

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
MESTRADO EM QUÍMICA

LEONARDO CARVALHO SOARES

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DE GLI-
COSE USANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA ASSISTIDA POR
FOTOELETROQUÍMICA**

São Luís

2019

LEONARDO CARVALHO SOARES

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DE GLI-
COSE USANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA ASSISTIDA POR
FOTOELETROQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação de Química da Universidade Federal
do Maranhão para a obtenção do título de Mestre
em Química.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Santos Damos.

São Luís

2019

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Carvalho Soares, Leonardo.

DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DE GLICOSE USANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA ASSISTIDA POR FOTOELETROQUÍMICA / Leonardo Carvalho Soares. - 2019.

73 f.

Orientador(a): Flávio Santos Damos.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

1. Análise por injeção em batelada. 2. Glicose. 3. Hidróxido de Níquel ($\text{Ni}(\text{OH})_2$). 4. Óxido cuproso (Cu_2O). 5. Sensor fotoeletroquímico. I. Santos Damos, Flávio.

II. Título.

LEONARDO CARVALHO SOARES

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA PARA DETERMINAÇÃO DE GLI-
COSE USANDO ANÁLISE POR INJEÇÃO EM BATELADA ASSISTIDA POR
FOTOELETROQUÍMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação de Química da Universidade Federal
do Maranhão para a obtenção do título de Mestre
em Química.

Aprovada em: 22/03/2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Flávio Santos Damos (Orientador-UFMA)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof. Dr. Iranaldo Santos da Silva (UFMA)
Universidade Federal do Maranhão-UFMA

Prof^a. Dr^a. Adriana Barbosa Araújo (IFMA)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão-IFMA

“Dedico este trabalho a todas aquelas eternas crianças que estão cumprindo, ou cumpriram, o sonho de ser cientista”.

AGRADECIMENTOS.

Ao professor Dr. Flávio Santos Damos pela orientação deste trabalho, aprendi muito com este grande professor e pesquisador, e vejo que tenho ainda muito que aprender.

Agradeço aos meus pais Itamar do Nascimento Soares e Jucinea Silva Carvalho Soares pelo apoio emocional e moral durante a minha jornada desde o meu nascimento até a presente data.

Agradeço também aos meus colegas de laboratório pelos momentos em grupo e pelo aprendizado, todos contribuíram um pouco.

A Wherllem Trajano Reis por ter estado ao meu lado sempre que precisei nestes últimos quatro anos, me apoiando e me dando forças nos momentos mais difíceis (meu psicólogo amador pessoal).

E a todos os docentes da UFMA que fizeram parte diretamente da minha formação acadêmica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão “FAPEMA” (PRONEM – 00155/16, UNIVERSAL – 01194/17 E INFRA – 03186/18), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior “CAPES” (UNIVERSAL – 421139/2016-1) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico “CNPq” (Produtividade em pesquisa 303525/2016-9) pelo fomento financeiro para o desenvolvimento deste trabalho. À Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e ao Programa de Pós Graduação em Química (PPGQuim - UFMA) pelo curso de mestrado em química.

RESUMO.

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um novo método para a detecção de glicose explorando uma célula de análise por injeção em batelada assistida por fotoeletroquímica, projetada e construída com auxílio de tecnologia de impressão 3D. A célula BIA foi acoplada a uma lâmpada LED para controlar a incidência de luz na plataforma fotoeletroativa $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. As características eletroquímicas da plataforma fotoeletroativa $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ foram avaliadas por voltametria cíclica, amperometria e espectroscopia de impedância eletroquímica. A célula PEC-BIA apresentou faixa de resposta linear, limite de detecção e sensibilidade de 1 - 1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$, 0,59 $\mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O método PEC-BIA apresentou um valor médio de recuperação de 97,0% a 102,0% quando aplicado à determinação de glicose em amostras de plasma sanguíneo artificial, o que indica desempenho promissor do sistema proposto para determinação de glicose.

Palavras chave: Sensor fotoeletroquímico; Glicose; Análise por injeção em batelada; Óxido cuproso (Cu_2O); Hidróxido de Níquel ($\text{Ni}(\text{OH})_2$).

ABSTRACT

This work describes the development of a novel method for glucose detection exploiting a photoelectrochemical-assisted batch injection analysis cell designed and constructed with aid of 3D printer technology. The PEC-BIA cell was coupled to a LED lamp in order to control the incidence of light on the $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ photoelectroactive platform. The electrochemical characteristics of $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ photoelectroactive platform were evaluated by cyclic voltammetry, amperometry and electrochemical impedance spectroscopy. The PEC-BIA cell presented linear response range, limit of detection and sensitivity of $1 - 1000 \mu\text{mol L}^{-1}$, $0.59 \mu\text{mol L}^{-1}$ and $0.578 \mu\text{A L} \mu\text{mol}^{-1}$, respectively. The PEC-BIA method has presented a mean value of the recovery values of 97.0 % to 102.0% when it was applied to glucose determination in artificial blood plasma samples which indicates the promising performance of the proposed system to determine glucose.

Keywords: Photoelectrochemical sensor; glucose; Batch injection analysis; Cuprous oxide (Cu_2O); Nickel Hydroxide ($\text{Ni}(\text{OH})_2$).

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1 - Esquema dos componentes de um sistema FIA <i>wall-jet</i> com detecção eletroquímica e válvula de amostragem de deslizamento central (injetor). <i>ES</i> = eletrólito de suporte; <i>EA</i> = eletrodo auxiliar; <i>ET</i> = Eletrodo de trabalho; <i>ER</i> = eletrodo de referência. Adaptado de (OLIVEIRA, <i>et al.</i> , 2011).	14
Figura 2 - Esquema de um sistema SIA com detecção eletroquímica em <i>wall-jet</i> . <i>EA</i> , <i>ET</i> , e <i>ER</i> são os eletrodos auxiliar, de trabalho e de referência, <i>ES</i> = eletrólito de suporte. Adaptado de: (STADEN, MASHAMBA e STEFAN, 2002).	15
Figura 3 – Esquema em corte transversal de uma célula BIA convencional com detector eletroquímico. <i>a</i> - eletrodo referência; <i>b</i> - injetor; <i>c</i> - contra eletrodo; <i>d</i> - célula BIA; <i>e</i> - eletrólito suporte e <i>f</i> - eletrodo de trabalho. Fonte: (CHEN, WANG e ANGNES, 1991).	16
Figura 4 - Etapas de operação de células BIA com detecção amperométrica. <i>a</i> - antes da injeção; <i>b</i> - transporte de fluido durante a injeção; <i>c</i> - fim da injeção e diluição da alíquota e <i>d</i> - equilíbrio final. Adaptado de (QUINTINO e ANGNES, 2004).	18
Figura 5 - Ilustração da estrutura de bandas de materiais. <i>a</i> - condutores, <i>b</i> - semicondutores e <i>c</i> - isolantes. Fonte: próprio autor.	20
Figura 6 - Ilustração da posição do nível de Fermi para semicondutores. <i>a</i> – intrínsecos, e extrínsecos <i>b</i> - tipo- <i>p</i> e <i>c</i> - tipo- <i>n</i> . Fonte: próprio autor.	21
Figura 7 - Estruturas cristalinas idealizadas do hidróxido de níquel. <i>a</i>) β – $\text{Ni}(\text{OH})_2$ e do <i>b</i>) α – $\text{Ni}(\text{OH})_2$. Adaptado de (HALL, LOCKWOOD, <i>et al.</i> , 2015).	23
Figura 8 - Representação da estrutura da célula unitária cúbica de corpo centrado do Cu_2O . Adaptado de (GAO, PANG, <i>et al.</i> , 2015).	24
Figura 9 - Esquema dos processos eletrônicos pós-excitação: <i>a</i>) recombinação, <i>b</i>) concomitante processo anódico e <i>c</i>) concomitante processo catódico. Fonte: próprio autor.	26
Figura 10 - Exemplo de um voltamograma. Fonte: próprio autor.	28

Figura 11 - Biagramas e configuração de pulso de potencial característicos. <i>a)</i> e <i>d)</i> – amperometria convencional; <i>b)</i> e <i>e)</i> – pulsada; <i>c)</i> e <i>f)</i> múltiplos pulsos Adaptado de (TORMIN, GIMENES, <i>et al.</i> , 2011).	30
Figura 12 – <i>a)</i> exemplo de um gráfico de Nyquist exibindo o comportamento dos principais processos; <i>b)</i> ilustração da composição do eletrólito na superfície do eletrodo e <i>c)</i> circuito simplificado de Randles. (C_{dc} = capacitância de dupla camada, R_{tc} e R_{Ω} são, respectivamente, as resistências a transferência de carga e do eletrólito. Fonte: próprio autor.	32
Figura 13 - Exemplo de um gráfico de Mott-Schottky para um semicondutor tipo "p", com as equações dos coeficientes linear e angular. Adaptado de (GELDERMAN, LEE e DONNE, 2007)	33
Figura 14 - Esquema em corte transversal da célula PEC-BIA. <i>a</i> - eletrodo auxiliar; <i>b</i> - eletrodo de referência; <i>c</i> - injetor; <i>d</i> - fotoeletrodo; <i>e</i> - fonte de luz LED e <i>f</i> - janela de vidro. Fonte: próprio autor.	37
Figura 15 - Espectro Raman do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. Fonte: Próprio autor.	39
Figura 16 – Voltamogramas cíclicos para eletrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$, $\text{Cu}_2\text{O}/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. Dados obtidos em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Fonte: próprio autor.	40
Figura 17 – Gráficos de Nyquist ($-Z_{\text{imaginário}}$ vs Z_{real}) para o fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ na ausência e presença de luz. Dados obtidos $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ ($\sim 298 \text{ K}$), OCP (Fonte: próprio autor).	42
Figura 18 - Gráficos de Bode-Fase para $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ e para $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. Dados obtido em solução aquosa Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de luz. Fonte: próprio autor.	43
Figura 19 - Gráfico de Mott-Schottky (C^{-2} vs V_{ap}). $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. Dados obtidos em solução aquosa $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH . Fonte: Próprio autor.	44
Figura 20 - Voltamogramas cíclicos do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para oxidação de glicose. Dados obtidos em solução aquosa NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; 500 mmol L^{-1} glicose	

0,1 mol L⁻¹ NaOH, a 50 mV s⁻¹, na ausência e na presença de luz. Fonte: próprio autor. 46

Figura 21 - Gráficos de Nyquist para avaliação da oxidação de glicose na superfície de: a) Cu₂O/FTO, Ni(OH)₂/FTO e Cu₂O/Ni(OH)₂/FTO. b) avaliação do efeito da luz no processo de oxidação. Dados obtidos em glicose 0,1 mol L⁻¹ NaOH 0,1 mol L⁻¹, OCP na faixa de frequências de 100 kHz a 100 mHz. Fonte: próprio autor. 48

Figura 22 - Esquema proposto para a fotoeletrooxidação de glicose na superfície do fotoeletrodo Cu₂O/Ni(OH)₂/FTO. Fonte: próprio autor..... 50

Figura 23 – a) Biagrama para injeções de glicose em múltiplas concentrações b) gráfico Corrente vs concentração de glicose. Dados obtidos em NaOH 0,1 mol L⁻¹, sob potencial aplicado 0,5 V. Fonte: próprio autor. 51

Figura 24 – Biagramas de quantificação de glicose na PEC-BIA com o fotoeletrodo Cu₂O/Ni(OH)₂/FTO: a) na ausência e b) presença de luz. Sob potencial de 0,5 V na ausência (preto) e na presença (vermelho) de excitação por luz. Fonte: próprio autor. 52

Figura 25 - Curvas de calibração para quantificação de glicose na célula PEC-BIA. Dados adquiridos sob potencial aplicado de 0,5 V vs Ag/AgCl/KCl_(sat) na ausência (preta) e na presença (vermelha) de excitação por luz. Fonte: próprio autor..... 53

Figura 26 - Teste de repetitividade de sinal de corrente do Cu₂O/Ni(OH)₂/FTO na célula PEC-BIA. Dados obtidos para múltiplas injeções de 25 µL de glicose 100 µmol L⁻¹, sob potencial de 0,50 V. Fonte: próprio autor..... 55

Figura 27 – Biagramas de ensaios de interferentes. Dados obtidos sob potencial 0,5 V, na presença de luz para ureia, epinefrina, ácido úrico e ácido ascórbico. Fonte: próprio autor. 57

ÍNDICE DE TABELAS.

Tabela 1 - Composição química do plasma humano artificial. Adaptado de: (LIU, QIU, <i>et al.</i> , 2006).....	37
Tabela 2 - N_d e V_{bp} dos sensores $Ni(OH)_2/FTO$ e $Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$. Fonte: próprio autor.	46
Tabela 3 - Dados de resistências e capacitâncias obtidos por simulação ajustado aos dados reais. Fonte: próprio autor.	49
Tabela 4 - Teste de recuperação para determinação de glicose em amostras de plasma humano artificial. Fonte: próprio autor.	54
Tabela 5 - Concentrações das espécies usadas nos testes de interferência. adaptado de (KREBS, 1950).	56
Tabela 6 - Níveis de interferencia para as espécies selecionadas. Fonte: próprio autor.	56

LISTA DE ABREVIATURAS.

OCP – Potencial de Circuito Aberto (*open circuit potential*)

EIS – Espectroscopia de impedância eletroquímica (*Electrochemical Impedance Spectroscopy*).

VC – Voltametria Cíclica.

FTO – Óxido de estanho dopado com fluoreto (*fluorine doped thin oxid*).

LED – Diodo emissor de luz (*light-emitting diode*).

M-S – Mott-Schottky.

PEC – Fotoeletroquímica. (*photoelectrochemistry*).

PEC-BIA – Análise por injeção em batelada assistida por fotoeletroquímica (*photoelectrochemical batch injection analysis*).

BIA – Análise por injeção em batelada (*batch injection analysis*).

FIA – Análise por injeção em fluxo (*Flow injection analysis*).

SIA – Análise por injeção sequencial (*Sequential injection analysis*).

e^- - Elétron.

h^+ - Lacuna.

Φ – Função trabalho.

ϵ_0 – Permissividade elétrica do vácuo.

e_0 – Carga elementar.

N_d – Número de doadores.

V_{bp} – Potencial de banda plana.

V – Potencial elétrico.

k – Constante de Boltzmann.

T – Temperatura absoluta.

Q – Elemento de fase constante.

B_v – Banda de valência.

B_c – Banda de Condução.

E_v – Energia da banda de valência.

E_c – Energia da banda de Condução.

E_F – Energia do nível de Fermi.

E_g – Energia de gap.

eV – elétrons-Volt.

R_{ct} – Resistência à transferência de cargas.

R_Ω – Resistência eletrolítica.

ϕ – Ângulo de fase.

χ – Afinidade eletrônica.

PAD – Detecção por amperometria pulsada (*Pulsed amperometric detection*).

MPA – Amperometria de múltiplos pulsos (*Multiple pulse amperometry*)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	9
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1.	Glicose como biomarcador para o diagnóstico de Diabetes Mellitus	11
2.2.	Sistemas de análise auxiliados por injeção de amostra e detecção eletroquímica.	13
2.2.1.	Análise por Injeção em Fluxo (FIA).	13
2.2.2.	Análise por Injeção Sequencial (SIA).	14
2.2.3.	Análise por Injeção em Batelada (BIA).	15
2.3.	Semicondutores.....	19
2.4.	Óxidos e Hidróxidos metálicos semicondutores com fases eletrofotativas. 22	
2.4.1.	Hidróxido de níquel – Ni(OH) ₂	22
2.4.2.	Óxido Cuproso – Cu ₂ O.....	23
2.5.	Sensores fotoeletroquímicos.....	24
3.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	27
3.1.	Voltametria Cíclica.	27
3.2.	Amperometria.	29
3.3.	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.	30
4.	OBJETIVOS.	34
4.1.	Objetivo geral.	34
4.2.	Objetivos específicos.	34
5.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
5.1.	Soluções e Reagentes.	35
5.2.	Instrumentação.....	35
5.3.	Construção do sensor fotoeletroquímico Cu ₂ O/Ni(OH) ₂ /FTO.....	35
5.4.	Construção da célula Fotoeletroquímica de Análise por Injeção em Batelada (PEC-BIA)	36
5.5.	Preparo do plasma humano artificial.....	37
5.6.	Preparo de amostras para análises por injeção em batelada.	38
5.7.	Configuração da célula eletroquímica para estudos por voltametria cíclica e impedância eletroquímica.	38
5.8.	Condições de operação da célula PEC-BIA.....	38

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	39
6.1. Caracterização eletroquímica do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$	39
6.1.1. Caracterização por espectroscopia Raman.....	39
6.1.2. Caracterização por voltametria cíclica.	40
6.1.3. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS).	41
6.1.4. Oxidação fotoeletrocatalítica de glicose na superfície do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$	46
6.2. Comportamento mimético do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para quantificação de glicose.	50
6.3. Desempenho do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para quantificação de glicose em célula de Análise por Injeção em Batelada assistida por fotoeletroquímica (PEC-BIA).	52
6.3.1. Aplicação em amostras de plasma artificial.	54
6.4. Teste de estabilidade e repetitividade do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$	55
6.5. Ensaios de seletividade do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para amostras de plasma humano.	56
7. CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS	59
Anexo – A.....	72

1. INTRODUÇÃO

A química analítica moderna está em constante desenvolvimento científico e tecnológico a fim atender as mais diferentes áreas de interesse no que tange a detecção e quantificação de átomos, moléculas ou íons no âmbito ambiental, clínico, alimentício, farmacêutico, biológico, industrial e químico. Par tal fim, vários métodos baseados em sistemas espectroscópicos e cromatográficos têm sido predominantemente explorados atualmente (ARMENTA, GARRIGUES e GUARDIA, 2008).

Porém, um grande número de métodos que exploram sistemas espectroscópicos e cromatográficos sofrem de várias desvantagens como alto custo operacional, grande tempo e complexidade no processo de análise e requererem reagentes ultrapuros.

Os métodos eletroquímicos têm atraído bastante atenção nas últimas décadas em virtude das muitas vantagens frente a outras técnicas incluindo sua baixa complexidade operacional, baixo custo e portabilidade de forma a se apresentaram como interessantes ferramentas para aplicações *in situ*, *on line* e *in vivo* (JADON, JAIN, *et al.*, 2016).

Contudo independente da técnica aplicada, é necessário que os dados fornecidos sejam confiáveis no que concerne sua repetitividade e reprodutibilidade de forma que a automação se apresenta como uma boa ferramenta para diminuir as variações causadas por operadores (QUINTINO e ANGNES, 2004).

Neste sentido, as técnicas eletroanalíticas podem ser auxiliadas por sistemas de injeção mecanizadas em fluxo (FIA), sequenciais (SIA) e em batelada (BIA). Dentre estes métodos de injeção, a injeção em batelada agrega características bastante atrativas incluindo a necessidade de pequenos volumes de amostra bem como não exigirem uso de bombas, válvulas e tubulações permitindo maior simplicidade e maior versatilidade para as mais diferentes aplicações (QUINTINO e ANGNES, 2004).

Na última década os sistemas que exploram radiação eletromagnética como fonte de energia para produção de sinal elétrico envolvendo processos químicos (sistemas fotoeletroquímicos) têm passado por uma constante evolução de forma a serem

requisitados em diferentes áreas tais como a geração de energia, produção de combustíveis e no desenvolvimento de sistemas de detecção (WANG, XU e CHEN, 2009).

Neste contexto, a combinação entre sistemas de análise por injeção em batelada e sistemas fotoeletroquímicos mostra-se uma ferramenta promissora no desenvolvimento de métodos de detecção/quantificação, de espécies de interesse com de forma sensível, seletiva e reprodutível .

Adicionalmente, a glicose é uma das principais biomoléculas para o qual são desenvolvidos sistemas analíticos de quantificação. Tal interesse encontra-se no fato desta estar presente em vários meios reacionais, inclusive em organismos vivos, desempenhando várias funções incluindo a produção de energia. Em humanos o descontrolo da concentração desta molécula está intrinsecamente associado ao quadro clínico de diabetes, problema que afeta cerca de 8,5 % da população mundial (O.M.S, 2016).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Glicose como biomarcador para o diagnóstico de Diabetes Mellitus*

Biomarcadores, acrônimo de marcadores biológicos, são um conjunto de moléculas ou células encontradas em fluidos e/ou tecidos corporais que indiquem características de processos biológicos normais, anormais ou de doenças que podem ser medidas de forma precisa e reprodutível, que possam servir para indicar o quadro clínico, respostas a tratamento ou estágios de uma doença (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP, 2001). Neste sentido, biomarcadores quantificáveis em amostras que não exijam procedimentos invasivos como urina, saliva, suor ou lágrima se ou pouco invasivo como o sangue apresentam como excelentes espécies de monitoramento auxiliar diagnóstico e prognóstico (STRIMBU e TAVEL, 2010).

Atualmente são conhecidos alguns biomarcadores e disfunções biológicas para o diagnóstico de diabetes, como é o caso da hemoglobina glicosilada (Hb1Ac); glicose plasmática, (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014); alteração do endotélio vascular (LYONS e BASU, 2012); colágeno epitelial glicosilado e alteração de fluxo sanguíneo na retina (MAYNARD, *et al.*, 2007).

Contudo, a glicose plasmática continua sendo o melhor biomarcador para o diagnóstico e para o controle de diabetes, pois este é a principal biomolécula envolvida quando a produção ou uso de insulina é prejudicada. De forma geral, a glicose funciona como fonte de energia nos animais e o hormônio insulina funciona como sensibilizador de membranas na maioria das células viabilizando a passagem do açúcar para o interior celular (CHOI e KIM, 2010) (ATKINSON, EISENBARTH e MICHELS, 2013).

O diabetes mellitus, ou simplesmente diabetes, é um grupo de doenças metabólicas crônicas, caracterizadas por distúrbios no sistema endócrino que afetam ou a produção da insulina ou uso eficaz desta molécula (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014).

Este hormônio é o responsável por regular os níveis de açúcares no sangue, principalmente o de glicose. O principal efeito do diabetes quando não controlado é hiperglicemia, que com o tempo afetam outros órgãos e sistemas, principalmente os vasos sanguíneos e nervos (SPENCER, *et al.*, 2008) (SCHRAMM, *et al.*, 2008).

