



**REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**DESENVOLVIMENTO DE UMA PLATAFORMA HÍBRIDA À BASE DE
CORANTE E POLISSACARÍDEOS REGIONAIS PARA EMPREGO EM
SENSORES**

MARIA DE FÁTIMA CARDOSO SOARES

TERESINA-PIAUI

2017

MARIA DE FÁTIMA CARDOSO SOARES

**DESENVOLVIMENTO DE UMA PLATAFORMA HÍBRIDA À BASE DE
CORANTE E POLISSACARÍDEOS REGIONAIS PARA EMPREGO EM
SENSORES**

Texto de Tese apresentado a Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, como requisito para obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia em Saúde

Orientador: Prof^a. Dra Carla Eiras

TERESINA-PIAUI

2017

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processamento Técnico

S676d Soares, Maria de Fátima Cardoso.
Desenvolvimento de uma plataforma híbrida à base de corante e polissacarídeos regionais para emprego em sensores / Maria de Fátima Cardoso Soares. -- 2017.
73 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Piauí, Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Programa de pós-graduação em Biotecnologia, Teresina, 2017.
“Orientação: Prof.ª Dr.ª. Carla Eiras.”

1. Nanotecnologia. 2. Filmes finos. 3. Sensores eletroquímicos.
I. Título.

CDD 621.381 5



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE TESE

ALUNO: MARIA DE FÁTIMA CARDOSO SOARES

TÍTULO DO PROJETO: "Desenvolvimento de uma plataforma híbrida à base de corante e polissacarídeos regionais para emprego em sensores"

PROFESSORA ORIENTADORA: Profa. Dra. Carla Eiras

BANCA EXAMINADORA:

BANCA EXAMINADORA:	CONCEITO	ASSINATURA
Profa. Dra. Carla Eiras, UFPI (Presidente)	Satisfatório	
Profa. Dra. Carla Verônica Rodarte de Moura, UFPI (Examinadora)	Satisfatório	
Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva - UFPI (Examinadora)	Satisfatório	
Prof. Dr. José Milton Elias de Matos – UFPI (Examinador)	Satisfatório	
Profa. Dra. Cleide Maria da Silva Leite - UFPI (Examinadora)	Satisfatório	

DATA DA AVALIAÇÃO: 10 de março de 2017.

HORÁRIO: 0h

LOCAL: Auditório do PPG em Ciências dos Materiais/UFPI.

À Deus e a Nossa Senhora de Fátima pela vida, inspiração e força nos momentos mais difíceis, aos meus pais Francisco Cardoso e Joana Soares, pelo incentivo constante ao estudo, ao meu esposo Dante, pelo amor e companherismo, a minha filha Isadora Maria, por fazer parte da minha vida, aos irmãos e amigos pela contribuição.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, por ter me concedido à vida, por ser luz constante em meu caminho, pelas as oportunidades surgidas e efetivadas com sucesso e pelas as conquistas alcançadas ao longo dessa caminhada.

Aos meus pais, Francisco Cardoso e Joana Soares, pelas as palavras de apoio, o incentivo aos estudos, por ter compreendido minha ausência no decorrer desses anos, pelos conselhos e palavras sábias.

Ao meu esposo, Dante Cardoso, por me acompanhar nessa caminhada compartilhando desse estudo, por partilhar angústias e alegrias vivenciadas nessa pesquisa, mostrando-me os pontos positivos.

A minha filha Isadora Maria, fonte de inspiração em minha vida, seja em momentos de alegrias ou tristezas, certezas ou incertezas, força ou desânimo, você me ajuda a seguir em frente e reconhecer que cada dádiva minha é sua também.

Aos irmãos, aos sobrinhos, pela compreensão que mesmo distante deram seu apoio e incentivo para que eu pudesse avançar de maneira positiva nessa trajetória.

A Prof^ª. Dra Carla Eiras, pela valiosa orientação, pela confiança, respeito, paciência e troca de experiência e saberes construídos ao longo desta pesquisa, serei eternamente grata.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), *Campus* Parnaíba-PI, por me conceder a licença de afastamento, necessária para a realização deste estudo, em especial as professoras, Giovana e Lucrécia que me substituíram nas disciplinas durante minha ausência

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Piauí, FAPEPI, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Núcleo de Pesquisa e Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), *Campus* Parnaíba-PI pelo suporte técnico, em especial a Prof^ª. Dr^a Durcilene Alves, as amigas Monialine Sousa e Natália Dionísio.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Renorbio, ponto focal UFPI pelas sábias orientações durante o curso, obrigada, Prof^ª Dr^a Carla Verônica, Prof^º Dr^º Lívio Cesar e prof^º Dr^º Edson Cavalcanti pelas orientações e considerações durante a qualificação da tese.

Aos colegas de Doutorado da turma 2013.1 pelas conversas, interações científicas, contribuições positivas na construção da Tese, em especial, Maura Célia, pelo apoio constante nas conversas, pelas motivações na pesquisa e pelos inúmeros telefonemas e mensagens desde o primeiro dia de aula, Paulo Ronaldo, Inês Maria, Antônia, Rossevelt.

Ao Emanuel Airton (BIOTEC), pela ajuda em toda parte experimental, pelas sugestões e contribuições nas discussões, as quais subsidiaram ao enriquecimento deste documento de Tese.

A Profª Drª Maysa Zampa, pelo incentivo na escolha do programa de Doutorado em Biotecnologia (RENORBIO), a Profª Drª Janiciara Botelho e Profª Drª Márcia Lima do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), *Campus Parnaíba-PI*, pela imensa ajuda científica durante o processo de qualificação da tese.

A todos que de alguma forma contribuíram direta e indiretamente para efetivação dessa pesquisa.

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

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 01. Esquema comparando a estrutura da (A) ALZ e do (B) VAS

Figura 02. Evolução anual do número de artigos publicados na base *Web of Science*

Figura 03. Evolução anual do número de artigos publicados na base *Scopus*

Figura 04. Número de artigos publicados por área de conhecimento.

Figura 05. Distribuição por CIP encontradas na base *Espacenet*

CAPÍTULO 2

Figura 01. Esquema comparando a estrutura da (A) ALZ e do (B) VAS

Figura 02. Esquema que ilustra o processo de preparação do filme

Figura 03. Espectros de FTIR obtido para o polissacarídeo ágar.

Figura 04. Voltamograma de Pulso Diferencial obtidos para os filmes bicamada e tricamada, contendo ou não os nanotubos de carbono dispersos nas soluções de interesse. Todas as medições foram realizadas em 0,1 mol L⁻¹ de fosfato de potássio (pH 7,2), $E_i = -0,9$ V, $E_f = 0,2$ V, $v = 25$ mV s⁻¹.

Figura 05. Voltamogramas de Pulso diferencial comparando a sequência de deposição de filmes tricamadas contendo os NTCs. Todas as medidas foram realizadas em fosfato de potássio 0.1 mol L⁻¹ (pH 7.2), $E_i = -0.9$ V, $E_f = 0.2$ V, $v = 25$ mV s⁻¹

Figura 06. Espectros de absorção obtidos a cada 2 tricamadas adsorvidas (n) para os filmes de (A) ágar/PAH/VAS e (B) ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS. O *Inset* mostra a absorbância obtida para os filmes em 444nm em função de n

Figura 07. (A) obtenção do valor do comprimento de onda (λ') e (B) do potencial inicial de oxidação (E'_{ox}). C) mostra o diagrama dos níveis de energia para os filmes de ágar/PAH/VAS e ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS

Figura 08. MEV obtidos para A) ITO e filmes de B) ágar(NTC)/PAH (NTC)/VAS e C) ágar/PAH/VAS. Na Fig. 7B as setas amarelas indicam os agregados de nanotubos. Na Fig. 7C as setas amarelas indicam áreas do substrato que não foram cobertos pelo filme e as setas vermelhas indicam a distribuição da VAS (tons de cinza médio).

Figura 09. Voltamograma cíclico para o filme: ITO/ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS. As medidas foram realizadas em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2). Potencial aplicado = -0.5 V.

Figura 10. Resposta cronoamperométrica para o filme de ITO/ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS na presença de H_2O_2 nos intervalos de concentração entre (A) $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ e (B) de $0,0 \text{ mmol L}^{-1}$ a $8,0 \text{ mmol L}^{-1}$. (C) mostra duas regiões lineares entre a concentração de H_2O_2 e o valor médio de corrente obtida. Todas as medidas foram realizadas em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7.2). Potencial aplicado = -0.5 V.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 01. Número de artigos encontrados com combinações de palavras-chave nos bancos de dados *Web of Science* e *Scopus*

Tabela 02. Número de patentes depositadas por Base.

Tabela 03. Distribuição por inventor, país, ano de depósito, CIP e área de conhecimento encontrada na *EPO*

CAPÍTULO 2

Tabela 01. LD encontrado para o H_2O_2 neste estudo em comparação com outros disponíveis na literatura

ABREVIATURAS E SIGLAS

ALZ- alizarina

CIP- Classificação Internacional de Patente

INPI- Instituto Nacional de Propriedade Industrial

KR- República de Moldavia

LbL- Do inglês “*Layer-by-Layer*” (camada por camada)

VAS- Vermelho de Alizarina S

USA- Estados Unidos da América

WIPO- Organização Mundial de Propriedade Intelectual

AE- Afinidade eletrônica

ALZ- Alizarina

CDC- Do inglês “*constitutional dynamic chemistry*”-(Química dinâmica constitucional)

Cr -Cromo (elemento químico)

ECS- Eletrodo de calomelano saturado

E_g - Energia da transição eletrônica

EFAu- Eletrodos flexíveis de ouro

E_{ox} - Potencial de oxidação

E_{red} - Potencial de redução

PBS- Fosfato de potássio

PDI- Índice de polidispersão

ITO- Óxido de Estanho dopado com Índio

LB -*Langmuir-Blodgett* (Técnica de imobilização de filmes)

MEV- Microscopia eletrônica de varredura

NTC- Nanotubos de carbono

PAH- Poli(alilaminahidroclorada)

pH- Potencial hidrogeniônico

PI- Potencial de ionização

VAS- Vermelho de Alizarina S

VC- Voltametria cíclica

VPD- Voltametria de pulso diferencial

UV-VIS- Ultravioleta e visível (espectroscopia)

SOARES, Maria de Fátima Cardoso. Desenvolvimento de uma plataforma híbrida à base de corante e polissacarídeos regionais para emprego em sensores, 2017. 73f. Tese. (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de pós-graduação em Biotecnologia, Teresina, 2017.

RESUMO

No contexto atual científico é grande o desenvolvimento de novos materiais para plataforma sensora, principalmente os sensores eletroquímicos relacionados aos materiais naturais, como exemplo, os polissacarídeos. Nesta pesquisa, a conjugação desses materiais, o vermelho de Alizarina S (VAS), um corante solúvel derivado da Alizarina, em conjunto com o ágar, um polissacarídeo produzido por vários gêneros e espécies de algas marinhas vermelhas e que possui aplicações na indústria farmacêutica, alimentícia, de cosméticos, entre outros setores da biotecnologia, são empregadas como plataformas eletroativas para construção de sensores eletroquímicos. Este trabalho iniciou-se com um estudo prospectivo a partir dos artigos científicos e patentes depositadas os quais abordassem as palavras-chave relacionadas ao desenvolvimento de filmes finos empregando corante na construção de sensores eletroquímicos. Os artigos científicos foram analisados e filtrados na Base *Web of Science* e Scopus enquanto o estudo prospectivo foi realizado com base nos pedidos de patentes depositadas no Instituto Nacional de Propriedade Industrial - INPI, Escritório Europeu de Patentes - *EPO*, na base *Derwent* e no Escritório Norte-americano de Marcas e Patentes (*USPTO*). Como resultado desse estudo foi possível observar que o uso de corante, por exemplo, o Vermelho de Alizarina S (VAS) na construção de filmes finos, do tipo *Layer-by-Layer* (LbL), como plataforma para sensores eletroquímicos para detecção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é inovador até o presente momento, visto que não foram encontradas patentes e nem artigos científicos nas bases pesquisadas. Em um segundo momento, o VAS foi imobilizado em eletrodos de ITO (Óxido de Estanho dopado com Índio, um vidro condutor) empregando-se a técnica *LbL* de automontagem. A formação do filme de VAS sobre ITO foi possível a partir da conjugação do corante com os polímeros ágar (*Gracilaria birdiae*) e PAH ((poli(alilaminahidroclorada)). Nanotubos de carbono de parede simples (NTC) funcionalizados com -COOH foram utilizados para aumentar o sinal eletroquímico do sistema *LbL*. Os filmes foram desenvolvidos em arquitetura tricatadas de ágar/PAH/VAS ou ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS e caracterizados por Voltametria de Pulso Diferencial (VPD), Espectroscopia na região do UV-Visível (UV-Vis) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Após sua caracterização o filme de ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS foi testado para detecção do H_2O_2 . Sob potencial constante de -0,5 V vs SCE, o filme exibiu rápida resposta para a detecção de H_2O_2 e o limite de detecção encontrado foi $0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$. A terceira etapa desta pesquisa foi o pedido de depósito da patente intitulada: Plataforma sensora à base de corantes e polissacarídeos, junto ao NINTEC-UFPI.

Palavras-chave: nanotecnologia, filmes finos; sensor.

SOARES, Maria de Fátima Cardoso. Desenvolvimento de uma plataforma híbrida à base de corante e polissacarídeos regionais para emprego em sensores, 2017. 73f. Tese. (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de pós-graduação em Biotecnologia, Teresina, 2017.

ABSTRACT

In the current scientific context it is great the development of new materials for sensor platform, mainly the electrochemical sensors related to natural materials, such as polysaccharides. In this research, the combination of these materials, Alizarin S red (VAS), a soluble dye derived from Alizarin, together with agar, a polysaccharide produced by several genera and species of red seaweed and which has applications in the pharmaceutical industry, Food, cosmetics, among other sectors of biotechnology, are used as electroactive platforms for the construction of electrochemical sensors. This work began with a prospective study based on scientific articles and deposited patents which addressed the key words related to the development of thin films using dye in the construction of electrochemical sensors. The scientific articles were analyzed and filtered in the Web of Science and Scopus Database while the prospective study was carried out based on patent applications filed with the National Institute of Industrial Property - INPI, European Patent Office - EPO, Derwent Base and North Office - American Patent and Trademark Office (USPTO). As a result of this study it was possible to observe that the use of dye, for example Alizarin S Red (VAS) in the construction of thin films, Layer-by-Layer (LbL) type, as a platform for electrochemical sensors for peroxide detection Of hydrogen (H₂O₂) is innovative up to the present moment, since no patents or scientific articles were found in the bases researched. In a second moment, the VAS was immobilized in ITO electrodes (Tin-doped Tin Oxide, a conductive glass) using the self-fitting LbL technique. The formation of the VAS film on ITO was possible from the conjugation of the dye with the polymers agar (*Gracilaria birdiae*) and PAH (poly (allylamine hydrochloride)). Single-wall carbon nanotubes (NTC) functionalized with -COOH were used to increase (NTC) / PAH (NTC) / VAS and characterized by Differential Pulse Voltammetry (VPD), Spectroscopy in the UV-Visible region (NTC) / PAH (NTC) / VAS was tested for the detection of H₂O₂. Under a constant potential of -0.5 V vs SCE, The film exhibited a rapid response to H₂O₂ dehy- dration and the limit of detection found was 0.15 μmol L⁻¹. The third step of this research was the filing application entitled: Sensing platform based on dyes and polysaccharides, NINTEC-UFPI.

Keywords: nanotechnology, thin films; sensor.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	16
CAPÍTULO 01- FILMES FINOS CONTENDO O CORANTE VERMELHO DE ALIZARINA S PARA APLICAÇÕES EM SENSORES DE PEROXIDO DE HIDROGÊNIO: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA	19
1. Introdução	20
2. Metodologia	23
3. Resultados e discussão	24
3.1. Análise dos artigos publicados	24
3.2. Análise das patentes	29
4. Considerações Finais	33
5. Referências	34
CAPÍTULO 02- DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS COM BASE EM ÁGAR E VERMELHO DE ALIZARINA S PARA A APLICAÇÃO DE SENSORES NÃO ENZIMÁTICOS DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	37
1. Introdução	38
2. Procedimento experimental	42
2.1 Materiais	42
2.2 Preparação das soluções utilizadas para a adsorção dos filmes	42
2.3 Adsorção dos filmes <i>LbL</i>	42
2.4 Caracterização	44
3. Resultados e discussão	44
3.1 Caracterização do polissacarídeo	44
3.2 Caracterização eletroquímica de filmes <i>LbL</i>	45
3.3 Caracterização dos filmes por espectroscopia UV-vis	49
3.4 Construção do diagrama de energia	51
3.5 Análise morfológica- MEV	53
3.6 Testes de detecção de peróxido de hidrogênio	54
4. Conclusão	58
5. Referências	58

CAPÍTULO 03- PLATAFORMA SENSORA À BASE DE CORANTES E POLISSACARÍDEOS.....	68
CONCLUSÃO	69
ANEXO	70

INTRODUÇÃO

A Nanotecnologia tem impulsionado de maneira extraordinária a inovação e evolução do conhecimento, este crescimento tem ocorrido desde décadas atrás com o desenvolvimento científico que permeia de forma interdisciplinar diversas áreas como a Química, a Física e a Biologia. Por meio da abordagem dos novos sistemas e propriedades na escala nanométrica e, principalmente, molecular, a nanotecnologia possibilita o desenvolvimento de produtos inovadores em áreas estratégicas como, por exemplo, a de energia, medicina, informação, segurança, ambiente e indústria (ISLAM e MIYAZAKI, 2009, DOLEZ et al, 2015).

Dessa forma, a nanotecnologia tornou-se um tema científico amplamente discutido e com influência inclusive na qualidade de vida dos indivíduos que utilizam seus produtos. Consequentemente, os requisitos de informação e o número de artigos científicos sobre esta área emergente crescem exponencialmente (LÓPEZ-LORENTE e VALCÁRCEL, 2015).

Dentre as possibilidades de manipulação da matéria em nanoescala podemos citar a técnica de automontagem de filmes finos. Esta técnica caracteriza-se como um processo para obtenção de novos materiais e têm se destacado como objeto de estudo de diversos grupos acadêmicos interessados na obtenção de estruturas organizadas, com controle de espessura e de propriedades em escala molecular. A técnica de automontagem do tipo camada-por-camada (do inglês *Layer-by-Layer* -LbL) destaca-se pela facilidade de processamento, estabilidade do sistema resultante a partir das multicamadas adsorvidas entre si, a possibilidade de estudos de mecanismos de adsorção em nível molecular, além da grande variedade de materiais que podem ser empregados para a construção da estrutura do tipo “sanduíche”, proposta por essa técnica, uma vez que as camadas se acomodam baseando-se interações eletrostáticas entre as cargas de sinais contrários dos materiais empregados (VIEIRA et al, 2013).

A técnica *LbL* foi desenvolvida nos anos 90 por Decher e colaboradores (1997), e é amplamente utilizada no desenvolvimento de vários tipos de sensores devido a possibilidade da conjugação diferentes materiais de uma maneira simples e versátil, a partir da imobilização de vários tipos de materiais, tais como: biomoléculas carregadas que incluem: carboidratos, proteínas, peptídeos, nanopartículas, corantes, gomas naturais, entre outros (MIYAZAKI et al, 2016; ZAMPA et al, 2012; EIRAS et al, 2010).

