DA 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7, (B) Correlação entre a I _{pa} em função v, (C) Correlação entre a I _{pa} em função v ^{1/2}	78
Figura 39	(A) Voltamogramas cíclicos do filme (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ na presença de AU 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7, em diferentes velocidades de varredura. (B) Correlação entre I _{pa} e a v (C) Correlação entre I _{pa} e v ^{1/2}	79
Figura 40	Voltamogramas cíclicos do eletrodo (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ na presença de AA 1,0 x 10 ⁻³ mol L ⁻¹ , tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH = 7, em diferentes velocidades de varredura, (B) Correlação entre I _{pa} e v ^{1/2} (C). Correlação entre I _{pa} e v.....	80
Figura 41	Voltamogramas de onda quadrada utilizando-se o eletrodo modificado com o filme (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ na presença de DA 9,9 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em meio de PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7,0 f = 10 Hz, a = 10 mV, ΔEs = 1 mV.....	82
Figura 42	Voltamogramas de onda quadrada dos eletrodos (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ construídos em diferentes pHs, pH = 8 e pH = 2, na presença de DA 9,9 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ e AU 9,0 X 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em solução tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH = 7, f = 10 Hz, ΔEs = 1 mV , a = 50 mV.....	83
Figura 43	Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ , na presença de DA 9,9 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ e AU 9,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , em diferentes valores de freqüências, tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7, a = 1 mV , ΔEs = 1 mV. (B) Correlação I _p (μA) vs f (Hz).....	84
Figura 44	(A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc) ₂ , na presença de DA 9,9 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , e AU 9,0 x 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ em tampão PBS 0,1 mol L ⁻¹ , pH 7. Parâmetros: f = 10 Hz, ΔEs = 1 mV. (A) Em diferentes valores de amplitude, (B) Correlação I _p vs a (mV).....	85

- Figura 45** (A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, na presença de DA 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, e AU 9,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7, f = 10 Hz, a = 10 mV com diferentes valores de incremento de varredura. (B) Correlação I_p vs ΔEs..... 86
- Figura 46** Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, na presença de DA 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e AU 9,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7. Parâmetros: f = 10 Hz, a = 50 mV, ΔEs = 1 mV..... 86
- Figura 47** Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ na presença de DA 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e AU 9,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7. Parâmetros: f = 10 Hz, a = 50 mV, ΔEs = 1 mV. (A) medidas realizadas na mesma solução, (B) medidas realizadas em diferentes soluções, nas mesmas condições..... 87
- Figura 48** (A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ na presença de AA 4,7 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, e de DA com concentração de 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ a 9,9 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹. Parâmetros: f = 10 Hz, a = 50 mV, ΔEs = 1 mV. (B) Curva de calibração para DA..... 89
- Figura 49** Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, na presença de concentração fixa de DA de 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, e AA na faixa de 4,7 x 10⁻⁴ a 9,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7. Parâmetros: f = 10 Hz, a = 50 mV, ΔEs = 1 mV..... 90
- Figura 50** (A) Voltamogramas de onda quadrada do filme (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, para DA na faixa de concentração de 1,0 x 10⁻⁵ a 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, na presença de AU 4,7 x 10⁻⁴ mol L⁻¹ em tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7,0. Parâmetros: f = 10 Hz, a = 40 mV, ΔEs = 1 mV, (B) Curva de calibração para DA..... 91
- Figura 51** (A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, em diferentes concentrações de AU na faixa de 1,0 x 10⁻⁴ a 9,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹, na presença de DA com concentração fixa de 1,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹, tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7. Parâmetros: f = 10 Hz, a = 50 mV, ΔEs = 1 mV, (B) Curva analítica para AU..... 92

Figura 52 Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ na presença de DA com concentração variada de $1,0 \times 10^{-5}$ a $9,9 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e AU com concentração na faixa de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7. Parâmetros: $f = 10$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 1$ mV. (B) Curva de calibração para DA, (C) Curva de calibração para AU..... 93

Figura 53 Voltamogramas do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, na presença de DA $9,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, AU $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, AA $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7. Parâmetros: $f = 10$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 1$ mV..... 94

Lista de Tabelas

Tabela 1	Relação entre I_p vs f para cada sistema.....	35
Tabela 2	Parâmetros utilizados para construção dos filmes <i>LbL</i> à base de $SiPy^+Cl^-$ e $NiTsPc$	42
Tabela 3	Comparação entre os comprimentos de onda das bandas monomérica e dimérica da solução de ftalocianina $NiTsPc$ $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ e das espécies imobilizadas na superfície do filme $(SiPy^+Cl^-/NiTsPc)_{22}$	56
Tabela 4	Atribuição as principais bandas de FTIR, em cm^{-1} , referentes aos filmes cast e <i>LbL</i> de $SiPy^+Cl^-$ e $NiTsPc$	63
Tabela 5	Atribuição aos principais picos de espalhamento Raman, em cm^{-1} , referentes aos filmes cast de $NiTsPc$ e $SiPy^+Cl^-$ e <i>LbL</i>	66
Tabela 6	Rugosidade média, e espessuras dos filmes, nas configurações: $(NiTsPc/SiPy^+Cl^-)_n$ e $(SiPy^+Cl^-/NiTsPc)_n$, filmes de 2, 6, 10, 14, 18 e 22 bicamadas.....	68
Tabela 7	Tabela comparativa entre os valores de potenciais de pico e corrente de pico para os diferentes eletrodos, sendo que os dados foram obtidos utilizando VC.....	75
Tabela 8	Dados de rugosidade média, espessura média e corrente de pico de acordo número de bicamadas dos eletrodos $(SiPy^+Cl^-/NiTsPc)_n$	77
Tabela 9	Coeficientes de correlação, limites de detecção e sensibilidade, para os analitos: DA, AU e AA.....	94
Tabela 10	Comparação entre os diferentes sensores eletroquímicos construídos através da técnica <i>LbL</i> , utilizando ftalocianinas e seus respectivos limites de detecção para DA e AU.....	95

Lista de Siglas

AA – Ácido ascórbico

AFM – Microscopia de força atômica

Ag/AgCl – Eletrodo de referência prata / cloreto de prata

AU – Ácido Úrico

AuNP – Nanopartículas de ouro

ECS – Eletrodo de calomelano saturado

CoTsPc – Ftalocianina tetrassulfonada de Cobalto

CR – Cronoamperometria

CuTsPc – Ftalocianina tetrassulfonada de Cobre

DA – Dopamina

Ep – Potencial de pico

Epa – Potencial de pico anódico

Epc – Potencial de pico catódico

Ep₂ - Potencial de pico a meia altura

f – Frequência de aplicação de pulsos

FTIR- *Infravermelho com transformada de Fourier*

FeTsPc – Ftalocianina tetrassulfonada de ferro

FTO – Óxido de estanho dopado com flúor

GOx – Enzima glucose oxidase

HOMO – Orbital molecular de mais alta energia

Ipa – Corrente de pico anódico

Ipc – Corrente de pico catódico

ITO – Óxido de estanho dopado com índio

K_r – Constante cinética da reação

LB – Langmuir-Blodgett

LbL – *Layer-by-Layer*

LD – Limite de detecção

LDH – Hidróxido Duplo Lamelar

LQ – Limite de Quantificação

LUMO – Orbital molecular ocupado de mais baixa energia

MWCNT – Nanotubo de carbono de paredes múltiplas

n – Número de bicamadas

n – Número de elétrons

Np – Nanopartícula

PAH – Cloreto de polialilamina

PAMAM - Dendrímero poliamidoamina

PBS – Solução tampão fosfato

Pc – Ftalocianina

POMA – Poli(o-metoxianilina)

PSS – Poliestireno sulfonado

PVS – Ácido polivinil sulfônico

NiTsPc – Ftalocianina tetrassulfonada de níquel

Pt – Eletrodo auxiliar de platina

SiPy⁺Cl⁻ - Cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano

Pt-SiPy⁺Cl⁻ - Híbrido

FTIR - Infravermelho com transformada de Fourier.

VC – Voltametria Cíclica

VDP – Voltametria de Pulso Diferencial

VOQ – Voltametria de Onda Quadrada

v - Velocidade de varredura

$v^{1/2}$ – Raiz quadrada da velocidade de varredura

R – Fator de correlação

UOx – Enzima urease

UV-VIS – Radiação na região do ultravioleta visível

α – Coeficiente de transferência de elétrons

ΔE_s – Amplitude de pulso de potencial

ΔE_p – Separação de potencial de pico

E_{p_2} – Potencial de pico de meia onda

SUMÁRIO

1	Introdução	1
1.1	Apresentação	1
1.2	Revisão Bibliográfica	4
1.2.1.	<i>Filmes LbL</i>	4
1.2.2.	<i>Filmes LbL para o Desenvolvimento de Sensores Eletroquímicos</i>	7
1.2.3	<i>Filmes LbL para Detecção de Dopamina</i>	12
1.2.4	<i>Polieletrólito Cloreto de 3-n-Propilpiridínio Silsesquioxano (SiPy⁺Cl⁻)</i>	15
1.3	Métodos de Caracterização de Filmes Finos	17
1.3.1	<i>Espectroscopia de Absorção na Região do UV-VIS</i>	17
1.3.2	<i>Caracterização Espectroscópica por FTIR</i>	18
1.3.4	<i>Caracterização Morfológica por Microscopia de Força Atômica</i>	21
1.3.5	<i>Métodos Voltamétricos</i>	23
1.3.5.1	<i>Voltametria Cíclica</i>	24
1.3.5.2	<i>Voltametria de Onda Quadrada</i>	32
2	Delimitação do Problema	38
3	Objetivos	40
3.1	Objetivo Geral	40
3.2	Objetivos Específicos	40
4	Parte Experimental	42
4.1	<i>Reagentes Utilizados</i>	42
4.2	<i>Construção dos Filmes Finos Através da Técnica LbL</i>	42
4.3	<i>Caracterização Espectroscópica na Região do UV-VIS</i>	44
4.4	<i>Caracterização Espectroscópica na Região do Infravermelho (FTIR)</i>	45
4.5	<i>Caracterização por Espectroscopia Raman</i>	45
4.6	<i>Análise Morfológica dos Filmes por Microscopia de Força Atômica (AFM)</i>	46

4.7 Medidas Eletroquímicas	47
5 Resultados e Discussão	50
5.1 Monitoramento do Crescimento dos Filmes por Espectroscopia de Absorção na Região do UV-VIS	51
5.2 Caracterizações Espectroscópicas por FTIR e RAMAN	61
5.2.1 Caracterizações Espectroscópicas por FTIR	61
5.2.2 Caracterização por Espectroscopia Raman	64
5.4 Análise Morfológica dos Filmes LbL por Microscopia de Força Atômica	66
5.5 Caracterizações dos Filmes LbL Utilizando Técnicas Voltamétricas	70
5.5.1 Caracterização dos Filmes por Voltametria Cíclica	70
5.5.2 Estudos Voltamétricos dos Filmes na Presença de DA em Meio de Interferentes AU e AA	72
5.5.2.1 Voltametria Cíclica	72
5.5.2.2 Estudos Utilizando-se Voltametria de Onda Quadrada	81
6 Conclusões	96
7 Perspectivas Futuras	99
8 Referências Bibliográficas	100

1 Introdução

1.1 Apresentação

A busca por novos materiais que possam ser modificados molecularmente tem atraído a atenção das áreas de nanociência e nanotecnologia, as quais possibilitam entender as novas propriedades que surgem em escala nanométrica e a desenvolver novos materiais, com propriedades únicas e específicas as quais não podem ser obtidas em processos de escalas maiores¹. Dentre os materiais nanométricos os filmes finos² destacam-se, pois, apresentam várias aplicações tais como: em sistemas biomiméticos³, sensores eletroquímicos^{4, 5}, dispositivos fotovoltaicos⁶, fotoluminescentes⁷, entre outros. Os filmes finos apresentam baixo custo porque utilizam pequena quantidade de material e quando utilizados para a construção de sensores possibilitam a detecção de traços de espécies eletroativas. Existe uma infinidade de compostos que podem ser utilizados para construção dos filmes finos, os quais permitem ser dispostos em diversas arquiteturas⁸.

Nos últimos anos, diversas técnicas têm sido empregadas para a construção de filmes ultrafinos¹, dentre elas destacam-se as técnicas: Langmuir-Blodgett (*LB*) e também de automontagem de multicamadas de polieletrólitos denominada de *Layer-by-Layer (LbL)*^{9, 10}. A técnica *LbL* oferece vantagens sobre a *LB*, pois é uma técnica simples e consiste basicamente na adsorção em meio aquoso de camadas alternadas de espécies carregadas de cargas opostas. As interações que permeiam as adsorções são predominantemente iônicas e auto-organizáveis. Além disso, a quantidade dos materiais utilizados na arquitetura é mínima e as espessuras das camadas imobilizadas variam entre 1 e 100 nm, o que proporciona alta interação entre as diferentes moléculas do sistema^{11, 12}.

Nos filmes *LbL* é possível imobilizar qualquer composto que seja ionizável e solúvel em meio aquoso. Dentre as várias moléculas disponíveis, os polímeros íon-trocadores são compostos muito utilizados na construção de filmes finos⁸. No caso desse trabalho foi utilizado o polieletrólito cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano, o qual consiste em íon trocador que apresenta características importantes como alta solubilidade em água, grande capacidade de formação de filmes sobre superfícies sólidas¹³, cavidades internas que podem servir de moldes para a formação de nanopartículas^{14, 15, 16}. Este polímero apresenta características interessantes e promissoras para a formação de filmes *LbL* e além disso existem poucos trabalhos na literatura relatando a utilização deste polieletrólito na construção de filmes finos, o que o torna um interessante composto a ser explorado.

A utilização de ftalocianinas metaladas tem se destacado na literatura como precursoras de filmes finos¹⁷. Estas moléculas são compostos de coordenação macrocíclicos altamente conjugados, que possuem alta estabilidade térmica e química¹⁸. Além disso, estas podem ser modificadas, o que proporciona mudanças em suas propriedades eletroquímicas e ópticas^{18,19}. Quando dois átomos de hidrogênio do centro da molécula são substituídos por um metal, estas são denominadas de metaloftalocianinas, possuindo atividade redox bem definida. O anel macrocíclico também pode ser substituído por grupos funcionais hidrofílicos, proporcionando ao complexo alta solubilidade em meios aquoso^{18, 20}.

Este trabalho tem como um dos propósitos, construir filmes ultrafinos nanoestruturados através da técnica de automontagem *LbL*, utilizando os seguintes polieletrólitos: o polication cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano também denominado como SiPy^+Cl^- , e o poliânion ftalocianina tetrassulfonada de níquel, denominada de NiTsPc . Foram construídos filmes em duas configurações uma em

que a molécula de ftalocianina se encontra na camada mais interna $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$, outra em que a ftalocianina se encontra na camada mais externa $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$. Tanto as soluções dos polieletrólitos NiTsPc, SiPy⁺Cl⁻, como o crescimento dos filmes *LbL* em todas as arquiteturas, foram caracterizados e monitorados pela técnica espectroscópica de absorção na região do *UV-VIS*. A morfologia dos filmes foi investigada a partir da técnica de microscopia de força atômica (AFM). Foi utilizada a técnica de voltametria cíclica com o propósito de investigar o perfil eletroquímico das espécies imobilizadas em ambas as configurações. Por fim, como um dos objetivos deste trabalho é desenvolver um sensor eletroquímico para a determinação de dopamina, foram realizados estudos utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada, por ser uma técnica mais sensível na presença dos seus interferentes ácido úrico (AU) e ácido ascórbico (AA).

1.2 Revisão Bibliográfica

1.2.1. Filmes LbL

Existem muitas técnicas de obtenção de filmes finos tais como: *casting*²¹, *drop coating*²², *Langmuir-Blodgett (LB)*^{23, 24}, *Layer-by-Layer (LbL)*^{9, 11,12}, entre outras. Dentre as várias técnicas de obtenção de filmes finos, as que mais se destacam na literatura são: *LB* e *LbL*, pois estas possibilitam construir filmes extremamente organizados com espessuras que podem atingir a escala nanométrica, com as mais variadas arquiteturas. A quantidade de material necessária para construção destes é muito pequena e permitem trabalhar com uma grande variedade de compostos.

Um dos primeiros métodos desenvolvidos para construção controlada da arquitetura dos filmes finos em escala molecular foi proposto por Irving Langmuir e Katharine Blodgett (*LB*)^{24, 25, 26}. Essa técnica permite obter filmes altamente organizados com apenas uma monocamada de espessura. São vários os compostos que podem ser utilizados para a construção dos filmes, tais como ftalocianinas, porfirinas, ácidos graxos, fosfolipídios, proteínas, polímeros, complexos metálicos entre outros^{27, 28}. A esses filmes são conferidas muitas aplicações como: sensores eletroquímicos para determinação de fármacos²⁹, íons metálicos³⁰, dispositivos ópticos³¹, e também podem ser utilizados como modelos de membrana³². No entanto, essa técnica requer equipamentos sofisticados, ambientes extremamente limpos e o processo de transferência das monocamadas em subfase para a superfície do eletrodo pode ser lenta. Os parâmetros que devem ser controlados são muitos, o que torna a construção de filmes ultrafinos por essa técnica relativamente cara. Para contornar essas limitações, a técnica *LbL* despontou nos últimos anos^{9, 24, 43} e vem se destacando cada vez mais. Esta é uma técnica que utiliza equipamentos

de baixo custo e permite obter filmes sobre a superfície de substratos de qualquer geometria⁸.

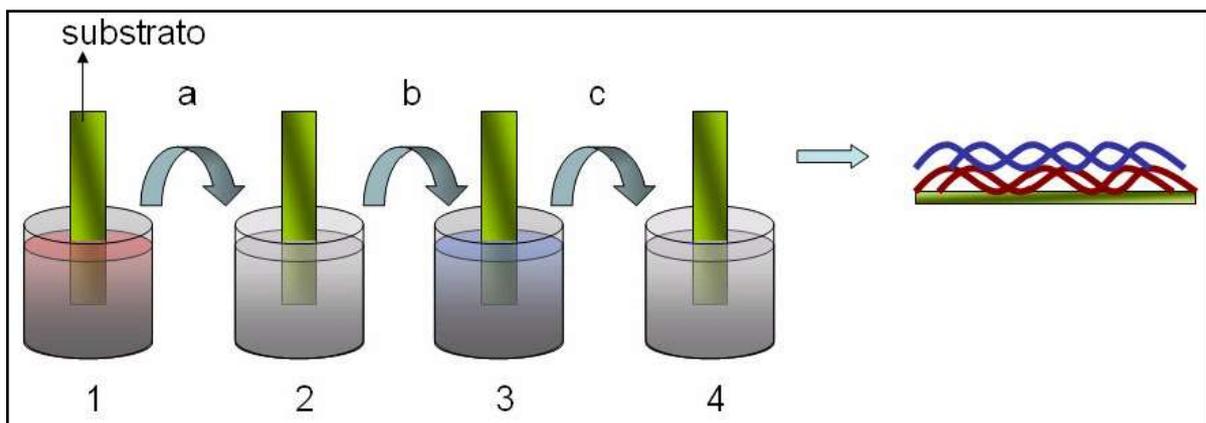
O método de construção de filmes finos pela técnica *LbL* utilizando partículas coloidais de cargas opostas, foi primeiramente proposta por Iler *et al.*³³ em 1966, em 1992 Decher *et al.*^{9,11,12} baseado na proposta de Iler, propôs a deposição alternada de camadas de compostos de cargas opostas, abrindo muitas possibilidades. As monocamadas depositadas são estáveis, devido à grande força de atração que as mantém ligadas. Adicionalmente, esta técnica é relativamente rápida e de fácil manipulação, permitindo obter filmes ultrafinos e organizados, cuja espessura varia de 1 a 100 nm^{9, 34}. Para que ocorra a formação de filmes homogêneos é necessário controlar alguns parâmetros como: temperatura, pH, tempo de imersão e concentração das soluções dos polieletrólitos.

A obtenção dos filmes a partir da técnica *LbL* consiste na imersão de um substrato sólido por um determinado tempo numa solução aquosa do composto a ser depositado. O composto a ser depositado deve possuir carga oposta a do substrato. Logo após o substrato, já com a monocamada depositada, é imerso por um determinado período em uma solução de lavagem, com o objetivo de retirar as moléculas que não foram adsorvidas na superfície do substrato, e só então este é imerso em outra solução contendo o segundo composto a ser depositado, porém este deve possuir carga contrária a da espécie já depositada. Esse processo pode ser repetido de acordo com o número de bicamadas e a arquitetura desejada.

As adsorções que ocorrem na superfície do substrato e entre as monocamadas depositadas são autolimitadas, ou seja, ocorre adsorção até haver sítio de ancoragem disponíveis. As interações que ocorrem entre polieletrólitos altamente carregados são principalmente eletrostáticas, porém também são

possíveis interações secundárias do tipo Van der Waals e ponte de hidrogênio⁹⁴. Os filmes formados por estes polieletrólitos são organizados, e a espessura média destes filmes varia em escala nanométrica³⁵. Também é possível construir filmes utilizando polieletrólitos parcialmente carregados, no entanto os filmes formados por estes polieletrólitos são mais espessos, e a espessura pode variar de acordo com o pH das soluções dos polieletrólitos³⁶. A Figura 1 ilustra o processo de obtenção dos filmes utilizando a técnica *LbL*.

Figura 1- Representação esquemática do processo de construção de filmes finos através da técnica *LbL*, (1) solução de policação, (2) solução de lavagem, (3) solução de poliânion, (4) solução de lavagem³⁷.



Fonte: Biosensors and Bioelectronics, v. 25, p. 1254-1263, 2010.

Neste caso, qualquer espécie que possua carga pode ser imobilizada na superfície de um substrato, formando filmes. Sendo assim, existe uma infinidade de compostos tais como: biomoléculas, polímeros naturais, polímeros sintéticos e condutores, entre outros, os quais podem ser utilizados na fabricação de tais filmes⁴.

1.2.2. Filmes LbL para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos

Os filmes construídos pela da técnica *LbL* oferecem vantagens como: baixo custo, podem ser miniaturizados, são organizados e extremamente finos. Além disso, os aparatos laboratoriais são de fácil manipulação e de baixo custo. Devido as várias vantagens oferecidas pelos filmes *LbL*, estes são de grande interesse na área da Eletroanalítica, principalmente na construção de sensores eletroquímicos.

Os compostos mais utilizados na formação de filmes são: polímeros sintéticos com grupos orgânicos ou inorgânicos com cargas, que atuam como base para construção dos filmes, sendo que estes polímeros íons trocadores podem ser associados a moléculas eletroquimicamente ativas como porfirinas³⁹ e ftalocianinas⁴⁰. Os filmes formados a partir destas espécies apresentam uma ampla gama de aplicações, tais como biossensores⁴¹, sensores eletroquímicos⁶⁴ e células fotovoltaicas⁴².

Devido as suas propriedades de semicondutor, têm crescido as pesquisas e aplicações tecnológicas de filmes de ftalocianina envolvendo dispositivos eletrônicos, principalmente no desenvolvimento de sensores eletroquímicos. Um exemplo da preparação e aplicação de filmes *LbL* a base de ftalocianinas é descrito no trabalho de Silva *et al.*⁴³, os autores construíram filmes finos pela técnica *LbL*, contendo ftalocianinas tetrassulfonadas de cobalto (CoTsPc) juntamente com polialilamina (PAH), sobre substrato de óxido de estanho dopado com índio (ITO). Os eletrodos modificados com estes filmes foram utilizados como sensor eletroquímico para a determinação do aminoácido cisteína. A deposição das bicamadas foi monitorada pela técnica espectroscopia de *UV-VIS*. A determinação

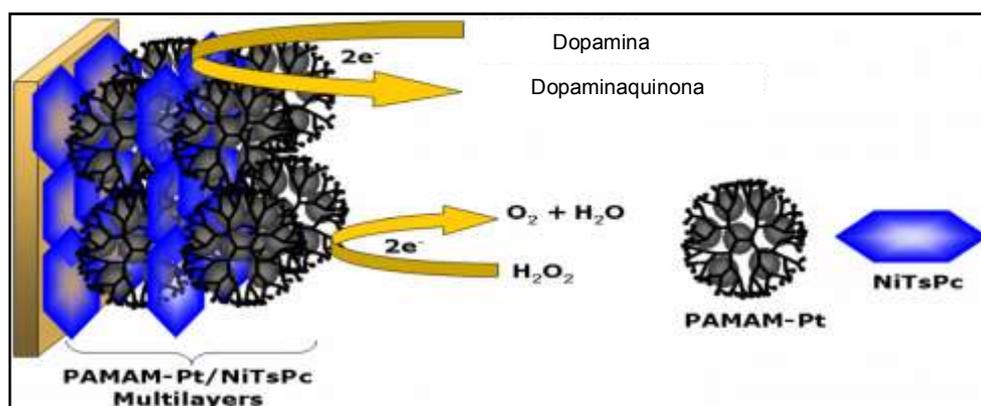
quantitativa do analito cisteína foi realizada pela técnica de voltametria cíclica na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-4}$ a $1,6 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

Schoning *et al.*⁴⁴, construíram um sensor amperométrico através da técnica *LbL*, a partir da deposição de monocamadas do dendrímero poliamidoamina (PAMAM) contendo nanotubos de carbonos (NT) intercalando-se com o poliânion ftalocianina tetrassulfonada de níquel, sobre a superfície de ITO. Os filmes foram construídos em duas configurações PAMAM-NT/NiTsPc e PAMAM/NiTsPc. Os filmes foram caracterizados morfologicamente por AFM, e foi observado que os filmes contendo nanotubos de carbonos apresentaram espessura e rugosidade superior aos filmes contendo apenas PAMAM e NiTsPc, mostrando assim que os nanotubos afetam significativamente a morfologia dos filmes. Ambos os eletrodos foram aplicados na detecção simultânea de DA e AA, no entanto o eletrodo (PAMAM/NiTsPc) não discriminou os sinais de oxidação das duas espécies, por outro lado o eletrodo contendo os nanotubos possibilitou a detecção simultânea das duas espécies com separação de potencial de pico de 100 mV, indicando que a presença dos NTs influenciam nas propriedades eletroquímicas do filme.

Outro exemplo da aplicação de filmes finos *LbL* como sensores eletroquímicos é descrito no trabalho Oliveira Jr. *et al.*⁴⁵. Neste caso, os autores construíram duas configurações de filmes (PAMAM/NiTsPc) e (PAMAM-Pt/NiTsPc). Foram depositadas sobre a superfície do substrato ITO monocamadas do polícatión PAMAM, ou PAMAM modificado com nanopartículas de platina, alternadas com monocamadas do poliânion NiTsPc. Os eletrodos foram aplicados na determinação de DA e também de peróxido de hidrogênio, o eletrodo que apresentou a maior intensidade de corrente de pico de oxidação em menor potencial de pico para DA foi o eletrodo (PAMAM-Pt/NiTsPc), pois as nanopartículas aumentaram a rugosidade

dos filmes aumentando a área ativa do eletrodo, e conseqüentemente a condutividade e a sensibilidade do eletrodo. Os eletrodos apresentaram limites de detecção de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ e $5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. O funcionamento do dispositivo é ilustrado na Figura 2.

Figura 2- Representação idealizada da automontagem dos filmes (PAMAM-Pt/NiTsPc)_n.⁴⁵



Fonte: *Electrochemistry Communications*, n. 9, p.2676-2680, 2007.

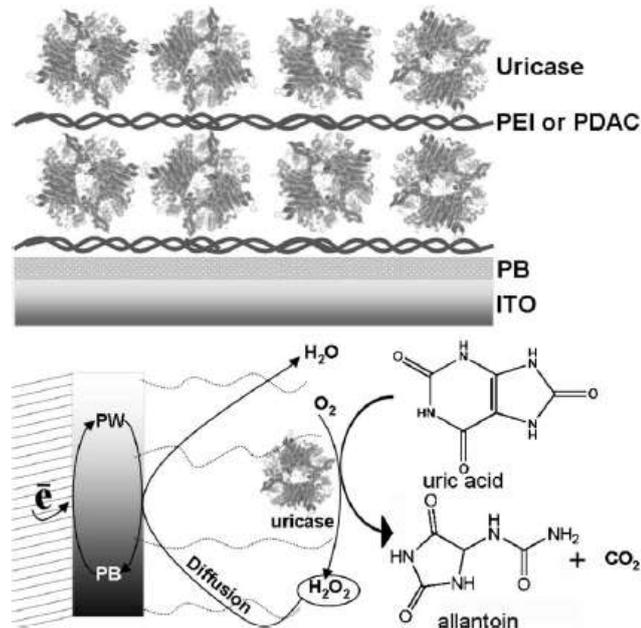
Eiras *et al.*⁴⁶ em um de seus trabalhos utilizou a ftalocianina tetrassulfonada de níquel juntamente com a goma natural polimérica extraída do Chichá (*Sterculia striata*) e o polímero polialilamina, utilizando a técnica *LbL* desenvolveram um sensor eletroquímico com o intuito de detectar dopamina. Para efeito de comparação, os filmes foram construídos em quatro configurações ((PAH/NiTsPc), (PAH/NiTsPc/PAH/Chichá), (PAH/Chichá/PAH/NiTsPc) e (NiTsPc/PAH)). Ao comparar os resultados obtidos utilizando a técnica de absorvância na região do *UV-VIS*, foi possível observar que os filmes contendo a goma natural em sua composição apresentaram maior intensidade de absorvância, indicando que a goma contribui para um aumento da quantidade de polieletrólitos depositados. No entanto, medidas utilizando a técnica de voltametria cíclica mostraram que a configuração (PAH/Chichá/PAH/NiTsPc) não é vantajosa em comparação com a configuração (PAH/NiTsPc) pois o limite de detecção obtido utilizando o eletrodo (PAH/NiTsPc) é

de $8,9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, valor muito menor que o obtido pela configuração (PAH/Chichá/PAH/NiTsPc) que foi de $1,05 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Utilizando-se da técnica *LbL* é possível construir filmes finos, os quais permitem a inclusão de biomoléculas, como proteínas, antígenos/anticorpos e enzimas, sem que estas percam as atividades biológicas. As condições utilizadas para a construção dos filmes são brandas e esta técnica permite a seleção de materiais com conformações favoráveis à imobilização de biomoléculas onde a atividade destas é máxima. A técnica oferece outra vantagem, os filmes são construídos em meio aquoso, o que facilita a deposição dos biomateriais, sem que ocorra desnaturação^{8,9}.

Ferreira *et al.*⁴⁷ construíram um biossensor amperométrico com a técnica *LbL*, utilizando monocamadas alternadas do polieletrólito polietilenoimina (PEI) ou monocamadas de poli dialildimetilamino (PDAC) com monocamadas da enzima urease sob a superfície de ITO recoberto com uma monocamada do complexo azul da Prússia (PB). Neste caso, o complexo azul da Prússia atua como a espécie mediadora de elétrons, o PEI ou PDAC foi utilizada como suporte para a imobilização da enzima sobre a superfície do substrato. Entre as duas configurações de eletrodos o (PDAC/UOx) apresentou maior estabilidade ao longo do tempo. Este sensor foi utilizado na determinação de ácido úrico, obteve-se limite de detecção de $15 \mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 3 ilustra o processo de funcionamento do dispositivo.