Existem três tipos relatados pela literatura: a diabetes tipo 1 ou insulino-dependente ou ainda juvenil, é caracterizada por uma anomalia autoimune que provoca a destruição das células produtoras de insulina pancreáticas beta, o qual afeta a produção deste hormônio (TOD, 2010) (ATKINSON, EISENBARTH e MICHELS, 2013).

O diabetes tipo 2 é conhecida como a não-insulinodependente e é caracterizada por um distúrbio metabólico que não permite que a insulina seja utilizada de forma eficaz pelo organismo. Este tipo de diabetes está relacionado ao estilo de vida do indivíduo e sua ocorrência está tipicamente associada ao excesso de peso, sedentarismo e o tabagismo (PINHAS-HAMIEL e ZEITLER, 2005) (CHEN, MAGLIANO e ZIMMET, 2012).

A diabetes gestacional, que afeta de 2 a 14% das mulheres grávidas, dependendo da etnia e da faixa etária abordadas, é considerada como do tipo 2 e dá-se entre as 24 e 36 semanas da gestação humana (ZAGREB, GRAZ e ZAGREB, 2005).

Segundo o Sociedade Brasileira de Diabetes, os níveis de glicose no sangue para uma pessoa saudável não devem ultrapassar a concentração de 110 mg dL^{-1} ($6,11 \text{ mmol L}^{-1}$) quando determinado após jejum. Para pacientes diabéticos esse valor costuma ultrapassar 126 mg dL^{-1} ($7,00 \text{ mmol L}^{-1}$) (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2000).

Para a Sociedade Americana de Diabetes (ADA – *American Diabetes Association*) pessoas normais devem apresentar a concentração de glicose plasmática entre $70 - 99 \text{ mg dL}^{-1}$ ($3,89 - 5,5 \text{ mmolL}^{-1}$) (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2014 cerca de 8,5 % da população adulta mundial (> 18 anos) tinham diabetes, em 2015 faleceram 1,6 milhões de pessoas como consequência direta desta, além do que os níveis altos de glicemia foram apontados como a causa de outros 2,2 milhões de óbitos em 2012 (O.M.S, 2016).

Atualmente, os métodos de detecção laboratoriais utilizados para a quantificação de glicose são principalmente enzimáticos, o que encarece a técnica. Existem também glicosímetros portáteis, contudo estes tendem a apresentar dados com certo nível de imprecisão (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2014-2015). Neste

contexto, o uso de sistemas precisos, exatos, sensíveis, seletivos, não enzimáticos, reutilizáveis, portáteis e de fácil construção tornam-se necessários, e tais características podem ser adquiridas associando os métodos fotoeletroquímicos de quantificação com a técnica de automatização por injeção de amostras em batelada.

2.2. Sistemas de análise auxiliados por injeção de amostra e detecção eletroquímica.

A procura pela automatização de processos é impulsionada por grandes benefícios que esta traz aos métodos analíticos, tais como melhor reprodução, precisão e confiabilidade dos dados e diminuição dos custos individuais das análises (ARMENTA, GARRIGUES e GUARDIA, 2008).

A grande e crescente demanda por análises proveniente dos setores clínico, farmacêutico, industrial e ambiental tem exigido um constante aperfeiçoamento dos sistemas de análise mediante desenvolvimento de métodos e técnicas com maiores graus de automação (PÉREZ-OLMOS, SOTO, *et al.*, 2005)

Neste sentido, as técnicas eletroquímicas têm sido fortemente beneficiadas por processos que exploram injeções automáticas de analitos feitas em fluxo, sequenciais ou em batelada.

2.2.1. Análise por Injeção em Fluxo (FIA).

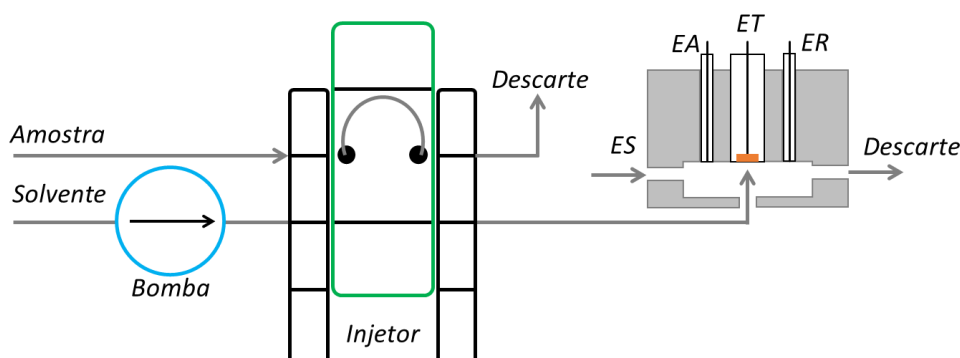
A análise por injeção em fluxo foi desenvolvida em 1975 por Řužička e Hansen como forma de aumentar o grau de automação do processo analítico e a precisão do método e diminuir a quantidade de alíquotas de amostra necessária para a análise (ŘUŽIČKA e HANSEN, 1975).

A característica mais marcante do FIA é o sistema de injeção da alíquota da amostra, ou do padrão, em um fluxo contínuo de solução carreadora. E depois que a injeção é realizada, o fluxo contendo o analito é então bombeado a um compartimento dotado de um detector, onde será feito o monitoramento de uma propriedade físico-química, usada como parâmetro de quantificação (JURDÁKOVÁ, *et al.*, 2018).

Sistemas baseado em FIA são compostos, a princípio, de pelo menos três partes básicas: uma bomba, para impulsionar os líquidos, um injetor de amostras/padrão e um sistema de detecção (Figura 1) (OLIVEIRA, *et al.*, 2011).

Dependendo da técnica e da propriedade físico-química escolhidas para detecção, pode ainda haver um fluxo secundário de reagente e consequentemente uma espiral ou uma câmara reacional (KNOCHEN, *et al.*, 2004).

Figura 1 - Esquema dos componentes de um sistema FIA *wall-jet* com detecção eletroquímica e válvula de amostragem de deslizamento central (injetor). *ES* = eletrólito de suporte; *EA* = eletrodo auxiliar; *ET* = Eletrodo de trabalho; *ER* = eletrodo de referência. Adaptado de (OLIVEIRA, *et al.*, 2011).



A versatilidade de adaptação dos sistemas FIA faz com que estes possam ser encontrados combinados a vários métodos instrumentais de detecção como, por exemplo, a espectrometria de massas (JURDÁKOVÁ, GÓROVÁ, *et al.*, 2018), infravermelho com transformada de Fourier (KNOCHEN, SIXTO, *et al.*, 2004), micro balança eletroquímica de cristal de quartzo (MISHRA, SHARMA e BHAND, 2015) e amperometria (OLIVEIRA, *et al.*, 2011).

As metodologias baseadas nesta técnica mostram-se bastante confiáveis e precisas, porém apresentam muitas variáveis que necessitam ser controladas durante toda a análise como a vazão da solução transportadora e de reagente, volume e velocidade de injeção, tamanho do percurso entre a ponteira do injetor e o detector (SCHÜGERL, *et al.*, 1996).

2.2.2. Análise por Injeção Sequencial (SIA).

O SIA foi desenvolvido em 1990 explorando a ideia de uma análise em fluxo de padrão sequencial (RUZICKA e MARSHALL, 1990), com objetivo de diminuir a

quantidade de reagente (solvente carreador) usado nas análises, e melhorar a automação do processo (SANTOS e MASINI, 2010).

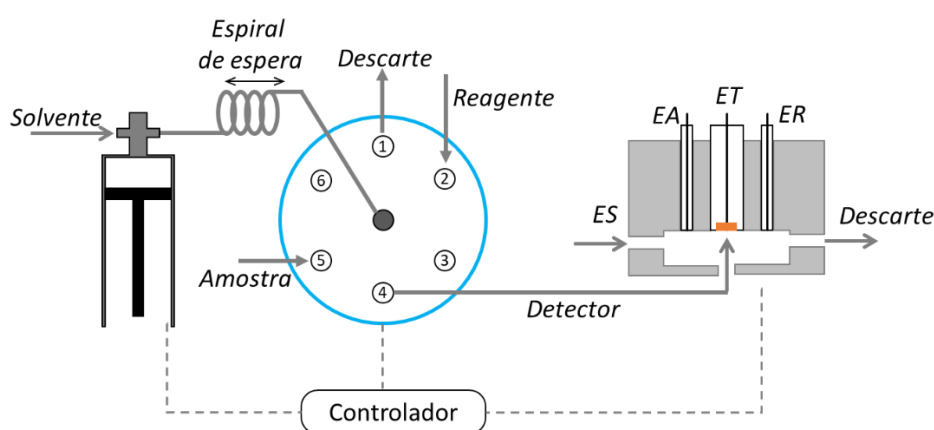
O desenvolvimento dos sistemas de análises sequenciais só foi possível devido a melhora da acessibilidade de dispositivos eletrônicos que fizessem a sincronização entre as bombas, injetor e detector (PÉREZ-OLMOS, *et al.*, 2005).

O principal componente do SIA é a válvula rotatória seletora. Este dispositivo permite a comunicação de todas as portas com a porta central, esta última fica conectada a uma bobina conectora de alíquotas (SANTOS e MASINI, 2010).

As portas da válvula podem, então, estar conectadas a reservatórios de reagentes, a outras bobinas, a câmaras reacionais ou a detectores. O sistema de bombeamento mais comum usado neste tipo de análise é o de pistão (PÉREZ-OLMOS, *et al.*, 2005).

Análises são feitas via aspiração de volumes pré configurados de reagentes e de amostra, que são direcionados ao interior da válvula e depois o bombeamento para uma câmara de reação (opcional) e por fim em direção ao detector (STADEN, MASHAMBA e STEFAN, 2002).

Figura 2 - Esquema de um sistema SIA com detecção eletroquímica em *wall-jet*. EA, ET, e ER são os eletrodos auxiliar, de trabalho e de referência, ES = eletrólito de suporte. Adaptado de: (STADEN, MASHAMBA e STEFAN, 2002).



2.2.3. Análise por Injeção em Batelada (BIA).

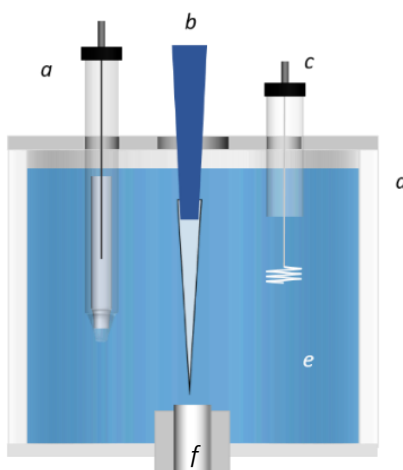
Tanto o FIA quanto o SIA possuem muitas vantagens de uso, contudo a necessidade de uso de bombas para o impulsionamento de líquidos ainda era um dificultador para a aplicação destas em análises de campo. Neste intuito, em 1991, foi

apresentado o sistema de análises por injeção em batelada (BIA – do inglês *Batch Injection Analysis*), um sistema mais simples constituído de uma célula *wall-jet* e um injetor manual.

As respostas a injeção nas células BIA são, em alguns aspectos, semelhantes aos do FIA e do SIA, contudo não existe um fluxo contínuo de solução carreadora. Porém, as análises por BIA são mais simples, pois apresentam menos parâmetros de ajustes para otimização: volume e velocidade de injeção, distância entre a ponteira do injetor e o detector. (QUINTINO e ANGNES, 2004).

A Figura 3 exibe o desenho em corte transversal de uma célula BIA eletroquímica de disposição *wall-jet* nela eletrodo de trabalho é posicionado na parte inferior da célula, oposto ao injetor, e este por sua vez é posicionado na parte superior da célula junto aos outros dois eletrodos (referência e auxiliar). O circuito eletroquímico é fechado via solução do eletrólito de suporte (WANG e TAHA, 1991).

Figura 3 – Esquema em corte transversal de uma célula BIA convencional com detector eletroquímico. *a* - eletrodo referência; *b* - injetor; *c* - contra eletrodo; *d* - célula BIA; *e* - eletrólito suporte e *f* - eletrodo de trabalho. Fonte: (CHEN, WANG e ANGNES, 1991).



As análises por BIA envolvem injeções de pequenos volumes de solução (até 100 μL), contendo o analito, da ponteira de uma micropipeta à superfície de um detector posicionado em distância muito pequena (WANG e TAHA, 1991) (BRETT, BRETT e MITOSERIU, 1995) (TUR'YAN, *et al.*, 1996).

Para as células BIA o injetor assume fundamental importância no que diz respeito a reprodutibilidade do método. Nos primeiros trabalhos publicados o injetores

empregados eram micropipetas manuais (CHEN, WANG e ANGLES, 1991) (WANG e TAHA, 1991) (WANG e TAHA, 1991) e mesmo apresentando biogramas bastante reprodutíveis, a responsabilidade da reprodução dos volumes e velocidades de injeção, e distância entre a ponteira e a superfície do eletrodo era de responsabilidade do operador.

Nos sistemas atuais são utilizadas micropipetas com sistema eletrônico de injeção (STEFANO, *et al.*, 2017), o que torna o processo melhor adaptado, e confere ao método maior grau de automatização, além aprimorar a reprodutibilidade e a precisão dos dados obtidos (OLIVEIRA, *et al.*, 2017).

Além do injetor, os êxitos de células BIA têm sido atribuídos à combinação de dois fenômenos hidrodinâmicos que acontecem durante e após a injeção: hidrodinâmica *wall-jet* e o princípio da diluição infinita ($>10000 \times$) (VEJRAŽKA, *et al.*, 2005).

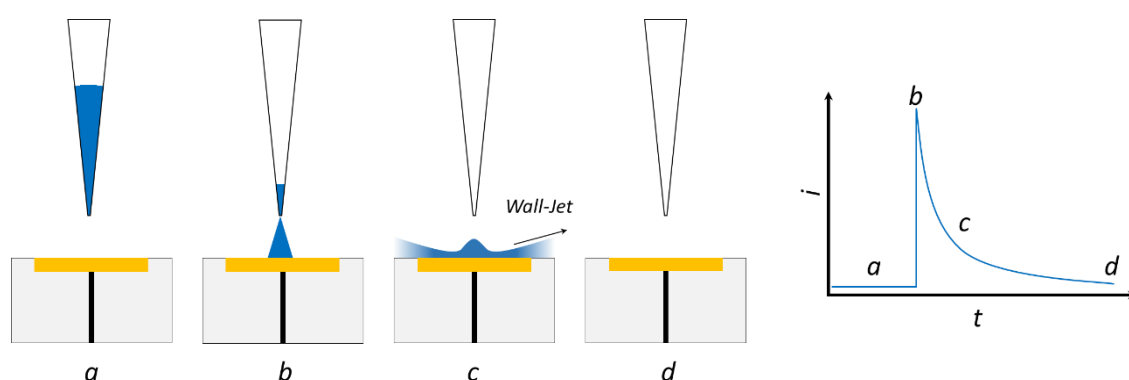
Nas células de configuração *wall-jet* o jato de fluido, contendo a amostra, é aplicado de forma perpendicular ao eletrodo de trabalho. Após a injeção o jato flui paralelamente à superfície, onde é formada uma fina camada de solução do analito, e esta é por fim difundida gradualmente no eletrólito de suporte (Figura 4) (GUNASINGHAM, 1984) (GUO, *et al.*, 2017). A existência destes processos hidrodinâmicos promove a remoção de moléculas do analito da superfície detectora, permitindo assim que múltiplas medidas sejam feitas com pouco efeito de memória (BRETT, BRETT e MITOSERIU, 1995).

Inicialmente, a capacidade das primeiras células projetadas ultrapassavam os 200 mL de capacidade volumétrica, devido a crença de que grandes volumes facilitavam a remoção de espécies eletroativas da superfície do eletrodo de trabalho após a injeção, porém foi demonstrado que grandes volumes não são pré-requisito obrigatório de células BIA, de forma que são possíveis desenhos de células BIA compatíveis com capacidades menores que cinquenta ou até mesmo um mililitro (WANG e CHEN, 1994) (TUR'YAN, *et al.*, 1996).

O uso de células BIA com quantificação eletroquímica apresenta grandes vantagens incluindo baixo custo operacional, versatilidade, sensibilidade, repetibilidade, reprodutibilidade e compatibilidade com projetos portáteis e miniaturizados para análises *in vivo* e *in situ* (ZHENG, *et al.*, 2014) (JADON, *et al.*, 2016).

Nos primeiros trabalhos com células BIA associados a métodos eletroquímicos, a detecção era feita empregando-se a amperometria convencional (potencial fixo) (CHEN, WANG e ANGNES, 1991) (WANG e TAHA, 1991). Neste tipo de trabalho os sinais obtidos são picos de corrente transientes, de intensidade proporcional à concentração da espécie de interesse.

Figura 4 - Etapas de operação de células BIA com detecção amperométrica. *a* - antes da injeção; *b* - transporte de fluido durante a injeção; *c* - fim da injeção e diluição da alíquota e *d* - equilíbrio final. Adaptado de (QUINTINO e ANGNES, 2004).



A formação do sinal de perfil transiente é consequência de várias etapas decorrentes do processo de injeção da amostra. Em uma primeira etapa (Figura 4a), antes do processo de injeção da amostra, a corrente elétrica observada apresenta-se aproximadamente constante em virtude da ausência da introdução de processos faradáicos provenientes da oxidação ou redução de espécies eletroativas.

Durante o processo de injeção da amostra (Figura 4b) há um aumento acentuado na magnitude da corrente elétrica em decorrência dos processos faradáicos decorrentes do transporte mecânico do analito impulsionado pela injeção até a superfície do eletrodo de trabalho. Ao fim desta etapa desenvolve-se o valor máximo de corrente elétrica decorrente da oxidação ou redução de espécies eletroativas introduzidas na célula BIA (BRETT, BRETT e MITOSERIU, 1995).

Posteriormente, inicia-se o processo de difusão envolvendo a espécie eletroativa introduzida na célula BIA (Figura 4c), de tal forma que a corrente elétrica diminui temporalmente sua magnitude até alcançar um valor similar ao estabelecido pela corrente elétrica assumida como linha de base (antes da injeção). Por fim, a corrente inicial tende a ser reestabelecida (Figura 4d) em virtude da completa difusão da

eletroativa a uma distância “semi-infinita” da superfície da plataforma (QUINTINO e ANGNES, 2004).

Várias técnicas eletroquímicas podem ser utilizadas no sistema de detecção de células BIA, como a voltametria de varredura linear e a potenciometria, contudo as mais comumente empregadas são as técnicas amperométricas (TUR’YAN, *et al.*, 1996) (KURBANOGU, UNAL e OZKAN, 2018)

Além destas, outra vantagem do uso da eletroquímica é a existência de grande variedade de materiais que podem ser usados em transdutores eletroquímicos como os carbono vítreo, mercúrio, ouro e platina e cobre, compósitos de carbono, polímeros e ligas metálicas (WANG, 2011).

Porém na última década começou-se a explorar o efeito fotoeletroquímico (conversão luz-corrente) em semicondutores como mecanismo para a quantificação de espécies, levando a sensibilidade dos métodos eletroquímicos a melhores patamares (ZHANG e CHANG-ZHI, 2013).

2.3. Semicondutores.

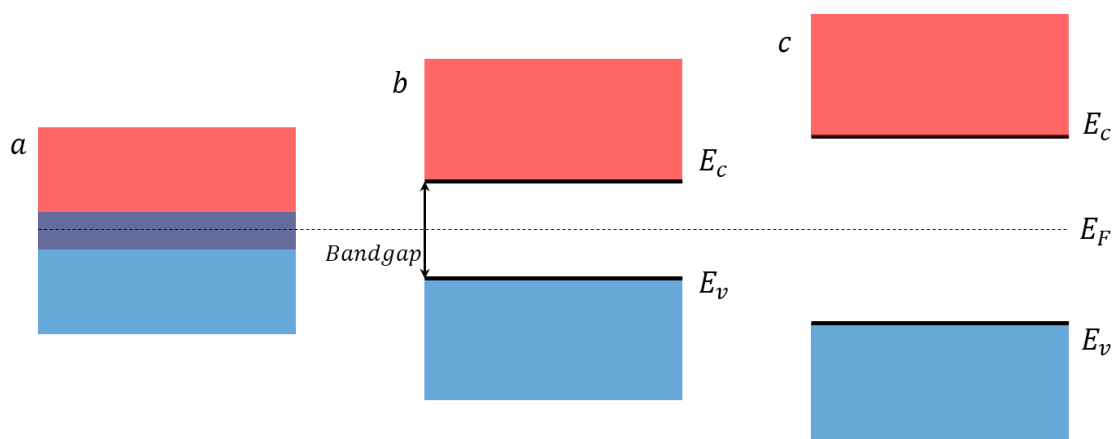
Os materiais sólidos podem ser classificados em condutores, isolantes e semicondutores no que tange a sua condutividade elétrica ou segundo sua estrutura eletrônica (YU e CARDONA, 2010). Segundo a teoria das bandas a sobreposição dos orbitais moleculares das n -espécies constituintes de um corpo permite que os níveis eletrônicos deixem de se comportar de forma discreta e passem a estados “quase” contínuos. A sobreposição de estados origina duas bandas eletrônicas que determinam e estão associadas a várias propriedades ópticas e eletrônicas dos sólidos (Figura 5) (EFROS e ROSEN, 2000).

A banda de valência é formada pela sobreposição de todos os orbitais moleculares ocupados de mais elevada energia (B_v), cujo limite energético superior determina a energia (ou posição) da borda da banda de valência (E_v). Por outro lado, a banda de condução é fruto da sobreposição dos orbitais moleculares desocupados de mais baixa energia (B_c), cujo limite energético inferior determina a energia (ou posição) da borda da banda de condução (E_c) (EFROS e ROSEN, 2000).

Entre as bandas de valência e condução predomina uma região de ausência de estados energéticos denominada zona proibida (*bandgap*, *gap energético* ou *banda proibida*) normalmente não ocupada pelos elétrons que constituem o sólido (XIAO, TAHIR-KHELI e GODDARD, 2011).

As magnitude do *gap* energético são rotineiramente usadas como guia para a classificação dos materiais em condutores ($E_g = 0 \text{ eV}$), semicondutores ($0 \text{ eV} < E_g < 4 \text{ eV}$) e isolantes elétricos ($E_g > 4 \text{ eV}$) (YU e CARDONA, 2010)

Figura 5 - Ilustração da estrutura de bandas de materiais. a - condutores, b - semicondutores e c - isolantes. Fonte: próprio autor.