Com base nos objetivos propostos para este trabalho este documento de Tese foi dividido em quatro capítulos, de forma que no Capítulo 01 é apresentado o estudo prospectivo realizado com base nos artigos científicos publicados e pedidos de patentes depositadas em suas referidas bases de busca, resultando o artigo “Filmes finos contendo o corante vermelho de alizarina s para aplicações em sensores de peróxido de hidrogênio: uma prospecção tecnológica” que foi submetido à Revista Gestão, Inovação e Tecnologias (GEINTEC) e encontra-se em avaliação (ver anexo).

Já no Capítulo 02 são mostrados os resultados obtidos a partir da imobilização do VAS sobre eletrodo de ITO (Óxido de Estanho dopado com Índio, um vidro condutor) empregando-se a técnica *Layer-by-Layer (LbL)* de automontagem. Posteriormente, o filme tricamada proposto (ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS) foi empregado em ensaios de detecção do peróxido de hidrogênio. Os resultados apresentados no Capítulo 02 foram publicados no periódico *Journal Materials Science* da *Springer* com Fator de Impacto 2,371 e conceito B1 na área de Biotecnologia. O artigo publicado encontra-se no capítulo de anexos desse documento.

O Capítulo 03, refere-se à solicitação do pedido de patente junto ao NINTEC-UFPI, intitulada “Plataforma sensora à base de corantes e polissacarídeos”, encontra-se em análise, (ver anexo).

REFERÊNCIAS

DOLEZ, P.I. Nanomaterials Definitions, Classifications, and Applications. **Nanoengineering: Global Approaches to Health AND Safety**. v. 04, p. 03-40, 2015.

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

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.

LÓPEZ-LORENTE A.I, VALCÁRCEL M. The third way in analytical nanoscience and nanotechnology: Involvement of nanotools AND nanoanalytes in the same analytical process. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**. V. 75, p. 1-9, 2016.

MIYAZAKI, C.M.; PEREIRA, T.P.; MASCAGNI, D.B.T.; DE MORAES, M.L.; FERREIRA, M.; Monoamine oxidase B layer-by-layer film fabrication and

characterization toward dopamine detection. **Materials Science and Engineering C**. v. 58, p. 310-315, 2016.

VIEIRA, N.C.S.; FIGUEIREDO, A.; FERNANDES, E.G.R.; GUIMARÃES, F.E.G.; ZUCOLOTTI, V. Nanostructured polyaniline thin films as urea-sensing membranes in field-effect devices. **Synthetic Metals**. v. 175, p. 108-111, 2013.

ZAMPA, M. F., ARAÚJO, I. M. S., SANTOS Jr., J. R., ZUCOLOTTI, V., LEITE, J. R. S. A., EIRAS, C. Development of a Novel Biosensor Using Cationic Antimicrobial Peptide AND Nickel Phthalocyanine Ultrathin Films for Electrochemical Detection of Dopamine. **International Journal of Analytical Chemistry**. v. 2012, p.1-7, 2012.

CAPÍTULO 01

FILMES FINOS CONTENDO O CORANTE VERMELHO DE ALIZARINA S PARA APLICAÇÕES EM SENSORES DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

Maria de Fátima Cardoso Soares^{1,2}; Emanuel Airton de Oliveira Farias¹ e Carla Eiras³

- 1- Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, BIOTEC, *Campus* de Parnaíba, UFPI, Parnaíba, PI, 64202-020, Brasil.
- 2- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, IFPI, *Campus* Parnaíba, 64210260, Parnaíba– PI, Brasil
- 3- Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados - LIMAV, CT, UFPI, *Campus* Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI, 64049-550, Brasil.

RESUMO

A nanociência e nanotecnologia caracterizam-se pelo estudo e manipulação da matéria em escala nanométrica e destaca-se também por seu caráter multidisciplinar, dentro deste contexto o processamento do corante Vermelho de Alizarina S (VAS), em nanoescala, para a formação de filmes finos empregados na detecção de peróxido de hidrogênio foi o principal para o desenvolvimento desse estudo prospectivo. Os pedidos de patentes foram pesquisados nas bases do Instituto Nacional de Propriedade Industrial- INPI, Escritório Europeu de Patentes- *EPO*, na base *Derwent* e no Escritório Norte- americano de Marcas e Patentes (*USPTO*). Já as bases *Web of Science* e *Scopus* foram utilizadas para as buscas dos artigos científicos publicados. Como resultado foi possível observar que o uso do VAS para construção de filmes finos empregados como plataforma para sensores na detecção do peróxido de hidrogênio é inovador até o presente momento, visto que não foram encontradas patentes e nem artigos científicos nas bases pesquisadas a respeito desse tema.

Palavras-chave: prospecção tecnológica, filmes finos, vermelho de alizarina S, sensor

ABSTRACT

Nanoscience and nanotechnology are characterized by the study and manipulation of matter at the gauge scale and also stands out for its multidisciplinary character, in this context the Red dye processing Alizarin S (VAS), at the nanoscale, for the formation of thin films used in hydrogen peroxide detection was the main focus for the development of this prospective study. Patent applications have been researched on the basis of the National Institute of Industrial- INPI Property, European Office of patents- *EPO* at the base *Derwent* and Office North- American Patent and Trademark Office (*USPTO*). Already the *Web of Science* and *Scopus* databases were used for searches of scientific articles published. As a result it was observed that the use of VAS for construction of thin films used as a platform for sensors to detect hydrogen peroxide is

innovative to date, since there were no patents nor scientific articles on the bases researched on this subject .

Keywords: prospecting technology, thin films, alizarin red S, sensor

1. INTRODUÇÃO

A nanotecnologia caracteriza-se pelo estudo e manipulação da matéria em escala nanométrica, envolvendo conhecimentos de diferentes áreas o que lhe atribui um caráter multidisciplinar. Dentre diferentes temas de pesquisa na área de nanotecnologia, o processamento da matéria da forma de filmes finos, têm sido amplamente explorado, por possibilitar a obtenção de estruturas com elevado controle de parâmetros, como espessura e arquitetura molecular, além de compor um conjunto de técnicas versáteis, capazes de possibilitar inúmeras aplicações tecnológicas (ESTEVAM et al, 2015).

Nas últimas décadas, os filmes finos têm atraído a atenção de pesquisa como um método simples e eficaz de trabalhar com a matéria em nível molecular. Dentre as técnicas de processamento de filmes finos a técnica camada-por-camada (ou *LbL* do inglês *Layer-by-Layer*) destaca-se pela simplicidade experimental e seu baixo custo. 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 (PATERNO et al., 2001).

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 opostas (DECHER, 1997).

Mas foi o novo método, proposto por Decher, que permitiu superar as limitações do método utilizado por Sagiv, uma vez que propunha a imobilização, na forma de filme, de qualquer material que apresentasse cargas de sinais opostos. Hoje, sabe-se que as interações que ocorrem entre polieletrólitos altamente carregados são principalmente eletrostáticas, porém também são possíveis interações secundárias do tipo Van der Waals, ligações de hidrogênio ou ainda que se estabeleçam interações bioespecíficas (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; PEREIRA, et al., 2010; ZUCOLOTTO, 2013).

O interesse em filmes LbL também está relacionado com a possibilidade de se conjugar materiais com naturezas diferentes e assim promover o surgimento de um novo material a partir da combinação das propriedades de dois ou mais materiais diferentes, imobilizados na forma de filme de alta organização estrutural e molecular (XU et al, 2015).

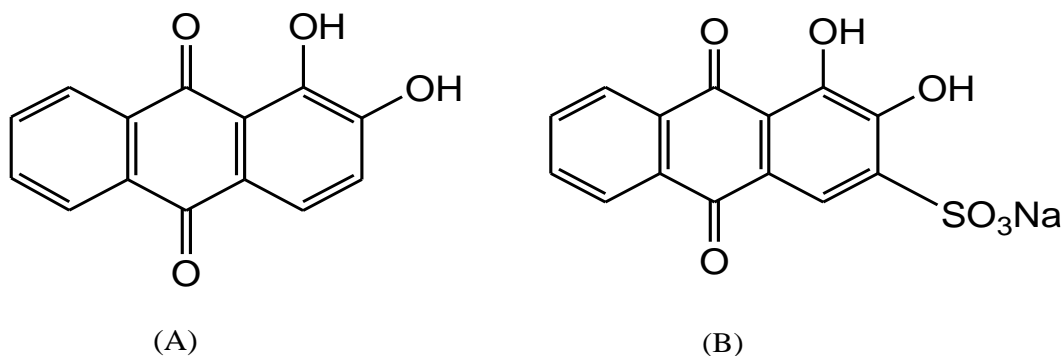
Os filmes LbL são caracterizados ainda pela sua versatilidade de combinação de materiais que podem ser empregados na sua confecção, abrangendo desde materiais biológicos (MERCATTO et al, 2014; DESHMUKH et al, 2013; LI et al, 2012; HUJAYA et al, 2015), cerâmicos (LIU et al, 2012; SUN et al, 2003), polímeros condutores (RAVATI et al, 2011; SANTOS et al (2012), ZHAO et al, 2015), polissarídeos naturais (TEXEIRA et al, 2015, FARIAS et al), bem como alguns corantes (GUO et al, 2015; DENDA et al, 2015, CHEN et al, 2014), entre outros.

Os corantes são substâncias orgânicas entre as matérias-primas que extraídas da natureza ou sintetizadas pelo homem que apresentam versatilidade considerável na utilização de indústria têxtil, farmacêutica, alimentícia, cosméticos, plásticos, e ainda na indústria fotográfica e de papel (PARKES, 2012).

Dentre as variedades dos corantes naturais existentes, destaca-se o Alizarina, cujo nome deriva do árabe *al-usara* que em português significa suco, e refere-se a um corante amarelo natural retirado das raízes da planta garança (*Rubia tinctorum*), utilizado desde a antiguidade pelo homem (MECH et al., 2014).

Entre as Alizarinas, tem-se o Vermelho de Alizarina S (VAS), um derivado solúvel da alizarina (ALZ) e que apresenta um grupamento sulfônico não reativo, responsável por aumentar a solubilidade do composto em meio aquoso (PEREIRA et al, 2003), ver a Figura 1.

Figura 1. Esquema comparando a estrutura da (A) ALZ e do (B) VAS



Fonte: adaptado de Fernandes (1998)

O VAS inicialmente foi utilizado para fins analíticos, como indicadores de soluções ácido-base, a partir de diferentes pHs, e como reagente para reações espectrofotométricas (TURCANU et al, 2011; GAIO et al, 2006). Além disso, estudos apontam a importância do VAS como agente modificador da superfície de eletrodos sólidos para diversas aplicações em sensores eletroquímicos (CORDEIRO et al., 2006), tais como aplicações na determinação de Cu (II) (MOUCHREK et al. (1999), Sc (II) (ZHANG, 2011; DENG et al., 2010), Mo (VI) (DENG et al., 2011) e Zn (II) (ALGHAMDI, 2010), entre outros.

Atualmente o desenvolvimento de sensores é uma das áreas mais promissoras na pesquisa analítica, pelo interesse na detecção de uma ampla variedade de analitos (WANG, 2004). Os sensores são dispositivos constituídos de um sistema de reconhecimento, normalmente denominado de receptor, com a propriedade de reconhecer e interagir com o analito de interesse, essa interação resulta na alteração de propriedades físico-químicas, que são medidas e detectadas pelo transdutor, o qual converte a informação em um sinal mensurável. Além disso, o sensor tem como características vantajosas sua portabilidade, facilidade de automação, possibilidade de miniaturização, baixo custo, etc (STETTER et al, 2003).

Entre os mais variados sensores já concebidos, muitos deles têm sido voltados à detecção do Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) devido sua importância biológica. O H_2O_2 é um líquido incolor, com odor característico, totalmente miscível em água, exibindo assim uma grande facilidade de dosagem e controle. Quando devidamente armazenado, o H_2O_2 mantém-se estável em temperatura ambiente (De MATTOS, et al., 2003).

O H_2O_2 é uma espécie de oxigênio reativo com grande importância na indústria farmacêutica, clínica e aplicações ambientais. Além disso, também desempenha um papel importante na regulação de várias funções biológicas e de sinalização, nos organismos vivos. O peróxido de hidrogênio estar presente para que o sistema imunológico funcione corretamente (CHANG et al, 2004).

Um exemplo da importância do H_2O_2 como intermediário reativo pode ser observado no sensor de glicose, o qual tem atraído atenção devido às suas possíveis aplicações nas áreas de clínica e da indústria. A glicose oxidase (GOx) é uma flavoproteína que catalisa a oxidação da β -D-glicose pelo oxigênio molecular em glucono- δ -lactona, o qual espontaneamente se hidrolisa em ácido glucônico, gerando nessa hidrólise peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (CHUN et al, 2008). Desta forma, diversos métodos de análise têm sido concebidos para a detecção de H_2O_2 , tais como a quimioluminescência, titulometria e espectroscopia (SHAMSIPUR et al, 2015) e, atualmente os sensores eletroquímicos têm sido os mais explorados para esta finalidade (HAN et al, 2013).

Nessa perspectiva, o presente estudo tem como objetivo realizar uma prospecção sobre filmes finos contendo o corante vermelho de alizarina S para aplicações em sensores eletroquímicos de peróxido de hidrogênio. Sendo analisada a evolução das competências tecnológicas traduzidas no número de artigos científicos publicados e de patentes depositadas.

2. METODOLOGIA

Este estudo prospectivo foi realizado a partir de uma busca de artigos nas bases dos periódicos Web of Science e Scopus, e de patentes nas bases Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI), Escritório Europeu de Patentes (EPO), na base internacional *Derwent Innovations Index* e no Escritório Norte-americano de Marcas e Patentes (USPTO).

Iniciou-se esse estudo com a busca com as palavras-chave em inglês: “*Thin Film*” (filme fino), “*Alizarin red s*” (vermelho de alizarina s), “*Sensor*” (sensor), “*Hydrogen peroxide*” (peróxido de hidrogênio) delimitadas ao campo “título, resumo e/ou palavras-chave”, em seguida, foram analisados os artigos e patentes encontrados com as seguintes combinações: “*Thin Film*” AND “*alizarin red s*”, “*Thin Film*” AND

“sensor”, “Thin Film” AND “hydrogen peroxide”, “Alizarin red s” AND “sensor”, “Alizarin red s” AND “hydrogen peroxide”, “Sensor” AND “hydrogen peroxide”, “Thin Film” AND alizarin red s” AND “sensor”, “Thin film” AND “sensor” AND “hydrogen peroxide”, “Alizarin red s” AND “sensor” AND “hydrogen peroxide” e “Thin film” AND “Alizarin red s” AND “sensor” AND “hydrogen peroxide”

A pesquisa foi realizada no mês de março e abril de 2016, sendo válidas os artigos e as patentes que citassem os termos supracitados nas categorias “título, resumo e/ou palavras-chave”. Foram analisados todos os artigos publicados nos anos de 2005 a 2015 e pedidos de patentes sem restrição de tempo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. ANÁLISE DOS ARTIGOS PUBLICADOS

Os números de artigos encontrados com as palavras-chave escolhidas estão discriminados na Tabela 03. Essas combinações foram delimitadas aos campos de “título, resumo e palavras-chaves”.

TABELA 01: Número de artigos encontrados com combinações de palavras-chave nos bancos de dados Web of Science e Scopus

PALAVRAS-CHAVES	WEB OF SCIENCE	SCOPUS
<i>Thin Film</i>	246.208	206.940
<i>Alizarin red s</i>	901	1.363
<i>Sensor</i>	1.128.441	565.503
<i>Hydrogen peroxide</i>	89.714	65.379
<i>Thin Film AND alizarin red s</i>	03	05
<i>Thin Film AND sensor</i>	16.437	14.717
<i>Thin Film AND hydrogen peroxide</i>	765	448

<i>Alizarin red s AND sensor</i>	49	44
<i>Alizarin red s AND hydrogen peroxide</i>	18	19
<i>Sensor AND hydrogen peroxide</i>	3.689	3.209
<i>Thin Film AND alizarin red s AND sensor</i>	0	0
<i>Thin film AND sensor AND hydrogen peroxide</i>	122	132
<i>Alizarin red s AND sensor AND hydrogen peroxide</i>	0	01
<i>Thin film AND Alizarin red s AND sensor AND hydrogen peroxide</i>	0	0

Fonte: Autoria própria (2016)

De acordo com a tabela 03, observa-se um número elevado de artigos publicados nos dois bancos de dados, quando pesquisadas as palavras “*Thin Film*”, “*Alizarin red s*”, “*Sensor*”, “*Hydrogen peroxide*”, “*Thin Film*” AND “*sensor*”, “*Thin Film*” AND “*hydrogen peroxide*”, “*Sensor*” AND “*hydrogen peroxide*” enquanto na filtração da pesquisa, com as combinações com três ou mais palavras-chave diminuem os artigos publicados, como exemplo: “*Thin Film*” AND “*alizarin red s*”, “*Alizarin red s*” AND “*sensor*”, “*Alizarin red s*” AND “*hydrogen peroxide*”, “*Thin Film*” AND “*alizarin red s*” AND “*sensor*”, “*Thin film*” AND “*sensor*” AND “*hydrogen peroxide*” e “*Alizarin red s*” AND “*sensor*” AND “*hydrogen peroxide*”.

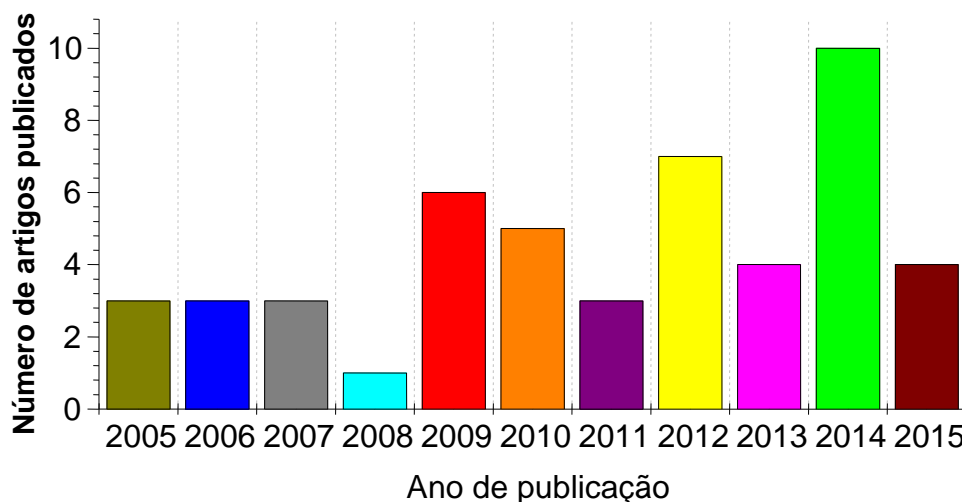
Ao final dessa triagem, os artigos que se referiam aos estudos realizados com filmes finos contendo o vermelho de alizarina S, aparecem três (03) na base *Web of Science*, publicados nos anos 2011, 2013 e 2015, com enfoque na área de aplicações biomédicas, com destaque a área de Ciências dos Materiais, na base Scopus aparecem além destes, dois (02) artigos, sendo dois publicados nos anos de 2010, 2014.

Foram encontrados 901 artigos na base *Web of Science* e 1.363 na Scopus relacionados ao Corante Vermelho de Alizarina S, com o termo “*Alizarin red s AND Sensor*” os quais foram publicados no período de 2005 a 2015. Especificamente para aplicações em sensores aparecem 49 na *Web of Science* e 44 na Scopus, ou seja, 93 artigos

publicados com a seguinte combinação, “*Alizarin red s*” AND “*sensor*”, mas desse total, 24 artigos coincidem nas duas bases pesquisadas.