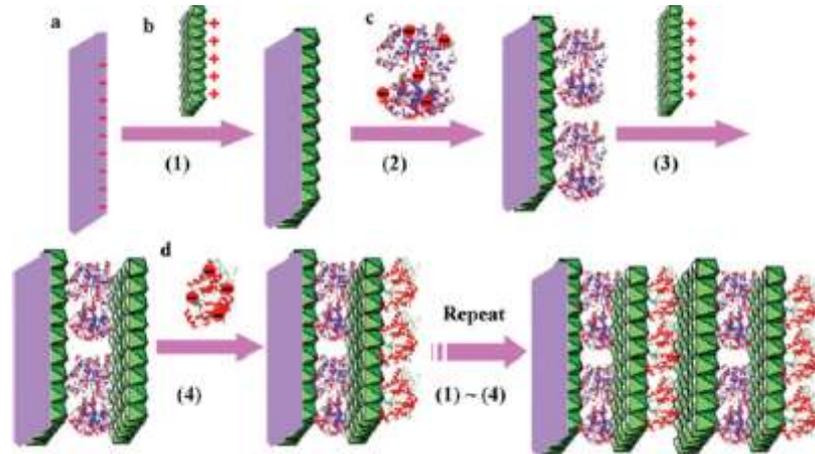
Figura 3- Idealização da formação do filme (PB/PEI/UOx), e o mecanismo envolvendo a detecção do ácido úrico com geração de peróxido de hidrogênio⁴⁷.



Fonte: Journal Solid State Electrochem, n. 11, p. 1489-1495, 2007.

Wei *et al.*⁴⁸ construíram filmes *LbL* a partir de monocamadas do hidróxido duplo lamelar (LDH) alternadas com monocamadas de hemoglobina (HB) depositadas sobre ITO. Na base formada foi imobilizada a enzima peroxidase (HRP), para realizar a imobilização foi utilizada a técnica *dip-coating*. A Figura 4 apresenta o processo idealizado da construção do eletrodo.

Figura 4 - Representação esquemática do processo de construção do eletrodo (LDH/HB/LDH/HRP)_n, as letras a, b, c, d, representam a ordem de deposição dos polieletrólitos⁴⁸.



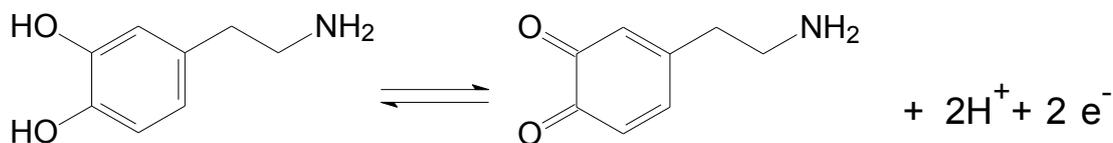
Fonte: Biosensors and Bioelectronics, n. 26, p. 549-554, 2010.

O eletrodo foi aplicado no monitoramento de catecol, e apresentou-se eletroativo por dez dias consecutivos. Medidas de estabilidade são muito importantes quando se trabalha com biossensores, pois a partir delas é possível prever o tempo de vida útil da enzima e conseqüentemente do sensor. Medidas de reprodutibilidade do método de construção dos eletrodos apresentaram desvio padrão relativo de corrente, menor que 3,0%. Sendo que este desvio de corrente é relativamente baixo e mostra que o método utilizado para a construção é eficiente. O eletrodo mostrou-se sensível na faixa de concentração de $6,0 \times 10^{-6}$ a $1,7 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e obteve-se limite de detecção de $5,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

1.2.3 Filmes LbL para Detecção de Dopamina

Os neurotransmissores são substâncias que estão presentes em tecidos cerebrais, e conduzem os impulsos nervosos de uma célula para outra. A dopamina (DA), 2-(3,4 dihidroxi-fenil)etilamina, é um exemplo de neurotransmissor, cuja a estrutura e o produto de sua eletrooxidação (dopaminoquinona) é mostrada na Figura 5.

Figura 5 - Representação estrutural da molécula de dopamina e o produto de sua oxidação dopaminaquinona.



Fonte: própria

A dopamina é um neurotransmissor do grupo das catecolaminas, e é o precursor metabólico da noradrenalina e da adrenalina⁴⁹. O mecanismo de oxidação dessa catecolamina envolve a perda de dois elétrons e de dois prótons produzindo dopaminaquinona, sendo que o mecanismo é bem conhecido e relatado na literatura. A DA pode ser encontrada em fluidos extracelulares, porém em concentrações muito baixas (0,01 - 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Baixos níveis de DA no sistema nervoso podem resultar em doenças tais como de Parkinson e esquizofrenia⁵⁰. A DA também pode atuar como vaso dilatador, aumentando dessa forma o fluxo sanguíneo. Dentre os métodos de quantificação de DA, os métodos cromatográficos possibilitam obter limites de detecção baixíssimos⁵¹, mas os custos deste são elevados. Dentre os métodos de quantificação, os eletroquímicos têm se destacado nos últimos anos, porque consistem em técnicas rápidas e de baixo custo, a amostra não necessita de preparação e os dispositivos podem ser aplicados *in vivo*, os limites de quantificação alcançados pelos métodos eletroquímicos são semelhantes aos limites obtidos pelos métodos cromatográficos e espectroscópicos. Além disso, os métodos eletroquímicos possibilitam a miniaturização dos equipamentos, o que viabiliza a determinação *in situ* e *in vivo*^{52, 53, 54}. O neurotransmissor DA possui como principal interferente na determinação eletroanalítica *in vivo* o ácido ascórbico (AA) e o ácido úrico (AU), sendo que estes compostos podem ser encontrados em fluidos biológicos como no sangue e urina, em concentrações muito maiores, cerca de 1.000 vezes mais concentrado em relação às concentrações de DA⁵⁵. Os potenciais

de pico de oxidação destas espécies são muito próximos, o que dificulta a determinação dos sinais de oxidação simultâneos. Quando se pretende determinar eletroquimicamente moléculas que possuem interferentes como no caso de DA, AA e AU, geralmente é necessário a utilização de eletrodos modificados, porque os eletrodos não modificados na sua maioria não possibilitam a detecção simultânea dos sinais eletroquímicos destas moléculas devido aos potenciais redox muito próximos, ou seja, não são seletivos. Santos *et al.*⁵⁶ construíram um sensor eletroquímico modificando a superfície de um eletrodo ITO, utilizando a técnica *LbL* e monocamadas de ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc) e poli-*o*-metoxianilina (POMA), com o objetivo de determinar simultaneamente ácido ascórbico e dopamina. Utilizando a técnica de voltametria cíclica os autores conseguiram determinar DA com concentrações abaixo de $6,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, entretanto não foi possível detectar as duas espécies simultaneamente devido à sobreposição dos potenciais de pico.

Andreescu *et al.*⁴⁹ construíram um biossensor eletroquímico para monitorar concentrações de dopamina *in vivo*. O sensor foi construído utilizando a deposição de uma camada da enzima tirosinase, sobre uma camada do biopolímero quitosana, sendo que a quitosana foi previamente dopada com nanopartículas de óxidos metálicos (CeO_2 e TiO_2). Essas deposições foram realizadas sobre a superfície de um microeletrodo de fibra de carbono com diâmetro de $100 \mu\text{m}$. A configuração do eletrodo em que se obteve o menor limite de detecção e o menor tempo de resposta foi à seguinte: microeletrodo de fibra de carbono/ quitosana/ TiO_2 / CeO_2 / tirosinase. A determinação de DA foi realizada utilizando a técnica de amperometria na presença de ácido ascórbico, ácido úrico, serotonina e epinefrina, o eletrodo

mostrou-se seletivo mediante todos estes interferentes. O limite de detecção alcançado para a dopamina foi de $1,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

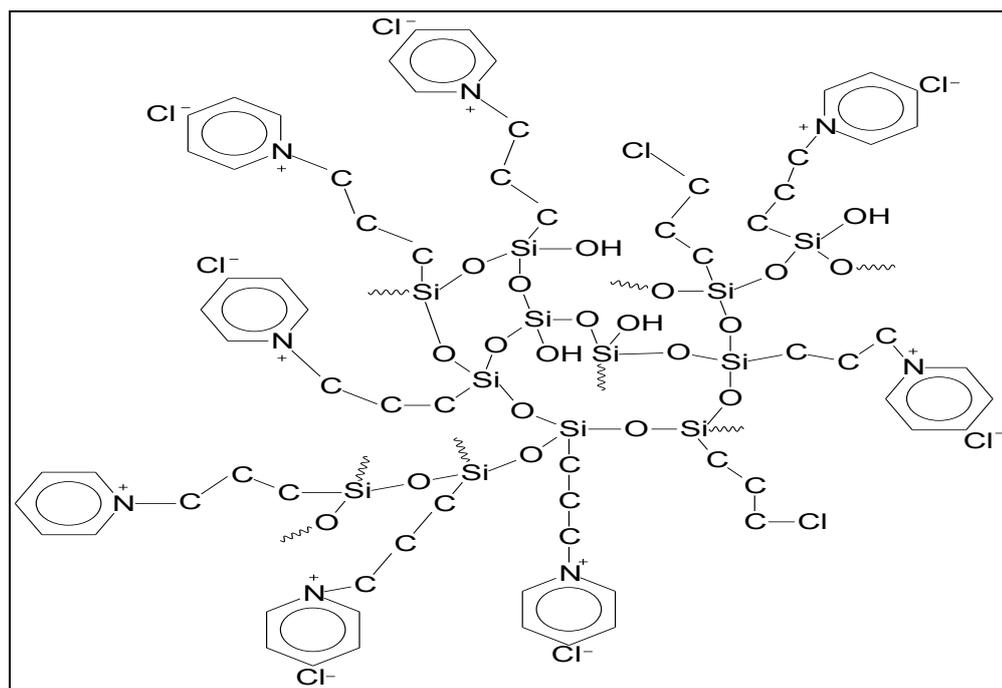
Eiras *et al*⁶⁷. construíram um sensor eletroquímico utilizando-se da técnica LbL e monocamadas alternadas de ftalocianina tetrassulfonada de níquel e do peptídeo Dermaseptin (DS 01). Estes filmes foram depositados em substrato ITO, os eletrodos (DS 01/NiTsPc) foram aplicados na detecção de DA na faixa de $1,0 \times 10^{-5}$ a $1,96 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e obteve-se limite de detecção de $1,6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, o eletrodo também foi aplicado na detecção simultânea de DA na presença de AA em diferentes concentrações, o eletrodo mostrou-se seletivo a determinação de DA na presença do interferente, pois este não mostrou-se sensível ao AA.

1.2.4 Polieletrólito Cloreto de 3-n-Propilpiridínio Silsesquioxano (SiPy^+Cl^-)

Os polímeros íons-trocadores são muito estudados, porque permitem ser aplicados na adsorção de íons metálicos em solução aquosa, na adsorção de corantes e ainda podem ser utilizados na construção de membranas íon-seletivo⁴⁵. Dentre os vários polímeros íons trocadores o mais conhecido é o Nafion®. Este tem sido extensivamente utilizado como substrato base para construção de sensores e biossensores^{58, 59}. Além deste, diversos polieletrólitos comerciais têm sido utilizados na preparação de filmes *LbL*, dentre eles destacam-se o PAH⁴³, PVS⁶⁰.e POMA⁵⁶ Recentemente, polieletrólitos com estrutura do tipo silsesquioxano têm se mostrado atrativos para a formação de filmes *LbL*, porque apresentam elevada estabilidade⁶¹. O polieletrólito cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano, também designado como (SiPy^+Cl^-), apresenta capacidade de troca iônica de $0,90 \text{ mmol g}^{-1}$, além apresentar alta solubilidade em água e elevada capacidade de formação de filmes sobre a superfície de substratos sólidos^{61, 62}. Este polímero foi sintetizado pelo Laboratório de Química de Superfícies do Instituto de Química da UNICAMP e seu método de

síntese foi patenteado¹⁵. O SiPy^+Cl^- possui o íon cátion piridínio fixo a estrutura de um polímero do tipo silsesquioxano. Este polieletrólito tem sido utilizado na construção de sensores eletroquímicos pela imobilização de espécies iônicas^{16,62,88}. Fujiwara *et al.*⁶³ construíram um sensor eletroquímico a base de ftalocianina tetrassulfonada de cobalto juntamente com o polieletrólito SiPy^+Cl^- imobilizado sobre uma matriz de óxido de alumínio (Al_2O_3). O composto foi aplicado na determinação de ácido oxálico na faixa de concentração de 1,0 a 3,5 mmol L^{-1} , e obtiveram limite de detecção de 0,5 mmol L^{-1} . A estrutura idealizada do polieletrólito está representada na Figura 6.

Figura 6- Representação idealizada da estrutura do polieletrólito cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano.



Fonte: *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 20, n. 4, p. 744-752, 2009.

Em um trabalho recente, Jesus *et al.*⁶⁴ construíram um sensor eletroquímico, utilizando o polieletrólito SiPy^+Cl^- , juntamente com o poliânion ftalocianina tetrassulfonada de cobre a partir da técnica *LbL*. O eletrodo apresentou elevada estabilidade, e permitiu a determinação simultânea de dopamina e ácido ascórbico,

com separação dos potenciais de picos de aproximadamente 500 mV em pH 3,0, e com limite de detecção para dopamina da ordem de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Este mesmo sistema, também foi aplicado com êxito na determinação de prometazina que é um anti-histamínico H1 pertencente ao grupo das fenotiazinas, na faixa de $3,9 \times 10^{-7}$ a $3,8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, e obteve-se limite de detecção de $8,7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.

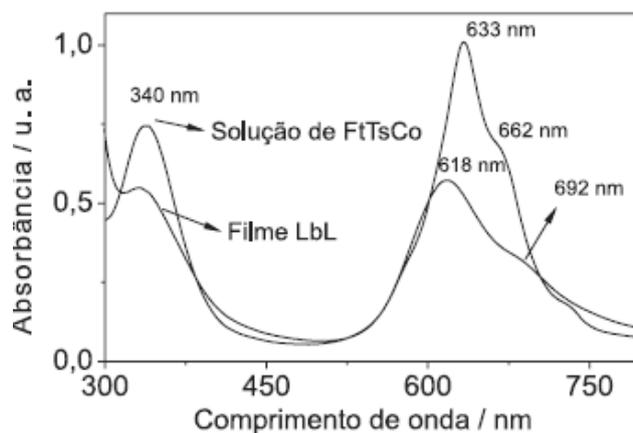
1.3 Métodos de Caracterização de filmes finos

1.3.1 Espectroscopia de absorção na região do UV-VIS

A espectroscopia de absorção na região do *UV-VIS* compreende a faixa de 180 a 760 nm. Essa radiação ao atingir as espécies de uma amostra, promove os elétrons presentes nos estados eletrônicos fundamentais para estados excitados de maior energia. Medidas de espectroscopia de absorção na região do *UV-VIS* podem ser utilizadas para monitorar o crescimento dos filmes assim como estudar as possíveis interações existentes entre as espécies componentes dos mesmos. A absorção na região do *UV-VIS* também pode ser usada para determinar de forma quantitativa concentrações de espécies em solução, desde que essas absorvam nesta região. Um exemplo da aplicação da técnica espectroscopia para caracterização de filmes *LbL* é descrito no trabalho de Silva *et al.*⁴³ no qual filmes *LbL* foram construídos utilizando-se os polieletrólitos ftalocianina tetrassulfonada de cobalto e polialilamina. Os espectros de *UV-VIS* obtidos dos filmes de 1 a 20 bicamadas foram comparados com o espectro da solução de CoTsPc e foi observado que o espectro da solução apresentou duas bandas de absorbância, uma 633 nm referente à forma dimérica, e outra referente à forma monomérica em 662 nm. Os filmes apresentaram as bandas das formas dimérica em 618 nm e 692 nm, respectivamente. Além destas bandas apresentarem-se mais alargadas em relação

as da solução. Tais deslocamentos juntamente com o alargamento das bandas foram atribuídos às interações entre os grupos SO_3^- e NH_3^+ , e estas são as principais interações que possibilitam a estabilidade das arquiteturas. A Figura 7 apresenta os espectros do filme e também da solução.

Figura 7 - Espectros de UV-VIS da solução de CoTsPc e do filme (PAH/CoTsPc)₂₀.



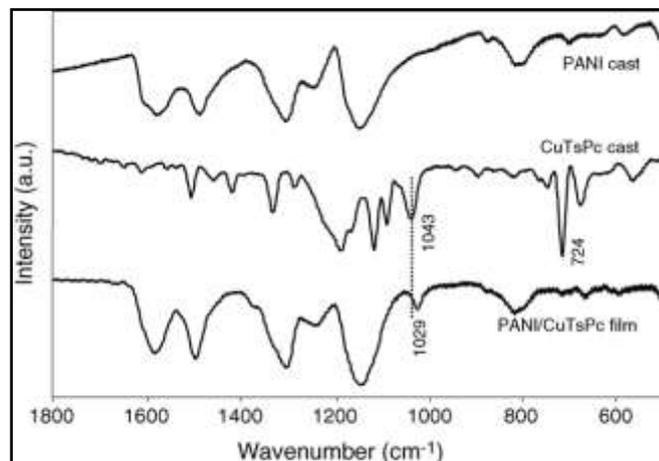
Fonte: Coordination Chemistry Reviews, v. 32, n. 1, p. 67-95, 1980.

1.3.2 Caracterização Espectroscópica por FTIR

A espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho é uma importante ferramenta utilizada para identificar grupos funcionais e elucidar estruturas moleculares. A radiação infravermelha é a radiação eletromagnética de grandes comprimentos de ondas e de baixas frequências⁶⁵. A absorção dessa radiação pelas moléculas causa excitações rotacionais e vibracionais, tendo como conseqüências as deformações axiais e angulares^{65, 66}. A técnica de FTIR, é uma das técnicas empregadas para caracterização de filmes finos, o trabalho de Oliveira Jr. *et al.*⁶⁷ relata a construção de filmes *LbL*, onde foram utilizadas monocamadas alternadas dos polieletrólitos: polianilina e ftalocianina tetrassulfonada de cobre. Estes filmes foram caracterizados utilizando a técnica de espectroscopia na região do infravermelho, sendo que nesta região os dois compostos apresentam absorção.

Os espectros dos filmes *LbL* foram comparados com os espectros dos filmes construídos pela técnica de *drop coating* de PANI e CuTsPc, os espectros dos filmes *cast* da CuTsPc apresentaram uma banda em 1043 cm^{-1} que foi atribuído aos estiramentos dos grupos SO_3^- , esta mesma banda foi observada nos filmes *LbL* porém em 1039 cm^{-1} . Este deslocamento de 4 cm^{-1} foi atribuído as interações entre os grupos SO_3^- e os grupos NH da PANI, sendo que estas interações limitam as vibrações da molécula, neste caso do grupo SO_3^- , causando o deslocamento para comprimento de ondas menores. As bandas da PANI não foram observadas no espectro dos filmes *LbL* devido a maior intensidade das bandas da ftalocianina. A Figura 8 apresenta os espectros dos filmes *cast* e *LbL*.

Figura 8 - Espectros de absorção na região no IV dos filmes *cast* de PANI e CuTsPc, e dos filmes *LbL* (PANI/CuTsPc).



Fonte: Sensors and Actuators B, n. 113, p. 809-815, 2006.

1.3.3 Caracterização Espectroscópica por RAMAN

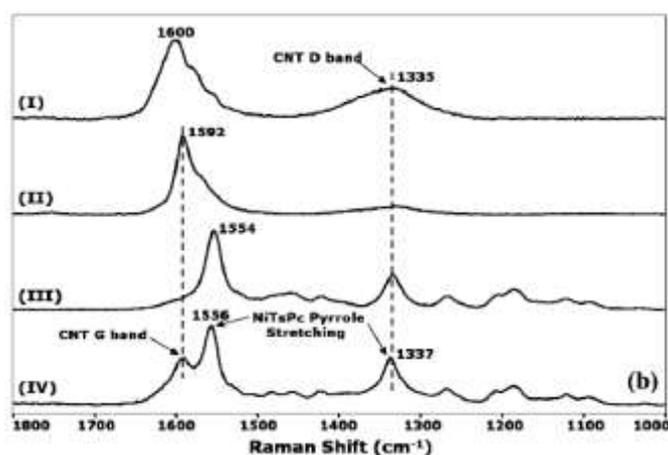
A espectroscopia Raman é uma técnica espectroscópica que se utiliza do espalhamento inelástico de uma radiação monocromática incidente em uma molécula. As frequências vibracionais são determinadas pela diferença entre as

freqüências das radiações espalhadas e da radiação incidente. No espalhamento Raman uma radiação geralmente na região do ultravioleta/visível, interage com a molécula, e é espalhada com freqüência ligeiramente modificada, sendo que esta variação de freqüência corresponde à diferença de energia entre dois estados vibracionais. Assim como na técnica de absorção na região do infravermelho, as moléculas podem passar de um estado vibracional para outro, mas o fenômeno é fisicamente diferente da absorção de radiação e as regras de seleção são diferentes daquelas adotadas no infravermelho. No efeito Raman a atividade está ligada ao momento de dipolo induzido da molécula pelo campo elétrico da radiação, diferentemente do infravermelho onde se considera o momento dipolar intrínseco, ou a variação deste momento com a vibração^{68, 69}. A técnica espectroscópica Raman é uma técnica amplamente utilizada para a caracterização de materiais, identificar tipos de ligações e fornece informações sobre a estrutura adotada pelas moléculas.

O trabalho de Zucolotto *et al.*⁹¹ relata a construção de um sensor eletroquímico, a base de monocamadas alternadas de poliamidoamina (PAMAM-NT) com nanotubos de carbono incorporados e ftalocianina tetrassulfonada de níquel. Estes filmes foram caracterizados por espectroscopia Raman com o intuito de investigar a formação do compósito. Para tanto, foram obtidos espectros do pó da NiTsPc, dos nanotubos, e dos filmes *cast* do PAMAM-NT. O espectro obtido a partir do pó de nanotubos apresentou duas bandas características uma em 1600 cm^{-1} e outra em 1335 cm^{-1} , atribuídas as bandas G e D respectivamente. No espectro do PAMAM-NT, a banda D praticamente desapareceu isto porque antes da deposição dos nanotubos no dendrimero, estes passaram por um processo de purificação, e a banda D é característica de carbono amorfo ou impurezas. Neste mesmo espectro a banda G apresentou um deslocamento de 8 nm, devido a interação com o

dendrímero. O espectro da ftalocianina apresentou duas bandas intensas uma em 1554 e outra em 1335 cm^{-1} ambas atribuídas ao estiramento pirrol. O espectro do filme *LbL* apresentou estas duas bandas porém deslocadas para 1556 e 1337 cm^{-1} sendo que estes deslocamentos foram atribuídos a interação que ocorrem entre as camadas. O eletrodo foi aplicado na determinação simultânea de DA e AA, e foi possível detectar simultaneamente as duas espécies com separação de potencial de pico de 100 mV. A Figura 9 apresenta os espectros Raman de todas as espécies utilizadas na construção dos filmes.

Figura 9 - Espectros Raman obtidos utilizando um laser de 633 nm, (I) pó de nanotubo de carbono, (II) *cast* PAMAM-NT, (III) pó NiTsPc, (IV) filme *LbL* (PAMAM-NT/NiTsPc)₁₀.



Fonte: Journal Electrochemical Science, n. 1, p. 194-214, 2006.

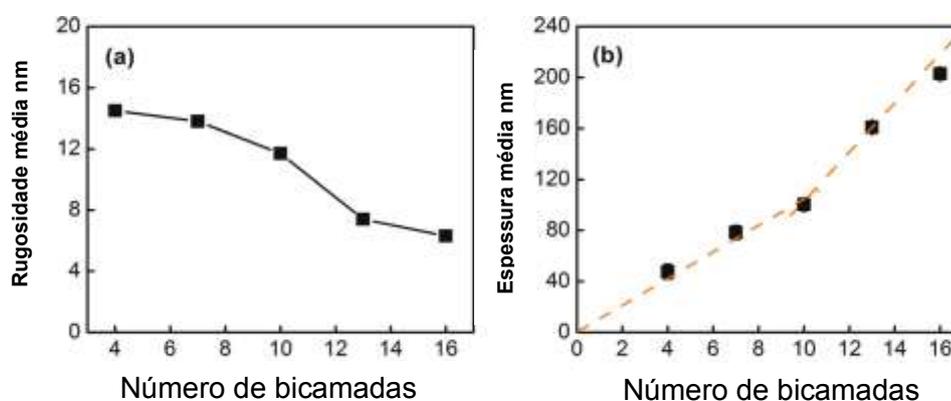
1.3.4 Caracterização Morfológica por Microscopia de Força Atômica

A técnica de microscopia de força atômica (AFM) é uma ferramenta muito importante quando se pretende estudar a superfície de sólidos, pois esta permite obter resoluções em escala nanométrica⁷⁰. Esta técnica baseia-se na atração ou na repulsão entre os átomos presentes na ponta da sonda do equipamento, e os átomos presentes na amostra, através das deflexões o equipamento traça o mapa morfológico da superfície da amostra. O equipamento pode operar em dois modos:

contato ou não contato entre a amostra e a ponta do equipamento. O equipamento quando operado no modo contato gera forças repulsivas, e no modo não contato gera forças atrativas.

Tal técnica é muito utilizada para estudar as superfícies de filmes finos, possibilitando a obtenção das seguintes informações: espessura dos filmes, rugosidade, tamanho de grãos, entre outras características morfológicas⁷¹. Um exemplo típico da utilização desta técnica pode ser observado no trabalho de Hammond *et al.*⁷² no qual filmes *LbL* de nanotubos de carbono de paredes múltiplas funcionalizados com ácido carboxílico alternados com nanopartículas de ouro (AuNP) foram construídos com o objetivo de se obter um sensor eletroquímico. Medidas de AFM de filmes com diferentes números de bicamadas mostraram que a rugosidade média diminuiu em função do aumento do número de bicamadas e a espessura média do filme aumentou com o aumento do número de bicamadas depositadas. Figura 10 mostra a relação entre o número de bicamadas e a rugosidade assim como a espessura dos filmes.

Figura 10 - Figuras (a) rugosidade média, (b) espessura média dos filmes (AuNP/MWNT)_n em função do número de bicamadas.



Fonte: Chemical Materials, v. 21, n. 13, 2009.

Os resultados das caracterizações de absorvância na região de *UV-VIS* corroboraram com os resultados de espessura, pois foi estabelecida uma relação da intensidade de absorvância em função dos números de bicamadas, onde se obteve uma linearidade, confirmando que a cada deposição se têm o aumento de material sendo depositado. Os eletrodos (AuNP/MWNT)₂ e (AuNP/MWNT)₁₀ foram aplicados no sensoriamento de metanol, mas somente o eletrodo (AuNP/MWNT)₂, apresentou-se eletroativo na oxidação do metanol. Pois com o aumento do número de bicamadas ocorre a aglomeração das nanopartículas, causando uma maior resistividade no processo de oxidação do metanol.

1.3.5 Métodos Voltamétricos

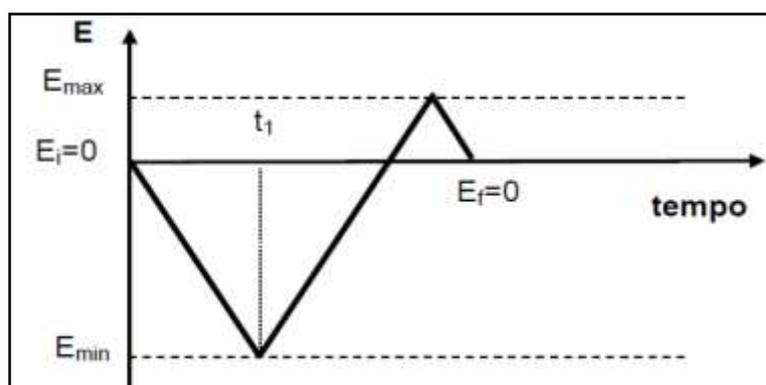
Os métodos eletroquímicos abrangem um grupo de técnicas voltamétricas, onde as informações qualitativas e quantitativas de uma espécie química em solução ou de uma superfície são obtidas a partir do registro de curvas (voltamogramas) da variação de corrente em função de um potencial aplicado, sendo que a variação da corrente ocorre principalmente devido à ocorrência de uma reação redox da espécie em estudo^{73, 74, 75}. Para isto é utilizado uma célula eletroquímica geralmente assistida por três eletrodos: um eletrodo auxiliar, um eletrodo de referência, um eletrodo de trabalho. Aplica-se uma varredura de potencial, sendo que quem sofre essa perturbação é o eletrodo de trabalho, e este polariza-se de acordo com o sentido da varredura aplicada. Enquanto que o eletrodo de referência mantém seu potencial constante e não sofre o processo de polarização. As técnicas voltamétricas são amplamente utilizadas para caracterizar superfícies de filmes finos e também para investigar comportamento eletroquímico de espécies em solução, assim como na determinação quantitativa de analitos⁷³.

Existem várias técnicas voltamétricas como: voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, voltametria de redissolução anódica ou catódica, voltametria de onda quadrada, entre outras. Nos itens a seguir serão descritas mais detalhadamente as técnicas voltamétricas utilizadas neste trabalho: voltametria cíclica e voltametria de onda quadrada.

1.3.5.1 Voltametria Cíclica

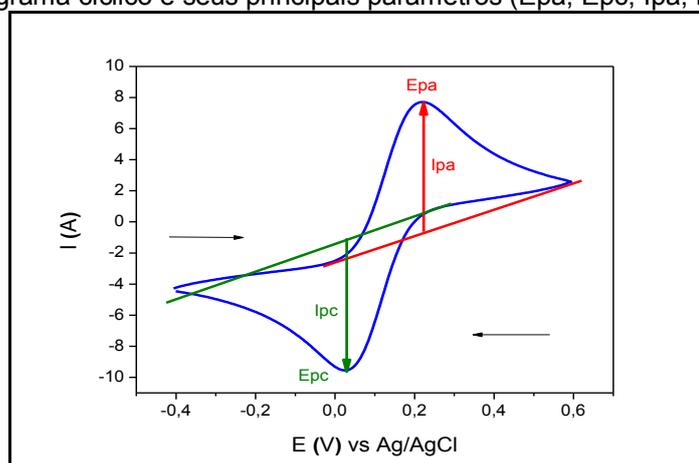
Quando se pretende estudar a superfície de um eletrodo, ou obter as características eletroquímicas de uma espécie, a primeira técnica a ser utilizada é a voltametria cíclica, porque é uma técnica relativamente rápida e fornece informações importantes sobre a termodinâmica de processos redox, a cinética de reações de transferência de elétrons, ocorrência de reações químicas acopladas, e a processos adsorptivos^{77, 78, 79}. Na técnica de voltametria cíclica é realizado uma varredura triangular de potencial, aplica-se uma varredura linear no sentido direto, até um valor de potencial final já estabelecido, ao atingir este ponto, inverte-se o sentido da varredura até o potencial inicial ou o potencial determinado. Esse ciclo de varredura é repetido de acordo com o número de ciclos pré-determinados. A forma como ocorre a varredura triangular de potencial na técnica de voltametria cíclica, está representada na Figura 11.

Figura 11 - Varredura triangular de potencial aplicado na técnica de voltametria cíclica em função da velocidade de varredura⁷³.



