

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
CAMPUS MINISTRO REIS VELOSO – CMRV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
EMANUEL AIRTON DE OLIVEIRA FARIAS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES *LAYER-BY-LAYER* À BASE DE PANI E POLISSACARÍDEOS DE ALGAS PARA APLICAÇÕES EM SENSORES ELETROQUÍMICOS

Professor Orientador: Dra. Carla Eiras

Área de Concentração: Nanotecnologia

PARNAÍBA-PI
FEVEREIRO/2016

EMANUEL AIRTON DE OLIVEIRA FARIAS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES *LAYER-BY-LAYER* À BASE DE PANI E POLISSACARÍDEOS DE ALGAS PARA APLICAÇÕES EM SENSORES ELETROQUÍMICOS

Dissertação apresentada ao programa de mestrado da Universidade Federal do Piauí/ *Campus* Ministro Reis Velloso - UFPI/CMRV, como requisito para obtenção do título de mestre em biotecnologia.

Orientadora: Dra. Carla Eiras

**PARNAÍBA-PI
FEVEREIRO/2016**

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 01 - REVISÃO DE LITERATURA	06
1.1.1. Nanociência e nanotecnologia	06
1.1.2. Nanotecnologia de filmes finos	08
1.1.2.1. A técnica de automontagem <i>Layer-by-Layer</i>	09
1.2. O polímero condutor Polianilina (PANI)	14
1.3. Polímeros naturais extraídos de algas: ágar e carragenana	19
1.4. Sensores e biossensores eletroquímicos	21
1.5. Técnicas de caracterização de filmes finos	25
1.5.1. Técnicas eletroquímicas: a voltametria	25
1.5.1.1. Voltametria Cíclica	28
1.5.2. Espectroscopia na região do Ultravioleta Visível (UV-VIS)	30
1.5.3. Microscopia de força atômica (AFM)	33
2. CAPÍTULO 02 – ARTIGO 01 - Uma nova proposta de filmes baseados em biopolímeros extraídos de algas vermelhas e polianilina para aplicações em sensores eletroquímicos de Crômio VI	37
3. CAPÍTULO 03 – ARTIGO 02 - Eletrodo flexível de ouro modificado com um filme fino de PANI e Carr-AuNPs como plataforma condutora e de baixo custo para sensoriamento em meio fisiológico	70
4. CAPÍTULO 04 - REFERÊNCIAS	95
5. ANEXOS	

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e caracterização de filmes *Layer-by-Layer* à base de Polianilina (PANI), intercalada com polissacarídeos regionais ou nanopartículas metálicas revestidas com estes polissacarídeos, para aplicações em sensores eletroquímicos. A PANI é um polímero condutor ambientalmente compatível, que tem despertado enorme interesse devido às suas propriedades eletroquímicas, anticorrosivas e eletrocromáticas. No Capítulo 02, a PANI foi intercalada com a carragenana e o agar, ambos extraídos de algas vermelhas das espécies *Hypnea musciformis* e *Gracilaria birdiae*, respectivamente, para o estudo das propriedades eletroquímicas (Voltametria Cíclica - VC), espectroscópicas (espectroscopia na região do UV-Vis) e morfológicas (microscopia de força atômica - AFM) desses filmes. Neste estudo, foi observado que tanto a carragenana quanto o agar melhoraram a estabilidade eletroquímica da PANI em meio ácido (fosfato de potássio, PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 1,5) devido a um efeito antioxidante promovido por estes materiais. Além disso, a carragenana e o agar melhoraram a adsorção da PANI nos substratos utilizados. Os resultados obtidos por AFM mostraram que os filmes de agar/PANI e carragenana/PANI crescem cerca de aproximadamente, 7nm e 8nm, respectivamente, por bicamada adsorvida. Após caracterização, os filmes de agar/PANI foram aplicados na detecção do Cr(VI), um metal altamente tóxico mesmo a baixas concentrações. O LD (limite de detecção) e o LQ (Limite de quantificação) calculados foram de 2,48 μmol L⁻¹ e 7,51 μmol L⁻¹, respectivamente. Já no capítulo 03, o mesmo polímero condutor (PANI) foi intercalado com nanopartículas de ouro estabilizadas com a carragenana (carr-AuNPs). Os filmes de PANI e carr-AuNPs foram adsorvidos em eletrodos flexíveis de ouro (EFAu), preparados para este estudo em substituição ao eletrodo de ITO utilizado para deposição dos filmes no capítulo 02. O EFAu mostrou-se como excelente substituto ao ITO, devido sua facilidade de processamento e baixo custo, aliados a sua menor resistência elétrica. As carr-AuNPs foram caracterizadas pelas técnicas de espectroscopia na região do UV-Vis e do infravermelho (FT-IR), AFM e espalhamento de luz dinâmico (DLS). Posteriormente foram propostas duas arquiteturas para os filmes sendo elas PANI/carr-AuNP e carr-AuNP/PANI, das quais a primeira mostrou-se mais promissora. Os filmes produzidos foram caracterizados por VC, UV-Vis e AFM. Os resultados obtidos mostraram que a presença das carr-AuNPs no filme promove um aumento na rugosidade do material e provavelmente um aumento da área

ativa do eletrodo, o que pode facilitar a ocorrência de reações químicas. Além disso, o sinergismo entre a PANI e as carr-AuNPs melhorou a resposta eletroquímica do polímero condutor em termos de densidade de corrente e estabilidade, quando o filme foi exposto em meio fisiológico (PBS, 0,1 mol L⁻¹ pH 7,1), um resultado interessante uma vez que a PANI sozinha possui atividade eletroquímica baixa ou ausente em meio neutro. De forma geral, o filme de EFAu/PANI/carr-AuNPs mostrou-se um excelente candidato para aplicações em biossensores.

Palavras-chave: Polianilina; polissacarídeos de algas; nanopartículas de ouro; sensores eletroquímicos;

1. CAPÍTULO 01 - REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1. Nanociência e nanotecnologia

A nanociência e a nanotecnologia baseiam-se na manipulação de átomos e moléculas com o intuito de produzir novos materiais, com vistas a aplicações que necessitem de abordagens específicas em nível submicroscópico (ADAMS e BARBANTE, 2013). A nanociência e a nanotecnologia envolvem física, química, conhecimentos de engenharia e biologia, sendo, portanto, caracterizada como uma área de pesquisa multidisciplinar (SAHOO *et al.*, 2007).

Emerich e Thanos (2003) conceituam a nanotecnologia como a ciência envolvida na concepção, síntese, caracterização e aplicação de materiais e dispositivos, cuja organização funcional, em pelo menos uma dimensão, esteja na escala nanométrica (um bilionésimo de metro), onde fenômenos únicos permitem novas aplicações (ADAMS e BARBANTE, 2013).

Nos últimos anos, a nanotecnologia tem evoluído a passos largos, e este campo científico multidisciplinar encontra-se em acelerado desenvolvimento (WILLIAMS, 2004; CHENG *et al.*, 2011; MATSUDAI e HUNT, 2005).

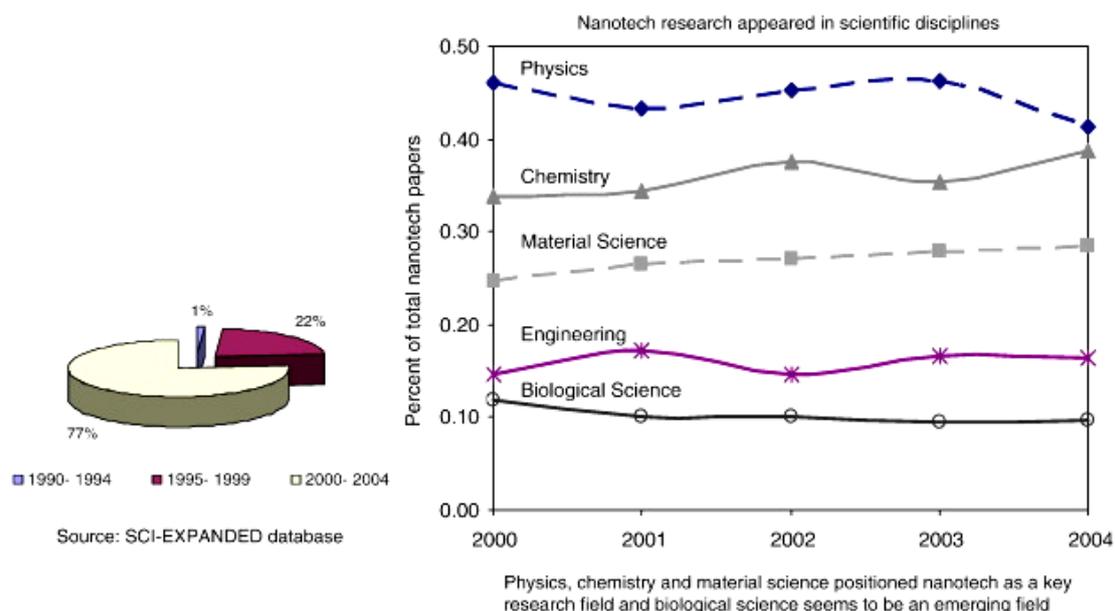
Muitos aspectos da nanotecnologia são baseados no fato de que o mundo em nanoescala é diferente do mundo macroscópico – cujos conceitos e aplicações já são adaptados a vida cotidiana. No nível microscópico ou acima deste, os materiais têm massa convencional e propriedades que obedecem às leis da ciência clássica (ISLAM e MIYAZAKI, 2009), enquanto os materiais e dispositivos submicroscópicos (situados na escala entre 1 micron e 100 nm ou menos) têm suas propriedades afetadas por flutuações e estão sujeitos às leis “estranhas” e imprevisíveis da mecânica quântica. Por este motivo, novas ferramentas e funcionalidades interessantes estão sendo descobertas neste novo campo tecnológico (ADAMS e BARBANTE, 2013).

A nanotecnologia é considerada como uma tecnologia de uso geral e, tem se tornado comum para quase todos os setores tecnológicos, devido ao fato que estas interações, em nível submicroscópico, são capazes de gerar propriedades superfuncionais em diferentes materiais quando os mesmos se encontram em escala

nanométrica (BRESNAHAN e TAJTENBERG, 1995). A nanodimensão transcende as fronteiras convencionais entre as disciplinas científicas e os setores tecnológicos. Foi previsto que o crescimento ostensivo da biotecnologia não poderia ser sustentado sem a nanotecnologia (WOLFSON, 2003). Em outras palavras, é provável que a nanotecnologia seja a base para a obtenção de benefícios generalizados, incluindo dispositivos eletrônicos cada vez mais “inteligentes”, assim como melhoria na saúde através de métodos diagnósticos e terapêuticos cada vez mais avançados, além de avanços na agricultura e desenvolvimento de fontes mais limpas de energia (ISLAM e MIYAZAKI, 2009).

Islam e Miyzaki (2009) realizaram uma pesquisa sobre a participação da nanotecnologia na produção bibliográfica em disciplinas científicas. Os resultados foram apresentados em forma de volume total de publicações envolvendo nanociência, e foram divididos ao longo de três períodos (1990-1994, 1995-1999 e 2000-2004), Figura 1. Os autores verificaram que, no início de 1990 a nanotecnologia foi responsável por 1 % do total das publicações, enquanto que na década de 1990 foi responsável por 22 % e no início dos anos 2000 esteve relacionada com até 77% de todos os artigos publicados.

Figura 1. Participação da nanotecnologia na produção científica entre 1990 e 2004.



(Fonte: extraído de Islam e Miyzaki (2009)).

Segundo os autores, o rápido crescimento da quota de publicação emergiu do período de 2000 a 2004. Comparando a distribuição e participação relativa da nanotecnologia dentro de cada disciplina ao longo do período 2000-2004, conforme ilustrado na Figura 1, os resultados indicam claramente que a pesquisa relacionada com a nanotecnologia tem um papel significativo na cobertura de grandes áreas científicas, sendo responsável por mais de 40% de todos os artigos acadêmicos na área de física, em torno de 40% em química, 30% em ciência dos materiais, 15% nas disciplinas de engenharia e 10% em ciências biológicas. Os campos variam relativamente quanto à importância da pesquisa em nanotecnologia para atividades acadêmicas envolvendo física, química e ciência dos materiais. Apesar disso, pode-se observar claramente que a nanotecnologia posiciona-se como uma área-chave de pesquisa (mais de um terço de todos os artigos publicados) para a atualidade (ISLAM e MIYAZAKI, 2009).

1.1.2. Nanotecnologia de filmes finos

Chama-se “filme” a matéria condensada disposta em camadas imobilizadas em uma superfície sólida, conhecida como substrato. Quanto à sua espessura, os chamados “filmes finos” podem ser classificados em nanométricos, micrométricos e milimétricos referindo-se às faixas de 0,1 – 100 nm, 0,1 – 100 μ m e 0,1 – 100 mm, respectivamente (GALEMBECK, 1998). Os filmes finos surgiram da necessidade de se obter estruturas altamente organizadas em escala molecular, com possibilidade de controle de sua espessura e propriedades (COELHO, 2011).

A vantagem de se trabalhar no estado sólido, na forma de um filme nanoestruturado é a possibilidade de gerar efeito sinérgico entre os materiais conjugados em multicamadas, possibilitando o surgimento de novas propriedades físicas e químicas de interesse científico (ULMAN, 1991; CRESPILO *et al.*, 2006).

A utilização de filmes finos dispostos em multicamadas torna-se um dos métodos mais promissores para se construir e investigar dispositivos nanoestruturados, tais como sensores e biossensores. Os chamados filmes finos podem ser produzidos por diferentes métodos dentre os quais podemos citar: Deposição Química e Física à Vapor (BRINKER, 1990), Sol-gel (BRINKER, 1990), Langmuir-Blodgett (LB) (GUIMARÃES, 2009), *Casting*, *spin coating* (NASSAR *et al.*, 2003), *dip coating* (CARVALHO e VARELA, 2001) além do método de automontagem do tipo camada-

por-camada (do inglês *Layer-by-Layer- LbL*) (DECHER, 1997). Normalmente as propriedades de um material, na forma de filme, diferem substancialmente daquelas encontradas em sua forma natural, devido à influência da superfície. Por outro lado, as propriedades finais dos filmes são altamente dependentes do processo de deposição empregado e das interações existentes entre os materiais conjugados na formação do filme (FARIAS *et al.*, 2014).

As técnicas LB e *LbL* destacam-se por permitirem o controle de parâmetros como a espessura e o empacotamento molecular, uma vez que possibilitam “organizar” moléculas individuais em arquiteturas altamente ordenadas, propiciando ainda o planejamento das propriedades finais dos filmes obtidos, seja através da incorporação de cromóforos apropriados ou grupos funcionais a estas moléculas, ou pela simples variação da espessura das camadas que constituem o filme (ULMAN, 1991).

A necessidade de se compreender o comportamento de filmes finos ultrapassa as fronteiras do conhecimento científico e se estende para a área tecnológica, pois estes tipos de materiais estão sendo cada vez mais utilizados na fabricação de dispositivos de micro e nanoeletrônica, como sensores, transistores, células fotovoltaicas, diodos e diodos emissores de luz, o que leva a uma necessidade tecnológica em se conhecer suas propriedades eletrônicas (HOLDER *et al.*, 2005).

A preferência pelo uso de filmes finos engloba não só a simplicidade de processamento e de redução dos custos de fabricação (dependendo da técnica), uma vez que pequenas quantidades dos materiais são utilizadas, mas também a possibilidade de controle e otimização de suas propriedades elétricas e ópticas, específicas para uma dada aplicação eletrônica. Tais propriedades podem ser asseguradas com a variação, sobretudo, da espessura e da natureza dos materiais utilizados, parâmetros estes que influenciam diretamente no produto final de interesse (BLYTHE e BLOOR, 2002).

1.1.2.1. A técnica de automontagem *Layer-by-Layer*

Entre as diferentes técnicas desenvolvidas para a fabricação de filmes finos, encontra-se a técnica de automontagem *LbL*. A técnica *LbL* tem se mostrado extremamente promissora, capaz de produzir filmes ultrafinos, de diferentes tipos de materiais, de maneira simples e economicamente viável, além de proporcionar a possibilidade de se conseguir estruturas organizadas em nível manométrico (PATERNO *et al.*, 2001; DURAN *et al.*, 2006).

Os primeiros filmes desenvolvidos pela técnica de automontagem foram produzidos por Sagiv e colaboradores (1980), que propuseram a formação de filmes ultrafinos compostos por monocamadas adsorvidas quimicamente entre si, mediante a formação de ligações covalentes. Neste sentido, um substrato sólido é imerso em soluções contendo moléculas bifuncionais. Como as moléculas são bifuncionalizadas, apenas uma das extremidades liga-se ao substrato formando uma monocamada, enquanto o outro lado da molécula atua como sítio de ancoragem para que, em uma imersão seguinte, uma nova monocamada seja depositada (PATERNO *et al.*, 2001).

Somente na década de 1990, Decher e colaboradores propuseram novos filmes automontados formados a partir da adsorção física caracterizada pela interação eletrostática entre monocamadas constituídas por moléculas de cargas diferentes. Os constituintes das monocamadas são moléculas com grupos iônicos, como por exemplo, polieletrólitos que são polímeros com grupos ionizáveis ao longo da cadeia, classificados em aniônicos e catiônicos de acordo com seu grupo funcional e/ou compostos anfífilicos (DECHER, 1997).

O novo método, proposto por Decher (1990), permitiu superar as limitações do método utilizado por Sagiv, uma vez que propunha a imobilização, na forma de filmes, de qualquer material com carga de sinais opostos. A atração eletrostática entre moléculas com cargas opostas é importante na construção de estruturas em multicamadas, pois apresenta uma demanda maior do que aquelas baseadas em ligações químicas. Hoje, se sabe que 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 hidrogênio (SILVA *et al.*, 2009). Desta forma, a proposta de Decher ampliou a versatilidade da automontagem, uma vez que permitiu ampliar a gama de materiais utilizados (NETZER e SAGIV, 1983). É importante destacar o fato de que as adsorções que ocorrem na superfície do substrato e entre as monocamadas depositadas são autolimitadas, ou seja, só ocorrerá adsorção enquanto houver sítios de ancoragem disponíveis (SILVA *et al.*, 2009).

Além de interações eletrostáticas, inicialmente propostas para polieletrólitos fortemente carregados, outros tipos de interações têm sido relatados para estes sistemas, assim como outros tipos de materiais, tais como polímeros convencionais ou funcionalizados, biomateriais hidrossolúveis, materiais inorgânicos carregados, nanopartículas coloidais e complexos organo-metálicos (OLIVEIRA Jr *et al.*, 2002).

De acordo com Oliveira Jr *et al.*, (2002), quatro tipos de interações podem ocorrer em sistemas *LbL*:

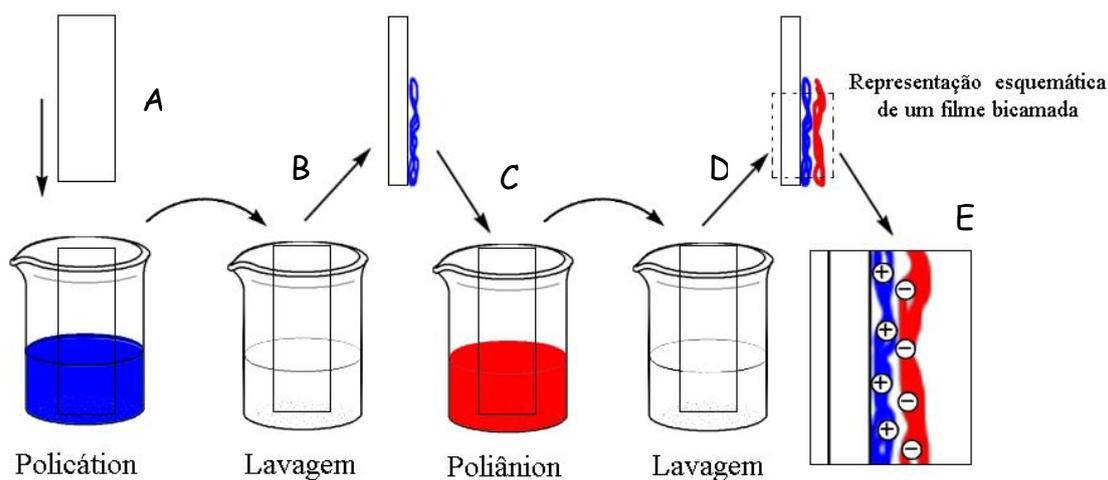
- *Adsorção de polieletrólitos altamente ionizáveis*: As interações entre as moléculas e o substrato são puramente iônicas; podendo-se obter filmes muito finos;
- *Adsorção de polieletrólitos parcialmente ionizáveis*: neste caso, as interações são predominantemente iônicas e podem formar filmes espessos;
- *Adsorção por ligações secundárias*: neste caso, as interações se devem a ligações de hidrogênio, força de Van der Waals e dipolo-iônico; mais fracas e, portanto, aspectos difusionais são fatores importantes limitando a espessura do filme.
- *Ligações muito específicas (ou bioespecíficas)*: tais como as do tipo avidina-biotina. Neste caso, monocamadas podem ser obtidas alternando-se os elementos que se ligam especificamente, tornando o filme bastante estável.

A Figura 2 mostra o processo de formação de um filme *LbL*, conforme foi proposto por Decher (1997). O procedimento inicia-se com a imersão de um substrato sólido, previamente limpo, em uma solução aquosa contendo o material a ser depositado (A). Caso haja tratamento no substrato a ser trabalhado, a carga do material depositado deve ser preferencialmente contrária à do substrato para que ocorra adsorção por atração eletrostática. Em seguida, o conjunto substrato/monocamada é lavado em solução aquosa com intuito de eliminar o excesso de material não adsorvido (B), seguido de uma etapa de secagem com um fluxo leve de gás inerte, normalmente nitrogênio ou argônio. Em seguida, a monocamada formada, é imersa em solução contendo material, de carga contrária (C), e em seguida lavado e seco novamente (D), formando assim uma estrutura bicamada. A repetição das etapas de adsorção, lavagem e secagem, permite a formação de filmes finos multicamadas, em uma estrutura do tipo sanduíche (E).

Vários parâmetros experimentais são cruciais para o acúmulo das bicamadas incluindo: a natureza do substrato empregado, a concentração do polímero, o pH e a

força iônica das soluções. A técnica *LbL* é especialmente versátil no que diz respeito aos substratos que podem ser utilizados, podendo ser substratos sólidos de vidro, mica, silício, metais e quartzo (PATERNO *et al.*, 2001).

Figura 2. Representação esquemática da produção de um filme *Layer-by-Layer* contendo uma bicamada.



(Fonte: Adaptado de Decher (1997)).

Sabe-se ainda que a técnica de automontagem *LbL* permite não apenas criar estruturas supramoleculares, como também influenciar interações intermoleculares, permitindo aplicações diversas como, por exemplo, polímeros funcionais sensíveis à temperatura, aplicações sensoriais envolvendo DNA e proteínas, ou revestimentos funcionais em membranas seletivas (GAMBINOSSI *et al.*, 2007). Devido ao aumento do uso de moléculas orgânicas, a técnica de automontagem tem sido amplamente empregada na produção de filmes ultrafinos para potenciais aplicações em sensores e biossensores (GAMBINOSSI *et al.*, 2007; MAMEDOV *et al.*, 2002) (ver seção 2.4).

Outra vantagem inerente da técnica *LbL* é a possibilidade de combinação das propriedades de diversos tipos de materiais, tais como, compostos inorgânicos carregados (LU E HSIEH, 2010), nanopartículas, nanotubos, argilas, complexos organo-metálicos, polímeros (THERÉZIO, *et al.*, 2011), biomateriais como, polissacarídeos naturais, proteínas e enzimas, (EIRAS, *et al.*, 2010; CRESPILO, *et al.*, 2009), e uma infinidade de outros materiais e compostos químicos, o que tem ampliado o campo de estudo e a aplicabilidade desta técnica. A Tabela 01 mostra alguns

exemplos de materiais que têm sido imobilizados na forma de Filmes *LbL* para diferentes aplicações.

Tabela 1. Materiais imobilizados pela técnica *LbL* e suas aplicações ou objetivos de estudo.

Materiais imobilizador por LbL	Aplicações ou objetivos de estudo	Referência
Quitosana, alginato e celulose	Produção de uma plataforma para o desenvolvimento de culturas de células	Deng <i>et al.</i> (2010).
Colesterol oxidase, nanotubos de carbono, nanopartículas de ouro e poli(alilamina)	Produção de um biossensor enzimático para detecção de colesterol	Cai <i>et al.</i> (2013).
Ftalocianina tetrassulfonada de níquel, poli(cloridato de alilamina) e gomas naturais: Angico (<i>Anadenanthera macrocarpa</i>) e chicha (<i>Sterculia striata</i>)	Preparo de camada ativa para biossensor para detecção de dopamina	Eiras <i>et al.</i> (2010).
Glicose oxidase, 3-n-propilpiridina silsesquioxana, tetrasulfoftalocianina(II) de cobre	Desenvolvimento de um biossensor para detecção de glicose	Jesus <i>et al.</i> (2013).
Polianilina	Sensor de pH	Lakard <i>et al.</i> (2012).
poli(n-isopropilacrilamida), poliestireno	Avaliação do comportamento de filmes multicamadas com a variação do número de camadas depositadas, mudança de solventes e temperatura de preparo	Estillore e Advincula (2011).
poli(hidroquinona) quitosana	Estudo eletroquímico dos filmes e aplicações em biossensores amperométricos	He <i>et al.</i> (2013).
Polianilina, Surfactante brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) e óxido de titânio	Estudo de propriedades ópticas, eletroquímicas e morfológicas para aplicações em revestimentos bactericidas	Farias <i>et al.</i> (2014)

(Fonte: revisão literária produzida nesta pesquisa, 2014).

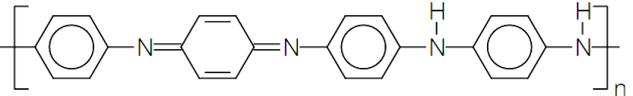
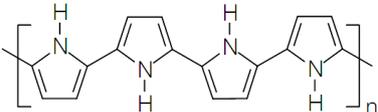
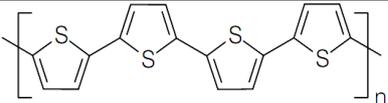
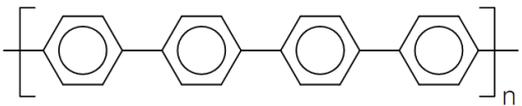
1.2. O polímero condutor Polianilina (PANI)

Os polímeros intrinsecamente condutores têm despertado relevante interesse para a produção de filmes *LbL* (MEDEIROS *et al.*, 2012). Há muitos anos era feita a incorporação de impurezas como, o negro de fumo, fibras metálicas ou de carbono às matrizes poliméricas, com a finalidade de atribuir carga a esses materiais e, conseqüentemente, condutividade elétrica. Assim, tais polímeros passaram a ser chamados de polímeros condutores extrínsecos (MEDEIROS *et al.*, 2012; MACDIARMID, 2002). No entanto, os “polímeros condutores intrínsecos” capazes de conduzir corrente elétrica sem a necessidade de incorporação de impurezas, associadas a outros materiais, só foram descobertos a partir da segunda metade da década de setenta (SHIRAKAWA *et al.*, 1977).

Os polímeros intrinsecamente condutores são também chamados de metais sintéticos por possuírem propriedades elétricas, magnéticas e ópticas de metais e semicondutores, (FAEZ *et al.*, 2000; MATTOSO *et al.*, 1994; DE PAOLI e ZOPPI, 1993) sendo que, em muitos casos, as propriedades como resistência mecânica e processabilidade dos polímeros convencionais são mantidas (DE PAOLI e ZOPPI, 1993). Os metais sintéticos, também são conhecidos como “polímeros conjugados”, devido a serem constituídos por cadeias contendo duplas ligações C=C conjugadas. Esta conjugação permite que seja criado um fluxo de elétrons em condições específicas (FAEZ *et al.*, 2000).

Os polímeros condutores podem ser sintetizados por três métodos de polimerização: a química, a eletroquímica e a fotoeletroquímica (FAEZ *et al.*, 2000). Algumas rotas de síntese são muito simples e podem ser adaptadas para escala piloto ou industrial, como é o caso do poli-*p*-fenilvinileno, polipirrol e polianilina. Outras rotas requerem ambientes isentos de umidade como, por exemplo, polifenilenos e politiofenos (FAEZ *et al.*, 2000). A Tabela 2 mostra as estruturas e condutividade dos principais polímeros condutores.

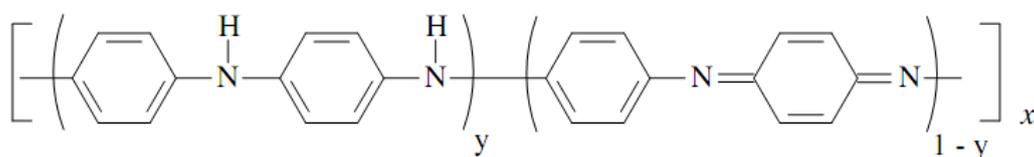
Tabela 2. Estrutura e condutividade dos principais polímeros condutores.

Polímero Condutor	Condutividade/S cm⁻¹
 <p>Poliacetileno</p>	10 ³ a 10 ⁶
 <p>Polianilina</p>	10 a 10 ³
 <p>Polipirrol</p>	600
 <p>Politiofeno</p>	200
 <p>Poli(p-fenileno)</p>	500
 <p>Poli(p-fenileno vinileno)</p>	1

(Fonte: adaptado de Faez *et al.* (2000)).

Dentre os polímeros anteriormente citados, a Polianilina (PANI), Figura 3, destaca-se por suas aplicações tecnológicas decorrentes de sua estabilidade química, ambiental, processabilidade, facilidade de polimerização, dopagem e baixo custo (MATTOSO, 1996).

Figura 3. Estrutura geral da Polianilina.



(Fonte: extraído de Mattoso (1996)).

A Polianilina, cuja estrutura química geral está representada na Figura 3, pode ser encontrada em cinco estados de oxidação, dentre os quais podemos destacar os três principais; i) o estado pernigranilina, completamente oxidado onde $y = 0$, o qual é caracterizado por uma coloração púrpura, ii) o estado esmeraldina, caracterizado por $y = 0,5$, onde 50% dos N aminas estão convertidos em N iminas, e possui coloração verde quando na forma de sal (condutora) e azul quando na forma de base (isolante) e, iii) o estado leucoesmeraldina, que é a forma totalmente reduzida da PANI, e onde $y = 1$, cuja coloração característica é amarela (MATTOSO, 1996), Tabela 3.

Tabela 3. Os três estados de oxidação mais importantes da Polianilina: leucoesmeraldina, esmeraldina (isolante e condutora) e pernigranilina.

Estado de oxidação	Estrutura	Cor*	Característica
Leucoesmeraldina		Amarela 310	Isolante completamente reduzida
Sal de esmeraldina		Verde 320, 420, 800	Condutora parcialmente oxidada
Base esmeraldina		Azul 320, 620	Isolante parcialmente oxidada
Pernigranilina		Púrpura 320, 530	Isolante completamente oxidada

* Os valores numéricos referem-se ao comprimento de onda (nanômetros) onde a absorção é máxima.

(Fonte: adaptado de Mattoso (1996)).

O método de polimerização via rota química é o mais utilizado industrialmente e também o mais vantajoso, pois possibilita a produção de grandes quantidades de material, o qual é obtido na forma de pó (FAEZ *et al.*, 2000; HUANG *et al.*, 1986). A Tabela 4 resume algumas das possíveis aplicações que têm sido empregadas à Polianilina.

Tabela 4. Algumas aplicações da Polianilina.

Aplicação	Fenômeno	Uso
Eletrodos	Transferência de carga	Baterias recarregáveis, sensores, capacitores
Dispositivos eletrocromicos	Varição de cor com aplicação de potencial	Janelas inteligentes
Músculos artificiais	Movimentação mecânica de um filme pela aplicação de potencial	Transdutor mecânico para robótica
LEDs	Emissão de luz	Monitores e mostradores
Protetor antiestático	Eliminação de carga estática	Microeletrônica
Anticorrosivos	Proteção contra corrosão	Tintas
Células solares	Transformação de energia luminosa em energia elétrica	Fonte alternativa de energia
Blindagem eletromagnética	Absorção de radiação (diminui interferência nos equipamentos eletrônicos)	Marinha, aeronáutica, e telecomunicações

(Fonte: adaptado de Faez (2000)).

Na área de produção de filmes para estudos de propriedades de materiais combinados com PANI, visando diferentes aplicações, como por exemplo, sensores e biossensores eletroquímicos, muitos estudos têm sido realizados. Para se ter uma ideia, uma rápida busca na base de dados do *science direct* (em Janeiro/2014) utilizando o

termo chave “*Polyaniline biosensor*” resulta em 2.511 artigos relacionados ao assunto. A tabela a seguir (Tabela 5) resume brevemente alguns materiais que têm sido empregados em conjunto com PANI para a fabricação de novos sensores e outros dispositivos.

Tabela 5. Polianilina combinada com diversos materiais com o intuito de melhorar propriedades ou desenvolver novos dispositivos.

Material combinado com PANI	Estudo ou Aplicação	Referência
Amido-hidrolase creatinina e sarcosina-oxidase	Biossensor amperométrico para detecção de creatina.	Yadav <i>et al.</i> (2011).
Uricase	Biossensor para detecção de ácido úrico.	Arora <i>et al.</i> (2007) e Jiang <i>et al.</i> (2007).
Poli(ácido vinil sulfônico)	Estudo dos efeitos da espessura e temperatura de eletrodos metálicos, na condutividade elétrica em filmes múltiplas camadas.	Santos <i>et al.</i> (2012).
Silício	Fabricação de diodos Schottky.	Rivera e Pinto (2009).
Nanopartícula de prata, Poli (vinil álcool) e uréase	Biossensor para detecção de ureia.	Crespilho <i>et al.</i> (2009).
Tântalo	Produção de um sensor químico para detecção de gás hidrogênio.	Srivastava <i>et al.</i> (2012).
Colágeno	Estudo do comportamento eletroquímico dos compósitos e possíveis aplicações em biomedicina	Kim <i>et al.</i> (2009).
Brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) e TiO ₂	Filmes eletroativos e antimicrobianos	Farias <i>et al.</i> (2014).

(Fonte: revisão literária produzida nesta pesquisa, 2014).

Mais recentemente, a intercalação de polímeros naturais com PANI tem sido alvo de diversos estudos, uma vez que a presença desses biopolímeros aumenta a estabilidade eletroquímica da Polianilina em meio ácido (BARROS *et al.*, 2012; EIRAS *et al.*, 2007).