Os semicondutores podem ser excitados com fótons de radiação eletromagnética de comprimentos de onda compreendidos na região UV-Visível em decorrência do *gap* de magnitude moderada. No processo de foto-excitação são criados o par elétron-lacuna (e^-/h^+) nas bandas de condução e valência, respectivamente. No processo de foto-excitação, o elétron é promovido à banda de valência e deixa um espaço em um orbital da banda de valência (lacuna (h^+)). Neste contexto, a energia fornecida ao elétron deve ter magnitude compatível com a diferença de energia das bandas ($E_g = E_v - E_c$) para que a excitação ocorra (YU e CARDONA, 2010).

Ao par e^-/h^+ é atribuído o nome de portadores de cargas, e as propriedades fotoeletroquímicas dos semicondutores estão intrinsecamente associadas a estes, de forma que o elétron atua como doador e a lacuna atua como aceitador (HISATOMI, KUBOTA e DOMEN, 2014).

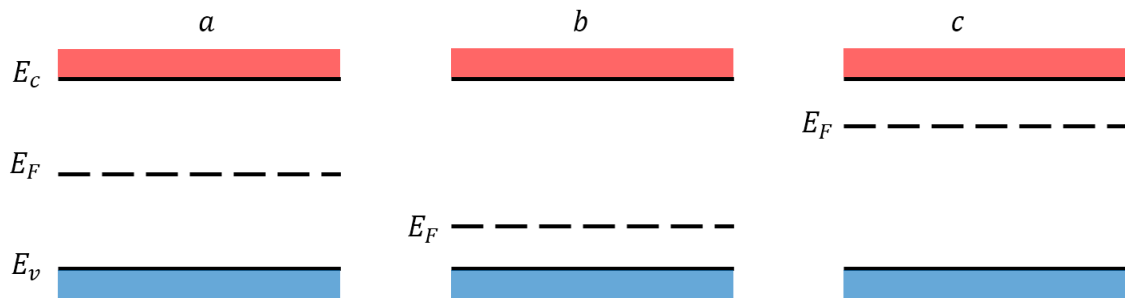
Os semicondutores podem ser classificados de acordo com a relação entre a quantidade de portadores de cargas doadores (N_d) e aceitadores (N_a) em intrínsecos ou

extrínsecos. Os semicondutores intrínsecos são aqueles nos quais $N_d = N_a$ e os extrínsecos podem ser sub-classificados em extrínsecos do tipo- n (quando são dopados com espécies doadoras de elétrons possibilitando que $N_d > N_a$) ou extrínsecos do tipo- p (quando dopados com espécies aceitadoras de elétrons fazendo com que $N_d < N_a$) (SCHRODER, 2006) (HISATOMI, KUBOTA e DOMEN, 2014).

Os semicondutores extrínsecos podem ser classificados em tipo- n quando possuem como transportadores de cargas majoritários os elétrons e em tipo- p quando possuem as lacunas como transportadores majoritários. Os tipo- n são muito apropriados para a construção de fotoanodos enquanto que os tipo- p são geralmente utilizados na construção de fotocátodos (GRÄTZEL, 2001).

A Figura 6 apresenta a posição do nível de Fermi dos semicondutores intrínsecos e extrínsecos. Conforme pode ser observado, a variação da posição deste nível dá-se pela diferença entre o número de doadores e de aceitadores eletrônicos nestes materiais (GRÄTZEL, 2001).

Figura 6 - Ilustração da posição do nível de Fermi para semicondutores. *a* – intrínsecos, e extrínsecos *b* - tipo- p e *c* - tipo- n . Fonte: próprio autor.



Os materiais fotoativos incluem semicondutores inorgânicos (como o silício, SI) (LIAO, ZONG, *et al.*, 2016), os compostos metálicos formados por elementos da família 16 (como os óxidos, sulfetos, selenetos e teluretos metálicos (YAN, *et al.*, 2018) (XU, *et al.*, 2017), compostos da família 15 (como nitretos, fosfetos e arsenetos) (HENTSCHEL, *et al.*, 2018) (WANG, *et al.*, 2018), entre outros. Desta forma, é possível observar que há uma vasta quantidade de substâncias bem como compostos decorrentes de suas combinações que podem ser explorados como materiais fotoativos.

2.4. Óxidos e Hidróxidos metálicos semicondutores com fases eletrofotativas.

Óxidos e hidróxidos metálicos semicondutores são materiais que têm recebido grande atenção nas últimas décadas nas mais diversas áreas da pesquisa como a química, física e na ciência de materiais devido às suas propriedades únicas (DEVAN, *et al.*, 2012) (HISATOMI, KUBOTA e DOMEN, 2014).

2.4.1. Hidróxido de níquel – Ni(OH)_2 .

O hidróxido de níquel (Ni(OH)_2) é um composto com excelentes propriedades eletrocatalíticas (RINALDI e CARBALLO, 2016), e grandes potencialidades para aplicações como a produção de supercapacitores (WANG, *et al.*, 2010), células combustível (SUBBARAMAN, *et al.*, 2011) e na produção de dispositivos eletrocromicos (VIDOTTI, GRECO, *et al.*, 2006).

As propriedades eletrocatalíticas dos compostos de níquel são atribuídas à grande quantidade de sítios ativos, íons Ni^{2+} e Ni^{3+} , com orbitais d semipreenchidos. Neste sentido, hidróxidos, oxi-hidróxidos e óxidos de níquel tem apresentado excelente aplicabilidade na oxidação catalítica de álcoois e açúcares de forma que têm sido explorados como materiais para a produção de sensores eletroquímicos (SHEN, *et al.*, 2010) (GUO, *et al.*, 2014).

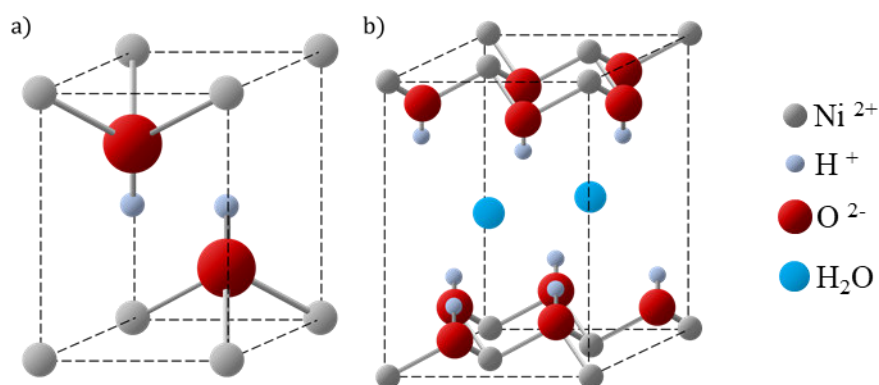
Adicionalmente, a produção do hidróxido de níquel apresenta grande versatilidade de forma que tal hidróxido pode ser produzido por diferentes métodos incluindo a eletrodeposição (RINALDI e CARBALLO, 2016), precipitação por coordenação (BABAEI e TAHERI, 2013), deposição química (LOKHANDE, PAWAR e CHAVAN, 2018). Assim, a grande variedade de métodos para a produção de hidróxido de níquel o torna um material adaptável às mais variadas necessidades.

O hidróxido de níquel pode ser encontrado na forma de dois polimorfos principais denominados $\alpha\text{-Ni(OH)}_2$ e $\beta\text{-Ni(OH)}_2$.

A fase α apresenta-se como isomorfo da brucita (Mg(OH)_2) com estrutura cristalina trigonal. Por sua vez, a fase β possui estrutura isomórfica ao CdI_2 na qual os átomos de níquel ocupam sítios octaédricos entre camadas alternadas de átomos de oxigênios e os átomos de hidrogênio ocupam os sítios tetraédricos. Neste sentido, a diferença estrutural entre as estruturas é o empacotamento mais ordenado para a

estrutura β -Ni(OH)₂ e desordenado para a estrutura α -Ni(OH)₂. Consequentemente, a α -Ni(OH)₂ apresenta maior facilidade para a entrada de moléculas de água e ânions que fazem parte dos sais de partida usados como fonte de Ni²⁺ podendo ocupar os espaços interlamelares na estrutura do α -Ni(OH)₂ (HALL, *et al.*, 2015).

Figura 7 - Estruturas cristalinas idealizadas do hidróxido de níquel. a) β – Ni(OH)₂ e do b) α – Ni(OH)₂. Adaptado de (HALL, LOCKWOOD, *et al.*, 2015).



O Ni(OH)₂ é ainda reportado como semicondutor do tipo “p” e apresenta as seguintes propriedades: *bandgap* (E_g) de aproximadamente 3,5 eV; função trabalho ($\Phi_{Ni(OH)_2}$) de cerca de 4,62 eV e afinidade eletrônica ($\chi_{Ni(OH)_2}$) próximo a 1,47 eV (KIM e JANG, 2014) (ESLAMIBIDGOLIA, GROß e EIKERLING, 2017).

2.4.2. Óxido Cuproso – Cu₂O.

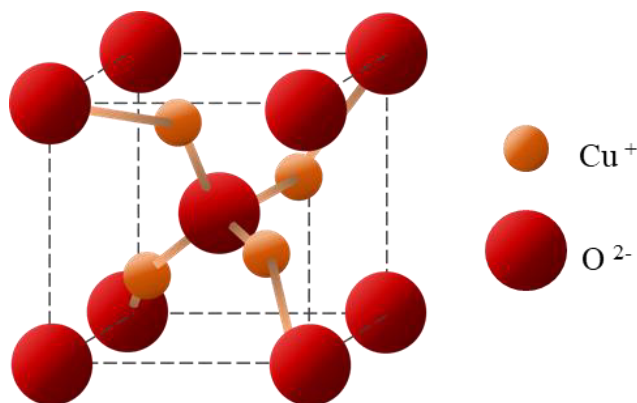
O óxido de cobre I possui propriedades semicondutoras do tipo “p” e atrai bastante atenção por possuir excelentes características únicas como baixa toxicidade, abundância e baixa atividade poluente (SIRIPALA, IVANOVSKAYA e JARAMILLO, 2003).

O Cu₂O apresenta diversas potencialidades de aplicação em consequência das suas características óticas e eletrônicas incluindo seu uso na construção de memórias eletrônicas (YAZDANPARAST, KOZA e SWITZER, 2015), dispositivos óticos (YANG, CHEN, *et al.*, 2011), transistores spintrônicos (DELATORRE, *et al.*, 2006), células combustível (YANG, LI e PRITZKER, 2016) sensores eletroquímicos (SILVA, *et al.*, 2018) e células solares (YANG, *et al.*, 2016).

O Cu₂O apresenta-se na estrutura cristalina cúbica de corpo centrado com cada átomo de oxigênio rodeado a quatro átomos de cobre em estrutura tetraédrica, e

este por sua vez está ligado a dois átomos de oxigênio em estrutura angular (Figura 8) (TAN, *et al.*, 2015). Assim como o β -Ni(OH)₂, o Cu₂O apresenta estrutura isomórfica da brucita.

Figura 8 - Representação da estrutura da célula unitária cúbica de corpo centrado do Cu₂O. Adaptado de (GAO, PANG, *et al.*, 2015).



A descrição mais simplificada da estrutura de bandas do Cu₂O dá-se assumindo que a parte superior da banda de valência deste é formada pelos orbitais atômicos 3d do cobre e a parte inferior da banda de condução é formada pelos orbitais 4s do cobre e o referido *gap* se deve a transição eletrônica entre estes orbitais.

As propriedades semicondutoras características do Cu₂O incluem: *bandgap* eletrônico de aproximadamente 2,0 eV; função trabalho aproximadamente 4,8 eV ($\Phi_{Ni(OH)_2}$) e afinidade eletrônica (χ_{Cu_2O}) de cerca de 3,2 eV (BRANDT, *et al.*, 2014) (KANG, *et al.*, 2015). Tais características são importantes para o entendimento dos processos eletroquímicos que acontecem na superfície destes materiais.

Sabendo-se que a luz influencia no comportamento de compostos semicondutores, e que esta mudança de comportamento pode ser usada na construção de sensores eletroquímicos, então é possível apontar uma nova classe de dispositivos, os sensores fotoeletroquímicos.

2.5. Sensores fotoeletroquímicos.

Sensores químicos são dispositivos integrados que produzem variações químicas ou físicas mensuráveis a partir de interações intermoleculares de forma a transformar informações como a variação de concentração, disposição estereoquímica ou polaridade em um sinal analiticamente mensurável como corrente, resistência, diferença de potencial, frequência de ressonância, entre outras (BANICA, 2012).

Os sensores PECs são dispositivos que convertem energia eletromagnética (como luz), proveniente de uma fonte de radiação em corrente elétrica, (WANG, XU e CHEN, 2009). Neste sentido, o processo fotoeletroquímico consiste na foto-excitação do material seguida de transferências de cargas entre uma substância e o material fotoativo (WANG, XU e CHEN, 2009). As cargas referidas nestes processos são o elétron (e^-) e a lacuna (h^+). O comportamento de ambos é o que define o processo fotoeletroquímico que acontece na superfície de materiais fotoeletroquimicamente ativos (GRÄTZEL, 2001).

A fotoeletroquímica é utilizada atualmente em diversas áreas tecnológicas, com destaque à produção de hidrogênio (H_2) a partir da decomposição da água (ATACAN, TOPALOĞLU e ÖZACAR, 2018), construção de células solares para produção de energia elétrica (WEI, *et al.*, 2018) e na produção sensores fotoeletroquímicos (DAMOS, *et al.*, 2018) (SILVA, *et al.*, 2018).

O mecanismo de quantificação deste tipo de sensor é baseado na mudança ou de fotocorrente ou de fotopotencial elétrico, devido interações químicas e/ou físicas entre o semicondutor e espécie de interesse na região interfacial fotoeletrodo-solução (FREIRES, *et al.*, 2018).

O processo de detecção fotoeletroquímico é o inverso da eletroquimiluminescência, ou seja, a luz é usada como fonte de excitação e a fotocorrente gerada, pela interação de um analito com um material fotoexcitado, é o sinal analítico. Devido as diferentes formas de energia de excitação e de detecção, este processo pode reduzir alguns ruídos induzidos pela fonte no detector (WANG, XU e CHEN, 2009).

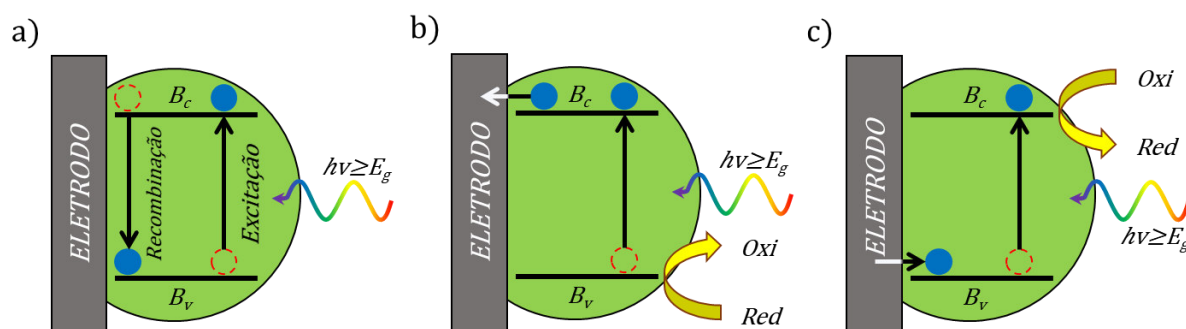
Os sensores fotoeletroquímicos podem ser de forma mais geral classificados quanto a natureza do material fotoativo em orgânicos e inorgânicos. (ZHANG e CHANG-ZHI, 2013). Nos sensores fotoeletroquímicos baseados em semicondutores inorgânicos, o processo começa com a incidência de luz na superfície do material ($h\nu \geq E_g$) de forma a promover a excitação eletrônica e gerando o par e^-/h^+ .

Após o processo de fotoexcitação, o par elétron-lacuna poderá recombinar-se sofrendo relaxamento eletrônico ou estas cargas podem ser transferidas a outras espécies (Figura 9). O processo de transferência eletrônica das espécies fotogeradas pode ocorrer (i) pela ejeção de elétrons da banda de condução do material fotoativo para o eletrodo coletor, o que ocorre concomitantemente à reação de eletrooxidação de

uma espécie doadora eletrônica em solução e resulta na geração de fotocorrente anódica ($\Delta i > 0$) (Figura 9a); ou (ii) via transferência de um elétron da banda de condução para uma espécie aceitadora resultando em fotocorrente catódica ($\Delta i < 0$) (Figura 9b).

Consequentemente, as fotocorrentes anódica e catódicas geradas dependem do fato do analito agir como doador ou aceitador de elétrons para um semiconductor e, consequentemente, suas magnitudes poderão variar com a concentração das espécies em solução. Com base neste princípio, analitos podem ser quantificados de forma direta ou indireta mediante o emprego de sistemas fotoeletroquímicos (ZHANG e CHANG-ZHI, 2013).

Figura 9 - Esquema dos processos eletrônicos pós-excitação: a) recombinação, b) concomitante processo anódico e c) concomitante processo catódico. Fonte: próprio autor.



Com base nos aspectos abordados com relação as propriedades de sistemas fotoeletroquímicos, nas vantagens do uso da injeção de amostras em batelada e a problemática do monitoramento de níveis de glicose em amostras biológicas, o presente trabalho tem por objetivo a construção de um sensor fotoeletroquímico não enzimático para quantificação deste analito em amostra de fluido humano.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.

3.1. *Voltametria Cíclica.*

A voltametria é uma técnica de eletroanálise que se baseia nos fenômenos que ocorrem na interface eletrodo-eletrólito. A voltametria é caracterizada pelo monitoramento da corrente elétrica decorrente da variação de potencial elétrico, aplicado a um eletrodo, na interface eletrodo-solução de forma que apresenta dinamismo no padrão de aplicação do potencial elétrico. Neste caso, as relações entre corrente elétrica e potencial elétrico são apresentadas em gráficos comumente bidimensionais do tipo i vs V (WANG, 2011).

Com isso, a voltametria pode ser empregada na investigação dos processos de oxidação e / ou redução de espécies de interesse bem como na quantificação destas espécies mediante a correlação entre concentração e magnitude de corrente elétrica desenvolvida durante os processos redox envolvidos. Embora as convencionais células eletroquímicas empregadas para realização de ensaios voltamétricos envolva três eletrodos, a corrente elétrica mensurada flui essencialmente entre o eletrodo de trabalho e o contra eletrodo mediante o controle da impedância entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência (SAITO e KIKUCHI, 2014).

A interface eletro-eletrólito é a região onde a maior parte dos efeitos decorrentes dos processos eletródicos se desenvolvem e é caracteristicamente diferente do restante da solução (*bulk*). Na ausência de espécies eletroativas, a interface eletrodo-solução é descrita essencialmente pelos processos envolvidos na formação de uma região interfacial denominada dupla camada elétrica. A interpretação da dupla camada elétrica é feita por diversos modelos e, essencialmente, pode ser modelada como sendo composta pela camada de Helmholtz e pela camada difusa Gouy-Chapman (WANG, 2011) (SAITO e KIKUCHI, 2014).

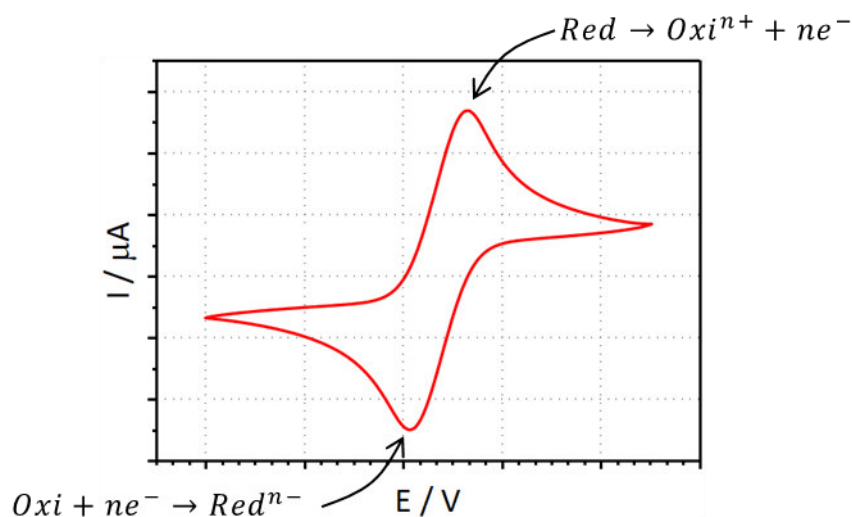
O modelo de dupla camada de Helmholtz propõe a existência de um acúmulo de contra cargas, provenientes da solução, na interface eletrólito-eletrodo, afim de balancear o excesso de carga formado na superfície do eletrodo. Desta forma, seriam formadas duas camadas de cargas, com polaridades opostas, separadas por distância de ordem de 10^{-9} metros (BARD e FAULKNER, 2000) (PACHECO, *et al.*, 2013).

O modelo de dupla camada elétrica de Gouy-Chapman, ou segunda camada, envolve a formação de uma camada difusa de contra cargas na solução, onde as maiores concentrações de espécies carregadas estariam localizadas em espaços adjacentes à superfície do eletrodo, onde as forças eletrostáticas são fortes o suficiente para superar os processos térmicos, esta camada torna-se gradualmente menos concentrada à medida em que as distâncias são maiores, onde estas forças eletrostáticas são mais fracas. Também, é esperado que distância média mostre dependência do potencial aplicado e da concentração do eletrólito (BARD e FAULKNER, 2000).

Para que ocorra a transferência de cargas é necessário que a molécula do analito alcance a superfície do eletrodo, ou mesmo a camada difusa de Gouy-Chapman, e que o potencial aplicado seja igual ou superior ao da reação redox associada ao processo (SAITO e KIKUCHI, 2014).

A voltametria cíclica é uma técnica exploratória bastante importante, onde é possível acompanhar ambos os processos anódicos e catódicos das moléculas do analito, quanto para verificar os processos de modificação da superfície do eletrodo (WANG, 2011).

Figura 10 - Exemplo de um voltamograma. Fonte: próprio autor.