A partir desta perturbação ocasionada no sistema, tem-se como resposta um voltamograma, que consiste num gráfico da variação da corrente em função do potencial aplicado, o qual fornece informações qualitativas e quantitativas sobre o sistema analisado. Em geral, a técnica de voltametria cíclica, é mais comumente utilizada para obtenção de aspectos qualitativos, para informações quantitativas utilizam-se técnicas mais sensíveis como as técnicas de pulso, mais precisamente as voltametrias de pulso diferencial e de onda quadrada. A Figura 12 ilustra a resposta esperada por um processo reversível.

Figura 12 - Voltamograma cíclico e seus principais parâmetros (E_{pa} , E_{pc} , I_{pa} , I_{pc}).



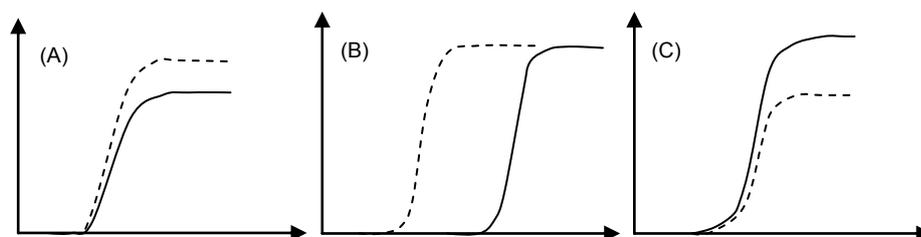
Fonte: Própria

Os parâmetros analisados nos voltamogramas cíclicos são: potenciais de oxidação (E_{pa}) e redução (E_{pc}) e as correntes de pico anódica (I_{pa}) e catódica (I_{pc}), sendo que a corrente resultante gerada no processo é a soma da corrente capacitiva mais a corrente faradaica. A corrente capacitiva é gerada pelo carregamento da dupla camada, já a corrente faradaica é gerada pelo processo de transferência de elétrons⁷³. Reações químicas acopladas ao processo de transferência de elétrons podem causar mudanças no perfil do voltamograma, principalmente em relação aos valores de corrente e potencial de pico. As reações acopladas podem ser

classificadas de acordo com o mecanismo eletródico, se ocorrer uma reação de transferência de elétrons na superfície do eletrodo acoplada a uma reação química em solução, o mecanismo é denominado de EC. Caso ocorra uma reação química em solução seguida do processo de transferência de elétrons, o mecanismo é denominado de CE. Para reações onde ocorre a transferência de elétrons na superfície do eletrodo e seguida por uma reação química catalisada, o mecanismo é denominado de EC⁷³. Reações onde não ocorre o mecanismo CE, a corrente de pico é maior quando comparada a reações onde ocorre o mecanismo CE, porque a espécie eletroativa está totalmente disponível para sofrer o processo redox, na presença do mecanismo CE, geralmente a espécie é gerada por alguma reação com o solvente, assim sua concentração inicial é menor o que diminui a concentração e a corrente de pico é menor. Na presença ou na ausência do mecanismo CE, o potencial de pico (ΔE_p) não é afetado. Reações químicas acopladas onde ocorre o mecanismo EC, ocorre deslocamento do potencial de pico para potenciais mais positivos e ou mais negativos dependendo do sentido da varredura, quando comparados a reações não acopladas. Por exemplo, no processo eletroquímico o reagente A reduz ou oxida e forma uma espécie B, o produto B é consumido por uma reação química acoplada formando a espécie C, que não é eletroativa no potencial de redução ou oxidação da espécie A. Se a cinética da reação química acoplada for rápida e a velocidade de varredura lenta, pouca espécie B estará disponível para o processo de transferência de carga inverso, acarretando o deslocamento do potencial de pico⁷³. Reações químicas acopladas em que o mecanismo EC' está presente, a intensidade de corrente é maior quando comparado as reações químicas não acopladas, a intensidade da corrente é maior porque o produto formado na transferência eletrônica reage com uma espécie

química em solução não eletroativa, o catalisador, e este regenera o produto formado em reagente para o que ocorra novamente o processo de transferência de carga. A Figura 13 ilustra os três esquemas.

Figura 13 - O efeito de reações homogêneas acopladas, ilustrando uma oxidação. Mecanismos (A) CE, (B) EC, (C) EC', na presença (—), na ausência (----) de reações acopladas⁷³.



Fonte: Oxford University Press, p. 175-186, 1993.

A partir do perfil do voltamograma é possível antecipar as características do processo de transferência de carga, isto é, se o sistema é reversível, irreversível ou quasi-reversível. Além do perfil do voltamograma existem outros critérios que devem ser analisados para determinar a reversibilidade do sistema. Os critérios estabelecidos para caracterizar a reversibilidade de um sistema, foram elaborados baseados em eletrodos sólidos, para eletrodos modificados os valores dos critérios são aproximados.

1.3.5.2 Reações Reversíveis

Para um sistema eletroquímico reversível, as espécies oxidadas e reduzidas apresentam a cinética do processo de transferência de elétrons rápida, e deste modo os voltamogramas apresentados por este processo apresentam potenciais de picos nas varreduras de potencial direta e também na inversa. Além do perfil do voltamograma há outros critérios que o sistema segue:

Para sistemas reversíveis:

- $|I_{pa}/I_{pc}| = 1$
- $E_{pa} - E_{pc} = 57,0/n \text{ mV}$
- E_p independente de v
- $I_p \propto v^{1/2}$
- $|E_p - E_{p/2}| = 56,6/n \text{ mV}$

Sendo E_p o potencial de pico, e $E_{p/2}$ potencial de pico a meia altura.

As correntes de picos podem ser dadas pela equação de Randles e Sevcik.

$$I_{pc} = 2,69 \cdot 10^{-5} \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot v^{1/2} \cdot C_0 \quad (\text{eq. 1})$$

Sendo que n é o número de elétrons envolvidos no processo, A é a área do eletrodo (cm^2), D_0 é o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), e C_0 é a concentração das espécies em solução (mol cm^{-3}), v é a velocidade de varredura (mV s^{-1})⁷⁵.

1.3.5.3 Reações Irreversíveis

Para sistemas irreversíveis, não ocorre o equilíbrio Nernstiano, ou seja, a velocidade de transferência de elétron é mais lenta do que a velocidade de varredura e as concentrações das espécies oxidadas e reduzidas não estão apenas em função potencial, desta forma deve-se considerar o coeficiente de transferência de carga (α). Nestas circunstâncias, a equação que descreve a corrente de pico é dada em ampères por:

$$I_{pc} = (2,99 \cdot 10^{-5}) \cdot n \cdot (\alpha n)^{1/2} \cdot A C_0 \cdot D_0^{1/2} \cdot v^{1/2} \quad (\text{eq. 2})$$

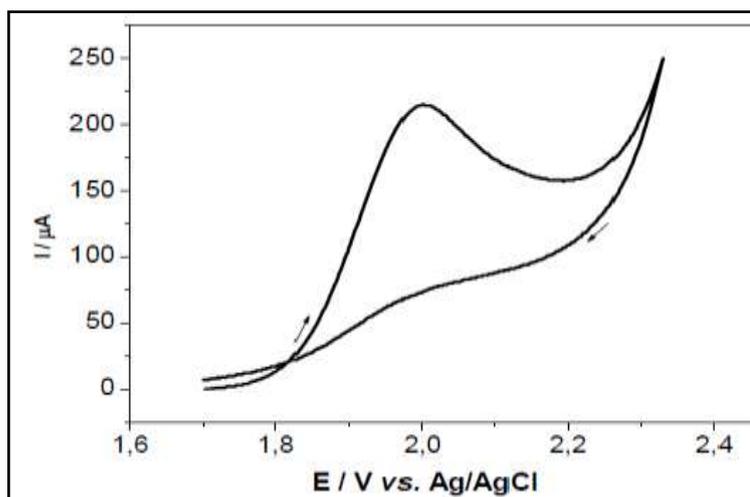
Conseqüentemente, a forma do voltamograma difere do perfil de um voltamograma correspondente a um sistema reversível. O voltamograma de um

processo irreversível geralmente apresenta apenas o potencial de pico anódico ou catódico, sendo que este se desloca com o aumento da velocidade de varredura e é dependente de α^{73} . Assim como para sistemas reversíveis, os sistemas irreversíveis também seguem alguns critérios.

- Ausência do pico reverso;
- $I_p \propto v^{1/2}$
- E_p desloca $30/n\alpha \text{ mV}$ por década de aumento de v ;
- $|E - E_{p/2}| = 47,7/\alpha n \text{ mV}$

A Figura 14 ilustra um voltamograma característico de um sistema irreversível.

Figura 14 - Voltamograma cíclico característico de um sistema irreversível⁷⁶.



Fonte: SARTORI, E. J. R.; Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, SP, 2009.

1.3.5.4 Reações Quasi-Reversíveis

Para processos quasi-reversíveis, a corrente é controlada pelo processo de transferência de elétrons e também pelo transporte de massa. Para esse tipo de sistema a cinética de oxidação e redução da reação tem que ser considerada simultaneamente. Como conclusão geral, à medida que aumenta a velocidade de

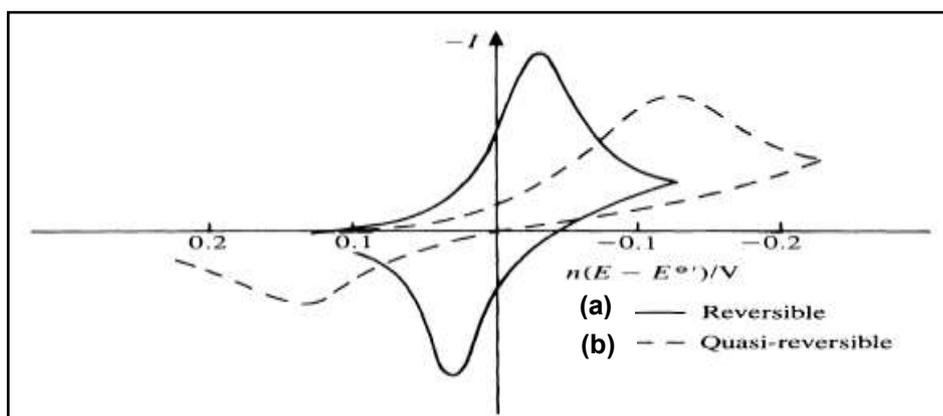
varredura aumenta a irreversibilidade, enquanto que ao mesmo tempo há uma diminuição da corrente de pico relativa ao processo reverso e uma crescente separação entre os picos anódico e catódico^{73, 77}.

Critérios que os sistemas quasi-reversíveis seguem:

- $I_{pa}/I_{pc} = 1$ se $\alpha = 0,5$;
- E_{pc} desloca negativamente com o aumento de v ;
- $\Delta E_p = 58/n$ mV e aumenta com v ;

A Figura 15 mostra os voltamogramas característicos de cada processo, reversível e quasi-reversível, respectivamente.

Figura 15 - Perfil do voltamograma (a) para um sistema reversível e (b) para um sistema quasi-reversível.

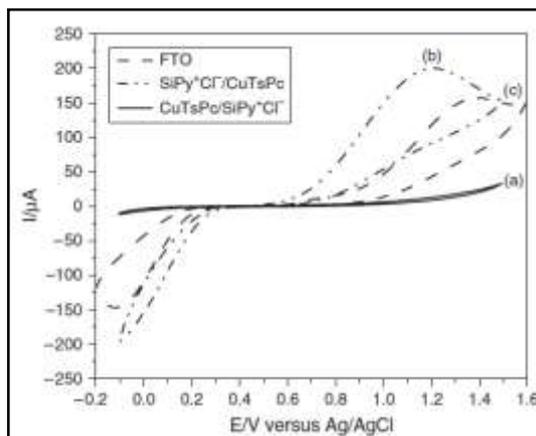


Fonte: Oxford University Press, p. 175-186, 1993.

Um exemplo da utilização da técnica de voltametria cíclica no estudo de filmes aplicados como sensores é descrito por Jesus *et al.*⁶⁴ onde foi construído um sensor eletroquímico a base de ftalocianina tetrassulfonada de cobre e SiPy^+Cl^- , sobre a superfície de um substrato FTO, em duas configurações ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{CuTsPc}$) e ($\text{CuTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-$) com diferentes números de bicamadas. Utilizando-se da técnica de voltametria cíclica, na presença do analito DA, foi possível determinar que a molécula responsável pelo processo de transferência de elétrons é ftalocianina

metalada, uma vez que os filmes com a configuração em que a ftalocianina esta na camada mais interna ($\text{CuTsPc/SiPy}^+\text{Cl}^-$) não respondeu a este analito. A Figura 16 mostra os voltamogramas cíclicos, referente aos filmes e também ao eletrodo FTO.

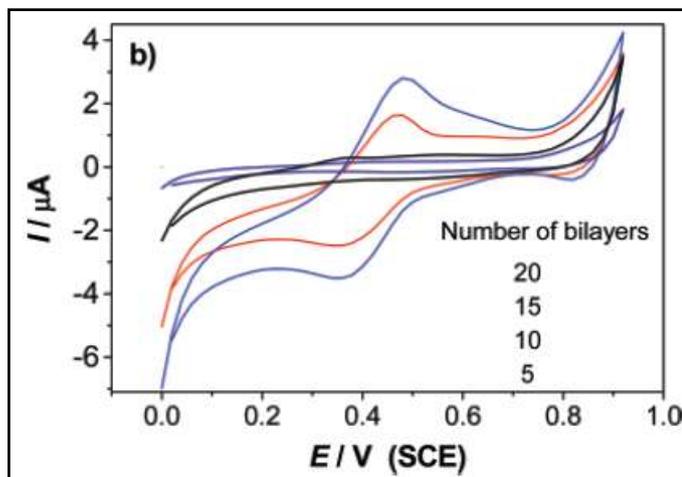
Figura 16- Voltamogramas cíclicos (a) $\text{CuTsPc/SiPy}^+\text{Cl}^-$, (b) $\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{CuTsPc}$, (c) FTO, todos as medidas foram realizadas na presença de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em solução de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: Journal Nanoscience and Nanotechnology, v. 11, p. 1-10, 2011.

O eletrodo associado à técnica de voltametria mostrou-se seletivo a determinação de DA na presença de AA, com separação de picos de aproximadamente 500 mV. A técnica de voltametria cíclica pode ser utilizada para acompanhar a deposição das bicamadas. Como por exemplo, no trabalho de Silva *et al.*⁹⁹ foram construídos filmes através da técnica *LbL* utilizando os polieletrólitos PAH e FeTsPc a deposição das bicamadas foi monitorada pela técnica espectroscópica de *UV-VIS*. Observou-se que a absorbância aumentou em função do número de bicamadas, mostrando que a cada bicamada depositada tem-se o acúmulo de material. Esse resultado foi confirmado através da técnica de voltametria cíclica, pois, as correntes de picos anódica e catódica aumentaram de acordo com o aumento do número de bicamadas. A Figura 17 mostra os voltamogramas referente ao filme PAH/FeTsPc com diferentes número de bicamadas.

Figura 17- Voltamogramas cíclicos dos filmes (PAH/FeTsPc)_n utilizando diferentes números de bicamadas, em solução de HCl 0,1 mol L⁻¹, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: Journal Chemical, n. 7, p. 524-531, 2009.

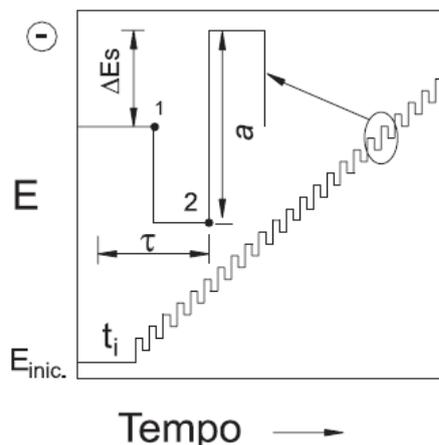
1.3.5.2 Voltametria de Onda Quadrada

Dentre as técnicas voltamétricas, a voltametria de onda quadrada (VOQ) é uma técnica voltamétrica de pulso, a qual se destaca devido a sua alta sensibilidade e rapidez. Os limites de detecção alcançados por esta técnica podem ser comparados aos obtidos utilizando técnicas cromatográficas e espectroscópicas⁷⁷. A voltametria de onda quadrada foi proposta em 1952 por Barker, mas na época não foi muito difundida devido às dificuldades encontradas com os equipamentos eletrônicos. Com os avanços instrumentais aliados ao desenvolvimento de novas teorias, a técnica tornou-se uma importante ferramenta para estudos eletroanalíticos e também no estudo de processos redox⁷⁷.

A variação do potencial nesta técnica ocorre na forma de uma escada de potencial, onde se tem incremento de varredura (ΔE_s), amplitude de pulso (**a**) e duração de pulso (τ), e as medidas de corrente são realizadas no final dos pulsos diretos e reversos^{77, 79}. A Figura 18 apresenta a forma de aplicação do potencial na

técnica de voltametria de onda quadrada e os respectivos parâmetros a serem otimizados.

Figura 18 - Aplicação da varredura de potencial na técnica de voltametria de onda quadrada, (a) amplitude de pulso, (ΔE_s) incremento de varredura, (τ) período do pulso.

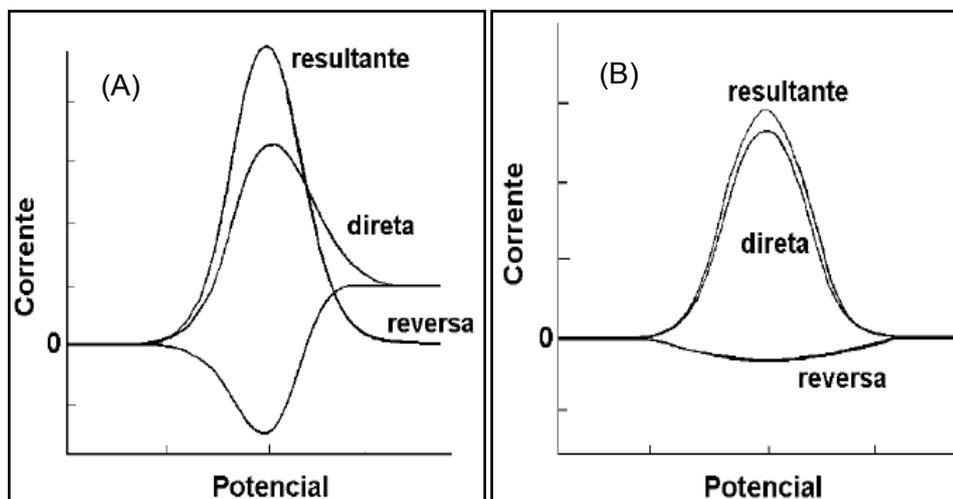


Fonte: Química Nova, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.

Dentre as vantagens dessa técnica pode-se citar a sua rapidez frente a outras técnicas de pulso, excelente sensibilidade, diminuição das correntes capacitivas e aumento das correntes faradaicas, uma vez que as medidas de corrente são realizadas ao final do degrau de potencial, onde a corrente capacitiva já se tornou negligenciável, melhorando assim a resolução dos dados experimentais e consequentemente a sensibilidade analítica. Esta também possibilita a análise em altas velocidades de varredura e diminuição dos problemas associados ao bloqueio da superfície do eletrodo por produtos de reações. O gráfico ou voltamograma é dividido em três componentes, correntes direta, inversa e resultante, sendo que a corrente resultante consiste na diferença entre a corrente direta e a corrente inversa. Para sistemas reversíveis, a componente resultante é superior as demais, para sistemas irreversíveis, a componente resultante não difere significativamente da componente direta, porque a contribuição da componente inversa é mínima ou

negligenciável^{77, 78}. A Figura 19 representa a resposta à perturbação causada pela varredura de potencial utilizando a técnica VOQ.

Figura 19 – Voltamogramas de onda quadrada para sistemas de transferência de elétrons, (A) reversíveis e (B) irreversíveis⁷⁹.



Fonte: Química Nova, v. 27, n. 5, p. 790-797, 2004.

Para reações reversíveis onde não há adsorção de analito na superfície do eletrodo, o coeficiente de transferência de carga é considerado como sendo igual a 0,5, quanto maior a reversibilidade, maior é o valor de corrente resultante⁷⁷. Outro critério que pode ser usado para prever a reversibilidade do sistema foi proposto por O’Dea e Osteryoung. Segundo eles, a razão entre o fator cinético e a frequência de aplicação dos pulsos de potencial, para reações reversíveis a corrente de pico varia linearmente com a raiz quadrada da frequência⁷⁹.

$$I_p = k_r f^{1/2} \text{ (eq. 3)}$$

Sendo I_p corrente de pico, k_r fator cinético e $f^{1/2}$ raiz quadrada da frequência.

Para reações reversíveis, onde ocorre adsorção de reagente o potencial de pico apresenta uma relação linear com o logaritmo da frequência de aplicação de pulsos de potencial, mas para reações reversíveis onde ocorre adsorção de

reagente e produto, o potencial de pico é independente da frequência de aplicação de pulsos de potenciais.

Para reações irreversíveis a corrente de pico apresenta uma relação linear com a frequência e a largura de meia altura ($\Delta E_{p/2}$) é independente da amplitude dos pulsos.

Em processos redox quasi-reversíveis, a intensidade da corrente de pico aumenta proporcionalmente com a constante de velocidade de reação, e não apresenta relação linear com a frequência de aplicação de pulsos de potenciais. A Tabela 1 apresenta a relação entre as correntes de pico (I_p) e a frequência (f) dos pulsos, para os três sistemas: reversível, irreversível e quasi-reversível.

Tabela 1- Relação entre I_p vs f para cada sistema.

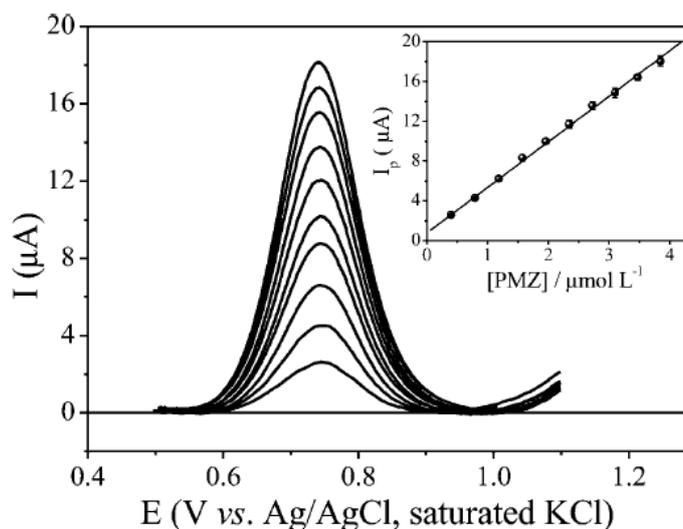
Sistema	Relação
Irreversível	$I_p = kf$
Reversível	$I_p = kf^{1/2}$
Quasi-reversível	Não linear

Os parâmetros utilizados pela técnica como I_p e E_p fornecem informações importantes quando relacionados com a frequência de aplicação de pulsos de potenciais. Através deles é possível determinar o tipo de processo que ocorre, e se ocorre ou não adsorções na superfície do eletrodo⁷⁹. Para sistemas reversíveis a corrente de I_p varia linearmente com a frequência, para sistemas irreversíveis I_p varia linearmente com a raiz quadrada da frequência e para sistemas quasi-reversíveis a relação entre I_p e a frequência não é linear⁷⁷.

O trabalho de Correia *et al.*⁸¹ é um exemplo da utilização desta técnica na determinação eletroanalítica de prometazina. Os autores construíram filmes *LbL*, utilizando os polieletrólitos: $CuTsPc$ e $SiPy^+Cl^-$, estes eletrodos mostram-se

sensíveis a variações de concentrações de prometazina na faixa de 3.9×10^{-7} a $3.8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, com limite de detecção de $2,79 \mu\text{g mL}^{-1}$. A Figura 20 apresenta os respectivos voltamogramas.

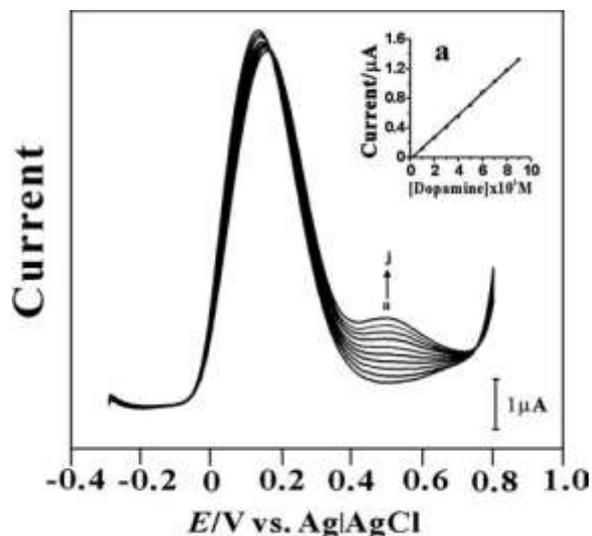
Figura 20 - Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{CuTsPc})_5$ na presença de diferentes concentrações de prometazina em solução tampão BR pH 5,0.



Fonte: *Electroanalysis*, v. 23, n. 8, p. 1814-1820, 2011.

Outro exemplo é relatado no trabalho de Chen *et al.*⁸⁰, neste trabalho os autores modificaram a superfície de um eletrodo de carbono vítreo utilizando brometo de dodecildimetil amônio (DDAB), este eletrodo foi aplicado na determinação simultânea de DA e AA. A Figura 21 apresenta os voltamogramas obtidos a partir de diferentes concentrações de DA.

Figura 21 - Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (DDAB/CG) a partir de diferentes concentrações de DA na presença de AA com concentração fixa de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.



Fonte: Journal of Electroanalytical Chemistry n. 587, p. 226-234, 2006.

Detectou-se DA em meio de AA com separação de potencial de pico de 290 mV, o eletrodo mostrou-se sensível a variações de concentrações de DA na faixa de $1,0 \times 10^{-5}$ a $9,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, na presença de AA com concentração fixa de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O eletrodo também foi aplicado na determinação simultânea de epinefrina e ácido ascórbico, sendo que as espécies foram determinadas na mesma faixa de concentração que foi de $1,0 \times 10^{-4}$ a $8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e apresentou separação de potencial de pico de 70 mV.

2 Delimitação do problema

A construção de sensores eletroquímicos é de grande interesse para a área de Eletroanalítica, pois os métodos eletroquímicos podem atingir limites de quantificação e detecção semelhantes aos métodos cromatográficos, com custos muito menores, além de possibilitarem análises *in situ* e *in vivo*. Além disso, os equipamentos utilizados nas análises eletroquímicas são geralmente portáteis e de fácil operação.

Dentre as várias técnicas de construção de filmes finos, a técnica *Layer-by-Layer*, foi escolhida para construção dos filmes finos, uma vez que a mesma é relativamente rápida, de fácil manipulação e os aparatos laboratoriais são de baixo custo. Além disso, esta possibilita construir filmes finos, cuja espessura pode atingir a escala nanométrica, com elevada organização e nas mais diversas arquiteturas, além de permitir a combinação de muitos compostos. Utilizando a técnica *LbL* é possível construir sensores e biossensores sensíveis, seletivos e estáveis, com baixo custo, de maneira simples e rápida, utilizando pequenas quantidades de materiais⁸.

Foi escolhido o composto cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano, designado como SiPy^+Cl^- , como polycation devido sua alta solubilidade, alta capacidade de troca iônica e capacidade de formação de filmes finos estáveis. Apesar destas características, a sua utilização na construção de filmes *LbL* ainda é pouco relatada na literatura. Como poliânion foi escolhido a complexo macrocíclico ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc), por apresentar alta solubilidade, estabilidade térmica e química e também pelas suas propriedades semicondutoras e eletrocatalíticas. Espera-se que a combinação destes dois polieletrólitos na forma de

filmes *LbL* possa propiciar novas propriedades físico-químicas de modo a potencializar a aplicação destes materiais como sensor eletroquímico.

Desta forma, o objetivo deste trabalho consiste em construir filmes finos através da técnica *LbL*, utilizando os polieletrólitos citados e aplicá-los como sensor eletroquímico para determinação de dopamina em meio de interferentes como: ácido ascórbico e úrico, que são moléculas de interesse biológico.

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral:

Este trabalho tem como objetivo geral a construção filmes finos a partir da técnica *Layer-by-Layer* utilizando-se os seguintes compostos: ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc), juntamente com o polieletrólito cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano (SiPy⁺Cl⁻), com o intuito de aplicá-los como sensores eletroquímicos. Para atingir o objetivo geral será necessário o cumprimento das etapas descritas a seguir:

3.2 Objetivos Específicos:

- Construção dos filmes automontados com NiTsPc e SiPy⁺Cl⁻ em duas configurações: polieletrólito presente na camada mais interna (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc) e outra em que o polieletrólito encontra-se na camada mais externa (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻);
- Otimização dos parâmetros para o processo de construção dos filmes tais como: pH das soluções dos polieletrólitos, tempo de imersão dos filmes e concentrações das soluções.
- Monitoramento da deposição e crescimento das bicamadas utilizando-se a técnica espectroscópica de *UV-VIS*;
- Caracterização morfológica das superfícies dos filmes contendo diferentes números de bicamadas através da técnica de AFM;
- Estudo da interação entre os polieletrólitos componentes dos filmes por Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho e Espectroscopia Raman;

- Caracterização das espécies imobilizadas na superfície do eletrodo utilizando voltametria cíclica e também voltametria de onda quadrada a fim de estudar o perfil voltamétrico;
- Otimização dos parâmetros voltamétricos como: estudo de eletrólito suporte, variação das velocidades de varreduras e janela de potencial;
- Aplicação dos filmes como sensor eletroquímico para quantificação de DA na presença de seus principais interferentes: ácido ascórbico (AA) e ácido úrico (AU).

4 Parte Experimental

4.1 Reagentes utilizados

Todos os reagentes utilizados nos experimentos são de pureza analítica e foram utilizados sem purificação prévia. A dopamina (DA), ácido ascórbico (AA), ácido úrico (AU) e a ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc) foram obtidos comercialmente da Sigma-Aldrich®. O polieletrólito SiPy⁺Cl⁻ foi sintetizado a partir do procedimento previamente descrito¹³.

4.2 Construção dos filmes finos através da técnica LbL

Foram utilizados dois compostos para a construção dos filmes *LbL*: a ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc), utilizada como poliânion e o cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano (SiPy⁺Cl⁻) utilizado como policátion. Os parâmetros utilizados para a construção dos filmes são descritos na Tabela 2.

Tabela 2- Parâmetros utilizados para construção dos filmes *LbL* à base de SiPy⁺Cl⁻ e NiTsPc.