1.3. Polímeros naturais extraído de algas: ágar e carragenana

Os polissacarídeos são classificados como polímeros naturais, os quais podem ser constituídos de um único monossacarídeo ou de diferentes tipos (CUNHA *et al.*, 2009). O interesse na aplicação de diferentes polissacarídeos tanto na área médica quanto farmacêutica, se deve ao fato de que os mesmos podem realçar o desenvolvimento de agentes de contraste para aplicação em imagiologia médica, sistemas de liberação controlada de fármacos, hidrogéis e até mesmo bioadesivos (GIL e FERREIRA, 2006)

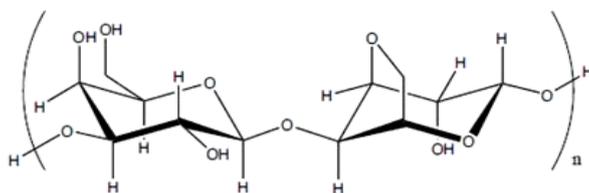
Mais recentemente, polissacarídeos bioativos isolados de fontes naturais, têm atraído a atenção no campo da bioquímica e da farmacologia (YANG e ZHANG, 2009), como é o caso dos polímeros extraídos de algas vermelhas, os quais apresentam uma ampla atividade biológica, tais como, anticoagulante, antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, dentre outras (CUNHA *et al.*, 2009).

Dentre os polissacarídeos extraídos das algas vermelhas, o ágar e a carragenana têm recebido especial atenção (CARDOZO *et al.*, 2007). Estes biopolímeros têm sido empregados com êxito, na área médica, no ramo alimentício, de cosméticos, biotecnológico, indústria têxtil, farmacêutica, dentre outros setores industriais (MACIEL *et al.*, 2008; JENSEN, 1993; MCHUGH, 2003). Suas aplicabilidades condizem à capacidade de formação de géis (geleificantes, viscosificantes e/ou emulsificantes), à sua atoxidade, além da possibilidade de formação de complexo com íons bivalentes (MCHUGH, 2003).

A carragenana é o termo genérico para um grupo de galactanas sulfatadas extraídas de algas vermelha e pode ser encontrada nas algas marinhas dos gêneros *Soliera*, *Eucheuma*, *Hypnea*, *Maristiella* e *Callophucis*, enquanto que o ágar pode ser extraído dos gêneros *Gracilaria*, *Gelidium*, *Gracilariopsis*, *Gelidiella*, *Ahnfeltia* e *Pterocladia* (CUNHA *et al.*, 1999). A estrutura das carragenanas consiste de cadeias de (1→3)-D-galactopyranose alternada com (1→4)-D-galactopyranose, onde também estão presentes grupos sulfatos em variadas quantidades e posições e podem ser classificadas em *kappa* (κ), *iota* (ι), and *lambda* (λ) de acordo com o padrão de substituição de grupos sulfato e conteúdo de unidades de 3,6-anhydrogalactose. Já os polissacarídeos extraídos do gênero *Gracilaria* são compostos basicamente de unidades

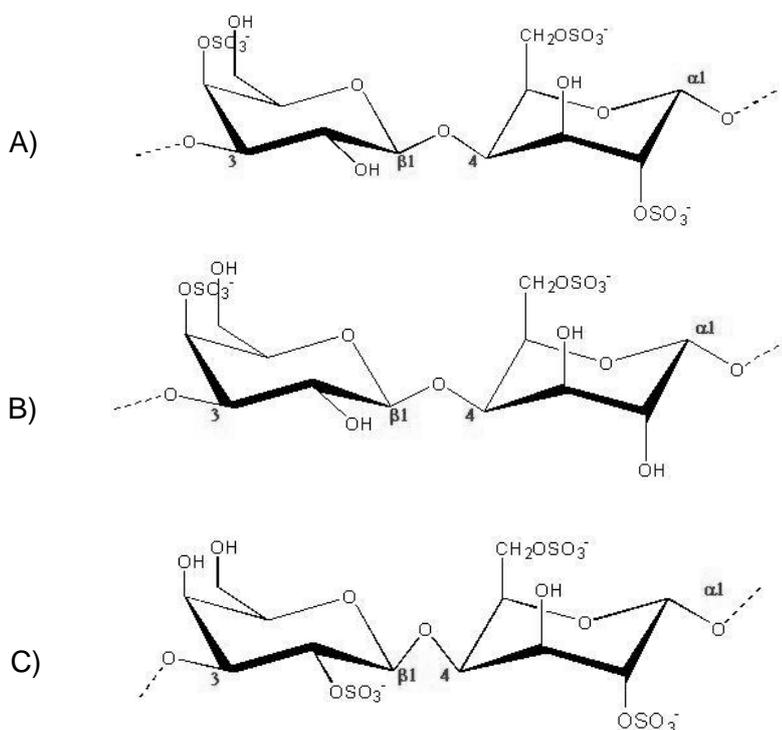
alternadas (1→3)-D-galactopyranose e 4-3,6-anhidro-a-L-galactopyranose (MACIEL *et al.*, 2008). A Figura 4 ilustra a estrutura geral do ágar e a Figura 5 da carragenana.

Figura 4. Estrutura geral do ágar.



(Fonte: Extraído de: *Food ingredients*, 2014).

Figura 5. Estrutura geral da carragenana A) Iota, B) kappa e C) lambda.



(Fonte: Extraído de: *Discover Polysaccharides*, 2014).

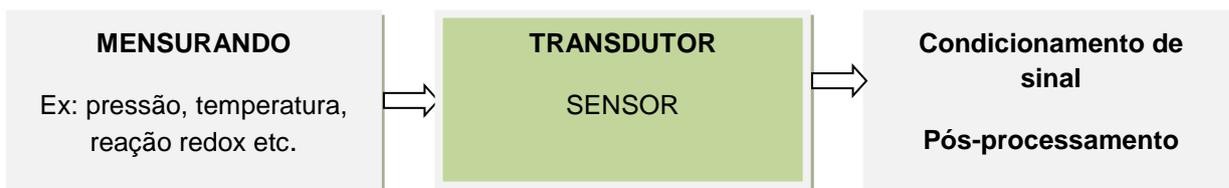
As macroalgas vermelhas produtoras de ágar e de carragenana podem ser encontradas amplamente distribuídas em todo o planeta. Principalmente nos países como, Japão, China, Índia, Brasil, Estados Unidos, México, África do Sul, Marrocos, Portugal, Espanha, Chile, Taiwan, Filipinas, Egito, Nova Zelândia e Rússia (ÁGAR, 2008; GANESAN, 2006).

No Brasil, as espécies *Hypnea musciformis* (produtora de carragenana) e a *Gracilaria birdiae* (produtora de ágar) têm sido bastante exploradas por encontrarem-se abundantemente distribuídas por toda a costa do país, incluindo o litoral do Piauí, além de possibilitarem um teor de rendimento considerável do polissacarídeo após extração, mesmo sabendo-se que o rendimento pode variar em função da sazonalidade e fatores abióticos (CUNHA *et al.*, 1999). A abundância, aplicabilidade e propriedades tais como, a presença de cargas negativas em sua estrutura, conferem a esses biopolímeros a possibilidade para novas aplicações no ramo biotecnológico, como por exemplo, na produção de filmes finos para o desenvolvimento de novos sensores ou ainda biossensores eletroquímicos.

1.4. Sensores e biossensores eletroquímicos

Sensor, numa visão geral, é um dispositivo capaz de converter um fenômeno físico (pressão, temperatura, luz, etc.) ou um fenômeno químico (reação de oxirredução) em um sinal, o qual é transmitido para um dispositivo de medição ou controle. O sistema o qual processa este sinal é chamado de transdutor, a parte ativa do sensor, Figura 6 (WU *et al.*, 2013; NUNES *et al.*, 2014).

Figura 6. Fluxograma de funcionamento de um sensor.



(Fonte: adaptado de NUNES *et al.*, (2014)).

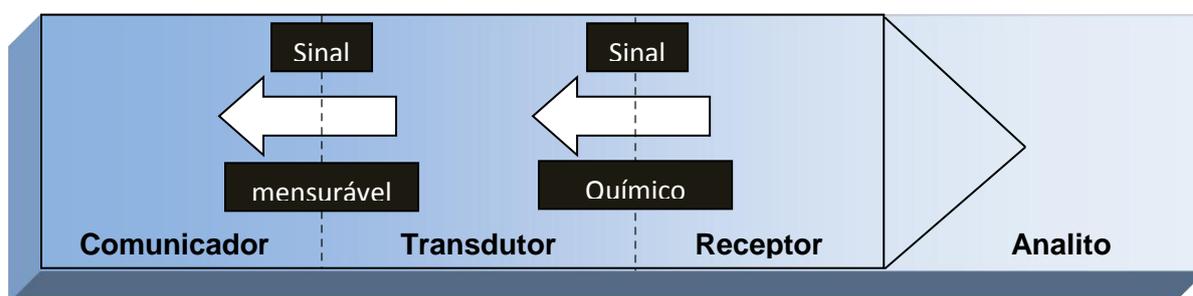
Um bom sensor deve ter características como sensibilidade e seletividade. No caso dos sensores químicos, cujos fenômenos a serem detectados têm natureza química, como um processo de oxirredução, por exemplo, podem ser interpretados por um transdutor, permitindo assim extrair informações sobre a composição do meio que está sendo analisado (YAMANAKA *et al.*, 2009; WILSON, 2005).

Sensores químicos possuem características peculiares que os distinguem de métodos instrumentais de largo porte, os quais, por sua vez, são cada vez mais precisos,

sensíveis e seletivos, mas não permitem a obtenção de informações *in situ* e em tempo real. Dados nestas condições experimentais são facilmente obtidos com sensores e, mesmo que as medidas não tenham precisão e exatidão comparáveis às dos métodos instrumentais, em muitas ocasiões têm-se elementos suficientes para tomadas de decisão. Características vantajosas também inerentes ao uso de sensores químicos referem-se à portabilidade, facilidade de automação, possibilidade de miniaturização e baixo custo (LOWINSOHN e BERTOTTI, 2006).

A Figura 7 apresenta um esquema geral dos principais componentes de um sensor químico. A obtenção de informação analítica depende essencialmente da capacidade da membrana (ou camada ativa), usualmente posicionada na extremidade do dispositivo, em reconhecer a espécie de interesse de maneira seletiva. Há inúmeras alternativas de imobilização desta membrana na superfície do sensor (ver seção 2.1.2) e um aspecto relevante associado a esta operação envolve a necessidade de acesso a algum processo químico que viabilize a transdução do sinal para o detector, Figura 7. Por sua vez, o sinal transmitido deve ser maximizado em relação às informações sobre o analito, ou seja, deseja-se minimizar o efeito de contribuições estranhas como, por exemplo, interferentes, ruídos eletrônicos ou erros experimentais. Neste sentido, a efetiva capacidade do dispositivo em discriminar o analito constitui-se em aspecto de grande importância na fabricação de sensores de uso geral e em larga escala, devendo-se ressaltar, entretanto, que aspectos referentes à sensibilidade, estabilidade e robustez também devem ser considerados (LOWINSOHN e BERTOTTI, 2006).

Figura 7. Esquema geral dos principais componentes de um sensor químico.



(Fonte: adaptado de LOWINSOHN e BERTOTTI (2006)).

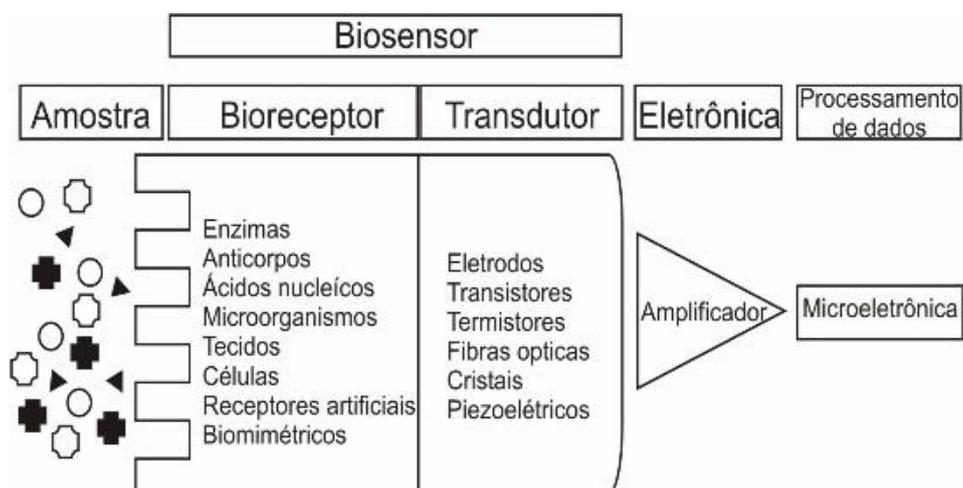
Quando em um dispositivo sensor, o elemento de reconhecimento – denominado receptor – for uma substância de natureza biológica (enzimas, células, anticorpos, proteínas), teremos um biossensor, ou seja, o bioreceptor consiste em uma

biomolécula capaz de reconhecer um analito específico através da sua bio-afinidade. O biorreceptor ao interagir com o analito produz um sinal químico (por exemplo, uma reação redox), que ao ser enviado para o transdutor, é convertido em um sinal mensurável (como corrente elétrica, por exemplo), Figura 6 (YAMANAKA *et al.*, 2009).

Apesar de ainda ser uma tecnologia com pouca aplicação em monitoramentos de campo, a tecnologia de sensores e biossensores é uma alternativa promissora em relação às técnicas convencionais de medição. Os biossensores são aparelhos analíticos compactos (alguns têm dimensão 0,6 mm), que incorporam elementos sensores biológicos ou biomiméticos, ou seja, que imitam organismos vivos. Estes são conectados a um sistema transdutor, que mede uma variação de pH, por exemplo, amplifica o sinal e faz o processamento para determinação da variável desejada (Figura 8). O processamento pode envolver técnicas matemáticas avançadas, como a lógica *fuzzy* ou redes neurais, dentre outras (GARCIA e MOTTRAM, 2003).

O princípio de detecção se baseia na ligação específica do elemento de interesse ao elemento complementar de bioreconhecimento, imobilizado em um meio de suporte satisfatório. A interação específica resulta na mudança de uma ou mais propriedades físico-químicas (mudança de pH, transferência de elétron, mudança de massa, transferência de calor, ganho ou liberação de gases ou íons específicos, etc.) que são detectadas e podem ser medidas por meio de um transdutor (YANAGI Jr, 2006).

Figura 8. Princípio de operação de um biossensor.



(Fonte: extraído de YANAGI Jr, (2006)).

Os sensores e biossensores apresentam grande vantagem em relação às técnicas convencionais devido a sua alta especificidade e a possibilidade de se fazer análises em tempo real, além de ter alta sensibilidade, apresentar rapidez nas medições e simplicidade de operação. Um exemplo é a aplicação de biossensor para detectar a variação de progesterona no leite de vacas com a finalidade de se detectar o cio, permitindo assim, a inseminação no momento correto, reduzindo custos e aumentando a eficiência reprodutiva dos animais (MOTTRAM *et al.*, 2000 ; YANAGI Jr, 2006).

Recentemente, filmes finos de polissacarídeos naturais, adsorvidos sobre superfícies sólidas, têm sido empregados em sensores e biossensores. Filmes de quitosana, galactomananas e de carboximetilcelulose vêm sendo usados para fins variados (HUGUENIN *et al.*, 2005). Também são exemplos de polissacarídeos naturais utilizados na construção de filmes, a caraia (*Sterculia urens*), o chicha (*Sterculia striata*) e o angico (*Anadenanthera macrocarpa*) (EIRAS *et al.*, 2007; ZAMPA *et al.*, 2007). Estes biopolímeros conferem propriedades específicas aos filmes como: maior estabilidade e também o aumento na quantidade de material adsorvido por camada (INTEMA, 2011). A seguir, serão descritos alguns exemplos de sensores e biossensores eletroquímicos produzidos a partir da imobilização de biopolímeros através da técnica *Layer-by-Layer*.

Nanocompósitos de quitosana e alginato, ambos com característica polieletrólito catiônico, foram alternadamente depositados com nanofibras de celulose por apresentarem carga negativa, sendo esse biocompósito um material biocompatível e mostrando-se como uma boa plataforma para sensores (DENG *et al.*, 2010) .

Eiras *et al.* (2007) empregaram polissacarídeos naturais na fabricação de filmes nanoestruturados eletroativos. As gomas *Sterculia urens* (caraia), *Sterculia striata* (chichá) e *Anadenanthera macrocarpabenth* (angico) foram imobilizados na forma de filmes finos em conjunto com poli-*o*-metoxianilina (POMA), um polímero condutor. A eletroatividade característica da POMA presente no filme foi mantida na presença dos polissacarídeos, além disso, a presença dos polissacarídeos aumentou consideravelmente a estabilidade eletroquímica dos filmes e a quantidade de material adsorvido, quando estes foram comparados com filmes de POMA e PVS (ácido polivinilsulfônico).

Zampa *et al.* (2007) utilizaram o chichá (*Sterculia striata*) para produzir nanocompósitos eletroativos, fabricados na forma de filmes finos combinando ftalocianinas tetrassulfonadas de níquel e PAH, sob duas arquiteturas distintas:

(PAH/chichá/PAH/NiTsPc)_n e (PAH/NiTsPc/PAH/chichá)_n. A presença do chichá nos filmes, proporcionou uma adsorção mais eficiente de ftalocianina e também um aumento na resposta eletroquímica dos mesmos. Adicionalmente, os filmes foram empregados na detecção de dopamina e o LD obtido foi de $1,05 \times 10^{-5} \text{ m L}^{-1}$.

Em outro trabalho realizado por Eiras *et al.* (2010), o angico (*Anadartera Columbina*) e a Caraia (*Sterculia Urens*) foram utilizados como biomateriais modificadores de camadas, em filmes automontados com ftalocianina tetrassulfonada de níquel. Os filmes apresentaram boa estabilidade e puderam ser empregados em sensores de neurotransmissores. Novamente foi constatado que, a presença dos polissacarídeos nos filmes conduz a um incremento na resposta eletroquímica.

ZAMPA *et al.*, 2009 trabalharam com peptídeos antimicrobianos (DRS 01) isolados da fauna do Delta do Piauí e polissacarídeos naturais exsudados de árvores abundantes nesta região, tais como a goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L). A partir desses materiais, foram produzidos filmes *LbL* para aplicações em biossensores eletroquímicos. Os filmes *LbL* desenvolvidos foram capazes de detectar o aumento da concentração de células de *Leishmania* presentes na solução eletrolítica por meio do aumento da resposta de sinal elétrico relacionado ao processo de lise/ruptura da célula quando em contato com a DRS 01 imobilizada no filme. Este resultado sugere que este filme poderia ser uma potencial ferramenta de diagnóstico para uso na área biomédica.

MATSUHISA *et al.* (2013) criaram um biossensor capaz de detectar seletivamente a glicose, a partir da imobilização da quitosana em conjunto com albumina de soro bovino (BSA) sobre um substrato de platina. Após montagem do filme de quitosana/BSA, a enzima glicose oxidase foi imobilizada em sua superfície para troca direta de elétrons com a glicose e conseqüentemente sua detecção/quantificação por amperometria.

1.5. Técnicas de caracterização de filmes finos

1.5.1. Técnicas eletroquímicas: a voltametria

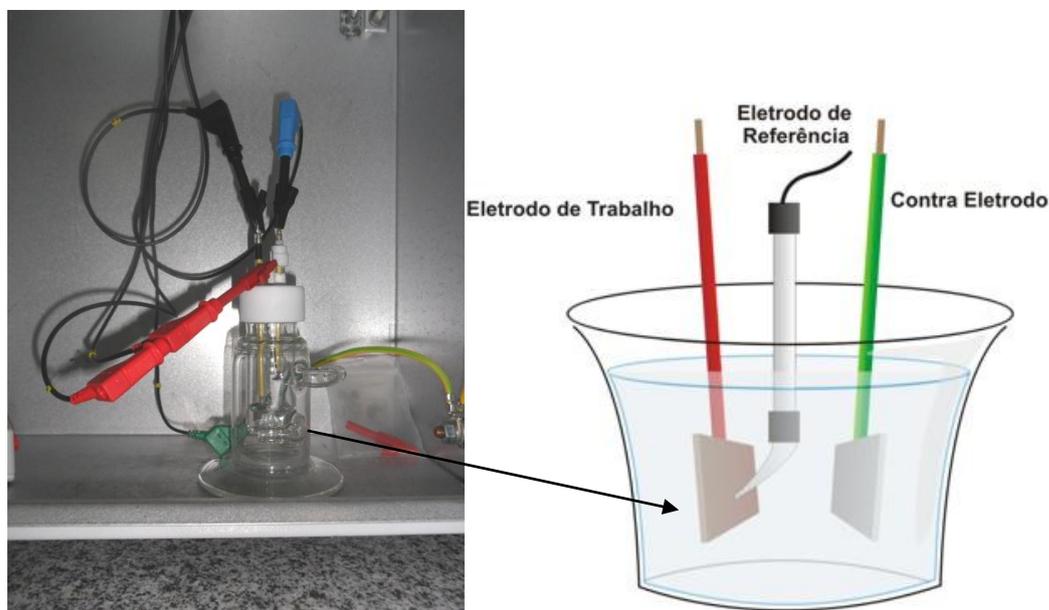
A voltametria é uma técnica eletroquímica em que as respostas qualitativas e quantitativas de uma espécie eletroativa são obtidas em função do registro da curva corrente versus potencial aplicado. No início dos estudos voltamétricos essas respostas eram obtidas durante a eletrólise da espécie eletroativa em uma célula eletroquímica

constituída por dois eletrodos: um de trabalho e outro de referência. O eletrodo de trabalho é caracterizado por apresentar uma área superficial menor em relação à do eletrodo de referência, permitindo assim sua polarização. O eletrodo de referência permite que o potencial seja mantido fixo durante a eletrólise da espécie eletroativa. Como o potencial é aplicado entre os eletrodos variando a velocidade em função do tempo, é registrada uma curva de corrente versus potencial aplicado, que é chamada de voltamograma, no qual estão presentes as informações qualitativas e quantitativas da espécie eletroativa (HARRIS, 2003; ALEIXO, 2003).

A célula de dois eletrodos foi utilizada durante muito tempo, no entanto, essa célula possuía as seguintes limitações: não detectava concentrações da ordem de 10^{-4} mol L⁻¹ (devido à passagem de corrente pelo eletrodo de referência o que provocava a existência de reações no mesmo) e também devido à alta resistência encontrada para a célula (HARRIS, 2003; ALEIXO, 2003). Para suprir essas duas limitações desenvolveu-se uma célula de três eletrodos que é utilizada até os dias de hoje. Para assegurar o sistema potenciostático foi incorporado na célula eletrolítica um terceiro eletrodo, que ficou conhecido como eletrodo auxiliar ou contra eletrodo, que é geralmente formado por um material inerte (platina, ouro, carbono Vítreo e etc.). Segundo Aleixo (2003) com a incorporação do terceiro eletrodo foi possível usar recipientes de tamanhos mais reduzidos para medidas voltamétricas. Com isso apareceram as seguintes vantagens: a célula tornou-se mais adequada para soluções diluídas, e pôde ser usada para soluções de alta resistência e com eletrólitos de suporte mais diluídos.

A voltametria é largamente usada pelos químicos inorgânicos, físico-químicos e bioquímicos para finalidades não analíticas, incluindo estudos fundamentais de processos de redução e oxidação em vários meios, processos de adsorção em superfícies, mecanismos de transferência de elétrons em superfícies de eletrodos quimicamente modificados. Para a obtenção das medidas de corrente, utiliza-se um potenciostato para que uma diferença de potencial em função de um eletrodo de referência seja aplicada. O eletrodo de referência permanece com o potencial estável enquanto a corrente medida flui entre o eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar (ALEIXO, 2003; SKOOG *et al.*, 2006). A Figura 9 mostra uma imagem de uma célula eletroquímica e uma representação esquemática para os três eletrodos que a compõe.

Figura 9. Célula eletroquímica utilizada neste trabalho e esquema para os três eletrodos.



(Fonte: foto e esquema produzidos nesta pesquisa, 2014).

Os eletrodos encontram-se imersos em uma célula voltamétrica contendo o eletrólito suporte, Figura 9. O eletrólito suporte é uma solução condutora, porém inerte na faixa de potencial de trabalho e, geralmente, a concentração desse eletrólito é bem elevada em relação à concentração do analito, para minimizar a corrente de migração (ALEIXO, 2003).

Na célula eletroquímica, quando se aplica uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo auxiliar, a corrente resultante é registrada em função desta diferença de potencial. Na presença de uma espécie eletroativa, a corrente aumenta se a diferença de potencial for suficiente para reduzir ou oxidar esta espécie. Neste sentido, a corrente limite, controlada por difusão, é proporcional à concentração da espécie eletroativa (HARRIS, 1999).

Além da difusão, existem outros dois processos de transferência de massa entre a solução e a superfície do eletrodo. Um desses processos é a migração de partículas carregadas através de um campo elétrico, já o outro é a convecção, um processo

mecânico, que ocorre devido à movimentação da solução (SKOOG *et al.*, 2006). O processo de migração em um campo elétrico é minimizado pela adição de um eletrólito inerte (eletrólito de suporte) à solução em uma concentração pelo menos 100 vezes maior do que a substância eletroativa. O processo de convecção é eliminado mantendo-se a solução em repouso, sem agitação. Assim, apenas o processo de difusão será responsável pelo transporte de massa, e a corrente medida, pode ser efetivamente expressa como corrente de difusão (ALEIXO, 2003).

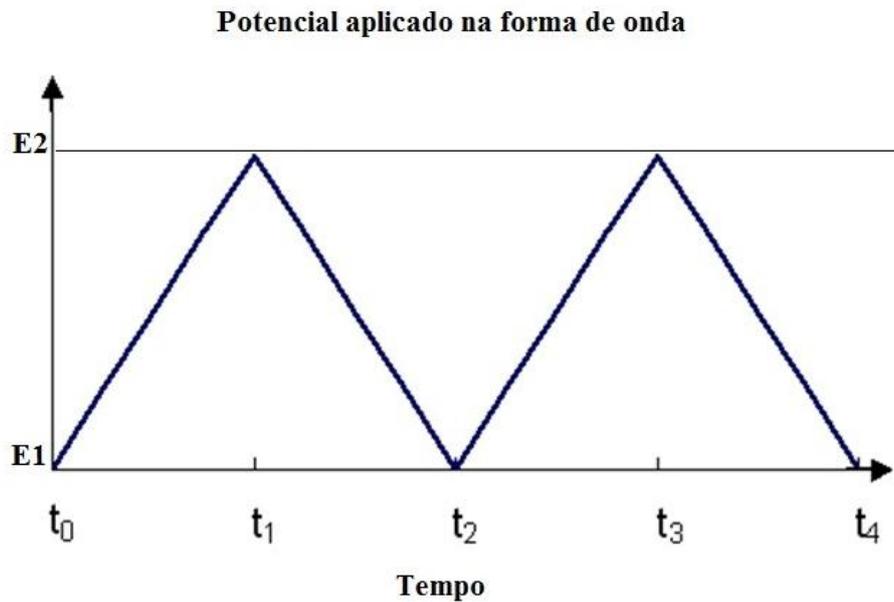
Com os passar dos anos foram desenvolvidas um número considerável de novas técnicas voltamétricas que conseguiram ampliar os limites de detecção, além de possibilitar o estudo de propriedades eletroquímicas de diversos materiais. Dentre essas novas técnicas pode-se destacar a voltametria de pulso normal, pulso diferencial, de onda quadrada e a cronoamperometria. Superficialmente, pode-se dizer que a diferença entre essas voltametrias está relacionada ao limite de detecção, e ao tipo de informação (qualitativa ou quantitativa) que se deseja obter da espécie eletroativa (SKOOG *et al.*, 2006). Pode-se dar um destaque especial à voltametria cíclica, pois esta técnica têm sido bastante empregada no estudo de caracterização de filmes *LbL* por se tratar de uma técnica exploratória (FARIAS *et al.*, 2014; EIRAS *et al.*, 2012; ZAMPA *et al.*, 2007).

1.5.1.1. Voltametria Cíclica

Para a análise exploratória de espécies eletroativas, a técnica de Voltametria Cíclica (VC) tem sido utilizada frequentemente, com o objetivo de se obter informações qualitativas sobre as espécies de interesse. A versatilidade da VC, combinada com a facilidade na realização de medidas resultou em sua ampla aplicação nos campos da Eletroquímica, Química Inorgânica, Química Orgânica e Bioquímica (SKOOG *et al.*, 2006; HOLLER *et al.*, 2009).

Em um experimento de VC, o sinal de excitação é caracterizado por uma onda triangular, sendo a resposta de corrente originada por um pequeno eletrodo estacionário imerso em uma solução mantida em repouso. A onda triangular produz a varredura no sentido direto e depois no sentido inverso com uma determinada velocidade de varredura, onde o potencial varia linearmente com o tempo (SKOOG *et al.*, 2006). A Figura 10 mostra um exemplo do sinal de excitação da VC, sob repetitivos ciclos.

Figura 10. Sinal de excitação da Voltametria Cíclica.



(Fonte: Figura produzida nesta pesquisa, 2014).

Em VC o ciclo é repetido diversas vezes, e os potenciais nos quais a reversão ocorre são chamados potenciais de inversão (E_1 e E_2), Figura 10. Os potenciais de inversão para um determinado experimento são escolhidos de maneira que se possa observar a oxidação ou redução, controlada por difusão, de uma ou mais espécies (HOLLER *et al.*, 2009). A direção da varredura inicial pode ser tanto negativa, quanto positiva, dependendo da composição da amostra. Uma varredura na direção de potenciais mais negativos é denominada varredura direta, enquanto uma varredura na direção oposta é chamada varredura inversa. Na técnica de voltametria cíclica o potencial do eletrodo de trabalho é controlado pelo eletrodo de referência, sendo os mais usuais os de calomelano Saturado (SCE) e de prata/cloreto de prata (Ag/AgCl). O potencial de controle é aplicado entre esses dois eletrodos, produzindo um sinal de excitação caracterizado por uma varredura linear de potencial em forma de onda triangular (SKOOG *et al.*, 2006; HOLLER *et al.*, 2009).

Devido a sua natureza exploratória, a Voltametria Cíclica tem sido empregada na caracterização de diversos tipos de materiais. Um destaque especial pode ser dado aos filmes finos produzidos pela técnica de *LbL* de automontagem. Por exemplo, Farias *et al.* (2014) utilizaram a VC para caracterizar nanocompósitos à base de PANI e óxido

de titânio. Através da VC, conseguiram observar a influência do óxido de titânio na resposta eletroquímica da PANI e em seus potenciais de oxirredução, além da formação de subprodutos do polímero.

1.5.2. Espectroscopia na região do Ultravioleta Visível (UV-VIS)

A espectrofotometria ultravioleta é um dos métodos analíticos mais usados nas determinações analíticas em diversas áreas. É uma das técnicas analíticas mais empregadas, em função de robustez, custo relativamente baixo e grande número de aplicações desenvolvidas. É bastante aplicada na determinação de compostos orgânicos e inorgânicos (ROCHA e TEIXEIRA, 2004).

Segundo Vinadé e Vinadé (2005), os métodos espectroscópicos de análise têm como característica comum a interação da radiação eletromagnética com a matéria. Existe uma relação de proporcionalidade entre a quantidade de radiação absorvida por uma espécie química e a concentração dessa espécie. Essa relação—permite a quantificação nas amostras.

Quando a radiação eletromagnética atravessa uma amostra, certas frequências podem ser seletivamente removidas por absorção, um processo pelo qual a energia eletromagnética é transferida para os átomos, íons ou moléculas que compõe a amostra (SKOOG *et al.*, 2006).

O espectro de absorção de um átomo que absorve no ultravioleta às vezes é composto de linhas muito agudas. Para as moléculas, entretanto, a absorção no UV ocorre, em geral, em uma ampla faixa de comprimento de onda, pois as moléculas (ao contrário dos átomos) normalmente têm muitos modos de excitação, vibração e rotação em temperatura ambiente (PAVIA *et al.*, 2012).

A lei de absorção, também conhecida como lei de *Beer-Lambert* (Equação 1), nos diz quantitativamente como a grandeza da atenuação depende da concentração das moléculas absorventes e da extensão do caminho ótico, que é aquele onde ocorre a absorção. À medida que a luz atravessa um meio contendo um analito que absorve parte desta radiação, um decréscimo de intensidade ocorre na proporção que o analito é excitado (SKOOG *et al.*, 2006). Quanto maior for o número de moléculas capazes de absorver luz de certo comprimento de onda, maior será a intensidade dessa absorção (PAVIA *et al.*, 2012).

$$\text{Log } (I_0 / I) = A = \varepsilon c l \quad (\text{Equação 01})$$

A= absorbância;

ε = absorção molecular ou coeficiente de extinção;

c= concentração do material absorvedor;

l= espessura da amostra através da qual a luz passa.

O termo $\log (I_0 / I)$ é também conhecido como *absorbância* e pode ser representado como “A”. A absorvidade molar expressa a propriedade de uma molécula que passa por uma transição eletrônica. As dimensões do sistema absorvente e a probabilidade de ocorrer uma ou mais transições são os fatores que controlam a absorvidade, que pode variar de 0 a 10^6 . (SKOOG *et al.*, 2006).

A absorção pelos compostos orgânicos e inorgânicos está relacionada com uma deficiência de elétrons na molécula. Em compostos inorgânicos, o comprimento de onda de absorção das transições “d-d” depende do metal envolvido, do número de grupos coordenados, da basicidade, dos átomos doadores e da geometria dos grupos coordenados (SILVERSTEIN *et al.*, 1994).

Segundo Skoog *et al.* (2006), compostos orgânicos que possuem dupla ligação absorvem fortemente no ultravioleta remoto. Os compostos que possuem ligações simples e duplas alternadamente, chamadas de ligações conjugadas, produzem absorção em comprimentos de ondas maiores. Quanto mais extenso for o sistema conjugado, mais longos serão os comprimentos de onda absorvidos, podendo chegar à região do visível.

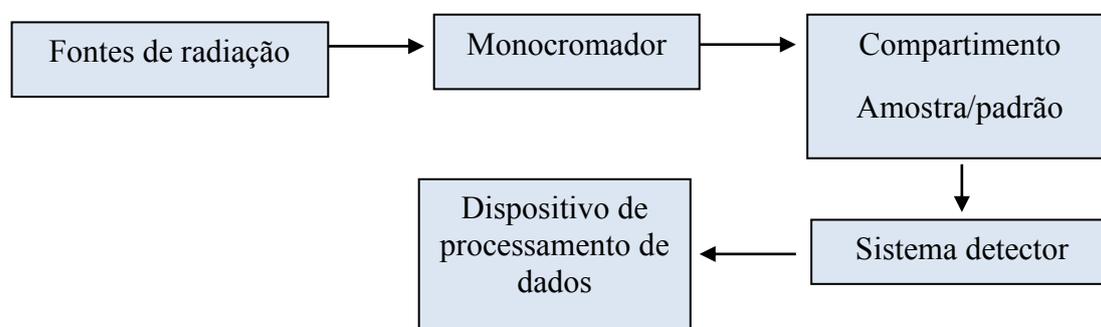
O equipamento utilizado para as medições de absorbância e/ou transmitância, é chamado de espectrofotômetro. Espectrofotômetros são instrumentos capazes de registrar dados de absorbância ou transmitância em função do comprimento de onda. Este registro é chamado de espectro de absorção ou de espectro de transmissão, segundo o dado registrado for de absorbância ou transmitância, respectivamente. O espectro de absorção é característico para cada espécie química, sendo possível a identificação de uma espécie química por seu “espectro de absorção” (PAVIA *et al.*, 2012).