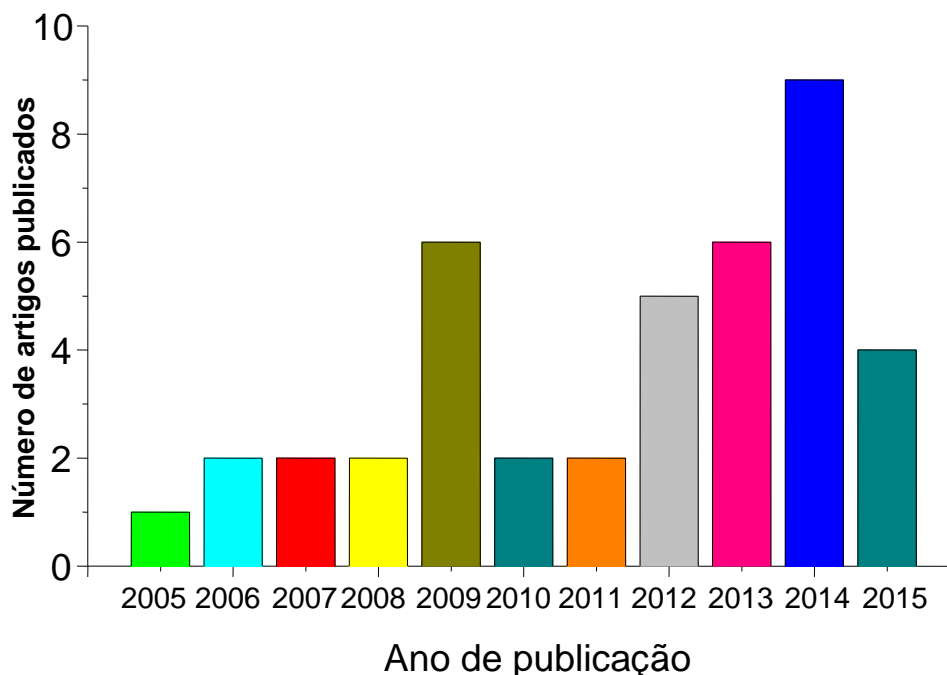
No período compreendido entre 2005 e 2015, foram publicados 23 artigos só nos anos de 2014, 2012 e 2009 e de forma expressiva em 2008 foi o ano com menor número de publicações, registrando apenas com uma publicação. Apesar de pequeno o número de artigos, esta é uma área em crescente expansão, o que justifica o interesse dos pesquisadores a respeito desse material e suas aplicações. Isso pode ser analisado observando a Figura 02 com o número de publicações por ano.

FIGURA 02: Evolução anual do número de artigos publicados na base *Web of Science*



Fonte: Autoria própria (2016)

A evolução anual de publicações em artigos científicos na base Scopus, mostra que 2014 foi o ano com o maior número de publicação, sendo o ano em menor destaque o de 2005, aparecendo apenas um artigo. A figura 03 representa os dados pesquisados.

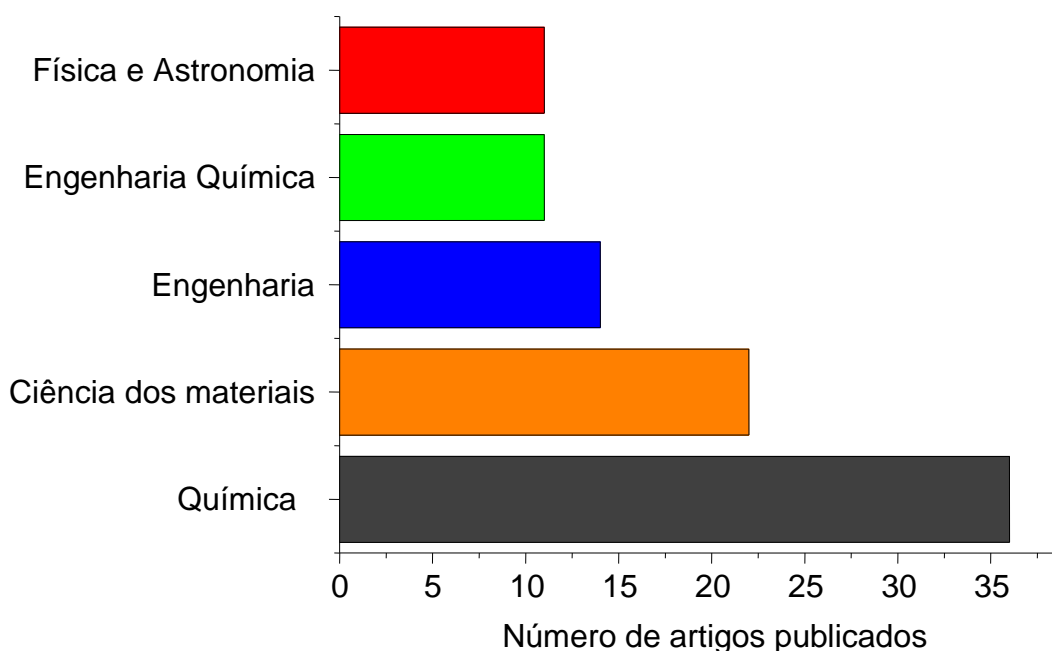
FIGURA 03: Evolução anual do número de artigos publicados na base Scopus

Fonte: Autoria própria (2016)

Acredita-se que o aumento do número de artigos publicados nesse período, esteja ligado aos atuais investimentos em âmbito tecnológico na área, bem como ao Desenvolvimento em Ciências.

Além desses dados, foram analisadas as áreas de pesquisa desses artigos, estão relacionadas à Química, Ciências dos Materiais, Engenharia, entre outras. A Figura 04 refere-se ao número de artigos publicados por área de conhecimento e vale destacar que essas áreas são importantes para o desenvolvimento científico e tecnológico da sociedade. Pode-se evidenciar expressividade na área de Química e Ciências dos Materiais, que são áreas emergentes em artigos publicados e em patentes depositadas. Dessa maneira, contribuem para a ampliação das pesquisas e a utilização de materiais diferenciados ou novos, para a fabricação de equipamentos eletrônicos, comunicação, entre outros exemplos. Além dessas áreas, também foram destacadas a Engenharia, Física e Astronomia.

FIGURA 04: Número de artigos publicados por área de conhecimento.



Fonte: Autoria própria (2016)

Refinando a pesquisa sobre os artigos publicados, com as seguintes combinações: “*Thin Film*” AND “*alizarin red s*” AND “*sensor*” e “*Thin film*” AND “*Alizarin red s*” AND “*sensor*” AND “*hydrogen peroxide*” não foi encontrado artigos nesse contexto. Por outro lado, a pesquisa destacou um artigo com a seguinte combinação: “*Alizarin red s*” AND “*sensor*” AND “*hydrogen peroxide*” para a base Scopus.

O artigo é intitulado, “*Fabrication of alizarin red S/multi-walled carbon nanotube nanocomposites and their application in hydrogen peroxide detection*”, dos autores Han et al, publicado em 2013, o qual destaca a síntese do corante vermelho de alizarina s com nanotubos de carbono de parede múltiplas, através das interações não covalentes desses materiais. Além disso, os autores mostram que a eletroatividade do vermelho de alizarina s associado às propriedades dos nanotubos de carbono empregado para modificar o eletrodo de carbono vítreo exibiu uma boa resposta à redução do peróxido de hidrogênio. Entretanto, nesse estudo não foi empregada a técnica *LbL* para a confecção do eletrodo a base de VAS.

Na pesquisa, utilizando a combinação “*Thin film*” AND “*Alizarin red s*” AND “*sensor*” AND “*hydrogen peroxide*” nas bases Web of Science e Scopus não foi encontrado

nenhum artigo publicado, indicando que pesquisas utilizando filmes finos de vermelho de alizarina s como camada ativa para sensor de peróxido de hidrogênio ainda são escassas, dessa forma, possibilitando novos estudos nessa área.

3.2. ANÁLISE DAS PATENTES PUBLICADAS

A pesquisa sobre patentes foi realizada em quatro bases distintas sendo estas *Espacenet*, *Derwent Innovations Index*, *USPTO* e *INPI*. Inicialmente os dados foram discutidos, em relação aos números de pedidos depositados nas bases relacionadas às palavras-chaves e as combinações descritas na pesquisa (Tabela 01) observou-se um número relevante de patentes nas *Espacenet*, *Derwent Innovations Index* e *USPTO*, já em relação à base *INPI*, o número de patentes encontradas foram menores, comparando as bases citadas anteriormente.

TABELA 02. Número de patentes depositadas por Base.

PALAVRAS-CHAVES	ESPACENET	DERWENT	USPTO	INPI
<i>Thin Film</i>	10.000	100.000	3.116	142
<i>Alizarin red s</i>	28	51	01	0
<i>Sensor</i>	10.000	100.000	161.298	7.248
<i>Hydrogen peroxide</i>	10.000	43,478	5507	644
<i>Thin Film AND alizarin red s</i>	0	01	01	0
<i>Thin Film AND sensor</i>	10.430	9.844	5146	07
<i>Thin Film AND hydrogen peroxide</i>	352	905	1095	0
<i>Alizarin red s AND sensor</i>	0	05	0	0
<i>Alizarin red s AND hydrogen peroxide</i>	0	04	0	0
<i>Sensor AND hydrogen peroxide</i>	581	925	1439	01
<i>Thin Film AND alizarin red s AND sensor</i>	0	0	01	0
<i>Thin film AND sensor AND hydrogen peroxide</i>	06	63	297	0

<i>Alizarin red s AND sensor AND hydrogen peroxide</i>	0	0	0	0
<i>Thin film AND Alizarin red s AND sensor AND hydrogen peroxide</i>	0	0	0	0

Fonte: Autoria própria (2016)

De acordo com a pesquisa realizada foi verificado que nas bases, INPI, *EPO*, *Derwent*, *USPTO* foram encontrados diversos depósitos de registro de pedido de patente, utilizando as palavras-chaves e as combinações aqui propostas. É importante destacar que na base INPI, as palavras-chaves e as combinações foram realizadas em português. Sendo, assim, no que diz respeito aos dados encontrados nas bases, as discussões serão feitas evidenciando as bases *EPO*, *Derwent* e *USPTO*, visto que essas apresentaram um número maior de patentes.

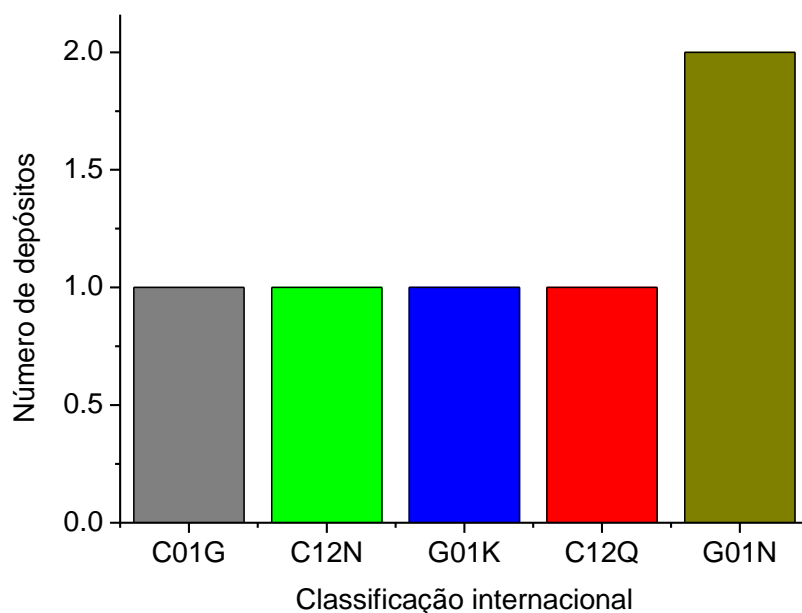
Os resultados encontrados na base *EPO* serão elencados quanto aos dados sobre a distribuição de patentes por países, ano de depósito, bem como a Classificação Internacional de Patente (CIP), que tem como objetivo registrar por meio de documentos e divulgar tecnicamente os pedidos de patentes, organizar documentos de patente, a fim de facilitar o acesso às informações tecnológicas e legais contidas nesses documentos, além disso, serve de base para investigar o estado da técnica em determinados campos da tecnologia.

Sobre as distribuições de patentes depositadas na base *Espacenet* foram encontradas várias patentes, relacionadas aos termos: “*Thin Film*” (10.000), “*Sensor*” (10.000), “*Hydrogen peroxide*” (10.000), já “*Alizarin rede s*” foram encontradas apenas (28). A pesquisa com as combinações das palavras-chaves mostrou o aparecimento de muitas patentes com os termos “*Thin Film*” AND “*sensor*” (10.430) e “*Sensor*” AND “*Hydrogen peroxide*” (581). No entanto, para a combinação “*Thin film*” AND “*sensor*” AND “*Hydrogen peroxide*” apenas seis foram encontradas.

Entretanto, a pesquisa envolvendo as seguintes combinações: “*Thin Film*” AND “*alizarin red s*”, “*Alizarin red s*” AND “*sensor*”, “*Alizarin red s*” AND “*hydrogen peroxide*”, “*Thin Film*” AND “*Alizarin red s*” AND “*Sensor*”, “*Thin film*” AND “*Sensor*” AND “*Hydrogen peroxide*”, “*Thin Film*” AND “*Alizarin red s*” AND “*sensor*”, “*Alizarin red s*” AND “*Sensor*” AND “*Hydrogen peroxide*” e “*Thin Film*”

AND “Alizarin red s” AND “sensor”, “Thin film” AND “Alizarin red s” AND “sensor” AND “hydrogen peroxide” não mostraram nenhuma patente, conferindo assim caráter inovador a proposta aqui relatada. Em relação aos pedidos de patentes em relação à CIP na Figura 05 ilustra patentes que obtiveram mais resultados, para o termo “Thin film” AND “sensor” AND “hydrogen peroxide”, extraído da base *Espacenet*.

FIGURA 05: Distribuição por CIP encontradas na base *EPO*



Fonte: Autoria própria (2016)

A seção C trata de Química e Metalúrgica e a seção G está relacionada a Física. O número maior de patentes apresenta código G01N, indicando que o produto pode ser investigado ou analisado pela determinação de suas propriedades químicas ou físicas, seguido dos códigos: C01G (compostos contendo metais), C12N (produtos com finalidades de propagação, conservação ou manutenção de microorganismos, engenharia genética ou de mutações e meios de cultura), G01K (para medição de temperatura e quantidade de calor) e ainda C12Q (destinado aos processos de medição ou ensaio envolvendo enzimas ou microorganismos).

De acordo com a pesquisa realizada na base *Derwent* os pedidos de depósito de patentes encontrados foram significativos como supracitados. Ao contrário da base *Espacenet*, foi encontrada uma (01) patente com o termo “Thin Film” AND “Alizarin red s”, cinco (05) com a combinação “Alizarin red s” AND “sensor” e quatro (04) com a palavra-chave “Alizarin red s” AND “Hydrogen peroxide”. Não foram encontradas

patentes envolvendo Filmes finos contendo vermelho de alizarina s para aplicações em sensores de peróxido de hidrogênio.

Os resultados na base *Derwent* serão discutidos levando em consideração a distribuição de patentes por inventor, país, ano de depósito, CIP, bem como a área de conhecimento.

No que se refere aos estudos feitos de filmes finos contendo o corante vermelho de alizarina s, foi depositado apenas um (01) pedido de patente com a combinação “*Thin Film*” AND “*Alizarin red s*” com as seguintes caracterizações, ver tabela a seguir.

TABELA 03: Distribuição por inventor, país, ano de depósito, CIP e área de conhecimento encontrada na *EPO*

INVENTOR (ES)	PAÍS	ANO DE DEPÓSITO	CIP	ÁREA DE CONHECIMENTO
KIM H K, KIM Y N e YANG W S	República de Moldavia (KR)	2014	G01N	Química Engenharia Ciências dos Polímeros

Fonte: Autoria própria (2016)

A pesquisa realizada sobre os estudos feitos com o corante vermelho de alizarina s para a construção de sensores, aponta poucos depósitos de pedidos de patentes, ao todo foram encontradas cinco (05), com as especificações a seguir.

Sobre as distribuições de patentes por país foram em maior destaque aos USA (Estados Unidos) com três (03) depositadas e duas (02) na WIPO (Organização Mundial de Propriedade Intelectual).

Com relação à evolução anual de depósitos de patentes, foi encontrado durante os anos de 2007 a 2015, sendo um depósito em 2007, dois (02) em 2012, um (01) em 2014 e um (01) em 2015, evidenciando dessa forma um estudo atual na área.

Os CIP's encontrados nessa base foram: dois **A61F** (Ciência Médica ou Veterinária e higiene, com finalidade para Prótese, Aparelhos ortopédicos

anticoncepcionais, Estojos de primeiros socorros) e três patentes em **G01N** (Investigação ou análise dos materiais pela determinação de suas propriedades químicas ou físicas).

Quanto à área de conhecimento na pesquisa realizada na base *Derwent*, a ênfase foi em Química, Ciências dos Polímeros com 05 pedidos de patentes, e 04 estão relacionadas à Engenharia e Instrumental. Ainda nessa base foram encontradas quatro (04) patentes relacionadas aos estudos feitos com o corante vermelho de alizarina S e o peróxido de hidrogênio, nos anos de 2006, 2010, 2013 e 2015, respectivamente 01 (um) pedido de depósito em cada ano.

Os CIP's encontrados com a combinação “*Alizarin red s*” AND “*Hydrogen peroxide*” 02 (duas) na subclasse **A61K** (Preparações para finalidades médicas, odontológicas ou higiênicas) e duas (02) **A611H** (Aparelhos de fisioterapia, por ex., dispositivos para localizar ou estimular os pontos de reflexibilidade do corpo, Respiração artificial, Massagens, Banhos ou dispositivos de limpeza para usos especiais ou partes específicas do corpo).

Sobre as distribuições de patentes depositadas na base *USPTO*, foram encontrados diversos pedidos em relação ao estudo de “*Thin film*” (3.116), “*Sensor*” (161.298), “*Hydrogen peroxide*” (5.507). Por outro lado, foi depositada apenas uma (01) patente sobre o “*Alizarin red s*”.

Já a pesquisa utilizando as combinações de palavras, apareceram as seguintes: “*Thin film*” AND “*sensor*” (5.146), “*Thin film*” AND “*hydrogen peroxide*” (1.095), “*sensor*” AND “*hydrogen peroxide*” (1439), “*Thin film*” AND “*sensor*” AND “*hydrogen peroxide*” (297), já para “*Thin film*” AND “*alizarin red s*” AND “*sensor*”, tem-se uma (01) patente, que foi depositada em 2013, intitulada: *Methods for stepwise deposition of silk fibroin coatings*, dos inventores: Kaplan; David L., Wang; Xianyan.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com a pesquisa realizada nas bases foi possível observar que o uso do corante vermelho de alizarina s na construção de filmes finos empregados como plataforma para sensores para detecção do peróxido de hidrogênio é inovador até o presente momento, visto que não foram encontradas patentes e nem artigos científicos nas bases pesquisadas.

Além dessas considerações, vale destacar um número pequeno de patentes e artigos científicos envolvendo as combinações “Alizarin red s” AND “sensor” AND “hydrogen peroxide” e “Thin film” AND “Alizarin red s” AND “sensor” AND “hydrogen peroxide”.