Solução	Concentração	Tempo de Imersão	pH
NiTsPc	2 mg mL ⁻¹	5 min.	8
Solução de Lavagem	H ₂ O/NaOH	1 min.	8
SiPy ⁺ Cl ⁻	2 mg mL ⁻¹	5 min.	8
Solução de Lavagem	H ₂ O/NaOH	1 min.	8

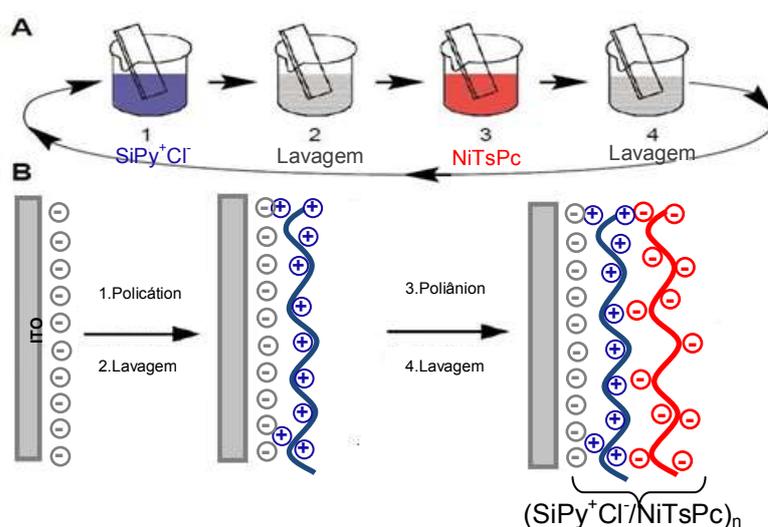
Os filmes automontados foram depositados sobre substratos ITO (óxido de estanho dopado com índio) da Flexitec® ($R_s = 10-20 \Omega \text{ cm}^2$). Os substratos antes de serem utilizados passaram por um processo de limpeza, utilizando-se soluções de peróxido de hidrogênio, hidróxido de amônio e água nas proporções 1: 1: 5, todos com pureza analítica. Este procedimento de limpeza é muito importante para retirar todo e qualquer tipo de impureza que possa estar sobre a superfície do mesmo,

evitando defeitos no processo de deposição das monocamadas. Para tanto, estes foram imersos nesta solução e aquecidos até a fervura, sendo então retirados, e secos à temperatura ambiente. Por último, os ITOs foram imersos em solução de álcool isopropílico e aquecidos até aproximadamente 90 °C. Em seguida, estes foram imersos em solução de clorofórmio e aquecidos até aproximadamente 60°C, para retirada de possíveis impurezas e então secos ao ar. Os tempos estipulados para imersão dos substratos nas soluções dos polieletrólitos foram baseados em estudos da cinética de deposição, e em trabalhos já relatados na literatura^{64, 66, 86}. O estudo cinético foi realizado para o eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₁₀, utilizando a técnica espectroscópica de absorção na região do *UV-VIS*, onde foi correlacionada a intensidade de absorbância da banda Q das ftalocianinas em 669 nm, em função do tempo de imersão. Sobre a superfície de um substrato de quartzo, foram depositadas camadas alternadas de SiPy⁺Cl⁻ e NiTsPc, totalizando dez bicamadas. A faixa de tempo estudada foi de 10 a 360 s, com intervalos de tempo de 10 s até 150 s, a partir deste ponto o intervalo foi de 30 s até 360 s.

O procedimento utilizado para a deposição das bicamadas foi o seguinte: utilizou-se um béquer contendo a solução de SiPy⁺Cl⁻ pH = 8 (ajustado com NaOH 0,1 mol L⁻¹), dentro do qual o substrato foi imerso por 5 minutos, a fim de que a primeira camada fosse depositada. Logo após este período, este foi imerso em outro béquer contendo a solução de lavagem (água destilada com o pH ajustado para 8 com NaOH 0,1 mol L⁻¹) por 1 minuto, para retirar o excesso de moléculas de SiPy⁺Cl⁻ que não foram adsorvidas. Em seguida, o substrato foi seco sob fluxo de ar quente e então novamente imerso em um béquer contendo agora a solução do polieletrólito NiTsPc pH = 8 (pH ajustado para 8 com NaOH 0,1 mol L⁻¹), por 5 minutos, para a formação da primeira bicamada. Posteriormente, repetiu-se o procedimento de

lavagem e secagem sob fluxo de ar. Esse processo foi repetido de acordo com o número de bicamadas e arquitetura desejada. Os filmes foram depositados em duas configurações diferentes: com o polieletrólito SiPy^+Cl^- presente na camada mais interna ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$) e outra com o polieletrólito na camada mais externa ($\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-$). O procedimento de deposição foi realizado para ambas as configurações, porém para os filmes ($\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-$) a ordem dos polieletrólitos foi invertida. Foram construídos filmes de até 22 bicamadas. A Figura 22 ilustra o procedimento de construção dos filmes *LbL*.

Figura 22 - Representação esquemática da obtenção dos filmes finos através da técnica *Layer-by-Layer*, adaptada da referencia.



Fonte: DECHER, G.; Wiley-VCH, 2002.

Para comparação com os filmes *LbL* foram construídos filmes contendo somente camadas de NiTsPc e de SiPy^+Cl^- , a partir da imersão do substrato ITO por um determinado número de vezes nas respectivas soluções dos polieletrólitos.

4.3 Caracterização Espectroscópica na Região do UV-VIS

Utilizou-se a técnica espectroscópica de absorção na região do *UV-VIS* para caracterizar as espécies utilizadas para a construção dos filmes: NiTsPc e SiPy^+Cl^- , e para monitorar o processo de deposição das bicamadas sobre a superfície do

substrato. Para tanto, utilizou-se um espectrofotômetro da marca VARIAN modelo CARY 50 BIO, de feixe simples, o qual foi operado no modo absorvância. O pH das soluções dos polieletrólitos foi otimizado, para isso utilizou-se soluções de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sendo construídos filmes com soluções dos polieletrólitos em pH 2, 4, 6 e 8. As concentrações das soluções dos polieletrólitos também foram otimizadas, sendo construídos filmes com concentrações de 0,5, 1,0, 2,0 mg mL^{-1} . Para a otimização destes parâmetros, os filmes foram depositados sobre o substrato de quartzo e analisados por espectroscopia de absorvância na região do *UV-VIS*. O monitoramento foi realizado para os filmes em ambas as configurações $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$, analisando as absorvâncias referente a banda Q (na região de 500 a 800 nm). O monitoramento do crescimento dos filmes em ambas as configurações foi realizado a cada duas bicamadas depositadas, a partir da 2^a até a 22^a bicamada.

4.4 Caracterização Espectroscópica na Região do Infravermelho (FTIR)

Para as caracterizações utilizando a técnica de infravermelho com transformada de Fourier, utilizou-se o espectrofotômetro SHIMADZU FTIR-8400. A faixa de varredura utilizada foi de 400 a 1.800 cm^{-1} . Com o intuito de caracterizar os precursores SiPy^+Cl^- e NiTsPc , estes foram depositados sobre substrato de Silício na forma de filmes *cast*, e analisados no modo reflectância, assim como os filmes *LbL* em ambas as configurações $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{35}$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_{35}$.

4.5 Caracterização por Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram obtidos a partir de espectroscópio Raman acoplado a um microscópio ótico da marca BRUKER, modelo Senterra, com resolução de 0,5 nm, laser de 632 nm, objetiva 20 X, potência de 2 mW. Foram

realizadas medidas dos filmes *cast* de NiTsPc e SiPy⁺Cl⁻, e dos filmes *LbL* (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)₃₅ e (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₃₅. Neste caso tanto os filmes *cast* como *LbL* foram depositados em substrato de prata, previamente limpos, utilizando o procedimento já descrito para o substrato ITO.

4.6 Análise Morfológica dos Filmes por Microscopia de Força Atômica (AFM)

Com o intuito de investigar a morfologia das superfícies dos filmes finos automontados (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)_n e (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_n em diferentes estágios de deposição foram realizadas medidas de AFM da superfície dos filmes, contendo 2, 6, 10, 14, 18 e 22 bicamadas, todos os filmes foram preparados nas mesmas condições, utilizando-se substrato de vidro.

O equipamento utilizado para realizar as medidas de AFM foi um microscópio marca SHIMADZU modelo SPM 9600 do Laboratório Multiusuários da UEPG. As imagens foram obtidas no modo não contato. Com objetivo de analisar a espessura dos filmes em ambas as configurações, foram realizadas medidas utilizando o equipamento de AFM no modo contato. Para as medidas de espessura, os filmes em ambas as configurações foram depositados sobre a superfície de substrato de vidro, no qual foi isolada uma área do substrato utilizando parafilme, antes da deposição das bicamadas. Em seguida os substratos foram imersos nas soluções dos polieletrólitos. Após a construção dos filmes com a arquitetura e o número de bicamadas desejadas foi retirado o parafilme, onde entre a superfície do substrato e o filme formou-se um degrau. Considerou-se que a altura deste degrau corresponde à espessura do filme.

4.7 Medidas Eletroquímicas

Utilizou-se um potenciostato/galvanostato Micro Autolab III (Eco Chemie) usando o software GPES 4.7, assistido por uma célula eletroquímica com capacidade de 10 mL contendo três eletrodos: um eletrodo auxiliar de platina (Pt) com área de 1 cm², um eletrodo de referência Ag/AgCl e como eletrodo de trabalho os filmes *LbL* com área de 0,5 cm². Para todas as medidas eletroquímicas, utilizou-se como eletrólito suporte uma solução tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ com pH ajustado para 7, na faixa de potencial de -0,2 V a 1,2 V vs Ag/AgCl. Para os estudos de voltametria cíclica (VC), a velocidade de varredura utilizada foi de 50 mV s⁻¹. Com o intuito de verificar os efeitos da arquitetura (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_n e (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)_n como também das espessuras dos filmes (n = 2 à 22 bicamadas) sobre a resposta eletroquímica, foram realizadas medidas eletroquímicas na ausência e na presença de DA, com concentração fixa de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹. Também foi realizado estudo do efeito da variação da velocidade de varredura na faixa de 10 a 100 mV s⁻¹.

Para as medidas utilizando voltametria de onda quadrada (VOQ), utilizou-se como solução de eletrólito suporte solução tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH = 7,0. O sistema eletroquímico foi o mesmo utilizado na técnica de voltametria cíclica já mencionado. Para a otimização da resposta eletroquímica, foram realizados estudos da influência das componentes de corrente (direta, resultante e reversa) e estudos dos parâmetros da VOQ (incremento variou-se na faixa de 1 a 10 mV, amplitude de 10 a 100 mV e frequência de 10 a 100 Hz). A otimização dos parâmetros foi realizada na presença de DA 9,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ e AU 9,0 x 10⁻⁴ mol L⁻¹.

Com o intuito de estudar a viabilidade da aplicação dos eletrodos como sensores, foram realizados estudos da repetibilidade e reprodutibilidade das

respostas voltamétricas dos eletrodos (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂. Para as medidas de repetibilidade foram realizadas cinco varreduras utilizando o mesmo eletrodo na presença de DA com concentração de $9,9 \times 10^{-5}$ e AU $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, na mesma solução, sob as mesmas condições, sendo que ao final de cada varredura a solução ficou sob agitação por 20 s. A partir dos voltamogramas de onda quadrada estimou-se o desvio de corrente de pico, para DA e AU. Para as medidas de reprodutibilidade foram realizadas cinco medidas sucessivas, em dias diferentes, sob as mesmas condições e parâmetros, utilizando-se o mesmo eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, na presença de DA com concentração de $9,9 \times 10^{-5}$ e AU $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. A partir dos voltamogramas de onda quadrada foi possível estimar o desvio de corrente de pico para as duas espécies.

Realizaram-se estudos de reprodutibilidade do método de construção dos eletrodos. Para tanto, foram construídos cinco eletrodos (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ nas mesmas condições. Estes eletrodos foram aplicados na determinação de DA $9,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e na presença de AU $9,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, onde foram utilizados os mesmos parâmetros voltamétricos otimizados anteriormente, sendo que as medidas voltamétricas foram realizadas na mesma solução. A partir dos voltamogramas de onda quadrada foi possível estimar o desvio de corrente de pico para DA e AU.

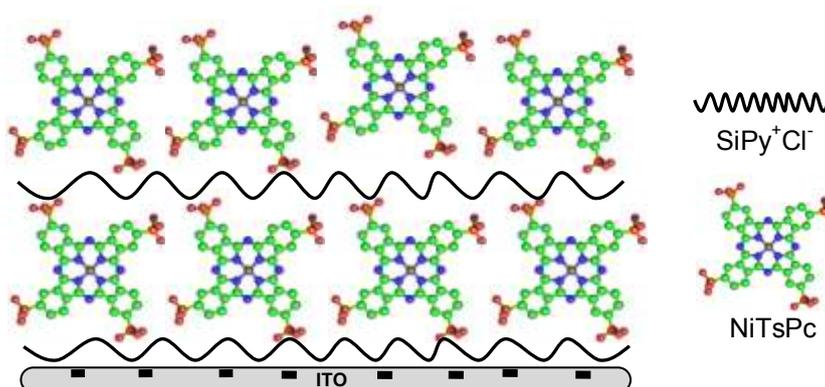
Para obtenção das curvas de calibração para DA na presença dos interferentes, foi estabelecido uma concentração de fixa de AU ou AA de $4,7 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, e variou-se a concentração de DA na faixa de $1,0 \times 10^{-5}$ a $9,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, com adições sucessivas de 10 µL de uma solução estoque de DA $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹. Para as curvas de calibração para AU na presença de DA foi fixa a concentração de DA em $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e variou-se a concentração de AU na faixa de $1,0 \times 10^{-4}$ a

$9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, com adições sucessivas de $100 \text{ }\mu\text{L}$ de uma solução estoque de AU $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.

5 Resultados e Discussão

Foram escolhidos os polieletrólitos SiPy^+Cl^- e NiTsPc , devido a suas características físicas e químicas. O polieletrólito SiPy^+Cl^- , apresenta alta solubilidade em solventes polares como a água, alta capacidade de formação de filmes⁶¹. Por ser um composto relativamente “novo”, poucos trabalhos na literatura relatam a sua utilização na construção de filmes finos^{64, 81}. No caso do complexo macrocíclico, NiTsPc , este foi escolhido como poliânion por apresentar elevada estabilidade térmica e química, e por apresentar propriedades de semicondutores¹⁸. A interação que ocorre entre a primeira monocamada e a superfície do substrato é predominantemente eletrostática, mas a partir da segunda monocamada depositada as interações predominantes deverão ser do tipo Van der Waals e pontes de hidrogênio. É com base nestas interações que a construção das estruturas multicamadas $\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$ se torna possível. A Figura 23 mostra a idealização da estrutura dos filmes *LbL* automontados.

Figura 23 - Esquema idealizado da automontagem dos filmes *LbL*, utilizando os polieletrólitos NiTsPc e SiPy^+Cl^- .

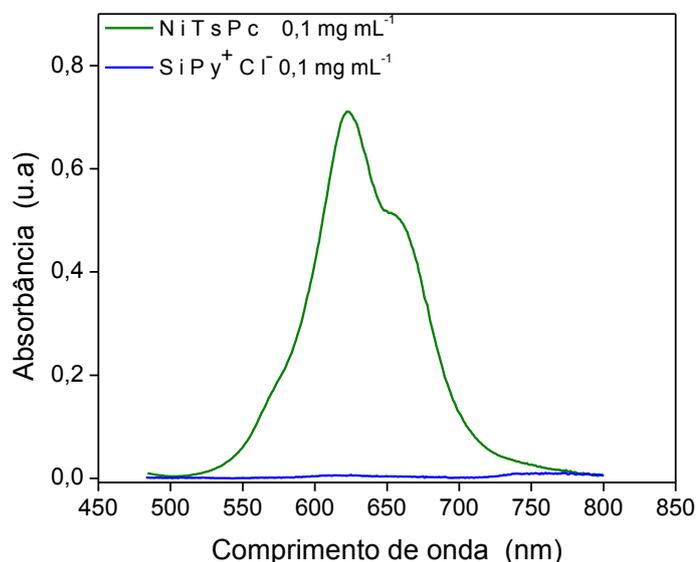


Fonte: Própria

5.1 Monitoramento do crescimento dos filmes por Espectroscopia de Absorção na Região do UV-VIS

Para caracterizar as soluções dos polieletrólitos e também monitorar a deposição das camadas dos filmes sobre a superfície do substrato foi escolhida a região de 500 a 800 nm, onde as ftalocianinas apresentam a banda Q, que é desdobrada em duas bandas, uma referente à forma dimérica na região de 630 nm, e outra referente à forma monomérica na região de 660 nm, e a partir da intensidade dessas bandas é possível monitorar as concentrações de ambas as espécies. Nesta faixa de comprimento de onda (500 a 800 nm) o polieletrólito SiPy^+Cl^- não apresenta absorção. Os espectros de *UV-VIS* das soluções dos polieletrólitos utilizados são mostrados na Figura 24.

Figura 24 - Espectros de absorção na região do *UV-VIS* das soluções dos polieletrólitos utilizados para a construção dos filmes finos SiPy^+Cl^- e NiTsPc com concentrações de $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ em pH 8.



Fonte: Própria.

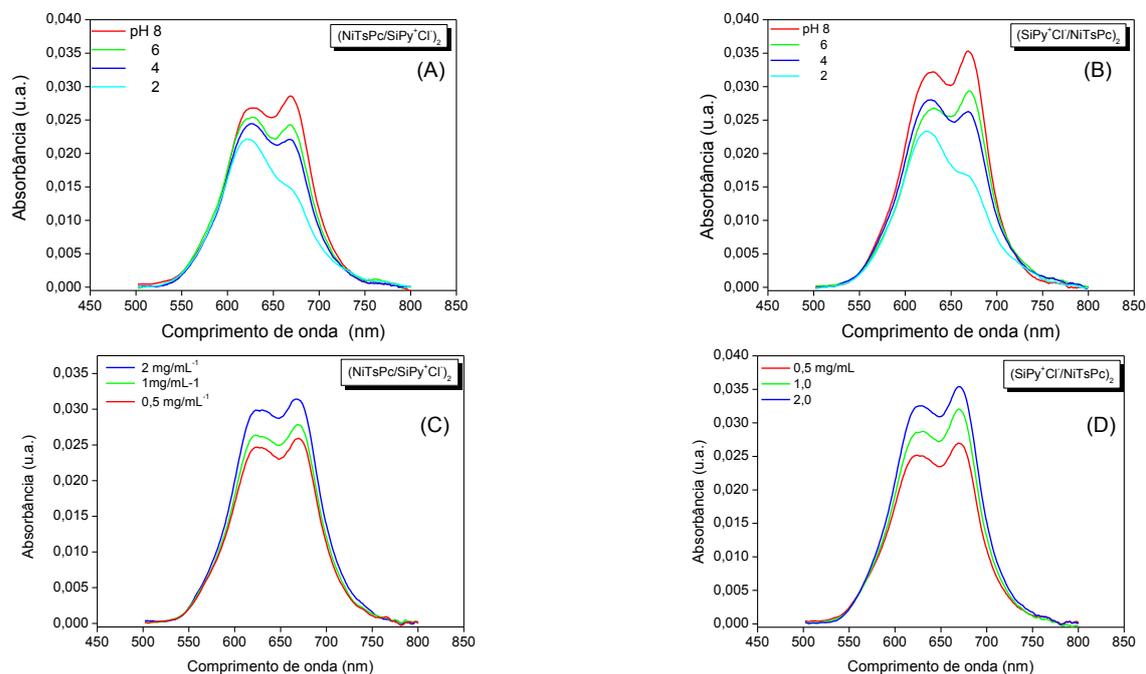
O espectro de absorção obtido a partir da solução de NiTsPc $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$, apresentou duas bandas de absorção na região de 622 e 650 nm as quais são atribuídas às absorções referentes as espécies diméricas e monoméricas,

respectivamente. Estas provêm de transições eletrônicas entre os orbitais HOMO→LUMO, devido às interações entre o metal central e os ligantes axiais presentes nas estruturas das metalofalocianinas^{82,18}. Além da banda Q, as ftalocianinas apresentam absorção na região de 300 a 400 nm, denominada de bandas B ou Soret, sendo que essas absorções são provenientes das transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel macrocíclico da ftalocianina¹⁸. Pode-se observar pelo espectro que a banda referente à forma dimérica, é mais pronunciada em relação à banda referente à forma monomérica, o que indica que em solução as moléculas adotam preferencialmente a forma agregada.

Antes de construir os filmes, foi realizado um tratamento químico nos substratos, para remover toda e qualquer impureza que possa haver sobre a superfície, para que ocorra uma deposição efetiva e livre de contaminantes. Foram realizados estudos de otimização dos parâmetros envolvidos no processo de construção dos filmes tais como: tempo de imersão dos substratos nas soluções dos polieletrólitos, influência do pH e da concentração dos polieletrólitos.

Primeiramente, com o intuito de estudar a influência do pH e das concentrações das soluções dos polieletrólitos nas características dos filmes formados, foram realizados estudos da variação do pH de 2 a 8, as Figuras 25 (A) e (B) mostram os resultados da variação do pH. As Figuras 25 (C) e (D) mostram a influencia da concentração.

Figura 25 – Espectros de absorção na região do UV-VIS dos filmes *LbL* nas arquiteturas $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$, (A) e (B) preparados em diferentes pH, com concentração fixa dos polieletrólitos de 2 mg mL^{-1} , (C) e (D) em diferentes concentrações dos polieletrólitos, em $\text{pH} = 8$, com tempo de imersão de 5 min.



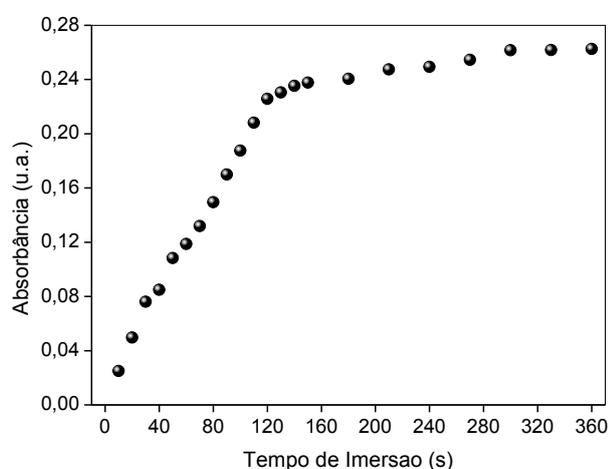
Fonte: Própria

Os espectros dos filmes em ambas as configurações apresentaram aumento da intensidade da banda monomérica em função do aumento do pH, ou seja, existe uma dependência das concentrações de espécies mono e diméricas em função do pH⁸³. Segundo Constantino *et al.*⁸⁴ a orientação das moléculas de ftalocianinas pode ser alterada em função do pH. Neste trabalho foram construídos filmes utilizando monocamadas de ftalocianina de ferro (FePc), alternadas com monocamadas de polialilamina hidroclorada (PAH) em pH 5 e 8, e verificou-se que as moléculas de ftalocianinas em pHs ácidos, adotaram formas randômicas, em pHs mais básicos pH 8 a randomicidade foi menor. Outra hipótese pode ser atribuída à carga do polieletrólito SiPy^+Cl^- , o qual pode ser que em pH 8, este esteja completamente desprotonado, minimizando a agregação das moléculas de ftalocianina.

É possível observar analisando os espectros, que com o aumento das concentrações dos polieletrólitos há aumento da intensidade de ambas as bandas e conseqüentemente mais espécies estão imobilizadas sobre a superfície do substrato. A concentração das soluções foi variada até 2 mg mL^{-1} , porque concentrações elevadas podem favorecer a dimerização⁸⁵. A partir dos resultados dos parâmetros de construção dos eletrodos, $\text{pH} = 8$, concentrações de 2 mg mL^{-1} , verificou-se que estas são as melhores condições para a construção dos filmes, pois em $\text{pH} = 8$ se tem a maior concentração de espécies monoméricas. As caracterizações mostraram que os filmes construídos utilizando concentração de 2 mg mL^{-1} apresentaram maior intensidade de absorbância, indicando que há maior quantidade de espécies imobilizadas, e estas condições foram as escolhidas para a construção dos filmes.

Posteriormente, após o estudo das condições de preparação dos filmes (pH e concentração) realizou-se um estudo do tempo de deposição das bicamadas. A Figura 26 apresenta o gráfico da cinética de adsorção dos filmes.

Figura 26 - Correlação entre a absorbância e o tempo de imersão (soluções dos polieletrólitos e de lavagem em $\text{pH} 8$ e concentrações das soluções dos polieletrólitos de 2 mg mL^{-1}). Os espectros foram realizados na faixa de 400 a 800 nm, analisando-se a banda em 669 nm no filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{10}$.

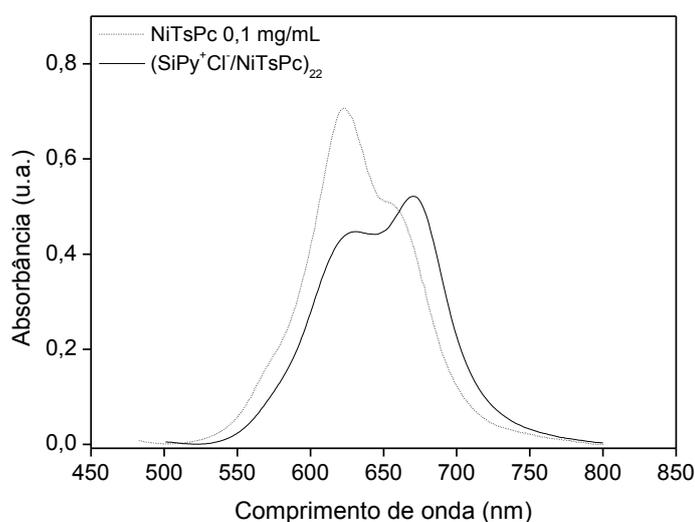


Fonte: Própria.

Foi utilizado o filme de dez bicamadas, pois filmes de menores espessuras durante as primeiras deposições nos menores tempos de imersão, a absorvância seria muito pequena e poderia causar erros nas medidas. Pode-se observar que a partir de 280 s não há variação significativa de absorvância, ou seja, a superfície do substrato está saturada. O tempo de imersão determinado está de acordo com outros trabalhos relatados na literatura onde foram utilizados diferentes polieletrólitos 64, 85, 86, 87, 88, 89, 90. Porém a cinética de deposição é intrínseca de cada sistema, caso seja adotado outros polieletrólitos ou até mesmo outro substrato, o tempo de imersão pode variar em função da densidade de carga dos polieletrólitos em solução, com a força iônica da solução, o procedimento de secagem e a orientação adotada pelas moléculas.

A Figura 27 mostra os espectros de absorção proveniente do filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{22}$ (obtido nas condições otimizadas) e também da solução de NiTsPc $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$.

Figura 27 - Espectros de absorção na região do *UV-VIS* referente à solução de NiTsPc $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$, $\text{pH} = 8$, e ao filme *LbL* $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{22}$.



Fonte: Própria.

Verifica-se que o espectro referente ao filme apresentou deslocamentos nas bandas referentes às formas dimérica e monomérica em relação ao espectro da solução. Além disso, a partir dos espectros também foi possível observar que os filmes apresentaram a banda da forma monomérica mais intensa do que a dimérica. Os valores dos comprimentos de onda em nm relativos a estas bandas em solução e no filme são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Comparação entre os comprimentos de onda das bandas monomérica e dimérica da solução de ftalocianina NiTsPc $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ e das espécies immobilizadas na superfície do filme (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂₂.

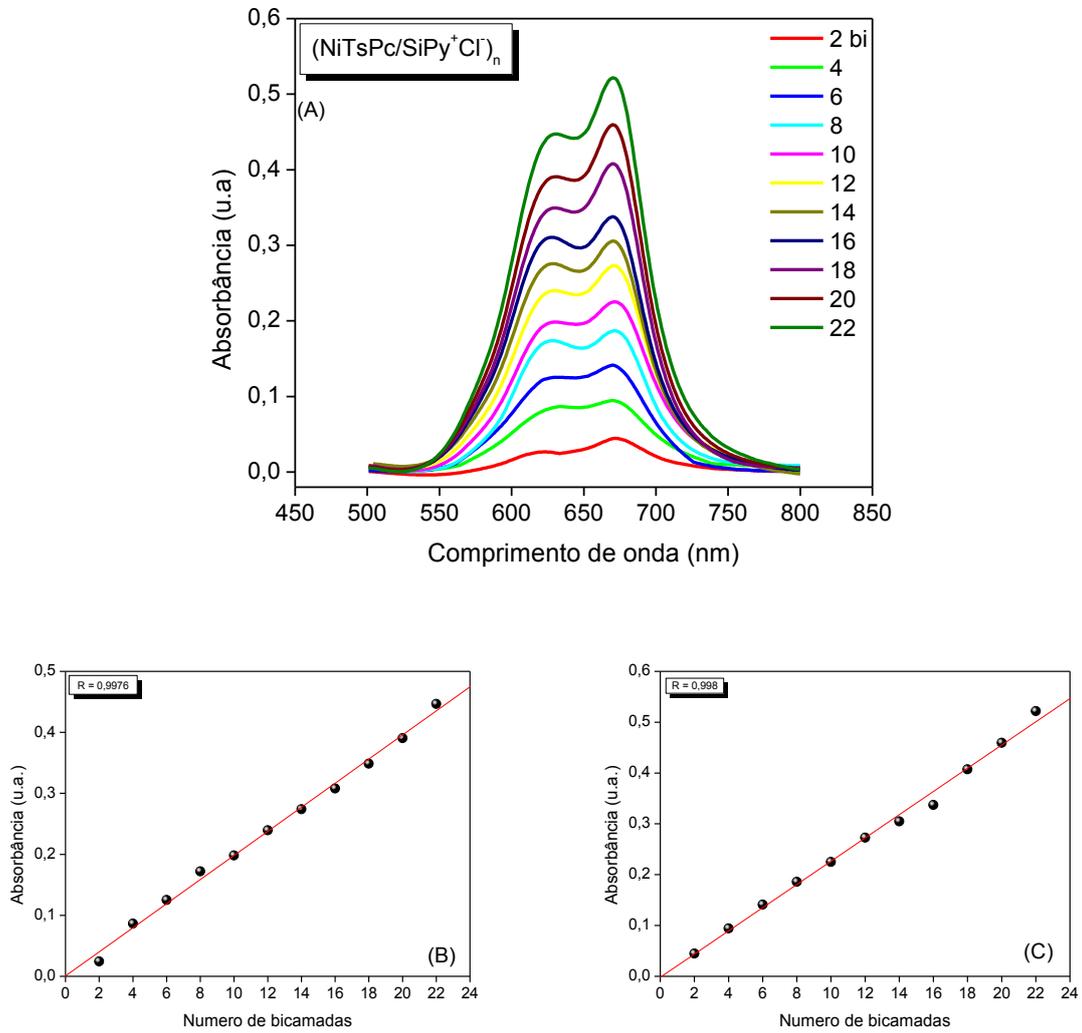
Banda referente à forma Dimérica		Banda referente à forma Monomérica	
Solução	Filme	Solução	Filme
622 nm	630 nm	650 nm	669 nm

O espectro do filme apresentou deslocamentos de 8 e 19 nm para as bandas relativas as formas dimérica e monomérica respectivamente, quando comparadas ao espectro da solução. Estes deslocamentos são uma evidência da interação entre os polieletrólitos. Silva *et al.*⁴³ em um trabalho semelhante utilizando ftalocianinas de cobalto e polialilamina, ao caracterizar os filmes *LbL* utilizando a técnica *UV-VIS*, observaram que os espectros dos filmes, apresentaram deslocamentos de 15 nm na banda dimérica e 30 nm na banda monomérica quando comparadas ao espectro obtido da solução de CoTsPc. Este fato foi atribuído a interação entre os grupos NH_3^+ da PAH e os grupos SO_3^- presentes na molécula de CoTsPc. Em outro trabalho Zucolotto *et al.*⁹¹ construíram um sensor eletroquímico a partir da técnica *LbL* utilizando NiTsPc juntamente com o polímero (PAMAM). A deposição das bicamadas foi caracterizada pela técnica de *UV-VIS*, analisando os espectros tanto da solução de NiTsPc como dos filmes (PAMAM/NiTsPc). Foi possível observar um

deslocamento de 5 nm nas bandas referentes ao filme quando comparados com os espectros referentes à solução de NiTsPc. Tal fato foi também atribuído as interações eletrostáticas entre os polieletrólitos.