A característica mais importante dos espectrofotômetros é a seleção de radiações monocromáticas, o que possibilita inúmeras determinações quantitativas regidas pela Lei de Beer. Quando a região espectral usada é a ultravioleta/visível, são necessários

componentes ópticos de quartzo e detectores altamente sensíveis, capazes de detectar radiações nessa extensa faixa espectral em que atua o instrumento (VINADÉ e VINADÉ, 2005).

Os espectrofotômetros, em geral, contêm cinco componentes principais: fontes de radiação, monocromador, recipientes para conter as soluções (cubetas), detectores e indicadores de sinal, Figura 11. O monocromador é uma rede de difração e sua função é separar o feixe de luz nos comprimentos de onda componentes. As cubetas são construídas de material transparente à radiação eletromagnética, geralmente são feitas de vidro, plástico ou quartzo (PAVIA *et al.*, 2012).

Figura 11. Esquema dos componentes principais de um espectrofotômetro.



(Fonte: Adaptado de Skoog *et al.* (2006)).

No estudo de filmes finos, a técnica de espectroscopia na região do UV-Visível tem sido bastante empregada para o monitoramento do processo de deposição durante a formação do filme automontado. Esse monitoramento é possível graças ao valor da absorvância do pico máximo que ocorre no comprimento de onda característico das moléculas absorvedoras presentes no filme (lei de *Beer-Lambert*), indicando a continuidade do processo de adsorção a cada etapa de deposição (FARIAS, *et al.*, 2014). Dessa forma, é possível construir uma curva de crescimento do filme, relacionando a absorvância máxima com o número de camadas adsorvidas sobre um substrato e, posteriormente inferir sobre a cinética de formação de um filme multicamadas. Em sistemas autoregulados, ou seja, onde se têm a mesma quantidade de material adsorvido em cada uma das etapas de adsorção, o coeficiente de inclinação da reta apresenta valor próximo de 1 (SANTOS *et al.*, 2012).

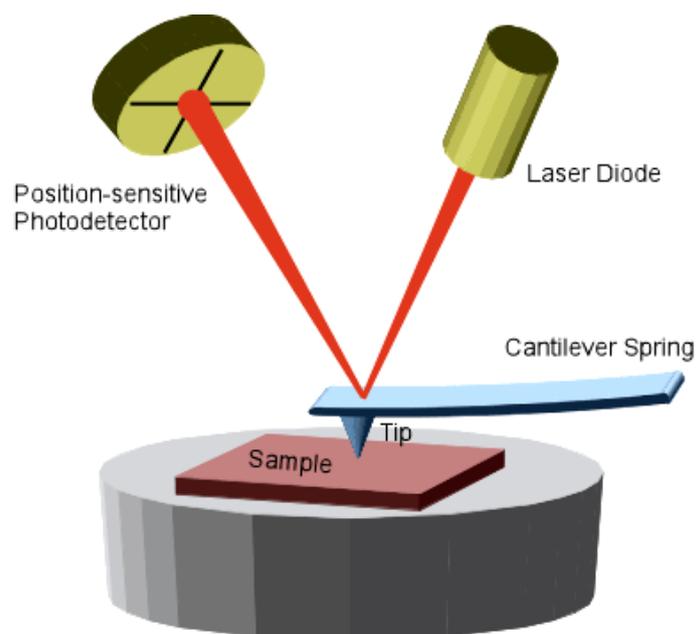
1.5.3. Microscopia de Força atômica (AFM)

A microscopia de força atômica, AFM (do inglês, *Atomic Force Microscopy*), foi desenvolvida por Binnig, Quate e Gerber, em 1986, partindo-se das técnicas desenvolvidas e utilizadas na Microscopia de Tunelamento de Elétrons (TEM, do inglês, *Tunneling Electron Microscopy*). A AFM possibilita uma resolução tridimensional similar a TEM, mas pode ser utilizada diretamente em amostras de materiais eletricamente isolantes ou condutores (BINNIG e QUATE, 1986).

A potencialidade da TEM para medir a topografia de superfícies é excelente. Entretanto, uma condição indispensável da TEM é que as superfícies das amostras e da ponta de prova devem ser boas condutoras elétricas. Esta restrição limita as áreas de aplicação desta técnica, o que foi superado com o surgimento da AFM. O primeiro equipamento de AFM foi produzido comercialmente em 1989 e, apesar de ser uma derivada tecnológica da TEM, permite a caracterização de materiais eletricamente isolantes (BINNIG E ROHRER, 1985). A AFM também permite caracterizar superfícies em escala atômica, com resolução na ordem de grandeza de Angstrom.

As vantagens práticas da utilização da AFM consistem em não haver necessidade de preparo prévio das amostras, desde que suas dimensões estejam dentro das especificações do equipamento. É uma técnica muito atraente para estudar a superfície de materiais biológicos pelo fato de poder analisar a amostra diretamente sem a necessidade de secagem, desidratação ou a deposição de outros materiais, a fim de tornar a superfície da amostra condutora, como exige a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (CHERNY *et al.*, 1998) O ambiente de utilização do microscópio de força atômica deve ser protegido contra interferências de ruídos elétricos, e vibrações mecânicas, mas não há necessidade de vácuo. A Figura 12 mostra um esquema de funcionamento de um microscópio de força atômica.

Figura 12. Esquema básico do posicionamento da ponta de prova e de sua varredura sobre a superfície da amostra para a coleta de dados ponto a ponto da superfície.

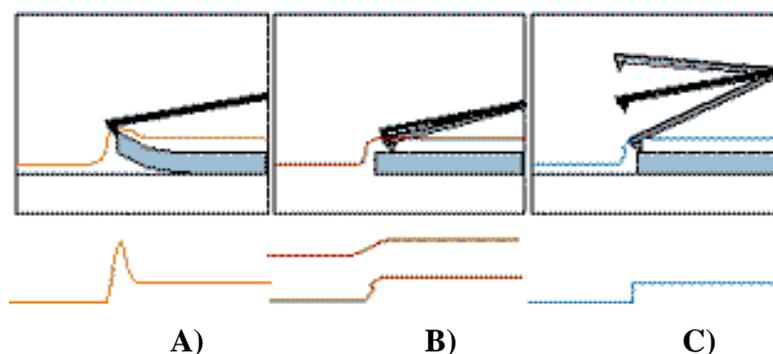


(Fonte: extraído de AFM (2014)).

O princípio do funcionamento da AFM consiste na varredura de uma ponta cristalina sobre a amostra. Este cristal, de forma pontiaguda, é ligado no vértice de uma micro-viga com balanço em forma de “V”. A micro-viga tem uma constante elástica conhecida, e é flexionada pelas forças de atração e repulsão entre a amostra e a ponta, devido à variação vertical da superfície da amostra. Um circuito de realimentação permite que a cerâmica piezoelétrica mantenha a ponta com uma força constante (para obter a informação da altura) ou altura constante (para obter a informação da força) acompanhando a superfície da amostra. Sobre o cristal é colocado um sensor de deflexão para registrar a variação vertical da superfície da amostra, que ocorre durante a varredura. A força utilizada é da ordem de grandeza das forças interatômicas (cerca de 10^{-9} Newton), o que leva esta técnica de análise ser comumente denominada de “Microscopia de Força Atômica”. A força estabelecida entre a ponta de prova e a amostra deve ser suficientemente pequena para não ocorrer danos à superfície da amostra durante o processo de varredura (BASELT e BALDESCHWIELER, 1993).

Um microscópio de força atômica (AFM) pode funcionar sob 3 diferentes modos: contato, sem contato e vibracional (ou intermitente), Figura 13.

Figura 13. Modos de operação: A) contato, B) sem contato e C) vibracional.



(Fonte: extraído de LI (2014)).

O modo de operação de contato, Figura 13A, é o mais utilizado na microscopia de força atômica. A ponta de prova faz a varredura em contato com a superfície da amostra. A força na ponta de prova é repulsiva e tem valores médios em torno de 10^{-9} N. Esta força é ajustada empurrando a micro-viga de encontro à superfície da amostra através da cerâmica piezoelétrica. No modo de operação de contato, a deflexão da micro-viga é detectada e comparada pelo amplificador de realimentação DC a um determinado valor de deflexão (ZHAO, 2003).

Quando a deflexão medida é diferente do valor especificado, o amplificador de realimentação aplica uma tensão à cerâmica piezoelétrica (subindo ou abaixando a amostra em relação à micro-viga), para restaurar o valor desejado da deflexão. Os maiores problemas no modo de operação de contato são causados pelas forças excessivas aplicadas pela ponta de prova na amostra. Dependendo da intensidade da força pode ocorrer a deformação da amostra, quebra da ponta de prova ou distorção dos resultados (ZHAO, 2003).

Uma tentativa de minimizar estes problemas é utilizar o modo de operação sem contato, Figura 13B. O modo de operação sem contato é usado em situações onde o contato da ponta de prova pode alterar a amostra. Neste modo de operação, a ponta de prova é localizada em torno de 50 a 150\AA acima da superfície da amostra. Devido às forças de Van der Waals a ponta de prova e a amostra sofrem interações e a imagem da superfície da amostra é construída sem o contato da ponta de prova com a superfície (ZHAO, 2003).

Finalmente, o modo de operação vibracional, Figura 13C, é um modo de realimentação dinâmico que permite melhorar a resolução das imagens de alguns tipos de amostras sem induzir forças de atrito destrutivas. No modo vibracional, a amplitude

de oscilação da micro-viga é mantida constante pelo circuito de realimentação, de modo a não haver contato direto entre a ponta de prova e a amostra. A imagem é obtida através das variações de amortecimento da vibração, induzidas pela interação da ponta e da amostra (ZHAO, 2003).

CAPÍTULO 02 – ARTIGO 01

Uma nova proposta de filmes baseados em biopolímeros extraídos de algas vermelhas e polianilina para aplicações em sensores eletroquímicos de Cromo (VI)

Emanuel Airton de Oliveira Farias¹; Marianne Corrêa dos Santos¹; Natália de Araujo Dionísio¹; Patrick V. Queleães¹; Durcilene Alves da Silva¹; José Roberto de Sousa Almeida Leite¹; Peter Eaton³ e Carla Eiras^{1,2}

1. Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, BIOTEC, CMRV, UFPI, Parnaíba, PI, 64202-020, Brasil. 2. Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados, LIMAv, CCN, UFPI, Teresina, PI, 64049-550, Brasil. 3. UCIBIO, REQUIMTE, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, 4169-007 Porto, Portugal.

RESUMO

Este trabalho propõe uma nova aplicação para polissacarídeos naturais (agar e carragena), ambos extraídos de parede celular de algas vermelhas. Filmes finos foram preparados pela técnica de automontagem *Layer-by-Layer* (LbL) sobre ITO (óxido de índio dopado com estanho), onde os polissacarídeos de interesse foram adsorvidos em camadas alternadas com a polianilina (PANI). Os filmes desenvolvidos foram caracterizados por voltametria cíclica (CV), espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-Vis) e microscopia de força atômica (AFM). Os resultados mostraram que tanto o agar quanto a carragenana, melhoram a estabilidade eletroquímica do polímero condutor em meio ácido. As interações em nível molecular entre a PANI e os polissacarídeos são afetadas pela sequência empregada no processo de imobilização dos materiais, influenciando ainda na morfologia resultante. Entre os filmes estudados, o sistema mais promissor no que diz respeito às medidas eletroquímicas foi o filme de ITO/agar/PANI, o qual foi posteriormente utilizado para a detecção eletroquímica do crómio (VI).

Palavras-chave: agar e carragenana; automontagem; sensores eletroquímicos; cromo VI.

ABSTRACT

This paper proposes a new application for natural polysaccharides (agar and carrageenan), both extracted from the cell wall of red seaweeds. Thin films were prepared by the Layer-by-Layer (LbL) self-assembly technique onto ITO (tin-doped indium oxide), where the polysaccharides of interest were deposited in layers alternating with polyaniline (PANI). The films developed were characterized by cyclic voltammetry (CV), ultraviolet-visible spectroscopy (UV-VIS) and atomic force microscopy (AFM). Results showed the presence of agar as well as carrageenan, which improves the electrochemical stability of the conducting polymer in an acid medium. The interactions at the molecular level between PANI and the biopolymers affected the most appropriate sequence of deposition as employed in the process of material immobilization and also influenced the resulting morphology. Among the films studied, the most promising system as regards electrochemical measurements was the ITO/agar/PANI system, which was subsequently employed in the electrochemical detection of chromium (VI).

KEYWORDS: agar and carrageenan; self-assembly; electrochemical sensors; chromium VI.

1. INTRODUÇÃO

A ciência e a tecnologia de filmes finos têm um papel essencial para as indústrias de alta tecnologia (TAGA, 2001), em decorrência da versatilidade de aplicações que podem ser designadas a esses materiais. Por esse motivo, filmes finos têm sido extensivamente estudados em relação as suas nanoestruturas, propriedades e formas de preparo (HU *et al.*, 1999).

Dentre as diversas formas de preparos de filmes finos, a técnica de automontagem do tipo *Layer-by-Layer* (LbL), tem recebido especial atenção principalmente devido à sua simplicidade experimental, além de possibilitar estudos de interações moleculares entre diversos tipos de materiais (ROYAPPA e RUBNER, 1992; PATERNO *et al.*, 2001; RUSLING *et al.*, 2008). Além disso, quando se trabalha com materiais sob a forma de filmes finos, em vez de pó ou solução, é possível obter

estruturas altamente organizadas em nível molecular e o controle da espessura, dependendo da finalidade de estudo ou da aplicação de interesse. A técnica *LbL* também permite a ocorrência de efeitos sinérgicos entre os materiais intercalados na forma de filme, podendo assim melhorar ou alterar as propriedades físicas e químicas desses materiais, possibilitando-os aplicações totalmente novas (DECHER, 1997; CRESPILO *et al.*, 2006).

A Polianilina (PANI) é um polímero condutor que tem sido bastante empregado no preparo de filmes finos, principalmente devido às suas aplicações promissoras provenientes de sua condutividade intrínseca, estabilidade química, ambiental e baixo custo de produção (SANTOS *et al.*, 2012; BLYTHE, 2002).

Filmes finos à base de PANI têm sido extensivamente estudados em conjunto com os mais diversos tipos de materiais (TELES e FONSECA, 2008). Um exemplo de um sistema bastante conhecido na literatura trata-se de filmes finos multicamadas de PANI alternadas com PVS (Poli(Vinil Sulfonato de Sódio)), um polímero sintético com características aniônicas. Estes filmes têm sido amplamente empregados como sensores, como por exemplo, para a detecção do teor de oxidação de ascorbato em plasma humano (BONASTRE e BARTLETT, 2010), quantificação de vitamina C (HANSTEIN *et al.*, 2007; SANCHIS *et al.*, 2011), Amônia em galpões avícolas (SANTOS *et al.*, 2012), Glucose (ARSLAN e ARSLAN, 2011; GAIKWAD *et al.*, 2007), do aminoácido L-Fenilalanina (MANGOMBO, *et al.*, 2013), da enzima Tirosinase (MANGOBO, *et al.*, 2010), dentre outros (NDANGILI *et al.*, 2010).

Mais recentemente, o interesse em filmes à base de PANI intercalados com biomoléculas para o uso como plataformas para sensores e biossensores eletroquímicos, tem se expandido. Acredita-se que o uso de polímeros condutores pode dar maior estabilidade para biomolécula imobilizada no filme, originando novos e aperfeiçoados dispositivos analíticos (TELES e FONSECA, 2008).

A busca por biopolímeros para o desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos é uma realidade cujo objetivo tem sido substituir satisfatoriamente os materiais sintéticos, atendendo ainda os preceitos da sustentabilidade (GYAWALI, *et al.*, 2010). Neste sentido, a produção de materiais a partir de biomoléculas e biopolímeros, cuja versatilidade, biodegradabilidade e atoxicidade despertam interesse, tem sido alvo de estudo de filmes finos em todo o mundo.

A goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) é exemplo de biopolímero que tem sido empregado satisfatoriamente como polieletrólito catiônico na produção de

filmes para a detecção do neurotransmissor dopamina (ARAÚJO *et al.*, 2012; BARROS *et al.*, 2012). Outras gomas como o chicha (*Sterculia striata*) (ZAMPA *et al.*, 2009), o angico (*Anadenanthera colubrina*) e caraia (*Sterculia urens*) também foram imobilizadas na forma de filmes *LbL* para aplicações em sensores eletroquímicos (ZAMPA *et al.*, 2007). Além das gomas naturais, peptídeos bioativos como a Dermaseptina 01, encontrada na secreção cutânea de rãs das espécies *Phyllomedusa hypochondrialis* e *P. oreades*, também tem sido alvo de imobilização em plataformas *LbL*, na produção de um biossensor capaz de detectar células de *Leishmania chagasi* (ZAMPA *et al.*, 2009).

Diante do crescente interesse em materiais provenientes de fontes naturais com vistas a aplicações na nanociência, o ágar e a carragenana surgem como potenciais candidatos (CARDOZO *et al.*, 2007). Estes biopolímeros têm sido empregados com êxito, na área médica, no ramo alimentício, de cosméticos, biotecnológico, indústria têxtil, farmacêutica, dentre outros setores industriais (GIL e FERREIRA, 2006; MACIEL *et al.*, 2008; JENSEN, 1993; MCHUGH, 2003). As aplicabilidades do ágar e da carragenana condizem à capacidade de formação de géis (geleificantes, viscosificantes e/ou emulsificantes), atoxidade, além da possibilidade de formação de complexo com íons bivalentes (MCHUGH, 2003). Outra característica interessante é que a presença de grupos sulfatados tanto no ágar quanto na carragenana (MACIEL *et al.*, 2008), conferem carga negativa a estes polímeros de forma a ampliar seu campo de aplicação.

As macroalgas vermelhas produtoras de ágar e de carragenana podem ser encontradas amplamente distribuídas em todo o planeta. Principalmente nos países como, Japão, China, Índia, Brasil, Estados Unidos, México, África do Sul, Marrocos, Portugal, Espanha, Chile, Taiwan, Filipinas, Egito, Nova Zelândia e Rússia (ÁGAR, 2008; GANESAN *et al.*, 2006).

No Brasil, as espécies *Hypnea musciformis* (produtora de carragenana) e a *Gracilaria birdiae* (produtora de ágar) têm sido amplamente exploradas devido sua distribuição abundante por toda a costa do país, além de possibilitarem um teor de rendimento considerável do polissacarídeo após extração, mesmo sabendo-se que este rendimento pode variar em função da sazonalidade e fatores abióticos (CUNHA *et al.*, 1999).

Em decorrência da possibilidade de se empregar tanto o ágar (*Gracilaria birdiae*) quanto a carragenana (*Hypnea musciformis*) como polieletrólito aniônico na

formação de filmes finos produzidos pela técnica de automontagem do tipo *LbL*, o presente estudo teve como objetivo o preparo e caracterização de filmes multicamadas, onde o ágar ou a carragenana foram intercalados em conjunto com a PANI. Inicialmente foi realizado o estudo das propriedades físico-químicas dos filmes observando a influência dos parâmetros envolvidos no processo de deposição. Posteriormente, verificou-se a viabilidade da utilização destes filmes como camada ativa, na produção de sensores eletroquímicos para a detecção do Cr(VI), um metal cancerígeno muito tóxico mesmo em baixas concentrações.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1. Extração e purificação dos polissacarídeos

As algas *Hypnea musciformes*, produtora de Kappa-carragenana (CHARLES *et al.*, 1984; ARMANA e SAU, 2012; ANDRADE *et al.*, 2000), e *Gracilarea birdiae* (produtora de Agar) foram coletadas e então submetidas à secagem ao sol por um período de três dias. Para a extração dos polissacarídeos uma quantidade predeterminada de alga seca (5 g/200ml de água) foi levada à fervura com água destilada por um período de 2 horas. A solução final foi filtrada e o pH ajustado para 7,0. O polissacarídeo foi então recuperado por meio da precipitação do filtrado em etanol na proporção de 1:3 v/v. Para remoção de impurezas o precipitado foi lavado com etanol e acetona e a seguir, seco sob fluxo de ar.

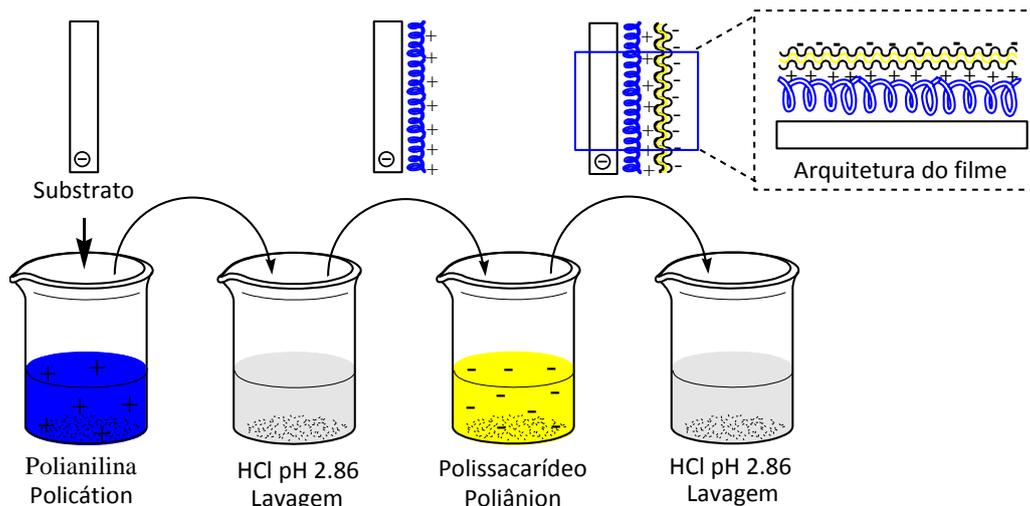
2.2. Preparo das soluções utilizadas na formação dos filmes LbL

A polianilina foi obtida na forma de base esmeraldina através de síntese química (MATTOSO, 1996). A solução de PANI usada na deposição dos filmes foi preparada a partir de uma solução estoque da base esmeraldina (0.47 g) solubilizada em 25 mL de dimetilacetamida (DMAc), mantida em *overnight* sob agitação. Em seguida a solução foi filtrada e diluída em HCl 1.4×10^{-3} mol L⁻¹ (pH 2.66) na concentração de 0,23% (v/v). A solução de poli(vinil sulfato de sódio) – PVS (Aldrich) usada na deposição dos filmes foi preparada a concentração de 40 µL/100 mL (0.04 %) utilizando-se como

solvente $\text{HCl } 1.4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Já a solução aquosa do ágar e da carragenana foi preparada na concentração de 0.1% (m/v).

2.3. Montagem dos filmes *LbL* de PANI e polissacarídeos de algas

Figura 1. Esquema ilustrativo para o método de deposição dos filmes *LbL*.



(Fonte: esquema produzido pelo autor).

Todos os filmes foram preparados através do seguinte procedimento: Inicialmente, o ITO previamente limpo (KERN, 1984) foi imerso na solução de PANI durante 5 minutos. Em seguida, o conjunto substrato/monocamada, ITO/PANI foi mergulhado na solução de lavagem ($\text{HCl pH } 2,86$) para remoção do material não adsorvido e, posteriormente o filme foi seco sob leve fluxo de N_2 . Após esta etapa, o sistema ITO/PANI foi mergulhado na solução do polissacarídeo (carragenana ou ágar), e também mantido nesta solução durante 5 minutos, sendo em seguida lavado e seco com N_2 . Ao final deste processo um filme contendo uma bicamada com arquitetura ITO/PANI/polissacarídeo foi obtido. Duas arquiteturas de bicamadas foram analisadas: ITO/PANI/polissacarídeo e ITO/polissacarídeo/PANI. Este estudo foi realizado em busca da sequência de deposição que resultasse em maiores interações entre os polieletrólitos. Para efeitos comparativos, também foram estudados filmes onde o polissacarídeo foi substituído pelo PVS constituindo filmes de ITO/PANI/PVS ou ITO/PVS/PANI.

2.4. Caracterização

Os polissacarídeos extraídos foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho em pastilha de KBr utilizando um equipamento de modelo FT-IR Shimadzu 8300. As análises do potencial zeta e de peso molecular (Mw) dos polissacarídeos foram realizadas por espalhamento de luz (Nano ZS Modelo Malvern Zetasizer 3600), usando um laser de 633 nm e um ângulo de espalhamento fixado em 173°. Cada amostra foi medida em triplicata e descritas como média \pm SD ($n = 3$). O teor de sulfato na carragenana e no agar foi obtido por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), (Spectro, modelo Across).

Os filmes *LbL* foram caracterizados eletroquimicamente pela técnica de voltametria cíclica (VC), espectroscopia na região do UV-VIS e ainda quanto a sua morfologia através da microscopia de força atômica (AFM). Os voltamogramas cíclicos foram obtidos com auxílio de um potenciostato/galvanostato da AUTOLAB modelo PGSTAT 128N e auxílio de uma célula eletroquímica com capacidade de 10,00 mL. O eletrodo de calomelano saturado (ECS) foi utilizado como eletrodo de referência. Como contra-eletrodo utilizou-se uma placa de platina com área de 2,00 cm². Já o filme automontado (*LbL*) depositado sobre o substrato de ITO (área de 0,35 cm²) foi utilizado como eletrodo de trabalho. Como eletrólito suporte foi empregado o HCl 0,10 mol L⁻¹. No caso das análises de espectroscopia na região do UV-VIS, os filmes foram depositados sobre substratos de vidro comum e a formação das bicamadas foi monitorada empregando-se um espectrofotômetro SHIMADZU modelo UV-1800.

Filmes representativos foram examinados usando AFM. A análise foi realizada sobre as amostras no modo de vibração (*tapping*). A visualização foi realizada utilizando um instrumento TT-AFM (Signal Hill, CA, EUA), com uma frequência de ressonância em torno de 300 kHz (AppNano). As imagens foram coletadas em 512 pixels de resolução, áreas de 2×2 μm e 4×4 μm foram examinadas, e pelo menos três áreas diferentes foram examinadas por amostra. As imagens foram processadas através do software Gwyddion 2,29. Tal como descrito na literatura (EATON e WEST, 2010), os valores de rugosidade dependem intimamente do tamanho da área examinada. Os valores aqui apresentados foram aqueles obtidos a partir das imagens de 2×2 μm.

Para o cálculo da medida de espessura dos filmes, foi feito cuidadosamente um risco no filme com o auxílio de uma agulha de injeção, e as imagens de AFM foram capturadas como descrito acima, na região do risco, na interface entre a película e o

substrato de ITO. Para cada filme, quatro imagens foram capturadas e as medições foram feitas usando o software Gwyddion 2,29. Medimos cinco áreas em cada imagem, observando a distância (altura) entre o filme e o vidro, e, em seguida, calculou-se a média e o desvio padrão.

2.5. Testes de detecção eletroquímica do Cr(VI)

Nos testes de detecção de cromo (VI), foi utilizada uma solução 10^{-2} mol L⁻¹ de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) solubilizado em HCl 0,1 mol L⁻¹. Todas as medidas eletroquímicas realizadas nos experimentos de especiação e determinação do Cr(VI) foram realizadas em meio de tampão fosfato de potássio (KH₂PO₄) 1,0 mol L⁻¹ pH 1,5 (ajustado com ácido fosfórico). Neste estudo, foram empregados filmes *LbL* contendo apenas uma bicamada do sistema otimizado. A especiação do metal foi estudada utilizando-se a técnica de voltametria cíclica. Posteriormente, a curva padrão foi obtida por voltametria de pulso diferencial (DPV). O LD e o LQ foram calculados utilizando-se os dados obtidos a partir desta curva, conforme descrito na literatura (RIBANI *et al.*, 2004). A tabela 1 mostra os parâmetros otimizados na determinação do Cr(VI).

Tabela 1. Parâmetros otimizados na determinação do Cr(VI).

Potencial inicial	0,51 V
Potencial final	0,2 V
Potencial de deposição	0,51 V
Tempo de deposição	10 s
Agitação	220 RPM
Tempo de agitação	10 s
Tempo de equilíbrio	5 s
Velocidade de varredura do potencial	5 mV. s ⁻¹
Modo de varredura	Pulso diferencial
Amplitude do pulso	25 mV

(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

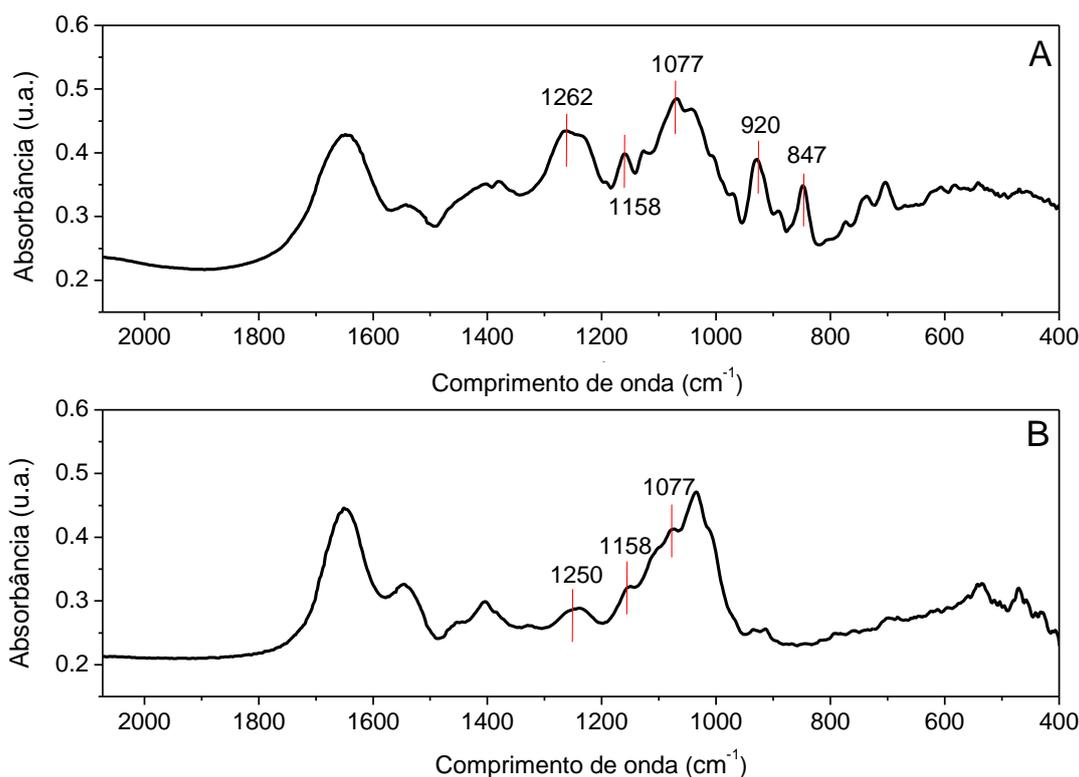
3.1. Caracterização dos polissacarídeos

Em amostras de polissacarídeos de algas, a análise de espectros de infravermelho (FT-IR) é normalmente utilizada para obter informações sobre a presença de grupos sulfato e unidades 3,6-anidrogactose (MAZUMBER *et al.*, 2002). Os espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras de ágar e carragenana podem ser observados na Figura 2. Os espectros apresentam as bandas características de polissacarídeos em 3421 cm^{-1} , 2945 cm^{-1} , atribuídos respectivamente às vibrações de estiramento de O-H e estiramento de C-H. Bandas características de vibrações de estiramento C-O-C das ligações glicosídicas são observados em 1158 cm^{-1} e 1077 cm^{-1} .

Na gama espectral entre 1100 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} existem diferenças espectrais entre os três tipos principais de carragenana (*kappa*, *iota* e *lambda*), o que permite a utilização de FT-IR também classificá-las entre os seus diferentes tipos. A banda bem definida em 1077 cm^{-1} e principalmente em 1045 cm^{-1} , Figura 2A, são características da *kappa*-carragenana (SEKRAL e LEGRAND, 1993).

A banda em 1262 cm^{-1} indica a existência de um grande percentual de grupos sulfato total na estrutura do polissacarídeo também confirmada pela presença de bandas em 920 e 847 cm^{-1} (que também indicam a presença de *kappa*-carragenana (PEREIRA *et al.*, 2013)), atribuídos respectivamente às unidades de 3,6-anidrogactose e galactose-4-sulfato (TOJO e PRADO, 2003). Para o polissacarídeo ágar (Figura 2B), a presença da banda menos intensa em 1250 cm^{-1} sugere a existência de um pequeno percentual de grupos sulfato na estrutura do polissacarídeo.

Figura 2. Espectros de FTIR obtidos para os polissacarídeos A) carragenana e B) ágar.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

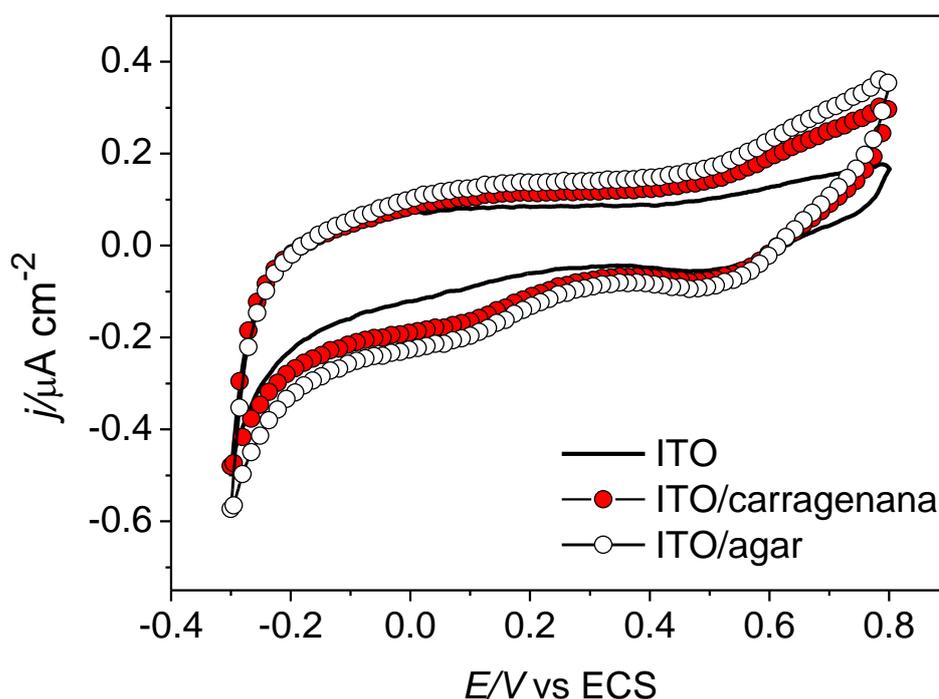
O potencial zeta da solução de ágar e de carragenana foi medido em aproximadamente -30,4 e - 42,0 mV, respectivamente. Para o ágar e a carragenana, o peso molecular foi estimado em $1,4 \times 10^3$ kDa e $5,6 \times 10^3$ kDa, respectivamente. O teor de sulfato encontrado na carragenana e no ágar foi 8,80 % e 2,73 %, respectivamente.