Portanto, este trabalho, subsidia aos leitores uma nova pesquisa sobre a prospecção na área científica, no que se refere à inovação tecnológica.

REFERÊNCIAS

CHANG M. C. Y.; PRALLE A.; ISACOFF E. Y.; CHANG C. J. A. Selective, Cell-Permeable Optical Probe for Hydrogen Peroxide in Living Cells. **J. Am. Chem. Soc.** v. 126, p. 15392- 15393, 2004.

CHEN N.; HE F.; REN Y.; PENG H.; HUANG K. Fabrication of chitosan/PAA multilayer onto magnetic microspheres by LbL method for removal of dyes. **Chemical Engineering Journal**. v. 249, n. 1, p. 79-92, 2014.

CHUN M.W; KWUN H.W; CHEN X.D. Glucose oxidase: natural occurrence, function, properties and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 78, p. 927-938, 2008.

ESTEVAM R. B.; FERREIRA R. T.; BISCHOF A. B. H.; Dos SANTOS F. S.; SANTOS C. C.; FUJIWARA S. T.; WOHNATH K.; LAZARO S. R.; GARCIA J. R.; PESSOA C. A. Preparation AND characterization of LbL films based on graphene oxide nanoparticles interacting with 3-n-propylpyridinium silsesquioxane chloride. **Surface AND Coatings Technology**. v. 275, n. 5, p. 2-8, 2015.

De Mattos, I. L.; Shiraishi, K. A.; Braz, A. D.; Fernandes, J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química Nova**, v. 25, p. 373-380, 2003.

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

DENDA T.; MIZUTANI R.; IIJIMA M.; NAKAHASHI H.; YAMAMOTO H.; KANEKIYO Y. (2015) Thin films exhibiting multicolor changes induced by formaldehyde-responsive release of anionic dyes. **Talanta**. v. 144, n. 1 p. 816-822, 2015.

DESHMUKH P. K.; RAMANI K.P.; SINGH S. S.; TEKADE A.R.; CHATAP V. K.; PATIL G.B.; BARI S. B. Stimuli-sensitive layer-by-layer (LbL) self-assembly systems: Targeting AND biosensory applications. **Journal of Controlled Release**. v. 166, n. 3, p. 294-306, 2013.

GAO J.; YU J.; LU Q.; HE X.; YANG W.; PU L.; YANG Z. Decoloration of alizarin red S in aqueous solution by glow discharge electrolysis. **Dyes and Pigments**. v. 76, p. 47-52, 2006.

GUO H.; CHEN M.; LIU Q.; WANG Z.; CUI S.; ZHANG G. LbL assembly of sulfonated cyclohexanone–formaldehyde condensation polymer AND poly(ethyleneimine) towards rejection of both cationic ions AND dyes. **Desalination**. v. 365, n. 1, p. 108-116, 2015.

HAN H.; WU X.; WU S.; ZHANG Q.; LU W, ZHANG H.; PAN D. Fabrication of alizarin red S/multi-walled carbon nanotube nanocomposites AND their application in hydrogen peroxide detection. **J Mater Sci**. v. 48, p. 3422-3427, 2013.

HUJAYA D. S.; ENGBERSEN J. F. J.; PAULUSSE J. M. J. Multilayered thin films from poly(amido amine)s and DNA. **Acta Biomaterialia**. v. 22, p. 19-31, 2015.

LI W.; XU R.; ZHENG L.; DU J.; ZHU Y.; HUANG R.; DENG H. LBL structured chitosan-layered silicate intercalated composites based fibrous mats for protein delivery. **Carbohydrate Polymers**. v. 90, n.4, p. 1656-1663, 2012.

LIU, G.; WEI W.; Nanping XU N. Polymer/Ceramic Composite Membranes and Their Application in Pervaporation Process. **Chinese Journal of Chemical Engineering**. v. 20, p. 62-70, 2012.

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

MECH, J.; GRELA, M A.; SZACILOWSKI, K. Groud AND excited state properties of alizarin AND its isomers. **Dyes and Pigments**. vol.103, p. 202-2013, 2014

MERCATO L. L.; FERRARO M. M.; BALDASSARRE F.; MANCARELLA S.; GRECO V.; RINALDI R.; LEPORATTI S. Biological applications of LbL multilayer capsules: From drug delivery to sensing. **Advances in Colloid and Interface Science**. v. 207, p. 139-154, 2014.

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.

PARKES, C.H. Creating colour in yarn: an introduction to natural dyes. **Industrial Crops AND Products**.v. 37, p. 408-414, 2012.

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

PEREIRA C. F.; FERNANDES E.N.; MARQUES E.P.; MARQUES A.L. Potencialidades Analíticas Do Sistema Cu (II) - Amarelo De Alizarina R: Um novo procedimento espectralítico para determinação de Cu(II) no nível de micromolar e estudos de equilíbrios em solução. **Analytica**. v. 04, p. 53-58, 2003.

RAVATI S.; FAVIS B. D. 3D porous polymeric conductive material prepared using LbL deposition. **Polymer**. v. 52, n. 3, p. 718-731, 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. **Materials Science AND Engineering: B**. v. 177, n. 4, p. 359-366, 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.

SHAMSIPUR M.; PASHABADI A.; MOLAABASI F.; A novel electrochemical hydrogen peroxide biosensor based on hemoglobin capped gold nanoclusters–chitosan composite. **RSC Adv**. v. 5, p. 61725-61734, 2015.

STETTER J. R.; PENROSE W. R.; YAO S. (2003) Sensors, Chemical Sensors, Electrochemical Sensors, and ECS. **J. Electrochem. Soc**. v. 150, n. 2, p. 11-16, 2003.

SUN C. Q. Oxidation electronics: bond–bAND–barrier correlation AND its applications. **Progress in Materials Science**. v. 48, n.6, p. 521-685, 2003.

TURCANU A.; BECHTOLD T. pH Dependent redox behaviour of Alizarin Red S (1,2-dihydroxy-9,10-anthraquinone-3-sulfonate) – Cyclic voltammetry in presence of dispersed vat dye. **Dyes AND Pigments**. v. 91, n. 3, p. 324-331, 2011.

WANG, L.; WANG, E. A novel hydrogen peroxide sensor based on horseradish peroxidase immobilized on colloidal Au modified ITO electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 6, p. 225-229. 2004.

XU G. R. WANG S. H.; ZHAO H.; WU S. B.; XU J. M.; LU L.; LIU, X. Y. Layer-by-layer (LBL) assembly technology as promising strategy for tailoring pressure-driven desalination membranes. **Journal of Membrane Science**. v. 493, n. 01, p. 428-443, 2015.

ZHAO L.; YUAN B.; GENG Y.; YU C.; KIM N. H.; LEE J.H.; LI P. Fabrication of ultrahigh hydrogen barrier polyethyleneimine/graphene oxide films by LBL assembly fine-tuned with electric field application. **Composites Part A: Applied Science AND Manufacturing**. v. 78, p. 60-69, 2015.

ZUCOLOTO V, STRACK P. J.; SANTOS F. R.; BALOGH D. T, CONSTANTINO C. J. L.; MENDONÇA C. R.; OLIVEIRA Jr O. N. Molecular engineering strategies to control photo-induced birefringence AND surface-relief gratings on layer-by-layer films from an azopolymer. **Thin Solid Films**. v. 453, p. 110-113, 2004.

CAPÍTULO 02

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES HÍBRIDOS COM BASE EM ÁGAR E VERMELHO DE ALIZARINA S PARA A APLICAÇÃO DE SENSORES NÃO ENZIMÁTICOS DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

Maria de Fátima Cardoso Soares^{1,2}; Emanuel Airton de Oliveira Farias¹; Durcilene Alves da Silva¹ e Carla Eiras³

1-Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, BIOTEC, *Campus* de Parnaíba, UFPI, Parnaíba, PI, 64202-020, Brasil.

2-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, IFPI, *Campus* Parnaíba, 64210260, Parnaíba- PI, Brasil

3-Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados - LIMAV, CT, UFPI, *Campus* Ministro Petrônio Portela, Teresina-PI, 64049-550, Brasil.

RESUMO

Pela primeira vez o corante Vermelho de Alizarina S (VAS) foi imobilizado em eletrodos de ITO (Óxido de Estanho dopado com Índio) a partir da técnica *Layer-by-Layer* (LbL) de automontagem. Os filmes foram obtidos apenas após a intercalação do VAS com os polímeros ágar (extraído da alga *Gracilaria birdiae*) e PAH (poli(alilaminahidroclorada)), uma vez que o VAS sozinho não apresentou eletroatividade quando adsorvido sobre o ITO. Nanotubos de carbono de parede simples funcionalizados com COOH (NTCs) foram utilizados para aumentar o sinal eletroquímico do sistema LbL. As interações em nível molecular entre os NTCs e os outros materiais utilizados na construção do filme foram responsáveis por um aumento no sinal de corrente do corante em até 3 vezes. Os filmes LbL foram desenvolvidos em estrutura de tricamadas contendo ágar/PAH/VAS ou ainda ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS e caracterizados por Voltametria de Pulso Diferencial (VPD), Espectroscopia na Região do UV-Visível (UV-Vis) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A partir dos resultados obtidos também foi possível obter o diagrama de energia para ambos os filmes, os quais se mostraram promissores para aplicações em sensores eletroquímicos. Em uma etapa final, o filme de ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS foi empregado no monitoramento da redução do peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Sob potencial constante de -0.5 V vs ESC, o filme exibiu rápida resposta para a detecção do peróxido (menos de 5 s) com estabilização de corrente em até 30 s. O limite de detecção encontrado para o sensor amperométrico proposto aqui foi da ordem de 0,15 μmol L⁻¹.

Palavras-chave: Vermelho de Alizarina S; Filmes híbridos; ágar; nanotubo de carbono; peróxido de hidrogênio.

ABSTRACT

For the first time, the dye alizarin red S (VAS) was immobilized on ITO (Indium Tin Oxide) electrodes by layer-by-layer self-assembly technique (LbL). The VAS films were obtained only when the dye was conjugated with the polymers agar (extracted from seaweed *Gracilaria birdiae*) and PAH (poly(allylamine hydrochloride)). VAS alone did not show electroactivity when adsorbed onto ITO. Single-walled carbon nanotubes (functionalized with -COOH, denoted NTCs) were used to increase the electrochemical signal of the LbL system. The interactions at the molecular level between the NTCs and other materials used in the film formation were accounted for a 3-fold increase in the current signal of VAS. The films were developed with a trilayer structure of ágar/PAH/VAS or ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS and their characterizations were made by differential pulse voltammetry (DPV), UV-Visible spectroscopy (UV-Vis) and Scanning Electron Microscopy (SEM). From the results, it was possible to determine the energy diagram for both films. The results showed that the films are promising for applications as electrochemical sensors. Accordingly, the ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS film was tested for the reduction of hydrogen peroxide (H₂O₂). Under a constant potential of -0.5 V vs SCE (Saturated Calomel Electrode), the film exhibited a rapid response for the reduction of peroxide (less than 5 s), and the current stabilized approximately at 30 s. The limit of detection for the amperometric sensor was approximately 0.15 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Keywords: Alizarin Red S; hybrid films; ágar; carbon nanotubes; hydrogen peroxide sensors;

1. INTRODUÇÃO

A Nanotecnologia é uma ciência multidisciplinar que tem permitido inúmeras aplicabilidades nos mais variados setores, seja industrial, tecnológico, biotecnológico, além de apresentar alto valor econômico (ISLAM e MIYAZAKI, 2009; MIHINDUKULASURIYA e LIM, 2014). A singularidade da nanotecnologia não está limitada apenas ao controle e manipulação de moléculas individuais ou no desenvolvimento de nanoestruturas, mas também na possibilidade de desenvolver novos materiais, com diferentes naturezas, a partir da associação de características químicas e físicas, possibilitando aplicações tecnológicas totalmente novas (ROMIG Jr et al, 2007).

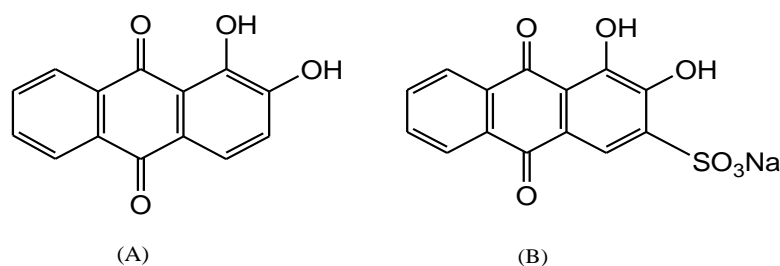
Dentre as áreas de interesse da Nanotecnologia, o estudo de filmes finos, tem sido explorado, por permitir a imobilização de diversos tipos materiais, possibilitando a manipulação da matéria de forma organizada e em nível atômico ou molecular (ZUCOLOTTO et al, 2006). Dentre as técnicas mais comuns empregadas na produção de filmes, podemos citar a *Casting*, *Spin Coating* (BRINKER e SCHERER, 1990) *Dip Coating* (CARVALHO e VARELA, 2001), *Langmuir-Blodgett* (LB) (GUIMARÃES, 2009) e a *Layer-by-Layer* (LbL) (DECHER, 1997). No entanto, as técnicas *LB* e *LbL*

são as mais exploradas quando se almeja a formação de filmes finos com estrutura organizada que favoreça o surgimento de efeitos sinérgicos entre os diferentes materiais conjugados na forma de filme.

A técnica *LbL* desenvolvida por Decher em 1997 (DURAN, et al, 2006) baseia-se principalmente em interações eletrostáticas de espécies com sinais opostos, porém interações secundárias do tipo, por exemplo, Van der Waals, ligações de hidrogênio são relatadas (PEREIRA, et al, 2010; ZUCOLOTTI, et al, 2004). Destaca-se ainda pela grande estabilidade das camadas adsorvidas, além de grande variedade de materiais que podem ser empregados (PATERNO, et al, 2000), como por exemplo, proteínas (HUANG et al, 2013; NAKANE et al, 2009; LI et al, 2014), enzimas (Ferreira et al, 2004; ZHANG et al, 2008; SOUZA et al, 2013), polímeros condutores (WANG et al, 2011; WUYTENS et al, 2014), polissacarídeos (DENG et al, 2010; ARAÚJO et al, 2012; BARROS et al, 2012) e corantes (BALL, 2012).

Os corantes são exemplos de substâncias orgânicas, que apresentam versatilidade considerável de utilização, a qual vai desde o tingimento de tecidos, coloração de alimentos, como outros diversos ramos da tecnologia moderna: células que tem a propriedade de absorver luz solar, dispositivos eletrônicos e ópticos diversos, inclusive mais recentemente diodos emissores de luz, como fotossensibilizantes que atuam no equilíbrio da proliferação microbiana. (PARKES, 2012; MOHAMMAD-SHAHID e SHAHID-UL-ISLAM, 2013) Dentre a variedade de corantes existentes, destaca-se o Vermelho de Alizarina S (VAS), um derivado solúvel da alizarina (ALZ) que apresenta um grupamento sulfônico não reativo, responsável pela melhora da solubilidade do composto em meio aquoso, Figura 1. (PEREIRA et al, 2003)

Figura 1. Esquema comparando a estrutura da (A) ALZ e do (B) VAS



Fonte: adaptado de Fernandes (1998)

Inicialmente o VAS era utilizado como reagente analítico colorimétrico, e reagente para reações espectrofotométricas (GAO et al, 2006). No entanto, alguns estudos propõem do uso do VAS como agente modificador da superfície de eletrodos sólidos para aplicações em sensores eletroquímicos (CORDEIRO et al, 2006). A maioria desses sensores têm sido produzidos empregando-se eletrodos de carbono (DEVI et al 2013, LIN et al, 2013, ZHANG et al, 2014), carbono vítreo (DAÍ et al, 1998; BA et al, 2012), nanotubos de carbono (GAYA et al, 2008; LIU et al, 2009), grafeno (YUAN-YUAN2013 et al, 2013), ouro (SOUZA e CORIO, 2010; ROOSTA, MOHAMMADI, 2014), diamante dopado com Boro (FAOUZI et al, 2007) e Grafite Pirolítico (MOUCHREK FILHO, et al, 1999; SOUSA et al, 1997). Entretanto a literatura não dispõe de nenhum relato sobre a imobilização do VAS em eletrodos de ITO, possibilitando dessa forma, uma caracterização e o estudo de suas propriedades eletroquímicas, além de propriedades espectroscópicas e morfológicas deste composto.

Outra classe de materiais que tem despertado interesse na produção de filmes LbL são os polissacarídeos naturais (DENG et al, 2010; EIRAS et al, 2010; HE et al, 2013). O ágar destaca-se dentre esses polissacarídeos, devido suas propriedades anticoagulante, antitumoral, antiviral, anti-inflamatória, dentre outras (DA CUNHA et al, 2009), o que tem possibilitado seu emprego na área médica, no ramo alimentício, de cosméticos, biotecnológico, na indústria têxtil, farmacêutica, entre outros setores industriais (MACIEL et al, 2008; JENSEN, 1993; MCHUGH, 2003).

A larga aplicabilidade do ágar está ligada a sua capacidade de formação de géis (geleificantes, viscosificantes e/ou emulsificantes) e à sua atoxidade (GOPEL et al, 1998). Um dos interesses da nanotecnologia está em atribuir novas aplicações para esses polissacarídeos, como por exemplo, seu emprego na produção de filmes para serem utilizados como camada ativa de sensores e biossensores (HABIBI et al, 2014; DE MATTOS et al, 2003).

Ao que diz respeito aos sensores e biossensores, diversos são os tipos que têm sido desenvolvidos para a detecção dos mais variados analitos e principalmente, do peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O monitoramento dos níveis de H_2O_2 é importante por ser um poderoso oxigenador e oxidante, o qual deve estar presente no organismo humano para que seu sistema imunológico funcione corretamente (CHANG et al, 2004). O H_2O_2 é importante ainda para o metabolismo de proteínas, carboidratos, gorduras,

vitaminas e minerais, além disso, está envolvido na regulação do açúcar no sangue e na produção de energia das células do corpo (HABIBI et al, 2014; DE MATTOS et al, 2003). Por esses motivos, diversos estudos visando à construção de sensores e biossensores para a detecção do H_2O_2 têm sido realizados (DE MATTOS et al, 2003; CHANG et al, 2004; HAN et al, 2013; LU et al, 2008).

O H_2O_2 possui ainda aplicação na indústria têxtil e na composição de produtos de limpeza, como detergentes (DE MATTOS et al, 2003), bem como nas indústrias para purificação de água, entre outros benefícios (LI et al, 2014). Vários métodos de análise foram concebidos para a determinação de H_2O_2 , tais como: cromatografia, titulometria, quimioluminescência, espectrometria e eletroquímica.

Dentre esses métodos, os sensores eletroquímicos têm sido vistos como excelente alternativa, devido à rapidez de análise, baixo custo, alta sensibilidade e seletividade, o que tem motivado a produção de diversos sensores e biossensores eletroquímicos para a redução/detecção de H_2O_2 (LI, et al, 2014; CHANG et al, 2004; SHU et al, 2007; JIA et al, 2002; WANG et al 2004).