Conforme pode ser observado na Figura 10, a voltametria cíclica possibilita uma investigação dos processos redox envolvidos em um sistema eletroquímico, contudo, para efeito de quantificação de espécies, a voltametria apresenta dentre os principais entraves a baixa sensibilidade decorrente da razão entre a corrente Faradáica e capacitiva. À medida que o potencial elétrico é varrido há, concomitantemente, a

formação da dupla camada elétrica de forma que o sinal elétrico decorrente da oxidação/redução da espécie de interesse pode ser imensurável quando comparado aos eventos provenientes do evento capacitivo interfacial. Neste sentido, técnicas eletroquímicas mais sensíveis que suprimam os efeitos da formação da dupla camada são fundamentais ao desenvolvimento de métodos baseados na quantificação de espécies a partir do monitoramento de processos Faradâicos.

3.2. *Amperometria.*

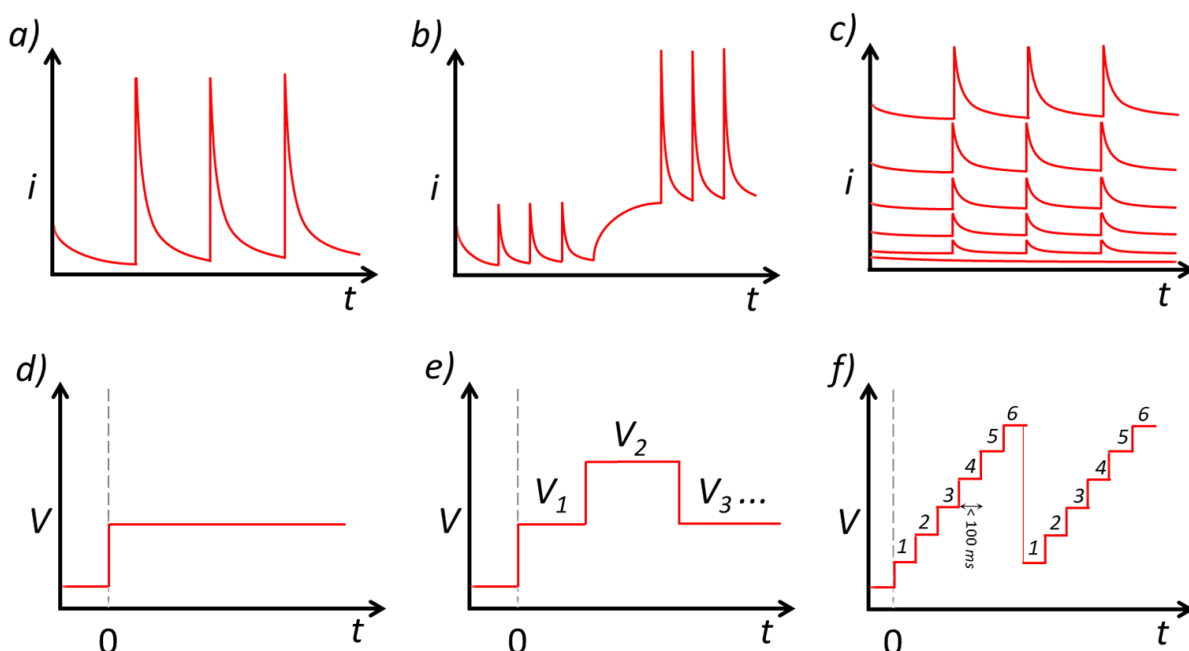
A amperometria é uma técnica que consiste no monitoramento da corrente elétrica decorrente da aplicação de um ou mais pulsos sequenciais de potencial elétrico (ANUSHA, *et al.*, 2015). A corrente elétrica que se desenvolve decorrente do processo amperométrico é proporcional à concentração do analito sob condições nas quais o potencial aplicado é suficientemente elevado para oxidar ou reduzir as espécies que chegam à superfície do eletrodo. Assim sendo, os sistemas amperométricos são comumente aplicados em análises quantitativas por resultarem em baixos limites de detecção (LOD – *Limit of Detection*), amplas faixas lineares e reprodutibilidade (HANSON, PAPPAS e HOLLAND, 2005).

A detecção amperométrica pode ser realizada de forma convencional, pulsada e por múltiplos pulsos (TORMIN, *et al.*, 2011). Na detecção amperométrica convencional (Figura 11a, d) apenas um potencial é aplicado no eletrodo de trabalho durante toda a análise de forma que os dados obtidos são exibidos em um gráfico i vs t (BRETT e OLIVEIRA, 1993) (STEFANO, *et al.*, 2017).

Na detecção por amperometria pulsada (PAD – *Pulsed Amperometric Detection*) (Figura 11b, e), mais de um pulso de potencial pode ser aplicado no eletrodo sequencialmente, porém os dados dos pulsos são registrados no mesmo amperograma (SANTOS, *et al.*, 2011).

Por sua vez, a amperometria de múltiplos pulsos (MPA - *Multiple Pulse Amperometry*) (Figura 11c, e) é feita aplicando-se dois ou mais pulsos de potenciais forma sequenciada com espaços de tempo na ordem milissegundos. Na MPA são gerados tantos amperogramas quantos pulsos forem aplicados (TORMIN, *et al.*, 2011).

Figura 11 - Biagramas e configuração de pulso de potencial característicos. *a) e d)* – amperometria convencional; *b) e e)* – pulsada; *c) e f)* múltiplos pulsos Adaptado de (TORMIN, GIMENES, *et al.*, 2011).



3.3. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica.

A Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS, do inglês *electrochemical impedance spectroscopy*) é uma técnica bastante usada para os estudos de interfaces eletrodo/eletrólito. A EIS é um método alternativo e ou suplementar de outras técnicas eletroquímicas que usam perturbações grandes de forma que as reações são processadas em condições longe do equilíbrio.

Todavia, a aplicação de pequenas perturbações de corrente ou potencial elétrico na EIS visa garantir que o sistema sob investigação opere sob condições próximas à condição de corrente nula (MACDONALD e BARSOUKOV, 2005).

Ademais, a EIS é uma técnica de estado estacionário não destrutiva capaz de prover informações sobre o fenômeno de relaxamento em uma faixa de frequências da ordem de 10^6 a 10^{-4} Hz, dando oportunidades de obter-se dados *in situ* (DAMOS, MENDES e KUBOTA, 2004).

Nas últimas décadas a EIS vem sendo usada para investigação de processos adsorptivos e de transferência de cargas que acontecem em diversos tipos de sensores

eletroquímicos (PEJCIC e MARCO, 2006). A avaliação por EIS em um sistema consiste em analisar as respostas dos sistemas no domínio das frequências. Neste sentido, uma tensão alternada de padrão senoidal é aplicada ao sistema ($V(t)$) e o sinal resultante medido (amplitude de corrente e o ângulo de fase (θ) entre corrente obtida $I(t)$ e o potencial aplicado ($V(t)$)) possibilitando a determinação da impedância do sistema ($Z(\omega)$) (MACDONALD e BARSOUKOV, 2005).

Seja o *fasor* representando o potencial é aplicado ao sistema dado pela seguinte expressão:

$$V(t) = V_0 \text{sen}(\omega t) \quad (01)$$

onde $V(t)$ é o potencial aplicado no tempo t , V_0 é a amplitude do sinal e ω é a frequência angular em rad s^{-1} , tal que $\omega = 2\pi f$ (02)

Caso o *fasor* de corrente, $I(t)$, possua um deslocamento de fase ϕ e amplitude diferente de I_0 , então:

$$I(t) = I_0 \text{sen}(\omega t + \phi) \quad (03)$$

Considerando que pela lei de Ohm a impedância é dada por:

$$Z(\omega) = \frac{V(t)}{I(t)} = \frac{V_0 \text{sen}(\omega t)}{I_0 \text{sen}(\omega t + \phi)} = Z_0 \frac{\text{sen}(\omega t)}{\text{sen}(\omega t + \phi)} \quad (04)$$

e a relação de Euler mostra que:

$$e^{(j\theta)} = \cos(\theta) + j\text{sen}(\theta) \Rightarrow (j = \sqrt{-1}) \quad (05)$$

As expressões de potencial e corrente e, conseqüentemente, a de impedância pode ser escrita como uma função complexa:

$$Z(\omega) = Z_0 \frac{\text{sen}(\omega t)}{\text{sen}(\omega t + \phi)} = Z_0 \frac{e^{(j\omega t)}}{e^{(j\omega t + \phi)}} = Z_0 e^{(j\phi)} = Z_0(\cos \phi - j\text{sen} \phi) \quad (06)$$

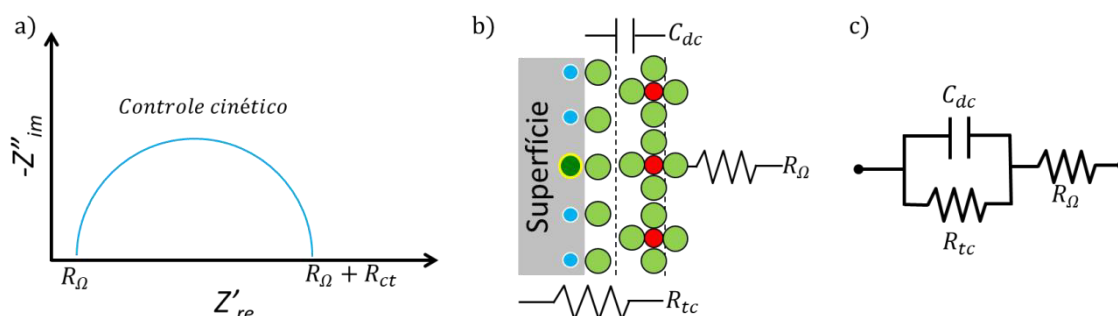
A impedância eletroquímica é composta geralmente por resistências (Z') ôhmicas e reatâncias capacitivas e/ou indutivas (Z'') de forma que a impedância total é dada por (PEJCIC e MARCO, 2006):

$$Z(\omega) = Z' - iZ'' \quad (07)$$

Os dados de impedância são geralmente apresentados em um plano complexo $Z' \text{ vs } -iZ''$ conhecido como diagrama de Nyquist ou diagrama de Cole-Cole (Figura

12a). Os diagramas de Nyquist ou Cole-Cole pode possibilitar a obtenção dos valores de capacitância e resistência mediante o emprego de simulações a partir de um circuito elétrico equivalente (Figura 12c) (MACDONALD e BARSOUKOV, 2005) ou através do emprego do método de linhas de transmissão.

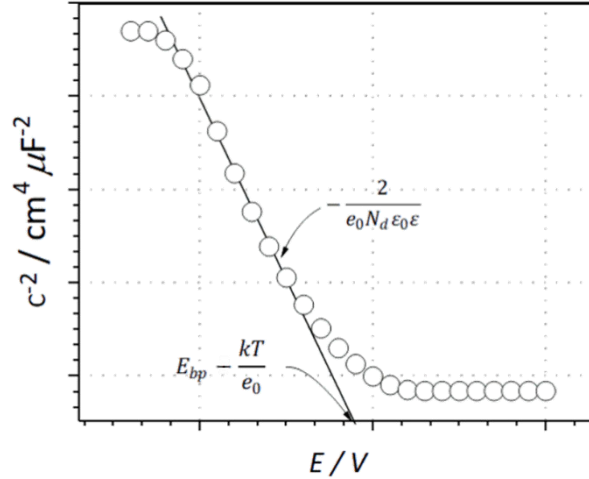
Figura 12 – a) exemplo de um gráfico de Nyquist exibindo o comportamento dos principais processos; b) ilustração da composição do eletrólito na superfície do eletrodo e c) circuito simplificado de Randles. (C_{dc} = capacitância de dupla camada, R_{tc} e R_{Ω} são, respectivamente, as resistências a transferência de carga e do eletrólito. Fonte: próprio autor.



Outra caracterização impedimétrica importante de semicondutores é feita através do ensaio de Mott-Schottky (M-S). Este tipo de experimento consiste em avaliar a capacitância do sistema ao variar-se o potencial aplicado a um semicondutor, a uma frequência fixa (GELDERMAN, LEE e DONNE, 2007). Considerando que a capacitância é uma propriedade dependente da frequência da perturbação de potencial e que o potencial elétrico modula os processos eletródicos, é possível investigar alguns parâmetros característicos dos semicondutores como o potencial de banda plana (E_{bp}), natureza do semicondutor e a densidade de portadores de cargas (N) mediante ensaios M-S (GELDERMAN, LEE e DONNE, 2007).

O segmento linear do gráfico de M-S (C_{sc}^{-2} vs E_{ap}) (Figura 13) permite a discriminação da natureza dos semicondutores em tipo p (M-S com coeficiente linear negativo) e os semicondutores tipo “n” (M-S com coeficiente positivo) (GELDERMAN, LEE e DONNE, 2007).

Figura 13 - Exemplo de um gráfico de Motty-Schottky para um semicondutor tipo "p", com as equações dos coeficientes linear e angular. Adaptado de (GELDERMAN, LEE e DONNE, 2007)



A partir de gráfico C_{sc}^{-2} vs E_{ap} e mediante a aplicação equação de Motty-Schotky (08) é possível a estimativa da quantidade de portadores de cargas em semicondutores tipo p ou n bem como o potencial de banda plana do semicondutor:

$$\left(\frac{1}{C_{sc}^2}\right) = \pm \frac{2}{e_0 N_d \epsilon_0 \epsilon} \left(V_{ap} - V_{bp} - \frac{kT}{e_0}\right) \quad (08)$$

Neste sentido, através da expressão a seguir derivada da equação de M-S (08) e do coeficiente angular do gráfico M-S ($S = dC_{sc}^{-2}/dE_{ap}$):

$$N_d = -\frac{2}{e_0 S \epsilon_0 \epsilon} \quad (09)$$

onde S é o coeficiente angular proveniente da faixa linear do gráfico de M-S, e_0 é a carga elementar ($1,602 \times 10^{-19}$ C), ϵ_0 é a permissividade elétrica do vácuo ($8,854 \mu F m^{-1}$) e ϵ é a permissividade elétrica do semicondutor.

Bem como da magnitude do valor da extrapolação do seguimento linear do gráfico de M-S à condição $\left(\frac{1}{C_{sc}^2}\right) = 0$, o potencial de banda plana pode ser estimado através da expressão:

$$V_{bp} = \frac{I e_0 N_d \epsilon_0 \epsilon}{2} + \frac{kT}{e_0} \quad (10)$$

4. OBJETIVOS.

4.1. *Objetivo geral.*

Desenvolver uma plataforma fotoeletroquímica para quantificação de glicose em célula de análise por injeção em batelada fotoassistida explorando os semicondutores extrínsecos Ni(OH)_2 e Cu_2O .

4.2. *Objetivos específicos.*

- Imobilizar os semicondutores Ni(OH)_2 e Cu_2O em uma placa de vidro recoberta com filme condutor transparente de FTO e verificar sua atividade fotoeletroquímica frente a glicose;
- Caracterizar a plataforma $\text{Cu}_2\text{O/Ni(OH)}_2\text{/FTO}$ explorando as técnicas eletroquímicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica e Raman;
- Avaliar a potencialidade do sensor fotoeletroquímico $\text{Cu}_2\text{O/Ni(OH)}_2\text{/FTO}$ otimizados em termos de sensibilidade, faixa linear de resposta, estabilidade, repetitividade e seletividade;
- Aplicar o sensor fotoeletroquímico às amostras de plasma humano artificial.

5. MATERIAIS E MÉTODOS.

5.1. *Soluções e Reagentes.*

Todos os reagentes utilizados neste trabalho eram de grau analítico, e foram usados sem purificação adicional, e todas as soluções aquosas utilizadas foram preparadas com água destilada, e armazenadas por curtos períodos de tempo.

Sulfato de cobre (CuSO_4), nitrato de níquel hexahidratado ($\text{Ni(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), cloreto de amônio (NH_4Cl), hidróxido de sódio (NaOH), cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl), cloreto de cálcio (CaCl_2), cloreto de magnésio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), hidrogeno fosfato de sódio (Na_2HPO_4) hidrogeno carbonato de sódio (NaHCO_3), sulfato de sódio (Na_2SO_4), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), ácido úrico ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$), ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), epinefrina ($\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_3$), glicose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) e etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) foram adquiridos da ISO FAR. Vidro com superfície recoberta com camada transparente de óxido de estanho dopado com flúor (FTO) foi adquirido da Sigma-Aldrich.

5.2. *Instrumentação.*

As medidas fotoeletroquímicas foram executadas em um Potenciostato/Galvanostato Autolab PGSTAT 204 (Metrohm Autolab B. V. Utrecht, Holanda) controlado pelo programa NOVA (versão 2.1.2-3) em um microcomputador. As medidas de caracterização por impedância eletroquímica, assim como os ensaios de Mott-Schottky foram feitos em um Potenciostato/Galvanostato Autolab PGSTAT 128N (Metrohm Autolab B. V. Utrecht, Holanda) equipado com módulo FRA 2 controlado pelo software FRA (versão 4.9).

5.3. *Construção do sensor fotoeletroquímico $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$.*

Foram preparados três eletrodos distintos a partir da modificação do substrato de FTO com dois compostos: Ni(OH)_2 , Cu_2O e $\text{Ni(OH)}_2/\text{Cu}_2\text{O}$. Antes de cada modificação, e para a remoção de quaisquer substâncias previamente adsorvidas, a superfície do FTO foi limpa da usando-se polimento leve em suspensão de alumina, seguido

banho de ultrassom, em solução (1:1) água destilada/etanol por 10 minutos e por fim enxaguado com água destilada.

A placa de FTO, previamente limpa, foi modificada usando técnicas de eletrodeposição potenciostática. A produção do filme de Ni(OH)_2 , foi feita segundo metodologia adotada por Rinaldi e Carballo (2016), e neste a placa de FTO foi imersa em solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{Ni(NO}_3)_2$ e 1 mol L^{-1} de NH_4Cl , e submetida potencial elétrico de $-1,3 \text{ V}$ vs $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat})}$ por 60 segundos. O eletrodo modificado foi deixado em contato com a atmosfera ambiente para evaporação de solvente proveniente do eletrólito de suporte.

O filme de Cu_2O foi produzido segundo procedimento proposto por Yang, Li e Pritzker (2016), para tal placa de FTO foi imersa em solução $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ CuSO_4 e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ citrato de sódio, pH 11, ajustado com NaOH , à 70°C ; o eletrodo de FTO foi então submetido a potencial elétrico de $-0,5 \text{ V}$ vs $\text{Ag/AgCl/KCl}_{(\text{sat})}$ por 120 segundos.

Para a produção do filme misto $\text{Cu}_2\text{O/Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ a placa de FTO foi submetida às mesmas condições que das deposição dos filmes individuais, depositando-se primeiro o Ni(OH)_2 e depois o Cu_2O .

Ao final de todas as modificações os eletrodos modificados foram deixados em contato com a atmosfera ambiente para evaporação de água usada como solvente proveniente no processo de eletrodeposição.

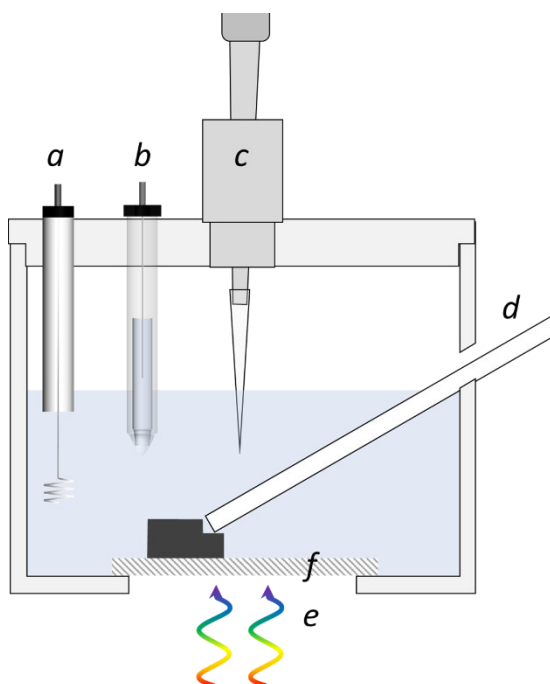
5.4. Construção da célula Fotoeletroquímica de Análise por Injeção em Batelada (PEC-BIA)

A célula de análises por injeção em batelada assistidas por fotoeletroquímica possui *design* personalizado, e foi confeccionada utilizando-se tecnologia de impressão 3D.

A impressão foi realizada em impressora *MakerBot Mini Plus 3D Printer* (Makerbot, Boston – Massachusetts, USA), em plataforma recoberta com fita crepe. O filamento usado na produção era constituído de polímero poliácido acético (PLA) biodegradável, na temperatura de extrusão de 210°C . A capacidade volumétrica final da célula é de até 70 mL.

A célula é constituída de três partes móveis sendo um corpo de célula com duas janelas (uma lateral para observação e uma inferior para iluminação), uma tampa (com entrada para dois eletrodos, referência e auxiliar) e o suporte de injetor.

Figura 14 - Esquema em corte transversal da célula PEC-BIA. *a* - eletrodo auxiliar; *b* - eletrodo de referência; *c* - injetor; *d* - fotoeletrodo; *e* - fonte de luz LED e *f* - janela de vidro. Fonte: próprio autor.



5.5. Preparo do plasma humano artificial.

A dispersão aquosa de plasma humano artificial foi preparado conforme descrito na Tabela 1 (LIU, QIU, *et al.*, 2006), com concentrações em g L^{-1} . Após preparo, o plasma foi armazenado em frasco de vidro transparente, e mantido sob refrigeração ($\sim 4^\circ \text{C}$).

Tabela 1 - Composição química do plasma humano artificial. Adaptado de: (LIU, QIU, *et al.*, 2006).

Componente	NaCl	KCl	MgCl ₂	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	Na ₂ HPO ₄	NaHCO ₃
[] / g L^{-1}	8,036	0,225	0,145	0,293	0,072	0,076	0,325

5.6. *Preparo de amostras para análises por injeção em batelada.*

O preparo da amostra para análise na célula PEC-BIA consiste em diluir as amostras de plasma a 5% (v/v) com solução aquosa de NaOH 0,1 mol L⁻¹. A diluição faz-se necessária para a compatibilização entre concentração normal de glicose e a faixa de resposta linear do sensor.