3.2. Caracterização eletroquímica por voltametria cíclica

Para melhor compreensão do efeito sinérgico existente entre os materiais intercalados na estrutura de bicamadas, inicialmente procedeu-se com o estudo individual de cada um deles. A Figura 3 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a o ITO não modificado, ou seja, sem material depositado e, ITO modificado com uma monocamada de ágar ou carragenana. Os voltamogramas obtidos mostraram que nenhum dos polissacarídeos naturais é eletroativo, nas condições estudadas, pois, ambos exibiram o mesmo comportamento observado para o substrato não modificado, em eletrólito suporte de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. O incremento nos valores de corrente em

decorrência da adsorção de uma monocamada desses polissacarídeos pode ser explicado como um aumento da área ativa da superfície eletródica, em função da presença do ágar ou da carragenana sobre o substrato.

Figura 3. Voltamogramas cíclicos obtidos para o ITO e para o ITO modificado pela deposição de uma monocamada de ágar, ITO/ágar, ou de carragenana, ITO/carragenana. Todas as medidas foram realizadas em HCl 0,1 mol L⁻¹ à $v= 50$ mV s⁻¹.

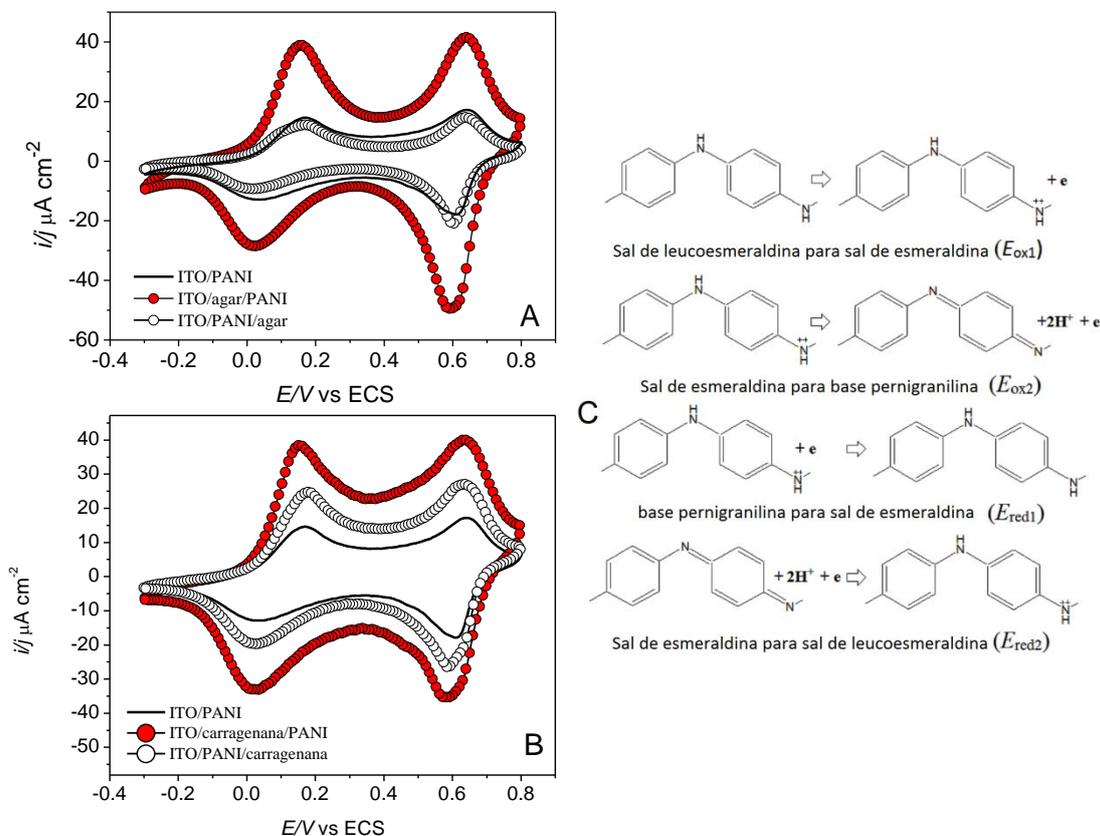


(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Em etapa seguinte, foram preparados filmes bicamadas de PANI em conjunto com os polissacarídeos empregados como polieletrólitos aniônicos, em duas sequências distintas de deposição ITO/PANI/polissacarídeo e ITO/polissacarídeo/PANI, com o objetivo de estudar o efeito desse parâmetro na resposta eletroquímica dos filmes propostos, Figura 4. Para efeitos comparativos, a resposta do filme de apenas ITO/PANI também é mostrada.

Figura 4. Voltamogramas cíclicos obtidos para filmes bicamadas de PANI e polissacarídeos, depositados sobre ITO, em duas sequências distintas de deposição; A) ITO/ágar/PANI e ITO/PANI/ágar, B) ITO/carragenana/PANI e ITO/PANI/carragenana.

Todas as medidas foram realizadas em HCl 0,1 mol L⁻¹ à $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. A Figura 4C mostra o mecanismo redox da PANI (adaptado de SONG e CHOI 2013).



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Todos os voltamogramas mostrados nas Figuras 4A e 4B exibem os processos redox característicos do polímero condutor, PANI, os quais já estão bem descritos na literatura (MATTOSO, 1996). Durante a varredura direta observa-se a transição da forma de sal de leucoesmeraldina (SLE), da PANI, para sal de esmeraldina (SE), $E_{ox1} = +0,15\text{V}$ e, posteriormente, a conversão do estado SE para base pernigranilina (BPG), que ocorre no potencial de $+0,64\text{V}$ (E_{ox2}) totalizando dois picos de oxidação. Durante a varredura inversa o polímero responde a perturbação imposta exibindo dois picos de redução caracterizando a mudança de BPG para SE, na região de aproximadamente $0,6\text{V}$ e a transição de SE para SLE em $-0,02\text{V}$.

Os resultados revelaram que nenhum dos polissacarídeos empregados na formação dos filmes à base de PANI, suprime a eletroatividade deste material, independente da sequência de deposição adotada, Figura 4. Este mesmo efeito foi anteriormente observado para filmes de PANI preparados em conjunto a goma do

Cajueiro (*Anacardium occidentale*) (BARROS *et al.*, 2012) e também para filmes de POMA, um derivado da Polianilina, intercalada com as gomas do chicha (*Sterculia striata*) e do angico (*Anadenanthera macrocarpa*) (EIRAS *et al.*, 2007).

Outra vantagem da utilização do ágar e da carragenana em conjunto com a PANI foi o fato de ambos biopolímeros, atuarem protegendo a PANI da degradação ácida promovida pelo eletrólito suporte (HCl 0,1 mol L⁻¹), durante sucessivas varreduras. Resultados melhor discutidos na seção 4.2.1.

Ainda na Figura 4, é possível observar o efeito da sequência de deposição na formação dos filmes bicamadas mostrando uma relação direta com a resposta de corrente obtida para os filmes. Para os dois polissacarídeos estudados, foram obtidos maiores valores de densidade de corrente para os filmes que tiveram a monocamada de PANI adsorvida como camada mais externa, ou seja, filmes de ITO/ágar/PANI e ITO/carragenana/PANI, Figuras 4A e 4B, respectivamente. Em ambos os casos, observou-se que a deposição prévia de uma monocamada do polissacarídeo (ágar ou carragenana) disponibiliza mais sítios ativos para a adsorção da PANI, adsorvida em etapa posterior. Dessa forma, uma maior quantidade de polianilina é adsorvida durante o mesmo tempo de deposição, simplesmente pela modificação prévia do ITO com o polissacarídeo.

Na Figura 4, observa-se ainda que, o efeito da sequência de deposição é mais relevante para o caso em que o polissacarídeo empregado foi o ágar, Figura 4A. Além disso, filmes de ITO/ágar/PANI mostraram maiores valores de densidade de corrente nas respostas eletroquímicas, além de uma excelente definição dos processos redox da PANI. Essa melhora na definição dos processos redox registrados no voltamograma ocorre em decorrência da presença do ágar no filme, para as duas sequências de deposição avaliadas, proporcionar uma diminuição da corrente capacitiva na interface filme/eletrólito, possibilitando um melhor sinal de corrente faradaica, refletindo assim, na melhor definição dos processos redox intrínsecos da PANI, Figura 4A. Este resultado provavelmente se deve a maior rugosidade do filme de ITO/ágar/PANI, conforme será mostrado na seção 3.4 pelos resultados obtidos por Microscopia de Força Atômica.

3.2.1. Influência dos polissacarídeos na estabilidade eletroquímica dos filmes

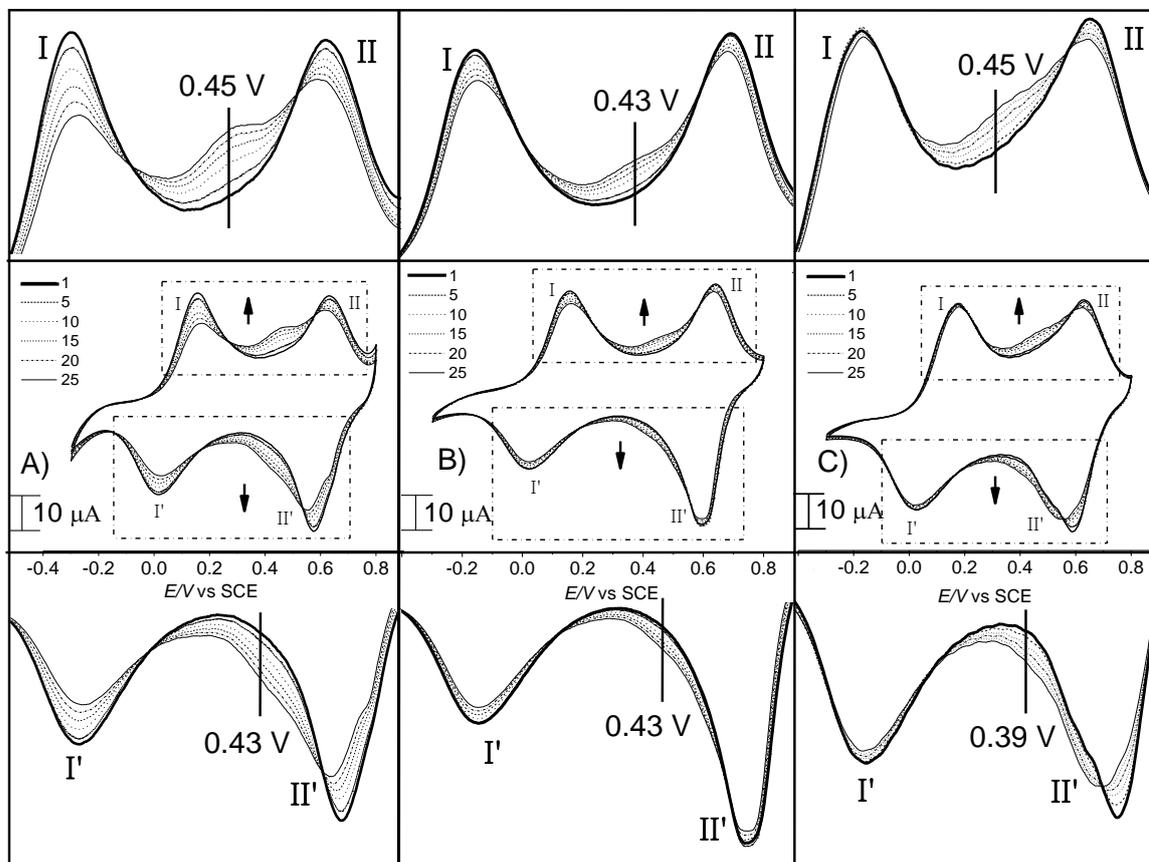
É importante que os sistemas *LbL* desenvolvidos possuam estabilidade para possibilitarem aplicações em dispositivos elétricos ou eletroquímicos, como sensores,

por exemplo. A estabilidade eletroquímica é bastante importante, pois influenciará diretamente na reprodutibilidade e usabilidade do sensor.

Existe na literatura um grande número de aplicações para sensores constituídos por filmes de PANI, entretanto, a sua comercialização ainda é um desafio, devido ao efeito de envelhecimento, a baixa estabilidade eletroquímica da PANI e a falta de técnicas de deposição otimizadas (DHAND *et al.*, 2011).

Neste sentido, buscou-se avaliar se os polissacarídeos intercalados em conjunto com a PANI na forma de filme *LbL*, melhoram ou não a estabilidade eletroquímica do polímero condutor. Para estes estudos, os filmes bicamadas foram preparados adsorvendo-se a PANI como camada mais externa (ITO/ágar/PANI e ITO/carragenana/PANI), Figura 5, sistema otimizado. Para efeitos comparativos também foi estudada a estabilidade eletroquímica de um filme bicamada de ITO/PVS/PANI, Figura 5A, ou seja, em que houve a substituição dos polissacarídeos pelo polivinil sulfonato de sódio - PVS, um polieletrólito aniônico e sintético, de uso comum na formação de filmes *LbL* à base de PANI. Os filmes de ITO/PVS/PANI foram preparados sob as mesmas condições empregadas para os filmes de polissacarídeos/PANI. Vale ressaltar que o estudo de estabilidade eletroquímica foi realizado com filmes de apenas uma bicamada, onde o número de varreduras variou de 1 a 25 ciclos para todos os casos.

Figura 5. Voltamogramas cíclicos obtidos durante o estudo da estabilidade eletroquímica dos filmes de A) ITO/PVS/PANI, B) ITO/ágar/PANI e C) ITO/carragenana/PANI. Ambos obtidos em HCl 0,1 mol L⁻¹ à $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$ sob sucessivas varreduras de potencial variando de 1 até 25 ciclos.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

A Figura 5 apresenta os voltamogramas obtidos no teste de estabilidade eletroquímica dos filmes desenvolvidos. Observa-se que a medida em que a PANI é ciclada repetidamente em meio ácido, ocorre o surgimento de um par redox intermediário na região de 0,4 V vs ECS, o qual está relacionado com a degradação ácida e irreversível da PANI. Este par redox é característico dos grupos benzoquinona e hidroquinona presentes nos produtos de degradação da PANI (DHAND *et al.*, 2011; HUANG *et al.*, 1986).

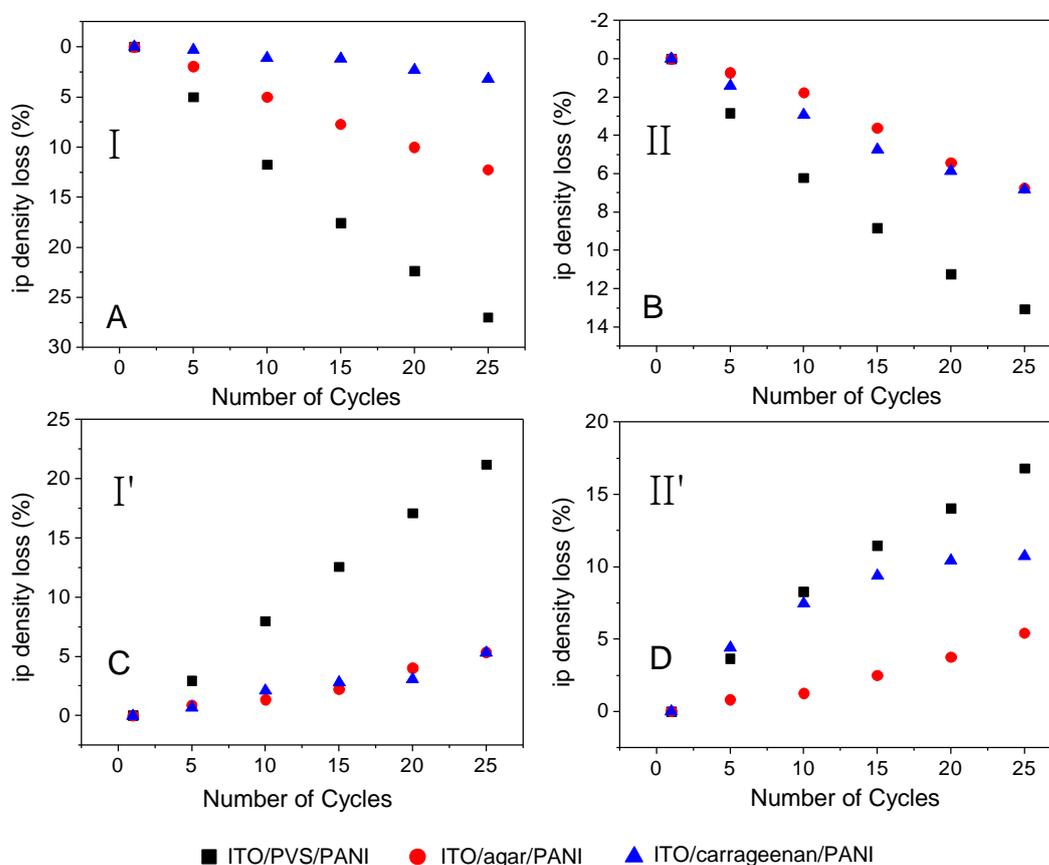
Os filmes bicamada formados pela imobilização conjunta da PANI com os polissacarídeos (ITO/ágar/PANI e ITO/carragenana/PANI, Figuras 5B e 5C, respectivamente) mostram uma redução no processo de degradação ácida da polianilina

e aumentam a estabilidade dos picos de seus processos redox, quando comparados com o filme de ITO/PVS/PANI, Figura 5A. Diante destes resultados, podemos inferir que os polissacarídeos promovem um aumento da estabilidade da polianilina durante as varreduras sucessivas em meio ácido. Este mesmo efeito promovido pela presença do ágar e da carragenana presentes no filme, também foi descrito para filmes multicamadas de PANI e goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) (BARROS *et al.*, 2012) e filmes de POMA com gomas chichá (*Sterculia striata*) e angico (*Anadenanthera macrocarpa*) (EIRAS *et al.*, 2007). Como observado em estudos utilizando-se outros polissacarídeos naturais (BARROS *et al.*, 2012, EIRAS *et al.*, 2007), o ágar e a carragenana atuam como uma espécie de antioxidante para a Polianilina, uma vez que reduz o efeito de degradação ácida observado para a PANI, o qual ocorre devido ao elevado potencial de polarização e o eletrólito de HCl utilizado. É importante notar que a atividade antioxidante de polissacáridos de algas pode variar dependendo do peso molecular, composição de monossacarídeos e grupos funcionais presentes (JIAO *et al.*, 2011, QI *et al.*, 2005). Os principais grupos destes polissacáridos que têm demonstrado boa atividade antioxidante são: éster de sulfato, ácido urónico, amina, hidroxila (JIAO *et al.*, 2011), grupos fosfato (ZHANG *et al.*, 2009) e grupos sulfato (JIAO *et al.*, 2011, QI *et al.*, 2005; SOUZA *et al.* 2007; ZHANG *et al.*, 2009). É possível que os grupos sulfatos e hidroxilas presentes em ambos o agar e a carragenana sejam os responsáveis pelos efeitos relatados.

Outro resultado interessante observado foi que, para o filme de ITO/ágar/PANI, Figura 5B, não houve o deslocamento de potenciais do processo II' da PANI com o aumento do número de ciclos, como foi observado para os demais sistemas, Figura 5AC. Este efeito pode estar relacionado com a estabilidade eletroquímica dos filmes. O fato de que essas mudanças não foram observadas para o filme de ITO/agar/PANI indica que este filme tem uma maior estabilidade eletroquímica que os outros, uma vez que estas mudanças no potencial pode estar relacionada com o reajuste da interface filme/eletrólito durante as varreduras sucessivas.

No intuito de realizar uma investigação de caráter quantitativo em relação à estabilidade dos filmes produzidos, foram construídos gráficos mostrando o percentual da perda de intensidade dos picos de corrente para cada processo da PANI, presente em cada filme estudado, em função do número de ciclos, Figura 6.

Figura 6. Perda de densidade da corrente de pico (ip) em função do número de ciclos para os processos anódicos da PANI (A e B) e seus respectivos processos catódicos (C e D).



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

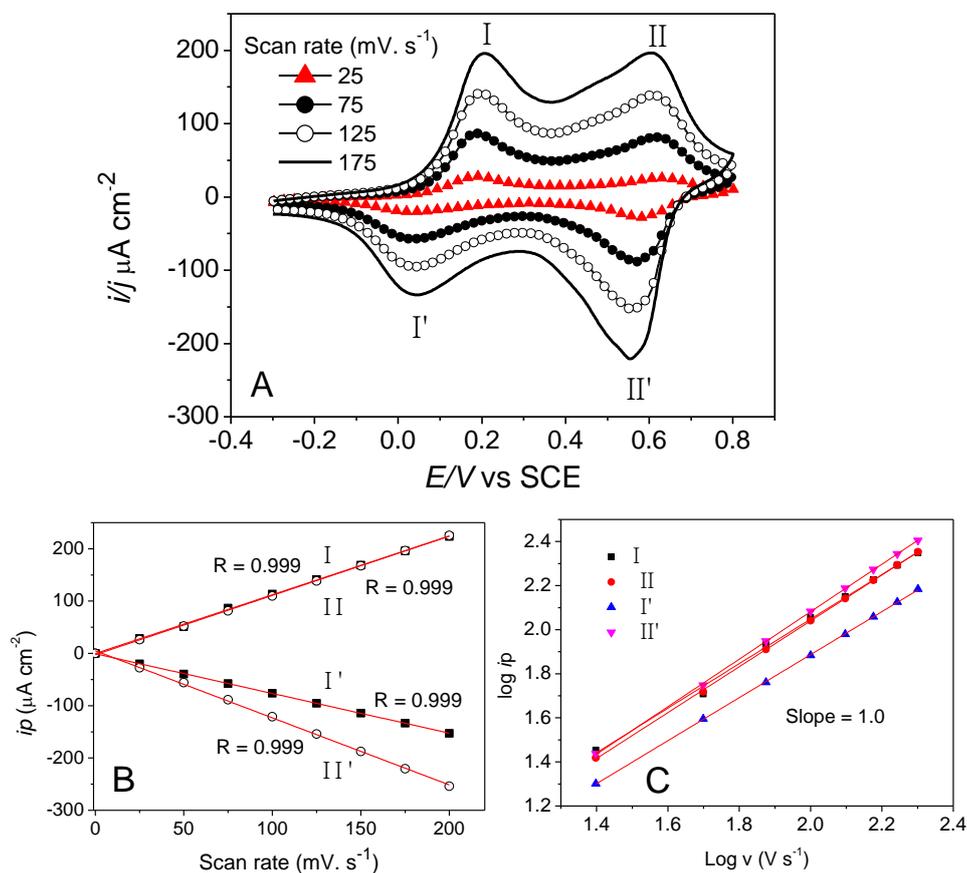
A Figura 6 confirma que é mais vantajoso utilizar os polissacarídeos naturais para construção dos filmes de interesse, ao invés do PVS. Todos os processos anódicos e catódicos da PANI tiveram menor percentual de perda de corrente em função do número de ciclos, quando comparados aos filmes de ITO/PVS/PANI. No caso do primeiro processo de oxidação da PANI (I), Figura 6A, o filme de ITO/carragenana/PANI perdeu apenas 3% de resolução enquanto que os filmes de ITO/ágar/PANI e ITO/PVS/PANI perderam em torno de 12 e 28%, respectivamente. Para o segundo processo de oxidação (II), Figura 6B, os filmes constituídos pelos polissacarídeos perderam 6% de sua resolução enquanto que o filme contendo o PVS decresceu a corrente em até 13% de seu total. No caso dos processos catódicos, no processo de redução I', Figura 6C, houve perda de resolução de pico de até 5% quando os polissacarídeos foram empregados. Entretanto, quando estes polissacarídeos foram

substituídos pelo PVS, a perda de corrente de pico foi de até 23%. A estabilidade do processo catódico II', Figura 6D, foi mais afetada pelo uso da carragenana e do PVS, sendo que este último foi responsável pela perda de resolução do pico em até 17%, após os 25 ciclos de varredura. A partir desta análise podemos inferir que os filmes de ITO/polissacarídeos/PANI podem ser 2 ou até 3 vezes mais estáveis que os filmes de ITO/PVS/PANI.

3.2.2. Estudo da velocidade de varredura e influência do número de bicamadas na resposta eletroquímica dos filmes

O estudo do efeito da velocidade de varredura para o filme de ágar/PANI é mostrado na figura 7A. A relação linear entre a velocidade de varredura e a corrente de pico para cada processo redox da PANI é mostrada na Figura 7B. Esta linearidade confirma a estabilidade termodinâmica do filme dentro das condições experimentais (KELLY *et al.*, 2007). Esta correlação sugere ainda que a propagação de cargas na interface eletrodo/solução acontece de forma regular e que os processos eletroquímicos são governados principalmente por transferência de cargas, uma vez que a relação de i_p vs v mostrou um coeficiente de correlação linear de $r = 0,999$ para todos os casos (XIE *et al.*, 2008; PRUNEAN *et al.*, 1999). Os resultados também sugerem que a PANI está fortemente adsorvida na superfície do eletrodo, uma vez que a relação entre \log de v vs $\log i_p$ revelou um coeficiente angular de 1,0 para todos os casos, Figura 07 C (BARD e FAULKNER, 2001). Vale ressaltar ainda que, resultados similares foram obtidos quando ao invés do ágar utilizou-se a carragenana (resultados não mostrados aqui).

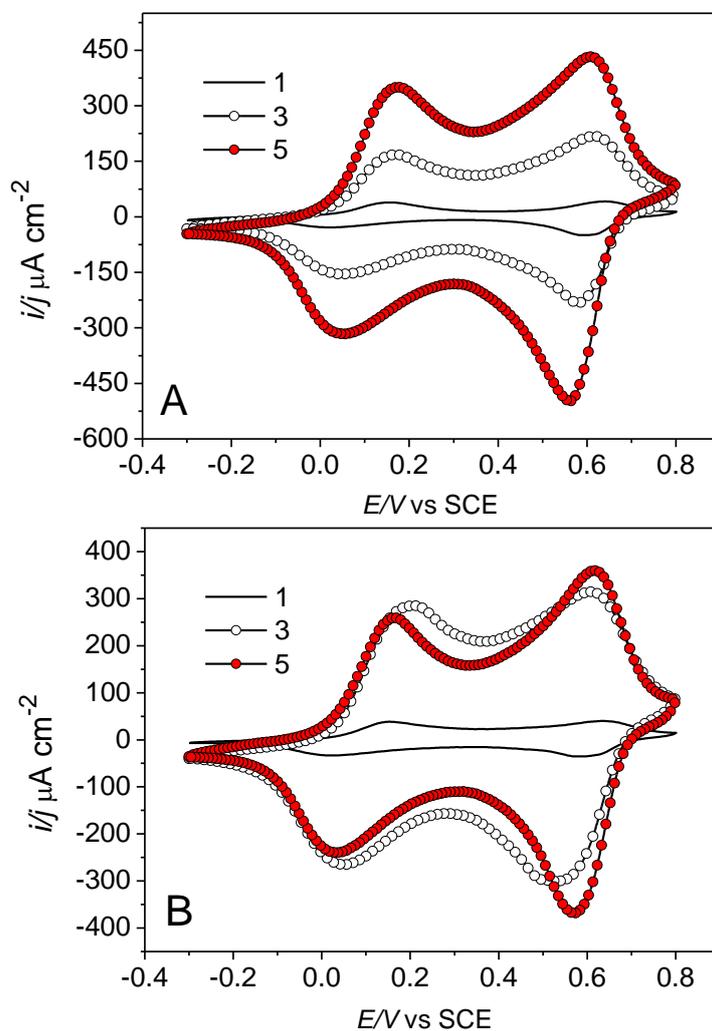
Figura 7. A) Voltamogramas cíclicos obtidos para o filme ITO/ágar/PANI sob diferentes velocidades de varredura e B) correlação linear observada para os valores de corrente em função das velocidades estudadas. Toda as medidas foram realizadas em HCl 0,1 mol L⁻¹. C) mostra a relação entre log de v vs log i_p .



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Na Figura 8 é possível observar a influência do número de bicamadas na resposta eletroquímica dos filmes. Para o filme de ITO/ágar/PANI foi observado que a corrente aumenta com o número de bicamadas depositadas. Entretanto, para o filme ITO/carragenana/PANI, após a terceira bicamada parece haver uma saturação do sistema, mostrado através da diminuição da densidade de corrente obtida para o filme preparado com cinco bicamadas.

Figura 8. Resposta obtida para os filmes de A) ITO/ágar/PANI e B) ITO/carragenana/PANI, preparados a partir de 1, 3 e 5 bicamadas. Voltamogramas obtidos em HCl 0,1 mol L⁻¹ à 50 mV s⁻¹.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

3.3. Caracterização espectroscópica na região do Ultravioleta Visível (UV-VIS)

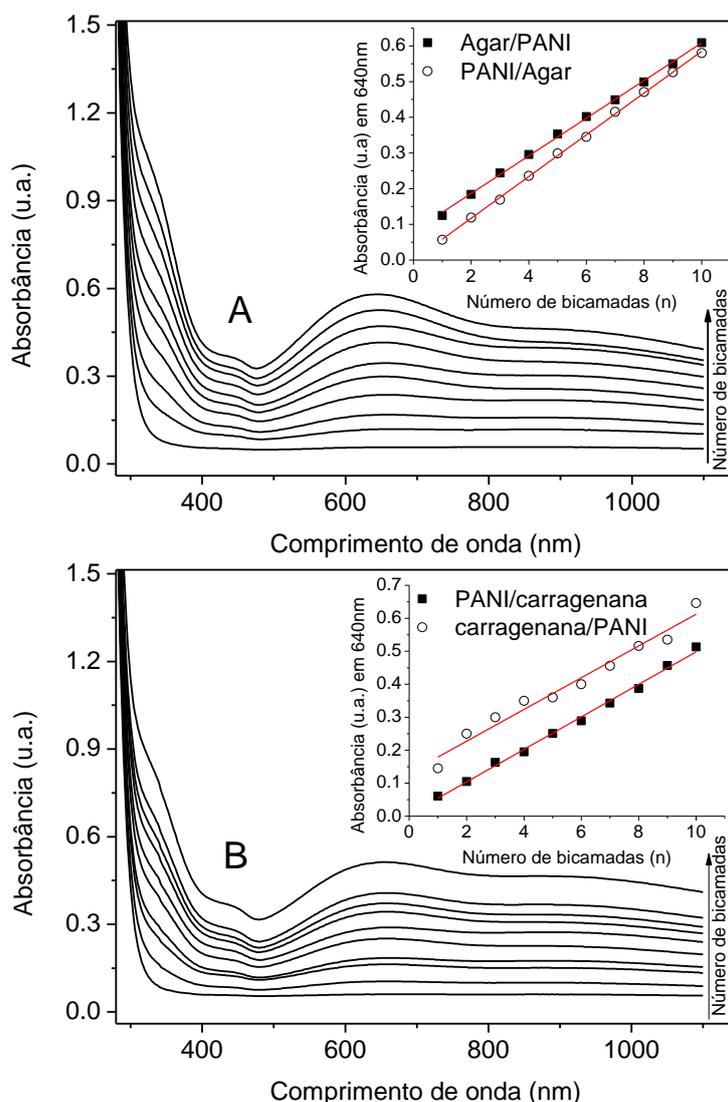
A PANI em sua forma de sal de esmeraldina, a qual foi utilizada neste trabalho, apresentou duas bandas principais de absorção, uma em 335 nm e outra em 640 nm. A banda observada na região de 335 nm é atribuída à transição π - π^* dos anéis benzênicos enquanto que a banda em 640 nm é atribuída à transição n - π^* dos anéis quinóides do polímero condutor (FU e WEISS, 1997; KAVITHA *et al.*, 2012). Os filmes automontados propostos apresentaram ainda bandas na região de 400 e 900 nm, sendo esta última observada apenas no caso dos filmes constituídos por carragenana e PANI.

Ambas as bandas de absorção estão atribuídas às transições polarônicas na PANI, confirmando suas características condutoras (CAO *et al.*, 1989; BHAT *et al.*, 2002).

Em consequência da banda de absorção em 640 nm apresentar-se em todos os casos e por aparecer mais intensa nos espectros, esta foi tomada como base nos estudos espectroscópicos de cinética de crescimento do filme, uma vez que a técnica de absorção na região do UV-VIS permite acompanhar a formação de filmes automontados, relacionando o valor da absorbância do pico máximo, que ocorre no comprimento de onda característico das moléculas absorvedoras presentes no filme, com a espessura do mesmo (lei Beer-Lambert), indicando a continuidade do processo de adsorção a cada etapa de deposição (SKOOG *et. al.*, 2006)

A Figura 9A mostra os espectros obtidos para o filme de ágar/PANI em função do número de bicamadas adsorvidas (variando de 1 a 10). No *inset* da figura 9A é apresentada a relação linear entre a absorbância em 640 nm e número de bicamadas adsorvidas (n), para ambas as arquiteturas inicialmente propostas (PANI/ágar e ágar/PANI). Na Figura 9B encontram-se os espectros obtidos para o filme de carragenana/PANI em função do número de bicamadas e também o *inset* mostrando a relação de (n) com a absorbância em 640 nm para as sequências carragenana/PANI e PANI/carragenana.

Figura 9. Cinética de formação dos filmes finos de A) ágar/PANI e B) carragenana/PANI sobre lâminas de vidro comum (BK7) com $n = 10$. As curvas *Inset* mostram a relação entre absorbância em 640 nm com o número de bicamadas adsorvidas (n) para as sequências de deposição polissacarídeo/PANI e PANI/Polissacarídeo.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Em concordância com os resultados já mostrados por voltametria cíclica, as medidas de espectroscopia de UV-VIS mostraram que a sequência de deposição com maiores valores de absorbância foi aquela em que o polímero condutor foi adsorvido após prévia modificação do substrato com o polissacarídeo, seja ele o ágar ou a carragenana.

Para os filmes de ágar e PANI automontados sobre o BK7, foi observado que estes sistemas são altamente regulados, ou seja, a quantidade de material adsorvido é praticamente a mesma em cada etapa de adsorção empregada (ver índice de correlação (R) no *inset* da Figura 9A). Este mesmo comportamento foi anteriormente relatado para filmes constituídos por PVS e PANI (SANTOS *et al.*, 2012). No caso dos filmes preparados sob o uso da carragenana e da PANI, Figura 9B, foi observada menor correlação linear (R) para a sequência de deposição carragenana/PANI (Ver *inset* figura 9B).