A maioria dos sensores eletroquímicos de H_2O_2 desenvolvidos utiliza enzimas para redução de peróxido (ANTUNA-JIMÉNEZ et al, 2015; HUANG, 2008; KUDO et al, 2014; LIU et al, 2009; KARUPPIAHA et al, 2014). Entretanto, a utilização de enzimas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos possui algumas desvantagens, devido ao seu alto custo e a necessidade de requisitos especiais em condições ambientes para que não ocorra a desnaturação da enzima.

No presente estudo, pela primeira vez o VAS foi imobilizado em ITO em conjunto com o ágar, a partir da técnica *Layer-by-Layer* de automontagem como proposta para o desenvolvimento de um sensor não enzimático capaz de detectar o H_2O_2 .

A união das camadas aniônicas desses materiais ocorreu através do emprego da PAH (poli(alilaminahidroclorada)), polímero catiônico bastante utilizado para esta finalidade durante a produção de filmes automontados. Utilizou-se também nanotubos de carbono (NTC) para melhorar a resposta eletroquímica do VAS.

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento e caracterização de filmes LbL à base de ágar, PAH e VAS, ambos imobilizados em eletrodos de ITO. Inicialmente objetivou-se a caracterização desses filmes por Voltametria de Pulso Diferencial (VPD), Espectroscopia na região do UV visível (UV-VIS). Em etapa posterior os filmes

produzidos foram aplicados na detecção do peróxido de hidrogênio. A análise morfológica dos filmes foi realizada por MEV.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1. Materiais

O Vermelho de Alizarina S (VAS) foi adquirido da Merck. Já a Poli(alilaminahidroclorada) (PAH) e os nanotubos de carbono de parede simples e funcionalizados com $-\text{COOH}^-$ (NTC) foram adquiridos da Sigma Aldrich. Tanto o VAS quanto a PAH e o NTC foram utilizados como recebidos. O Ágar foi extraído a partir da alga *Gracilaria birdiae* coletada na costa do Piauí e, posteriormente, purificado conforme descrito na literatura.

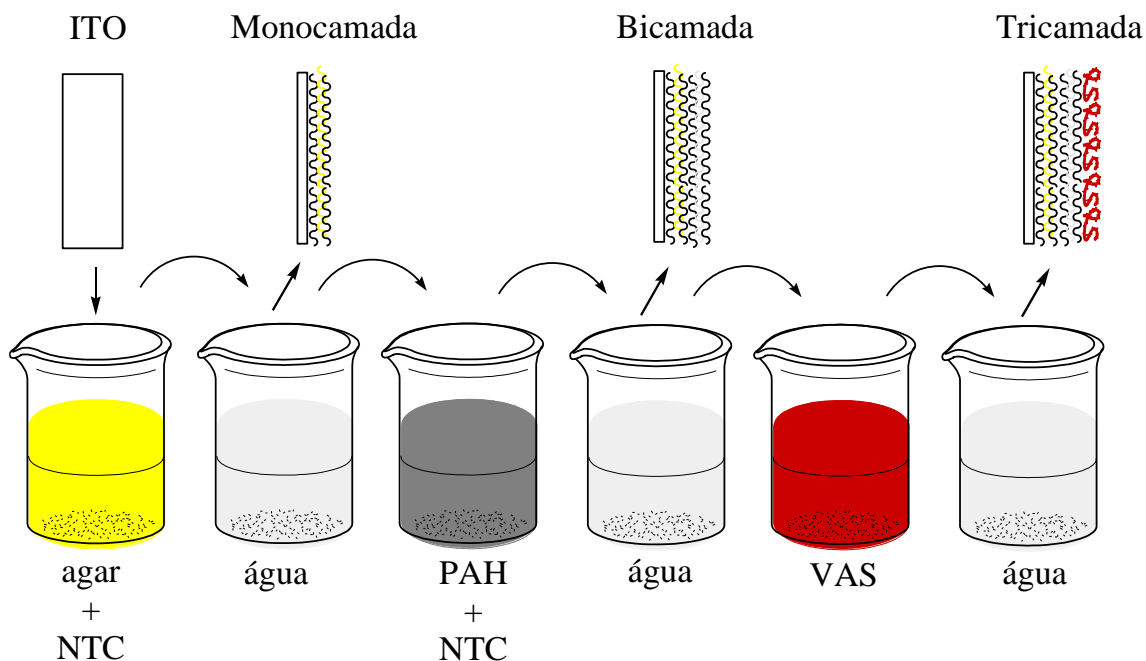
Para a extração dos polissacarídeos uma quantidade determinada de alga seca (5,0 g/200 ml de água) foi levada à fervura com água destilada por um período de 2 horas. A solução final foi filtrada e o pH ajustado para 7,0. O polissacarídeo foi então recuperado por meio da precipitação do filtrado em etanol 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. (DA CUNHA et al, 2009).

2.2. Preparação das soluções utilizadas para a adsorção dos filmes

A solução do VAS foi preparada na concentração de 0,2% enquanto a solução do Ágar a 0,1%. Em ambas as soluções empregou-se água pura como solvente. Já solução da PAH (poli(alilaminahidroclorada)) também foi preparada a 0,1% em ácido acético na concentração 0,1%. Para os testes de redução do peróxido de hidrogênio, foi utilizada uma solução estoque de H_2O_2 a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

2.3. Adsorção dos filmes LbL

FIGURA 02. Esquema que ilustra o processo de preparação do filme LbL em estrutura tricamada.



Fonte: esquema produzido pela autora

Para a formação dos filmes LbL, os nanotubos foram dispersos na solução de ágar e também na solução de PAH. Posteriormente o ITO previamente limpo (KERN, 1984) foi mantido imerso na solução de ágar(NTC) durante 5 minutos. Em seguida, o sistema ITO/Ágar (NTC) foi mergulhado na solução de lavagem (água ultrapura) para remoção do material não adsorvido e, posteriormente seco sob o leve fluxo de N_2 . Na etapa seguinte, o eletrodo de ITO modificado com Ágar(NTC) foi mergulhado na solução de PAH(NTC) e onde também foi mantido por um período de 5 minutos, sendo em seguida lavado e seco com N_2 , formando assim a bicamada de ágar(NTC)/PAH(NTC). Em seguida, o sistema ITO/ágar(NTC)/PAH(NTC) foi imerso em solução do VAS, durante 5 minutos, e após foi submetido as etapas de lavagem e secagem com N_2 . Ao final deste processo um filme contendo uma tricamada com arquitetura de ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS foi obtido sobre o eletrodo de ITO.

Para estudos comparativos, também foram preparados filmes na ausência dos NTC, ou seja, filme apenas de ágar/PAH/VAS e ainda do filme preparado na ausência

do material eletroativo, ou seja, ágar/PAH. Também foi avaliada a influência da sequência de deposição dos materiais de interesse no sinal eletroquímico do sistema.

2.4. Caracterização

Os polissacáridos extraídos foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho em pastilha de KBr, utilizando um espectrofotometro de FT-IR 8300 Shimadzu. A análise do potencial Zeta e do peso molecular (Mw) foram realizadas por difusão de luz num Nano ZS Malvern Zetasizer Modelo 3600 usando um laser de 633 nm de um ângulo de difusão fixo de 173 °. O teor de sulfato no ágar foi obtido por meio do teor de quantidade do enxofre conduzido pela técnica do plasma indutivamente acoplado a espectrometria de emissão óptica (ICP-OES) (Spectro, modelo de diâmetro).

Para a caracterização eletroquímica dos filmes *LbL*, utilizou-se um potenciostato/galvanostato da AUTOLAB modelo PGSTAT 128N e uma célula eletroquímica com capacidade de 10,0 mL com tampa para encaixe de três eletrodos além de entrada e saída para gás. Como eletrodo de referência utilizou-se o eletrodo de calomelano saturado (ECS), e como contra-eletrodo uma placa de platina com área de 1,0 cm². O filme automontado adsorvido sobre o ITO (A= 0,32 cm²) foi utilizado como eletrodo de trabalho. Todas as análises foram realizadas utilizando-se como eletrólito suporte o tampão fosfato de potássio 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,2), em sala climatizada a 22° C.

A formação das multicamadas foi monitorada por espectroscopia na região do UV-Visível empregando-se um espectrofotômetro SHIMADZU modelo UV-1800. Para estes estudos os filmes foram automontados sobre vidro comum e um espectro foi obtido a cada 2 tricamadas adsorvidas, perfazendo um total de 20 tricamadas e 10 espectros.

A análise morfológica dos filmes foi realizada por MEV (equipamento FEI, modelo FEG Quanta 250).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

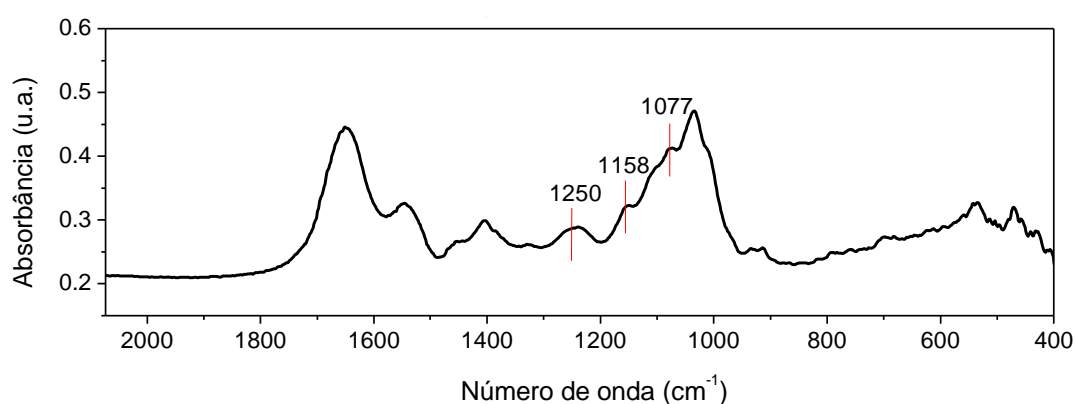
3.1. Caracterização do polissacarídeo

A caracterização do ágar por FTIR foi realizada com objetivos de identificar os grupos sulfatos e unidades 3,6-anidrogactose, que caracterizam a estrutura do

polissacarídeo. Além disso, esses grupamentos são responsáveis pela carga negativa do polissacarídeo (MAZUMBER, 2002).

Na Figura 3, o espectro apresenta algumas bandas características de polissacarídeos, tais como as vibrações de estiramento C-O-C das ligações glicosídicas, as quais foram observadas em 1158 cm^{-1} e 1077 cm^{-1} . Por outro lado, a presença da banda menos intensa em 1250 cm^{-1} sugere a existência de grupos sulfato na estrutura do polissacarídeo, confirmando sua carga negativa.

FIGURA 03. Espectros de FTIR obtido para o polissacarídeo ágar.



FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

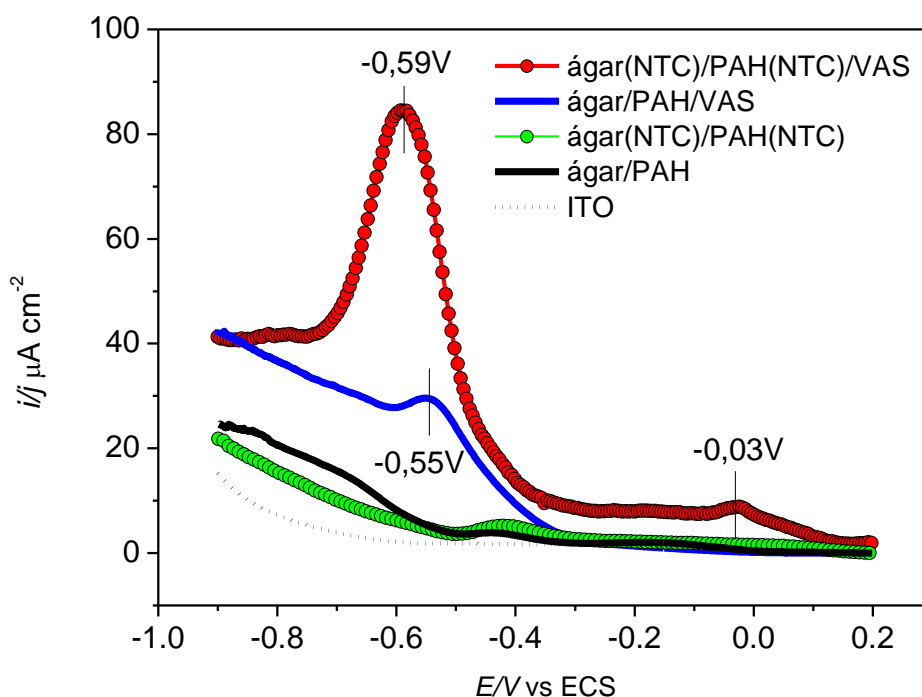
O peso molecular do ágar foi obtido por DLS e estimado em $1,4 \times 10^3$ kDa. Já o percentual de sulfato no polissacarídeo, bem como o potencial zeta da solução utilizada no preparo dos filmes foram estimados em 2,73% e -30,4 mV, respectivamente.

3.2. Caracterização eletroquímica de filmes LbL

Na Figura 04 é possível observar os voltamogramas obtidos por voltametria de pulso diferencial (VPD), para os filmes preparados em estrutura de bi ou tricamadas, na presença e ausência dos NTCs. Para efeitos comparativos também é apresentada a resposta do eletrodo de ITO não modificado. Foi feita também uma tentativa de caracterização desses filmes por Voltametria cíclica (VC), entretanto os processos redox apresentaram-se mais definidos quando obtidos por voltametria de Pulso diferencial (Fig. S1).

Nas condições experimentais empregadas, o ITO não apresentou nenhuma resposta redox (ver fig. 4). Ao ser modificado com o filme de ágar/PAH, também não foi observado nenhum processo redox para este sistema, o que de fato era esperado, uma vez que nem o ágar nem o PAH são materiais eletroativos. Já para o caso, em que os NTCs foram dispersos nas soluções de ágar e de PAH, originando o filme de ágar(NTC)/PAH(NTC), observou-se um discreto processo de oxidação em $-0,45$ V vs ECS, o qual pode ser atribuído aos nanotubos funcionalizados presentes no filme bicamada.

FIGURA 04. Voltamogramas de pulso diferencial obtidos para os filmes bicamada e de camada tripla, contendo ou não os nanotubos de carbono dispersos nas soluções de interesse. Todas as medições foram realizadas em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de fosfato de potássio (pH 7,2), $E_i = -0,9$ V, $E_f = 0,2$ V, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.



FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

Ainda na Figura 4, é mostrada a resposta de filmes tricamadas onde houve a adsorção do VAS, material eletroativo de interesse, na camada mais externa do filme (ágar/PAH/VAS). Também comparamos a presença e ausência dos NTCs nesta

arquitetura. Para o filme de ágar/PAH/VAS observou-se um processo de oxidação bem definido em $-0,55 \text{ V vs ECS}$, o qual é atribuído ao grupo paraquinona do VAS, conforme já descrito na literatura (MOUCHREK FILHO et al, 1999; PEREIRA et al, 2003).

Aparentemente, VAS tem baixa adsorção ou eletroatividade quando adsorvido em ITO, o que justifica seu uso como um modificador de eletrodos, principalmente à base de carbono (LIN et al, 2013; ZHANG et al, 2014). Quando o VAS foi adsorvido em ITO, a resposta foi semelhante à do eletrodo limpo, ou seja, ao ITO limpo. Já a modificação do eletrodo de ITO com o filme ágar/PAH permitiu o VAS uma adsorção neste sistema com um valor de corrente baixa ($29,5 \mu\text{A cm}^{-2}$ em $-0,55 \text{ V}$). Por outro lado, a introdução de nanotubos de carbono na estrutura do filme melhora a resposta eletroquímica de VAS, e o processo definido antes na $-0,55\text{V}$ é deslocado para $-0,59 \text{ V}$ com um valor de corrente de $84,5 \mu\text{A cm}^{-2}$, ou seja, quase três vezes maior do que o valor obtido para o filme ágar/PAH/VAS sem os nanotubos de carbono (Figura 4).

Vários trabalhos têm reportado interações do VAS com os elétrons π presentes em estruturas de carbono, tais como eletrodos de carbono vítreo (BA et al, 2012; GAYA et al, 2008) e de grafite pirolítico (ZHANG et al, 2008; SOUSA, 1997) de forma a aumentar o sinal eletroquímico deste composto. Esse tipo de interação pode explicar o aumento de corrente provocado pela presença dos NTCs no filme.

Em nossos estudos, também foi observado o aparecimento de um novo processo de oxidação em $-0,03 \text{ V}$ no filme de ágar (NTC)/PAH(NTC)/VAS. Este processo só ocorre quando há a presença de todos os materiais intercalados no filme. Este efeito pode ser explicado como um processo eletroquímico originado por uma interação química dinâmica constitucional (do inglês *Constitucional Dinamic Chemistry - CDC*), que também foi observado por outros autores (LUZ et al, 2011) em filmes contendo nanotubos de carbono de parede simples (SWNTC do inglês *single walled carbono nanotube*) dispersos na matriz polimérica da quitosana e intercalados com a ftalocianina de cobalto (Chit-SWNTCs/CoTsPc). Luz et al, 2011 observaram que a incorporação dos SWNTCs afetava ainda a morfologia do filme e causava um aumento na corrente faradaica, indicando uma possível interação de transferência de carga entre as ftalocianina de cobalto e os SWNTCs.

Além do ágar, em nosso estudo, o ágar foi substituído por outros polissacarídeos, tais como a carragenana (*Hypnea musciformis*) e a goma do cajueiro (*Anarcadium*

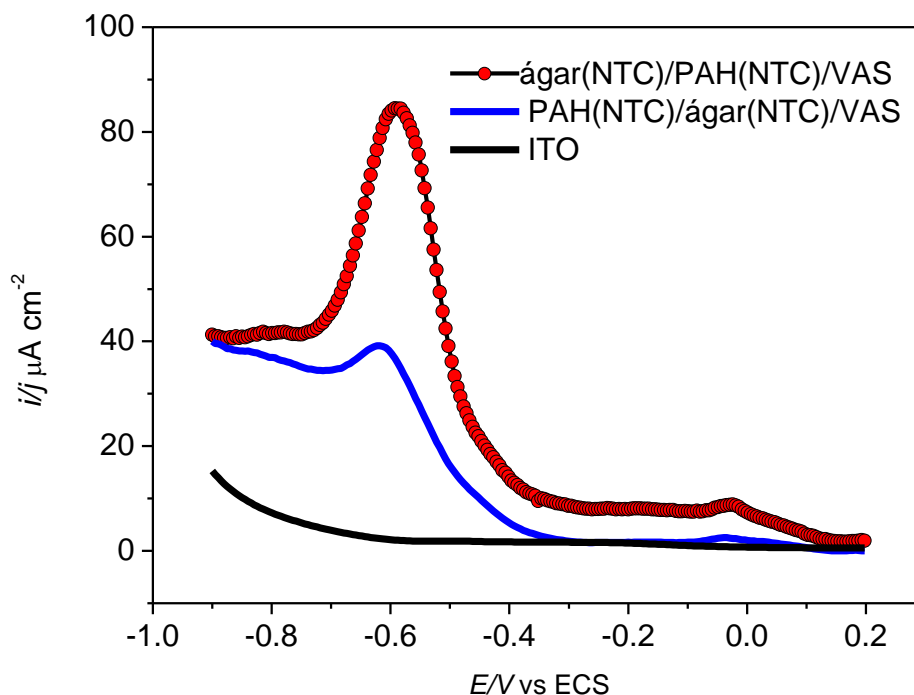
occidentale). Estes polissacarídeos também intercalados na forma de filmes híbridos com os materiais de interesse. Porém, os melhores resultados foram encontrados para o ágar. Os voltamogramas para os filmes onde a carragenana e a goma do cajueiro foram empregados em substituição ao ágar são mostrados no material suplementar (Fig. S2).