5.7. *Configuração da célula eletroquímica para estudos por voltametria cíclica e impedância eletroquímica.*

Os ensaios de voltametria cíclica e de impedância eletroquímica foram conduzidos em célula eletroquímica convencional de três eletrodos, empregando como eletrodo de referência de potencial o Ag/AgCl/KCl_(sat) e um fio de platina (Pt) como eletrodo coletor.

Para ambos os estudos a célula foi montada em câmara de ensaios fotoeletroquímicos, que consiste em caixa escura de tampa móvel acoplada a uma fonte de luz LED branca.

5.8. *Condições de operação da célula PEC-BIA.*

A padronização dos parâmetros de operação da célula PEC-BIA foi feita da seguinte forma: superfície detectora do eletrodo de trabalho posicionado a 45° com a normal do injetor; a distância entre a ponteira do injetor e o eletrodo de trabalho foi afixada em 2-3 mm, o volume de injeção empregado em 25 µL, solução aquosa NaOH 0,1 mol L⁻¹ como meio reacional, para referencial de potencial foi utilizado o sistema Ag/AgCl/KCl_(sat) e um fio de platina como contra eletrodo.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES.

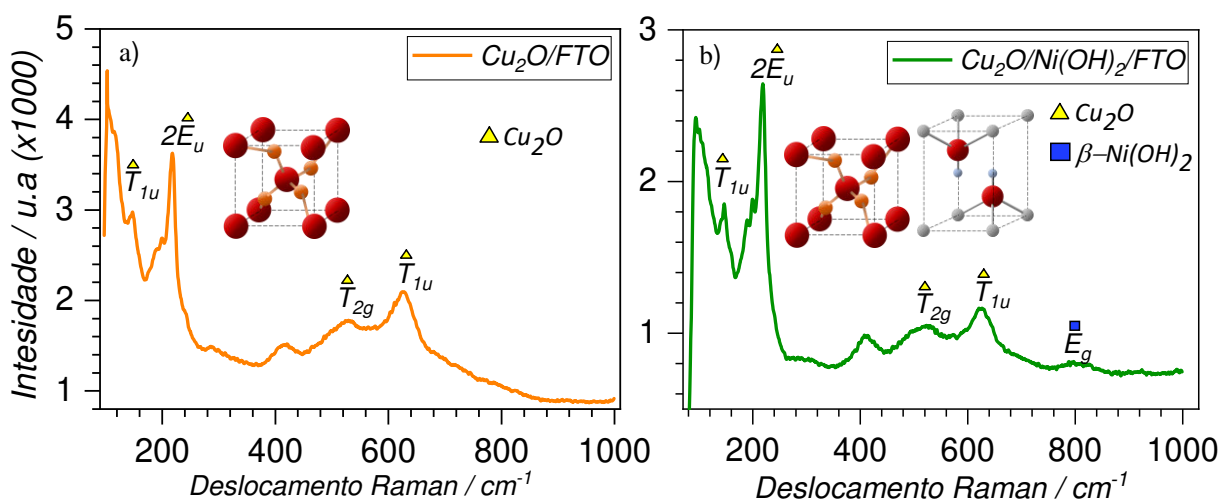
6.1. Caracterização eletroquímica do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$.

6.1.1. Caracterização por espectroscopia Raman.

O Cu_2O sólido possui estrutura cristalina cúbica, e pertence ao grupo espacial $\text{Pn}\bar{3}\text{m}$, com duas moléculas por célula unitária (4 Cu, 2 O), com seis modos vibracionais ($k=0$), 15 modos fônons ópticos e 3 modos de vibração de rede de simetrias A_{2u} , E_u , T_{2g} , T_u e T_{2u} (SANDER *et al.*, 2014) (DENG *et al.*, 2016).

O $\text{Ni}(\text{OH})_2$ possui duas fases cristalinas diferentes (α e β). A fase β , isomorfo de brucita, cristaliza em estrutura hexagonal, grupo espacial $\text{P}\bar{3}\text{m}1$, com 1 molécula por célula unitária (1 Ni, 2 O e 2H), com 4 modos vibracionais Raman ativos, dois com simetria E_u e dois A_{1g} (PASCALE *et al.*, 2004) (HALL *et al.*, 2015).

Figura 15 - Espectro Raman do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. Fonte: Próprio autor.



A Figura 15a exibe o espectro Raman a temperatura ambiente do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{FTO}$, nota-se a presença sinais proeminentes em 148 cm^{-1} , 218 cm^{-1} , 421 cm^{-1} , 529 cm^{-1} e 629 cm^{-1} . O Cu_2O apresenta dois modos vibracionais de rede ativos em infravermelhos, de simetria T_{1u} , em 148 cm^{-1} e 629 cm^{-1} , um sobretudo silencioso de simetria $2E_u$ em 218 cm^{-1} e um modo Raman permitido T_{2g} em 529 cm^{-1} . O modo em 421 cm^{-1} é descrito como resultado de um processo multifônico (SANDER *et al.*, 2014) (SINGHAL *et al.*, 2013).

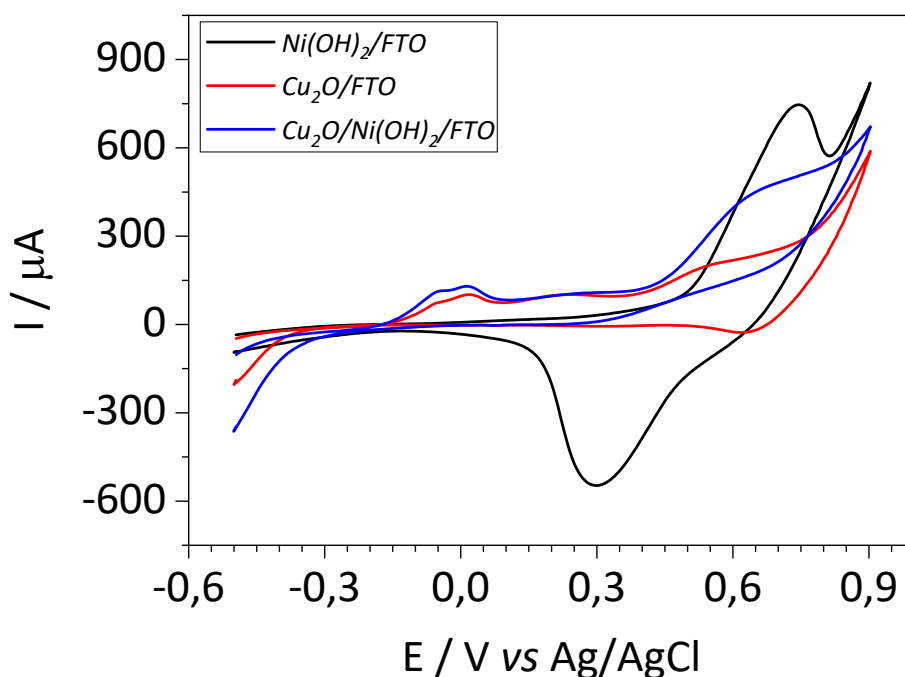
A Figura 15b apresenta o espectro Raman do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ onde é possível notar os sinais vibracionais do Cu_2O e um sinal largo e fraco em aproximadamente 800 cm^{-1} , típico em espectros de estruturas de $\beta\text{-Ni}(\text{OH})_2$ quando usado o $\text{Ni}(\text{NO})_3$ como precursor, tal sinal está associado a torção da O-H e possui simetria *Eg* (HALL *et al.*, 2012) (MURLIA *et al.*, 2001).

6.1.2. Caracterização por voltametria cíclica.

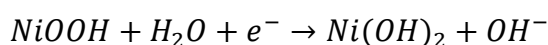
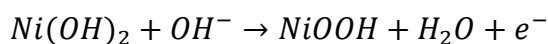
A voltametria cíclica é uma poderosa ferramenta exploratória de análise qualitativa, e quantitativa, para obtenção dos dados de comportamento eletroquímico de superfícies eletroativas, seja para analisar o comportamento da composição do eletrodo ou para avaliar a interação entre o eletrodo e uma espécie eletroativa do meio.

A Figura 16 exibe os comportamentos eletroquímicos individuais dos eletrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$, $\text{Cu}_2\text{O}/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ em solução aquosa NaOH $0,1\text{ mol L}^{-1}$, na janela de potencial $-0,500\text{ V}$ a $0,700\text{ V}$ (50 mV s^{-1}) em temperatura ambiente de aproximadamente 25°C . O comportamento das espécies está intimamente ligado a parâmetros como método de deposição e a composição do meio.

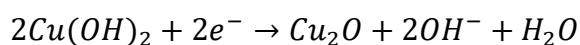
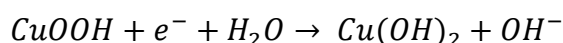
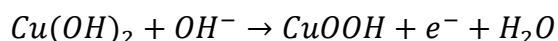
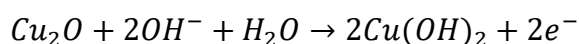
Figura 16 – Voltamogramas cíclicos para eletrodos $\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$, $\text{Cu}_2\text{O}/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. Dados obtidos em NaOH $0,1\text{ mol L}^{-1}$ na velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . Fonte: próprio autor.



No voltamograma referente ao eletrodo $\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ (linha preta) é possível identificar a presença de dois sinais de corrente característicos, em potenciais bem definidos. O pico de corrente anódica é associada à reação de eletrooxidação do hidróxido de níquel ($\text{Ni}^{2+} \rightarrow \text{Ni}^{3+}$). O sinal de corrente catódica decorrente da reação de eletrorredução do oxi-hidróxido de níquel ($\text{Ni}^{3+} \rightarrow \text{Ni}^{2+}$). Em pH alcalino, estes processos quase-reversíveis são governados pelas seguintes equações químicas (RINALDI e CARBALLO, 2016):



O voltamograma correspondente ao eletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{FTO}$ (linha vermelha), observa-se a presença de três sinais de corrente que em meio básico estão associados aos processos de eletrooxidações do óxido cuproso ($\text{Cu}^+ \rightarrow \text{Cu}^{2+}$) e do hidróxido de cobre ($\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^{3+}$), e a eletrorredução do oxi-hidróxido de cobre ($\text{Cu}^{3+} \rightarrow \text{Cu}^{2+}$), (BALOACH, *et al.*, 2016), além disto em potenciais próximo a -0,50 V ocorre a conversão do hidróxido de cobre a óxido cuproso ($\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^+$) (KHATIB e HAMEED, 2011) (MAAOUI, *et al.*, 2016). Uma proposta para as equações químicas que governam estes processos em NaOH são descritas a seguir.



Com relação ao voltamograma correspondente ao eletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ (linha azul), é possível observar o comportamento do compósito que apresenta perfil misto entre as espécies constituintes.

6.1.3. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS).

A avaliação cinética dos efeitos da combinação do óxido cuproso e do hidróxido de níquel e a influência da luz sobre a resposta eletroquímica do sensor $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$, foi feita mediante ensaios de espectroscopia de impedância eletroquímica. Tais estudos foram realizados usando-se solução $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$,

como eletrólito, em potencial de circuito aberto (OCP – do inglês *Open Circuit Potential*), e amplitude de potencial de 10 mV na faixa de frequências de 10 MHz a 100 mHz.

Neste tipo de estudo é possível verificar a atividade eletroquímica do material, principalmente referente aos processos de transferência de cargas na interface eletrodo solução. A relação aqui obtida é entre a capacitância, formada pelo acúmulo de espécies polarizados na superfície do semicondutor (dupla camada elétrica) e a resistência de transferência de cargas na interface eletrodo-eletrólito (SACCO, 2017).

A EIS é uma técnica importante de abordagem para o estudo de cinética de elétrons em sistemas fotoeletroquímicos. A Figura 17 fornece o espectro de impedância eletroquímica do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. E neste nenhum semicírculo é observado no gráfico Nyquist na faixa de frequências selecionada, e isto pode estar relacionado ao fato das perturbações não serem intensas o suficiente para superar a resistência a transferência de cargas do sistema. Contudo, quando o sistema foi posto sob iluminação houve diminuição na componente capacitiva ($Z_{\text{imaginário}}$) em regiões de média e baixa frequências, e isto pode estar associado a melhora do efeito cinético no processo de transferência de cargas induzido pela criação de lacunas na banda de condução do Cu_2O (VAN, KELLY e NOTTEN, 1985) (MORA-SERO, *et al.*, 2009) (SACCO, 2017).

Figura 17 – Gráficos de Nyquist ($-Z_{\text{imaginário}}$ vs Z_{Real}) para o fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ na ausência e presença de luz. Dados obtidos 0,1 mol L⁻¹ Na₂SO₄ (~298 K), OCP (Fonte: próprio autor).

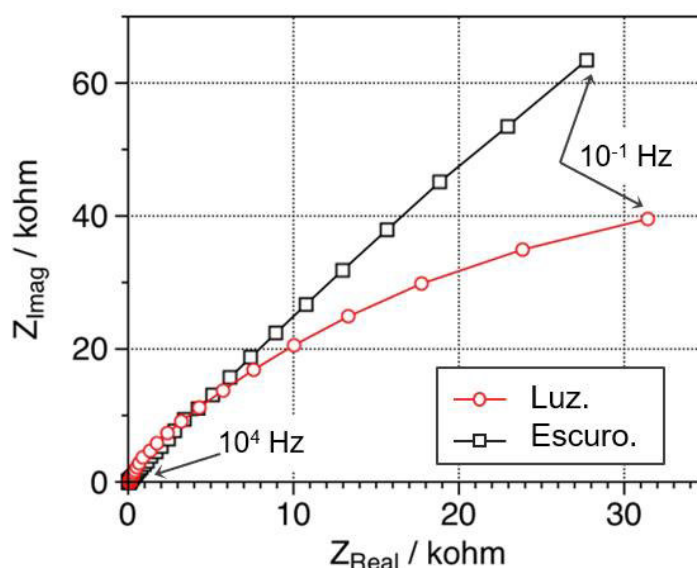
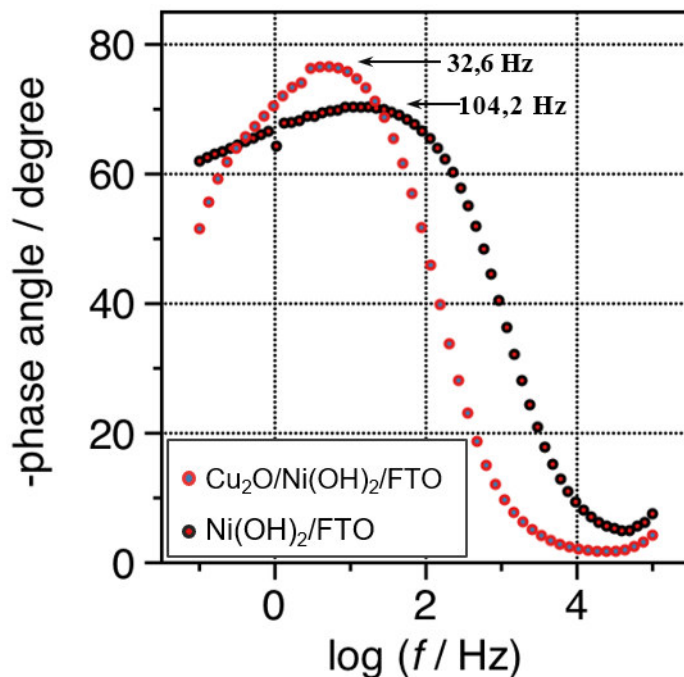


Figura 18 - Gráficos de Bode-Fase para $\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ e para $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$. Dados obtido em solução aquosa Na_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de luz. Fonte: próprio autor.



Para compreender o benefício da combinação dos semicondutores Cu_2O e Ni(OH)_2 , no que diz respeito ao tempo máximo de permanência do elétron (τ_n) na banda de condução do material, ou seja, o tempo de atividade do sítio ativo, foi obtido o gráfico de fase de Bode ϕ vs $\log f$ (Figura 18) e através do pico de frequência (f_{max}) e da seguinte equação (TIAN, GAO, *et al.*, 2012):

$$\tau_n = 1/f(\text{Hz}) \quad (11)$$

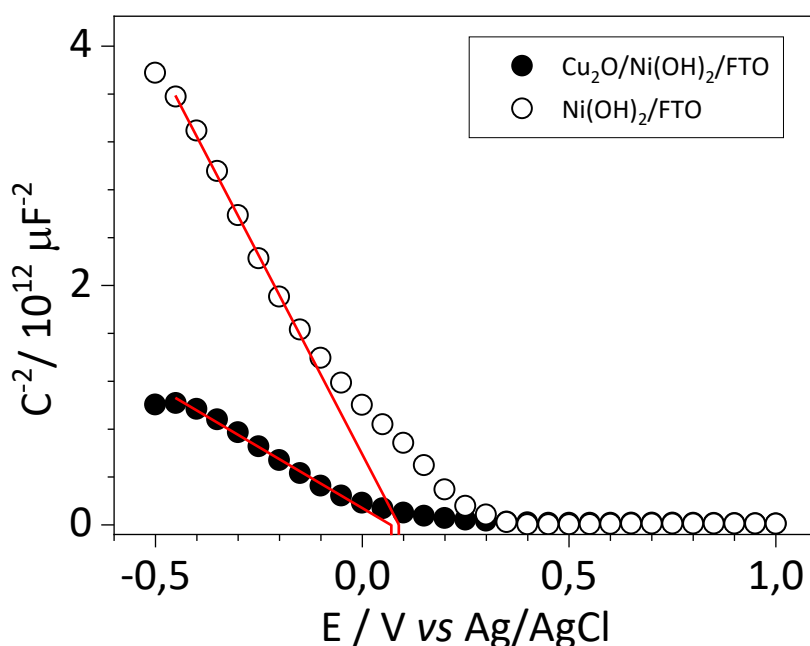
Na Figura 18 é possível notar o deslocamento do pico de fase (ϕ_{max}) de 104,2 Hz ($\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$) para 32,6 Hz ($\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$), que pode ser atribuído ao aumento do tempo máximo de permanência do elétron na banda de condução do material de 9,2 ms para 30,7 ms, Tal aumento do tempo de vida do elétron é importante para o favorecimento cinético de reações fotoeletroquímicas que se processam com menor velocidade.

6.1.3.1. Ensaios de Mott-Schottky.

O ensaio de Mott-Schottky é uma técnica imprescindível na determinação de características de sistemas semicondutores como a natureza (p ou n), o potencial de banda plana e o número de portadores de cargas formados na interface fotoeletrodo-eletrólito.

A Figura 19 apresenta o comportamento da capacitância fotoeletrodo/eletrólito como função do potencial elétrico aplicado aos sensores $\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$. Os dados foram obtidos empregando solução aquosa NaOH 0,1 mol L⁻¹ como meio eletrolítico, no intervalo de potencial entre 1,00 e -0,50V e frequência fixa de 100 Hz.

Figura 19 - Gráfico de Mott-Schottky (C^{-2} vs V_{ap}). $\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$. Dados obtidos em solução aquosa 0,1 mol L⁻¹ de NaOH. Fonte: Próprio autor.



A natureza de ambos os compostos pode ser determinada pela inclinação da faixa linear do gráfico de M-S, semicondutores do tipo p tipicamente apresentam inclinação negativa, ou seja, a capacitância total tende a aumentar com o aumento do potencial aplicado ao sistema (YU e CARDONA, 2010). Como pode ser observado, ambos os eletrodos $\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ apresentaram comportamento

do tipo p, logo possuem como portador de carga majoritário as lacunas, o que está em acordo com outros resultados já reportados (KIM e JANG, 2014)(KANG, *et al.*, 2015).

Outros parametros como o potencial de banda plana (V_{bp}) e o numero de portadores, que para este sistema atuaram como doadores (N_d) podem ser estimados utilizando a equação de M-S para semicondutores tipo p, e os dados de regreção linear da faixa de crescimento linear dos gráficos de M-S (-0,20V a -0,45V) (GELDERMAN, LEE e DONNE, 2007).

$$\left(\frac{1}{C_{sc}^2}\right) = -\frac{2}{e_0 N_d \epsilon_0 \epsilon} \left(V - V_{bp} - \frac{kT}{e_0}\right) \quad (08)$$

Onde e_0 é a carga eletrônica ($1,60 \cdot 10^{-19}$ C), C_{sc} é a capacitância total da região de separação de cargas no semicondutor, ϵ_0 é a permissividade elétrica do vácuo ($8,85 \cdot 10^{-12}$ F m⁻¹), ϵ é a permissividade relativa do semicondutor, N_d é o número do portadores de cargas presentes na interface, k é a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23}$ J K⁻¹), T é a temperatura absoluta (298 K), V é o potencial aplicado e V_{bp} é o potencial de banda plana.

A permissividade do Ni(OH)₂ e do Cu₂O relatadas, a 298 K e 100 Hz, são 6,5 e 7,6, respectivamente (MOTORI, SANDROLINI e DAVOLIO, 1994) (YANG, *et al.*, 2016). A permissividade estimada do compósito Cu₂O/Ni(OH)₂ é de 7,05.

A partir dos coeficientes angulares e manipulando-se a equação (10) de M-S é possível determinar o número de portadores de cargas nos semicondutores (GELDERMAN, LEE e DONNE, 2007).

$$N_d = -\frac{2}{\text{Inclinação} \cdot e_0 \cdot \epsilon_0 \cdot \epsilon} \quad (10)$$

O potencial de banda plana é determinado quando o sistema assume condição de depleção máxima ($C^{-2} = 0$). A partir do coeficiente linear da regressão da faixa de crescimento linear do gráfico de M-S, da equação de M-S manipulada (09), tem-se que:

$$E_{bp} = \frac{\text{Intercepto}}{\text{Inclinação}} + 0,026V \quad (09)$$

Tal aumento na quantidade de doadores de carga está associado a maior número de sítios ativos disponíveis na superfície do sensor fotoeletroquímico, tal

característica afeta diretamente na quantidade de moléculas que podem ser oxidadas ou reduzidas em uma mesma quantidade de tempo.