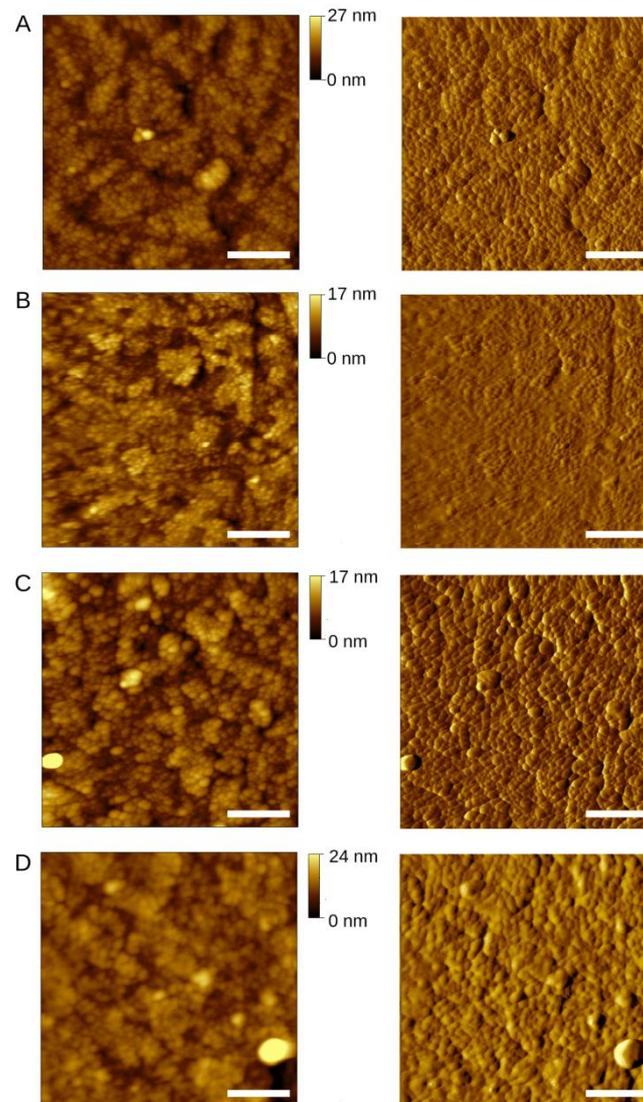
Diante dos resultados obtidos por Voltametria Cíclica e UV-VIS, podemos inferir que o mecanismo de adsorção e as interações ocorrentes entre os filmes de ágar com PANI são diferentes daqueles que ocorrem nos filmes de carragenana com PANI. Sendo assim, acreditamos que as interações entre os polissacarídeos e a PANI provavelmente não sejam limitadas por interações eletrostáticas, como foi proposto inicialmente.

3.4. Caracterização morfológica por microscopia de força atômica (AFM)

A microscopia de força atômica foi usada para examinar os filmes produzidos, e para quantificar a sua rugosidade de superfície. Inicialmente, como controle, estudou o substrato de ITO, e, em seguida, as monocamadas de PANI, carragenana e agar. Imagens representativas são mostradas na Figura 10. Os eletrodos de ITO apresentam uma microestrutura bem conhecida e altamente característica, que já foi observada anteriormente por AFM, como por exemplo, em EATON e WEST (2010). Esta estrutura, mostrada na Figura 10A, consiste em “ilhas rasas”, cada uma cobrindo áreas de 100 nm^2 até $1 \text{ }\mu\text{m}^2$ constituídas de grãos globulares muitos pequenos ($<40 \text{ nm}$), que estão acima de grãos globulares semelhantes, situados em um nível inferior. A estrutura da monocamada de PANI foi reconhecidamente muito semelhante a do ITO sozinho, embora não tenha exibido algumas características globulares maiores vistas no ITO (Figura 10B). A estrutura dos filmes monocamada de carragenana também foi muito semelhante a do ITO, (Figura 10C), possivelmente, até mesmo mais do que a de monocamada de PANI. Por outro lado, o filme monocamada de agar exibiu uma estrutura bastante diferente, com a estrutura de "ilha" pouco disfarçada (presumivelmente devido à deposição do ágar nos espaços entre as ilhas), e mais glóbulos dispersos aleatoriamente, de diâmetro maior do que os observados em ITO. No

geral, os filmes monocamada de carragenana e de PANI foram bastante semelhantes ao ITO, enquanto que o filme monocamada de agar mostrou uma morfologia distinta. Nós interpretamos isso como uma indicação de que os filmes monocamada de PANI e de carragenana depositam consideravelmente menos material sobre a superfícies do ITO. Os dados de rugosidade apoiam esta observação, pois os filmes monocamada de PANI e carragenana exibiram rugosidade semelhante ao ITO, enquanto que para a monocamada de agar foi quase o dobro (Tabela 2).

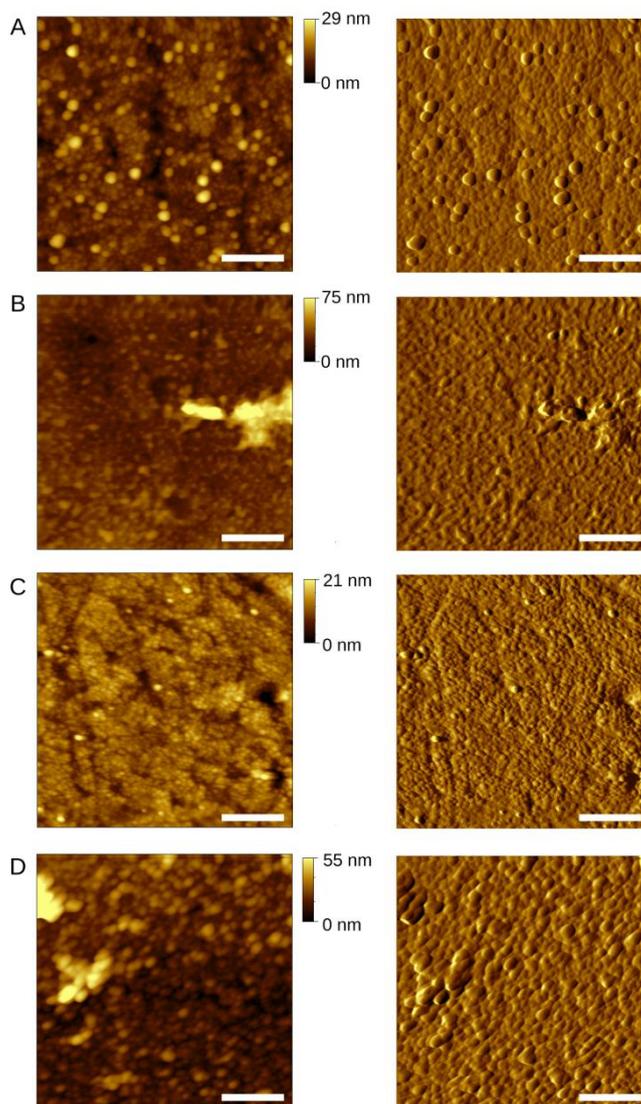
Figura 10. Imagens obtidas por AFM no modo intermitente para A) ITO ,e ITO modificado com uma monocamada de B) PANI, C) carragenana e D) ágar. As imagens da esquerda são imagens de altura e as da direita de amplitude. Todas as imagens cobrem uma área xy de $2 \times 2 \mu$. A escala no canto inferior direito corresponde a 500 nm.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Uma vez que estudamos os filmes bicamada, observamos resultados bastante diferentes (Figura 11). A Figura 11 mostra imagens representativas de filmes bicamadas de ITO/PANI/carragenana ou ITO/carragenana/PANI e ITO/PANI/agar ou ITO/agar/PANI. Em combinação com os valores de rugosidade mostrados na Tabela 2, estas imagens são bastante instrutivas. Em geral, as imagens dos filmes bicamada mostraram maiores diferenças em comparação com o substrato de ITO do que os filmes monocamada, exibindo características globulares maiores em várias áreas, e em muitas imagens a estrutura de "ilha" do ITO completamente ausente. No caso dos filmes onde o polissacárido foi adsorvido primeiramente, características adicionais foram observadas, ou seja, observaram-se grandes aglomerados globulares espalhados por todo o filme. Estes podem ser vistos nas Figuras 11 B e D. Em ambos os casos, as imagens em altura, aparecem com uma grande quantidade de características brancas, e as escalas de cor (altura) para estas imagens são muito mais elevadas do que aquelas das imagens dos filmes em que a PANI foi adsorvida primeiramente (Fig. 11 A e C). Estes resultados sugerem a deposição de uma quantidade crescente de material nestes filmes. Esta observação também se reflete nos valores de rugosidade, os filmes de ITO/polissacarídeo/PANI apresentaram valores médios de rugosidade de 5,2 nm e 6,6 nm, quando o polissacarídeo foi a carragenana ou o agar, respectivamente, em comparação com 3,2 nm e 2,1 nm para os filmes onde a PANI foi depositada primeiro. O aumento da rugosidade decorre sem dúvida da presença dos agregados de polímero distribuídos em toda a superfície.

Figura 11. Imagens de AFM obtidas no modo intermitente para os filmes de 1 bicamada de A) ITO/PANI/carragenana, B) ITO/carragenana/PANI, C) ITO/PANI/agar e D) ITO/agar/PANI. As imagens da esquerda são imagens de altura e as da direita de amplitude. Todas as imagens têm tamanho xy de $2 \times 2 \mu$. A escala no canto inferior direito corresponde a 500 nm.

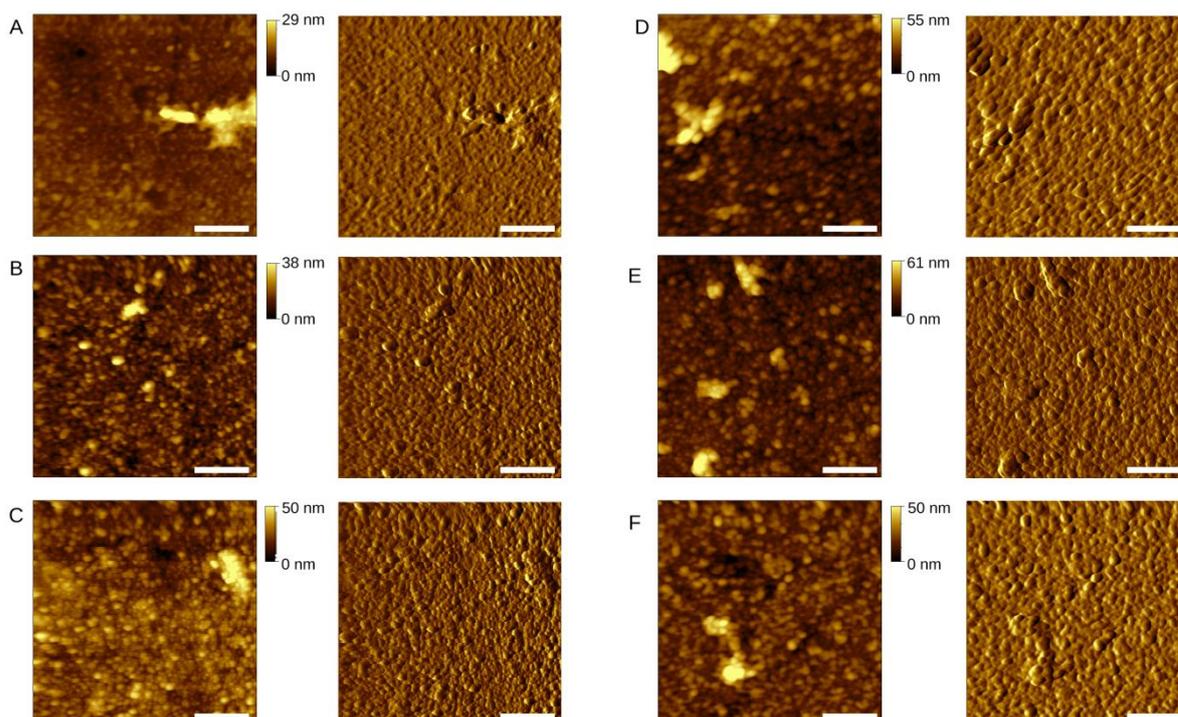


(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Imagens representativas de filmes multi-bicamadas são mostradas na Figura 12. À primeira vista, não há nenhuma tendência específica aparente nessas imagens, os filmes multi-bicamadas exibiram morfologia semelhante ao de uma única bicamada. No entanto, a rugosidade nos filmes multicamadas contendo o agar aumentou, ao contrário dos filmes multicamadas contendo a carragenana. Esta observação está correlacionada tanto com as imagens, que mostrou um aumento no número de agregados globulares

sobre as multicamadas de agar, como com o aumento do número de bicamadas adsorvidas (Fig. 12 D, E, e F).

Figura 12. Crescimento dos filmes de ITO/carragenana/PANI em A) 1 B) 2 e C) 3 bicamadas e dos filmes de ITO/ágar/PANI em D) 1, E) 2 e F) 3 bicamadas. As imagens da esquerda são imagens de altura e as da direita de amplitude. Todas as imagens têm tamanho xy de $2 \times 2 \mu$. A escala no canto inferior direito corresponde a 500 nm.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

No geral, os estudos de topografia e rugosidade dos filmes por AFM apoiaram as conclusões anteriores, retiradas dos resultados eletroquímicos, que a ordem de deposição afeta fortemente a quantidade de material adsorvido: a deposição do polissacarídeo antes da PANI promoveu um grande aumento na quantidade de material adsorvido. Além disso, o uso desses dois polissacáridos em conjunto com a PANI, mostrou-se ser um método de deposição superior em comparação com o filme de apenas PANI (monocamada), apoiando a proposta de que a utilização de camadas alternadas (filmes *LbL*), pode dar um efeito sinérgico, um aumento da deposição e melhorar a estrutura do filme. Quanto a este último ponto, é interessante notar que os resultados obtidos por AFM mostraram que, apesar das multicamadas terem coberto totalmente a superfície do ITO, não foi uma distribuição homogênea de material na escala de

tamanho investigada. Isto está em nítido contraste com os resultados de UV-Vis, que mostram uma deposição extremamente linear, reproduzível a medida que o número de camadas aumenta. Presumivelmente, isto se deve às pequenas áreas sondadas pelo imagiologia AFM. Enquanto que na escala de AFM a deposição parece desigual, cobrindo toda a lâmina (cuja área era tipicamente cerca de 107 vezes maior do que as imagens mostradas aqui), a deposição desses agregados poliméricos deve ter sido muito equilibrada e altamente reproduzível, uma vez que os resultados obtidos por UV-Vis sugerem que massas quase idênticas foram depositados em cada etapa de adsorção.

A espessura dos filmes também foi determinada por AFM. Filmes contendo quatro bicamadas de ITO/agar/PANI ou ITO/carragenana/PANI apresentaram espessura de cerca de $27,1 \pm 5,2$ nm e $31,3 \pm 7,3$ nm, respectivamente. Uma vez que os filmes produzidos mostraram um aumento linear com o aumento do número de bicamadas (Figura 9), podemos estimar que os filmes de ITO/agar/PANI e ITO/carragenana/PANI crescem cerca de aproximadamente, 7nm e 8nm, respectivamente, por bicamada adsorvida.

Tabela 2. Dados de rugosidade média calculada para os filmes a partir dos resultados obtidos por AFM.

Filme	(rugosidade média)/ nm	Distinção comparada ao ITO
ITO	2.5	-
Monocamada de PANI	2.4	+
Monocamada de carragenana	2.1	-
Monocamada de ágar	4.3	+
1 Bicamada de PANI/carragenana	3.2	++
1 Bicamada de carragenana/PANI	5.2	+++
2 Bicamadas de carragenana/PANI	4.7	+++
3 Bicamadas de carragenana/PANI	5.6	+++
1 Bicamada de PANI/ágar	2.1	++
1 Bicamada de ágar/PANI	6.6	+++
2 Bicamadas de ágar/PANI	10.0	+++
3 Bicamadas de ágar/PANI	9.8	+++

(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

3.5. Aplicações em sensores para detecção de Cromo (VI)

O cromo (Cr) é um dos elementos mais utilizados nas atividades industriais de revestimento e galvanoplastia, fabricação de ligas metálicas, indústrias de material de tintura, curtimento de couro e tratamento da madeira (SAMANIA *et al.*, 2010). Este metal pode ser encontrado em vários estágios de oxidação, sendo os mais frequentes o Cr(III) e o Cr(VI) (KHAH *et al.*, 2012).

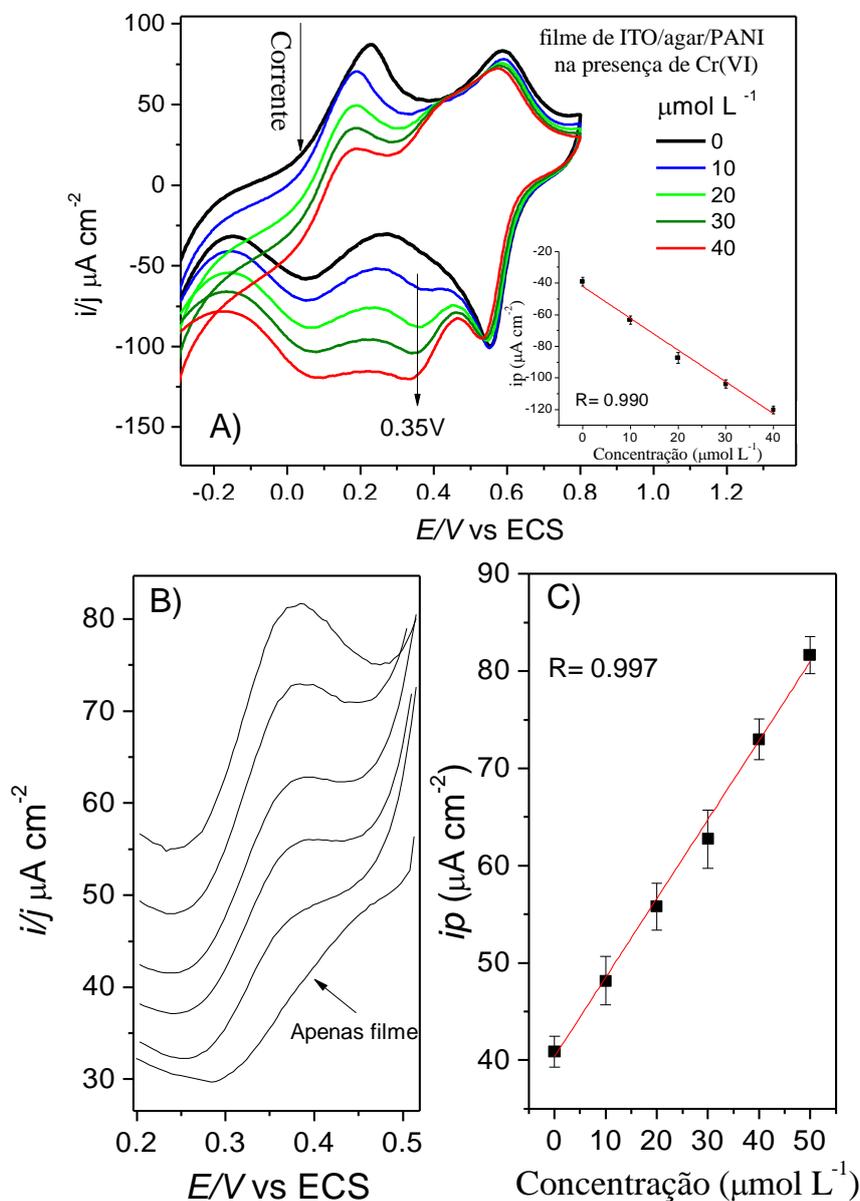
O Cr(III) é pouco solúvel e considerado um micronutriente essencial na atividade biológica, enquanto que o Cr(VI) é bastante solúvel e altamente tóxico, mesmo à baixas concentrações, podendo inclusive causar efeitos mutagênicos e carcinogênicos (O'BRIEN *et al.*, 2003).

Na literatura existem diversos trabalhos sob o emprego de PANI para a remoção de Cr(VI) de meio aquoso (KRISHNANI *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2005; YAVUZ *et al.*, 2011; KUMAR e CHAKRABORTY, 2009), devido à importância ambiental deste metal. Entretanto, há poucos trabalhos sobre o uso deste polímero na detecção e quantificação eletroquímica direta do Cr(VI). Neste sentido, propomos avaliar a eficiência dos filmes desenvolvidos nesta pesquisa como sensores eletroquímicos para detecção do Cr(VI), Figura 13.

Na figura 13A é possível observar os resultados obtidos por Voltametria Cíclica, onde alíquotas do Cr(VI) foram adicionadas à célula eletroquímica e a resposta do filme de ITO/ágar/PANI foi observada. Na medida em que ocorre a oxidação da PANI em 0,19 V (primeiro processo de oxidação o qual está relacionado com a transição da forma leucoesmeraldina para esmeraldina), o Cr(VI) se liga a PANI, dando origem a uma nova onda voltamétrica na região de 0,35V, a qual pode ser atribuída ao complexo Cr(VI)-PANI. Com o aumento da concentração do metal, observou-se a diminuição do primeiro pico catódico do polímero condutor e conseqüentemente o aumento da corrente de pico observada na região de 0,35 V.

Na figura *inset* da figura 13A são mostrados os valores de corrente obtidos em 0,35 V em função da concentração do Cr(VI) presente na célula, resultando em um comportamento linear, demonstrando assim que o filme tem potencial para a determinação do metal de interesse em meio aquoso.

Figura 13. Resultados obtidos nos testes de detecção do Cr(VI) por A) voltametria cíclica à $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, B) voltametria de pulso diferencial e C) curva analítica obtida através da voltametria de pulso diferencial. Medidas realizadas em tampão fosfato $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ pH 1,5 (Ajustado com ácido fosfórico).



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Em etapa seguinte, testou-se a determinação do Cr(VI) por uma técnica mais sensível, como a voltametria de pulso diferencial (VPD). A figura 13B mostra os voltamogramas obtidos para o filme de ITO/ágar/PANI na presença e ausência do metal, onde neste caso observou-se que o filme não mostra nenhum processo redox no

intervalo de potencial estudado. Ao adicionar o Cr(VI) na célula, houve o aumento da corrente de pico em função do aumento da concentração do Cr(VI) no meio analítico, Figura 13B, de forma que esta relação foi linear, Figura 13C. É importante ressaltar que concentrações acima de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ estão fora da linearidade do sistema devido à ocorrência da saturação da superfície eletródica com o metal. O LD (limite de detecção) e o LQ (Limite de quantificação) calculados através da curva analítica obtida (Figura 13C) foram de $2,48 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $7,51 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. Na Tabela 3 é possível observar o LD calculado para a curva de calibração obtida, em comparação com outros sensores eletroquímicos de cromo(VI) encontrados na literatura.

Tabela 3. LD e faixa de linearidade encontrados para o sensor de Cr(VI) deste trabalho e comparação com demais sensores encontrados na literatura.

Eletrodo usado	LD (mol L^{-1})	Faixa linear (mol L^{-1})	Referência
Filme LbL de ITO/agar/PANI	2.48×10^{-6}	2.48×10^{-6} to 50.0×10^{-6}	Este trabalho (Figura 13 C)*
ITO modificado com nanopartículas de Au	0.1×10^{-6}	0.5×10^{-6} to 50.0×10^{-6}	Tsai e Chen (2008)
Membrana eletrolítica preparada a partir de fosfato de tributíla	1.0×10^{-5}	1.0×10^{-4} to 1.0×10^{-1}	Zazoua <i>et al.</i> (2008)
Eletrodos serigrafados modificados com L-3,4-dihidroxifenilalanina	0.11×10^{-6}	0.19×10^{-6} to 2.4×10^{-6}	Banerjee e Sarkar (2011)
Eletrodos de mercúrio modificados com o complexo Cu-Adenina	0.04×10^{-6}	0.10×10^{-6} to 2.3×10^{-6}	Safavi <i>et al.</i> (2006)

*Calculado referente às análises efetuadas com os filmes de ITO/agar/PANI

(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Preliminarmente, propomos aplicações em sensores eletroquímicos para detecção do Cr(VI), porém, as propriedades dos filmes desenvolvidos revelaram que esses filmes, principalmente o filme de ágar/PANI, têm enorme potencial para aplicação em outros tipos de sensores ou em dispositivos de outra natureza. Acreditamos que o PVS possa ser satisfatoriamente substituído tanto pelo ágar, quanto pela carragenana no estudo e aplicabilidade de filmes finos automontados, pois além de tratar-se de polímeros obtidos de fontes naturais, são de baixo custo e ainda melhoram a estabilidade eletroquímica da PANI.

4. CONCLUSÕES

Filmes finos *LbL* de PANI foram preparados em conjunto com ágar ou carragenana, polímeros naturais extraído da parede celular de macroalgas vermelhas. A forma de preparo desses filmes tem efeito marcante nas propriedades finais dos mesmos. Observou-se que tanto o ágar quanto a carragenana melhoram a estabilidade eletroquímica da PANI, atuando como uma espécie de antioxidante para o polímero. Os resultados obtidos por UV-VIS mostraram que os filmes de ágar/PANI são sistemas altamente regulados e, que a espessura do filme pode ser controlada pelo número de bicamadas adsorvidas. As análises realizadas por AFM confirmaram os resultados obtidos por VC e UV-VIS, além de mostrarem que a sequência de deposição influencia diretamente na morfologia e rugosidade dos filmes de interesse. O filme de ágar/PANI, foi ainda testado na detecção eletroquímica do Cr(VI) e limites de detecção da ordem de $2,48 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram obtidos. O presente estudo demonstrou ainda que, é mais vantajoso o emprego de polímeros naturais para a estruturação de filmes finos, do que o uso do PVS, um polímero que tem sido amplamente utilizado na produção desse tipo de filmes.

CAPÍTULO 03 – ARTIGO 02

Eletrodo flexível de ouro modificado com filme fino de PANI e Carr-AuNPs como plataforma condutora e de baixo custo para sensoriamento em meio fisiológico

Emanuel Airton de Oliveira Farias¹, Silvania Siqueira Nogueira¹, Aline Márcia de Oliveira Farias¹, Monialine Sousa de Oliveira¹, Maria de Fátima Cardoso Soares¹, Helder Nunes da Cunha, Durcilene Alves da Silva¹ e Carla Eiras³

1. Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, BIOTEC, CMRV, UFPI, Parnaíba, PI, 64202-020, Brasil. 2. Departamento de Física, CCN, UFPI, Teresina, PI, 64049-550 3. Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados, LIMAV, CT, UFPI, Teresina, PI, 64049-550.

RESUMO

Neste trabalho, é relatado pela primeira a produção de filmes *Layer-by-Layer* (LbL) de nanopartículas de ouro, estabilizadas com a carragenana, (carr-AuNPs) as quais foram intercaladas com a Polianilina (PANI), um polímero condutor. Os filmes LbL de carr-AuNPs e PANI foram preparados em eletrodos flexíveis de ouro (EFAu), de baixo custo e fácil fabricação, desenvolvidos também neste estudo. Duas sequencias de adsorção foram propostas para o filme (PANI/carr-AuNP e carr-AuNP/PANI). Os filmes foram caracterizados por Voltametria Cíclica (VC), espectroscopia na região do UV-Visível (UV-Vis) e microscopia de força atômica (AFM). Já as nanopartículas foram caracterizadas ainda quanto ao seu potencial em solução, tamanho e estabilidade coloidal. Os resultados obtidos demonstraram que o sinergismo entre as carr-AuNPs (120 nm) e a PANI foi capaz de melhorar a resposta eletroquímica e estabilidade do polímero condutor em meio fisiológico (PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,1) em até três vezes. A presença das carr-AuNPs no filme promoveu um aumento significativo na rugosidade do eletrodo de EFAu modificado quando comparado ao eletrodo sem modificação, resultando em um aumento da área ativa do eletrodo após modificação. A partir dos estudos de UV-Vis observou-se que os filmes produzidos envolvem processos

autorregulados, para ambas sequencias propostas. O filme de PANI/carr-AuNP apresentou melhoria considerável na estabilidade e condutividade da PANI em meio fisiológico, surgindo como material potencial para aplicação em biossensoriamento. Neste trabalho oferecemos detalhes sobre a síntese das nanopartículas, processamento dos filmes sobre eletrodo flexível de ouro, bem como informações a respeito das propriedades eletroquímicas, ópticas e morfológicas do material desenvolvido.

Palavras-chave: Nanopartículas de ouro; carragenana; polianilina; Filmes LbL; biossensores;

ABSTRACT

This work reported for the first time the production of Layer-by-Layer (LbL) films of gold nanoparticles stabilized with carrageenan (Carr-AuNPs), which were interspersed with polyaniline (PANI), a conductive polymer. The LbL films based on carr-AuNPs and PANI were prepared onto flexible gold electrodes (FAuE), inexpensive and easy to manufacture, also developed in this study. Two sequences of adsorption were proposed for the films (PANI/carr-AuNPs and carr-AuNPs/PANI). The films were characterized by cyclic voltammetry (CV), UV-visible spectroscopy (UV-Vis) and atomic force microscopy (AFM). Already nanoparticles were further characterized for their potential in solution, size and colloidal stability. The results showed that the synergism between the carr-AuNPs (120 nm) and PANI was able to improve the electrochemical response and stability of the conductive polymer at physiological medium (PBS 0.1 mol L⁻¹, pH 7.1) in up to three times. The presence of carr-AuNPs in the film caused a significant increase in roughness of the electrode FAuE modified when compared to unmodified electrode, resulting in an increased active area of the electrode after modification. The UV-Vis results showed that the films produced involve self-regulating processes, for both sequences proposed. The PANI/carr-AuNPs films showed considerable improvement in stability and conductivity of PANI in physiological environment, emerging as potential material for use in biosensors. This paper provide details on the synthesis of carr-AuNPs nanoparticles, processing of films on flexible electrode of gold, as well as information about the electrochemical, optical and morphological of the developed material.

Keywords: gold nanoparticles; carrageenan; polyaniline; LbL films; biosensors;

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia é caracterizada como uma área multidisciplinar, a qual está envolvida na concepção, caracterização e aplicação de materiais e dispositivos, cuja organização funcional, em pelo menos uma dimensão, esteja na escala nanométrica (ADAMS e BARBANTE, 2013).

A produção de filmes finos destaca-se como uma das áreas de crescente interesse da nanotecnologia, uma vez que tais sistemas apresentam larga aplicabilidade, podendo ser utilizados, como por exemplo, plataforma para culturas de células (DENG *et al.*, 2010), revestimento bactericida (FARIAS *et al.*, 2014) e biossensores (JESUS *et al.*, 2013; CAI *et al.*, 2013).

Os filmes finos podem ser classificados em nanométricos, micrométricos e milimétricos referindo-se as faixas de 0,1 – 100 nm, 0,1 – 100 μ m e 0,1 – 100 mm, respectivamente (SARAGA, 1994). Esses filmes podem ser produzidos por diferentes métodos dentre os quais podemos destacar: Deposição Química e Física à Vapor (BRINKER e SCHERER, 1990), Sol-gel (BRINKER e SCHERER, 1990), Langmuir-Blodgett (LB) (PANDIT *et al.*, 2014), *Casting* (AMBROSI *et al.*, 2008), *Spin coating* (PATEL *et al.*, 2014), *dip coating* (ROEDER *et al.*, 2016), além do método de automontagem do tipo camada-por-camada (do inglês *Layer-by-Layer- LbL*) proposto por DECHER em 1997 (DECHER, 1997).

A técnica *LbL* tem se mostrado uma das mais promissoras, sendo capaz de produzir filmes nanométricos, de diferentes tipos de materiais, de maneira simples e economicamente viável (PATERNO *et al.*, 2001; DURAN *et al.*, 2006; RUSLING *et al.*, 2008). Além disso, alta organização estrutural e estabilidade das camadas têm sido observadas para filmes produzidos por esta técnica (DECHER, 1997; CRESPILO *et al.*, 2006; FARIAS *et al.*, 2015), o que tem alavancado o seu uso na produção de sensores e biossensores (JESUS *et al.*, 2013; CAI *et al.*, 2013; ZOUA *et al.*, 2014).

A polianilina (PANI) é exemplo de um polímero condutor que tem sido imobilizado, pela técnica *LbL*, para a produção de sensores e biossensores (YADAV *et al.*, 2011; CHU *et al.*, 2015). Este polímero destaca-se em decorrência de sua alta estabilidade química em solução e biodegradabilidade (MATTOSO, 1996; SANTOS *et al.*, 2012). Diferentes materiais biológicos já foram combinados com a PANI na forma

de filme para a confecção de biossensores, podendo-se destacar aqueles aplicados na detecção de: creatina (YADAV *et al.*, 2011), ácido úrico (ARORA *et al.*, 2007), uréia (CRESPILHO *et al.*, 2009), glicose (MIAO *et al.*, 2015) entre outros (TIAN *et al.*, 2004; ZOU *et al.*, 2013; CHU *et al.*, 2015). Entretanto, um fator limitante para essas aplicações é a condutividade baixa ou ausente da PANI quando exposta em meios neutros que mimetizem o sistema fisiológico (LUKACHOVA *et al.*, 2003; LYUTOV *et al.*, 2013), o que na maioria dos casos é necessário quando se pretende detectar moléculas biologicamente ativas.

Há muito tempo, algumas alternativas têm sido elaboradas para melhorar a condutividade da PANI em pH neutro, destacando-se entre elas os processos de dopagem com ácidos orgânicos como proposto em 1996 por Mattoso (MATTOSO, 1996). Outra possibilidade de sanar este problema é a conjugação da PANI na forma de filme com materiais de diferentes naturezas capazes de aumentar a sua condutividade (TEIXEIRA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2009), dentre os quais encontram-se as nanopartículas de ouro (AuNPs) (JANOVÁK e DÉKÁNY, 2010; YU *et al.*, 2011).

Devido suas propriedades diferenciadas, nos últimos anos, AuNPs têm sido empregadas em eletrocatalise (BALLARIN *et al.*, 2016), dispositivos biomédicos (CSARNOVICS *et al.*, 2016) e biossensores (CHOMOUCKA *et al.*, 2012; MARIN e MERKOCI, 2012), uma vez que as AuNPs interagem muito bem com moléculas biológicas, facilitando assim a construção de biossensores (CHU *et al.*, 2015; PUTZBACH e RONKAINEN, 2013; LIN *et al.*, 2009). Além disso, o efeito eletrocatalítico associado à alta área superficial das AuNPs, têm contribuído para a melhoria do desempenho analítico e eletroquímico de uma extensa variedade sensores desenvolvidos na atualidade (COMPTON *et al.*, 2008, MASHHADIZADEH e TALEMI, 2016; VICENTINI *et al.*, 2016).

Atualmente sabe-se que as propriedades das nanopartículas são fortemente influenciadas por diferentes fatores que abrangem desde o tipo de síntese empregada, os parâmetros envolvidos nesta síntese e características finais das nanoestruturas como tamanho, forma e carga superficial da partícula (CHOO *et al.*, 2006; MEDYNSKA *et al.*, 2015). Desta forma, uma gama de sínteses tem sido propostas para preparar nanopartículas com diferentes finalidades.

Dentre os parâmetros de síntese a se considerar, a natureza do agente estabilizante tem sido frequentemente investigada, com destaque para aqueles de origem

natural, alguns dos quais, oriundos de fontes renováveis. Esses agentes estabilizantes têm sido empregados também com o intuito de proporcionar um aumento a biocompatibilidade desses materiais ou ainda gerar ou intensificar alguma propriedade de interesse destas nanoestruturas, como por exemplo, sua atividade antimicrobiana (QUELEMES *et al.*, 2013; BONDARENKO *et al.*, 2016). Nesta perspectiva, biopolímeros de algas, tais como, o agar e a carragenana apresentam-se como excelentes candidatos para estabilização de nanopartículas metálicas em decorrência de seu baixo custo, ampla disponibilidade e atoxicidade (MACIEL *et al.*, 2008).

A literatura descreve a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) (SHUKLA *et al.*, 2012) e de ouro (MATOS *et al.*, 2012) estabilizadas com o agar, e também AgNPs estabilizadas com a carragenana (JOSEPH e MATHEW, 2015). Entretanto, ao que temos conhecimento, ainda não há nenhum relato a respeito de síntese de AuNPs empregando-se a carragenana como estabilizante, surgindo assim uma oportunidade para a produção e o estudos das propriedades destas nanoestruturas.