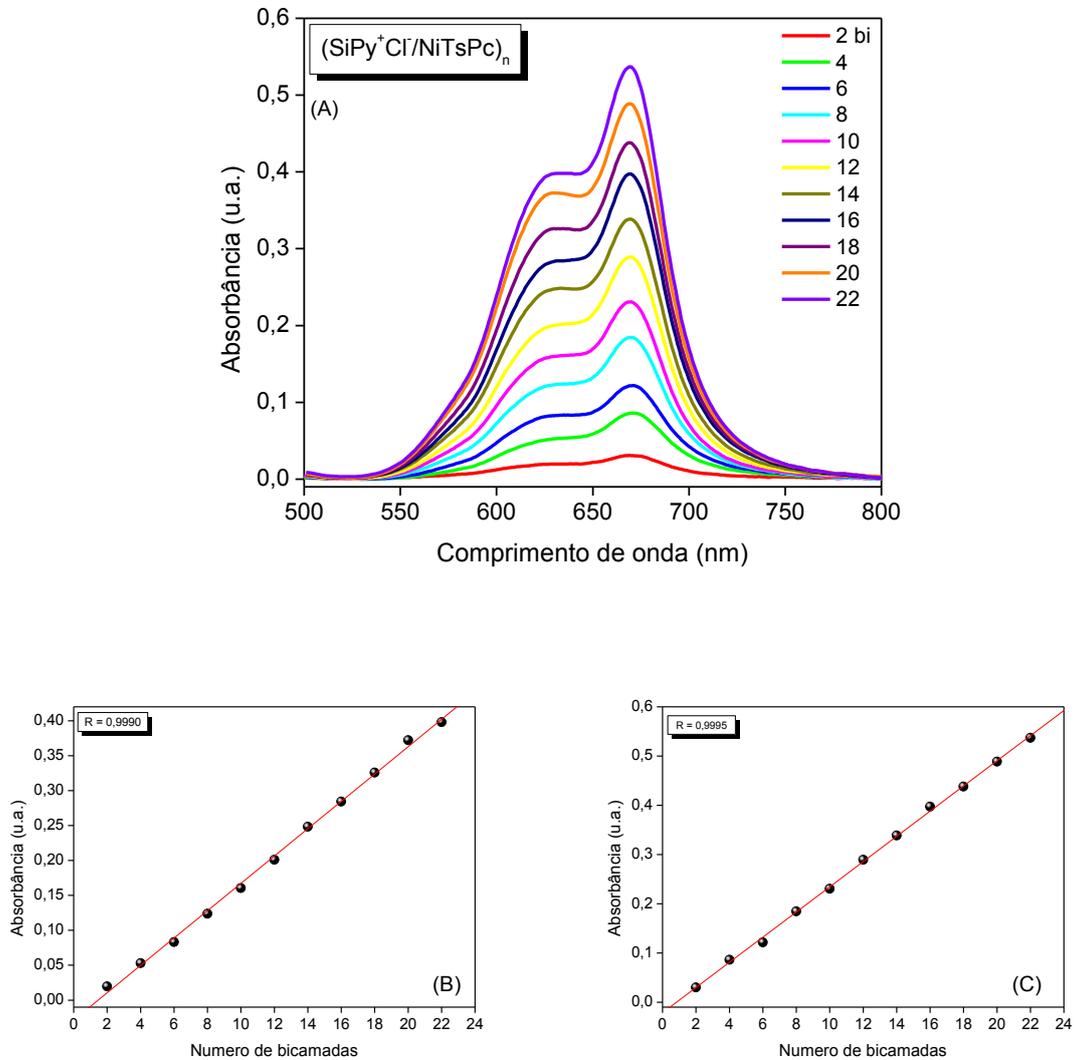
Com o objetivo de acompanhar o crescimento dos filmes sobre a superfície do substrato de quartzo, a deposição foi monitorada a cada duas bicamadas em ambas as configurações $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$ e $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$. Os espectros de absorção assim como a correlação entre a absorbância e o número de bicamadas referentes a estas configurações estão ilustrados nas Figuras 28 e 29.

Figura 28 - Espectros de absorção na região do *UV-VIS* referente à solução de NiTsPc $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$, $\text{pH} = 8$, e ao filme *LbL* $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{22}$.



Fonte: Própria.

Figura 29 - (a) Espectros de absorção na região do *UV-VIS* dos filmes $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$ e a relação entre a absorbância em função do número de bicamadas (b) referente a banda em 625 nm e (c) referente a banda em 669 nm.

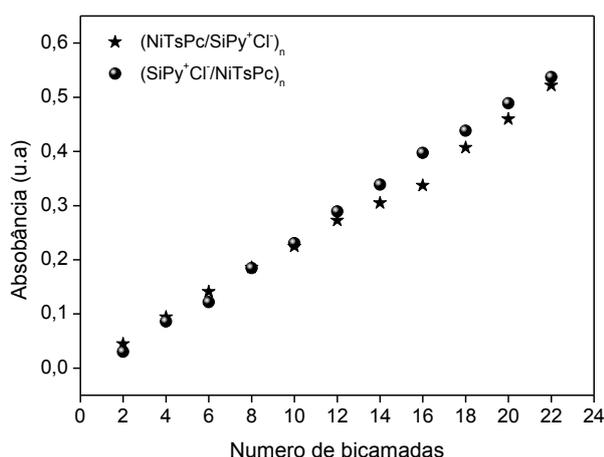


Fonte: Própria.

Os espectros de ambas as configurações mostram que a absorbância aumentou em função do aumento do número de bicamadas depositadas. A partir dos espectros obtidos da configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$, foi possível estabelecer uma relação entre a intensidade de absorbância e o número de bicamadas depositadas tanto para a banda referente à forma dimérica como para a monomérica com os seguintes coeficientes de correlação $R = 0,9990$, $R = 0,9995$,

respectivamente. Os espectros referente à configuração $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$, apresentaram resultados semelhantes a configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$, obtendo-se os seguintes coeficientes de correlação $R= 0,9980$, $R= 0,9976$. Tal resultado é uma indicação de que praticamente a mesma quantidade de material é depositada sobre a superfície do substrato a cada bicamada. A Figura 30 apresenta a correlação entre a absorvância e o número de bicamadas para ambas configurações de filmes.

Figura 30 - Correlação entre a absorvância referente a banda monomérica em 669 nm e o número de bicamadas para os filmes $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$.



Fonte: Própria.

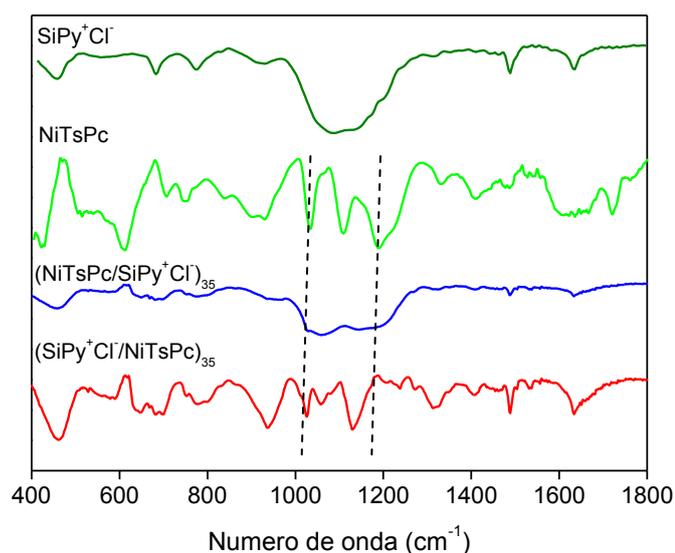
Quando comparou-se os espectros das duas configurações de filmes foi possível observar que a configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$ apresentou o fator de correlação referente a banda monomérica mais linear comparado a configuração oposta $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$, mostrando que os filmes são mais homogêneos.

5.2 Caracterizações Espectroscópicas por FTIR e RAMAN

5.2.1 Caracterizações Espectroscópicas por FTIR

Para analisar as interações existentes entre os precursores SiPy^+Cl^- e NiTsPc , espectros de absorção na região do IV foram obtidos para os polieletrólitos na forma de filme *cast* assim como para os filmes *LbL* em ambas as configurações, no modo reflectância. Os espectros são mostrados na Figura 31.

Figura 31 - Espectros de absorção na região do *UV-VIS* referente à solução de NiTsPc $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$, $\text{pH} = 8$, e ao filme *LbL* $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{22}$.



Fonte: Própria.

Pode-se observar que polieletrólito SiPy^+Cl^- apresentou uma banda intensa e larga na região de 1090 cm^{-1} característica do estiramento assimétrico do grupo Si-O-Si , além de bandas vibracionais em 1487 e 1632 cm^{-1} características do anel piridínio, e em 774 e 460 cm^{-1} atribuídas ao estiramento simétrico do grupamento Si-O-Si ⁹². O espectro referente ao filme *cast* da molécula de NiTsPc apresentou duas bandas, uma em 1033 cm^{-1} e outra em 1190 cm^{-1} características dos grupos

sulfônicos^{5, 66, 93}. Estas quando comparadas às bandas apresentadas pelo filme *LbL*, apresentaram deslocamentos para 1026 cm^{-1} e 1130 cm^{-1} respectivamente. Tais deslocamentos das bandas para comprimento de ondas menores podem ser atribuídos as interações eletrostáticas entre os grupos sulfônicos (SO_3^-) presentes na molécula de NiTsPc e o anel piridínio do SiPy^+Cl^- . Por exemplo, Siqueira Jr. *et al.*⁴⁵ observou em um sistema similar, utilizando PAH e NiTsPc, que o espectro referente ao filme *cast* de NiTsPc apresentou as bandas referentes aos estiramentos SO_3^- em 1093 cm^{-1} e 1041 cm^{-1} , quando comparou-se as mesmas, com o espectro do filme *LbL* foram observados deslocamentos para 1173 cm^{-1} e 1024 cm^{-1} , os quais foram atribuídos às interações entre os grupos NH_3^+ da PAH e SO_3^- da molécula de NiTsPc. Fato semelhante foi relatado por Jesus *et al.*⁶⁴, onde utilizou-se como precursores o polycation SiPy^+Cl^- e poliânion CuTsPc. Os filmes *LbL* apresentaram a banda referente ao estiramento SO_3^- em 1037 cm^{-1} , enquanto que o espectro do filme *cast* da molécula de CuTsPc apresentou a banda referente aos grupo SO_3^- deslocada para 1028 cm^{-1} , que foi atribuído à interação entre os polieletrólitos (interações entre grupos piridínios presentes no composto SiPy^+Cl^- e os grupos SO_3^- presentes na molécula de CuTsPc). Os filmes com a configuração (NiTsPc/ SiPy^+Cl^-) apresentaram a sobreposição das bandas dos grupos Si-O-Si, presentes no polieletrólito SiPy^+Cl^- juntamente com as bandas dos grupos sulfônicos da ftalocianina, e portanto não foi possível identificar os deslocamentos observados na configuração oposta. As principais bandas observadas no espectro de FTIR são apresentadas na Tabela 4. As atribuições as bandas estão de acordo com as referências^{45, 65, 66, 92, 94}.

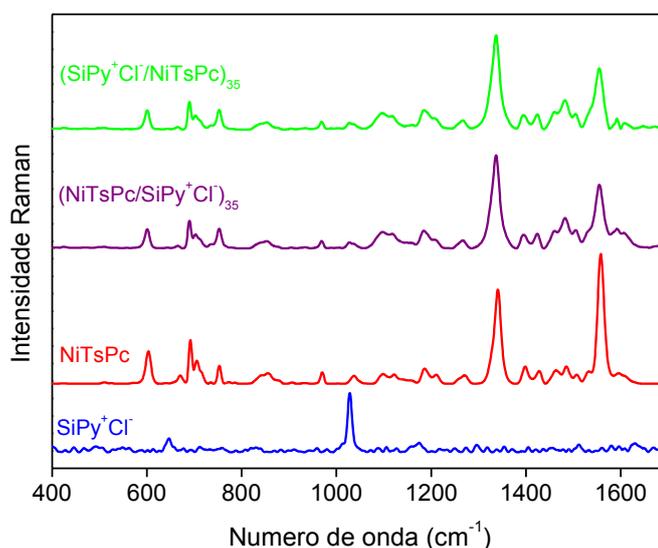
Tabela 4 - Atribuição as principais bandas de FTIR, em cm^{-1} , referentes aos filmes *cast* e *LbL* de SiPy^+Cl^- e NiTsPc .

Atribuição	Filmes <i>cast</i> SiPy^+Cl^- (cm^{-1})	Filme <i>cast</i> NiTsPc (cm^{-1})	$\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$ (cm^{-1})
Deformação isoindol	-	430	458
Estiramento simétrico Si-O-Si	460	-	-
Vibração do macrociclo	-	698	701
Vibração do macrociclo	-	750	759
Estiramento simétrico Si-O-Si	774	-	-
Respiração do anel Pc	-	825	828
Ni-Pc	-	930	934
Estiramento SO_3	-	1033	1026
Estiramento assimétrico Si-O-Si	1090	-	-
Estiramento SO_3	-	1190	1128
Estiramento Pirrol	-	1328	1330
Estiramento Isoindol	-	1412	1408
C=C, C=N, Estiramento Pirrol	-	1408	1412
Vibração do anel piridínio	1487	-	-
Estiramento Benzeno	-	1613	1620
Vibração do anel piridínio	1632	-	-

5.2.2 Caracterização por Espectroscopia Raman

As análises de espectroscopia Raman são mostradas na Figura 32 para as configurações $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{35}$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_{35}$ e para os filmes *cast* de NiTsPc e SiPy^+Cl^- .

Figura 32 - Espectros Raman, dos filmes *cast* dos polieletrólitos (A) NiTsPc, (B) SiPy^+Cl^- , e dos filmes *LbL*, $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_{35}$, $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_{35}$.



Fonte: Própria.

A caracterização por microscopia Raman é uma técnica de caracterização complementar a técnica de FTIR, onde é possível identificar grupos funcionais e suas ligações químicas, e caracterizar a formação de compósitos. O espectro da NiTsPc na forma de filme *cast*, apresentou duas bandas intensas em 1341 e 1558 cm^{-1} atribuídas ao estiramento pirrol⁶⁶. Estas mesmas bandas podem ser vistas nos espectros dos filmes, confirmando assim a imobilização das moléculas de NiTsPc. Porém, nos filmes *LbL* em ambas as configurações estas apresentaram-se deslocadas para comprimento de ondas menores 1336 e 1555 cm^{-1} respectivamente. A banda apresentada em 1187 cm^{-1} no espectro da NiTsPc, também é observada no espectro dos filmes *LbL* em ambas as configurações em

1181 cm^{-1} . Estas bandas são atribuídas aos grupos SO_3^- das moléculas de NiTsPc e o deslocamento das mesmas pode ser atribuído a interação entre os grupos sulfônicos das ftalocianinas com os grupos piridínicos presentes no polieletrólito SiPy^+Cl^- . Os espectros obtidos a partir do filme *cast* do polieletrólito SiPy^+Cl^- apresentou uma banda de média intensidade em 1028 cm^{-1} atribuída ao modo de respiração do anel piridínio e a deformação no plano do mesmo anel⁹⁵, e outra em 646 cm^{-1} , que é atribuída a estrutura do silsesquioxano⁹⁵, porém esta banda não pode ser visualizada nos espectros dos filmes *LbL* devido a predominância das bandas da NiTsPc nestes. A Tabela 5 mostra as principais bandas de espalhamento Raman para os filmes *cast* e *LbL*. As atribuições as bandas estão de acordo com as referências^{66, 68, 91, 95}.

Tabela 5 - Atribuição aos principais picos de espalhamento Raman, em cm^{-1} , referentes aos filmes *cast* de NiTsPc e SiPy⁺Cl⁻ e *LbL*.

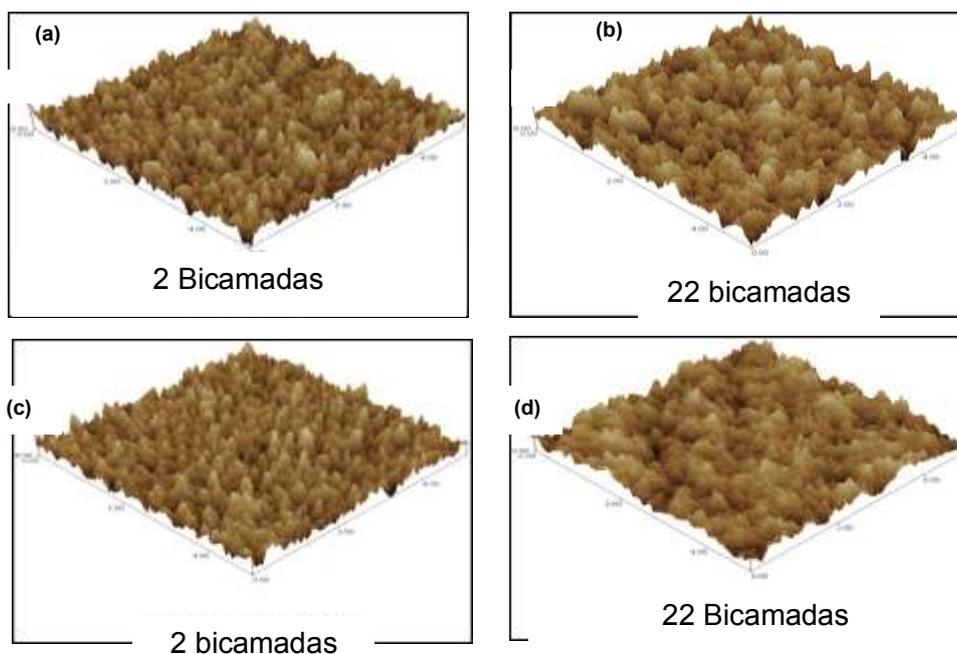
Atribuição	Filme <i>cast</i> SiPy ⁺ Cl ⁻	Filmes <i>cast</i> NiTsPc	SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc	NiTsPc/SiPy ⁺ Cl ⁻
Vibração do macrociclo	-	601	598	599
Respiração do anel piridínio	646	-	-	-
Vibração do macrociclo	-	690	692	690
Vibração do macrociclo	-	750	750	750
Estrutura Si-O-Si	1028	-	-	-
Estiramento C-H	-	1030	1030	1030
Estiramento C-H	-	1115	1114	1114
Estiramento SO ₃	-	1187	1181	1181
Estiramento pirrol	-	1341	1336	1336
Estiramento isoindol	-	1426	1425	1423
Estiramento isoindol	-	1485	1482	1482
Estiramento pirrol, C=C, C=N	-	1558	1555	1555

5.4 Análise Morfológica dos Filmes *LbL* por Microscopia de Força Atômica

Para a análise morfológica dos filmes, estes foram depositados sobre a superfície do vidro em ambas as configurações (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_n e (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)_n, onde n = 2, 6, 10, 14, 18 e 22 bicamadas. As medidas de rugosidade dos filmes foram realizadas no modo não contato. Para comparação foram também realizadas medidas de rugosidade do vidro e do ITO, os quais

apresentaram rugosidade média de 0,654 e 3,712 nm, respectivamente. As imagens dos filmes são apresentadas na Figura e 33.

Figura 33 - Imagens de AFM dos filmes nas diferentes configurações (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc) (a) e (b), (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻) (c) e (d), com 2 e 22 bicamadas. A janela de varredura utilizada foi de 5 x 5 μm.



Fonte: Própria.

Observando as imagens apresentadas na Figura 33 de ambas as configurações de filmes, é possível verificar que aumentando o número de bicamadas a rugosidade da superfície diminui. Este fato ocorre porque nas primeiras deposições as moléculas se depositam sobre os grãos e os vales presentes na superfície do óxido. Com o aumento do número de bicamadas, os vales vão sendo preenchidos e a rugosidade tende a diminuir. Esta observação é comprovada pelos valores de rugosidade média apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Rugosidade média, e espessuras dos filmes, nas configurações: $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$ e $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$, filmes de 2, 6, 10, 14, 18 e 22 bicamadas.

Filme	Bicamada	Espessura Média (nm)	Rugosidade média (nm)
$(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$	2	29,0	25,0
	6	119,5	22,1
	10	213,0	20,4
	14	312,7	19,2
	18	478,6	18,7
	22	671,2	16,9
$(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_n$	2	23,3	22,9
	6	97,2	21,8
	10	176,8	19,5
	14	242,6	16,4
	18	454,86	15,4
	22	614,46	14,1

Os filmes em ambas as configurações foram depositados sobre substratos de vidro (os quais apresentaram rugosidade média de 0,607 nm) com diferentes números de bicamadas. Para a obtenção das imagens foi utilizado como substrato o vidro uma vez que os substratos ITO apresentaram valores de rugosidade muito diferentes e desta forma para minimizar erros nas medidas, foi utilizado o vidro. Pode ser observado que para ambas as configurações, as rugosidades dos filmes diminuíram com o aumento do número de bicamadas. Isso ocorre devido a interpenetração entre as camadas^{43, 66, 96}, proporcionando à superfície uma maior homogeneidade. Porém para as medidas eletroquímicas, essa diminuição da área superficial é indesejada, porque quanto maior a área superficial, mais sítios reativos estão disponíveis para reagir com a espécie eletroativa⁹⁷. Foi possível observar para ambas as configurações de filmes, que a espessura dos mesmos aumentou em função do aumento do número de bicamadas. A espessura média de cada bicamada para a configuração $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})$ foi de 22,5 nm com desvio padrão de 5,5 % e para a configuração oposta a espessura média de cada bicamada foi de 19,3 nm

com desvio padrão de 6,7 %, sendo que estes resultados corroboram com os resultados de *UV-VIS*, onde a cada bicamada tem-se aproximadamente a mesma quantidade de material sendo depositado. Zucolotto *et al.*⁹⁸ utilizando filmes *LbL*, construídos a partir de PAH e PAA (poli ácidoacrílico) observaram que a espessura média dos filmes variou de 1 a 24 nm, devido a variação do pH das soluções dos polieletrólitos. Vale ressaltar que os polieletrólitos PAH e PAA, são polieletrólitos parcialmente carregados. Oliveira Jr. *et al.*⁵ construíram filmes *LbL* utilizando os polieletrólitos quitosana e diferentes ftalocianinas tetrasulfonadas, de ferro, cobre e níquel, os quais foram aplicados no sensoriamento de dopamina. A espessura média destes filmes foi determinada utilizando um perfilômetro. Os filmes construídos utilizando as ftalocianinas de ferro, níquel e cobre apresentaram a espessura média de cada bicamada de aproximadamente 1 nm. Porém, o valor estimado da espessura média de cada bicamada obtido neste trabalho está de acordo com a espessura média relatada por Jesus *et al.*⁶⁴ onde foram utilizadas monocamadas do polieletrólito SiPy^+Cl^- alternadas com CuTsPc , onde a espessura média encontrada para cada bicamada foi de 24 nm.

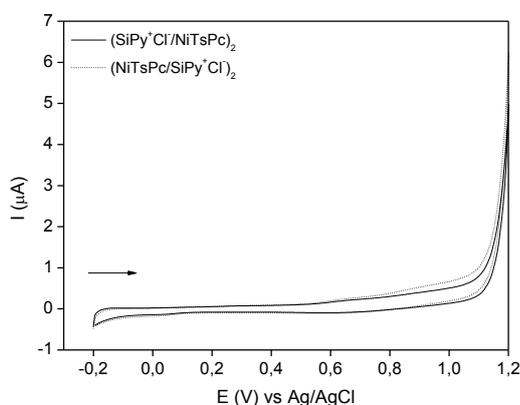
O aumento da espessura dos filmes pode dificultar o processo de transferência de carga, entre a superfície do filme e a superfície do substrato, porque com o acúmulo de material sobre a superfície do substrato, pode ocasionar desorganização na arquitetura do filme^{66, 96}. Esta afirmação poderá ser comprovada posteriormente a partir dos resultados voltamétricos.

5.5 Caracterização dos Filmes *LbL* Utilizando Técnicas Voltamétricas

5.5.1 Caracterização dos filmes por Voltametria Cíclica

Inicialmente utilizou-se a técnica de voltametria cíclica com o objetivo de estudar o comportamento eletroquímico das moléculas imobilizadas na superfície do eletrodo. Para tanto, foram realizadas medidas utilizando-se ambas as configurações de filmes, $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$. Pode-se constatar que em meio de solução tampão PBS pH 7, na faixa de potencial de -0,2 a 1,2 V não é possível observar processos redox. A Figura 34 apresenta os voltamogramas característicos das configurações $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$.

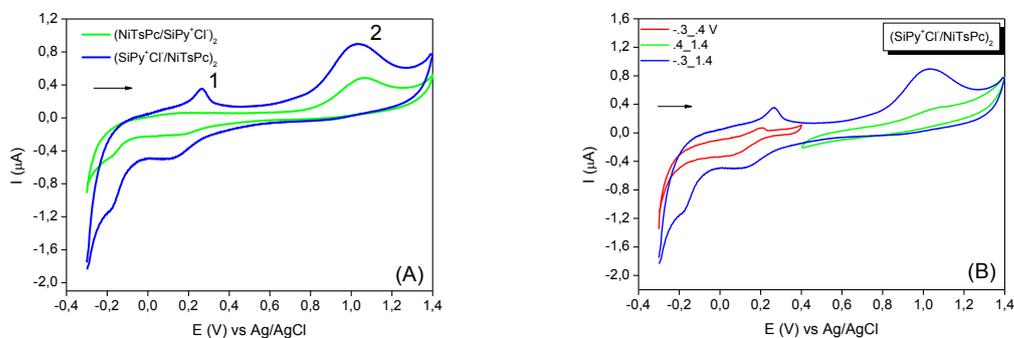
Figura 34- Voltamogramas cíclicos referentes aos eletrodos $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$, tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7, $\nu = 50$ mV s⁻¹.



Fonte: Própria.

Tendo-se como base outros trabalhos relatados na literatura, utilizando ftalocianinas imobilizadas em filmes finos^{5, 56, 99}, realizou-se medidas dos eletrodos em meio de ácido nítrico em pH 2,5, onde foi possível observar dois processos redox para o filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$. A Figura 35 apresenta os resultados.

Figura 35 - (A) Voltamogramas cíclicos obtidos dos eletrodos $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ e $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$ (B) Voltamogramas cíclicos em diferentes potenciais de varredura obtidos a partir do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, eletrólito suporte HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 2,5, ajustado com NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: Própria.

A partir da Figura 35, pode-se observar um par redox em 0,26 e 0,16 V vs Ag/AgCl, e outro processo irreversível em 1,03 V vs Ag/AgCl. O primeiro par redox é atribuído a oxidação e redução do metal central Níquel, $\text{Ni}^{2+}/\text{Ni}^{3+}$, o segundo processo redox é atribuído a oxidação do anel da molécula de ftalocianina $\{\text{Ni}^{(\text{II})}\text{TsPc}^{6-} \rightarrow \text{Ni}^{(\text{II})}\text{TsPc}^{4-} + 2e\}$. Em um trabalho similar, Santos *et al.*⁵⁶ depositaram sobre a superfície de ITO filmes finos de ftalocianina tetrassulfonada de níquel, alternados com polissacarídeo e polialilamina. Estes filmes *LbL* foram caracterizados por VC, e apresentaram dois processos redox, o primeiro processo de oxidação em 0,61 V vs Ag/AgCl, foi atribuído a oxidação do metal, mas não foi observado processo de redução. O segundo processo em 0,8 V foi atribuído a oxidação do anel da ftalocianina com o respectiva redução em 0,75 V vs Ag/AgCl. Os eletrodos $(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$ apresentaram apenas o processo de oxidação do anel da ftalocianina em 1,06 V vs Ag/AgCl. Isso ocorre provavelmente devido a pequena permeabilidade dos íons através da monocamada do SiPy^+Cl^- devido a repulsão entre a superfície do eletrodo que está carregada positivamente assim como os íons H^+ , dificultando o processo de transferência de carga. Além disso, os íons NO_3^-

devido a sua carga periférica, encontram-se muito hidratados, o que diminui a mobilidade destes. A Figura 35 (B) mostra os voltamogramas cíclicos do filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, em diferentes faixas de potenciais: (-0,3 a 0,4 V) e (0,4 a 1,4 V), onde é possível visualizar que os processos redox referente a oxidação do metal e do anel da molécula de NiTsPc são independentes.

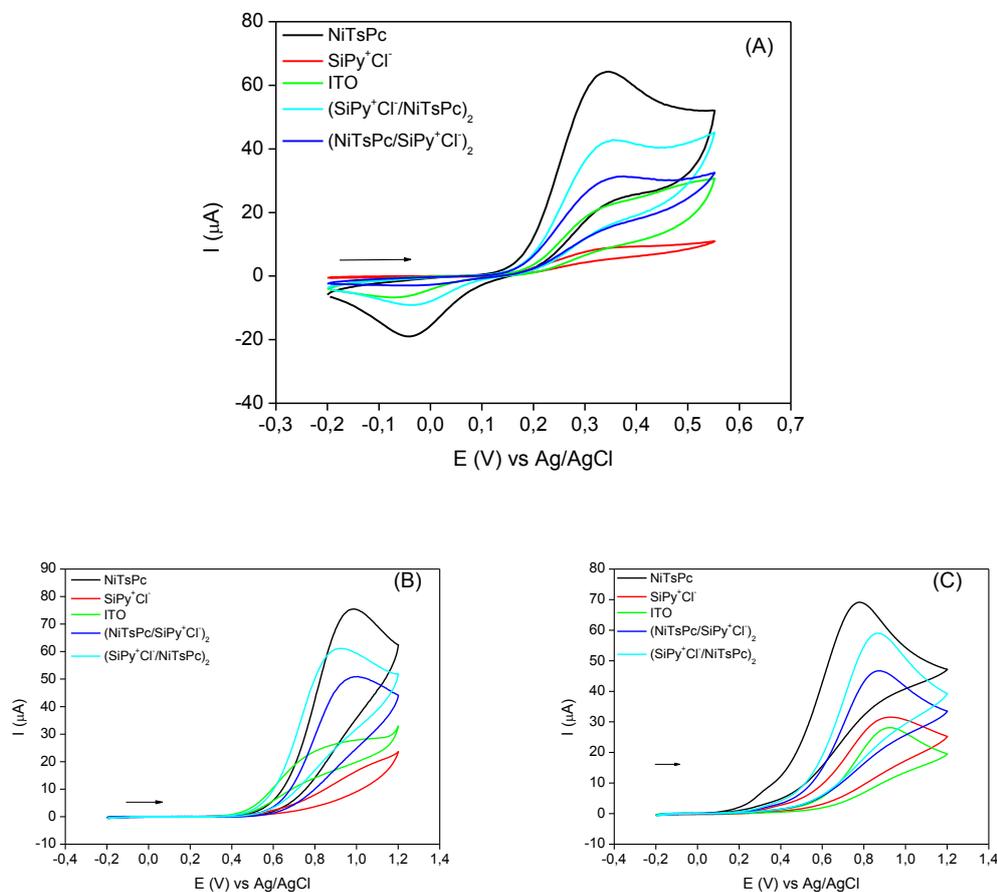
5.5.2 Estudos voltamétricos dos filmes na presença de DA em meio de interferentes AU e AA

5.5.2.1 Voltametria Cíclica

Com o intuito de estudar a potencialidade dos filmes como sensores eletroquímicos, foram realizados estudos do perfil eletroquímico das espécies imobilizadas na superfície do substrato na presença de DA, AU e AA. Para comparação, realizou-se medidas utilizando filmes dos polieletrólitos $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)$ e (NiTsPc) , separadamente sem a formação do compósito, e também do ITO. Como um dos objetivos consiste na detecção simultânea de DA em meio aos interferentes AU e AA e por se tratar de moléculas de interesse biológico, o ideal é que se trabalhe em condições semelhantes às encontradas em meios fisiológicos, como em meio de tampão salino e em pHs próximo ao fisiológico, pH 7,0^{100, 101}. Por esses motivos, foi escolhido como eletrólito suporte para as demais caracterizações, a solução tampão PBS 0,1 mol L⁻¹, em pH 7.