Evidentemente, polissacarídeos naturais são excelentes alternativas de biomateriais para o desenvolvimento de filmes finos para diferentes aplicações. A literatura descreve filmes à base de quitosana para a detecção de metais pesados em águas contaminadas (YANG e ZHANG, 2009; KRAJEWSKA, 2004), filmes à base de celulose para a detecção de glucose (YUAN-YUAN et al, 2013) ou de cromo (VI) (TEXEIRA et al, 2015), e polissacarídeos de algas marinhas para a detecção de Cr (VI) (FARIAS et al, 2015), além de outros filmes para o desenvolvimento de sensores baseados em vários tipos de polissacarídeos naturais (ZHANG et al, 2015).

No intuito de investigar o efeito da sequência de adsorção do filme, o VAS foi mantido como camada mais externa do filme e inverteu-se a sequência de adsorção entre o ágar(NTC) e PAH(NTC), (Figura 5). Pode-se observar que a sequência de deposição tem efeito marcante nos valores de densidade de corrente obtidos. Quando o VAS foi adsorvido sobre o PAH(NTC), maiores valores de densidade de corrente foram obtidos, provavelmente devido as interações eletrostáticas entre os polieletrólitos.

Acredita-se que quando o VAS foi adsorvido sobre o ágar, o fato de ambos terem caráter aniônico, promoveu interações repulsivas entre estes polieletrólitos, desfavorecendo assim a adsorção do VAS (Figura 5). É importante notar que independentemente da arquitetura de adsorção, o processo de oxidação do VAS ocorreu em -0,5 V, sendo ainda que o processo de oxidação observado em -0,03 V foi mantido para ambos os casos.

FIGURA 05. Voltamogramas de Pulso diferencial comparando a sequência de deposição de filmes tricamadas contendo os NTCs. Todas as medidas foram realizadas em fosfato de potássio 0.1 mol L^{-1} (pH 7,2), $E_i = -0,9 \text{ V}$, $E_f = 0,2 \text{ V}$, $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$.



FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

3.3. Caracterização dos filmes por espectroscopia UV-Vis

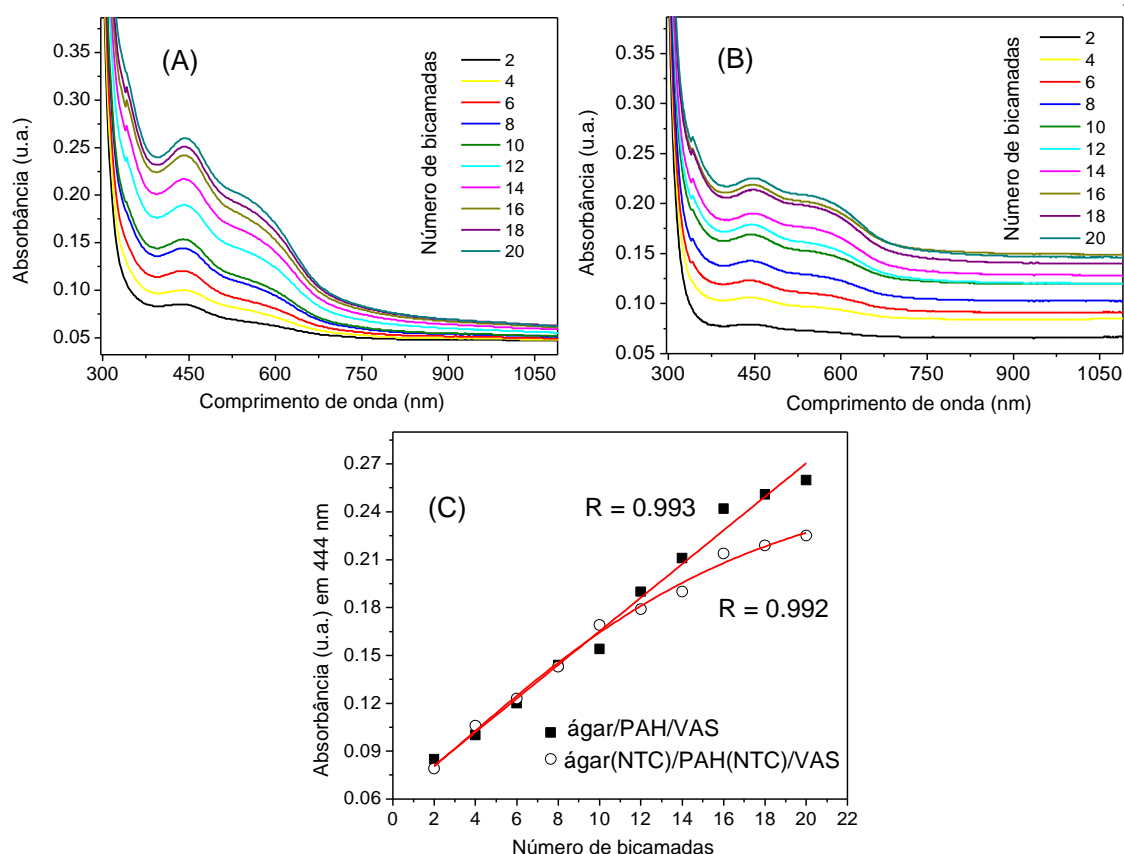
A espectroscopia de UV-Vis permite acompanhar o crescimento de filmes automontados, a partir do aumento do valor da absorbância em cada etapa de adsorção, ou seja, a cada camada depositada (SANTOS et al, 2012).

Os filmes de ágar/PAH/VAS e ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS apresentaram duas bandas de absorção, uma em 444 nm e outra em 556 nm, atribuídas respectivamente a transição $n-\delta^*$ da forma protonada e desprotonada do grupo hidroxila do VAS, único material presente no filme que absorve na região do UV-Vis (THOMAS e BURGESS, 2007). A Figura 6 mostra os espectros obtidos para os filmes de interesse na presença e ausência dos NTCs. Na Fig. 6A é possível observar os espectros obtidos a cada duas tricamadas adsorvidas do filme de ágar/PAH/VAS, enquanto que na Fig. 6B são mostrados os espectros obtidos para o filme contendo os NTC

(ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS). Já a Fig. 6C exibe a curva de crescimento desses filmes, a qual foi construída através da relação entre o número de tricamadas adsorvidas *versus* a absorvância de ambos os filmes em 444 nm.

Na curva de crescimento dos filmes, Fig. 6C, pode-se observar que os nanotubos não influenciam consideravelmente na absorvância do filme até a oitava tricamada. Acima da oitava tricamada adsorvida houve uma diminuição da absorvância do filme contendo os nanotubos, provavelmente devido ao aumento da opacidade do filme provocado pela presença dos NTCs.

FIGURA 06. Espectros de absorção obtidos a cada duas tricamadas adsorvidas (n) para os filmes de (A) ágar/PAH/VAS e (B) ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS. O *Inset* mostra a absorvância obtida para os filmes em 444nm em função de n .



FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

Vale ressaltar que o filme de ágar/PAH/VAS apresentou crescimento linear, com índice de correlação (R^2) de 0,993, enquanto que o filme de ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS apresentou comportamento sigmoidal ($R^2 = 0,992$). Isto

indica que a espessura desses filmes pode ser controlada pelo número de tricamadas adsorvidas, através de equações distintas. Para o filme de ágar/PAH/VAS, pode-se concluir ainda que trata-se de um sistemas autorregulado, uma vez que são adsorvidas quantidades muito próximas de material em cada etapa de adsorção (SANTOS et al, 2012).

Os resultados obtidos por UV-Vis sugerem que os nanotubos de carbono desempenham um papel mais importante em relação à eletroatividade do VAS e, consecutivamente, do filme, do que nas propriedades adsorptivas ou espectroscópicas dos mesmos. Dessa forma, acreditamos que o sinergismo entre os NTCs, o VAS e os demais materiais presentes no filme, é o responsável pelo aumento de corrente observado para o VAS na Figura 4, e não um simples aumento da área superficial do filme promovido pelos NTCs.

3.4. Construção do diagrama de energia

Os diagramas de energia dos filmes LbL foram construídos a partir dos dados experimentais obtidos tanto por UV-Vis quanto pela VPD. O valor do comprimento de onda inicial (λ') foi obtido a partir da interseção das curvas dos espectros de absorção de UV-Vis, Fig. 7A. Já o valor do potencial inicial de oxidação (E'_{ox}) foi obtido a partir da interseção das retas de crescimento da corrente de oxidação e de background do voltamograma de pulso diferencial (Fig. 7B) (GRUCELA-ZAJACM et al, 2014).

O valor de E'_{ox} foi substituído na Equação 01, para a obtenção do potencial de oxidação (E_{ox}) considerando-se E_{vac} igual a zero, como determina a literatura (MICARONI e HÜMMELGEN, 2002; CRESPILO et al, 2006).

$$E_{ox} = E'_{ox} + E_{ESC} \approx E'_{ox} + E_{vac} + 4.7. \quad (\text{Equação 1})$$

O λ' , Figura 6A, foi utilizado para calcular a energia da transição eletrônica (E_g), a partir da Equação 02, onde: h é a constante de Planck e c a velocidade da luz.

$$E_g = \frac{hc}{\lambda'} \quad (\text{Equação 2})$$

O potencial de ionização (PI) foi calculado de acordo com a relação abaixo, sendo e a carga do elétron:

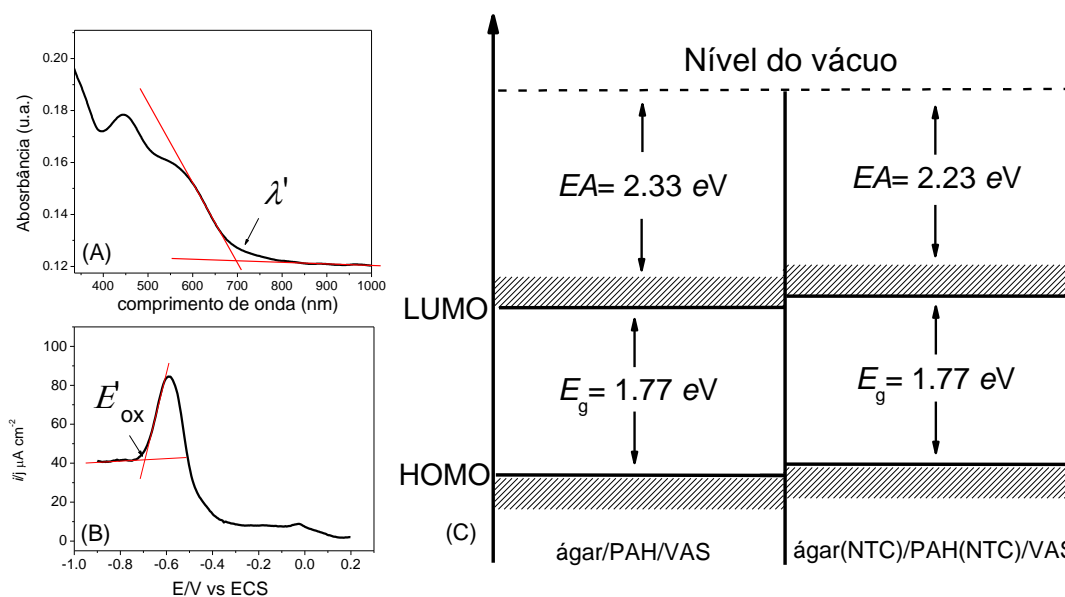
$$PI = eE_{ox} \quad (\text{Equation 03})$$

A eletroafinidade (AE) foi calculada através da Equação 04:

$$AE = PI - E_g. \quad (\text{Equação 4})$$

A Figura 7C mostra o diagrama de energia obtido para os filmes de ágar/PAH/VAS e ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS. Pode-se observar que a presença dos nanotubos diminuiu a energia necessária para os elétrons atingirem o nível do vácuo. A eletroafinidade do VAS com o eletrodo foi melhorada na presença dos nanotubos.

FIGURA 07. (A) obtenção do valor do comprimento de onda (λ') e (B) do potencial inicial de oxidação (E'_{ox}) para o filme ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS C) diagramas de energia para os filmes de ágar/PAH/VAS e ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS.



FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

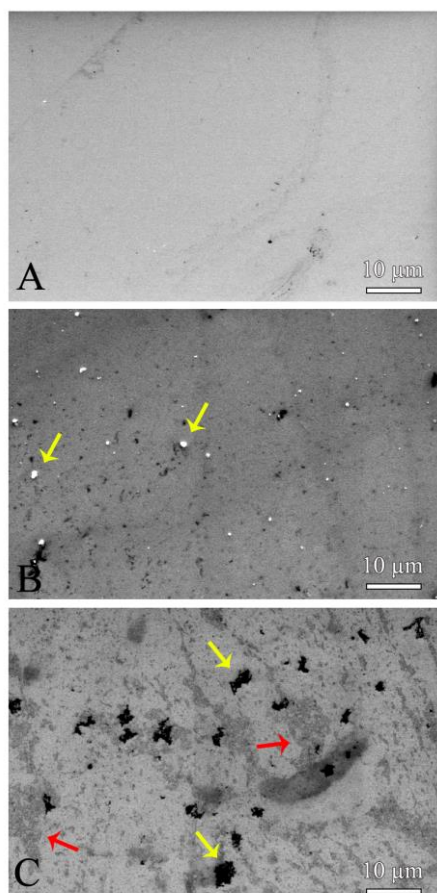
O elevado valor obtido para a energia HOMO, mostrado no diagrama esquemático da Fig. 7C, é similar aos resultados previamente relatados para ftalocianinas (ZAMPA et al, 2007). Ftalocianinas são materiais utilizados na construção de dispositivos óptico-eletrônico usados em terapia fotodinâmica e, especialmente no

desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos. Dessa forma, acreditamos que os filmes aqui produzidos são promissores para aplicações eletrônicas, abrindo assim perspectivas para futuros estudos nesta área. Por outro lado, neste trabalho buscamos ainda avaliar o potencial do filme como plataforma para sensor eletroquímico.

3.5. Análise morfológica - MEV

A figura 8 mostra as imagens de MEV obtidas a partir do estudo morfológico do substrato (Fig. 8A) e do substrato modificado pelos filmes *LbL* na presença ou ausência de nanotubos de carbono (NTC), Fig. 8B e 8C, respectivamente.

FIGURA 8. MEV obtidos para A) ITO e filmes de B) ágar (NTC)/PAH(NTC)/VAS e C) ágar/PAH/VAS. Na Fig. 8B setas amarelas indicam os agregados de nanotubos. Na Fig. 8C setas amarelas indicam áreas do substrato que não foram cobertos pelo filme e as setas vermelhas indicam a distribuição do VAS (tons em cinza médio).



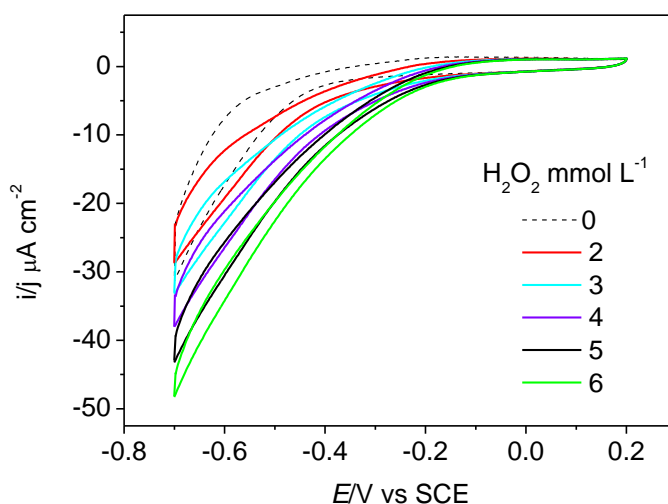
FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

Observou-se que quando os nanotubos foram dispersos na solução de ágar e PAH (ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS), figura 8B, houve a formação de agregados com forma granular, além de ter promovido uma distribuição mais uniforme do VAS, que pode ser facilmente observado através da comparação das figuras 8B e 8C, ou seja, a figura 8C o filme de ágar/PAH/VAS (sem NTC) mostrou pequenas áreas com tons de cinza médio, indicando que existe pouca quantidade do VAS distribuídas sobre o filme, quando na ausência de nanotubos de carbono. Estes resultados corroboram com a baixa corrente observada para este filme no estudo apresentado na figura 04. Dessa maneira, métodos que buscam uma melhor dispersão de nanotubos de carbono podem otimizar o sistema proposto aqui.

3.6. Testes de detecção de peróxido de hidrogênio

Inicialmente para avaliar o potencial do filme para detecção do peróxido de hidrogênio, foram efetuados experimentos de voltametria cíclica, onde examinou-se a resposta do filme de ITO/ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS na ausência e na presença de um gradiente de concentração do H_2O_2 , (Fig. 9).

FIGURA 09. Voltamograma cíclico para o filme: ITO/ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS. As medidas foram realizadas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹(pH 7,2). Potencial aplicado = -0,5 V



FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

Observa-se na Fig. 09 que com o aumento da concentração do H_2O_2 , houve um aumento na corrente de redução a partir de $-0,25\text{ V}$, a qual se estendeu à medida que o potencial aplicado deslocou-se para valores mais negativos.

Em uma etapa posterior, testou-se a técnica de cronoamperometria para avaliar o potencial do filme, proposto neste estudo, na redução do H_2O_2 sob potencial constante.

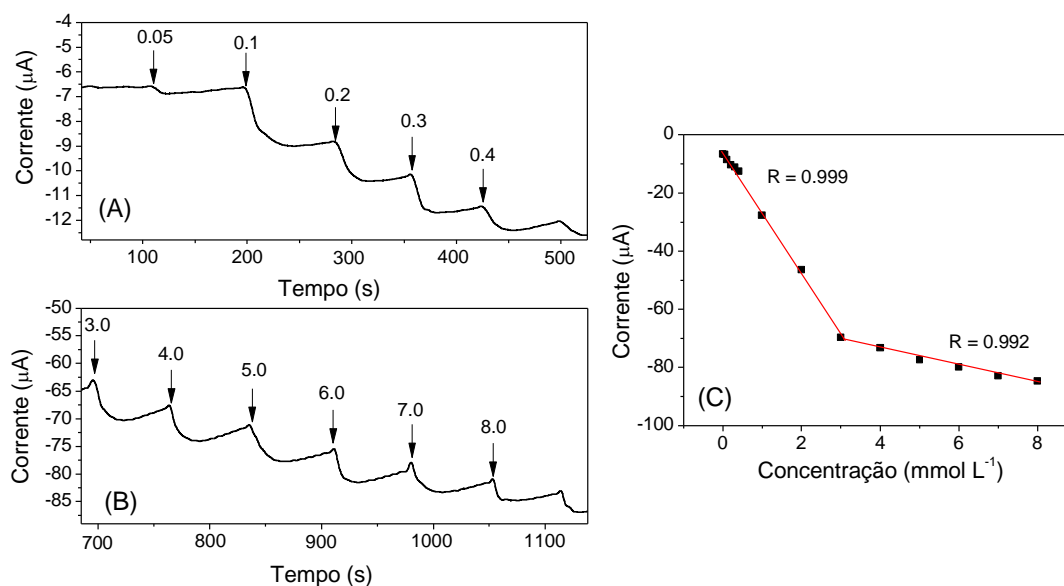
As medidas amperométricas foram realizadas para observar a sensibilidade, linearidade e o tempo de resposta do eletrodo quando na presença do H_2O_2 . Vários potenciais de polarização foram testados e os resultados mais expressivos estão ilustrados na Fig. 10. O filme de ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS mostrou melhor desempenho quando o potencial aplicado foi de $-0,5\text{ V vs ECS}$, exibindo resposta em menos de 5s, estabilizando a corrente em até 30 s (Figura 10).