A combinação em nível molecular das propriedades da PANI com AuNPs já foi relatada com sucesso através do preparo de compósitos sob a forma de filmes finos, dos quais muitos têm sido aplicados em sensoriamento. A literatura reporta o estudo diferentes filmes à base de PANI e AuNPs empregados como camada ativa de sensores para a detecção de NADH (TIAN *et al.*, 2004), epinefrina (ZOU *et al.*, 2013), dopamina (CHU *et al.*, 2015) e glicose (MIAO *et al.*, 2015). É evidente que filmes de PANI/AuNPs possuem enorme potencial para aplicação em sensores, entretanto, os trabalhos que têm sugerido tais aplicações pouco têm explorado à cerca das propriedades eletroquímicas desses filmes em meio fisiológico. Um estudo mais detalhado sobre a estabilidade eletroquímica, da cinética de formação, mecanismo eletroquímico e morfologia desses filmes em meios que mimetizam o sistema biológico pode auxiliar no direcionamento dessas aplicações.

Neste estudo propomos pela primeira vez o desenvolvimento e caracterização de filmes *LbL* à base de PANI intercalada com nanopartículas de ouro estabilizadas com a carragenana (carr-AuNPs). Os filmes foram adsorvidos e caracterizados sobre eletrodos flexíveis de ouro (EFAu) de fácil processamento e baixo custo, produzidos para este estudo. O eletrodo de EFAu modificado com o filme de PANI e carr-AuNP produzido neste estudo, apresentou-se como um potencial candidato para futuras aplicações em biossensores para ensaios em pH fisiológico.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1. *Materiais e soluções*

A PANI utilizada neste trabalho foi obtida por meio de síntese química segundo metodologia proposta por MATTOSO (1996). Já a solução de PANI em HCl, empregada na deposição dos filmes *LbL*, foi preparada conforme descrito na literatura por FARIAS *et al.* (2014) e o pH final desta solução foi ajustado para 2,86.

A carragenana foi obtida e purificada a partir da alga vermelha *Hypnea musciformis*, coletada no litoral do Piauí, Brasil. Informações a respeito da extração, purificação, caracterização estrutural, teor de sulfato e massa molecular do polissacarídeo foram publicados anteriormente (FARIAS *et al.*, 2015).

2.2. *Síntese das Carr-AuNPs*

Para a síntese das nanopartículas de ouro estabilizadas com carragenana (carr-AuNPs) foram utilizados 5,0 mL de solução 0,1% do polissacarídeo, os quais foram mantidos sob agitação constante a 200 rpm, durante 10 minutos. Ao final deste período, foram adicionados 5,0 mL do sal precursor de Au (AuCl_3 - Aldrich) a $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e aguardou-se 5 minutos em agitação, para completa homogeneização da solução. Posteriormente, uma solução de borohidreto de sódio (NaBH_4 - Aldrich) a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, preparada minutos antes de sua utilização, foi adicionado ao meio reacional garantindo a proporção molar de 10:1 (reduzidor: metal).

2.3. *Preparo dos eletrodos flexíveis de ouro (EFAu)*

O filmes *LbL* de PANI e carr-AuNPs foram depositados sobre substrato flexível de ouro, denominados de eletrodos flexíveis de ouro (EFAu). Os EFAu(s) foram preparados a partir de folhas de poliéster, tamanho A4 (210 x 297 mm), previamente limpas em água e detergente, secas com fluxo de ar e, posteriormente submetidas ao processo de limpeza por plasma. O plasma foi utilizado, com objetivo de remover as impurezas presentes na superfície do substrato tornando-a mais hidrofílica, e conseqüentemente melhorando a interação entre esta superfície e as soluções empregadas no processo de deposição dos filmes. Os parâmetros utilizados para a

limpeza por plasma foram obtidos da literatura (MADEIRA, 2014) e estão descritos na Tabela 01.

Tabela 01 - Parâmetros utilizados na limpeza dos substratos via plasma.

Parâmetros			
Tempo de Plasma	2 minutos	Frequência	50 kHz
Gás	Nitrogênio	Pressão	200 mTorr
Nível de Gás	~12,5 cm ³ /min	Estabilização do Gás	1 minuto

Após a etapa de limpeza por plasma, as folhas de poliéster, foram metalizadas com ouro em alto vácuo, apenas em uma de suas faces, empregando-se a metalizadora AUTO 306 VACUUM COATER (EDWARDS). Neste caso, uma massa de aproximadamente 0,10 g de Au com pureza 99,99% foi empregada, resultando na cobertura da folha de poliéster por um filme homogêneo de espessura aproximadamente 90 nm. Para o processo de evaporação utilizou-se um vácuo de aproximadamente 10⁻⁶ mbar e corrente de evaporação em torno de 6,0 A.

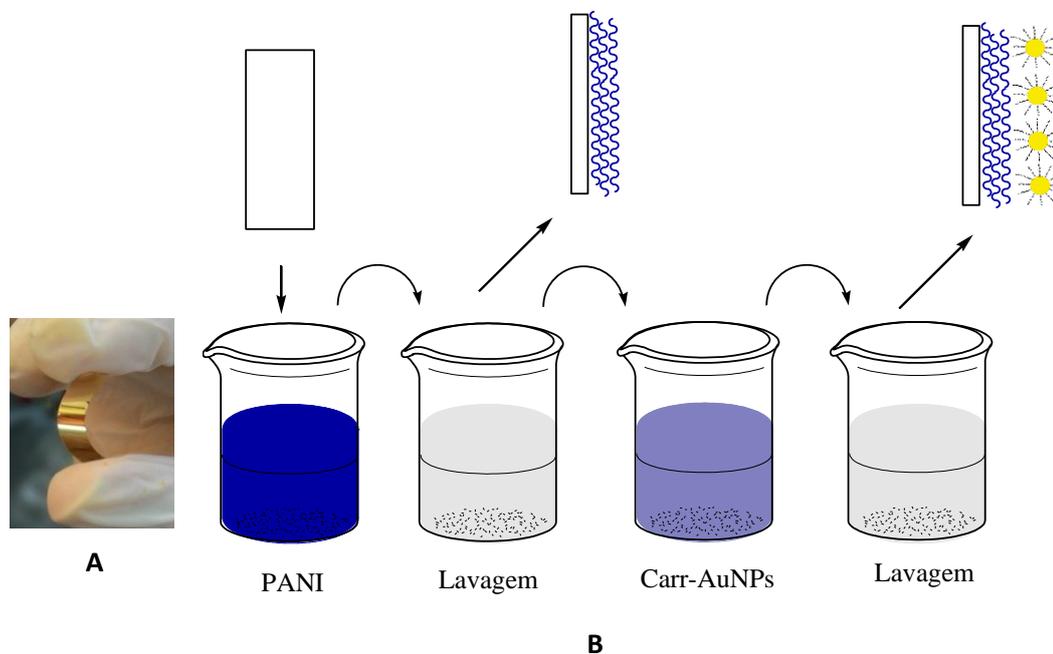
2.4. Preparo dos filmes *LbL* de PANI e carr-AuNPs adsorvidos em EFAu

Os filmes *LbL* de PANI e carr-AuNPs foram preparados baseados no mecanismo de adsorção eletrostática proposto por DECHER (1996), considerando as cargas positiva e negativa da PANI e das Carr-AuNPs, respectivamente. Estudos anteriores demonstraram que o tempo de cinco minutos é suficiente para que ocorra a adsorção da PANI formando uma monocamada autorregulada do polímero na superfície do substrato de interesse (FARIAS *et al.*, 2014; TEIXEIRA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2009). Desta forma, também neste estudo, o tempo de cinco minutos foi fixado em todas as etapas de deposição, incluindo para as carr-AuNPs.

O preparo dos filmes bicamada de PANI e carr-AuNPs, denominados PANI/carr-AuNPs, é representado pelo esquema da Figura 01. Para o preparo dos filmes, o substrato de EFAu foi imerso da solução de PANI, durante 5 minutos e, posteriormente, lavado em solução de HCl pH 2,86 para a retirada do material não adsorvido e, em seguida, seco sob leve fluxo de N₂. Após a formação do filme

monocamada de PANI, o substrato agora modificado por essa monocamada, foi imerso na solução de carr-AuNPs, também por um período de 5 minutos, que ao ser finalizado, também passou pelos processos de lavagem em solução de HCl pH 2,86 e secagem com N₂. Após esta etapa um filme bicamada de PANI/carr-AuNPs foi obtido. Para o preparo de filmes mais espessos, o procedimento descrito foi repetido até o número de bicamadas desejadas. A influência da sequência de deposição dos materiais formadores do filme também foi investigada, assim foram investigados os filmes de PANI/carr-AuNPs e carr- AuNPs/PANI.

Figura 01. A) eletrodo flexível de ouro. B) Esquema do processo de deposição dos filmes LbL de PANI e carr-AuNPs.



(Fonte: esquema produzido pelo autor).

2.5. Caracterização das carr-AuNPs

A cinética de formação das carr-AuNPs foi monitorada por UV-Vis (SHIMADZU, modelo UV-1800) até não observar-se mais mudança no perfil da banda de absorção.

O tamanho médio das carr-AuNPs foi obtido por espalhamento dinâmico de luz (Nano ZS Modelo Malvern Zetasizer 3600), usando um laser de 633 nm e um ângulo de espalhamento fixado em 173°. Cada amostra foi medida em triplicata e descritas como média \pm SD (n = 3).

Para fins comparativos, o tamanho das carr-AuNPs também foi estimado por microscopia de força atômica (AFM) utilizando um TT-AFM (Signal Hill, CA, EUA). Para as análises de AFM foram coletadas imagens em 512 *pixels* de resolução e áreas de 4,0 × 4,0 μm. Pelo menos três áreas diferentes foram examinadas e processadas pelo *software* Gwyddion 2.39, tal como descrito na literatura (EATON e WEST, 2010).

As nanopartículas também foram caracterizadas por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) (Paragon 1000, Perkin-Elmer, USA), e os espectros foram obtidos na faixa de número de onda entre 4000 e 400 cm⁻¹ num total de 64 varreduras, com resolução de 2 cm⁻¹. Os espectros de FTIR foram normalizados e as bandas de vibração foram associadas aos principais grupos químicos.

2.6. Caracterização dos filmes bicamadas de PANI e carr-AuNPs

Os filmes *bicamadas* foram caracterizados eletroquimicamente pela técnica de voltametria cíclica, utilizando uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos conectada a um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 128N (Metrohm pensalab). Como eletrodo de referência foi utilizado um eletrodo de Ag/AgCl e como eletrodo auxiliar uma placa de platina (A= 2,0 cm²). O filme *LbL* adsorvido sobre o EFAu foi utilizado como eletrodo de trabalho. Em todos os experimentos de voltametria cíclica utilizou-se o tampão fosfato de potássio (PBS) a 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,1) como eletrólito suporte.

Para a caracterização espectroscópica na região do UV-Vis utilizou-se um espectrofotômetro modelo UV-1800 (Shimadzu). A adsorção das bicamadas e o conseqüente crescimento dos filmes foram acompanhados no intervalo de comprimento de onda entre 200 e 1000 nm. Para estes estudos utilizaram-se substratos de vidro comum de forma a possibilitar a passagem da luz UV pela amostra.

Os filmes foram ainda caracterizados por AFM, utilizando o mesmo equipamento e seguindo procedimento similar ao descrito no item 2.5.

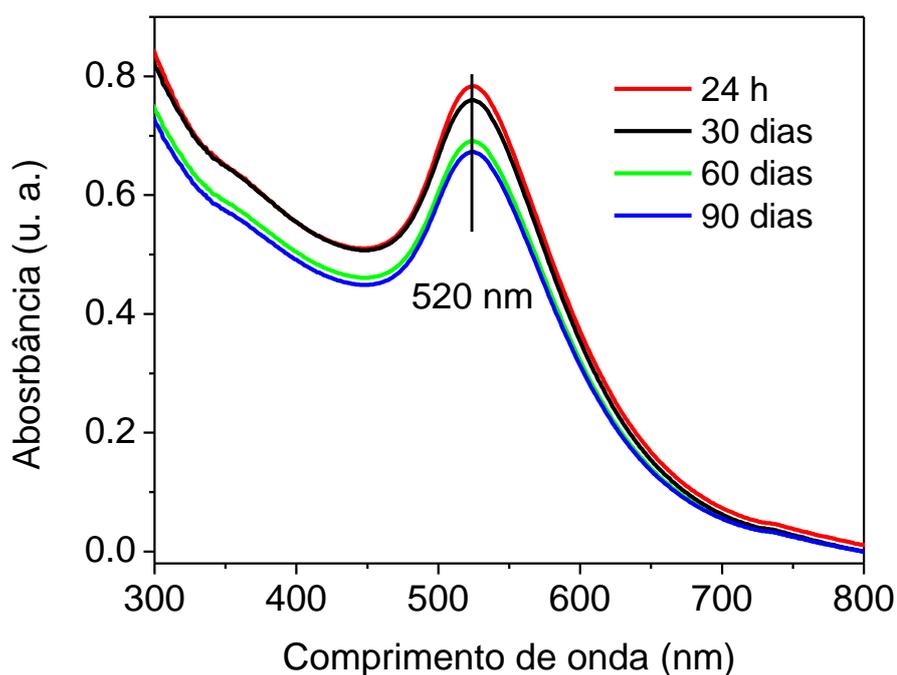
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização das carr-AuNPs

3.1.1. Caracterização por UV-Vis

A Figura 02 mostra os espectros de UV-Vis obtidos depois de 24 h de síntese das nanopartículas (carr-AuNPs). Também são mostrados espectros após 30, 60 e 90 dias após a síntese com o objetivo de investigar a estabilidade coloidal do material sintetizado. Todos os espectros apresentados na Figura 02 mostram uma banda de absorção bem definida em 520 nm. Esta absorbância está relacionada à ressonância plasmônica de superfície em nanopartículas de ouro, a qual é esperada em comprimentos de onda entre 505 e 520 nm (HUMBERT *et al.*, 2013; ZHOU *et al.*, 2009). Vale ressaltar que a dispersão coloidal das nanopartículas de ouro aqui produzidas apresentou coloração entre o azul e o violeta.

Figura 02. Espectros de UV-Vis obtidos 24 h, 30, 60 e 90 dias após a síntese das carr-AuNPs.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Segundo HUMBERT *et al.*, (2013) as características óticas de nanopartículas de ouro são fortemente afetadas com o passar do tempo. No estudo espectroscópico da estabilidade coloidal das carr-AuNPs observou-se um ligeiro decréscimo na absorbância

dos espectros obtidos entre 24 h e 30 dias após a síntese. Houve também outra rápida diminuição na absorbância dos espectros registrados entre 30 e 60 dias pós-síntese, estabilizando depois disso. A estabilidade das carr-AuNPs foi acompanhada até 90 dias depois da síntese e, de forma geral, não se observou alargamento e nem deslocamento das bandas, permitindo assim considerar que as nanopartículas sintetizadas são bastante estáveis.

3.1.2. Caracterização do tamanho e carga das carr-AuNPs

O tamanho das carr-AuNPs foi monitorado por DLS juntamente com sua estabilidade, a qual foi avaliada empregando a técnica de UV-VIS. Durante os 90 dias de investigação não foram observadas variações significativas de tamanho ou estabilidade dessas nanoestruturas. Em todos os casos as carr-AuNPs apresentaram tamanho médio de 120 nm. Outros métodos também foram utilizados para avaliar o tamanho das nanopartículas produzidas e os resultados são mostrados na Tabela 01. O potencial zeta também pode ser observado nesta mesma tabela.

Tabela 01. Dados de tamanho, carga e PDI encontrados para carr-AuNPs

Tamanho (nm)				
DLS	Diâmetro estimado pela largura à meia altura do espectro de UV-Vis	AFM	Potencial zeta (mV)	PDI
120	108±4	110 ±14	-16,5	0,416

(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

A literatura retrata que o diâmetro médio de nanopartículas metálicas pode ser estimado pela largura à meia altura do pico de absorbância no UV-Vis (SOLOMON *et al.*, 2007), o qual neste caso foi estimado em torno de 108 nm, Tabela 01. O tamanho das partículas foi investigado ainda por AFM. Os resultados mostraram diâmetros variando entre 110 e 120 nm. Considerando o valor de 0,416 obtido para o índice de polidispersão (PDI), pode-se considerar que todos os dados sobre tamanho estão consistentes.

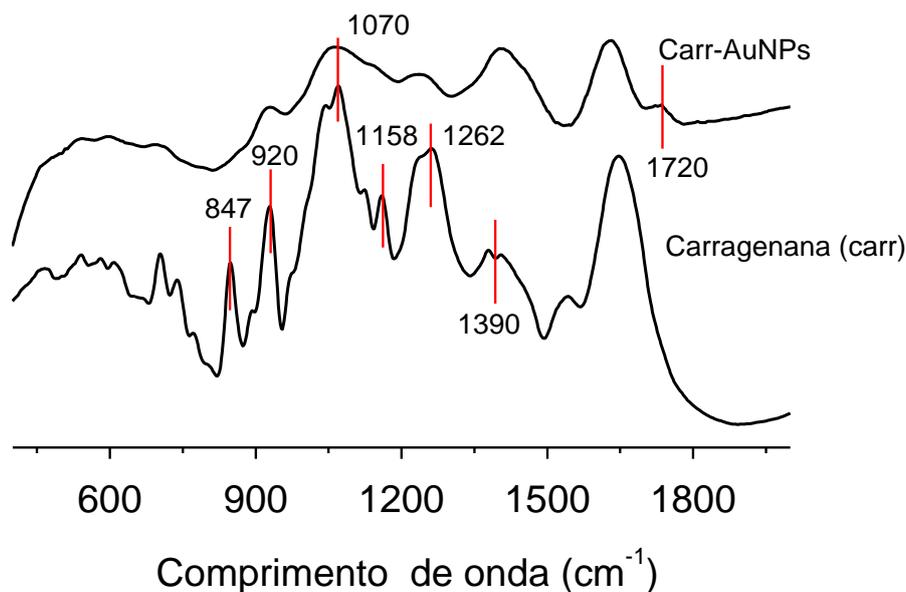
3.1.3. Caracterização por FT-IR

Em amostras contendo polissacarídeos de algas, a análise de espectros de infravermelho (FT-IR) é normalmente utilizada para obter informações sobre a presença de grupos sulfato e unidades 3,6-anidrogactose (MAZUMBER *et al.*, 2002). Os espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras de carragenana (carr) e carr-AuNPs são observados na Figura 03. Os espectros apresentaram bandas características de polissacarídeos em 3421 cm^{-1} , 2945 cm^{-1} , atribuídos respectivamente às vibrações de estiramento de O-H e estiramento de C-H (dados não mostrados). Bandas características de vibrações de estiramento C-O-C das ligações glicosídicas foram observadas em 1158 cm^{-1} e 1070 cm^{-1} .

A banda em 1262 cm^{-1} indica a existência de um grande percentual de grupos sulfato total na estrutura do polissacarídeo também confirmada pela presença de bandas em 920 e 847 cm^{-1} , atribuídos respectivamente às unidades de 3,6-anidrogactose e galactose-4-sulfato (TOJO e PRADO, 2003).

A análise do espectro das carr-AuNPs, quando comparado ao da carragenana, mostra o desaparecimento da banda em 847 cm^{-1} e uma menor absorbância da banda em 920 cm^{-1} ao passo em que a banda em 1390 cm^{-1} (atribuída a estiramento C-C em polissacarídeos) (ZHANG *et al.*, 2010) teve sua absorbância aumentada. Essas alterações observadas em algumas das bandas características do polissacarídeo sugerem que possivelmente seus respectivos grupamentos são aqueles que interagem mais fortemente com as nanopartículas de ouro. A diminuição da intensidade da banda em 1070 cm^{-1} e o desaparecimento da banda em 1158 cm^{-1} associadas ao aparecimento da banda em 1720 cm^{-1} sugere que há a conversão de grupos cetonas em ácidos carboxílicos durante a redução do ouro (MAKAROV *et al.*, 2014; SINGH *et al.*, 2010).

Figura 03. Espectros de FT-IR obtidos para a carragenana e carr-AuNPs.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Posteriormente, as carr-AuNPs foram imobilizadas em conjunto com a PANI formando filmes finos depositados pela técnica *LbL* e os resultados são apresentados a seguir.

3.2. Caracterização eletroquímica de filmes *LbL* de PANI e carr-AuNPs em pH neutro

3.2.1. Efeito da sequência de adsorção do filme

Recentemente, devido a sua compatibilidade com DNA e aptâmeros (ZOUA *et al.*, 2014), a PANI tem sido empregada no desenvolvimento de biossensores. No entanto, a necessidade de se empregar meio neutro para as análises, surge como fator limitante para estas aplicações, uma vez que a PANI exibe baixa condutividade em pH neutro (LUKACHOVA *et al.*, 2003; LYUTOV *et al.*, 2013). Como já discutido, o processo de dopagem com ácidos orgânicos é exemplo de alternativa que tem funcionado (MATTOSO, 1996). Porém, mais recentemente tem-se observado que o simples intercalo da PANI com outros materiais possibilita uma melhoria na condutividade do polímero, além de efeitos sinérgicos que trazem uma série de outras vantagens, como por exemplo, melhoria na adsorção e transferência de cargas na matriz polimérica ou ainda aumento na estabilidade eletroquímica do polímero (TEIXEIRA *et*

al., 2015; SILVA *et al.*, 2009; FARIAS *et al.*, 2015). Neste sentido, os parágrafos seguintes discutem sobre o efeito de carr-AuNPs nas propriedades de eletroquímicas filmes *LbL* à base de PANI em meio neutro.

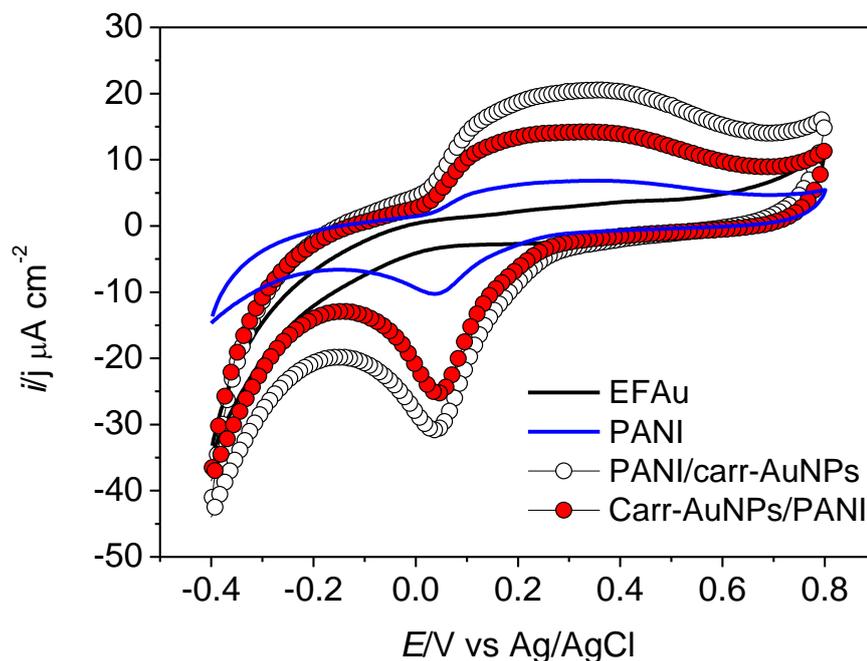
Para uma melhor compreensão da sinergia entre os materiais intercalados na forma de filme *LbL*, avaliou-se o efeito da sequência de deposição dos materiais de interesse na resposta eletroquímica dos filmes formados em estrutura de bicamada. Toda a caracterização por voltametria cíclica foi efetuada em eletrólito suporte de PBS 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,1) uma vez que objetiva-se futuramente a aplicação desses filmes como plataformas para sensores de material biológico. O tampão utilizado neste trabalho é descrito na literatura como um dos mais biocompatíveis (MOHAN, 2006), portanto o mais adequado a este estudo.

A Figura 04 mostra o voltamograma cíclico registrado para os filmes de PANI/carr-AuNPs e carr-AuNP/PANI immobilizados em EFAu. Para efeitos comparativos as respostas do eletrodo limpo, ou seja, não modificado, ou ainda, modificado apenas com uma única monocamada de PANI também são mostradas. Observa-se na Figura 04 que o EFAu surge como um eletrodo viável para imobilização de filmes *LbL* para aplicações em sensores eletroquímicos por não apresentar nenhum processo redox nas condições experimentais empregadas, além de ter mostrado baixa corrente capacitiva em tais condições. Vale ressaltar que uma monocamada de carr-AuNPs adsorvida sobre o EFAu exibiu resposta similar a do eletrodo de EFAu não modificado e, portanto, este voltamograma não foi mostrado.

Para os filmes bicamadas adsorvidos sobre o EFAu, independentemente da sequência de deposição empregada, observou-se resposta eletroquímica característica do polímero condutor (PANI) em meio neutro, Figura 04. Em todos os casos investigados, os voltamogramas obtidos mostraram um único par redox, o qual pode ser atribuído à conversão direta da forma leucoesmeraldina para a forma pernigranilina da PANI, durante a oxidação observada em + 0,3 V. Já na varredura inversa, próximo de 0.0 V vs Ag/AgCl é observada a redução da forma pernigranilina para a forma leucoesmeraldina (ZHANG *et al.*, 2010).

Figura 04. Voltamogramas cíclicos obtidos para o substrato de EFAu não modificado e modificado com um filme monocamada de PANI, ou filmes bicamadas de PANI e carr-

AuNPs, adsorvidos em duas sequencias diferentes: PANI/carr-AuNPs e carr-AuNPs/PANI. Medidas realizadas em PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,1, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

É importante mencionar que a PANI normalmente tem eletroatividade e condutividade baixa ou ausente em pH neutro devido sua resposta eletroquímica ser governada pela transferência de cargas decorrentes da condução da PANI que é governada pelo estado de dopagem do polímero, exibindo dessa forma sua máxima eletroatividade em pH próximo de 1,0 (SILVA *et al.*, 2009), o que será melhor discutido na seção 3.2.4.

Por outro lado, a presença das carr-AuNPs na estrutura bicamada melhorou consideravelmente a condutividade do filme em meio neutro. A melhora na propriedade de condução elétrica da PANI foi observada para ambas arquiteturas investigadas (PANI/carr-AuNP e carr-AuNP/PANI), sendo este efeito mais acentuado para o filme preparado na sequência PANI/carr-AuNPs, em que a corrente observada foi três vezes maior que aquela registrada para o filme monocamada de PANI, Figura 04.

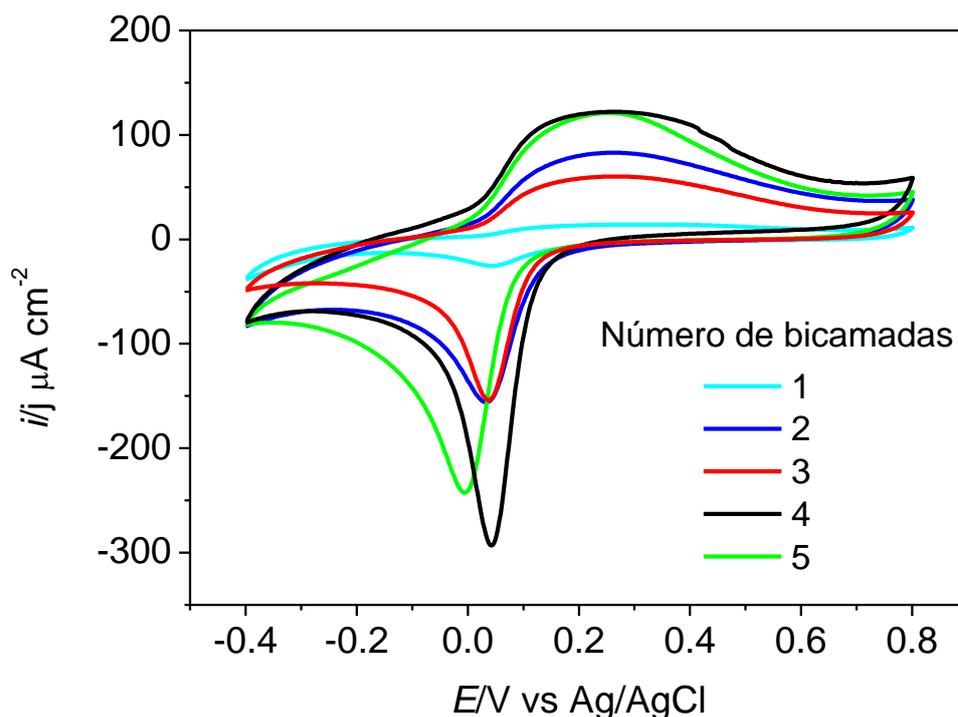
A literatura tem descrito alguns trabalhos mostrando que nanopartículas de metálicas, tais como as AuNPs são capazes de melhorar a condutividade de filmes (JANOVÁK e DÉKÁNY, 2010; YU *et al.*, 2011), o que tem alavancado o interesse do emprego desses materiais como camada ativa durante a construção de sensores eletroquímicos (COMPTON *et al.*, 2008; CHU *et al.*, 2015). Adicionalmente, AuNPs

são capazes ainda de melhorar as interações da camada de reconhecimento do sensor com o material biológico a ser detectado (CHU *et al.*, 2015; PUTZBACH e RONKAINEN, 2013; LIN *et al.*, 2009). Aliando essas propriedades das AuNPs à carragenana como estabilizante, foi possível obter filmes de PANI com condutividade e estabilidade melhorada em pH neutro, os quais serão discutidos na seção 3.2.3. Para os estudos a seguir foi selecionado o filme *LbL* preparado na sequência PANI/carr-AuNPs.

3.2.2. Efeito do número de bicamadas na densidade de corrente do filme

Na Figura 05 é mostrada a correlação entre o número de bicamadas e a densidade de corrente registrada para o filme de PANI/carr-AuNPs. Neste estudo, foi observado um aumento da densidade de corrente em função do número de bicamadas até a 4ª bicamada adsorvida, e sem deslocamentos de potenciais tanto para o processo anódico quanto o catódico. No entanto, para o filme contendo 5 bicamadas, a corrente medida para o processo de redução foi menor do que aquela observada para o filme com 4 bicamadas. Além disso, também foi observado um deslocamento deste processo de 0,04 V para 0,00 V *vs* Ag/AgCl. Tanto a diminuição da corrente quanto o deslocamento observado podem estar relacionados com o aumento do grau de empacotamento do filme. Ou seja, há a possibilidade de que após a quarta bicamada seja dificultada a transferência dos elétrons das camadas mais externas do filme até a superfície do eletrodo, refletindo assim nos menores valores de corrente observados. O comportamento mostrado na Figura 05 corrobora com o estudo feito com filmes de carragenana/PANI, isto é, do polímero condutor intercalado com o polissacarídeo utilizado na estabilização das AuNPs aqui propostas (FARIAS *et al.*, 2015). No referido estudo os autores observaram que após a quarta bicamada de carragenana/PANI houve uma diminuição na densidade de corrente deste filme. Diante desses resultados, o filme de 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs foi determinado como um sistema otimizado para os próximos estudos.

Figura 05. Voltamogramas cíclicos obtidos para o filme de PANI/carr-AuNPs com diferentes números de bicamadas. Todos os filmes foram adsorvidos em EFAu e as medidas realizadas em PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,1, $\nu = 50$ mV s⁻¹.

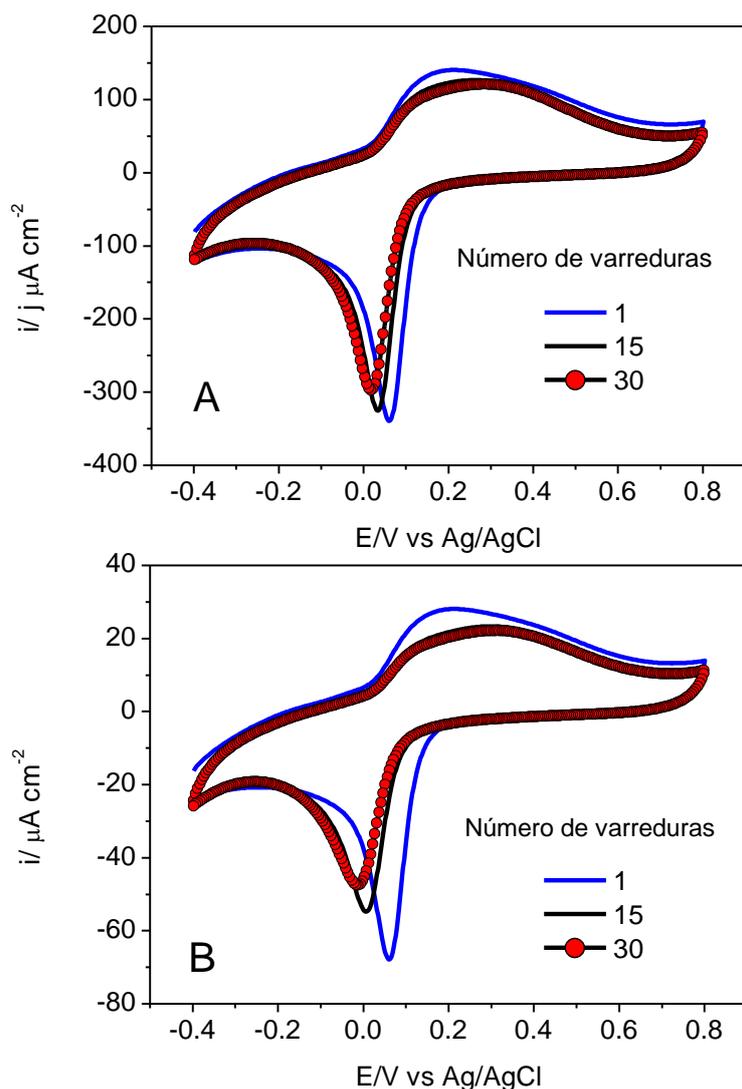


(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

3.2.3. Estabilidade eletroquímica de filmes de PANI/carr-AuNPs

Na Figura 06A é mostrado o estudo de estabilidade eletroquímica do filme *LbL* contendo 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs. Para efeito de comparação também foram produzidos filmes contendo 4 bicamadas de PANI/PANI, Figura 06B. É possível observar a diferença de estabilidade desses filmes, uma vez que o filme de PANI/carr-AuNPs mostrou uma perda de apenas 12% de sua corrente após 30 varreduras sucessivas, enquanto que o filme de PANI/PANI apresenta perda de 31%, após as mesmas 30 varreduras. Este resultado, nos permite afirmar que as carr-AuNPs conjugadas na estrutura bicamada promovem um aumento da estabilidade da PANI em quase 3 vezes. Este efeito certamente pode ser atribuído ao fato da carragenana ter sido empregada como estabilizante das AuNPs, uma vez que já foi demonstrado pelo nosso grupo que este mesmo biopolímero atua como uma espécie de antioxidante para a PANI (FARIAS *et al.*, 2015).