Em todas as medidas, foram adicionadas concentrações fixas das espécies eletroativas de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, faixa de potencial de - 0,2 a 0,55 V vs (Ag/AgCl) para DA, e para AA e AU, a janela de varredura utilizada foi de - 0,2 a 1,2 V vs Ag/AgCl. Os voltamogramas cíclicos para DA, AU e AA obtidos utilizando-se os diferentes eletrodos são apresentados nas Figuras 36 (A), (B) e (C), respectivamente.

Figura 36 - Voltamogramas cíclicos obtidos utilizando-se o ITO e os diferentes eletrodos modificados, NiTsPc, SiPy⁺Cl⁻, (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)₂ e (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ (A) na presença de DA 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, (B) AU 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, (C) na presença de AA 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹, PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7, v = 50 mV s⁻¹.



Fonte: Própria.

Pode-se verificar através dos voltamogramas apresentados para DA, AU e AA que os filmes de duas camadas do polieletrólito (SiPy⁺Cl⁻)₂ apresentaram potencial de pico anódico em 0,35, 1,07 e 0,92 V vs Ag/AgCl respectivamente, além de menor corrente de pico frente às espécies em estudo. Já os voltamogramas obtidos utilizando-se o ITO apresentaram E_{pa} em 0,37 V, 1,0 V e 0,91 V, para as espécies DA, AU e AA respectivamente, com uma pequena corrente de pico anódica. No entanto em alguns casos (como para o AA e DA) esta foi maior que para o filme (SiPy⁺Cl⁻)₂, indicando que o filme do polieletrólito não apresenta propriedades eletrocatalíticas, além de dificultar o processo de transferência de

carga. Por outro lado, os filmes de duas camadas de ftalocianina (NiTsPc)₂ apresentaram potencial de pico anódico irreversível em 0,34, 0,97 e 0,77 V vs Ag/AgCl, e a maior corrente de pico para todas as espécies. Tal resultado é um indicativo de que a espécie responsável pelas propriedades eletrocatalíticas é a NiTsPc. Porém os filmes contendo apenas NiTsPc são instáveis, ocorrendo a perda de material para a solução, durante a realização das medidas sucessivas, e com conseqüente decréscimo da corrente. A instabilidade dos filmes (NiTsPc)₂ é provavelmente devido a repulsão de cargas, pois a molécula de NiTsPc apresenta carga negativa assim como a superfície do substrato ITO. A relação entre a corrente de pico anódico em função do número de ciclos apresentou perda de corrente de 31% durante as caracterizações eletroquímicas.

Os filmes *LbL* (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ apresentaram potencial de pico anódico em 0,34 V para DA, e 0,91 V para AU e 0,85 V para AA, vs Ag/AgCl, mas com menor corrente de pico em comparação aos filmes (NiTsPc)₂. Porém os filmes (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ apresentaram-se muito estáveis com uma perda de corrente de apenas 5,5 % após 50 ciclos, além de não apresentar variação significativa no perfil voltamétrico.

Os eletrodos (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)₂ apresentaram-se eletroativos, com potenciais de pico de 0,35 V, 0,99 V e 0,86 V, para DA, AU e AA, respectivamente, mas com menor corrente de pico em comparação aos eletrodos (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂. A menor corrente de pico gerada no processo redox das espécies no eletrodo (NiTsPc/SiPy⁺Cl⁻)₂, está relacionada à superfície do eletrodo, que neste caso é o polieletrólito SiPy⁺Cl⁻, o qual não é eletroativo, e dificulta o processo de transferência de carga. Tais resultados evidenciam que a espécie responsável pelas propriedades eletrocatalíticas é a molécula de ftalocianina, mas os filmes compostos somente de

NiTsPc são instáveis, diferentemente dos eletrodos modificados com os filmes $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, os quais apresentaram-se eletrocatalíticos e estáveis. A Tabela 7 mostra os potenciais de pico anódico para os diferentes eletrodos.

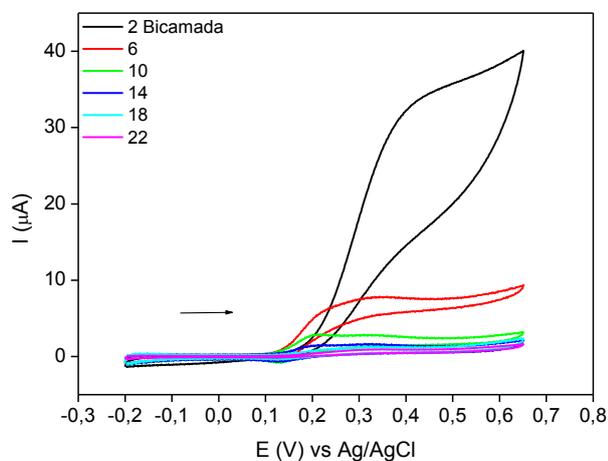
Tabela 7- Tabela comparativa entre os valores de potenciais de pico e corrente de pico para os diferentes eletrodos, sendo que os dados foram obtidos utilizando VC.

Eletrodo	DA	AU	AA
	Epa V / Ipa A	Epa V / Ipa A	Epa V / Ipa A
ITO	0,35 / $2,2 \times 10^{-5}$	0,98 / $2,7 \times 10^{-5}$	0,91 / $2,7 \times 10^{-5}$
$(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$	0,35 / $9,3 \times 10^{-6}$	1,0 / $1,70 \times 10^{-5}$	0,91 / $3,1 \times 10^{-5}$
$(\text{NiTsPc})_2$	0,33 / $6,4 \times 10^{-5}$	0,98 / $7,5 \times 10^{-5}$	0,77 / $6,9 \times 10^{-5}$
$(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$	0,34 / $4,2 \times 10^{-5}$	0,92 / $6,1 \times 10^{-5}$	0,85 / $5,8 \times 10^{-5}$
$(\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-)_2$	0,35 / $3,0 \times 10^{-5}$	0,99 / $5,0 \times 10^{-5}$	0,86 / $4,6 \times 10^{-5}$

Entre as cinco configurações de eletrodos, o eletrodo que apresentou a maior intensidade de corrente de pico para oxidação das espécies DA, AU e AA, foi o eletrodo contendo somente a NiTsPc. Este resultado já era esperado pois a NiTsPc, apresenta propriedades semicondutoras, porém o filme é instável, devido a repulsão de cargas que ocorre entre a superfície do substrato e a NiTsPc. Entre as duas configurações de eletrodo contendo a NiTsPc, a que apresentou a maior intensidade de corrente de pico e maior estabilidade foi o eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$. Nesta configuração, a NiTsPc encontra-se na superfície externa do filme o que viabiliza o processo de transferência de carga.

Com intuito de estudar a influência do número de bicamadas sobre intensidade de corrente obtida para a oxidação da DA, foram realizadas medidas de voltametria cíclica utilizando-se eletrodos modificados com filmes contendo diferentes números de bicamadas (2 a 22 bicamadas). A Figura 37 apresenta os voltamogramas.

Figura 37 - Voltamogramas cíclicos do filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_n$, na presença de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: Própria.

Os voltamogramas mostram que o eletrodo que apresentou a maior intensidade de corrente foi o eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$. Esse fato mostra que a quanto maior a quantidade de material, menor a corrente de pico. Uma possível explicação para tal fato é que com o aumento do número de bicamadas ocorre uma maior desorganização das espécies sobre a superfície do substrato, proporcionando uma maior resistência no processo de transferência de elétrons.

Medidas de espessura dos filmes a partir da técnica de AFM mostraram um aumento da espessura com o aumento do número de bicamadas, sendo a espessura uma variável importante, quando se pretende construir eletrodos com maior sensibilidade.

A Tabela 8 mostra uma correlação entre os valores de corrente de pico, espessura média e rugosidade.

Tabela 8 - Dados de rugosidade média, espessura média e corrente de pico de acordo número de bicamadas dos eletrodos (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)_n.

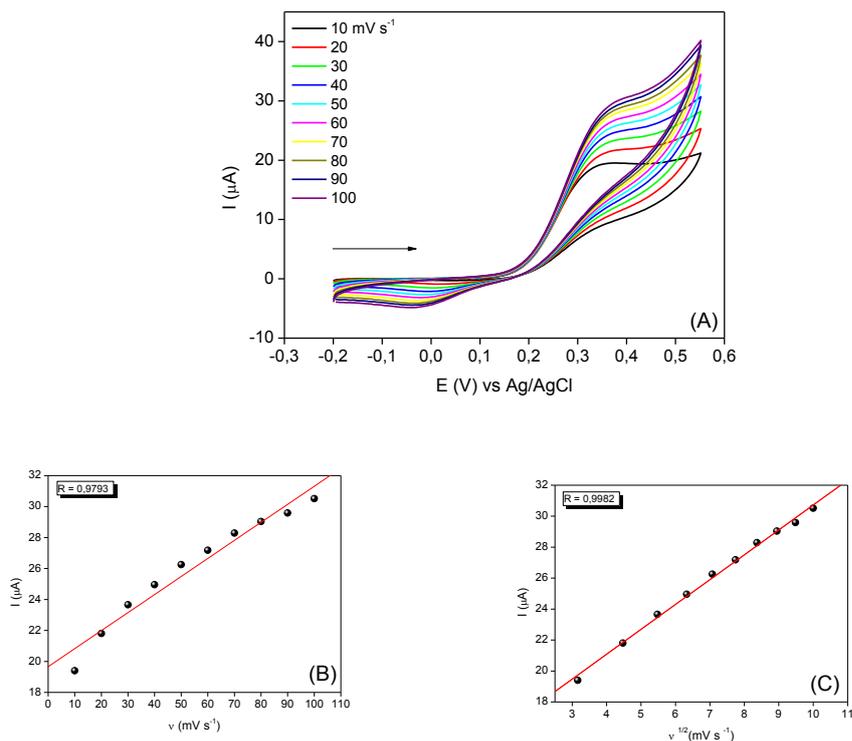
Número de bicamadas	Espessura nm	Rugosidade nm	I _{pa} A
2	29,0	25,0	3,47 x 10 ⁻⁵
6	119,5	22,1	8,11 x 10 ⁻⁶
10	213,0	20,4	2,72 x 10 ⁻⁶
14	312,7	19,2	2,04 x 10 ⁻⁶
18	478,6	18,7	1,54 x 10 ⁻⁶
22	671,2	16,9	1,03 x 10 ⁻⁶

Pode ser observado que a espessura dos filmes aumentou em função do aumento das bicamadas, porém o aumento da espessura não é linear em ambas as configurações de eletrodo. Esse fato pode estar associado ao distanciamento das camadas em relação à superfície do substrato, isto porque a carga do substrato exerce pouca influência sobre a carga das monocamadas mais distantes. Além disso, a partir da segunda monocamada as interações predominantes, que mantém as monocamadas adsorvidas, são do tipo Van der Waals e pontes de hidrogênio, estas adsorções não são auto-limitadas, ou seja, não existe um limite para quantidade de material adsorvido e conseqüentemente a espessura de cada bicamada pode variar¹⁰². A rugosidade dos filmes diminuiu devido à interpenetração entre as monocamadas¹⁰³, entretanto, quanto mais espesso o filme, maior é a desorganização das moléculas imobilizadas, o que dificulta a transferência de carga, proporcionando um decréscimo na corrente faradaica. Esta afirmação será melhor discutida e confirmada mais adiante, analisando a Figura 41.

Fato semelhante foi relatado no trabalho de Jesus *et al.*⁶⁴, onde foi comparada a espessura dos filmes com diferentes bicamadas com a resposta eletroquímica, e foi possível observar que a corrente de pico diminuiu em função da espessura dos filmes.

As Figuras 38, 39 e 40 apresentam os voltamogramas do filme *LbL* (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ na presença de DA, AU e AA todos obtidos em concentração fixa de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura.

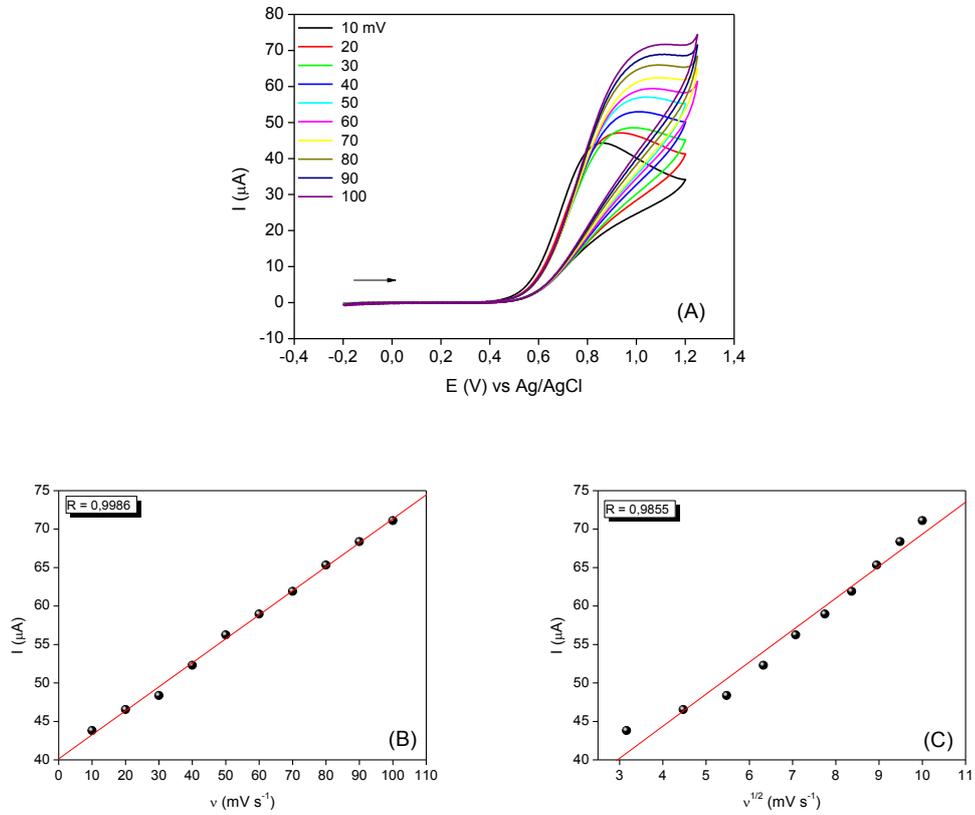
Figura 38 - (A) Voltamogramas cíclicos do filme (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂ em diferentes velocidades de varredura na presença de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, (B) Correlação entre a *I*_{pa} em função *v*, (C) Correlação entre a *I*_{pa} em função $v^{1/2}$.



Fonte: Própria.

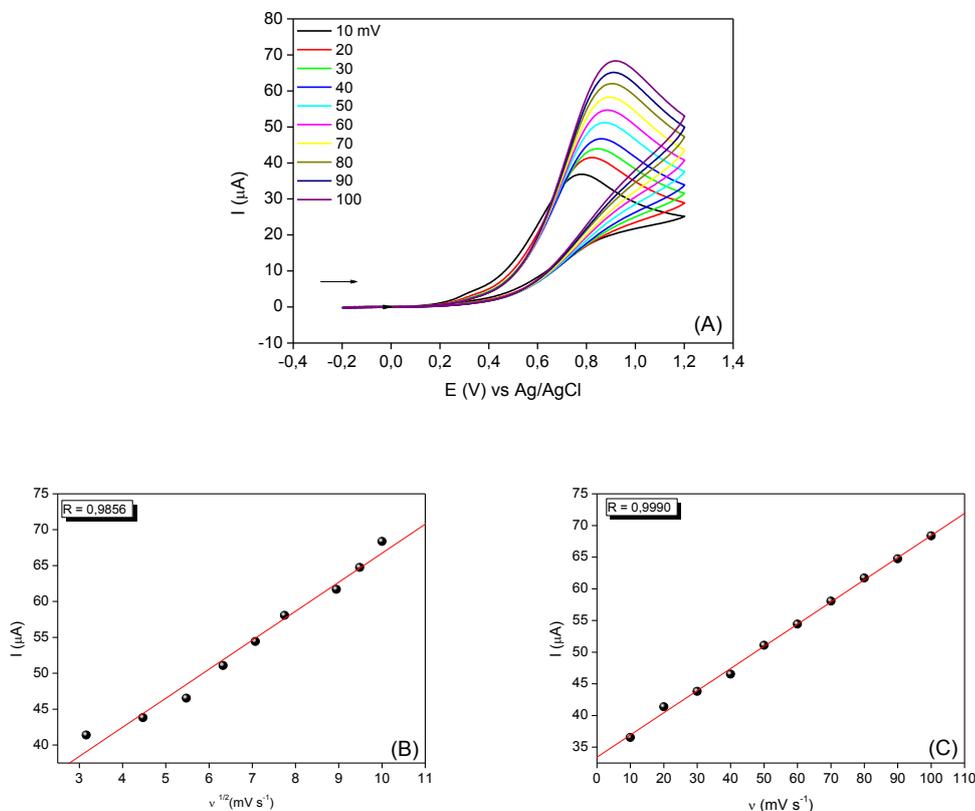
Os experimentos de variação de velocidade de varredura foram realizados no intervalo de 10 a 100 mV s^{-1} , para avaliar a natureza do transporte de massa na superfície do eletrodo. A partir dos voltamogramas pode-se relacionar a corrente de pico anódico em função da velocidade e da raiz quadrada da velocidade de varredura, com o fator de correlação (R). Para DA houve linearidade entre a corrente de pico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura com $R = 0,998$, mostrando assim que o transporte de massa é controlado pela difusão de espécies a superfície do eletrodo^{73, 74, 75}.

Figura 39 – (A) Voltamogramas cíclicos do filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de $\text{AU } 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, em diferentes velocidades de varredura. (B) Correlação entre I_{pa} e v (C) Correlação entre I_{pa} e $v^{1/2}$.



Fonte: Própria.

Figura 40 - Voltamogramas cíclicos do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de AA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, em diferentes velocidades de varredura, (B) Correlação entre I_{pa} e $v^{1/2}$ (C). Correlação entre I_{pa} e v .



Fonte: Própria.

Os resultados da relação entre a corrente de pico em função da velocidade de varredura para AA e AU apresentaram os seguintes coeficientes $R = 0,999$ e $R = 0,998$ respectivamente, mostrando que pode estar ocorrendo adsorção de espécies na superfície do eletrodo^{73, 74, 75}. Para sistemas onde ocorre adsorção de produto e ou reagente, a relação entre o logaritmo da corrente de pico ($\log I_p$) em função do logaritmo da velocidade de varredura ($\log v$), apresenta coeficiente angular igual a 1, para sistemas onde o transporte de massa é controlado por difusão, o coeficiente angular é igual a 0,5^{74,104}. Porém esses critérios são estipulados para eletrodos sólidos. A relação entre $\log I_p$ vs $\log v$ para DA apresentou coeficiente angular igual a 0,204, para AA igual 0,223 e para AU igual a

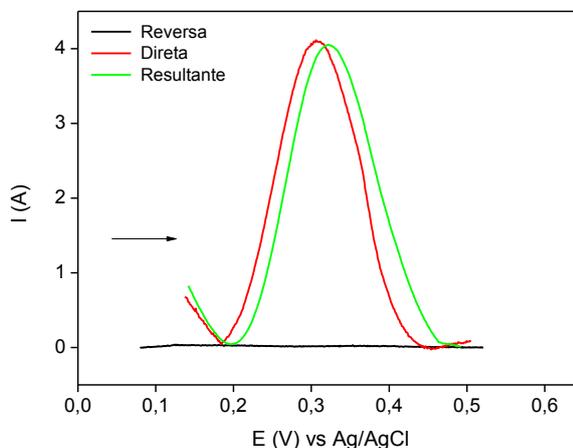
0,215. Valores que diferem dos critérios estipulados para eletrodos sólidos, onde o transporte de massa é controlado por difusão ou adsorção. Eletrodos modificados têm comportamento diferenciado de eletrodos sólidos, pois são mais complexos, e se faz uma aproximação do comportamento eletroquímico de eletrodos modificados com o comportamento de eletrodos não modificados. Segundo Gosser⁷⁴ é possível encontrar valores intermediários a estes, o que sugere que há uma “mistura” de processos difusionais e adsortivos.

5.4.2.2 Estudos utilizando-se voltametria de Onda Quadrada

Como já citado anteriormente a técnica de voltametria cíclica é uma excelente técnica para se obter informações eletroquímicas, tanto das espécies imobilizadas na superfície do eletrodo como das espécies eletroativas em solução. No entanto, como um dos objetivos deste trabalho consiste na aplicação do eletrodo como possível sensor eletroquímico para determinação quantitativa de DA, em meio de interferentes (AU e AA), foi utilizada a técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ), por ser uma técnica mais sensível do que a voltametria cíclica, portanto mais adequada para aplicações eletroanalíticas.

A corrente resultante em voltametria de onda quadrada consiste na diferença entre a corrente obtida no sentido direto e no sentido inverso, o que minimiza a corrente capacitiva e amplifica a corrente faradaica⁷⁷. A Figura 41 ilustra os voltamogramas de onda quadrada do filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de DA, e suas componentes de corrente.

Figura 41 - Voltamogramas de onda quadrada utilizando-se o eletrodo modificado com o filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0 $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 10 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.

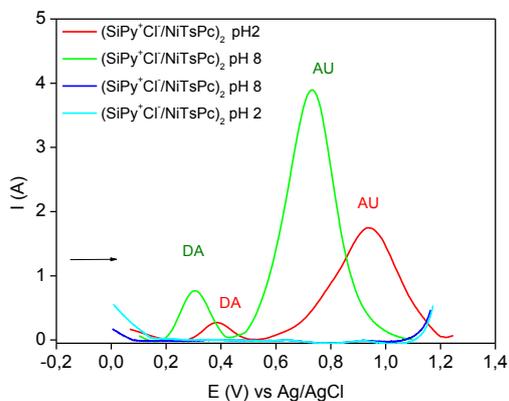


Fonte: Própria.

A partir dos resultados, foi escolhida a corrente direta para a realização das demais medidas uma vez que a mesma apresentou corrente de pico semelhante à componente resultante. A componente reversa não apresentou pico, o que é característico de sistema irreversível^{77, 79}.

Com o intuito de investigar a importância da organização das moléculas imobilizadas na superfície dos eletrodos sobre a resposta eletroquímica dos mesmos realizou-se um estudo, onde foram comparados os filmes construídos sob as mesmas condições, porém em diferentes pHs das soluções dos polieletrólitos (em pH 2 e pH 8) na presença e na ausência de DA e AU. A Figura 42 apresenta os resultados.

Figura 42 - Voltamogramas de onda quadrada dos eletrodos $(\text{SiPy}^+\text{Cl}/\text{NiTsPc})_2$ construídos em diferentes pHs, pH = 8 e pH = 2, na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em solução tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH = 7, $f = 10 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, $a = 50 \text{ mV}$.



Fonte: Própria.

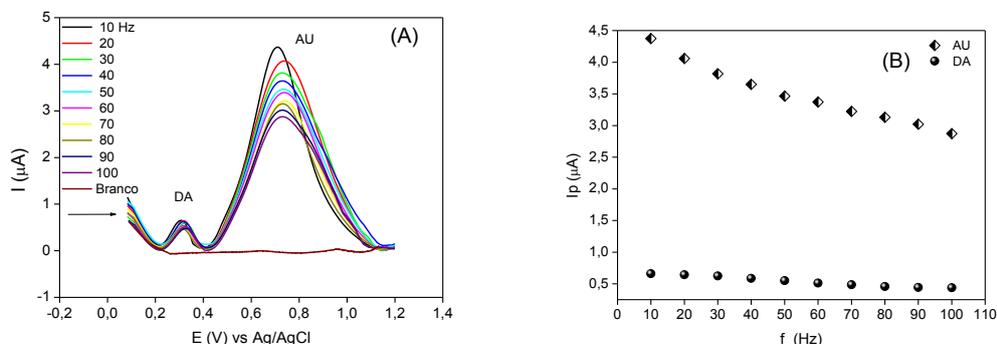
A partir dos voltamogramas de onda quadrada verificou-se que os filmes construídos em pH = 8 apresentaram a maior intensidade de corrente tanto para DA como para AU. Neste pH, a concentração das espécies monoméricas é maior em relação as espécies agregadas, e provavelmente filme é mais organizado. Esta organização permite melhor fluxo no transporte de elétrons entre as moléculas depositadas e a superfície do eletrodo. Desta forma, pode-se inferir que a organização das moléculas sobre a superfície do filme é de extrema importância para a sensibilidade do eletrodo. Este resultado justifica a utilização do pH 8 das soluções utilizadas para a construção dos filmes.

A otimização dos parâmetros da VOQ, como frequência, amplitude do pulso e incremento de varredura são muito importantes, pois através deles é possível obter limites de quantificação e de detecção menores, aceitáveis para análises eletroquímicas. As otimizações foram realizadas utilizando concentrações fixas de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Para realizar os estudos de otimizações

foram utilizadas concentrações fixas de dopamina na presença de ácido úrico. O ácido ascórbico não foi utilizado, porque o mesmo interfere na corrente de oxidação da dopamina. Esta constatação será discutida com maiores detalhes mais adiante. Os voltamogramas apresentaram potencial de pico anódico em 0,3 V vs Ag/AgCl, referente a dopamina e 0,7 V vs Ag/AgCl para o AU. Sendo que este potencial é menor, em comparação com outros trabalhos apresentados na literatura^{64, 105}.

A otimização do parâmetro frequência é um dos mais importantes na onda quadrada, pois é ela que determina a intensidade dos sinais analíticos e conseqüentemente à sensibilidade do método. Para tal otimização, utilizou-se a faixa de variação de frequência entre 10 a 100 Hz, com concentrações fixas de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Pode-se observar que com o aumento da frequência, ocorreu a diminuição da intensidade de pico de corrente tanto para o processo de oxidação do AU, como para DA. A frequência de trabalho escolhida foi a de 10 Hz, porque apresentou a maior intensidade de corrente, além de maior definição do potencial de pico. Para os eletrodos modificados neste trabalho, a cinética de transferência de elétrons é lenta em comparação aos eletrodos sólidos, quanto menor a velocidade ou a frequência, mais definido é o potencial de pico, e maior a intensidade de corrente de pico. Os voltamogramas assim como a relação entre a corrente e a frequência para DA e AA são apresentados na Figura 43.

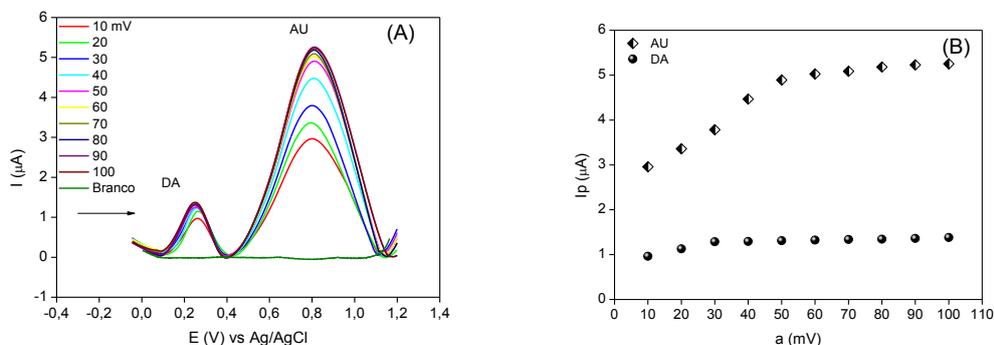
Figura 43 - Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em diferentes valores de frequências, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, $a = 1 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$. (B) Correlação I_p (μA) vs f (Hz).



Fonte: Própria.

A amplitude é outro parâmetro que também deve ser otimizado, pois a sensibilidade analítica é influenciada pela variação da amplitude. Ao variar a amplitude no intervalo de 10 a 100 mV, observou-se um aumento linear da intensidade de corrente de pico em função do aumento da amplitude até 50 mV, mas para valores superiores de amplitude, não houve aumento significativo da intensidade da corrente de pico. Desta forma, optou-se pela amplitude de 50 mV. A Figura 44 apresenta os voltamogramas.

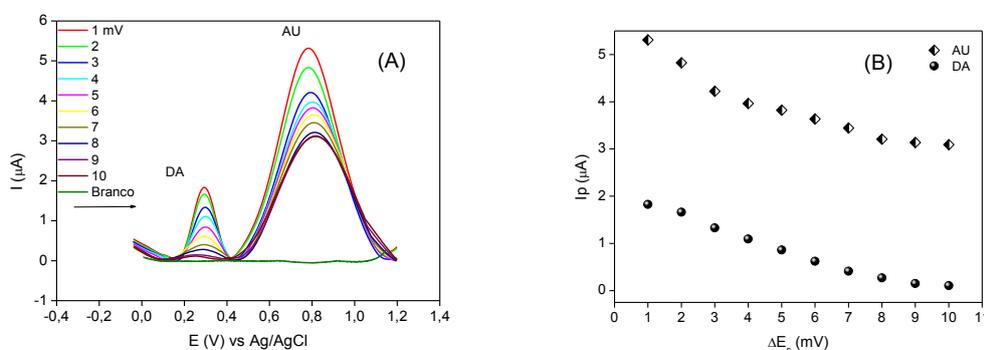
Figura 44 - (A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$. (A) Em diferentes valores de amplitude, (B) Correlação I_p vs a (mV).



Fonte: Própria.

Na técnica de voltametria de onda quadrada, a velocidade de varredura é o resultado do produto da frequência pelo incremento de varredura^{77, 78, 79}. A faixa de variação de incremento utilizada foi de 1 a 10 mV. Pode-se observar que com o aumento do incremento de varredura, a intensidade da corrente de pico diminui. Por esta razão, o incremento de varredura escolhido foi de 1 mV, os voltamogramas são apresentados na Figura 45.