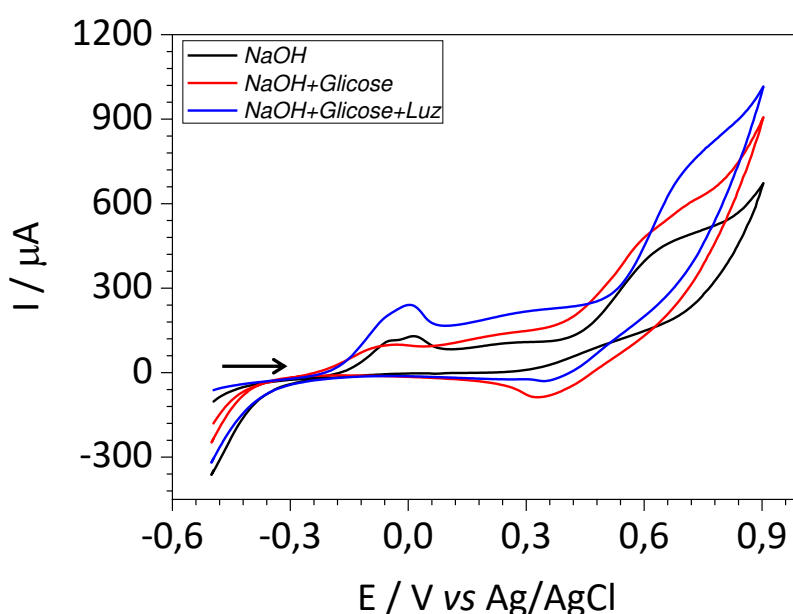
Tabela 2 - N_d e V_{bp} dos sensores $Ni(OH)_2/FTO$ e $Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$. Fonte: próprio autor.

Sensor	Número de doadores N_d	Potencial de banda plana / V
$Ni(OH)_2/FTO$	$3,26 \cdot 10^{19}$	0,088
$Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$	$9,17 \cdot 10^{19}$	0,071

6.1.4. Oxidação fotoeletrocatalítica de glicose na superfície do fotoeletrodo $Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$.

A elucidação do comportamento fotoeletroquímico do fotoeletrodo $Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$ frente a oxidação de glicose em meio alcalino foi realizada através de ensaios exploratórios de VC e EIS.

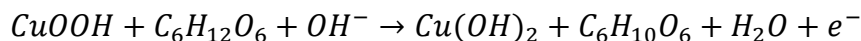
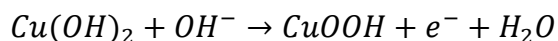
Figura 20 - Voltamogramas cíclicos do fotoeletrodo $Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$ para oxidação de glicose. Dados obtidos em solução aquosa NaOH 0,1 mol L⁻¹; 500 mmol L⁻¹ glicose 0,1 mol L⁻¹ NaOH, a 50 mV s⁻¹, na ausência e na presença de luz. Fonte: próprio autor.



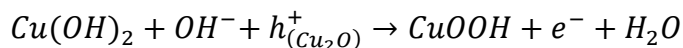
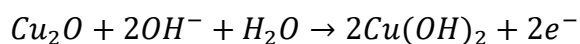
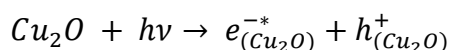
A Figura 20 exibe os perfis voltamétricos do comportamento do sensor na presença de luz e de glicose em NaOH 0,1 mol L⁻¹. Na ausência de glicose e de luz

(linha preta) o sensor fotoeletroquímico $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$, apresenta apenas os picos referentes aos pares redox do níquel e do cobre (seção 6.1.2).

Quando o sensor proposto é colocado em solução contendo glicose 500mmol L^{-1} (linha vermelha), a corrente associada ao processo de conversão $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^{3+}$, em aproximadamente $0,50\text{V}$, torna-se mais intensa, ou seja, há favorecimento de formação da espécie de Cu^{3+} , um dos principais responsáveis pela oxidação de glicose (MAAOUI, , *et al.*, 2016) (KHATIB e HAMEED, 2011), contudo não há modificação visível da cor da superfície, o que suporta a ideia de que apenas uma monocamada é formada.



No entanto, quando o sistema é posto sob a influência de luz há um ganho expressivo nas correntes anódicas do sistema, tanto para o sinal de corrente oriundo da formação da espécie de Cu^{2+} quanto para a formação do Cu^{3+} . Contudo, a única espécie com atividade fotoeletroquímica presente no sistema é o Cu_2O (*bandgap* $\sim 2,1\text{ eV}$), logo é provavelmente este o principal a sofrer ação da luz. Tal característica leva à seguinte conclusão:



Logo há o favorecimento da formação do oxi-hidróxido de cobre (CuOOH) um intermediário importante, e reconhecido catalizador, para oxidação de glicose (MAAOUI, , *et al.*, 2016), ou seja, quanto mais CuOOH é formado mais sítios ativos são criados, favorecendo a cinética de oxidação de glicose.

Além do aumento do número de sítios ativos, outro fator que têm bastante influência é a cinética de troca eletrônica do sistema, intrinsecamente ligada à resistência a transferência de cargas na interface fotoeletrodo eletrólito, sendo o estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica uma poderosa técnica para a obtenção de tal parâmetro.

A Figura 21 apresenta os gráficos de Nyquist para a resposta estudada do efeito composicional e da influência da iluminação na oxidação de glicose. Os ensaios foram realizados em 0,1 mol L⁻¹ NaOH e 0,1 mol L⁻¹ glicose, em OCP, e amplitude de potencial de 10 mV na faixa de frequências de 10 MHz a 100 mHz.

A partir dos gráficos de Nyquist da Figura 21a, foi possível observar que Ni(OH)_2 apresentou menor resistência à transferência de cargas (R_{tc}) que o Cu_2O , menor semicírculo, que pode ser entendido como melhor poder catalítico para o hidróxido de níquel. Porém a o compósito $\text{Cu}_2\text{O/Ni(OH)}_2$ apresentou R_{tc} menor que ambas as espécies isoladas, tal fenômeno pode ser interpretado como a presença de efeito sinérgico de combinação de ambas as espécies na oxidação de glicose.

A Figura 21b apresenta o efeito de iluminação na eletrooxidação de glicose no sensor $\text{Cu}_2\text{O/Ni(OH)}_2/\text{FTO}$, o sistema apresentou-se menos resistivo aos processos de transferência de cargas entre as espécies em solução e o fotoeletrodo, tal fenômeno era esperado visto que o Cu_2O pode ser excitado por luz em comprimentos de onda na faixa do visível. Os dados de ajuste dos ensaios de EIS estão resumidos na Tabela 3.

Figura 21 - Gráficos de Nyquist para avaliação da oxidação de glicose na superfície de: a) $\text{Cu}_2\text{O}/\text{FTO}$, $\text{Ni(OH)}_2/\text{FTO}$ e $\text{Cu}_2\text{O/Ni(OH)}_2/\text{FTO}$. b) avaliação do efeito da luz no processo de oxidação. Dados obtidos em glicose 0,1 mol L⁻¹ NaOH 0,1 mol L⁻¹, OCP na faixa de frequências de 100 kHz a 100 mHz. Fonte: próprio autor.

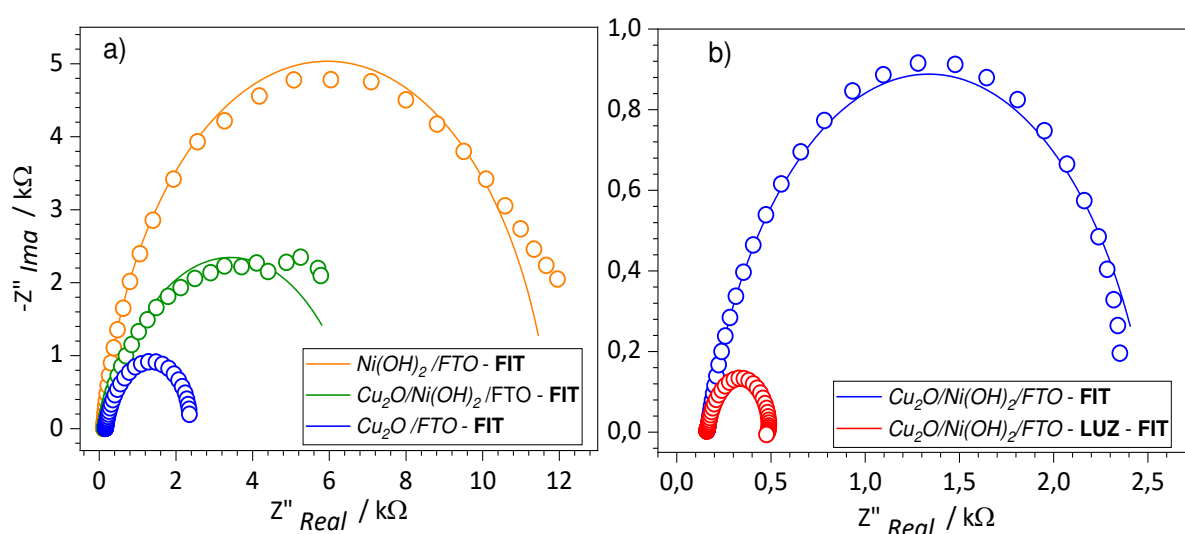
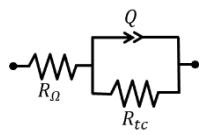
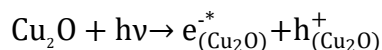


Tabela 3 - Dados de resistências e capacitâncias obtidos por simulação ajustado aos dados reais. Fonte: próprio autor.

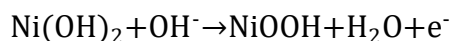
Sensor	$R_{\Omega}/10^3 \Omega$	$R_{tc}/10^3 \Omega$	$Q/10^{-6} F$	Circuito associado
Cu_2O/FTO	109,0	11,70	15,10 $n=0,91$	
$Ni(OH)_2/FTO$	132,0	6,59	63,30 $n=0,79$	
$Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$	162,0	2,30	78,30 $n=0,83$	
$Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO - Luz$	160,0	0,34	102,00 $n=0,84$	

Logo, a partir de dados espectrofotométricos disponíveis para o Cu_2O (NIAN, HU e TENG, 2008), dos dados de caracterização e do comportamento eletrocatalítico do fotoeletrodo $Cu_2O/Ni(OH)_2/FTO$ anteriormente apresentado, é possível propor um mecanismo fotoeletroquímico para a quantificação de glicose conforme descrito nas etapas a seguir:

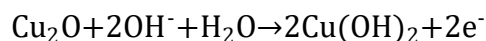
- i. Devido ao seu pequeno *bandgap* o Cu_2O é excitado pela luz incidente criando o par elétron lacuna ($e_{(Cu_2O)}^-/h_{(Cu_2O)}^+$) em sua estrutura de bandas;



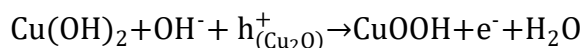
- ii. Devido ao pH do meio e o potencial aplicado ao sistema o $Ni(OH)_2$ é oxidado a $NiOOH$;



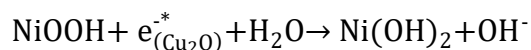
- iii. Devido ao pH do meio e o potencial aplicado ao sistema o Cu_2O é oxidado a $Cu(OH)_2$;



- iv. O $Cu(OH)_2$ reage com a lacuna $h_{(Cu_2O)}^+$ oxidando-se a $CuOOH$;



- v. O $NiOOH$ reage com o elétron fotoexcitado $e_{(Cu_2O)}^*$ reduzindo-se a $Ni(OH)_2$;



- vi. A glicose reage quimicamente com o $CuOOH$ oxidando-se a gluconolactona (WOJNICKI, *et al.*, 2013) e reduzindo o $CuOOH$ a $Cu(OH)_2$.

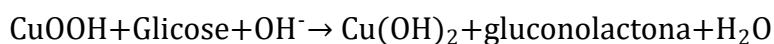
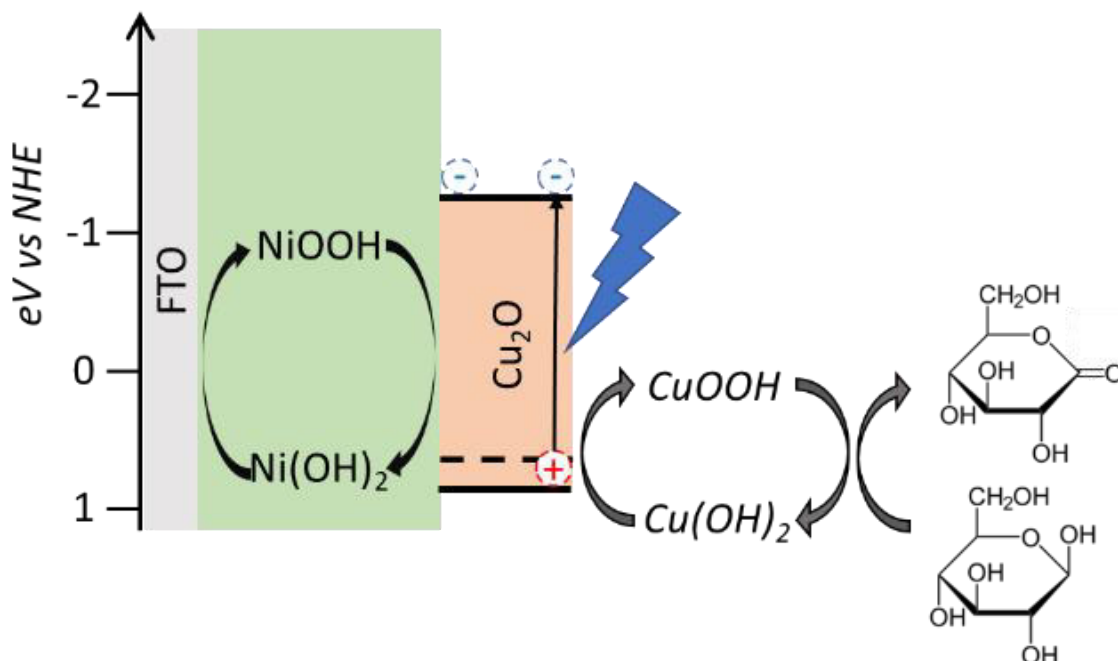


Figura 22 - Esquema proposto para a fotoeletrooxidação de glicose na superfície do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$. Fonte: próprio autor.



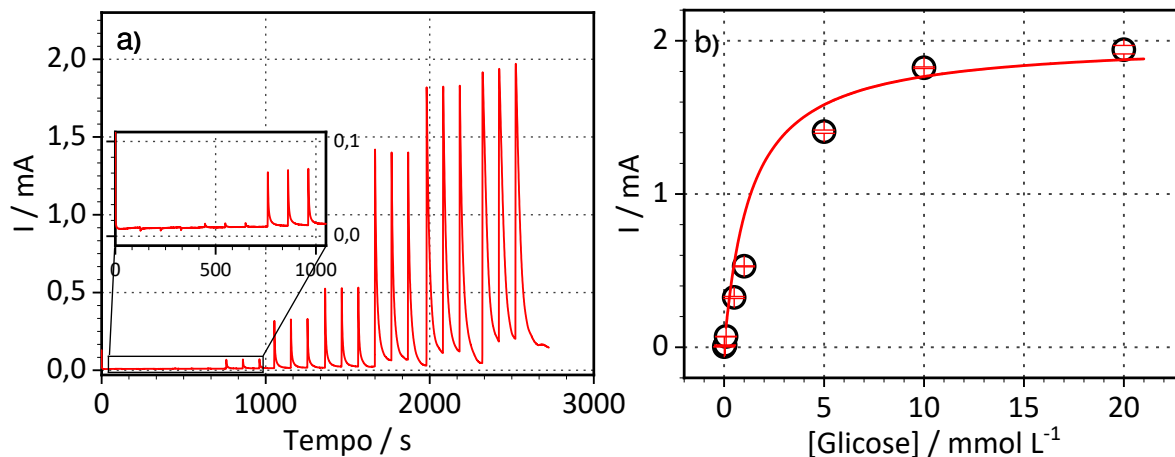
6.2. Comportamento mimético do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para quantificação de glicose.

Para avaliar o comportamento mimético do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$, foi feito um estudo por injeção em batelada de glicose, até a concentração de 20 mmol L^{-1} . A partir de tal é possível determinar a constante aparente de Michaelis-Menten (K_m^{ap}) (ANUSHA, *et al.*, 2015).

Esta constante será importante para determinar a concentração máxima que o sensor proposto conseguirá quantificar dentro de uma faixa de detecção linear, além do que este também pode ser interpretado como o grau de afinidade entre o composto e a molécula do analito. Como pode ser observado na Figura 23 as correntes de detecção apresentam dependência hiperbólica com a concentração de glicose injetada, ou seja, podem ser modelados pela equação de Michaelis-Menten:

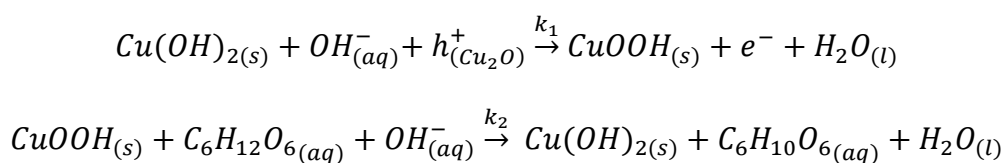
$$i = \frac{i_{\max}[\text{glu}]}{K_m^{ap} + [\text{glu}]} \quad (13)$$

Figura 23 – a) Biagrama para injeções de glicose em múltiplas concentrações b) gráfico Corrente vs concentração de glicose. Dados obtidos em NaOH 0,1 mol L⁻¹, sob potencial aplicado 0,5 V. Fonte: próprio autor.



Para estimar K_m^{ap} foi usado a relação de duplo recíproco de Lineweaver-Burke, ou seja, fez-se regressão linear entre do inverso da corrente pelo inverso da concentração de glicose. A corrente máxima lida no sistema foi 1.94 mA (i_{max}) e a K_m^{ap} estimada, pelos dados obtidos e pela equação 13 linearizada, foi 1,32 mmol L⁻¹.

Neste trabalho, a constante aparente de Michaelis-Menten é tida como a razão entre as constantes de velocidade de formação do CuOOH a partir do Cu(OH)₂, e a constante de velocidade de oxidação de glicose.



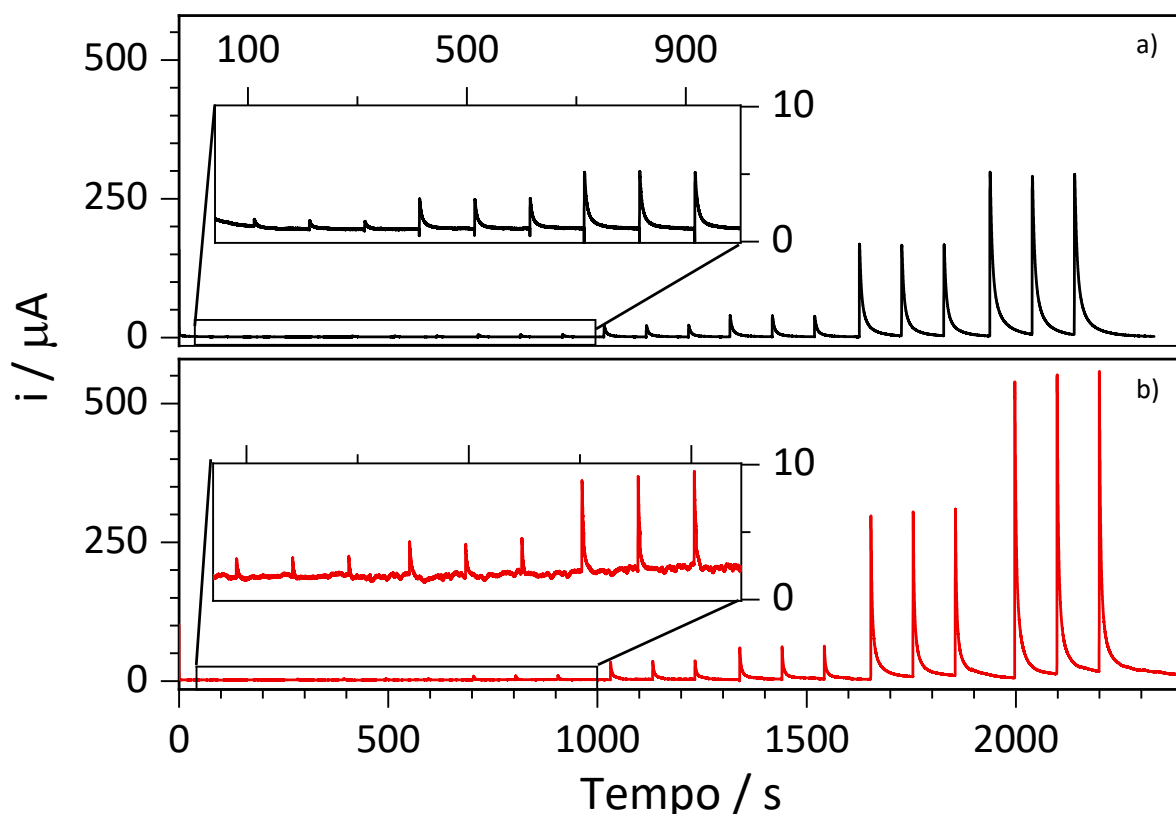
Como para uma reação mimética tem-se que $K_m^{ap} = (k_1 + k_2)/k_1$, como o valor determinado para K_m^{ap} é de 1,32 mmol L⁻¹, isso implica em valor de $k_2 < k_1$, portanto a reação é limitada pela velocidade de conversão de glicose em gluconolactona.

Outro impacto importante do valor da constante aparente sobre o comportamento do sistema é a determinação do valor máximo da região de resposta linear, que foi estimando em 1,32 mmol L⁻¹ de glicose, concentração a partir do qual o efeito estérico de moléculas em sítios ativos vizinhos começa a mostrar-se mais intenso. Contudo afim de preservar a confiabilidade dos dados em quesito de precisão, este limite superior foi fixado em 1,00 mmol L⁻¹.

6.3. Desempenho do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para quantificação de glicose em célula de Análise por Injeção em Batelada assistida por fotoeletroquímica (PEC-BIA).

A resposta regular do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para a quantificação de glicose na célula PEC-BIA foi obtida através de sucessivas injeções de 25 μL glicose nas concentrações 0,001; 0,005; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5 e 1,0 mmol L^{-1} , usando-se 70 mL de NaOH 0,1 mol L^{-1} como eletrólito de suporte sob potencial de 0,5 V, na presença e na ausência de luz.

Figura 24 – Biagramas de quantificação de glicose na PEC-BIA com o fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$: a) na ausência e b) na presença de luz. Sob potencial de 0,5 V na ausência (preto) e na presença (vermelho) de excitação por luz. Fonte: próprio autor.