Figura 06. Estudo da estabilidade eletroquímica para os filmes com: A) 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs e B) PANI/PANI. A estabilidade foi calculada de acordo com método proposto na literatura (FARIAS *et al.*, 2015). Todas as medidas foram realizadas em PBS 0,1 mol L⁻¹, pH 7,1, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



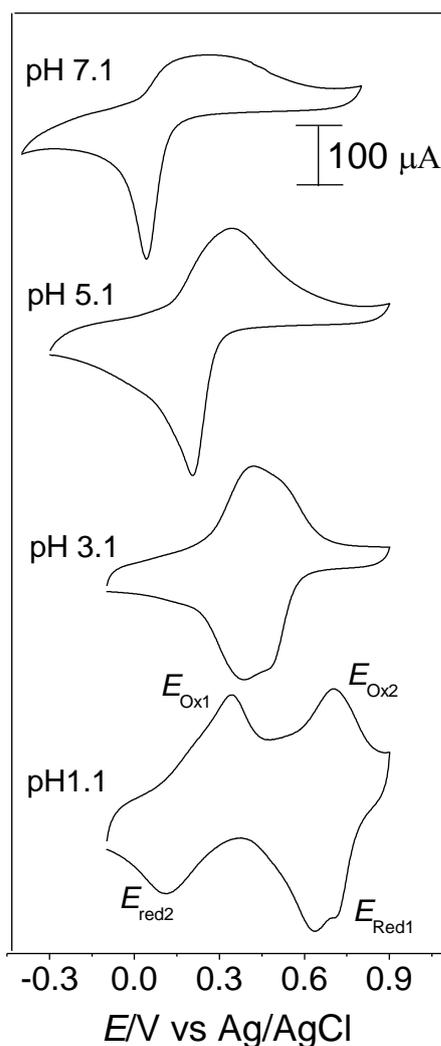
(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

3.2.4. Influência do pH eletrolítico no perfil eletroquímico e condutividade dos filmes de PANI/carr-AuNPs

A atividade eletroquímica da PANI é governada pela neutralidade de cargas, ou seja, a incorporação de cargas positivas (prótons) e negativas (ânions) na matriz do polímero quando seu estado de oxidação é modificado (KANG *et al.*, 1998). Dessa forma um aumento nos valores de pH do eletrólito faz com que ocorra o processo de desprotonação da PANI, e conseqüentemente a redução de sua condutividade, apresentado assim baixa ou nenhuma condutividade em pH acima de 6,0 (SILVA *et al.*, 2009; KANG *et al.*, 1998; HUANG *et al.*, 1986).

A Figura 07 mostra os voltamogramas cíclicos, registrados em PBS de diferentes pHs, para um filme de PANI/carr-AuNPs, contendo 4 bicamadas.

Figura 07. Voltamogramas cíclicos registrados para um filme contendo 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs adsorvidas em EFAu. Todas as medidas foram realizadas em PBS 0,1 mol L⁻¹ sob diferentes pHs, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

A presença das carr-AuNPs na estrutura do filme LbL, manteve o perfil eletroquímico característico da PANI nos diferentes pH investigados, mostrando o mesmo comportamento observado em estudos anteriores (TEIXEIRA *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2009), Figura 07. Em pH próximo de 1,0 a PANI exibe dois pares redox bem descritos na literatura (MATTOSO, 1996). Durante a varredura anódica observa-se a oxidação do sal de leucoesmeraldina (SLE) para sal esmeraldina (SE) em E_{Ox1} e, de

SE para base pernigranilina (BPG) em E_{Ox2} . Já na varredura catódica é possível observar a redução de BPG para SE (E_{Red1}) e de SE para SLE (E_{Red2}). Acima de pH 3,0 devido a menor disponibilidade de íons H^+ , os pares redox se sobrepõem em um único par, favorecendo a oxidação direta de leucoesmeraldina a pernigranilina e a sua respectiva redução (ZHANG *et al.*, 2010).

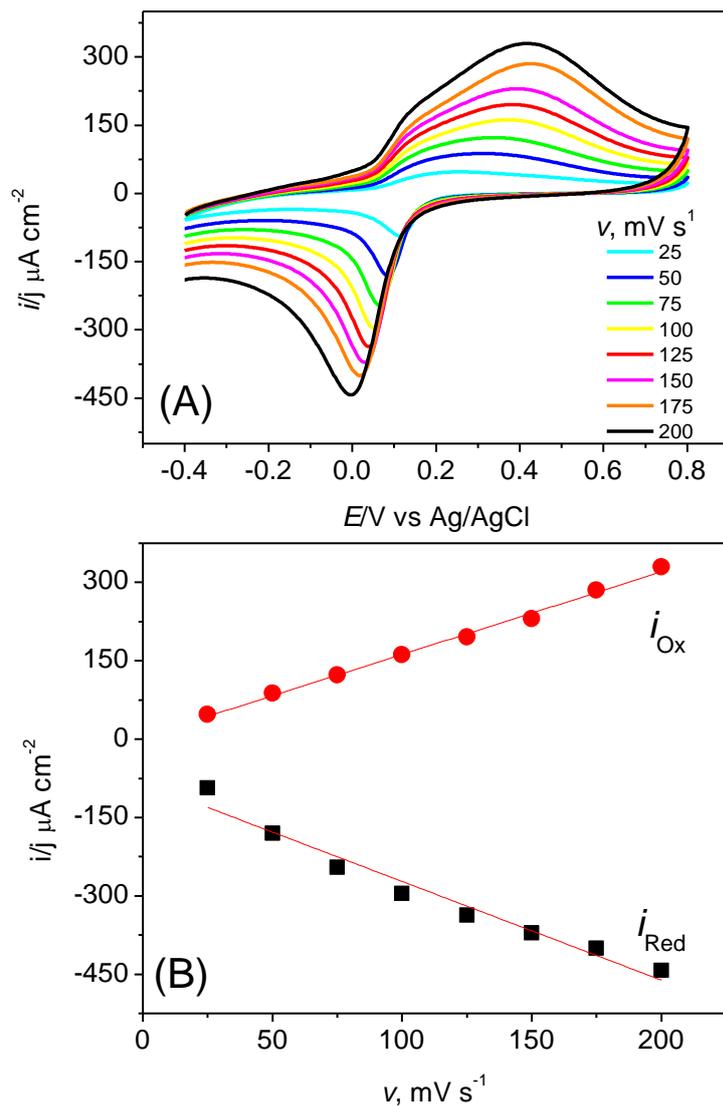
Apesar das carr-AuNPs não modificarem o perfil de resposta eletroquímica do polímero condutor, a condutividade do filme contendo 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs apresentou uma melhoria considerável em pH neutro (pH =7,1), Figura 07, quando comparado a outros estudos com filmes à base de PANI (TEIXEIRA *et al.*, 2015). As carr-AuNPs além de melhorarem a estabilidade eletroquímica do polímero condutor, desempenham também um papel importante na condutividade do material em pH neutro, favorecendo assim a aplicação deste filme como sensor ou biossensor eletroquímico para a detecção de analitos de interesse biológico.

3.2.5. Estudo do mecanismo eletroquímico do filme de PANI/carr-AuNPs

A literatura relata que a resposta eletroquímica de filmes de PANI é governada principalmente por adsorção (FARIAS *et al.*, 2015; KELLY *et al.*, 2007; PRUNEAN *et al.*, 1999). Entretanto, quando a PANI encontra-se intercalada com outros materiais ou mesmo dependendo do eletrólito suporte, têm-se observado mecanismos eletroquímicos controlados essencialmente por difusão (ARSLAN e HUR, 2012; JO *et al.*, 2014; ZHU *et al.*, 2013). Neste sentido, buscou-se avaliar qual o mecanismo predominante no filme contendo 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs em eletrólito de PBS 0,1 M.

Na Figura 08A é possível observar o estudo da influência da velocidade de varredura de potencial na resposta de corrente do filme 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs. Já na Figura 08B observa-se uma dependência linear entre a corrente de pico anódico e catódico do filme pela velocidade de varredura, confirmando que o mecanismo eletroquímico que governa a resposta do filme é puramente adsorptivo (XIE *et al.*, 2008). Estes resultados indicam ainda que o filme de PANI/carr-AuNPs está fortemente aderido a superfície do EFAu (BARD e FAULKNER, 2001).

Figura 08. A) Influência da velocidade de varredura do potencial na corrente de pico anódico e catódico de um filme contendo 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs. B) mostra uma correlação linear entre a corrente de pico e a velocidade de varredura empregada. Todos os voltamogramas foram registrados em PBS, pH 7,1.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

3.3. Caracterização morfológica por AFM dos filmes LbL de PANI/carr-AuNPs

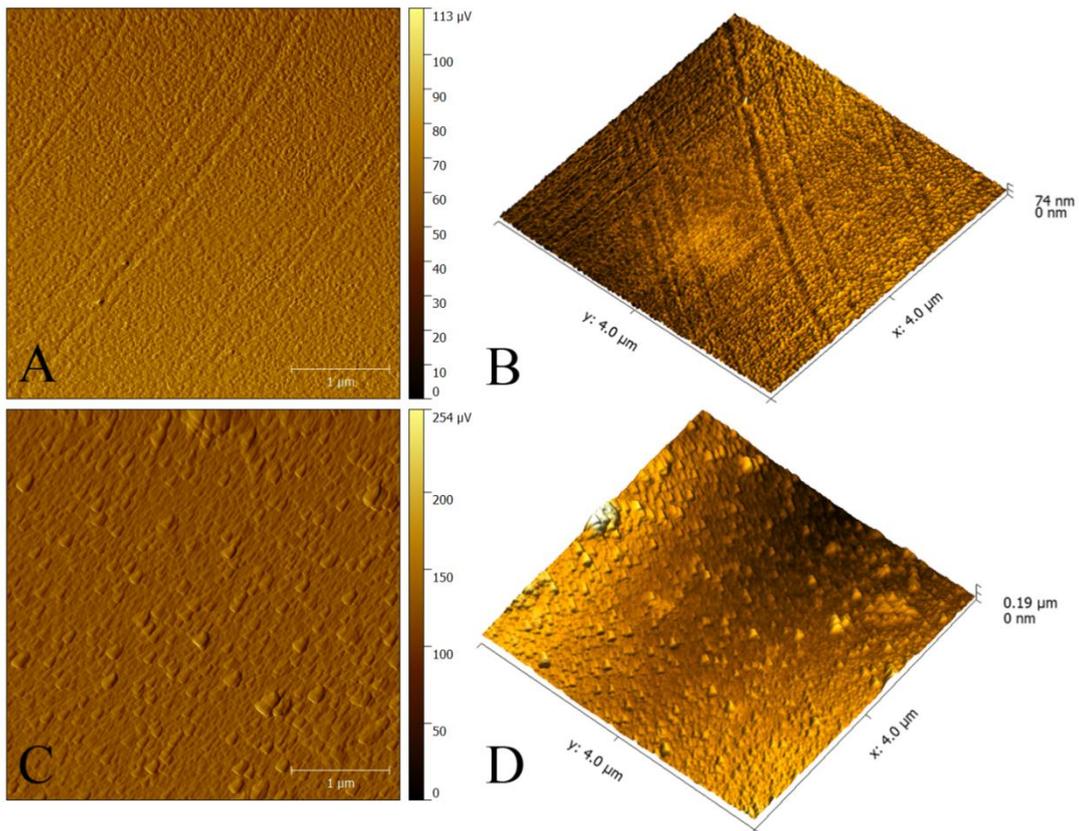
A Figura 09 mostra imagens representativas da morfologia do substrato EFAu limpo (Figuras 09A e 09B) e modificado com um filme contendo 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs (Figuras 09C e 09D). Para o substrato limpo, observou-se uma morfologia granular com grãos variando entre 20 e 60 nm e vales semelhantes a ranhuras, com profundidade média de 23 nm, os quais podem estar atribuídos às propriedades físicas intrínsecas da folha de acetato (MOHAMMAD *et al.*, 2011). Já para o EFAu modificado com o filme contendo 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs não observou-se mais esses vales devido a um total recobrimento da superfície deste

eletrodo. Além disso, a morfologia observada mostrou-se granular, com grãos muito maiores, de tamanhos variando entre 115 e 220 nm, os quais podem ser atribuídos as nanopartículas distribuídas por todo o filme. Os grãos acima de 120 nm aparecem provavelmente devido à agregação das nanopartículas quando é adsorvida camada sobre camada de Carr-AuNPs durante o preparo do filme.

A nanorugosidade média para o EFAu e EFAu modificado com o filme PANI/carr-AuNPs, Figura 10, foi estimada em $10,2 \pm 1,8$ e $17,1 \pm 1,4$, respectivamente. A rugosidade encontrada para o EFAu foi semelhante a calculada para folhas de acetado e outras membranas poliméricas (MOHAMMAD *et al.*, 2011). Já o aumento observado na rugosidade quando este eletrodo foi modificado com o filme de PANI/carr-AuNPs pode estar atribuído à presença das carr-AuNPs e as áreas de menor altura entre essas partículas. O aumento da rugosidade promovida pelas nanopartículas promove um acréscimo da área superficial do eletrodo contribuindo para o aumento do número de sítios ativos na superfície do eletrodo, que por sua vez, pode acarretar em uma maior adsorção de moléculas biológicas e facilitar reações químicas (ZHANG, 2015).

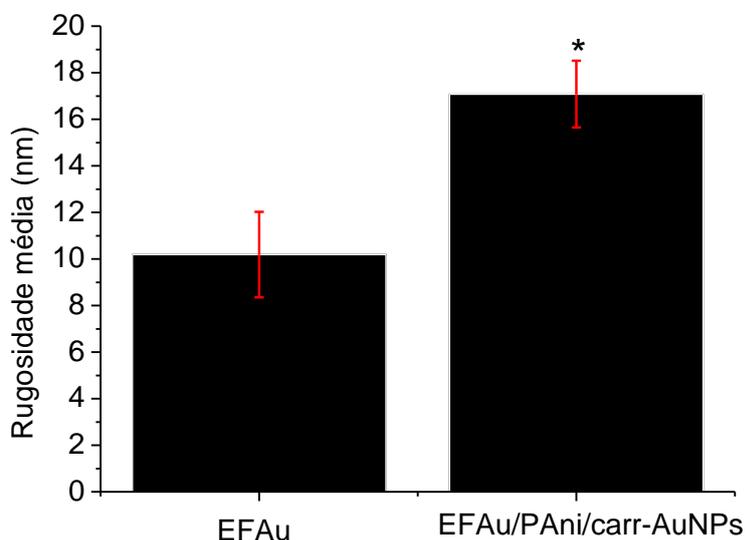
É importante mencionar que a rugosidade foi obtida a partir de imagens digitalizadas em $4,0 \times 4,0 \mu\text{m}$, sendo que este parâmetro pode variar de acordo com a área de digitalização da amostra (EATON e WEST, 2010) e isso já foi observado para membranas poliméricas (MOHAMMAD *et al.*, 2011).

Figura 9. Imagens de AFM obtidas no modo de contato intermitente para o EFAu (A e B) e EFAu modificado com um filme 4 bicamadas de PANI/carr-AuNPs (C e D). As imagens da esquerda (A e C) são imagens de amplitude e as da direita (B e D) são imagens de tridimensionais de altura. Todas as imagens foram digitalizadas de uma área de $4,0 \times 4,0 \mu\text{m}$.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

Figura 10. Comparação entre a rugosidade média do eletrodo EFAu não modificado e modificado com um filme de 4 bicamadas de PANI/carr-AuNs. * *Diferença estatisticamente significativa de EFAu ($P < 0,01$).*



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

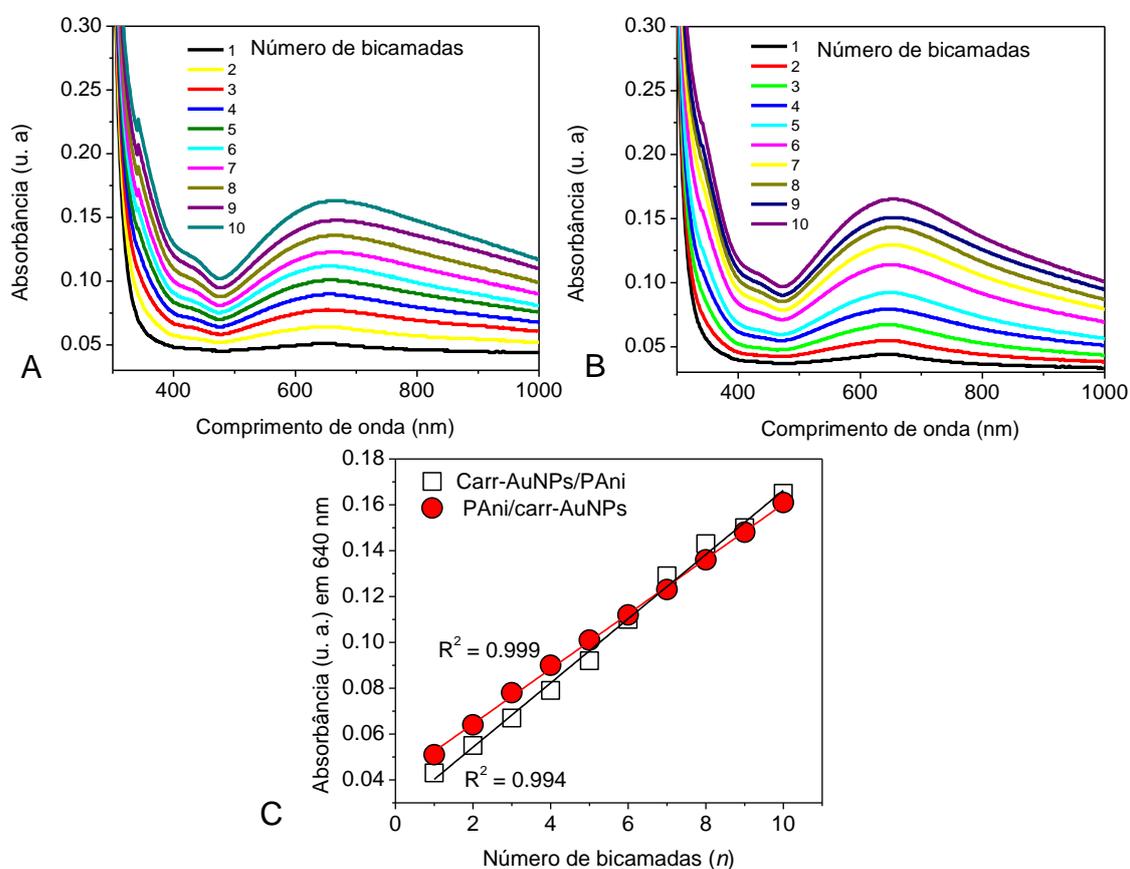
3.4. Cinética de crescimento dos filmes de acompanhada por UV-Vis

A técnica de espectroscopia na região do UV-Vis permite acompanhar o crescimento de um filme *LbL* uma vez que é possível relacionar a absorbância que ocorre no comprimento de onda característico das moléculas absorvedoras presente no filme com o número de bicamadas adsorvidas (SILVA *et al.*, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2015). Assim, é possível investigar a cinética e a uniformidade de crescimento do filme em função do número de bicamadas do filme.

A Figura 11 mostra os espectros de UV-Vis obtidos a cada bicamada adsorvida durante o preparo dos filmes de PANI/carr-AuNPs (Figura 11A) ou de carr-AuNPs/PANI (Figura 11B). Em ambos os casos observou-se duas bandas de absorção bem definidas e características da PANI em 335 nm e 640 nm, atribuídas respectivamente à transição $\pi-\pi^*$ dos anéis benzênicos e à transição $n-\pi^*$ dos anéis quinóides presentes no polímero condutor (KAVITHA *et al.*, 2012), Figura 11. Por a banda em 640 apresentar-se mais definida, esta foi tomada como base para avaliação do crescimento dos filmes.

Na Figura 11C observa-se um crescimento linear para os filmes produzidos, independentemente da sequência de adsorção empregada, o que permite ser afirmado que o processo de adsorção dos filmes é autorregulado, ou seja, tem-se a mesma quantidade de material adsorvida por etapa de deposição. Entretanto, vale ressaltar que o filme de PANI/carr-AuNPs apresentou um índice de correlação (R) de 0,999, enquanto que o filme de carr-AuNPs/PANI um R de 0,994, Figura 11C.

Figura 11. Cinética de crescimento dos filmes *LbL* de A) PANI/carr-AuNPs e B) carr-AuNPs/PANI ($n = 1-10$). C) mostra uma relação linear entre a absorvância em 650 nm e o número de bicamadas adsorvidas.



(Fonte: dados obtidos nesta pesquisa).

4. CONCLUSÕES

Filmes *LbL* à base de PANI e carr-AuNPs foram obtidos sobre EFAu preparados como alternativa de baixo custo a outros eletrodos comumente utilizados. As nanopartículas pioneiras de carr-AuNPs apresentaram tamanho médio de 120 nm e

mostraram-se bastante estáveis durante o período investigado de 90 dias. Quando intercaladas com a PANI, as carr-AuNPs melhoraram consideravelmente a resposta eletroquímica do polímero condutor em meio fisiológico (PBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,1). A sequência de adsorção PANI/carr-AuNPs estabelecida durante o preparo dos filmes mostrou-se a mais adequada, sendo que quatro bicamadas desse filme exibiu sua máxima condutividade em meio fisiológico e, apresentaram-se três vezes mais estáveis que filmes com quatro bicamadas de PANI/PANI. O estabilizante empregado na síntese das nanopartículas e a sequência de deposição adotada desempenharam função importante na atividade e estabilidade eletroquímica desses filmes. A cinética de crescimento dos filmes mostrou comportamento de sistemas autorregulados, para ambas sequências estudadas PANI/carr-AuNPs e carr-AuNPs/PANI. As análises por AFM mostraram que as nanopartículas apresentaram-se homoganeamente distribuídas por toda a superfície do filme sendo responsáveis pelo aumento da rugosidade do EFAu modificado com o filme de PANI/carr-AuNP comparado ao EFAu não modificado. Esse aumento na rugosidade pode vir a facilitar interações químicas entre o filme e o analito durante etapas de sensoriamento. O novo filme aqui proposto mostra-se promissor para aplicações em biossensores de amostras biológicas, devido à melhoria na resposta eletroquímica e estabilidade da PANI em meio fisiológico, tudo isso promovido pela presença das carr-AuNPs e a sequência de deposição adotada.

4. CAPÍTULO 04 - REFERÊNCIAS

ADAMS, F. C.; BARBANTE C. **Nanoscience, nanotechnology and spectrometry.** *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 86, p. 3-13, 2013.

AFM (Atomic Force Microscope). Disponível em: <<http://www3.physik.uni-greifswald.de/method/afm/eafm.htm>>. Último acesso em 14/01/2014.

ÁGAR. **Agar ou Agar–Agar, o mais antigo ficocolóide,** *Aditivos & Ingredientes*, v. 56, 2008.

ALEIXO, L. M. **Voltametria: conceitos e técnicas,** *Chemkeys*, 2003.

AMBROSI, A.; MORRIN, A.; SMYTH, M.R.; KILLARD, A.J. **The application of conducting polymer nanoparticle electrodes to the sensing of ascorbic acid.** *Analytica Chimica Acta*, v. 609, p. 37-43, 2008.

ANDRADE CT, AZERO EG, LUCIANO L, GONÇALVES MP. **Rheological properties of mixtures of kappa-carrageenan from *Hypnea musciformis* and galactomannan from *Cassia javanica*.** *Int J Biol Macromol* 27(5):349-53, 2000.

ARAUJO, I. M. S.; ZAMPA, M. F.; MOURA, J. B.; BORGES, J.; SANTOS Jr, J. R.; EATON P.; ZUCOLOTTO, V.; VERAS, L. M. C.; De PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A.; LEITE, J. R. S. A.; EIRAS, C. **Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices.** *Materials Science & Engineering C*, v. 32, 1588-1593, 2012.

ARMANA M.; SAU, Q. **Structural analysis of kappa-carrageenan isolated from *Hypnea musciformis* (red algae) and evaluation as an elicitor of plant defense mechanism.** *Carbohydrate Polymers* 88:1264–1271, 2012.

ARORA, K.; SUMANA, G.; SAXENA, V.; GUPTA, R. K.; GUPTA, S. K.; YAKMI, J. V.; PANDEY, M. K.; CHAND, S.; MALHOTRA, B. D. **Improved performance of polyaniline-uricase biosensor.** *Analytica Chimica Acta*, v. 594, p. 17-23, 2007.

ARSLAN, A.; HUR, E. **Supercapacitor Applications of Polyaniline and Poly (Nmethylaniline) Coated Pencil Graphite Electrode.** *Int. J. Electrochem. Sci.*, v.7, p. 12558- 12572, 2012.

ARSLAN, F; USTABAS, S.; ARSLAN, H. **An Amperometric Biosensor for Glucose Determination Prepared from Glucose Oxidase Immobilized in Polyaniline-Polyvinylsulfonate Film.** *Sensors*, v. 11, p. 8152-8163, 2011.

BALLARIN, B.; BARRECA, D.; CASSANI, M. C.; CARRARO, G.; MACCATO, C.; MIGNANI, A.; LAZZARI, D.; BERTOLA, M. **Gold nanoparticles-decorated fluoroalkylsilane nano-assemblies for electrocatalytic applications.** *Applied Surface Science*, v. 362, p. 42-48, 2016.

BANERJEE, S.; SARKAR, P. **Amperometric Detection of Hexavalent Chromium with L-DOPA Modified Screen Printed Electrode.** *Sensor Letters*, v. 9, p. 1370-1375, 2011.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods fundamentals and applications.** *New York: John Wiley & Sons*, 2001.

BARROS, S. B. A.; LEITE, C. M. S.; BRITO, A. C. F.; SANTOS Jr, J. R.; ZUCOLOTTI, V.; EIRAS, C. **Multilayer Films Electrodes Consisted of Cashew Gum and Polyaniline Assembled by the Layer-by-Layer Technique: Electrochemical Characterization and Its Use for Dopamine Determination.** *International Journal of Analytical Chemistry*, p. 1-10, 2012.

BASELT, D. R.; BALDESCHWIELER, J. D. **cantilever atomic force microscope.** *Rev. Sci. Instr.*, v. 64, p. 908-911, 1993.

BHAT, N. V.; SESHADRI, D. T.; PHADKE, R. S. **Simultaneous polymerization and crystallization of aniline.** *Synthetic Metals*, v. 130, p. 185-192, 2002.

BINNING, G.; QUATE, C. F. **Atomic Force Microscope.** *Phys. Rev. Lett*, v. 930, p. 56, 1986.

BINNING, G.; ROHRER, H. **The scanning tunneling microscope,** *Sci. Am*, v. 253, p. 50, 1985.

BLYTHE, T.; BLOOR, D. **Electrical properties of polymers.** Cambridge University Press, 2002.

BONASTRE, A. M.; BARTLETT, P. N. **Electrodeposition of PANI films on platinum needle type microelectrodes: Application to the oxidation of ascorbate in human plasma.** *Anal. Chim. Acta*, v. 676, p. 1-8, 2010.

BONDARENKO, O. M.; IVASK, A.; KAHRU, A.; VIJA, H.; TITMA, T.; VISNAPUU, M.; JOOST, U.; PUDOVAC, K.; ADAMBERG, S.; VISNAPUU, T.; ALAMÄE, T. **Bacterial polysaccharide levan as stabilizing, non-toxic and functional coating material for microelement-nanoparticles.** *Carbohydrate Polymers*, v. 136, p. 710-720, 2016.

BRESNAHAN, T. F.; TAJTENBERG, M. **General purpose technologies: engines of growth.** *J. Econom.*, v. 65, p. 83-108, 1995.

BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W. **Sol-gel Science the Physical and Chemistry of Processing.** *Academic Press*, Boston, 1990.

CAI, X.; GAO, X.; WANG, L. WU, Q.; LIN, X. **A layer-by-layer assembled and carbon nanotubes/gold nanoparticles-based bienzyme biosensor for cholesterol detection.** *Sensors and Actuators B*, 181, 575–583, 2013.

CAO, Y.; SMITH, P.; HEEGER, A. J. **Spectroscopic studies of polyaniline in solution and in spin-cast films,** *Synthetic Metals*, v. 32, p. 263-281, 1989.

CARDOZO, K. H. M.; GUARATINI, T.; BARROS, M. P.; FALCAO, V. R.; TONON, A. P.; LOPES, N.; CAMPOS, S.; TORRES, M. A.; SOUZA, A. O.; COLEPICCOLO, P.; PINTO, E. **Metabolites from algae with economical impact.** *Comp. Biochem. Phys. C*, v. 146, p. 60-78, 2007.

CARVALHO, C. L.; VARELA, J. A. **Construção e Caracterização de um Equipamento para Deposição de Filmes pela Técnica de Dip-Coating".** *Revista de Física Aplicada e Instrumentação*, v.14, n° 4, p.115-119, 2001.

CHARLES, W. G.; LLAN, S.; MELVYN, E. G.; WILFRED, Y. **Analysis of carrageenan from *Hypnea musciformis* by using k and (-carrageenan and ¹³C NMR spec-troscopy.** *Carbohydrate Research*, v. 129, p. 189-196, 1984.

CHENG, M. M.; CUDA, G.; BUNIMOVICH, Y. L.; GASPARI, M.; HEALTH, J. R.; HILL, H. D.; MIRKIN, C. A.; NIJDAM, A. J.; TERRACCIANO, R.; THUNDAT, T.; CHERNY, D. I.; FOURCADE, A.; SVINARCHUK, F.; NIELSEN, P. E.; MALVY, C.; COELHO, A. G. **Nanopartículas de Ouro Estabilizadas em Matriz de Quitosana: Preparação, Caracterização e Imobilização em Filmes Multicamadas.** Dissertação de Mestrado, UFPI, Teresina, PI, 2011.

CHERNY, D. I.; FOURCADE, A.; SVINARCHUK, F.; NIELSEN, P. E.; MALVY, C.; DELAIN, E. **Analysis of various sequence-specific triplexes by electron and atomic force microscopies** ,*Biophys*, v. 74, p. 1015, 1998.

CHOMOUCKA, J.; DRBOHLAVOVA, J.; MASARIK, M.; RYVOLOVA, M.; HUSKA, D.; PRASEK, J.; HORNA, A.; TRNKOVA, L.; PROVAZNIK, I.; ADAM, V.; HUBALEK, J.; KIZEK, R. **Nanotechnologies for society. New designs and applications of nanosensors and nanobiosensors in medicine and environmental analysis.** *Int. J. Nanotechnol.*, v. 9, p. 746-783, 2012.

CHOO, H.; HE, B.; LIEW , K. Y.; LIU, H.; LI, J. **Morphology and control of Pd nanoparticles,** *Journal of Molecular Catalysis. A: Chemical*, v. 244, p. 217-228, 2006.

CHU, W.; ZHOU, Q.; LIA, S.; ZHAO, W.; LI, N.; ZHENG, J. **Oxidation and sensing of ascorbic acid and dopamine on self-assembled gold nanoparticles incorporated within polyaniline film.** *Applied Surface Science*, v. 353, p. 425-432, 2015.

COELHO, A. G. **Nanopartículas de Ouro Estabilizadas em Matriz de Quitosana: Preparação, Caracterização e Imobilização em Filmes Multicamadas.** Dissertação de Mestrado, UFPI, Teresina, PI, 2011.

COMPTON, R. G.; WILDGOOSE, G. G.; REES, N. V.; STREETER, I.; BARON, R. **Design, fabrication, characterisation and application of nanoelectrode arrays** *Chem. Phys. Lett.*, v. 459, p. 1-17, 2008.

CRESPILHO, F. N.; IOST, R. M.; TRAVAIN, S. A.; OLIVEIRA, O. N.; ZUCOLOTTI, V. **Enzyme immobilition on Ag nanoparticles/ polyaniline nanocomposites.** *Biosensors and Bioelectronics*, v. 24, p. 3073-3077, 2009.

CRESPILHO, F. N.; ZUCOLOTTI, V.; OLIVEIRA Jr, O. N.; NART, F. C. **Electrochemistry of Layer-by-Layer Films.** *Int. J. Electrochem. Sci*, v. 1, p. 194-214, 2006.

CSARNOVICS, I.; HAJDU, P.; BIRI, S.; HEGEDŰS, C.; KÖKÉNYESI, S.; RÁCZ, R.; CSIK, A. **Preliminary studies of creation of gold nanoparticles on titanium surface towards biomedical applications.** *Vacuum*, v. 126, p. 55-58, 2016.

CUNHA, S. R.; PAZETO, F. D.; CRESTANI, D. E. V.; LIMA, G. B.; NASCIMENTO, J.; SANTANNA, F.; MANZONI, G. C.; MARENZI, A. W. C.; MAFRA Jr, L. L. **Potencial de Crescimento de macroalgas cultiváveis presentes na enseada de armação do Itapocoroy (Penha, SC): Avaliação preliminar.** *Notas Téc. Facimar*, p. 17-24, 1999.

CUNHA, P. L. R.; De PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. **Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico.** *Química Nova*, v. 32, n. 3, 2009.

DE PAOLI, M. A.; ZOPPI, R. A. **Aplicações tecnológicas de Polímeros Intrinsecamente condutores: perspectivas atuais.** *Química nova*, v. 16, n. 6, p. 560-568, 1993.

DECHER, G. **Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites.** *Science*, v. 277, p. 1232-1237, 1997.

DENG, H.; ZHOU, X.; WANG, X.; ZHANG, C.; DING, B.; ZHANG, Q.; DU, Y. **Layer-by-layer structured polysaccharides film-coated cellulose nanofibrous mats for cell culture.** *Carbohydrate Polymers*, v. 80, p. 474-479, 2010.

DHAND, D. C. M.; DATTA, M.; MALHOTRA, B. D. **Recent advances in polyaniline based biosensors.** *Biosens Bioelectron*, v. 26, n. 6, p. 2811-2821, 2011.

Discover Polysaccharides, disponível em:
http://polysac3db.cermav.cnrs.fr/discover_carrageenans.html, Último acesso em 28/01/2014.

DURAN, N.; MATOSSO, L. H. C.; MORAIS, P. C. **Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação.** *Artiber*, p. 13-68, 2006.

EATON, P.; WEST, P. **Atomic Force Microscopy.** Oxford University Press. Oxford. UK, 2010.

EIRAS, C.; PASSOS, I. N. G.; DE BRITO A. C. F.; JUNIOR, J. R. S.; ZUCOLOTTO, V.; OLIVEIRA JR, O. N.; KITAGAWA, I. L.; CONSTANTINO, C. J. L, CUNHA, H. N. **Electroactive nanocomposites made of poly (o-methoxyaniline) and natural polysaccharides,** *Quím. Nova*, v. 30, n.5, 2007.

EIRAS, C.; SANTOS, A. C.; ZAMPA, M. F.; De BRITO, A. C. F.; CONSTANTINO, C. J. L.; ZUCOLOTTO, V.; Dos SANTOS, J. R. **Natural polysaccharides as active biomaterials in nanostructured films for sensing.** *Journal of Biomaterials Science*, v. 21, p. 1533-1543, 2010.

EMERICH, D. F.; THANOS, C. G. **Nanotechnology and medicine**. *Expert Opin Biol Ther*, v. 3, p. 655-663, 2003.

ESTILLORE, N. C., ADVINCULA, R. C. **Stimuli-Responsive Binary Mixed Polymer Brushes and Free-Standing Films by LbL-SIP**. *Langmuir*, v. 27, p. 5997–6008, 2011.