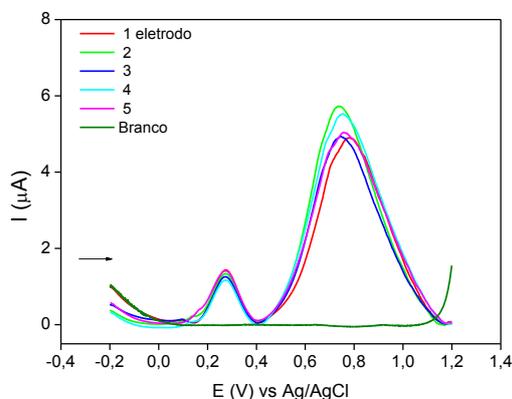
Figura 45 – (A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7, $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 10 \text{ mV}$ com diferentes valores de incremento de varredura. (B) Correlação I_p vs ΔE_s .



Fonte: Própria.

Após as otimizações dos parâmetros foram estabelecidos os valores de frequência de 10 Hz, amplitude de 50 mV e incremento de 1 mV, onde se obteve os maiores valores de corrente de pico para as duas espécies. A partir destes parâmetros foram realizadas medidas de repetibilidade e reprodutibilidade do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$. A Figura 46 mostra os voltamogramas obtidos a partir de diferentes eletrodos. As medidas de reprodutibilidade de construção de eletrodo foram realizadas nas mesmas condições, utilizando concentrações fixas de DA e AU.

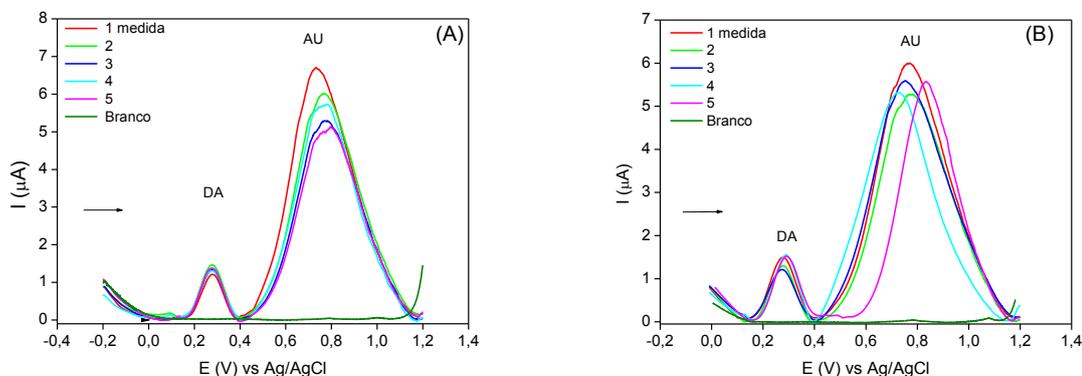
Figura 46 - Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.



Fonte: Própria.

A partir dos voltamogramas foi possível calcular o desvio de corrente para ambas as espécies. O processo redox da DA apresentou desvio de corrente de 8,30 %, e para o AU o desvio foi de 12,09 %. Esses desvios podem ser atribuídos ao processo de construção do eletrodo, ou seja, os filmes podem não ser totalmente homogêneos, ou ainda, essa diferença de corrente observada pode estar relacionada à superfície do próprio substrato, no qual a camada de óxido pode apresentar defeitos, causados pelo processo de lavagem, ou por choques físicos, e estes defeitos podem influenciar nas respostas eletroquímicas do eletrodo. A Figura 47 mostra os resultados de (A) reprodutibilidade e (B) repetibilidade de medidas.

Figura 47 – Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$. (A) medidas realizadas na mesma solução, (B) medidas realizadas em diferentes soluções, nas mesmas condições.



Fonte: Própria.

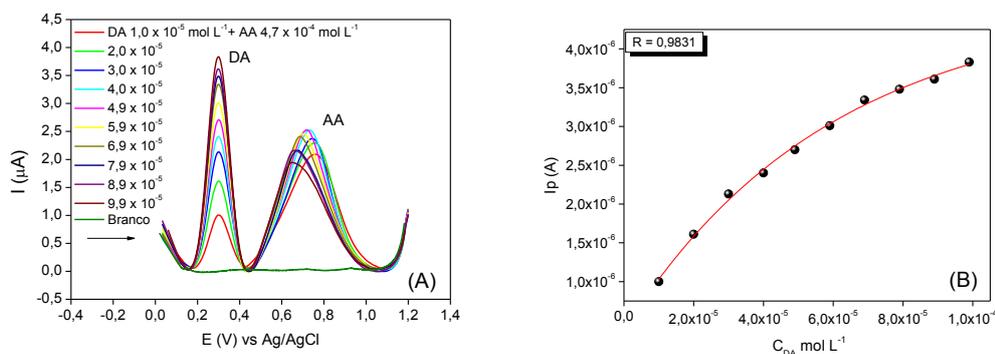
Os cinco voltamogramas apresentados na Figura 47 (A) foram realizados sob as mesmas condições, em soluções distintas com um mesmo eletrodo. Estes voltamogramas representam a reprodutibilidade de medida do eletrodo. O desvio de corrente apresentado para DA foi de 7,2 %, e para AU o desvio foi de 9,8 %. Os voltamogramas da Figura 47 (B) representam a repetibilidade das medidas, estes voltamogramas foram obtidos nas mesmas condições, e na mesma solução, utilizando-se de um mesmo eletrodo. A partir destes foi possível estimar o desvio para DA que foi de 6,7 %, e para AU de 11,4 %. Os resultados de repetibilidade e reprodutibilidade de medida mostram que os eletrodos embora apresentem desvios de corrente de pico, ainda sim apresentaram resultados reprodutíveis e satisfatórios.

Yang *et al.*¹⁰⁵ construíram um sensor eletroquímico para a determinação simultânea de DA, AU e AA. Para construir o sensor foi utilizada a técnica *LbL*, alternando monocamadas de azul de metileno e monocamadas de nanotubos de carbono de parede múltipla. O eletrodo determinou DA e AA simultaneamente com separação de potencial de pico de 400 mV. Foram realizadas medidas de reprodutibilidade do método de construção do eletrodo, para isso foram construídos

5 eletrodos sob as mesmas condições, e estes foram aplicados na determinação de DA, e obteve-se desvio de corrente de 7,6%. Também foram realizadas medidas de repetibilidade de medida, na presença de DA e AU, utilizando o mesmo eletrodo, nas mesmas condições, foram realizadas cinco varreduras consecutivas, a partir dos valores de corrente de pico para DA e AU, obteve-se um desvio de corrente de 3,5% para DA e 4,0% para AU. Estes resultados confirmam a reprodutibilidade do método de construção do eletrodo, e também a repetibilidade de medidas de corrente de pico.

Foram realizados estudos na determinação de DA em meio aos interferentes AU e AA. A Figura 48 mostra os voltamogramas do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de concentração fixa de AA $4,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes concentrações de DA.

Figura 48 – (A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de AA $4,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e de DA com concentração de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $9,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, em tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$. (B) Curva de calibração para DA.

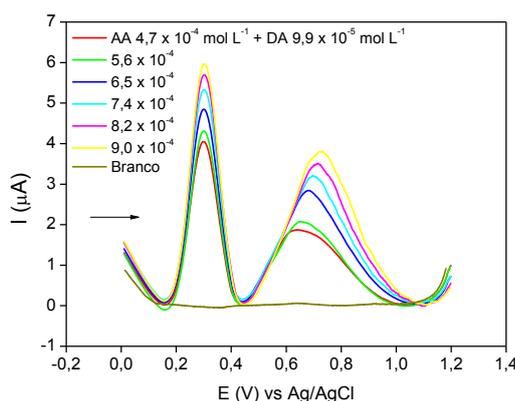


Fonte: Própria.

A Figura 48 mostra que os eletrodos são sensíveis e seletivos a DA na presença de AA. Os voltamogramas apresentaram separação de potencial de pico de DA em relação a AA de 400 mV, valor superior aos apresentados na literatura. Por exemplo, Yang *et al.*¹⁰⁵ em um trabalho em que foi utilizado eletrodo de carbono vítreo, modificado com azul de metileno e nanotubos de carbono para a

determinação de DA na presença de AA. Neste caso, os processos anódicos apresentaram separação de pico de 219 mV. É possível observar que houve uma pequena variação na corrente de pico do AA, porém esta variação pode estar associada a erros experimentais, pois o desvio padrão relativo calculado foi de 8,0%, sendo que este valor é próximo ao desvio calculado para a reprodutibilidade do método de construção do eletrodo, que foi de 8,3 % para DA e 12,0 % para AU. A Figura 49 pode confirmar a hipótese da reação acoplada, os voltamogramas foram obtidos utilizando concentração fixa de DA, e variou-se a concentração de AA.

Figura 49 - Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, na presença de concentração fixa de DA de $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, e AA na faixa de $4,7 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$.

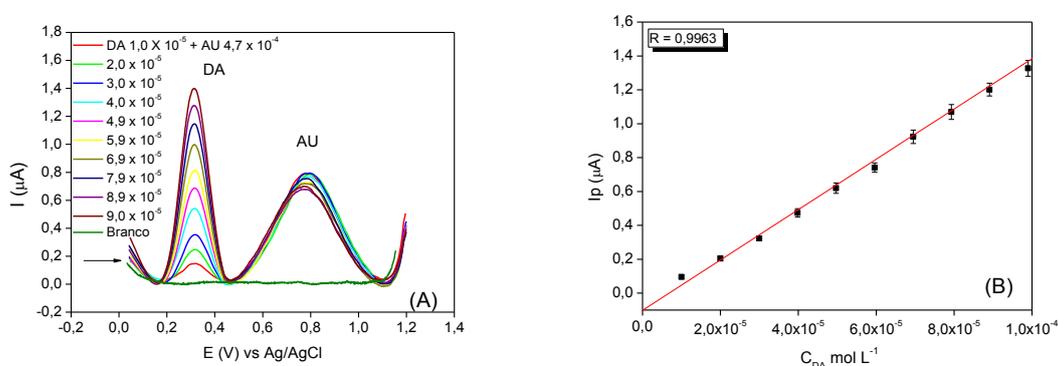


Fonte: Própria.

Observando os voltamogramas é possível verificar que a corrente de pico de DA aumentou em função do aumento da concentração de AA. Isso ocorre porque o produto de oxidação da DA (*o*-dopaminaquinona) reage com AA, que o reduz novamente a DA¹⁰⁶, a qual é novamente reoxidada causando o aumento de corrente. É possível quantificar DA na presença AA, pois obteve-se limite de detecção de $1,04 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, porém a reação acoplada poderá causar desvios de correntes, causando imprecisões na determinação eletroanalítica de DA na presença de AA em amostras reais.

Os voltamogramas na Figura 50 apresentam a determinação de DA na presença de AU com concentração fixa. A partir dos voltamogramas obtidos em diferentes concentrações de DA (Figura 50(A)) foi possível construir a curva analítica na faixa de concentração entre $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, a qual é mostrada na Figura 50 (B).

Figura 50- (A) Voltamogramas de onda quadrada do filme $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, para DA na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-5}$ a $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, na presença de AU $4,7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0. Parâmetros: $f=10 \text{ Hz}$, $a = 40 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, (B) Curva de calibração para DA.



Fonte: Própria.

A partir da curva de calibração obteve-se um coeficiente de correlação $R = 0,996$, utilizando o coeficiente angular da equação da reta foi possível calcular o limite de detecção (LD) que foi de $2,37 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (calculado pela eq.4).

$$LD = \frac{3S_{y/y}}{b} \quad (\text{eq. 4})$$

Sendo: $(S_{y/y})$ o desvio padrão do branco, (b) coeficiente angular da equação da reta obtido da curva de calibração ilustrada na Figura 50 (B).

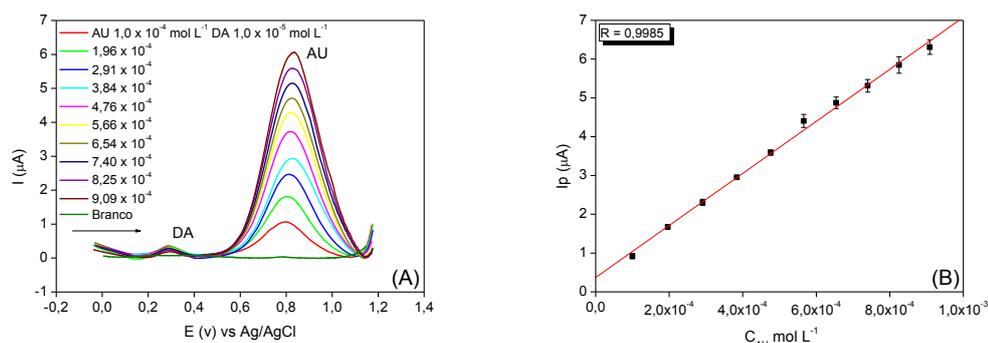
Depois de calculado o limite de detecção calculou-se o limite de quantificação (LQ), utilizando a equação 5 e obteve o valor de $7,88 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

$$LQ = \frac{10S_{y/y}}{b} \quad (\text{eq. 5})$$

Sendo: $(S_{y/y})$ o desvio padrão do branco, (b) coeficiente angular obtido a partir da equação da reta referente à curva de calibração ilustrada na Figura 50 (B).

Os voltamogramas na Figura 51 mostram a determinação de AU na presença de DA com concentração fixa de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 51 - (A) Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$, em diferentes concentrações de AU na faixa de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, na presença de DA com concentração fixa de $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$, (B) Curva analítica para AU.

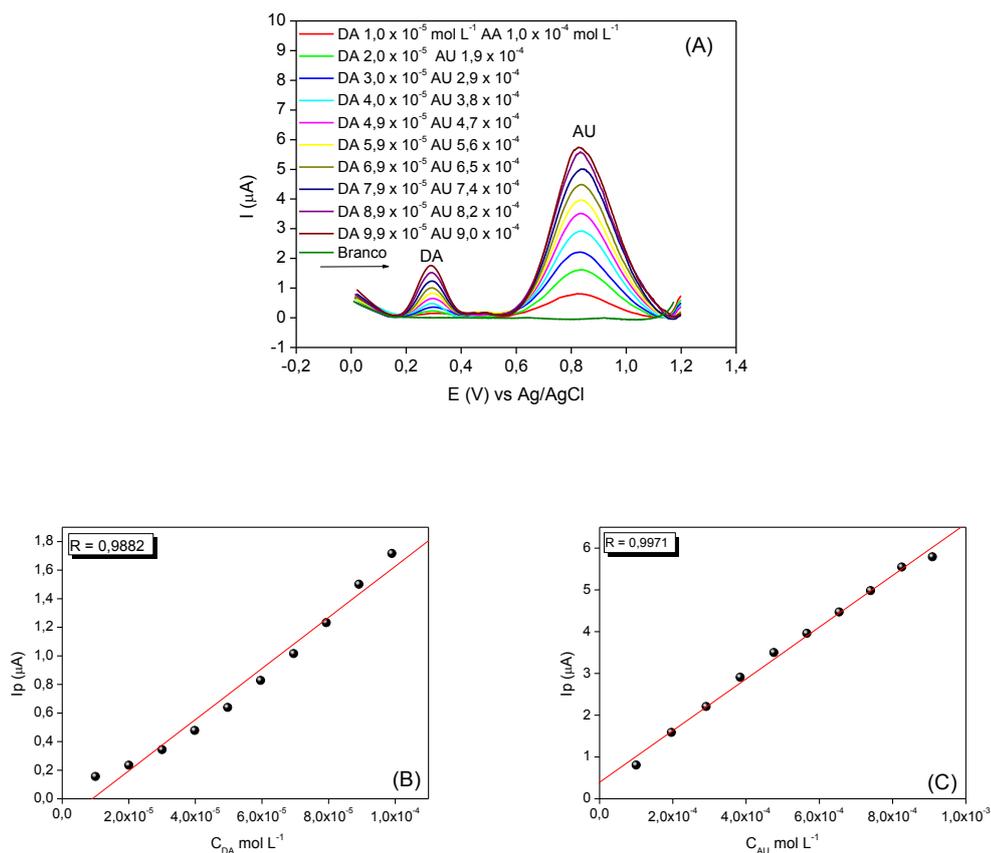


Fonte: Própria.

O eletrodo mostrou-se sensível e seletivo na determinação de AU na presença de concentração fixa DA. Tais medidas foram realizadas três vezes, onde não houve variação significativa de corrente, e obteve-se limite de detecção de $5,22 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e limite de quantificação de $1,74 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, mostrando assim que os eletrodos são estáveis e reprodutíveis. Os eletrodos apresentaram separação de potencial de pico anódico na determinação simultânea de DA e AU de 500 mV, separação superior ao relatado no trabalho de Ding *et al.*¹⁰⁷, onde foi utilizado um eletrodo de carbono vítreo modificado com Nafion[®] e dodecilbenzeno sulfonado de sódio e foi obtida uma separação entre os potenciais de pico de 270 mV. Outro exemplo é o trabalho de Tsakova *et al.*¹⁰⁸, onde foi utilizado um eletrodo de carbono vítreo, modificado com monocamadas de nanopartículas de ouro (AuNP), alternadas com monocamadas de polianilina (PANI). O eletrodo foi aplicado na determinação simultânea de DA e AU, e mostrou-se sensível e seletivo, com limite de detecção de $3 \mu\text{mol dm}^{-3}$ para dopamina e $20 \mu\text{mol dm}^{-3}$ para AU, com separação de potencial de pico de 110 mV.

A Figura 52 mostra a determinação simultânea de DA e AU, onde foram variadas simultaneamente as concentrações das duas espécies.

Figura 52 - Voltamogramas de onda quadrada do eletrodo $(\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc})_2$ na presença de DA com concentração variada de $1,0 \times 10^{-5}$ a $9,9 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, e AU com concentração na faixa de $1,0 \times 10^{-4}$ a $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 1 \text{ mV}$. (B) Curva de calibração para DA, (C) Curva de calibração para AU.

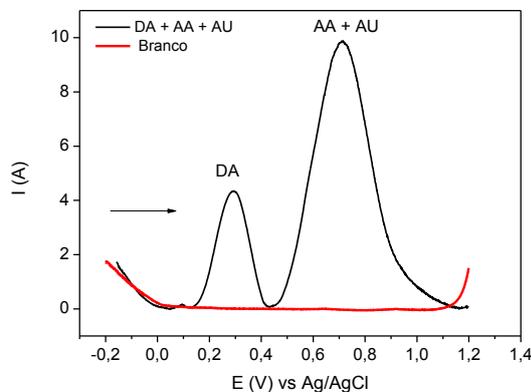


Fonte: Própria.

A partir das curvas de calibração é possível obter a sensibilidade do eletrodo para DA que foi de $1,7 \times 10^{-2} \text{ A/mol L}^{-1}$ e $6,1 \times 10^{-3} \text{ A/mol L}^{-1}$ para AU. Confirmando os resultados apresentados nas Figuras 50 e 51.

A Figura 53 mostra os resultados da tentativa de determinar as três espécies simultaneamente.

Figura 53 - Voltamogramas do eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂, na presença de DA $9,9 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, AU $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, AA $9,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, tampão PBS $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7. Parâmetros: $f = 10 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, 1 mV .



Fonte: Própria.

Com pode ser visto nas determinações anteriores o eletrodo mostrou-se sensível e seletivo na determinação de DA em meio de AU e de AA, porém a determinação das três espécies simultaneamente não foi possível, pois os potenciais de pico do AU e AA se sobrepõem. No entanto é possível detectar DA na presença de AU e DA na presença de AA. A Tabela 9 apresenta os limites de detecção e quantificação para DA, AU e AA, obtidos utilizando o eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc)₂.

Tabela 9 - Coeficientes de correlação, limites de detecção e sensibilidade, para os analitos: DA, AU e AA.

Analito	Eq. da reta	R	Sensibilidade A/mol L ⁻¹	LD/mol L ⁻¹	LQ/mol L ⁻¹
DA	$I(A) = 1,01 \times 10^{-7} + 0,014[DA]$	0,996	$1,4 \times 10^{-2}$	$2,37 \times 10^{-6}$	$7,88 \times 10^{-6}$
AU	$I(A) = 3,70 \times 10^{-7} + 0,006[AU]$	0,998	$6,0 \times 10^{-3}$	$5,22 \times 10^{-6}$	$1,74 \times 10^{-5}$

A Tabela 9 apresenta os valores de LD, tanto para a determinação de DA na presença de AU quanto para AU na presença de DA. Os limites de detecção para ambos os analitos são similares ou inferiores a outros trabalhos relatados na

literatura. A Tabela 10 apresenta uma comparação entre os parâmetros analíticos para sistemas de eletrodos a base de filmes *LbL* encontrados na literatura. Pode-se verificar que o eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc) possui valores de quantificação semelhantes e ou inferiores aos encontrados na literatura.

Tabela 10 – Comparação entre os diferentes sensores eletroquímicos construídos através da técnica *LbL*, utilizando ftalocianinas e seus respectivos limites de detecção para DA e AU.

Eletrodo	Técnica utilizada	Faixa de Concentração mol L ⁻¹	LD/ mol L ⁻¹	Referência
LDH/CoTsPc	CA	$5,0 \times 10^{-4} - 1,3 \times 10^{-5}$	$3,2 \times 10^{-7}$	109
Ch/NiTsPc	VC	$5,0 \times 10^{-6} - 1,5 \times 10^{-4}$	$4,88 \times 10^{-5}$	5
MWCNT/CoTsPc	VDP	$3,1 \times 10^{-6} - 9,3 \times 10^{-5}$	$2,56 \times 10^{-7}$	110
Ch/FeTsPc	VC	$5,0 \times 10^{-6} - 1,5 \times 10^{-4}$	$3,70 \times 10^{-5}$	5
SiPy ⁺ Cl ⁻ /CuTsPc	VPD	$9,0 \times 10^{-5} - 2,3 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-5}$	64
SiPy ⁺ Cl ⁻ /NiTsPc	VOQ	$1,0 \times 10^{-5} - 9,9 \times 10^{-5}$	$2,3 \times 10^{-6}$	Este trabalho
PAH/NiTsPc	VC	$2,5 \times 10^{-6} - 3,0 \times 10^{-4}$	$8,9 \times 10^{-7}$	46
AuNP/PANI	VPD	$7,0 \times 10^{-6} - 1,4 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-6}$	108
PAH/chichá/NiTsPc	VC	$2,5 \times 10^{-6} - 3,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-5}$	46

A técnica utilizada (VOQ) com seus parâmetros otimizados associada ao eletrodo (SiPy⁺Cl⁻/NiTsPc) possibilitaram alcançar limites de detecção menores aos encontrados na literatura para sistemas semelhantes a este trabalho. O sensor mostrou-se promissor e pode a princípio ser aplicado na determinação de DA na presença dos interferentes AU e AA.

6 Conclusões

As contribuições deste trabalho foram demonstrar que é possível construir filmes ultrafinos através da imobilização do poliânion NiTsPc em camadas alternadas com o polycation SiPy⁺Cl⁻. As interações entre os polieletrólitos são predominantemente eletrostáticas e se estabelecem entre os grupos SO₃⁻ das moléculas de NiTsPc e os grupos piridínicos do polieletrólito SiPy⁺Cl⁻, sendo que estas interações são o principal fator responsável pela sustentação dos filmes.

Verificou-se que o pH, as concentrações dos polieletrólitos e a cinética de deposição são variáveis muito importantes na construção dos filmes *LbL* e a otimização destes parâmetros são fundamentais na construção dos mesmos, porque estas variáveis influenciam nas propriedades destes filmes, tais como na organização e na concentração das moléculas imobilizadas sobre a superfície.

A técnica de *UV-VIS* mostrou uma relação linear entre a absorvância e o número de bicamadas depositadas para ambas as configurações de filmes, mostrando assim que a cada bicamada depositada se tem a mesma quantidade de material sendo depositado. A partir dos espectros de *UV-VIS* foi possível concluir que as duas configurações de filmes apresentaram-se organizadas, pois em todas as deposições a banda referente à forma monomérica predominou sobre a banda dimérica em pH = 8. Neste valor de pH as moléculas de ftalocianinas adotam formas menos randômicas, e provavelmente o polieletrólito neste pH esteja totalmente desprotonado favorecendo uma melhor organização entre as moléculas. As caracterizações utilizando-se das técnicas de *UV-VIS*, FTIR, RAMAN, evidenciaram as interações coulômbicas entre os grupos piridínicos e sulfônicos entre os polieletrólitos que compõem os filmes.

A partir da técnica de AFM foi constatado que a rugosidade média dos filmes em ambas as configurações diminuiu com o aumento do número de bicamadas depositadas, por outro lado a espessura média dos filmes em ambas configurações aumentou em função do aumento destas, sendo que estes dados corroboram com os dados obtidos pela técnica de *UV-VIS*, de que a cada deposição se têm o acúmulo de material sendo depositado. Sendo a espessura um fator determinante nas medidas eletroquímicas, pois foi possível observar que com o aumento do número de bicamadas a corrente de pico de oxidação da DA diminuiu em função destas.

Estudos voltamétricos utilizando a técnica de VC em meio ácido, revelaram os perfis eletroquímicos das espécies imobilizadas na superfície do eletrodo. Foi possível identificar dois processos redox, sendo que o primeiro par redox em 0,26 V e 0,16 V vs Ag/AgCl foi atribuído a oxidação e redução do metal central, e o segundo processo em 1,0 V vs Ag/AgCl foi atribuído a oxidação irreversível do anel da molécula de ftalocianina. Os filmes construídos apenas com o polieletrólito SiPy^+Cl^- , não apresentaram-se eletroativos frente as espécies em estudo, por outro lado os filmes de somente NiTsPc, foram os que apresentaram a maior intensidade de corrente de pico de oxidação para as espécies DA, AU e AA. Porém estes filmes são instáveis, ocorrendo a perda do material depositado para a solução. Os eletrodos ($\text{NiTsPc}/\text{SiPy}^+\text{Cl}^-$), apresentaram-se eletroativos frente as espécies DA, AU e AA, mas com menor intensidade de corrente quando comparado aos eletrodos ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$). Entre os eletrodos construídos com diferentes números de bicamadas, o eletrodo ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$)₂, foi o que apresentou a maior corrente de pico frente as espécies em estudo, além disso, apresentou-se estável e reprodutivo. Foi possível verificar que a etapa limitante da reação de oxidação da dopamina é

controlada por difusão, por outro lado ocorre adsorção das espécies AA e AU na superfície do eletrodo. Utilizando-se da técnica de VOQ, foi possível detectar e quantificar simultaneamente DA na presença de AU, assim como é possível quantificar AU na presença de DA, com separação de potenciais de pico de 500 mV. Tal separação foi possível em pH 7,0, o que possibilita a determinação diretas destes analitos em amostras reais.

Os resultados mostraram que é possível quantificar DA na presença de AA, com separação de potencial de pico de 400 mV, mas devido à reação química acoplada à eletroquímica, a intensidade do corrente de pico para DA é afetada pelo AA, causando imprecisões na determinação eletroanalítica de DA.

Os resultados apresentados mostram que os a combinação dos polieletrólitos SiPy^+Cl^- e NiTsPc são promissores para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos e a base formada ($\text{SiPy}^+\text{Cl}^-/\text{NiTsPc}$) poderá ser utilizada como suporte para a imobilização de biomoléculas visando o desenvolvimento de biossensores.

7 Perspectivas Futuras

O eletrodo mostrou-se promissor no sensoriamento de DA na presença de interferentes como AU e AA. Podendo ser aplicados a outras moléculas que possuam estruturas semelhantes a DA, um exemplo é o catecol e hidroquinona.

A metodologia aqui utilizada poderá ser aplicada em amostras reais como em plasma sanguíneo ou urina na tentativa da determinação de ácido úrico na presença de traços de dopamina, ou no monitoramento de concentrações de DA em formulações farmacêuticas.

A arquitetura desenvolvida poderá ser base para a ancoragem de moléculas como: enzimas, lipossomos, antígeno/anticorpo, tendo como objetivo o desenvolvimento de biossensores.

O polieletrólito SiPy^+Cl^- apresenta cavidades em sua estrutura, as quais poderão atuar como molde para a síntese de nanopartículas, sendo que estas nanopartículas, poderão atuar como nanosensores.

A utilização de outros substratos como o ouro, poderá melhorar a sensibilidade, diminuir os desvios de corrente, tornando o sensor mais sensível, estável e reproduzível.

8 Referências Bibliográficas

- ¹ KANEKO, K.; FURUYA, K.; HUNGRIA, A. B.; GARRIDO, J. C. H.; MIDGLEY, P. A.; ONODERA, T.; KASAI, H.; YAGUCHI, Y.; OIKAWA, H.; NOMURA, Y.; HARADA, H.; ISHIHARA, T.; BABA, N.; **Nanostructural characterization and catalytic analysis of hybridized platinum/phthalocyanine nanocomposites**, *Journal of Electron Microscopy*, v. 58, n. 5, 2009.
- ² CARUSO, F.; WANG, Y.; ANGELATOS, A. S.; **Template Synthesis of Nanostructured Materials via Layer-by-Layer Assembly**, *Chem. Mater.*, n. 20, p. 848-858, 2008.
- ³ ZUCOLOTTO, V.; FERNANDES, E. G. R.; BRAZANCA, L. C.; MENDEZ, M. L. R.; SAJA, J. A.; **Immobilization of lutetium bisphthalocyanine in nanostructured biomimetic sensors using the LbL technique for phenol detection**, *Biosensors and Bioelectronics*, 2011.
- ⁴ SHU, J. H.; WIKLE, H. C.; CHIN, A., B.; **Passive Detection of Nitrogen Dioxide Gas by Relative Resistance Monitoring of Iron (II) Phthalocyanine Thin Films**, *IEEE Sensors Journal*, v. 11, n. 1, 2011.
- ⁵ OLIVEIRA, Jr., O. N.; SIQUEIRA, Jr., J. R.; GASPAROTTO, L. H. S.; CRESPILO, F. N.; CARVALHO, A. J. F.; ZUCOLOTTO, V.; **Physicochemical Properties and Sensing Ability of Metallophthalocyanines/Chitosan Nanocomposites**; *J. Phys. Chem. B*, n. 110, p. 22690-22694, 2006.
- ⁶ ARMSTRONG, N. R.; BRUMBACH, M.; PLACENCIA, D.; **Titanyl Phthalocyanine/C60 Heterojunctions: Band-Edge Offsets and Photovoltaic Device Performance**, *Journal Phys. Chem. C*, n.112, p. 3142-3151, 2008.
- ⁷ VILAR, R., GEORGIADES, S. N.; KARIM, N., H., A.; SUNTHARALINGAM, K.; **Interaction of Metal Complexes with G-Quadruplex DNA**, *Bioinorganic Chemistry*, n. 49, p. 4020-4034, 2010.
- ⁸ CRESPILO F. N.; LOST, R. M.; **Layer-by-layer self-assembly and electrochemistry: Applications in biosensing and bioelectronics**, *Biosensors and Bioelectronics* n. 31, p. 1-10, 2012.
- ⁹ DECHER, G.; SCHLENOFF, J.B.; **Multilayer Thin Films Sequential Assembly of Nanocomposite Materials**, Wiley-VCH, 2002.
- ¹⁰ CRESPILO, F. N.; ZUCOLOTTO, V.; OLIVEIRA Jr., O. N.; NART, F. C.; **Electrochemistry of Layer-by-Layer Films: a review**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, n. 1, p. 194-214, 2006.
- ¹¹ DECHER, G.; HONG, J.D.; SCHIMTT, J. **Build-up of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces**. *Thin Solid Films*, v. 20, n. 1-2, p. 831-835, 1992.