Na Figura 10 pode-se observar que à medida que foram feitas as adições de H_2O_2 na célula eletroquímica, houve um aumento na corrente de redução para o peróxido, sendo que duas regiões distintas de linearidade foram evidenciadas. Na Figura 10A observa-se a resposta amperométrica para as concentrações entre $0,05$ e $0,4\text{ mmol L}^{-1}$, enquanto que na Figura 10B pode-se observar a resposta amperométrica para concentrações entre $3,0$ e $8,0\text{ mmol L}^{-1}$. As duas inclinações obtidas na Figura 10C são relativas a estas duas faixas de linearidade observadas, levando a afirmar que o filme é mais sensível a baixas concentrações de H_2O_2 . O limite de detecção e quantificação foram estimados em, respectivamente, $0,15\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,21\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. A Tabela 01 mostra o LD encontrado para a H_2O_2 neste estudo em comparação com outros disponíveis na literatura. É importante mencionar que a literatura já relata um sensor eletroquímico para peróxido de hidrogênio com base em VAS e os nanotubos de carbono (Han et al., 2013). No entanto, nesta nova proposta, se mostraram melhorias substanciais em comparação com o sensor publicado. O LD encontrado neste estudo foi de 10 vezes menor do que aquele relatado no estudo de Han et al., (2013) que neste caso foi de $1,2\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Além disso, o sensor aqui divulgado mostrou uma resposta linear na gama de concentrações mais larga em comparação com a literatura ($0,03$ a $5,0\text{ mmol L}^{-1}$).

Além disso, foi avaliada a reprodutibilidade do sensor após contatos sucessivos com o H_2O_2 . Neste estudo de estabilidade verificou-se que o perfil da densidade de

corrente observado nos voltamogramas registrados para os filmes não mudou após o contato com analito, indicando o grande potencial deste sistema para a aplicação proposta (ver Fig. S3).

FIGURA 10. Resposta cronoamperométrica para o filme de ITO/ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS na presença de H_2O_2 nos intervalos de concentração entre (A) $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$ e $0,4 \text{ mmol L}^{-1}$ e (B) de $3,0 \text{ mmol L}^{-1}$ a $8,0 \text{ mmol L}^{-1}$. (C) mostra duas regiões lineares entre a concentração de H_2O_2 e o valor médio de corrente obtida. Todas as medidas foram realizadas em tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7,2). Potencial aplicado = $-0,5 \text{ V}$.



FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

Os resultados obtidos neste estudo criam subsídios para a aplicação deste novo material como sensor eletroquímico de H_2O_2 . Entretanto, novos estudos deverão ser efetuados em busca de avaliar o efeito de interferentes na resposta analítica do sensor, bem como sua validação para seu uso na detecção de peróxido em amostras reais. Além disso, por tratar-se de um novo sistema, diferentes analitos podem ser testados objetivando ampliar a aplicabilidade deste novo material, o que está em vias de estudo pelo nosso grupo. Vale ressaltar a tabela 01, que aborda diferentes estudos de sensores não-enzimáticos para redução/detecção de peróxido de hidrogênio, mostrando que o

limite de detecção encontrado para nosso sensor supera aqueles obtidos nos demais estudos.

Tabela 01. LD encontrado para o H₂O₂ neste estudo em comparação com outros disponíveis na literatura

Sensor eletroquímico não enzimático para detecção do peróxido de hidrogênio	Limite de Detecção /LD (µM)	Referências
<i>Ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS LbL film</i>	0,15	Esse estudo
<i>Vertical NiO nanosheets supported on the graphite sheet</i>	0,4	Liu et al. (2015)
<i>Fenton-type reaction on poly(azure A)-chitosan/Cu modified electrode</i>	0,7	Liu et al. (2015)
<i>CuO flower-like nanostructured electrode formed by chemical oxidation of copper foil under hydrothermal conditions</i>	0,167	Song et al. (2010)
<i>Copper on porous silicon (Cu/PSi) nanocomposite poder synthesized by electrodeless deposition of copper nanoparticles on the etched PSi powder in a solution containing hydrofluoric acid AND CuSO4</i>	0,27	Ensafi et al. (2014)
<i>Non-enzymatic amperometric detection of hydrogen peroxide using grass-like copper oxide nanostructures calcined in nitrogen atmosphere</i>	3,26	Gao et al. (2015)
<i>Au electrode modified with polyaniline, multiwalled carbon nanotubes and gold nanoparticles</i>	0,3	Narang et al. (2011)
<i>CuS nanoparticles on surface of a glassy carbon electrode (GCE) by drop coating techniques</i>	1,1	Dutta et al. (2014)
<i>Nanoporous gold (NPG) fabricated by dealloying Au–Ag film</i>	3,26	Meng et al. (2011)
<i>Glassy carbon electrode modified with an MWNTC/polyaniline composite film and platinum nanoparticles</i>	2,0	Zhong et al. (2012)
<i>Glassy carbon electrode modified with single walled carbon nanotubes–manganese complex modified</i>	0,2	Salimi et al. (2011)
<i>Graphene wrapped Cu₂O nanocubes: Non-enzymatic electrochemical sensors for the detection of glucose AND hydrogen peroxide with enhanced stability</i>	3,3	Liu et al. (2013)

FONTE: dados obtidos nesta pesquisa

4. CONCLUSÃO

Pela primeira vez o VAS foi imobilizado pela técnica LbL e também em eletrodos de ITO. O VAS apresentou eletroatividade adsorvido em ITO apenas quando este foi previamente modificado pelo o ágar e a PAH. Um valor de corrente quase três vezes maior foi obtido quando os NTCs foram intercalados no filme, promovendo assim uma melhora no processo de transferência de cargas entre o VAS e o eletrodo, provavelmente devido a um mecanismo de química dinâmica constitucional presente no sistema proposto e, também devido às interações entre os elétrons π do VAS e dos NTCs.

Os diagramas de energia obtidos para os sistemas ágar/PAH/VAS e ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS mostraram que a presença dos NTCs na estrutura do filme melhora a eletroafinidade do VAS pelo eletrodo de ITO, sendo ainda que ambos os filmes mostraram-se promissores tanto para aplicações eletrônicas quanto para sensores eletroquímicos.

As curvas de crescimento dos filmes de ágar/PAH/VAS e ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS obtidas por UV-Vis indicaram que os nanotubos não influenciam consideravelmente na adsorção do VAS até a oitava tricamada, fomentando as hipóteses de que o aumento de corrente observado para o VAS foi devido a melhoria na transferência de cargas promovida pelo sinergismo dos materiais presentes no filme.

O filme de ITO/ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS exibiu rápida resposta catalítica para a detecção do H_2O_2 , alcançando um limite de detecção da ordem de $0,15 \mu\text{mol L}^{-1}$.

REFERÊNCIAS

ANTUNA-JIMÉNEZ D. M.; BLANCO-LÓPEZ M. C.; MIRANDA-ORDIERES A. J.; LOBO-CASTANÓN M. J. Artificial enzyme-based catalytic sensor for the electrochemical detection of 5-hydroxyindole-3-acetic acid tumor marker in urine. **Sensors and Actuators B: Chemical**. v. 220, p. 688-694, 2015.

ARAÚJO I. M. S.; ZAMPA M. F.; MOURA J. B.; SANTOS Jrº J. R. D. S.; EATON P.; ZUCOLOTTI V.; VERAS L. M. C.; de Paula R. C. M.; Feitosa JPA, Leite JRSA, C. 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**. v. 32, p. 1588-1593, 2012.

BA X; LUO L; DING Y; ZHANG Z; Chu Y; WANG B; OUYANG X. Poly(alizarin red)/Graphene modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of purine AND pyrimidine. **Analytica Chimica Acta**. v.752, p. 60-100, 2012.

BALL, V. Organic AND Inorganic Dyes in Polyelectrolyte Multilayer Films. **Materials**. v. 05, p. 2681-2704, 2012.

BARROS S. B. A.; LEITE C. M. D. S.; DE BRITO A. C. F.; SANTOS Jr J. R. D.; ZUCOLOTO 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. 01-10, 2012.

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

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, p. 115-119, 2001.

CHANG M. C. Y; PRALLE A; ISACOFF E. Y; CHANG C. J. A. Selective, Cell-Permeable Optical Probe for Hydrogen Peroxide in Living Cells. **J. Am. Chem. Soc.** v. 126, p. 15392- 15393, 2004.

CHEN H; ZHANG Z; CAI D; ZHANG S; ZHANG B; TANG J; WU Z. A hydrogen peroxide sensor based on Ag nanoparticles electrodeposited on natural nano-structure attapulgite modified glassy carbon electrode. **Talanta**. v. 86, p. 60-270, 2011.

CORDEIRO C. R. B, Marques A. L. B.; CARDOSO W. S.; ZHANG J. **Int. J. Electrochem.Sci**. v. 1, p. 343-353, 2006.

CRESPILHO F. N; ZUCOLOTO V; SIQUEIRA J. R; CARVALHO A. F. J; NART F. C; OLIVEIRA O. N. Using electrochemical data to obtain energy diagrams for layer-by-layer films from metallic phthalocyanines. **International Journal of Electrochemical Science**. v. 1, p. 151-159, 2006.

Da 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, p 649-660, 2009.

DAÍ H, PING SHIU K.K. Voltammetric behavior of alizarin red S adsorbed on electrochemically pretreated glassy carbonelectrodes. **Electrochimica Acta**. .v. 43, p. 2709-2715, 1998.

De MATTOS I. L; SHIRAISHI K. A; BRAZ A. D; FERNANDES J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. **Química Nova**. v. 25, p. 373-380, 2003.

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.

DEVI L. G.; MUNIKRISHNAPPA C.; NÁGARAJ B.; RAJASHEKHAR K. E (2013) Effect of chloride and sulfate ions on the advanced photo Fenton and modified photo Fenton degradation process of Alizarin Red S. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. p. 61-131, 2013.

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

DUTTA A. K; SUDIPTO DAS S; SAMANTA P. K; ROY S; ADHIKARY B; BISWAS P. Non-enzymatic amperometric sensing of hydrogen peroxide at a CuS modified electrode for the determination of urine H₂O₂. **Electrochimica Acta**. v, 144, p. 282-287, 2014.

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

ENSAFI, A. A. M; MOKHTARI A. M. M; REZAEI B. Electrochemical determination of hydrogen peroxide using copper/porous silicon based non-enzymatic sensor. **Sensors AND Actuators B: Chemical**. v. 196, p. 398-405, 2014.

FAOUZI A. M; NASR B; ABDELLATIF G. Electrochemical degradation of anthraquinone dye Alizarin Red S by anodic oxidation on boron-doped diamond. **Dyes AND Pigments**. v. 73, p. 86-89 2007.

FARIAS E. A. O; dos SANTOS M. C; DIONÍSIO N. A; QUELEMES P. V; LEITE J. R. S; EATON P, da 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 AND Engineering B**. v. 200, 9-21, 2015.

FERREIRA M.; FIORITO P. A.; Torresi S. I. C. D. Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared with the Layer-by-Layer (LbL) adsorption technique. **Biosensors AND Bioelectronics**. v. 19, p. 1611-1615, 2004.

GAO J.; YU J.; LU Q.; HE X.; YANG W.; PU L.; YANG Z. Decoloration of alizarin red S in aqueous solution by glow discharge electrolysis. **Dyes AND Pigments**. v. 76, p. 47-52, 2006.

GAO P; GONG Y; MELLOTT N. P; LIU D. Non-enzymatic amperometric detection of hydrogen peroxide using grass-like copper oxide nanostructures calcined in nitrogen atmosphere. **Sensors AND Actuators B: Chemical**. v. 196, p. 398-405, 2014.

GAYA U. I; ABDULLAH A. H. Heterogeneous photocatalytic degradation of organic contaminants over titanium dioxide: A review of fundamentals, progress and problems.

Journal of Photochemistry AND Photobiology C: Photochemistry Reviews. v. 9, p. 62-12, 2008.

GÖPEL W; ZIEGLER C. H; BREER H; SCHILD D; APFELBACH R; JOERGES J; MALAKA R. Bioelectronic noses: a status report. **Biosensors and Bioelectronics.** v.13, p. 479-493, 1998.

GRUCELA-ZAJAC M; FILAPE M; SKORKA L; BIJAK K; SMOLAREK K; MACKOWSKI S; SCHAB-BALCERZAL E. Photophysical, electrochemical and thermal properties of new (co)polyimides incorporating oxadiazole moieties. **Synthetic Metals.** v. 188, p. 161-174, 2014.

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

HABIBI, B; JAHANBAKHSI M; A novel nonenzymatic hydrogen peroxide sensor based on the synthesized mesoporous carbon AND silver nanoparticles nanohybrid. **Sensors and Actuators.** v. 203, p. 62-925, 2014.

HAN H; WU X; WU S; ZHANG Q; LU W; ZHANG H; PAN D. Fabrication of alizarin red S/multi-walled carbon nanotube nanocomposites and their application in hydrogen peroxide detection. **J Mater Sci.** v. 48, p. 3422-3427, 2013.

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

HUANG W.; LI X.; XUE Y, HUANG R.; DENG H.; MA Z. Antibacterial multilayer films fabricated by LBL immobilizing lysozyme and HTCC on nanofibrous mats. **International Journal of Biological Macromolecules.** v.53, p. 26-31, 2013.

HUANG S. Detection of Escherichia coli using CMOS array photo sensor-based enzyme biochip detection system. **Sensors AND Actuators B.** v. 133, p. 561-564, 2008.

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.

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

JIA J; WANG B; WU A; CHENG G; LI Z; DONG S. A Method to Construct a Third-Generation Horseradish Peroxidase Biosensor: Self-Assembling Gold Nanoparticles to Three-Dimensional Sol-Gel Network. **Anal.Chem.** v. 74, p. 2217-2223, 2002.

KARUPPIAHA C; PALANISAMYA S; CHENA S; VEERAMANI V; PERIAKARUPPANB P. A novel enzymatic glucose biosensor and sensitive non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on graphene and cobalt oxide nanoparticles

composite modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**. v. 196, p. 450-456, 2014.

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

KRAJEWSKA B. Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. **Enzyme AND Microbial Technology**. v. 35, p. 126-139, 2004.

KUDO T; HIRANO M; ISHIHARA T; SHIMURA S; TOTANI K. Glycopeptide probes for understanding peptide specificity of the folding sensor enzyme UGGT. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 24, p. 5563-5567, 2014.

LI X; WANG L; WU Q; CHEN Z; LIN X. Nonenzymatic hydrogen peroxide sensor based on Au-Ag nanotubes AND chitosan film. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 735, p. 23-57, 2014.

LIN X.; NI Y.; KOKOT S. Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants. **Analytica Chimica Acta**. v. 765, p. 63-62, 2013.

LIU T; LUO Y; WANG W; KONG L; ZHU J; TAN L. Non-enzymatic detection of hydrogen peroxide based on Fenton-type reaction on poly(azure A)-chitosan/Cu modified electrode. **Electrochimica Acta**. v. 182, p. 742-750, 2015.

LIU J; ZHOU D; LIU X; WU K; WAN C. Determination of kojic acid based on the interface enhancement effects of carbon nanotube/alizarin red S modified electrode. **Colloids AND Surfaces B: Biointerfaces**. v.70, p. 63-24, 2009.

LIU M; LIU R; CHEN W. Graphene wrapped Cu₂O nanocubes: Non-enzymatic electrochemical sensors for the detection of glucose and hydrogen peroxide with enhanced stability. **Biosensors AND Bioelectronics**. v. 45, p. 206-212, 2013.

LIU W; ZHANG H; YANG B; LI Z; LIE L; ZHANG X. A non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on vertical NiO nanosheets supported on the graphite sheet. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 749, p. 62-67, 2015.

LU X; ZHOU J; LU W; LIU Q; LI J. Carbon nanofiber-based composites for the construction of mediator-free biosensors. **Biosens. and Bioelectron**. v. 23, p. 1236-1243, 2008.

LUZ R. A. D. S.; MARTINS M. V. A.; MAGALHÃES J. L.; SIQUEIRA Jr^o J. R. S.; ZUCOLOTO V.; OLIVEIRA Jr^o O. N.; CRESPILO F. N.; DA SILVA W. C. Supramolecular architectures in layer-by-layer films of single-walled carbon nanotubes, chitosan and cobalt (II) phthalocyanine. **Materials Chemistry and Physics**.v. 130, p. 63-1077, 2011.

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

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 *Gracilariacorticata* (Gracilariaceae, Rhodophyta), **International Journal of Biol. Macromol.** v. 31, p. 87-95, 2002.

MENG F; YAN X; LIU J; GU J; ZOU Z. Nanoporous gold as non-enzymatic sensor for hydrogen peroxide. **Electrochimica Acta.** v. 56, p. 4657-4662, 2011.

MICARONI L. M; NART F. N; HÜMMELGEN I. H. Considerations about the electrochemical estimation of the ionization potential of conducting polymers. **Journal of Solid State Electrochemistry.** v. 7, p. 55-59, 2002.

MIHINDUKULASURIYA, S. D. F.; LIM, L.T. Nanotechnology development in food packaging: a review. **Trends in food Science & Technology.** v. 40, p. 149-167, 2014.

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

MOUCHREK FILHO V. E; ALDALÉA L. B; MARQUES A. L. B; ZHANG J. J, CHIERICE G.O. Complexation of Copper(II) with Alizarin Red S Adsorbed on a Graphite Electrode AND Its Possible Application in Electroanalysis. **Electroanaly.** v. 11, p. 1130-1136, 1999.

MOHAMMAD-SHAHID M.; SHAHID-UL-ISLAM. Recent advancements in natural dye applications: a review. **Journal of Cleaner Production.** v. 53, p. 64-331, 2013.

NAKANE Y.; KUBO I. Layer-by-layer of liposomes and membrane protein as a recognition element of biosensor. **Thin Solid Films.** v. 518, p. 64-681, 2009.

NARANG J; CHAUHAN N; PUNDIR C. S. A. Non-enzymatic sensor for hydrogen peroxide based on polyaniline, multiwalled carbon nanotubes and gold nanoparticles modified Au electrode. **Analyst.** v. 136, p. 4460-4466, 2011.

PATERNO L. G.; MATTOSSO L. H. C.; OLIVEIRA Jr^o O. N. D. Filmes Poliméricos Ultrafinos Produzidos pela Técnica de Automontagem: Preparação, propriedades e aplicação. **Química Nova.** v. 24, p. 228-235, 2000.

PARKES C. H. (2012) Creating colour in yarn: an introduction to natural dyes Industrial. **Crops AND Products.** v. 37, p. 408-414, 2012.

PEREIRA A.; ALVES S.; CASANOVA M.; ZUCOLOTTI V.; BECHTOLD I. H. The use of colloidal ferrofluid as building blocks for nanostructured layer-by-layer films fabrication. **Journal of Nanoparticle Research.** v. 12, p. 2779-2785, 2010.