FAEZ, R.; REIS, C.; DE FREITAS, P. S.; KOSIAMA, O. K.; RUGGERI, G.; DE PAOLI, M. A. **Polímeros condutores**. *Química nova na escola*, v. 1, n. 11, p. 13-18, 2000.

FARIAS, E. A. O.; DIONISIO, N. A.; QUELEMES, P. V.; LEAL, S. H.; MATOS, J. M. E.; FILHO, E. C. S.; BECHTOLD, I. H.; LEITE, J. R. S. A.; EIRAS, C. **Development and characterization of multilayer films of polyaniline, titanium dioxide and CTAB for potential antimicrobial applications**. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials. Sensors and Systems (Print)*, v. 35, p. 449-454, 2014.

FARIAS, E. A. O.; SANTOS, M. C.; DIONISIO, N. A.; QUELEMES, P. V.; LEITE, J. R. S. A.; EATON, P.; SILVA, D. A.; EIRAS, C. **Layer-by-Layer films based on biopolymers extracted from red seaweeds and polyaniline for applications in electrochemical sensors of chromium VI**. *Materials Science & Engineering. B, Solid-State Materials for Advanced Technology*, v. 200, p. 9-21, 2015.

FARIAS, E. A. O.; DIONISIO, N. A.; QUEMELES, P. V.; LEAL, S. H. B. S. ; MATOS de, J. M.; SILVA FILHO, E. C.; BECHTOLD, I. H.; LEITE, J. R. S. A.; Eiras, C. **Development and characterization of multilayer films of polyaniline, titanium dioxide and CTAB for potential antimicrobial applications**. *Materials Science & Engineering. C*, v. 35, p. 449-454, 2013.

Food ingredients, disponível em: <http://foodingredients.wikispaces.com/SC+Agar+%26+Carrageenan>, Último acesso em: 28/01/2014.

FU, Y.; WEISS, R. A. **Protonation of polyaniline with lightly sulfonated polystyrene.** *Synthetic Metals*, v. 84, p. 103-104, 1997.

GAIKWAD, P. D.; SHIRALE, D. J.; SAVALE, P. A.; DATTA, K.; GHOSH, P.; PATHAN, A. J.; RABBANI, G.; SHIRSAT, M. D. **Development of PANI-PVS-GOD electrode by potentiometric method for determination of glucose.** *Int. J. Electrochem. Sci.*, v. 2, p. 488-497, 2007.

GALEMBECK, A. **Aplicação da Técnica de Decomposição dos Precursores Metalorgânicos (MOD) à Obtenção de Filmes Finos de Óxidos e Heteroestruturas Planares Óxido/Polímero Condutor.** Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, SP, 1998.

GAMBINOSI, F.; BAGLIONI, P.; CAMINATI, G. **Hybrid LbL/LB films as molecular OLEDs: anacousticsharwaveattenuationand Brewster anglemicroscopystudy.** *Materials Science and Engineering C*, v. 27, n. 5-8, p. 1056-1060, 2007.

GANESAN, M.; THIRUPPATHI, S.; BRAVANATH, J. **Mariculture of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux in South east coast of India.** *Aquaculture*, v. 211, 2006.

GARCIA, M. E.; MOTTRAM, T. **Biosensor technology addressing agricultural problems.** *Biosystems Engineering*, v. 84, n. 1, p. 1-12, 2003.

GIL, M. H.; FERREIRA, P. **Polissacarídeos como biomateriais.** *Química nova*, v. 100, p. 72-74, 2006.

GUIMARÃES, J. A. **Estudo de filmes de Lanmuir e Langmuir-Blodgett visando o desenvolvimento de biossensor de Colesterol,** UFRJ-COPPE, Rio de Janeiro, 2009.

GYAWALI, D.; NAIR, P.; ZHANG, Y.; TRAN, R. T.; ZHANG, C.; SAMCHUKOV, M.; MAKAROV, M.; KIM, H. K. W.; YANG, J. **Citric acid-derived in situ crosslinkable biodegradable polymers for cell delivery.** *Biomaterials*, v. 31, n. 34, p. 9092-9105, 2010.

HANSTEIN, S.; BONASTRE, A. M.; NESTLER, U.; BARTLETT, P. N. **Controlling solubility of polymeric anions in supramolecular assemblies with poly(aniline) for microsensors and actuators in human tissue.** *Sensor Actuat B–Chem*, v. 125, v. 1, p. 284-300, 2007.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa.** *Livros Técnicos e Científicos*, Editora S.A, Rio de Janeiro, 2003.

HE, J.; GUAN, Y.; ZHANG, Y. **Redox-active LBL Films via In Situ Template Polymerization of Hydroquinone.** *J. Appl. Polym. Sci.*, 3070-3076. 2013.

HOLDER, E.; LANGEVELD, B. M. W.; SCHUBERT, U. S. **New trends in the use of transition metal-ligand complexes for applications in electroluminescent devices.** *Advanced Materials*, v. 17, p. 1109-1121, 2005.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**, 6^a ed, Editora Bookman, 2009.

HU, H.; SANIGER, J. M.; BANUELOS, J. G.; **Thin films of polyaniline–polyacrylic acid composite by chemical bath deposition.** *Thin Solid Films*, v. 347 n.1, p. 241-247, 1999.

HUANG, W. S.; HUMPHREY, B. D.; MACDIARMID, A. G. **Polyaniline, a novel conducting polymer – morphology and chemistry of its oxidation and reduction in aqueous-electrolytes.** *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, v. 82, p. 2385-2400, 1986.

HUGUENIN, F.; ZUCOLOTTO, V.; CARVALHO, A. J. F. .; GONZALEZ, E. R.; OLIVEIRA JR, O. N. **Layer-by-Layer Hybrid Films Incorporating WO₃, TiO₂, and Chitosan,** *Chem. Mat.* v. 17, n. 26, p 6739–6745, 2005.

HUMBERT, C.; PLUCHERY, O.; LACAZE, E.; TADJEDDINE, A. **Optical spectroscopy of functionalized gold nanoparticles assemblies as a function of the surface coverage.** *Gold Bull*, v. 46, p. 299-309, 2013.

INTEMA, R. C. **Preparação e Caracterização de filmes automontados contendo polieletrólitos inorgânicos e goma natural do cajueiro.** Dissertação do mestrado em Química Aplicada. UEPG, Ponta Grossa-PR, 2011.

ISLAM, N.; MIYAZAKI, K. **Nanotechnology innovation system: Understanding hidden dynamics of nanoscience fusion trajectories.** *Technological Forecasting and Social Change*, v. 76, p. 128-140, 2009.

JANOVÁK, L.; DÉKÁNY, I. **Optical properties and electric conductivity of gold nanoparticle-containing, hydrogel-based thin layer composite films obtained by photopolymerization.** *Applied Surface Science*, v. 256, p. 2809-2817, 2010.

JENSEN, A. **Present and future needs for algae and algae products.** *Hydrobiologia*, v. 260/261, p. 15-23, 1993.

JESUS, C. G.; LIMA, D. SANTOS, V.; WOHRNATH, K. PESSOA, C. A. **Glucose biosensor based on the highly efficient immobilization of glucose oxidase on layer-by-layer films of silsesquioxane polyelectrolyte.** *Sensors and Actuators B*, v. 186, p. 44–51, 2013.

JIANG, Y.; WANG, A.; KAN, J. **Selective uricase biosensor based on polyaniline synthesized in ionic liquid.** *Sensors and Actuators B*, v. 124, p. 529–534, 2007.

JIAO G, YU G, ZHANG J, EWART HS. **Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae.** *Marine drugs* 9:196-223, 2011.

JO, Y.; CHO, W.; INAMDAR, A. I.; KIM, B. C.; KIM, J.; KIM, H.; IM, H.; YU, K.; KIM, D. **Electrochemical Supercapacitor Properties of Polyaniline Thin Films in Organic Salt Added Electrolytes.** *J. APPL. POLYM. SCI*, 2014.

JOSEPH, S.; MATHEW, B. **Microwave-assisted facile green synthesis of silver nanoparticles and spectroscopic investigation of the catalytic activity.** *Bulletin of Materials Science*, 2015.

KANG, E. T.; NEOH, K. G.; TAN, K. L. **Polyaniline: a polymer with many interesting intrinsic redox states.** *Progress in Polymer Science*, v. 23, p. 277-324, 1998.

KAVITHA, B.; PRABAKAR, K.; KUMAR, K. S.; SRINIVASU, D.; SRINIVAS, Ch.; ASWAL, V. K.; SIRIGURI, V.; NARSIMLU, N. **Spectroscopic Studies of Nano Size Crystalline Conducting Polyaniline.** *Journal of Applied Chemistry*, v. 2, n. 1, p. 16-19, 2012.

KELLY, F. M.; JOHNSTON, J. H.; BORRMANN, T.; RICHARDSON, M. J. **Functionalised Hybrid Materials of Conducting Polymers with Individual Fibres of Cellulose,** p. 5571-5577, 2007.

KERN, W. **Purifying Si and SiO₂ surfaces with hydrogen peroxide.** *Semicond. Int.* v. 7, p. 94-98, 1984.

KHAH, A. M.; ANSARI, R.; DELAVAR, A. F.; MOSAYEBZADEH, Z. **Nano Structured Potentiometric Sensors Based on Polyaniline Conducting Polymer for Determination of Cr (VI),** *Bull. Korean Chem. Soc*, v. 33, n. 4, 2012.

KIM, H. S.; HOBBS, H. L.; WANG, L.; RUTTEN, M. J.; WAMSER, C. C. **Biocompatible composites of polyaniline nanofibers and collagen.** *Synthetic Metals*, v. 159, p. 1313-1318, 2009.

KRISHNANI, K. K.; SRINIVES, B. C. S.; MOHAPATRA, V. M.; BODDU, J. H. X.; MENG, A. M. **Hexavalent chromium removal mechanism using conducting polymers.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 252-253, p. 99-106, 2013.

KUMAR, P. A.; CHAKRABORTY, S. **Fixed-bed column study for hexavalent chromium removal and recovery by short-chain polyaniline synthesized on jute fiber,** *Journal of Hazardous Materials*, v. 162, n. 2, p. 1086-1098, 2009.

LAKARD, B.; MAGNIN, D.; DESCHAUME, O.; VANLANCKER, G.; GLINEL, K.; DEMOUSTIER-CHAMPAGNE, S.; NYSTEN, B.; BERTRAND, P.; YUNUS, S.; JONAS, A.M. **Optimization of the structural parameters of new potentiometric pH**

and urea sensors based on polyaniline and a polysaccharide coupling layer. *Sensors and Actuators B Chemical*, v.166– 167, p. 794– 801, 2012.

LI, H. Q. **The Common AFM Modes.** Disponível em: <<http://www.chembio.uoguelph.ca/educmat/chm729/afm/details.htm>>. Último acesso em 14/01/2014.

LI, X. A. et al. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v.735, p. 106-23, 2014.

LIN, Y. C.; YU, B. Y.; LIN, W. C.; LEE, S. H.; KUO, C. H.; SHYUE, J. J. **Tailoring the surface potential of gold nanoparticles with self-assembled monolayers with mixed functional groups.** *J. Colloid Interface Sci.*, v. 340, p. 126-130, 2009.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. **Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos.** *Quím. Nova*, v. 29, n.6, p.1318-1325, 2006.

LU, P.; HSIEH Y. **Layer-by-layer self-assembly of Cibacron Blue F₃GA and lipase on ultra-fine cellulose fibrous membrane.** *Journal of Membrane Science*, v. 348, p. 21–27, 2010.

LUKACHOVA, L. V.; SHKERIN, E. A.; PUGANOVA, E. A.; KARYAKINA, E. E.; KISELEVA, S. G.; ORLOV, A. V.; KARPACHEVA, G. P.; KARYAKIN, A. A. **Electroactivity of chemically synthesized polyaniline in neutral and alkaline aqueous solutions: Role of self-doping and external doping.** *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 544, p. 59-63, 2003.

LYUTOV, V. V.; IVANOV, S. D.; MIRSKY, V. M.; TSAKOVA, V. T. **Polyaniline doped with poly (acrylamidomethylpropanesulphonic acid): electrochemical behaviour and conductive properties in neutral solutions.** *Chemical Papers*, v. 67, p. 1002-1011, 2013.

MACDIARMID, A. G. **Synthetic metals: a novel role for organic polymers.** *Synthetic metals*, v. 125, p. 11-22, 2002.

Madeira, M. P. **Um estudo da influência do plasma nas superfícies do vidro e ITO.** Dissertação de Mestrado em Física. Universidade Federal do Piauí, 2014.

MACIEL, J. S.; CHAVES, L. S.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, D. I. A.; FREITAS, A. L. P.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. **Structural characterization of cold extracted fractions of soluble sulfated polysaccharide from red seaweed *Gracilaria birdiae*.** *Carbohyd Polym*, v. 71, p. 559-565, 2008.

MAKAROV, V. V; LOVE, A. J; SINITSYNA, O. V; MAKAROV, S. S; YAMINSKY, I. V; TALIANSKY, M. E; KALININA, N. O. **“Green” Nanotechnologies: Synthesis of Metal Nanoparticles Using Plants,** *Acta Naturae*. v 6, n1, p. 35–44, 2014.

MAMEDOV, A. A.; KOTOV, N. A.; PRATO, M.; GULDI, D. M.; WICKSTED, J. P.; HIRSCH, A. **Molecular design of strong singlewall carbon nanotube/polyelectrolyte multilayer composites.** *Nature Materials*, v. 1, n. 3, p. 190–194, 2002.

MANGOMBO, Z. A.; KEY, D.; IWUOHA, E. I.; BAKER, P. G. L. **Development of L-phenylalanine biosensor and its application to real sample analysis.** *Insciences J*, v. 3, n. 1, p. 1-23, 2013.

MANGOMBO, Z. A.; BAKER, P.; IWUOHA, E.; KEY, D. **Tyrosinase biosensor based on a boron-doped diamond electrode modified with a polyaniline-poly(vinyl sulfonate) composite film,** *Microchim Acta*, v. 170 , p.267-273, 2010.

MARIN, S.; MERKOCI, A. **Nanomaterials based electrochemical sensing applications for safety and security.** *Electroanalysis*, v. 24, p. 459-469, 2012.

MASHHADIZADEH, M. H.; TALEMI, R. P. **Synergistic effect of magnetite and gold nanoparticles onto the response of a label-free impedimetric hepatitis B virus DNA biosensor.** *Materials Science and Engineering: C*, v. 59, p. 773-781, 2016.

MATOS, R. A.; CORDEIRO, T. S.; SAMAD, R. E.; VIEIRAJR, N. D.; COURROL, L. C. **Green synthesis of gold nanoparticles of different sizes and shapes using agar-agar water solution and femtosecond pulse laser irradiation.** *Applied Physics A*, v. 109, p. 737-741, 2012.

MATSUDAI, M.; HUNT, G. **Nanotechnology and public health.** *Nippon Koshu Eisei Zasshi*, v. 52, p. 923-927, 2005.

MATSUHISA, H.; TSUCHIYA, M.; HASEBE, Y. **Protein and polysaccharide-composite sol-gel silicate film for an interference-free amperometric glucose biosensor,** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 111, p. 523–529, 2013.

MATTOSO, L. H. C. **Polianilinas: Síntese, Estrutura e Propriedades.** *Química nova*, v. 19, n. 4, p. 388-398, 1996.

MATTOSO, L. H. C.; FERREIRA, M.; OLIVEIRA JR, O. N. **Filmes Langmuir-Blodgett de Polímeros Condutores.** *Polímeros: ciência e tecnologia*, p. 23-32, 1994.

MAZUMBER, S.; GHOSAL, P. K.; PUJOL, C. A.; CARLUCCI, M. J.; DAMONTE, E. B.; RAY, B. **Isolation, chemical investigation and antiviral activity of polysaccharides from *Gracilaria corticata* (Gracilariaceae, Rhodophyta),** *International Journal of Biol. Macromol.*, v. 31, p. 87-95, 2002.

MCHUGH, D. **A guide to the seaweed industry.** *FAO Fisheries Tech*, v.441, 2003.

MEDEIROS, E. S.; OLIVEIRA, J. E.; FILHO, N. C.; PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C. **Uso de Polímeros Condutores em Sensores. Parte 1: Introdução aos Polímeros Condutores.** *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 7, p.62 – 77, 2012.

MEDYNSKA, A. Z.; MARCHELEK, M.; DIAK, M.; GRABOWSKA, E. **Noble metal-based bimetallic nanoparticles: the effect of the structure on the optical, catalytic and photocatalytic properties.** *Advances in Colloid and Interface Science*, 2015.

MIAO, Z.; WANG, P.; ZHONG, A.; YANG, M.; XU, Q.; HAOA, S.; HU, X. **Development of a glucose biosensor based on electrodeposited gold nanoparticles–polyvinylpyrrolidone–polyaniline nanocomposites.** *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 756, p. 153-160, 2015.

MOHAMMAD, A. W.; HILAL, N.; PEI, L. Y.; AMIN, I. N. H. M.; RASLAN, R. **Atomic Force Microscopy as a Tool for Asymmetric Polymeric Membrane Characterization.** *Sains Malaysiana*, v. 40, p. 237-244, 2011.

MOHAN, C. M **A guide for the preparation and use of buffers in biological systems**, 2006.

MOTTRAM, T.; HART, J.; PEMBERTON, R. **A sensor based automatic ovulation prediction system for dairy cows.** *Proceedings of 5th AISEM Conference*. Lecce, Italy, 2000.

NASSAR, E. J.; CIUFFI, K. J.; GONÇALVES, R. R.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. J. L. **Filmes de titânio-silício preparados por “spin” e “dip-coating”.** *Química Nova*. v. 26, n. 5, p. 674-677, 2003.

NDANGILI, P. M.; WARYO, T. T.; MUCHINDU, M.; BAKER, P. G. L.; NGILA, C. J.; IWUOHA, E. I. **Ferrocenium hexafluorophosphate-induced nanofibrillarity of polyaniline–polyvinyl sulfonate electropolymer and application in an amperometric enzyme biosensor.** *Electrochimica Acta*, v. 55, n. 14, p. 4267-4273, 2010.

NETZER, L. I.; SAGIV, J. A. **New approach to construction of artificial monolayer assemblies.** *Journal of the American Chemical Society*, v. 105, n. 3, p. 674-676, 1983.

NUNES, MARCÍLIO, LARISSA, **Sensores e transdutores.** Escola politécnica – Universidade de São Paulo. Aula em PowerPoint. Disponível em: <<http://www.gmsie.usp.br/Downloads/Download.aspx?FileID=118>>. Último acesso em: 20/01/2014.

O'BRIEN, T. J.; CERYAK, S.; PATIERNO, S. R. **Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms.** *Mutat. Res*, v. 533, p. 3-36, 2003.

OLIVEIRA Jr, O. N.; HE, J. A.; ZUCOLOTO, V.; BALASUBRAMANIAN, S.; LI, L.; NALWA, H. S.; KUMAR, J.; TRIPATHY, S. K. **Layer-by-Layer polyelectrolyte-**

based thin films for electronic and photonic applications. *Handbook of Polyelectrolytes and their applications*, v. 1, p. 1-37, 2002.

PANDIT, P.; BANERJEE, M.; GUPTA, A. **Growth and morphological analysis of ultra thin PMMA films prepared by Langmuir–Blodgett deposition technique.** *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 454, p.189-195, 2014.

PATEL, J.; MIGHRI, F.; AJJI, A.; TIWARI, D.; CHAUDHURI, T.K. **Spin-coating deposition of PbS and CdS thin films for solar cell application.** *Applied Physics A*, v. 117, p. 1791-1799, 2014.

PATERNIO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; De OLIVEIRA Jr, O. N. **Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações.** *Quím. Nova*, v. 24, n. 2, p. 238-235, 2001.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à Espectroscopia**, Cengage Learning, 2012.

PEREIRA L, SOUSA A, COELHO H, AMADO AM, RIBEIRO-CLARO PJA. **Use of FTIR, FT-Raman and ¹³C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids.** *Biomolecular Engineering* 20:223-228, 2013.

PRUNEAN, S.; VERESS, E.; MARIAN, I.; ONICIU, L. **Characterization of polyaniline by cyclic voltammetry and UV–Vis absorption spectroscopy.** *Journal of materials science*, v. 34, p. 2733-2739, 1999.

PUTZBACH, W.; RONKAINEN, N. J. **Immobilization techniques in the fabrication of nanomaterial-based electrochemical biosensors: a review.** *Sensors*, v. 13, p. 4811-4840, 2013.

QI H, ZHANG Q, ZHAO T, CHEN R, ZHANG H, NIU X, **Antioxidant activity of different sulphate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro.** *International Journal of Biological Macromolecules* 37(4):195-199, 2005.

QUELEMES, P.; ARARUNA, F.; DE FARIA, B.; KUCKELHAUS, S.; DA SILVA, D.; MENDONÇA, R.; EIRAS, C.; DOS S. SOARES, M.; LEITE, J. R. **Development and Antibacterial Activity of Cashew Gum-Based Silver Nanoparticles.** *International Journal of Molecular Sciences (Online)*, v. 14, p. 4969-4981, 2013.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. **Validation for chromatographic and electrophoretic methods.** *Quím. Nova* v. 27, n.5, 2004.

RIVERA, R.; PINTO, N. J. **Schottky diodes based on electrospun polyaniline nanofibers: Effects of varying fiber diameter and doping level on device performance,** *Physica E*, v. 41, p. 423–426, 2009.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. **Estratégias Para Aumento De Sensibilidade Em Espectrofotometria Uv-Vis.** *Quim. Nova*, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004.

ROEDER, M.; BELEKE, A.B.; UWE GUNTOW, U.; JOHANNA BUENSOW, J.; GUERFI, A.; POSSET, U.; LORRMANN, H.; ZAGHIB, K.; SEXTL, G. **Li₄Ti₅O₁₂ and LiMn₂O₄ thin-film electrodes on transparent conducting oxides for all-solid-state and electrochromic applications.** *Journal of Power Sources*, v. 301, p.35-40, 2016.

ROYAPPA, A. T.; RUBNER, M. F. **Novel Langmuir–Blodgett films of conducting polymers. 1. Polyion complexes and their multilayer heterostructures.** *Langmuir*, v. 8, n. 12, p. 3168-3177, 1992.

RUSLING, J. F.; HVASTKOV, E. G.; HULL, D. O.; SCHENKMAN, J. B. **Biochemical applications of ultrathin films of enzymes, polyions and DNA.** *Chem. Commun*, v. 14, n. 2, p. 141-54, 2008.

SAFAVI, A.; MALEKI, N.; SHAHBAAZI, H. R. **Indirect determination of hexavalent chromium ion in complex matrices by adsorptive stripping voltammetry at a mercury electrode.** *Talanta*, v. 68, p. 1113-1119, 2006.

SAHOO, S. K.; PARVEEN, S. PANDA, J. J. **The present and future of nanotechnology in human health care.** *Nanomedicine*, v. 1, p. 20-31, 2007.

SAMANIA, M. R. , BORGHEIB, S. M.; OLADC, A.; CHAICHID, M. J. **Removal of chromium from aqueous solution using polyaniline – Poly ethylene glycol composite.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 184, n.1, p. 248-254, 2010.

SANCHIS, C.; GHANEM, M. A.; SALAVAGIONE, H. J.; MORALLON, E.; BARTLETT, P.N. **The oxidation of ascorbate at copolymeric sulfonated poly(aniline) coated on glassy carbon electrodes.** *Bioelectrochemistry*, v. 80, n. 2, p. 105-113, 2011.

SANTOS, M. C.; MUNFORD, M. L.; BIANCHI, R. F. **Influence of NiCr/Au electrodes and multilayer thickness on the electrical properties of PANI/PVS ultrathin film grown by Lbl deposition.** *Mater. Sci. Eng. B*, v. 177, n. 4, p. 359-366, 2012.

SARAGA M. L. T. **Thin films including layers: terminology in relation to their preparation and characterization.** *Pure & Applied Chemistry*, v. 68, n. 8, p. 1667-1738, 1994.

SEKRAL M, LEGRAND P. **A spectroscopic investigation of the carrageenans and agar in the 150-100 cm⁻¹ spectral range.** *Specmchimica Acta*. 49(2):209-221, 1993.

SHIRAKAWA, H.; LOUIS, E. J.; MACDIARMID, A. G.; CHIANG, C. K; HEEGER, A. J. **Synthesis of Electrically Conducting Organic Polymers: Halogen Derivatives of Polyacetylene, (CH)_x.** *Journal of the Chemical Society*, v. 16, p. 5787-580, 1977.

SHUKLA, M. K.; SINGH, R. P.; REDDY, C. R. K.; JHA, B. **Synthesis and characterization of agar-based silver nanoparticles and nanocomposite film with antibacterial applications.** *Bioresource Technology*, v. 107, p. 295-300, 2012.

SILVA, W. C.; ALENCAR, W. S.; CRESPILO, F. N.; MARTINS, M. V. A.; ZUCOLOTO, V.; OLIVEIRA Jr, O. N. **Synergistic Interaction between gold nanoparticles and nickellphthalocyanine in layer-by-layer (LbL) films: evidence of constitutional dynamic chemistry (CDC).** *Chem. Phys*, v. 11 p. 5086-5091, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, 5ª ed., LTC, 1994.

SINGH, L. P.; BHATNAGAR, J. M.; TANAKA, S.; TSUE, H.; MORI, M. **Selective anion recognition: Charged diaza crown ethers based electrochemical sensors for chromate ions**. *Anal. Chim. Acta*, v. 546, p. 199, 2005.

SINGH, M; TIWARY, A.K; KAUR, G. **Investigations on interpolymer complexes of cationic guar gum and xanthan gum for formulation of bioadhesive films**, *Res Pharm Sci*. v.5, n. 2, p. 79–87, 2010.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, J. F.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de química analítica**, 1ª ed, 2006.

SOLOMON, S. D.; BAHADORY, M.; JEYARAJASINGAM, A. V.; RUTKOWSKY, S. A.; BORITZ, C.; MULFINGER, L. **Synthesis and Study of Silver Nanoparticles**. *Journal of Chemical Education*, p. 322-325, 2007.

SONG E, CHOI JW. **Conducting Polyaniline Nanowire and Its Applications in Chemiresistive Sensing**. *Nanomaterials* 3(3):498-523, 2013.

SOUZA MCH, MARQUES CT, DORE CMG, SILVA FRF, ROCHA, HAO; LEITE EL, **Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds**. *J. Appl. Phycol.* 19:153–160, 2007.

SRIVASTAVA, S.; KUMAR, S.; VIJAV, Y. K. **Preparation and characterization of tantalum/polyaniline composite based chemiresistor type sensor for hydrogen gas sensing application**. *International journal of hydrogen energy*, v. 37, p. 3825-3832, 2012.

TAGA, Y. **Recent progress of nanotechnologies of thin films for industrial applications**. *Materials Science and Engineering C*, v. 15, n. 1, p. 231–235, 2001.

TEIXEIRA, P. R. S.; DO NASCIMENTO MARREIRO, A. S.; FARIAS, E. A. O.; DIONISIO, N. A.; FILHO, E. C. S.; EIRAS, C. **Layer-by-layer hybrid films of**

phosphate cellulose and electroactive polymer as chromium (VI) sensors. *Journal of Solid State Electrochemistry (Print)*, v. 19, p. 1-11, 2015.

TELES, F. R. R.; FONSECA, L. P. **Applications of polymers for biomolecule mobilization in electrochemical biosensors.** *Materials Science and Engineering C*, v. 28, p. 1530-1543, 2008.

THERÉZIO, E. M.; PIOVESAN, E.; ANNI, M.; SILVA, R. A.; OLIVEIRA, O. N. Jr.; MARLETTA, A. **Substrate/semiconductor interface effects on the emission efficiency of luminescent polymers.** *Journal of Applied Physics*, v. 110, p. 445041-445046, 2011.

TIAN, S.; LIU, J.; ZHU, T.; KNOLL, W. **Polyaniline/Gold Nanoparticle Multilayer Films: Assembly, Properties, and Biological Applications.** *Chem. Mater*, v. 16, p. 4103-4108, 2004.

TOJO, E.; PRADO, J. **Chemical composition of carrageenan blends determined by IR spectroscopy combined with a PLS multivariate calibration method** *Carbohydrate Research*, v. 338, p. 1309-1312, 2003.

TSAI, M. C.; CHEN, P. Y. **Voltammetric study and electrochemical detection of hexavalent chromium at gold nanoparticle-electrodeposited indium tin oxide (ITO) electrodes in acidic media.** *Talanta*, v. 76, p. 533-539, 2008.

ULMAN, A. **Thermal-stability of langmuir-blodgett and self-assembled films- a possible scenario for order-disorder transitions.** *Advanced Materials*, v. 3, n. 6, p. 298-303, 1991.

VICENTINI, F. C.; GARCIA, L. L. C.; FIGUEIREDO-FILHO, L. C. S.; JANEGITZ, B. C.; FATIBELLO-FILHO, O. **A biosensor based on gold nanoparticles, dihexadecylphosphate, and tyrosinase for the determination of catechol in natural water.** *Enzyme and Microbial Technology*, v. 84, p. 17-23, 2016.

VINADÉ, M. E. D. C.; VINADÉ, E. R. D. C. **Métodos espectroscópicos de análise quantitativa**, Editora UFSM, 2005.

WILLIAMS, D. **Nanotechnology: a new look**, *Med Device Technol*, v. 15, p. 9-10, 2004.

WILSON, J. **Sensor Technoogy Handbook**. *Newnes*, p. 702, 2005.

WOLFSON, J.R. **Social and ethical issues in nanotechnology: lessons from biotechnology and other high technologies**. *Biotechnol. Law Rep*, v. 22, n. 4, p. 376-396, 2003.

WU, C.; ZHOU, J.; HU, N.; HA, D.; MIAO, X.; WANG, P. **Cellular impedance sensing combined with LAPS as a new means for real-time monitoring cell growth and metabolism**. *Sensors and Actuators A*, v. 199, p. 136-142, 2013.

XIE, X.; GAN, T.; SUN, D.; WU, K. **Application of multi-walled carbon nanotubes/nafiction composite film in electrochemical determination of Pb²⁺**, *Fullerenes, Nanotubes, Carbon Nanostruct*, v. 16, p. 103-113, 2008.

YADAV, S.; KUMAR, A.; PUNDIR, C. S. **Amperometric creatinine biosensor based on covalently coimmobilized enzymes onto carboxylated multiwalled carbon nanotubes/polyaniline composite film**. *Analytical Biochemistry*, v. 419, p. 277-283, 2011.

YAMANAKA, H.; ALEGRET, S.; PIVIDORI, I. M.; FERREIRA, A. P. **Biossensores Eletroquímicos**. *Universitat Autònoma de Barcelona*, p. 99, 2009.

YANAGI Jr, T. **Inovações tecnológicas na bioclimatologia animal visando aumento da produção animal: relação bem estar animal x clima**, 2006. Artigo em Hiper-texto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/ITBA/Index.htm>. Último acesso em: 13/01/2014.

YANG, L.; ZHANG, L. **Chemical structural and chain conformation characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources.** *Carbohydrate Polymers*, v. 76, p. 349-361, 2009.

YAVUZ, A. G.; ATALAT, E. D.; UYGUN, A.; GODE, F.; ASLAN, E. **A comparison study of adsorption of Cr(VI) from aqueous solutions onto alkyl-substituted polyaniline/chitosan composites,** *Desalination*, v. 279, n. 1, p. 325-331, 2011.

YU, Q.; HUANG, H.; PENG, X.; YE, Z. **Ultrathin free-standing close-packed gold nanoparticle films: Conductivity and Raman scattering enhancement.** *Nanoscale*, 2011.

ZAMPA, M. F.; ARAUJO, I. M.S.; COSTA, V.; NERY COSTA, C. H., SANTOS Jr, J. R.; ZUCOLOTTO, V.; EIRAS, C.; LEITE, J. S. A. **Leishmanicidal Activity and Immobilization of dermaseptin 01 antimicrobial peptides in ultrathin films for nanomedicine applications,** *Nanomedicine: Nanotechnology. Biology and Medicine*, v. 5, n. 3, 352-358, 2009.

ZAMPA, M. F.; De BRITO, A.F.; KITAGAWA, I. L.; CONSTANTINO, C. J. L.; OLIVEIRA Jr, O. N.; Da CUNHA, H. N.; ZUCOLOTTO, V.; Dos SANTOS Jr, J. R.; EIRAS, C. **Natural Gum-Assisted Phthalocyanine Immobilization in Electroactive Nanocomposites: Physicochemical Characterization and Sensing Applications.** *Biomacromolecules*, v. 8, n. 11, 3408-3413, 2007.

ZAZOUA, A.; KHERRAT, R.; SAMAR, M. H.; ERRACHID, A.; RENAULT, N. J.; BESSUEILLE, F.; LEONARD, D. **Characterization of TBP containing polysiloxane membrane/insulator/semiconductor structures for hexavalent chromium detection.** *Mat Sci Eng C*, v. 28, p. 1014-1019, 2008.

ZHANG, G. **Nanoscale Surface Modification for Enhanced Biosensing: A Journey Toward Better Glucose Monitoring.** *Springer*, 2015.

ZHANG, L.; LANG, Q.; SHI, Z. **Electrochemical Synthesis of Three-Dimensional Polyaniline Network on 3 Aminobenzenesulfonic Acid Functionalized Glassy Carbon Electrode and Its Application.** *American Journal of Analytical Chemistry*, v. 1, p. 102-112, 2010.

ZHANG, S.; HE, B.; GE, J.; LI, H.; LUO, X.; ZHANG, H.; LI, Y.; ZHAI, C.; LIU, P.; LIU, X.; FEI, X. **Extraction, chemical analysis of Angelica sinensis polysaccharides and antioxidant activity of the polysaccharides in ischemia-reperfusion rats.** *Int J Biol Macromol*, v. 47, p. 546-50, 2010.

ZHANG Z, ZHANG Q, WANG, J, SHI X, SONG H, ZHANG J, **In vitro antioxidant activities of acetylated, phosphorylated and benzoylated derivatives of porphyrin extracted from *Porphyra haitanensis*.** *Carbohydrate polymers* 78:449-453, 2009.

ZHAO, J. G. **Caracterização de amostras rugosas por microscopia de força atômica.** Dissertação de doutorado, Campinas, 2003.

ZHOU, J.; RALSTON, J.; SEDEV, R.; BEATTIE, D. A. **Functionalized gold nanoparticles: Synthesis, structure and colloid stability,** *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 331, p. 251-262, 2009.

ZHU, H.; PENG, S.; JIANG, W. **Electrochemical Properties of PANI as Single Electrode of Electrochemical Capacitors in Acid Electrolytes.** *The Scientific World Journal*, v. 2013, 2013.

ZOU, L.; LI, Y.; CAO, S.; YE, B. **Gold nanoparticles/polyaniline Langmuir–Blodgett Film modified glassy carbon electrode as voltammetric sensor for detection of epinephrine and uric acid.** *Talanta*, v. 117, p. 333-337, 2013.

ZOUA, L.; LIA, Y.; CAO, S.; YEA, B. **A new voltammetric sensor for sensitive and selective determination of xanthine based on DNA and polyaniline composite Langmuir–Blodgett film.** *Talanta*, v. 129, p. 346-351, 2014.