-
- ¹² DECHER, G. **Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites**. *Science*, v.277, n. 5330, p. 1232-1237, 1997.
- ¹³ ALFAYA, R. V. S, GUSHIKEM, Y., **Aluminium oxide coated cellulose fibers modified with n-propylpyridinium chloride silsesquioxane polymer: Preparation, characterization, and absorption of some metal halides from ethanol solution** *J. Colloid Interface Science*. v. 313, n. 2, p. 438-444, 1999.
- ¹⁴ MURRAY, R. W.; **Nanoelectrochemistry: Metal Nanoparticles, Nanoelectrodes, and Nanopores**, *Chemical Reviews*.; n. 108, p. 2688-2720, 2008.
- ¹⁵ ALFAYA, R. V. S. **Filmes finos do cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano. Preparação, caracterização e aplicações**. Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, SP, 2000.
- ¹⁶ SANTOS, V.; **Preparação e Caracterização de Nanopartículas de Platina incorporadas ao polímero cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano**; Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR, 2009.
- ¹⁷ MENDEZ, M. L. R.; SAJA, J. A.; **Nanostructured thin films based on phthalocyanines: electro chromic displays and sensors**, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*; n. 13, p. 606-615, 2009.
- ¹⁸ LEZNOFF, C. C.; LEVER, A. B. P.; **Phthalocyanines-Properties and Applications**, v.1, John Wiley & Sons, Inc, 1989.
- ¹⁹ ZANOTTI, G.; ANGELINI, N.; NOTARANTONIO, S.; PAOLETTI, A.,M.; PENNESI, G.; ROSSI, G.; LEMBO, A.; COLONNA, D.; CARLO, A., D.; REALE, A.; BROWN T., M.; CALOGERO, G.; **Bridged Phthalocyanine Systems for Sensitization of Nanocrystalline TiO₂ Films**, *Journal of Photoenergy*, v. 1, 2010.
- ²⁰ KASUGA, K.; TSUTSUI, M. **Some new developments in the chemistry of metallophthalocyanines**.*Coordination Chemistry Reviews*, v. 32, n. 1, p. 67-95,1980.
- ²¹ WANG, X.; XUE, D.; NI, H.; ZHANG, W.; XUE, G. **Surface Segregation of Fluorinated Moieties on Random Copolymer Films Controlled by Random-Coil Conformation of Polymer Chains in Solution**, *Langmuir* v. 25, p. 2248-2257, 2009.
- ²² BYRNE, D. E; KUMAR, M. K.; BISWAS, M.; HENRY, M. O.; HUGHES, G. **A Study of Drop-Coated and Chemical Bath-Deposited Buffer Layers for Vapor Phase Deposition of Large Area, Aligned, Zinc Oxide Nanorod Arrays**, *Crystal G and Desing*, v. 10, p. 2400-2408, 2010.
- ²³ VALLI, L.; GIANCANE, G.; INGROSSO, C.; CURRIC, M. L.; AGOSTIANOB, A. **Tetrakis-(isopropoxy-carbonyl)-copper-phthalocyanine thin films: deposition, characterization and application**, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, v. 14, p. 741-751, 2010.

-
- ²⁴ GIRARD-EGROT, A. P.; GODOY, S.; BLUM, L. J.; **Enzyme association with lipidic Langmuir–Blodgett films: Interests and applications in nanobioscience**, *Advances in Colloid and Interface Science*, n. 116, p. 205 - 225, 2005.
- ²⁵ WOHNATH, K.; SANTOS, P. M.; SANDRINO, B.; GARCIA, J. R.; BATISTA, A. A.; OLIVEIRA Jr., O. N.; **Novel Binuclear Ruthenium Complex Spectroscopic and Electrochemical Characterization, and Formation of Langmuir and Langmuir Films**; *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 17, p. 1634-1641, 2006.
- ²⁶ OLIVEIRA Jr., O. N.; RAPOSO, M.; DHANABALAN, A.; **Langmuir-Blodgett (LB) and Self-Assembled (SA) polymeric films**, *Surface and Interface*, HANBOOK, 2001.
- ²⁷ FERNANDES, A., N.; RICHARDSON T., H.; **Conductometric gas sensing studies of tert-butyl silicon-[bis ethyloxy]-phthalocyanine LB films**; *Journal Mater Scienc*, n. 43, p. 1305-1310, 2008.
- ²⁸ VIE, V.; LEGARDINIER, S.; CHIEZE, L.; LE BIHAN, O.; QIN, Y.; SARKIS, J.; HUBERT, F.; RENAULT, A.; DESBAT, B.; LE RUMEUR, E.; **Specific anchoring modes of two distinct dystrophin rod sub-domains interacting in phospholipid Langmuir films studied by atomic force microscopy and PM-IRRAS**, *Biochimica et Biophysica Acta*, n. 1798, p. 1503-1511, 2010.
- ²⁹ OLIVEIRA Jr, O. N.; ALESSIO, P.; PAVINATTO, F. J.; SAEZ, S. A. J.; CONSTANTINO, J. L. C.; MENDEZ, R. L. M.; **Detection of catechol using mixed Langmuir–Blodgett films of a phospholipid and phthalocyanines as voltammetric sensors**, *Analyst*, v. 135, p. 2591-2599, 2010.
- ³⁰ LIU, Q.; WANG, F.; QIAO, Y.; ZHNAG, S.; YE, B. **Polyaniline Langmuir-Blodgett film modified glassy carbon electrode as a voltammetric sensor for determination of Ag⁺ ions**, *Electrochimica Acta* v. 55, p. 1795-1800, 2010.
- ³¹ LIU, Q; CUI, D. M.; ZHNA, C. M.; ZHOU, Z. J.; DU, Z. L.; WONG, W. Y.; **Polyplatinayne/polyoxometalate composite Langmuir-Blodgett films: Preparation, structural characterization, and potential optoelectronic applications**, *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, v. 46, p. 3193-3206, 2008.
- ³² NOBRE, T. M.; PAVINATTO, F. J.; COMINETTI, M. R.; ARAUJO, H. S. S.; ZANIQUELLI, M. E. D.; BELTRAMINI, L. M.; **The specificity of frutalin lectin using biomembrane models**, *Biochimica et Biophysica Acta*, n. 1798, p. 1547-1555, 2010.
- ³³ ILER, R, **Multilayers of colloids particles**, *Journal of Colloids and Interface Science*, v. 21, n. 6, p. 569-594, 1966.
- ³⁴ PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA Jr. O. N. **Filmes Poliméricos Ultrafinos Produzidos pela Técnica de Automontagem: Preparação, Propriedades e Aplicações**. *Quím. Nova*, v. 24, n. 2, 2001.

-
- ³⁵ HORVATH, A. E.; HORVATH, A. T.; LINDSTROM, T.; WAGBERG, L.; **Adsorption of Highly Charged Polyelectrolytes onto an Oppositely Charged Porous Substrate**, *Langmuir*, n. 24 , p. 7857-7866, 2008.
- ³⁶ ZUCOLOTTO, V.; STRACK, P. J.; SANTOS, F. R.; BALOGH, D. T.; CONSTANTINO C. J. L.; MENDONÇAC. R.; OLIVEIRA Jr., O. N.; **Molecular engineering strategies to control photo-induced birefringence and surface-relief gratings on layer-by-layer films from an azopolymer**, *Thin Solid Films*, n. 453-454 p. 110-113, 2004.
- ³⁷ OLIVEIRA Jr., O. N.; ZUCOLOTTO, V.; SIQUEIRA Jr. R. J.; CASELI, L.; CRESPILO, N. F.; **Immobilization of biomolecules on nanostructured films for biosensing**, *Biosensors and Bioelectronics* , v. 25, p. 1254-1263, 2010.
- ³⁸ NOGUEIRA, G. M.; SWISTON, A. J.; BEPPU, M. M.; RUBNER, M. F.; **Layer-by-Layer Deposited Chitosan/Silk Fibroin Thin Films with Anisotropic Nanofiber Alignment**, *Langmuir*, n. 26, p. 8953-8958, 2010.
- ³⁹ DATTILO, S.; MINEO, P.; SCAMPORRINO, E.; SPINA, E.; VITALINI, D.; **Synthesis and Characterization of New Copolyacrylates Containing Porphyrin Units as Pendant Groups and Their Use as Sensors**, *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, v. 49, p. 796-802 , 2011.
- ⁴⁰ ABEL. M.; CLAIR, S.; OURDJINI, O.; MOSSOYAN, M.; PORTE L.; **Single Layer of Polymeric Fe-Phthalocyanine: An Organometallic Sheet on Metal and Thin Insulating Film**, *Journal of the American Chemical Society*, 2010.
- ⁴¹ FERREIRA, M.; FIORITO, P. A.; OLIVEIRA Jr. N. O.; TORRESI, S. I. C.; **Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared with the Layer-by-Layer (LbL) adsorption technique**, *Biosensors and Bioelectronics*, v. 19, p. 1611-1615, 2004.
- ⁴² GREGG, B., A.; HAINS, A., W.; LINAG, Z.; WOODHOUSE, M., A.; **Molecular Semiconductors in Organic Photovoltaic Cells**, *Chemistry Rev.*, n. 110, p. 6689-6735, 2010.
- ⁴³ SILVA, W. C.; SANTOS, A. C.; LUZ, R. A. S.; FERREIRA, L.; G. F.; SANTOS Jr. J. R.; CRESPILO, F. N.; **Organização Supramolecular da Ftalocianina de Cobalto (II) e se efeito na oxidação do aminoácido cisteína**, *Quim. Nova*, v. 33, n. 3, p. 539-546, 2010.
- ⁴⁴ SCHÖNING, M.; SIQUEIRA Jr, J. J. R.; ABOUZAR, M. H.; BÄCKER, M.; ZUCOLOTTO, V.; POGHOSSIAN, A.; Oliveira Jr., O. N.; **Carbon nanotubes in nanostructured films: Potential application as amperometric and potentiometric field-effect (bio-)chemical sensors**, *Phys. Status Solidi A*, v. 206, n. 3, p. 462-467, 2009.
- ⁴⁵ OLIVEIRA Jr., O. N.; SIQUEIRA Jr., J. R.; CRESPILO, F. N.; ZUCOLOTTO, V.; **Bifunctional electroactive nanostructured membranes**, *Electrochemistry Communications*, n. 9, p. 2676-2680, 2007.

-
- ⁴⁶ EIRAS, C.; ZAMPA, M. F.; BRITO, A. C. F.; KITAGAWA, I. L.; CONSTANTINO, C. J. L.; OLIVEIRA Jr., O. N.; CUNHA, H. N.; ZUCOLOTTI, V.; SANTOS Jr., J. R.; **Natural Gum-Assisted Phthalocyanine Immobilization in Electroactive Nanocomposites: Physicochemical Characterization and Sensing Applications**, *Biomacromolecules*, n. 8, p. 3408-3413, 2007.
- ⁴⁷ FERREIRA, M.; MORAES, M. L.; FILHO, U. P. R.; OLIVEIRA Jr., O. N.; **Immobilization of uricase in layer-by-layer films used in amperometric biosensors for uric acid**, *Journal Solid State Electrochem*, n. 11, p. 1489-1495, 2007.
- ⁴⁸ WEI, M.; KONG, X.; RAO, X.; HAN, J.; DUAN, X.; **Layer by layer assembly of biprotein/layered double hydroxide ultrathin film and its electrocatalytic behavior for catechol**, *Biosensors and Bioelectronics*, n. 26, p. 549-554, 2010.
- ⁴⁹ ANDEESCU, S.; NJAGI, J.; CHERNOV, M. M.; LEITER, J. C.; **Amperometric Detection of Dopamine in Vivo with an Enzyme Based Carbon Fiber Microbiosensor**, *Anal. Chem.*, v. 82, p. 989-996, 2010.
- ⁵⁰ MARUYAMA, W.; ABE, T.; TOHGI, H.; NAOI, M.; **An endogenous MPTP-like dopaminergic neurotoxin, N-methyl(R)salsolinol, in the cerebrospinal fluid decreases with progression of Parkinsons disease**. *Neurosci Lett* 262:13, 1999.
- ⁵¹ HORNE, M. K.; LEE, J.; ZHU, W. M.; STANIC, D.; FINKELSTEIN, D. I.; HORNE, M. H.; HENDERSON, J.; LAWRENCE, A. J.; O'CONNOR, L.; TOMAS, D.; DRAGO, J.; **Sprouting of dopamine terminals and altered dopamine release and uptake in Parkinsonian dyskinesia**, *Brain oxford journals*, n. 131, p. 1574-1587, 2008.
- ⁵² LI, X.; HOU, S.; ZHENG, N.; FENG, H.; YUAN, Z. **Determination of dopamine in the presence of ascorbic acid using poly(3,5-dihydroxy benzoic acid) film modified electrode**, *Analytical Biochemistry*, p. 179-184, 2008.
- ⁵³ TOLEDO, A. R., **Estudo eletroquímico e desenvolvimento de novas metodologias eletroanalíticas para a determinação de antidepressivos tricíclicos e neurotransmissores**, Tese de Doutorado, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2006.
- ⁵⁴ EINAGA, Y.; SUZUKI, A.; IVANDINI, T. A.; YOSHIMI, K.; FUJISHIM, A.; OYAMA, G.; NAKAZATO, T.; HATTORI, N.; KITAZAWA, S.; **Fabrication, Characterization, and Application of Boron-Doped Diamond Microelectrodes for in Vivo Dopamine Detection**, *Anal. Chem.* v. 79, p. 8608-8615, 2007.
- ⁵⁵ MAZO, L. H.; TOLEDO, R. A.; SANTOS, M. C.; CAVALHEIRO, E. T. G.; **Determination of dopamine in synthetic cerebrospinal fluid by SWV with a graphite-polyurethane composite electrode**, *Anal. Bioanal. Chem.* n. 381, p. 1161-1166, 2005.
- ⁵⁶ SANTOS, A. C.; ZUCOLOTTI, V.; CONSTANTINO, J., L., C.; CUNHA, N., H.; SANTOS Jr., R. J.; EIRAS, C.; **Electroactive LbL films of metallic phthalocyanines and poly(0-methoxyaniline) for sensing**, *Journal Solid State Electrochem*, v. 11, p. 1505-1510, 2007.

- ⁵⁷ EIRAS, C.; ZAMPA, M. F.; ARAUJO, I. M. S.; JUNIOR, J. R. S.; ZUCOLOTTO, V.; LEITE, J. R. S.; **Development of a Novel Biosensor Using Cationic Antimicrobial Peptide and Nickel Phthalocyanine Ultrathin Films for Electrochemical Detection of Dopamine**, *Journal of Analytical Chemistry*, v. 12, p. 1-7, 2011.
- ⁵⁸ EULER, W. B.; HWANG, E.; LEVISTSKY, I. A.; **Gas Phase Sensors for Bases Using Rhodamine B in Nafion Films**, *Journal of Applied Polymer Science*, v. 116, p. 2425-2432, 2010.
- ⁵⁹ OLIVEIRA Jr., O. N.; SIQUEIRA Jr., J. R.; CASELI, L.; CRESPILO, F. N.; ZUCOLOTTO, V.; **Immobilization of biomolecules on nanostructured films for biosensing**, *Biosensors and Bioelectronics*, n. 25, p. 1254-1263, 2010.
- ⁶⁰ MIKO, S.; STUART, M. C.; GENZER, J.; MULLER, M.; STAMM, M.; URBAN, M.; HUCK, W. T. S.; OBER, C.; WINNIK, F.; **Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials**, *Nature Materials*, v. 9, p. 101-113, 2010.
- ⁶¹ GUSHIKEM, Y.; MAGOSSO, H. A.; FATTORI, N.; KHOLIN, Y. V.; **Adsorption of Metal Ions on Novel 3-*n*-Propyl(Methylpyridinium) Silsesquioxane Chloride Polymers Surface. Study of Heterogeneous Equilibrium at the Solid-Solution Interface**, *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 20, n. 4, p. 744-752, 2009.
- ⁶² GUSHIKEM, Y.; ALFAYA, R. V. S.; ALFAYA, A. A. S.; **N-propylpyridinium Chloride Silsesquioxane Polymer Film on Graphite: Electrochemical Study of a Hexacyanoferrate (II) Ion Immobilized Electrode for Oxidation of Ascorbic Acid**, *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 11, n. 3, p. 281-285, 2000.
- ⁶³ FUJIWARA, S. T.; PESSOA, C., A.; GUSHIKEM, Y.; **Copper (II) tetrasulphophthalocyanine entrapped in a propylpyridiniumsilsesquioxane polymer immobilized on a SiO₂/Al₂O₃ surface: use for electrochemical oxidation of ascorbic acid**. *Analytical Letters*. v. 35, n. 37, p. 1117-1134, 2002.
- ⁶⁴ JESUS, C. G.; SANTOS, V.; CANESTRARO, C. D.; ZUCOLOTTO, V.; FUJIWARA, S. T.; GUSHIKEM, Y.; WOHNATH, K.; PESSOA, C., A.; **Silsesquioxane as a New Building Block Material for Modified Electrodes Fabrication and Application as Neurotransmitters Sensors**, *Journal Nanoscience and Nanotechnology*, v. 11, p. 1-10, 2011.
- ⁶⁵ SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; **Spectrometric Identification of Organic Compounds**, 7 ed. John Wiley & Sons, Estados Unidos da America, 2005.
- ⁶⁶ OLIVEIRA Jr. O. N.; ZUCOLOTTO, V.; FERREIRA, M.; CORDEIRO, M. R.; CONSTANTINO, C. J. L.; BALOGH, D. T.; ZANATTA, A. R.; MOREIRA, W. C.; **Unusual Interactions Binding Iron Tetrasulfonated Phthalocyanine and Poly(allylamine hydrochloride) in Layer-by-Layer Films**, *J. Phys. Chem. B*, n. 107, p. 3733-3737, 2003.

-
- ⁶⁷ OLIVEIRA Jr. O. N.; MOREIRA, W. C.; ZUCOLOTTO, V.; FERREIRA, M.; CORDEIRO, M. R.; CONSTANTINO, C. J. L.; **Nanoscale processing of polyaniline and phthalocyanines for sensing applications**, Sensors and Actuators B, n. 113, p. 809-815, 2006.
- ⁶⁸ SALA, O.; **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**, São Paulo, Editora UNESP, 1996.
- ⁶⁹ NATAN, M. J.; MULVABEY, S. P.; NICEWARNER, S. R.; HE, L.; BAKER, B. E.; FOX, A. P.; KEATING, C. D.; LYON, A. L.; **Raman Spectroscopy**, Anal. Chem, n. 70, p. 341-361, 1998.
- ⁷⁰ BINNING, G. K.; QUATE, F. C.; GERBER, C.; Phys. Rev. Lett. 56, 9, 1986.
- ⁷¹ HONG, T. K.; KIM, B. Su.; LEE, D. W.; CHOI, H. J.; SHIN, H. S.; **Transparent, Flexible Conducting Hybrid Multilayer Thin Films of Multiwalled Carbon Nanotubes with Graphene Nanosheets**, Acsnano, v. 4, n. 7, p. 3861-3868, 2010.
- ⁷² HAMMOND, P. T.; KIM, J.; LEE, S. W.; NORN, Y. S.; **Electrostatic Layer-by-Layer Assembled Au Nanoparticle/MWNT Thin Films: Microstructure, Optical Property, and Electrocatalytic Activity for Methanol Oxidation**, Chem. Mater., v. 21, n. 13, 2009.
- ⁷³ BRETT, C. A. M.; BRETT, A. M. O.; **Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações**. Oxford University Press, p. 175-186, 1993.
- ⁷⁴ GOSSER, D. Jr. K.; **Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms**, VHC Publishers 1994. ISBN 1-56081-026-2.
- ⁷⁵ WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. Second edition. New York: Copyright© Wiley-VHC, p. 28-36, 2001.
- ⁷⁶ SARTORI, E. J. R.; **Determinação voltamétrica de analitos de interesse farmacêutico utilizando um eletrodo de diamante dopado com boro**; Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, SP, 2009.
- ⁷⁷ SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; **Voltametria de onda Quadrada. Primeira Parte: Aspectos Teóricos**, Quim. Nova, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.
- ⁷⁸ CABRAL, M. F.; SOUZA, D.; ALVES, C. R.; MACHADO, S. A. S.; **Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada**, Ecl. Quím., n. 28, v. 2, p. 41-47, 2003.
- ⁷⁹ SOUZA, D.; CODOGNOTO, L.; MALAGUTTI, A. R.; TOLEDO, R. A.; PEDROSA, V. A.; OLIVEIRA, R. T. S.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S.; **Voltametria de Onda Quadrada. Segunda Parte: Aplicações**; Quim. Nova, v. 27, n. 5, p. 790-797, 2004.

-
- ⁸⁰ SCHEN, S. M.; CHZO, W. Y.; **Simultaneous voltammetric detection of dopamine and ascorbic acid using didodecyldimethylammonium bromide (DDAB) film-modified electrodes**, Journal of Electroanalytical Chemistry n. 587, p. 226-234, 2006.
- ⁸¹ CORREIA, N. A.; JESUS, C. G.; FORTE, C. M. S.; WOHN RAT, K.; PESSOA, C. A.; SOARES, J. E. S.; FUJIWARA, S. T.; NETO, P. L.; **Electroanalytical Performance of (SiPy⁺Cl/CuTsPc)₅ LbL Film for Detecting Promethazine Hydrochloride**, Electroanalysis, v. 23, n. 8, p. 1814-1820, 2011.
- ⁸² CRESPILO, F. N.; ZUCULOTTO, V.; SIQUEIRA JR., J. R.; CARVALHO, A. J. F.; NART, F. C.; OLIVEIRA JR., O. N.; **Using Electrochemical Data to Obtain Energy Diagrams for Layer-by-Layer Films from Metallic Phthalocyanines**. International Journal Of Electrochemical Science. v. 1, p. 151-159, 2006.
- ⁸³ OSTLER, R. B.; SCULLY, A. D.; TAYLOR, A. G.; GOULD, I. R.; SMITH, T. A.; WAITE, A.; PHILLIPS, D.; **The Effect of pH on the Photophysics and Photochemistry of Disulphonated Aluminum Phthalocyanine**, Photochemistry and Photobiology, n. 71, p. 397-404, 2000.
- ⁸⁴ CONSTANTINO, C. J. L.; ALESSIO, P.; MENDEZ, M. L. R.; SAEZ, J. A.; **Iron phthalocyanine in non-aqueous medium forming layer-by-layer films: growth mechanism, molecular architecture and applications**, Phys. Chem. Chem. Phys. n.12, p. 3972-3983, 2010.
- ⁸⁵ MATOSO, L.H.C. **Kinetics of adsorption of self-assembled films from doped poly (o-ethoxyaniline)** Synthetic Metals. v. 84, p. 123-123, 1997.
- ⁸⁶ RAPOSO, M.; OLIVEIRA Jr., O. N.; **Adsorption Mechanisms in Layer-by-Layer Films**, Macromolecules, v. 30, n. 6095, 1998.
- ⁸⁷ JESUS, G. C. **Filmes Automontados do Cloreto de 3-n-propilpiridínio Silsesquioxano e Ftalocianina de Cobre obtidos pela técnica LbL: Preparação, Caracterização e Aplicações**; Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Pr, 2009.
- ⁸⁸ STORTI, C. F.; **Estudo da Arquitetura Molecular de Filmes Layer-by-Layer de Ftalocianina Tetrassulfonada de Cobre**; Universidade Paulista "Julio de Mesquita Filho" Presidente Prudente, SP, 2008.
- ⁸⁹ SOUZA, N. C.; SILVA, J. R.; OLIVEIRA Jr. O. N.; **Adsorption kinetics and charge inversion in layer-by-layer films from nickel tetrasulfonated phthalocyanine and poly(allylamine hydrochloride)**, Journal of Non-Crystalline Solids, n. 356, p. 937-940, 2010.
- ⁹⁰ OLIVEIRA Jr. O. N.; RAPOSO, M.; PONTES R. S. MATTOSO, L. H. C.; **Kinetics of Adsorption of Poly(o-methoxyaniline) Self-Assembled Films**, Macromolecules, n. 30, p. 6095-6101, 1997.

-
- ⁹¹ ZUCOLOTTO, V.; SIQUEIRA Jr., J. R.; GASPAROTTO, L. H. S.; OLIVEIRA Jr., O. N.; **Processing of Electroactive Nanostructured Films Incorporating Carbon Nanotubes and Phthalocyanines for Sensing**, *J. Phys. Chem. C*, n. 112, p. 9050-9055, 2008.
- ⁹² GUSHIKEM, Y.; CANEVARI, T.; ARGUELLO, J.; FRANCISCO, M. S. P.; **Cobalt phthalocyanine prepared in situ on a sol-gel derived SiO₂/SnO₂ mixed oxide: Application in electrocatalytic oxidation of oxalic acid**, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, n. 609, p. 61-67, 2007.
- ⁹³ SILVA, W. C.; CRESPILO, F. N.; OLIVEIRA Jr. O. N.; ZUCOLOTTO, V.; LUZ, R. A. S.; MARTINS, M. V. A.; MAGALHÃES, J. L.; **Supramolecular architectures in layer-by-layer films of single-walled carbon nanotubes, chitosan and cobalt (II) phthalocyanine**, *Materials Chemistry and Physics*, n. 130, p. 1072-1077, 2011.
- ⁹⁴ SILVA, W. C.; ALENCAR, W. S.; CRESPILO, F. N.; MARTINS, M. V. A.; ZUCOLOTTO, V.; OLIVEIRA Jr, O. N.; **Synergistic interaction between gold nanoparticles and nickel phthalocyanine in layer-by-layer (LbL) films: evidence of constitutional dynamic chemistry (CDC)**, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, n. 11, p. 5086-5091, 2009.
- ⁹⁵ GUSHIKEM, Y.; BENVENUTTI, E. V.; KHOLIN, Y.; **Synthesis and applications of functionalized silsesquioxane polymers attached to organic and inorganic matrices**, *Pure Appl. Chem.*, v. 80, n. 7, p. 1593-1611, 2008.
- ⁹⁶ HU, N.; SONG, S.; **pH-Controllable Bioelectrocatalysis Based on "On-Off" Switching Redox Property of Electroactive Probes for Spin-Assembled Layer-by-Layer Films Containing Branched Poly(ethyleneimine)**, *J. Phys. Chem. B*, n. 114, p. 3648-3654, 2010.
- ⁹⁷ ZHOU, H.; LIU, A.; WEI, M.; HONMA, I.; **Biosensing Properties of Titanate-Nanotube Films: Selective Detection of Dopamine in the Presence of Ascorbate and Uric Acid**, *Adv. Funct. Mater.*, n. 16, p. 371-376, 2006.
- ⁹⁸ ZUCOLOTTO, V.; STRACK, P. J.; SANTOS, F. R.; BALOCH, D. T.; CONSTANTINO, C. J. L.; MENDONÇA, C. R.; OLIVEIRA Jr. O. N.; **Molecular engineering strategies to control photo-induced birefringence and surface-relief gratings on layer-by-layer films of an azopolymer**. *Thin Solid Films*, p. 110-113, 2004.
- ⁹⁹ SILVA, W. C.; OLIVEIRA Jr. O. N.; ZUCOLOTTO, V.; SANTOS, M. R. M. C.; CRESPILO, F. N.; ALENCAR, W. S.; **Influence of Film Architecture on the Charge-Transfer Reactions of Metallophthalocyanine Layer by Layer**, *J. Phys. C.*, n. 111, p. 12817-12821, 2007.
- ¹⁰⁰ BAHRAM, M.; FARHADI, K.; ARJMAND, F.; **Voltammetric determination of dopamine in the presence of ascorbic and uric acids using partial least squares regression: determination of dopamine in human urine and plasma**, *Cent. Eur. J. Chem.*, n. 7, p. 524-531, 2009.

-
- ¹⁰¹ BAHRAM, M.; FARHADI, K.; ARJMAND, F.; **Voltammetric determination of dopamine in the presence of ascorbic and uric acids using partial least squares regression: determination of dopamine in human urine and plasma**, *Cent. Eur. J. Chem.*, n. 7, p. 524-531, 2009.
- ¹⁰² PONTES, R. S.; RAPOSO, M.; CAMILO, C. S.; DHANABALAN, A.; FERREIRA, M.; OLIVEIRA Jr., O. N.; **Non-Equilibrium Adsorbed Polymer Layers via Hydrogen Bonding**, *Journal Phys. Stat. Sol. A*, n. 41, p.173, 1999.
- ¹⁰³ Hammond, P. T.; **Engineering Materials Layer-by-Layer: Challenges and Opportunities in Multilayer Assembly**, *J. AIChE*, v. 57, n. 11, 2011.
- ¹⁰⁴ BARD, A. J.; FAULKNER, L. R.; **Electrochemical Methods Fundamentals and Applications**, 2 edição, John Wiley & Sons: New York, 1980.
- ¹⁰⁵ YANG, S.; LI, Y.; YANG, R.; XIA, M.; QU, L.; **Simultaneous voltammetric detection of dopamine and uric acid in the presence of high concentration of ascorbic acid using multi-walled carbon nanotubes with methylene blue composite film-modified electrode**, *J. Solid State Electrochem.*, n. 15, p. 1909-1918, 2011.
- ¹⁰⁶ SHERVEDANI, R. K.; BAGHERZADEH, M.; MOZAFFARI, S. A.; **Determination of dopamine in the presence of high concentration of ascorbic acid by using gold cysteamine self-assembled, monolayers as a nanosensor**, *Sensors and Actuators B* 115, p. 614-621, 2006.
- ¹⁰⁷ DING, Y.; CAO, X.; LUO, L.; MENG, Y.; GAO, Y.; YU, D.; **Simultaneous determination of dopamine and uric acid on nafion/sodium dodecylbenzenesulfonate composite film modified glassy carbon electrode**, *J. Appl Electrochem.*, n. 39, p. 1603-1608, 2009.
- ¹⁰⁸ TSAKOVA, V.; STOYANOVA, A.; BUND, A.; **Au nanoparticle–polyaniline nanocomposite layers obtained through layer-by-layer adsorption for the simultaneous determination of dopamine and uric acid**, *Electrochimica Acta*, n. 56, p. 3693-3699, 2011.
- ¹⁰⁹ WEI, M.; HAN, J.; XU, X.; RAO, X.; EVANS, D. G.; DUAN, X.; **Layer-by-layer assembly of layered double hydroxide/cobalt phthalocyanine ultrathin film and its application for sensors**, *J. Mater. Chem.*, n. 21, p. 2126-2130, 2011.
- ¹¹⁰ MACHADO, S. A. S.; MORAES, F. C.; CABRAL, M. F.; MASCARO L. H.; **Electrocatalytic Behavior of Glassy Carbon Electrodes Modified with Multiwalled Carbon Nanotubes and Cobalt Phthalocyanine for Selective Analysis of Dopamine in Presence of Ascorbic Acid**, *Electroanalysis*, n. 8, p. 851-857, 2008.