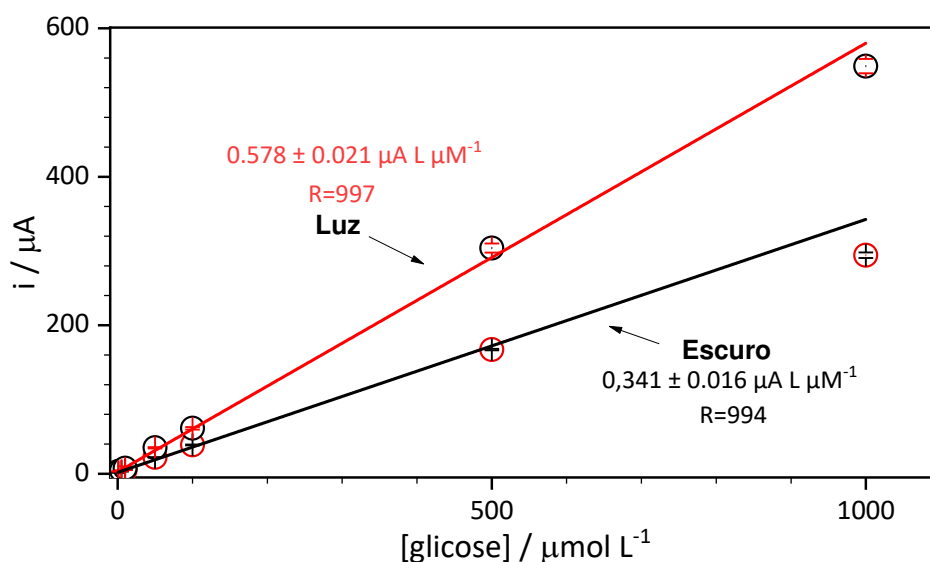


A Figura 21 apresenta os cronoamperogramas para quantificação de glicose e observando-a é perceptível o ganho de corrente à medida que a concentração da injeção de glicose é aumentada. Outro fato importante é o ganho de corrente promovido

pela luz ($\sim 1,7x$). No sistema fotoexcitado a corrente total é a soma de duas componentes: corrente do processo eletroquímico, que ocorre na ausência de luz, e a fotocorrente que acontece na presença de luz, Figura 24 a) e b).

Outra característica deste sistema é tempo necessário para obter-se o valor do sinal amperométrico de resposta de cem segundo, este tempo compreende o período de formação da corrente máxima (< 1 segundo) e o tempo necessário para a corrente voltar ao valor de base.

Figura 25 - Curvas de calibração para quantificação de glicose na célula PEC-BIA. Dados adquiridos sob potencial aplicado de 0,5 V vs Ag/AgCl/KCl_(sat) na ausência (preta) e na presença (vermelha) de excitação por luz. Fonte: próprio autor.



A Figura 25 apresenta a relação entre as concentrações de glicose injetadas e as correntes observadas, onde é possível estabelecer relação linear entre as concentrações e as correntes através das equações obtidas pela regressão linear $i/\mu\text{A}=2,35+0,57\cdot[\text{glic.}/\mu\text{mol L}^{-1}]$ (luz) e $i/\mu\text{A}=1,64+0,34\cdot[\text{glic.}/\mu\text{mol L}^{-1}]$ (escuro). As sensibilidades encontradas na ausência e presença de luz foram $0,341 \pm 0,016 \mu\text{A L } \mu\text{M}^{-1}$ e $0,578 \pm 0,021 \mu\text{A L } \mu\text{M}^{-1}$ respectivamente, que representa em ganho de 1,7 vezes de sensibilidade.

A faixa linear para o sistema fotoexcitado é de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ a 1 mmol L^{-1} , que é uma das maiores encontradas quando comparados com outros sensores não-

enzimáticos da literatura (anexo A); o limite de detecção foi estimado em $0,60 \mu\text{mol L}^{-1}$ (três vezes o desvio padrão do branco) o limite de quantificação testado foi de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$.

É importante destacar que, quando o sensor foi colocado sob influência de luz houve um aumento significativo na resposta. As sensibilidades encontradas na ausência e presença de luz foram $0.341 \pm 0.016 \mu\text{A L } \mu\text{M}^{-1}$ e $0.578 \pm 0.021 \mu\text{A L } \mu\text{M}^{-1}$ respectivamente, que significa em um ganho de 1,7 vezes de sensibilidade. A faixa linear estimada para o sistema excitado é de $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ a 1 mmol L^{-1} , que é uma das maiores encontradas quando comparados com outros sensores não-enzimáticos da literatura (anexo A); o limite de detecção foi estimado em $0,60 \mu\text{mol L}^{-1}$ (três vezes o desvio padrão) o limite de quantificação foi estimado em $1 \mu\text{mol L}^{-1}$.

6.3.1. Aplicação em amostras de plasma artificial.

Para verificar a aplicabilidade do sensor em amostras reais, o mesmo foi usado para quantificar glicose em amostras de plasma humano artificial (LIU, QIU, *et al.*, 2006). O ensaio consistiu em diluir amostra a 5% em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para então serem injetadas.

Os testes de recuperação (Tabela 4) consistem em verificar a exatidão percentual do método, fazendo-se a razão entre a concentração conhecida injetada $[\text{glic.}_{(\text{conh.})}]$ e a concentração encontrada pelo método $[\text{glic.}_{(\text{enc.})}]$.

A Tabela 4 apresenta os dados de recuperação percentual de concentração de glicose encontrados pelo método proposto, o sensor apresentou bons valores (97 % - 102 %) que demonstram que o este pode ser aplicado em amostras reais de plasma humano com boa acuidade.

Tabela 4 - Teste de recuperação para determinação de glicose em amostras de plasma humano artificial. Fonte: próprio autor.

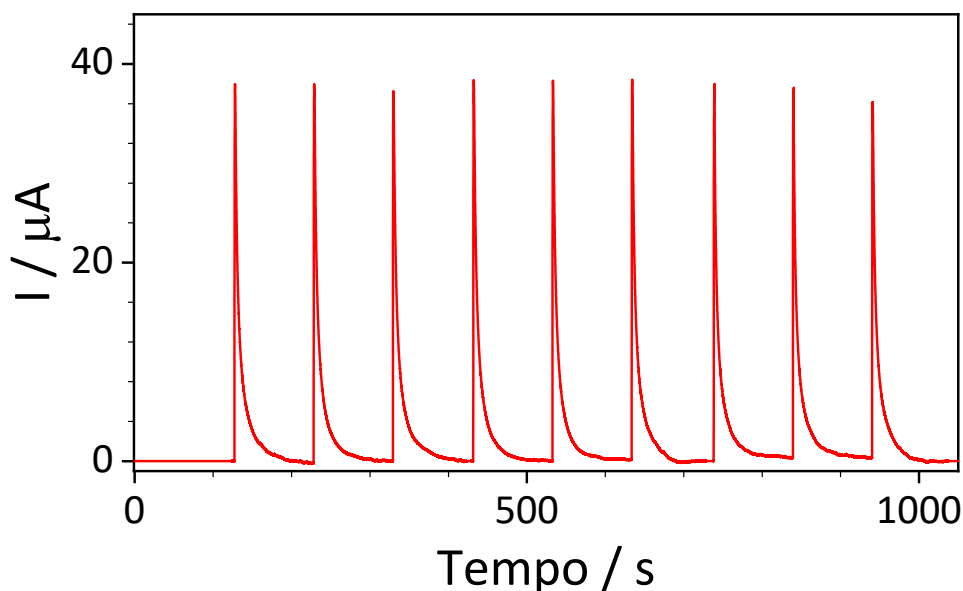
Amostra	Adicionada $\mu\text{mol L}^{-1}$	Encontrada $\mu\text{mol L}^{-1}$	Recuperação %
Amostra	0.0	0	-
Amostra	50.00	48.50	97.0 %
Amostra	100.00	102.00	102.0 %

6.4. *Teste de estabilidade e repetitividade do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$.*

Para investigar a estabilidade do fotoeletrodo, o mesmo foi usado por três meses na célula PEC-BIA na obtenção de múltiplas curvas analíticas, por pelo menos uma vez por semana. Após cada ensaio o fotoeletrodo foi lavado com água destilada e armazenado em local limpo seco e na ausência de luz. Através do monitoramento das correntes de resposta para injeções na concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi possível notar que após 3 meses o sensor ainda apresentava 92,02 % de suas respostas originais.

A repetitividade de resposta do sensor é o parâmetro mais importante para precisão do método. A Figura 26 exhibe as respostas de corrente do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ na célula PEC-BIA, frente a múltiplas injeções de $25 \mu\text{L}$ de alíquotas de glicose na concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, neste ensaio a corrente média gerada pelas injeções foi $37,78 \pm 0,68 \mu\text{A}$ com desvio padrão relativo de 1,99%.

Figura 26 - Teste de repetitividade de sinal de corrente do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ na célula PEC-BIA. Dados obtidos para múltiplas injeções de $25 \mu\text{L}$ de glicose $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, sob potencial de 0,50 V. Fonte: próprio autor.



6.5. Ensaios de seletividade do $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$ para amostras de plasma humano.

Os testes de seletividade foram feitos com algumas substâncias eletroativas normalmente encontradas em plasma humano, para verificar se a atividade destes compostos poderia interferir na quantificação de glicose. Para isto foram preparadas soluções contendo a concentração biológica normal de glicose, epinefrina, ácido úrico, ácido ascórbico e ureia Tabela 5 (KREBS, 1950).

Tabela 5 - Concentrações das espécies usadas nos testes de interferência. adaptado de (KREBS, 1950).

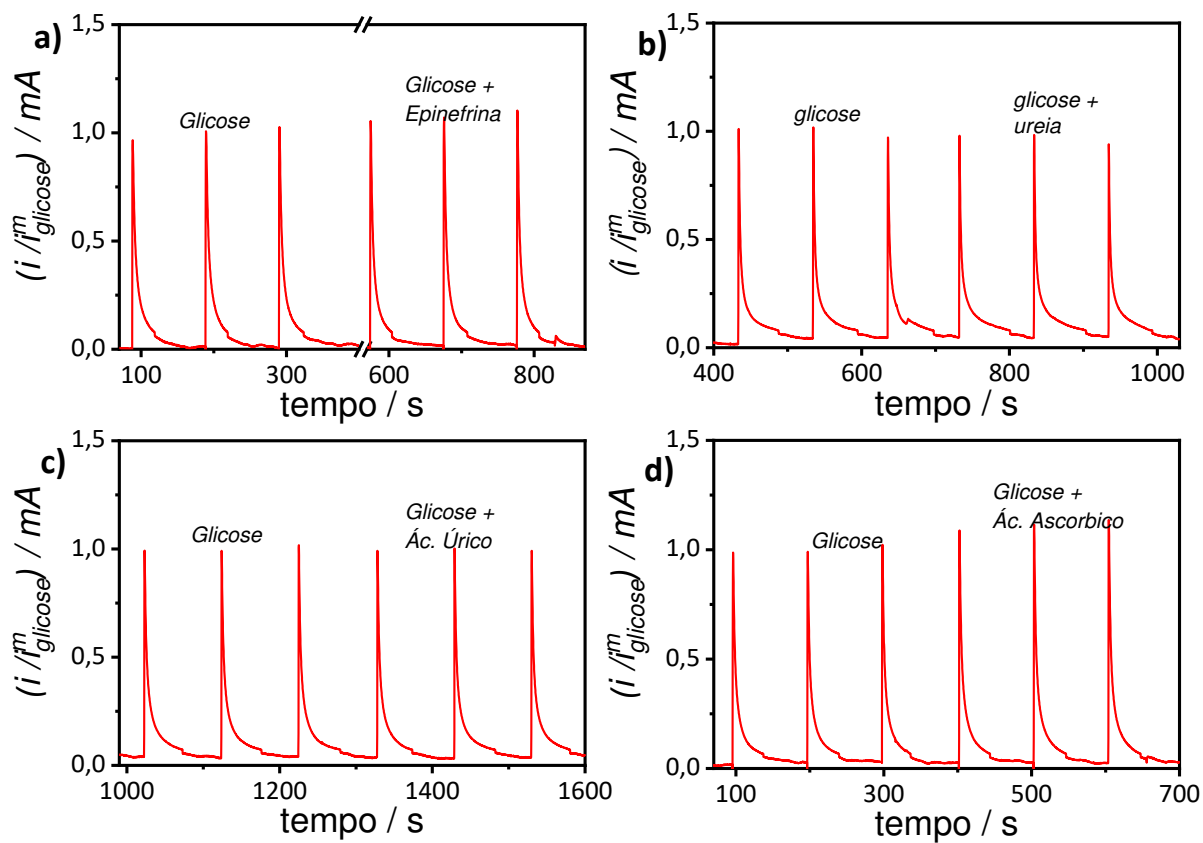
	Glicose	Epinefrina	Ureia	Ácido úrico	Ácido ascórbico
[Analito] /mmol L⁻¹	$1 \cdot 10^{-1}$	$5,24 \cdot 10^{-4}$	4,51	$2,38 \cdot 10^{-1}$	$5,79 \cdot 10^{-2}$

A Figura 27 apresenta os biagramas com respostas normalizadas para os ensaios de interferência. Dos interferentes selecionados a ureia, o ácido úrico e a epinefrina não apresentaram atividade interferente significativa. A única substância com atividade interferente significativa foi o ácido ascórbico. Contudo, é bom frisar que neste teste a concentração de ácido ascórbico adotada é referente à concentração encontrada em um paciente que tenha consumido 600 mg de tal substância a pelo menos uma hora antes da coleta da amostra do plasma, porém as concentrações normais deste ácido no plasma humano são cerca de 20 vezes menor do que a utilizada neste experimento (KREBS, 1950), a Tabela 6 em porcentagem a variação na corrente normalizada obtidas a partir dos valores médios de corrente provenientes dos biagramas apresentados na Figura 27.

Tabela 6 - Níveis de interferência para as espécies selecionadas. Fonte: próprio autor.

	Epinefrina	Ureia	Ácido úrico	Ácido ascórbico
Interferência / %	6,9	3,7	0,7	11,0

Figura 27 – Biagramas de ensaios de interferentes. Dados obtidos sob potencial 0,5 V, na presença de luz para ureia, epinefrina, ácido úrico e ácido ascórbico. Fonte: próprio autor.



7. CONCLUSÃO.

Neste trabalho foi apresentado, pelo melhor do nosso conhecimento, a construção da primeira célula fotoeletroquímica para análises por injeção em batelada (PEC-BIA) usando impressão 3D com material biodegradável.

A partir dos dados de caracterização foi demonstrado as características fotoeletroquímicas do fotoeletrodo $\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$, para tal foram empregadas as técnicas de voltametria cíclica e de impedância eletroquímica para verificar as influências da composição do fotoeletrodo e da incidência de luz no material.

Os estudos por injeção em célula PEC-BIA com fotoexcitação mostraram-se promissores, observando que quando o sistema esteve sob influência de luz houve ganho em cerca 1,7 vezes na sensibilidade do sistema para detecção da glicose.

As análises na célula PEC-BIA mostraram-se robustas, com boa sensibilidade ($0.578 \pm 0,021 \mu\text{A L } \mu\text{M}^{-1}$), limite de detecção ($0.60 \mu\text{M}$) e limite de quantificação ($1 \mu\text{M}$), com tempos de aquisição de dados menores que 100 segundos. Os testes de repetibilidade e de estabilidade mostraram que o fotoeletrodo é robusto e reutilizável.

Para detecção de glicose em plasma humano o fotoeletrodo mostrou-se suficientemente seletivo frente os principais interferentes. A exatidão mostrou-se em níveis condizentes para aplicações em amostras reais, mostrados nos testes de recuperações (97 – 102%).

A combinação da análise por injeção em batelada e a fotoeletroquímica mostrou-se promissora, tanto na aplicação deste trabalho, como em trabalhos futuros. O sistema mostrou-se robusto o suficiente para aplicações em situações reais.

Por fim é importante frisar que a tecnologia de impressão em 3D está tornando-se cada vez mais barata e acessível e também que o método proposto faz uso apenas de separação do plasma das hemácias e posterior diluição como método de preparo de amostras, tornando-o mais simples, e levando em consideração a existência de potenciostatos miniaturizados, a célula PEC-BIA possui potencialidade para projetos portáteis para uso em análises *in situ*.

REFERÊNCIAS.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 37, p. S81-S90, 2014.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Glycemic Targets: Standards of Medical Care in Diabetesd 2018. **Diabetes Care**, v. 41, 2018.

ARMENTA, S.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. D. L. Green Analytical Chemistry. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 497-511, 2008.

ATACAN, K.; TOPALOĞLU, B.; ÖZACAR, M. New CuFe₂O₄/amorphous manganese oxide nanocomposites used as photocatalysts in photoelectrochemical water splitting. **Applied Catalysis A: General**, v. 564, p. 33-42, 2018.

ATKINSON, M. A.; EISENBARTH, G. S.; MICHELS, A. W. Type 1 diabetes. **The Lancet**, v. 383, n. 9911, p. 69-82, 2013.

BABAEI, A.; TAHERI, A. R. Nafion/Ni(OH)₂ nanoparticles-carbon nanotube composite modified glassy carbon electrode as a sensor for simultaneous determination of dopamine and serotonin in the presence of ascorbic acid. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 176, p. 543-551, 2013.

BANICA, F. **Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications**. 1^a. ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2012.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods. Fundamentals and applications**. 2^a. ed. [S.l.]: Wiley, 2000.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 69, n. 3, p. 89-95, 2001.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O.; MITOSERIU, L. C. Amperometric batch injection analysis: Theoretical aspects of current transients and comparison with wall-jet electrodes in continuous flow. **Electroanalysis**, v. 7, n. 3, p. 225-229, 1995.

BRETT, C.; BRETT, A. M. O.; MITOSERIU, L. C. Amperometric batch injection analysis: Theoretical aspects of current transients and comparison with wall-jet electrodes in continuous flow. **Electroanalysis**, v. 7, n. 3, p. 225-229, 1995.

BRETT, C.; OLIVEIRA, A. M. **Electrochemistry**: principles, methods, and applications. New York: Oxford University Press Inc., 1993.

CHEN, L.; MAGLIANO, D. J.; ZIMMET, P. Z. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, p. 228-236, 2012.

CHEN, L.; WANG, J.; ANGNES, L. Batch injection analysis with the rotating disk electrode. **Electroanalysis**, v. 3, n. 8, p. 773-776, 1991.

CHENA, D. et al. Engineering efficient charge transfer based on ultrathin graphite-like carbon nitride/WO₃ semiconductor nanoheterostructures for fabrication of high-performances non-enzymatic photoelectrochemical glucose sensor. **Electrochimica Acta**, v. 215, p. 305–312, 2016.

CHOI, K.; KIM, Y. Molecular Mechanism of Insulin Resistance in Obesity and Type 2 Diabetes. **The Korean Journal of Internal Medicine**, v. 25, n. 2, p. 119–129, 2010.

DAMOS, F. S. et al. Visible LED light driven photoelectroanalytical detection of antibodies of visceral leishmaniasis based on electrodeposited CdS film sensitized with Au nanoparticles. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 256, p. 682-690, 2018.

DAMOS, F. S.; MENDES, R. K.; KUBOTA, L. T. Aplicações de QCM, EIS e SPR na investigação de superfícies e interfaces para o desenvolvimento de (bio) sensores. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 970-979, 2004.

DELATORRE, R. G. et al. p-type metal-base transistor. **Applied physics letters**, v. 88, n. 23, p. 233504, 2006.

DENG, Y. et al. In Situ Raman Spectroscopy of Copper and Copper Oxide Surfaces during Electrochemical Oxygen Evolution Reaction: Identification of Cu (III) Oxides as Catalytically Active Species. **ACS Catalysis**, v. 6, p. 2473–2481, Fevereiro 2016.

DEVAN, R. S. et al. One-dimensional metal-oxide nanostructures: recent developments in synthesis, characterization, and application. **Advanced Functional Materials**, v. 22, n. 16, p. 3326-3370, 2012.

EFROS, A. L.; ROSEN, M. The electronic structure of semiconductor nanocrystals. **Annual Review of Materials Science**, v. 30, n. 1, p. 475-521, 2000.

ESLAMIBIDGOLIA, M. J.; GROß, A.; EIKERLING, M. Surface configuration and wettability of nickel (oxy)hydroxides: a first-principles investigation. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 19, n. 34, p. 22659-22669, 2017.

FREIRES, A. S. et al. Exploiting CdSe/ZnS core-shell photocatalyst modified with cytochrome c for epinephrine determination in drugs utilized in cardiopulmonary resuscitation. **Microchemical Journal**, v. 139, p. 18-23, 2018.

GAO, L. et al. Synthesis of Hierarchical Nanoporous Microstructures via the Kirkendall Effect in Chemical Reduction Proces. **Scientific Reports**, v. 5, p. 16061, 2015.

GELDERMAN, K.; LEE, L.; DONNE, S. W. Flat-band potential of a semiconductor: using the Mott–Schottky equation. **Journal of chemical education**, v. 84, n. 4, p. 685-688, 2007.

GOPALAN, A.; MUTHUCHAMY, N.; LEE, K. A novel bismuth oxychloride-graphene hybrid nanosheets based non-enzymatic photoelectrochemical glucose sensing platform for high performances. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 89, p. 352–360, 2017.

GRÄTZEL, M. Photoelectrochemical cells. **Nature**, v. 414, n. 6861, p. 338-344, 2001.

GUNASINGHAM, H. Large-volume wall-jet cells as electrochemical detectors for high-performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 159, p. 139-147, 1984.

GUO, Q. et al. Pd–Ni alloy nanoparticle/carbon nanofiber composites: preparation, structure, and superior electrocatalytic properties for sugar analysis. **Analytical chemistry**, v. 82, n. 12, p. 5898-5905, 2014.

GUO, T. et al. Axisymmetric wall jet development in confined jet impingement. **Physics of Fluids**, v. 29, n. 2, p. 025102, 2017.

HALL, D. S. et al. Raman and Infrared Spectroscopy of α and β Phases of Thin Nickel Hydroxide Films Electrochemically Formed on Nickel. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 116, p. 6771–6784, 2012.

HALL, D. S. et al. Nickel hydroxides and related materials: a review of their structures, synthesis and properties. **Proceedings of the Royal Society A**., v. 471, n. 2174, p. 20140792, 2015.