PEREIRA C. F.; FERNANDES E. N.; MARQUES E. P.; MARQUES A.L. Potencialidades Analíticas Do Sistema Cu (II) - Amarelo De Alizarina R: Um novo

procedimento espectralfotométrico para determinação de Cu(II) no nível de micromolar e estudos de equilíbrios em solução. **Analytica**. v. 04, p. 53-58, 2003.

ROMIG Jr., BAKER A. B.; JOHANNES J.; ZIPPERIAN T, EIJKEL K.; BRUCE.; MANI H. S.; RAO C. N. R.; WALSH S. An introduction to nanotechnology policy: Opportunities AND constraints for emerging AND established economies. **Technological Forecasting & Social Change**. v. 74, p. 1634-1642, 2007.

ROOSTA M; GHAEDI M; MOHAMMADI M. Removal of Alizarin Red S by gold nanoparticles loaded on activated carbon combined with ultrasound device: Optimization by experimental design methodology. **Powder Technology**. v. 267, p. 65-144, 2014.

SALIMI A; MAHDIOUN M; NOORBAKHSH A; ABDOLMALEKI A; GHAVAMI R. A novel non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on single walled carbon nanotubes–manganese complex modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**. v. 56, p. 3387–3394, 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, p. 359-366, 2012.

SHU X; CHEN Y; YUAN H; GAO S; XIAO D. H₂O₂ Sensor Based on the Room-Temperature Phosphorescence of Nano TiO₂/SiO₂ Composite. **Anal.Chem**. v. 79, p. 3695-3702, 2007.

SOUSA M. F. B. Eletrodos quimicamente modificados aplicados à eletroanálise: uma breve abordagem. **Química Nova**. v. 20, p. 191-195, 1997.

SOUZA M. L; CORIO P. Surface-enhanced Raman scattering study of alizarin red S. **Vibrational Spectroscopy**. v. 54, p. 65-14, 2010.

SOUZA T. T. L.; MORAES M. L, FERREIRA M. Use of hemoglobin as alternative to peroxidases in cholesterol amperometric biosensors. **Sensors and Actuators**. v. 178, p. 65-106, 2013.

SONG M. J; HWANG S. W; WHANG D. Non-enzymatic electrochemical CuO nanoflowers sensor for hydrogenperoxide detection. **Talanta**. v. 80, p. 1648-1652, 2010.

THOMAS O; BURGESS C. UV-visible spectroscopy of water AND wastewater, Elsevier. **The Netherlands**. 2007.

TEXEIRA P. R. S; MARREIRO A. S. D. N; FARIAS E. A. D. O; DIONISIO N. A, SILVA FILHO E. C; EIRAS C. Layer-by-layer hybrid films of phosphate cellulose AND electroactive polymer as chromium (VI) sensors. **J Solid State Electrochem**. v. 19, p. 2129-2139, 2015.

WANG L; WANG E. A novel hydrogen peroxide sensor based on horseradish peroxidase immobilized on colloidal Au modified ITO electrode. **Electrochemistry Communications**. v. 6, p. 225-229, 2004.

WANG Y.; HOSTA-RIGAU L.; LOMAS H.; CARUSO F. (2011) Nanostructured polymer assemblies formed at interfaces: applications from immobilization and encapsulation to stimuli-responsive release. *Citethis. Phys. Chem. Chem. Phys.* v. 13, p. 4782-4801, 2011.

WUYTENS P.; PARAKHONSKIY B.; YASHCHENOK A.; WINTERHALTER M.; SKIRTACH A. Pharmacological aspects of release from microcapsules from polymeric multilayers to lipid membranes. **Current Opinion in Pharmacology**. v. 18, p. 129-140, 2014.

YAGATI A. K; LEE T; MIN J; CHOI J. (2013) An enzymatic biosensor for hydrogen peroxide based on CeO₂ nanostructure electrodeposited on ITO surface. **Biosensors AND Bioelectronics**. v. 47, p. 385-390, 2013.

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

YUAN-YUAN J; KUN W. K; CHONG-ZHENG XU; XIAO-DI YANG; LI H. Application of Alizarin/Graphene-Chitosan Modified Electrode on Detection of Human Telomere DNA. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**. v. 41, p. 481-487, 2013.

ZAMPA M. F; BRITO A. C. F; KITAGAWA I. L; CONSTANTINO C. J. L; OLIVEIRA JR O. N; CUNHA H. N; ZUCOLOTTO V; SANTOS JR J. R. C. **Biomacromolecules**. v. 8, p. 3408, 2007.

ZUCOLOTTO V, FERREIRA M, CORDEIRO M. R, CONSTANTINO C. J. L, MOREIRA W. C, OLIVEIRA Jr^o O. N. Nanoscale manipulation of polyaniline and phthalocyanines for sensing applications. **Sens. Actuators B**. v. 113, p. 809-815, 2006.

ZHANG J; LI X; JING TIAN; LU Y; SHI X; ZHAN Y; DU Y; LIU H; DENG H. Antimicrobial activity AND cytotoxicity of nanofibrous mats immobilized with polysaccharides-rectorite based nanogels. **Colloids AND Surfaces B: Biointerfaces**. v. 133, p. 370-377, 2015.

ZHANG S. P, SHAN L. G.; TIAN Z. R.; ZHENG Y, SHI L. Y.; ZHANG D. S. Study of enzyme biosensor based on carbon nanotubes modified electrode for detection of pesticides residue. **Chinese Chemical Letters**. v. 19, p. 592-594, 2008.

ZHANG X.; WEI Y.; DING Y. (2014) Electrocatalytic oxidation AND voltammetric determination of ciprofloxacin employing poly(alizarin red)/graphene composite film in the presence of ascorbic acid, uric acid and dopamine. **Analytica Chimica Acta**. v. 835, p. 36-55, 2014.

ZHONG H; YUAN R; CHAI Y; ZHANG Y; WANG C; JIA F. Non-enzymatic hydrogen peroxide amperometric sensor based on a glassy carbon electrode modified

with an MWNTC/polyaniline composite film and platinum nanoparticles. **Microchimica Acta**. v. 176, p. 389-395, 2012.

ZUCOLOTTO V.; STRACK P. J.; SANTOS F. R.; BALOGH D. T.; CONSTANTINO C. J. L.; MENDONÇA C. R.; OLIVEIRA Jr^o O. N. Molecular engineering strategies to control photo-induced birefringence and surface-relief gratings on layer-by-layer films from an azopolymer. **Thin Solid Films**. v. 453, p. 110-113, 2004.

MATERIAL SUPLEMENTAR

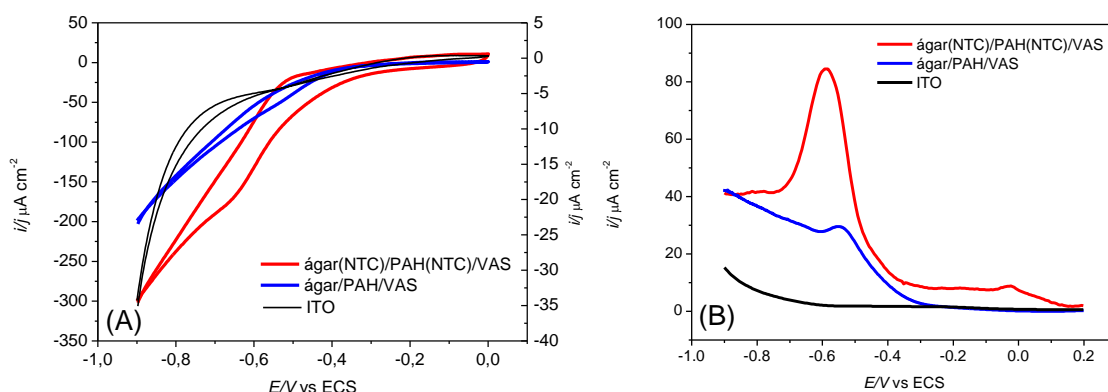


Fig. S1. Voltamogramas (A) Cíclicos e (B) de Pulso diferencial mostrando a influência dos NTCs na resposta dos filmes desenvolvidos sob o uso do ágar.

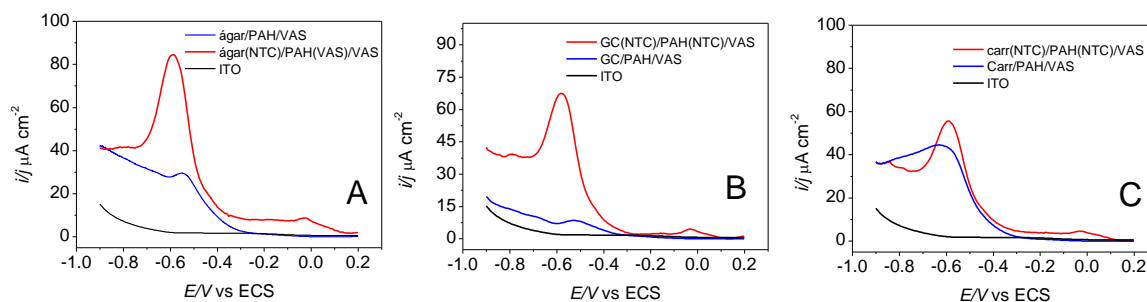


Fig. S2. Voltamogramas de Pulso diferencial mostrando a influência dos NTCs na resposta dos filmes desenvolvidos sob o uso do ágar (A), da goma do cajueiro (B) e a carragenana (C).

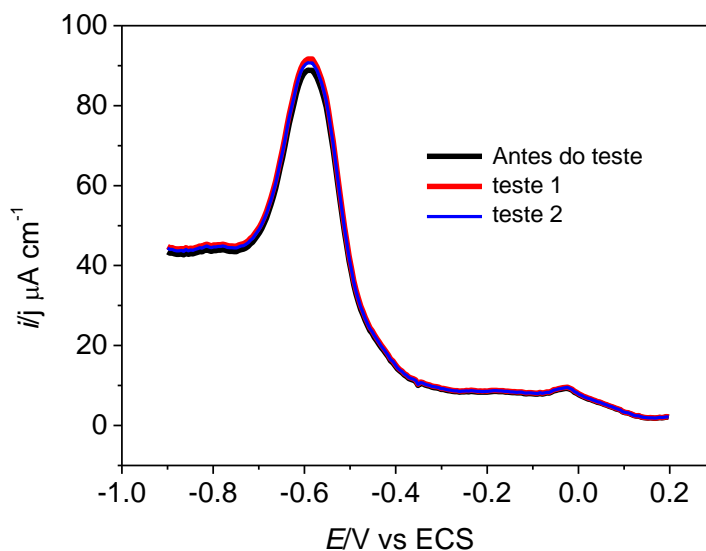


Fig. S3. Durabilidade Teste de sensor. A linha preta mostra a resposta do ágar (NTC) / PAH (NTC) / VAS antes do contato com H_2O_2 . Linhas vermelhas e azuis mostram a resposta do eletrodo após sucessivos contactos com H_2O_2 . Para ambos os ensaios, o eletrodo foi submetido a um potencial de -0,5 V vs ECS, na presença de H_2O_2 a 8,0 mmol L⁻¹ durante 5 minutos.

CAPÍTULO 03

“PLATAFORMA SENSORA À BASE DE CORANTES E POLISSACARÍDEOS”

Solicitação do Pedido de Patente junto ao NINTEC/UFPI, e encontra-se em análise.

(Ver Anexo).

CONCLUSÃO

Atualmente, os estudos sobre o desenvolvimento de novos materiais tem sido crescente no desenvolvimento de sensores e biossensores eletroquímicos, o que impulsiona a pesquisa nessa área, buscar materiais naturais, por serem abundantes na natureza, de baixo custo, além de suas propriedades mecânicas.

Inicialmente, para conhecer a originalidade desse trabalho, foi realizado um estudo prospectivo a partir dos artigos científicos e patentes depositadas os quais abordassem as palavras-chave relacionadas ao desenvolvimento de filmes finos empregando corante na construção de sensores eletroquímicos.

Inicialmente, para conhecer a originalidade desse trabalho, foi realizado estudo prospectivo a partir dos artigos científicos e patentes depositadas os quais abordassem as palavras-chave relacionadas ao desenvolvimento de filmes finos empregando corante na construção de sensores eletroquímicos.

A pesquisa com o uso de corante, por exemplo, o Vermelho de Alizarina S (VAS) na construção de filmes finos, do tipo *Layer-by-Layer* (LbL), como plataforma para sensores eletroquímicos para detecção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) é inovador até o presente momento, visto que não foram encontradas patentes e nem artigos científicos nas bases pesquisadas.

No que se refere à parte experimental da pesquisa, o VAS foi imobilizado em eletrodos de ITO pela técnica *LbL* de automontagem. A formação do filme de VAS sobre ITO foi possível a partir da conjugação do corante com os polímeros ágar e PAH, além dos nanotubos de carbono de parede simples (NTC), que possibilitou aumentar o sinal eletroquímico do sistema *LbL*.

Os filmes foram desenvolvidos em arquitetura de tricamadas de ágar/PAH/VAS e ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS, no entanto, os NTCs intercalados no filme promoveu uma melhora no processo de transferência de cargas entre o VAS e o eletrodo, otimizando o filme nesse estudo.

O filme de ágar(NTC)/PAH(NTC)/VAS, foram caracterizados por VPD, UV-VIS e MEV, além de ser testado para detecção do H₂O₂. Sob potencial constante de -0,5 V vs SCE, o filme exibiu rápida resposta para a redução de H₂O₂ e o limite de detecção encontrado foi 0,15 µmol L⁻¹.

Finalmente foi solicitado junto ao NINTEC/UFPI um pedido de Patente “Plataforma Sensora a Base de Corantes e Polissacarídeos”, e encontra-se em análise.

ANEXOS

CAPA SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO PESQUISA ATUAL
ANTERIORES NOTÍCIAS ##API##


TAMANHO DE FONTE

Capa > Usuário > Autor > Submissões > #994 > Avaliação

#994 AVALIAÇÃO



RESUMO AVALIAÇÃO EDIÇÃO

SUBMISSÃO

Autores Msc. MARIA DE FÁTIMA CARDOSO SOARES, Msc. EMANUEL AIRTON OLIVEIRA FARIAS, Dr^a CARLA EIRAS 

Título FILMES FINOS CONTENDO O CORANTE VERMELHO DE ALIZARINA S PARA APLICAÇÕES EM SENSORES DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO: UMA PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA

Seção Prospecção Tecnológica

Editor Robelius De Bortoli  (Avaliação)
João Antonio dos Santos  (Avaliação)

IDIOMA

Português (Brasil) ▼

USUÁRIO

Logado como:

mdfedan

Meus periódicos

Perfil

Sair do sistema

CONTEÚDO DA REVISTA

Pesquisa

Todos ▼

Pesquisar

Procurar

Por Edição

Por Autor

Por título

Outras revistas

AVALIAÇÃO

RODADA 1

Versão para avaliação 994-4135-1-RV.DOC 2016-08-25



Iniciado 2016-09-03

Última alteração 2017-02-28

Arquivo enviado Avaliador C 994-4471-1-RV.DOC 2017-02-28
Avaliador A 994-4226-1-RV.DOC 2016-10-19

DECISÃO EDITORIAL

Decisão Revisões requeridas 2017-03-26

Notificar editor  Comunicação entre editor/autor  2017-03-26

Versão do editor Nenhum(a)

Versão do autor Nenhum(a)

Transferir Versão do Autor Nenhum arquivo selecionado

ISSN: 2237-0722

A REVISTA GEINTEC possui D.O.I e está cadastrada nos sistemas:





Development and characterization of hybrid films based on agar and alizarin red S for applications as non-enzymatic sensors for hydrogen peroxide

Maria de Fátima Cardoso Soares^{1,2}, Emanuel Airton de Oliveira Farias¹, Durcilene Alves da Silva^{1,3}, and Carla Eiras^{1,3,*}

¹Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia, BIOTEC, Campus Ministro Reis Velloso, CMRV, Universidade Federal do Piauí, UFPI, Parnaíba, Brazil

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, IFPI, Campus Parnaíba, Parnaíba, PI 64210260, Brazil

³Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados, LIMAV, CCN, UFPI, Teresina, PI 64049-550, Brazil

Received: 7 January 2016

Accepted: 5 April 2016

© Springer Science+Business Media New York 2016

ABSTRACT

For the first time, the dye alizarin red S (ARS) was immobilized on indium tin oxide (ITO) electrodes via a layer-by-layer technique (LbL). This was achieved only when ARS was interspersed with the polymers agar (extracted from seaweed *Gracilaria birdiae*) and PAH [poly(allylamine hydrochloride)]. ARS alone did not show electroactivity when adsorbed onto ITO. Single-walled carbon nanotubes (functionalized with COOH, denoted CNTs) were used to increase the electrochemical signal of the LbL system. Interactions at the molecular level between the CNTs and other materials used in the construction of the films accounted for a threefold increase in the current signal of ARS. The films were developed as trilayer films of agar/PAH/ARS or agar(CNT)/PAH(CNT)/ARS and characterized by differential pulse voltammetry (DPV) and UV-visible spectroscopy and scanning electron microscopy. From the results, it was also possible to calculate the energy diagram for both films. The results showed that the films are promising for applications as electrochemical sensors. Accordingly, the agar(CNT)/PAH(CNT)/ARS film was tested for the reduction of hydrogen peroxide (H₂O₂). Under a constant potential of -0.5 V versus SCE (saturated calomel electrode), the film exhibited a rapid response for the reduction of peroxide (less than 5 s), and the current stabilized approximately at 30 s. The limit of detection for the amperometric sensor was approximately 0.15 μmol L⁻¹.

Address correspondence to E-mail: carla.eiras.ufpi@gmail.com

DOI 10.1007/s10853-016-9958-8

Published online: 02 May 2016

Springer



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE INOVAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Setor de Convivência L09 e L10
Bairro Ininga CEP: 64049-550 - Teresina-PI Fone/Fax (86)3237-1638

DECLARAÇÃO

Requerente: MARIA DE FÁTIMA CARDOSO SOARES. CPF: 016.171.693-82

Título do Projeto: "PLATAFORMA SENSORA À BASE DE CORANTES E POLISSACARÍDEOS"

Data de Entrada no NINTEC: 21/10/2016.

O Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia – NINTEC , órgão à Universidade Federal do Piauí, através deste instrumento, declara para as finalidades de direito, a pedido do interessado, que se encontra em nosso poder solicitação para depósito de pedido de PATENTE de autoria do(a) Requerente supra nominado(a) e seu respectivo título, também cima descrito, o(a) qual está em fase de análise dos requisitos necessários à sua formalização junto ao INPI – Instituto Nacional de Propriedade Industrial.

Informamos ainda que para a consecução da postulação pretendida, o objeto deste pleito deve necessariamente atender às seguintes fases:

- a) pré-análise à patenteabilidade da criação;
- b) busca de anterioridade para verificação do estado da técnica;
- c) envio do resultado da busca de anterioridade, juntamente com cópias de pedido já requerido no Brasil e em outros países, bem como orientações para a redação do pedido de patente (AN 127/1997 – INPI);
- d) solicitação de pagamento das taxas de depósito e abertura de processo no Protocolo Geral para depósito de pedido;
- e) apreciação e assinatura da Reitoria da UFPI.
- f) encaminhamento da documentação ao INPI para depósito.

Salientamos ainda que, para cada fase acima descrita, é necessário tempo hábil para as respostas, a fim de cumprir com fidelidade e segurança a pretensão perquerida.

Por ser verdade, firmo a presente.

Teresina (PI), 31 de outubro de 2016.

Prof. Dr.ª Maria Rita de Moraes Chaves Santos
Coordenadora do Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da UFPI