HANSON, K. M.; PAPPAS, T. J.; HOLLAND, L. A. Electrochemical detection in capillary electrophoresis. **Comprehensive Analytical Chemistry**, v. 45, p. 413-440, 2005.

HENTSCHEL, R. et al. Surface morphology of AlGaIn/GaN heterostructures grown on bulk GaN by MBE. **Journal of Crystal Growth**, v. 500, p. 1-4, 2018.

HISATOMI, T.; KUBOTA, J.; DOMEN, K. Recent advances in semiconductors for photocatalytic and photoelectrochemical water splitting. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 22, p. 7520-7535, 2014.

JADON, N. et al. Recent trends in electrochemical sensors for multianalyte detection – A review. **Talanta**, v. 161, p. 894-916, 2016.

JURDÁKOVÁ, H. et al. FIA-MS/MS determination of creatinine in urine samples undergoing butylation. **Analytical Biochemistry**, v. 549, p. 113-118, 2018.

KANG, Z. et al. Electronic Structure Engineering of Cu₂O Film/ZnO Nanorods Array All-Oxide p-n Heterostructure for Enhanced Photoelectrochemical Property and Self-powered Biosensing Application. **Scientific reports**, v. 5, p. 7882, 2015.

KHATIB, K. M. E.; HAMEED, R. M. A. Development of Cu₂O/Carbon Vulcan XC-72 as non-enzymatic sensor for glucose determination. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 8, p. 3542-3548, 2011.

KIM, P. T. S.-I.; JANG, J.-H. Great improvement in pseudocapacitor properties of nickel hydroxide via simple gold deposition. **Nanoscale**, v. 6, p. 11646, 2014.

KNOCHEN, M. et al. Determination of insolubles in diesel lubricating oil by FIA-visible spectrometry. **Talanta**, v. 64, n. 5, p. 1359-1363, 2004.

KOSKUN, Y. et al. Highly sensitive glucose sensor based on monodisperse palladium nickel/activated carbon nanocomposites. **Analytica Chimica Acta**, n. 1010, p. 37-43, 2018.

KREBS, H. A. Chemical composition of blood plasma and serum. **Annual review of biochemistry**, v. 19, n. 1, p. 409-430, 1950.

KURBANOGU, ; UNAL, M. A.; OZKAN, S. A. Recent developments on electrochemical flow injection in pharmaceuticals and biologically important compounds. **Electrochimica Acta**, 2018.

LI, Y. et al. Carbon quantum dots/octahedral Cu₂O nanocomposites for non-enzymatic glucose and hydrogen peroxide amperometric sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 206, p. 735–743, 2015.

LIAO, S. et al. Integrating a dual-silicon photoelectrochemical cell into a redox flow battery for unassisted photocharging. **Nature Communications**, v. 7, p. 11474, 2016.

LIU, L. et al. Corrosion behavior of Zr-based bulk metallic glasses in different artificial body fluids. **Journal of alloys and compounds**, v. 425, n. 1-2, p. 268-273, 2006.

LOKHANDE, P. E.; PAWAR, K.; CHAVAN, U. S. Chemically deposited ultrathin α -Ni(OH)₂ nanosheet using surfactant on Ni foam for high performance supercapacitor application. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 1, n. 2, 2018.

LYONS, T. J.; BASU, A. Biomarkers in diabetes: hemoglobin A1c, vascular and tissue markers. **Translational Research**, v. 159, n. 4, p. 303-312, 2012.

MAAOUI, H. et al. Non-Enzymatic Glucose Sensing Using Carbon Quantum Dots Decorated with Copper Oxide Nanoparticles. **Sensors**, v. 16, p. 1720, outubro 2016.

MACDONALD, J. R.; BARSOUKOV, E. **Impedance spectroscopy: theory, experiment, and applications**. 2^a. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

MAYNARD, J. D. et al. Noninvasive type 2 diabetes screening: superior sensitivity to fasting plasma glucose and A. **Diabetes Care**, v. 30, n. 5, p. 1120-1124, 2007.

- MISHRA, G. K.; SHARMA, A.; BHAND, S. Ultrasensitive detection of streptomycin using flow injection analysis-electrochemical quartz crystal nanobalance (FIA-EQCN) biosensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 67, p. 532-539, 2015.
- MORA-SERO, I. et al. Impedance spectroscopy characterisation of highly efficient silicon solar cells under different light illumination intensities. **Energy & Environmental Science**, v. 2, n. 6, p. 678-686, 2009.
- MOTORI, A.; SANDROLINI, F.; DAVOLIO, G. Electrical properties of nickel hydroxide for alkaline cell systems. **Journal of Power Sources**, v. 48, n. 3, p. 361-370, 1994.
- MURLIA, C. et al. High-pressure behavior of b-Ni (OH)₂FA Raman scattering study. **Physica B**, v. 307, p. 111-116, 2001.
- NIAN, J.-N.; HU, C.-C.; TENG, H. Electrodeposited p-type Cu₂O for H₂ evolution from photoelectrolysis of water under visible light illumination. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 33, n. 12, p. 2897-2903, 2008.
- O.M.S. **Informe mundial sobre la diabetes: Resumen de orientación**. Organización Mundial de Saúde. [S.l.], p. 4. 2016.
- OLIVEIRA, F. M. D. et al. Alternative method to obtain the Tafel plot for simple electrode reactions using batch injection analysis coupled with multiple-pulse amperometric detection. **Electrochimica Acta**, v. 242, p. 180-186, 2017.
- OLIVEIRA, M. C. Q. D. et al. Online Monitoring of Electrochemical Degradation of Paracetamol through a Biomimetic Sensor. **International Journal of Electrochemistry**, v. 2011, 2011.
- PACHECO, W. F. et al. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516-537, 2013.
- PASCALE, F. et al. Vibrational spectrum of brucite, Mg(OH)₂: a periodic ab initio quantum mechanical calculation including OH anharmonicity. **Chemical Physics Letters**, v. 396, n. 4-6, p. 308-315, 2004.
- PEJCIC, B.; MARCO, R. D. Impedance spectroscopy: Over 35 years of electrochemical sensor optimization. **Electrochimica Acta**, v. 51, n. 28, p. 6217-6229, 2006.

PÉREZ-OLMOS, R. et al. Sequential injection analysis using electrochemical detection: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 54, n. 1-2, p. 1-16, 2005.

PINHAS-HAMIEL, O.; ZEITLER, P. The global spread of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. **The Journal of pediatrics**, v. 146, n. 5, p. 693-700, 2005.

QUINTINO, M. S.; ANGNES, L. Batch injection analysis: An almost unexplored powerful tool. **Electroanalysis**, v. 16, n. 7, p. 513-523, 2004.

RINALDI, A. L.; CARBALLO, R. Impedimetric non-enzymatic glucose sensor based on nickel hydroxide thin film onto gold electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 228, p. 43-52, 2016.

ROMEO, A. et al. Inkjet printed flexible non-enzymatic glucose sensor for tear fluid analysis. **Applied Materials Today**, v. 10, p. 133-141, 2018.

ŘUŽIČKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 98, n. 1, p. 145-157, 1975.

RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 273, p. 329-343, 1990.

SACCO, A. Electrochemical impedance spectroscopy: Fundamentals and application in dye-sensitized solar cells. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, n. 79, p. 814-829, 2017.

SAITO, Y.; KIKUCHI, T. **Voltammetry: theory, types and applications**. New York: Nova Science Publishers, Inc, 2014. ISBN: 978-1-62948-058-9.

SALAZAR, P. et al. New Copper wide range nanosensor electrode prepared by physical vapor deposition at oblique angles for the non-enzymatic determination of glucose. **Electrochimica Acta**, n. 169, p. 195–201, 2015.

SANDER, T. et al. Correlation of intrinsic point defects and the Raman modes of cuprous oxide. **PHYSICAL REVIEW B**, v. 90, p. PHYSICAL REVIEW B, julho 2014.

- SANTOS, A. C. V. D.; MASINI, J. C. A análise por injeção sequencial (SIA): vinte anos em uma perspectiva brasileira. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1949-1956, 2010.
- SANTOS, W. T. P. D. et al. Análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica de múltiplos pulsos: potencialidades e aplicações. **Química Nova**, v. 34, n. 10, p. 1753-1761, 2011.
- SCHRAMM, T. K. et al. Diabetes Patients Requiring Glucose-Lowering Therapy and Nondiabetics With a Prior Myocardial Infarction Carry the Same Cardiovascular Risk: A Population Study of 3.3 Million People. **Circulation**, v. 117, n. 15, p. 1945-1954, 2008.
- SCHRODER, D. K. **Semiconductor material and device characterization**. 3^a. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2006.
- SCHÜGERL, K. et al. Challenges in integrating biosensors and FIA for on-line monitoring and control, v. 14, n. 1, p. 21-31, 1996.
- SHANG, M. et al. One-step electrodeposition of high-quality amorphous molybdenum sulfide/RGO photoelectrode for visible-light sensitive photoelectrochemical biosensing. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 266, p. 71–79, 2018.
- SHEN, S. Y. et al. Synthesis of PdNi catalysts for the oxidation of ethanol in alkaline direct ethanol. **Journal of Power Sources**, v. 195, n. 4, p. 1001-1006, 2010.
- SILVA, F. G. S. D. et al. Self-powered sensor for tannic acid exploiting visible LED light as excitation source. **Electrochimica Acta**, v. 274, p. 67-73, 2018.
- SINGHAL, A. et al. Copper(I) Oxide Nanocrystals – One Step Synthesis, Characterization, Formation Mechanism, and Photocatalytic Properties. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2013, n. 14, p. 2640--2651, Maio 2013.
- SIRIPALA, W.; IVANOVSKAYA, A.; JARAMILLO, T. F. A Cu₂O/TiO₂ heterojunction thin film cathode for photoelectrocatalysis. **Solar Energy Materials & Solar Cells**, v. 77, p. 229-237, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito do tipo 2. **Consenso Brasileiro Sobre Diabetes**, v. 1, 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Métodos para avaliação do controle glicêmico. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**, 2014-2015. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/pdf/diabetes-tipo-2/010-Diretrizes-SBD-Metodos-para-Avaliacao-pg110.pdf>>. Acesso em: 22 Março 2019.

SPENCER, E. A. et al. Diabetes and modifiable risk factors for cardiovascular disease: the prospective Million Women Study. **European journal of epidemiology**, v. 23, n. 12, p. 793, 2008.

STADEN, K. J. F. V.; MASHAMBA, M. M. G.; RALUCA R. I STEFAN. Determination of the total acidity in soft drinks using potentiometric sequential injection titration. **Talanta**, v. 58, n. 6, p. 1109-1114, 2002.

STADEN, K. J. F. V.; MASHAMBA, M. M. G.; STEFAN, R. R. I. Determination of the total acidity in soft drinks using potentiometric sequential injection titration. **Talanta**, v. 58, n. 6, p. 1109-1114, 2002.

STEFANO, J. S. et al. Amperometric determination of omeprazole on screen-printed electrodes using batch injection analysis. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 398-403, 2017.

STRIMBU, K.; TAVEL, J. A. What are biomarkers? **Current Opinion in HIV and AIDS**, v. 5, n. 6, p. 463-466, 2010.

SUBBARAMAN, D. T. R. et al. Enhancing Hydrogen Evolution Activity in Water Splitting by Tailoring Li+Ni(OH)₂-Pt Interfaces. **Science**, v. 334, n. 6060, p. 1256-1260, 2011.

TAN, C. et al. Facet-Dependent Electrical Conductivity Properties of Cu₂O Crystals. **Nano Lettters**, v. 15, n. 3, p. 2155–2160, 2015.

TIAN, J. et al. Solar Cells via Homogeneous Distribution of Quantum Dots in TiO₂ Solar Cells via Homogeneous Distribution of Quantum Dots in TiO₂ filme. **The journal of phisical-chemistry C**, v. 116, p. 18655–18662, 2012.

TOD, J. A. Etiology of Type 1 Diabetes. **Immunity**, v. 32, n. 4, p. 457-467, 2010.

- TORMIN, T. F. et al. Fast and direct determination of butylated hydroxyanisole in biodiesel by batch injection analysis with amperometric detection. **Talanta**, v. 83, n. 3, p. 1274-1278, 2011.
- TUR'YAN, Y. I. et al. Microcell for anodic stripping voltammetry of trace metals. **Fresenius' journal of analytical chemistry**, v. 354, n. 4, p. 410-413, 1996.
- UNMÜSSIGA, T. et al. Non-enzymatic glucose sensing based on hierarchical platinum micro-/nanostructures. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 816, p. 215–222, 2018.
- VAN, J. E. A. M. D. M.; KELLY, J. J.; NOTTEN, P. H. L. The minority carrier recombination resistance: a useful concept in semiconductor electrochemistry. **Journal of The Electrochemical Society**, v. 132, n. 3, p. 638-642, 1985.
- VEJRAŽKA, J. et al. Effect of an external excitation on the flow structure in a circular impinging jet. **Physics of Fluids**, v. 17, n. 10, p. 1409-1414, 2005.
- VIDOTTI, M. et al. Sonochemically synthesized Ni(OH)₂ and Co(OH)₂ nanoparticles and their application in electrochromic electrodes. **Electrochemistry Communications**, v. 8, n. 4, p. 554-560, 2006.
- WANG, G. et al. Thermally enhanced photoelectric emission from GaAs photocathode. **Solar Energy**, v. 174, p. 352-358, 2018.
- WANG, G.; XU, J.; CHEN, H. Progress in the studies of photoelectrochemical sensors. **Science in China Series B: Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 1789-1800, 2009.
- WANG, H. et al. Ni(OH)₂ Nanoplates Grown on Graphene as Advanced Electrochemical Pseudocapacitor Materials. **Journal of the American Chemical Society**, v. 132, n. 21, p. 7472-7477, 2010.
- WANG, J. **Analytical Electrochemistry”, 3rd edition.” (2006): 128. 2^a. ed. New York: Wiley-VCH, 2011.**
- WANG, J. et al. Engineered IrO₂@NiO Core–Shell Nanowires for Sensitive Nonenzymatic Detection of Trace Glucose in Saliva. **Analytical Chemistry**, v. 88, p. 12346-12353, 2016.

- WANG, J.; CHEN, L. Small-volume batch-injection analyser. **Analyst**, v. 119, n. 6, p. 1345-1348, 1994.
- WANG, J.; TAHA, Z. Batch Injection Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 10, p. 1053-1056, 1991.
- WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection analysis with thermistor sensing devices. **Analytical letters**, v. 24, n. 8, p. 1389-1400, 1991.
- WANG, J.; TAHA, Z. Batch injection with potentiometric detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 252, n. 1-2, p. 215-221, 1991.
- WANG, Y. et al. Ternary nanocomposites of Au/CuS/TiO₂ for an ultrasensitive photoelectrochemical non-enzymatic glucose sensor. **Analyst**, v. 143, p. 1699–1704, 2018.
- WANG, L. et al. Surface plasmon aided high sensitive non-enzymatic glucose sensor using Au/NiAu multilayered nanowire arrays. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 111, p. 41–46, 2018.
- WEI, Z. et al. An organic-inorganic hybrid photoelectrochemical storage cell for improved solar energy storage. **Electrochimica Acta**, v. 263, p. 570-575, 2018.
- WOJNICKI, M. et al. Electro-Oxidation of Glucose in Alkaline Media on Graphene Sheets Decorated with Gold Nanoparticles. **Materials Sciences and Applications**, v. 4, p. 162-169, 2013.
- XIAO, H.; TAHIR-KHELI, J.; GODDARD, W. A. Accurate Band Gaps for Semiconductors from Density Functional Theory. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 2, p. 212–217, 2011.
- XU, X. et al. Photoelectrochemical aptasensor based on CdTe quantum dots-single walled carbon nanohorns for the sensitive detection of streptomycin. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 251, p. 564-571, 2017.
- YAN, X. et al. Operando SERS self-monitoring photocatalytic oxidation of aminophenol on TiO₂ semiconductor. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 224, p. 305-309, 2018.

- YANG, G. et al. Excimer laser deposited CuO and Cu₂O films with third-order optical nonlinearities by femtosecond z-scan measurement. **Applied Physics A**, v. 104, n. 1, p. 171-175, 2011.
- YANG, J. et al. A novel nonenzymatic glucose sensor based on functionalized PDDA-graphene/CuO nanocomposites. **Sensors and Actuators B: Chemical**, n. 253, p. 1087–1095, 2017.
- YANG, J.; CHO, M.; LEE, Y. Synthesis of hierarchical Ni(OH)₂ hollow nanorod via chemical bath deposition and its glucose sensing performance. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 222, p. 674–681, 2016.
- YANG, Y. et al. Cu₂O/CuO Bilayered Composite as a High-Efficiency Photocathode for Photoelectrochemical Hydrogen Evolution Reaction. **Scientific Reports**, v. 6, p. 35158, 2016.
- YANG, Y.; LI, Y.; PRITZKER, M. Control of Cu₂O Film Morphology Using Potentiostatic Pulsed Electrodeposition. **Electrochimica Acta**, v. 213, p. 225-235, 2016.
- YAZDANPARAST, S.; KOZA, J. A.; SWITZER, J. A. Copper nanofilament formation during unipolar resistance switching of electrodeposited cuprous oxide. **Chemistry of Materials**, v. 27, n. 17, p. 5974-5981, 2015.
- YU, P. Y.; CARDONA, M. **Fundamentals of semiconductors: physics and materials properties**. 4^a. ed. [S.l.]: Springer, 2010.
- ZAGREB, J. D.; GRAZ, G. D.; ZAGREB, M. I. **Diabetology of pregnancy**. 5^a. ed. [S.l.]: S. Karger AG, 2005.
- ZHANG, Z.; CHANG-ZHI, Z. H. A. O. Progress of photoelectrochemical analysis and sensors. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 41, n. 3, p. 436-444, 2013.
- ZHENG, T. et al. Generation of chip based microelectrochemical cell arrays for long-term and high-resolution recording of ionic currents through ion channel proteins. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 205, p. 268-275, 2014.

ZHU, J. et al. In situ growth of Ni/NiO on N-doped carbon spheres with excellent electrocatalytic performance for non-enzymatic glucose detection. **Journal of Alloys and Compounds**, n. 748, p. Journal of Alloys and Compounds, 2018.

Anexo – A

Tabela comparativa de métodos eletroquímicos e fotoeletroquímicos para quantificação de glicose.

Técnica/Princípio	Plataforma	Faixa linear	L D	Sensibilidade	Estabilidade	K _{ap}	Referência
Sensor eletroquímico amperométrico	CuO/Cu/ITO	1 – 5 mmol dm ⁻³	0.36 µmol dm ⁻³	1.41 A.mol.dm ⁻³ .cm ⁻²	95% (3 meses)		(SALAZAR <i>et al.</i> , 2015)
Sensor eletroquímico amperométrico	Nafion/CuO/Au em eletrodo flexível	3–80µM	2,99 µM	850 µA mM ⁻¹ cm ⁻²	-	7.95 mM	(ROMEO <i>et al.</i> , 2018)
Sensor eletroquímico	Ni/NiO/ N-doped carbon microspheres/GCE	2µM-600µM e 800µM-2500µM	0.31 µM e 0.01 mM	219.19 µA mM ⁻¹ cm ⁻² and 87.88 µA mM ⁻¹ cm ⁻²	-		(ZHU <i>et al.</i> , 2018)
Sensor eletroquímico amperométrico	CuO/PDDA-Grafeno	0,01mM - 1mM	0.014 µM	90 mA mM ⁻¹ cm ⁻²	84 % 30 dias		(YANG <i>et al.</i> , 2017)
Sensor eletroquímico amperométrico	Ni/Pd@ AC/CGE/ N-doped carbon microspheres/GC	0,4µM-4000µM	0.20 µM	4982.2 mA mM ⁻¹ cm ⁻²	90,29% 30 dias		(KOSKUN <i>et al.</i> , 2018)
Sensor eletroquímico amperométrico	c-Ni(OH) ₂ /ITO	2-3862 µM	0.6 µM	2904,9 mA mM ⁻¹ cm ⁻²	-		(YANG, CHO e LEE, 2016)
Sensor eletroquímico amperométrico	IrO ₂ @ NiO core-shell NW	0.005–2.5 mM	0.3 µM	1439.4 µA mM ⁻¹ cm ⁻²	-		(WANG <i>et al.</i> , 2016)
Sensor eletroquímico amperométrico	c-Cu ₂ O/Nafion/CGE	300 – 4100 µM	128 µM	0,241 µA µM ⁻¹ cm ⁻²	-		(LI <i>et al.</i> , 2015)
Sensor fotoeletroquímico amperométrico	Pt micro/nano	Up to 3 mM	84 µM	473 µA µM ⁻¹ cm ⁻²			(UNMÜSSIGA <i>et al.</i> , 2018)
Sensor fotoeletroquímico	Au/CuS/TiO ₂	0.1–3.0 µM	0.03 µM	-	93,90% (2 semanas)		(WANG <i>et al.</i> , 2018)
Sensor fotoeletroquímico amperométrico	MoS _x /RGO	0.15 – 16 mM	0.098 mM	0.122 µA mM ⁻¹ cm ⁻²	94,8% (2 meses)		(SHANG, QI, <i>et al.</i> , 2018)

Sensor fotoeletro-químico amperométrico	BiOCl-Grafeno/ITO	500 μM – 2 mM and 2 mM–10 mM	0.22 mM	1.878 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ and 127.2 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$	97% (4 semanas)	(GOPALAN, MUTHUCHAMY e LEE, 2017)
Sensor fotoeletro-químico amperométrico	nitreto de carbono/ WO_3	0.01 – 7.12 mM	0.1 μM	-	89,5% (30 dias)	(CHENA, JIANGB, <i>et al.</i> , 2016)
Sensor fotoeletro-químico amperométrico	Au/NiAu/ITO	0.005 – 31 mM	0.001 mM	483 $\mu\text{A cm}^{-2} \text{mM}^{-1}$	92 % (3 semanas)	(WANGA, ZHUA, <i>et al.</i> , 2018)
Injeção em batelada assistida por fotoeletroquímica amperométrica	$\text{Cu}_2\text{O}/\text{Ni}(\text{OH})_2/\text{FTO}$	1-1000 μM (1-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) (0.001-1 mmol dm^{-3}) (0.001-1 mM)	0.60 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 100,89 $\mu\text{g L}^{-1}$	0.54 $\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$	92,02% (3 meses)	Presente trabalho