



Sérgio Luís Seixas Filipe

Licenciado em Química Aplicada – Ramo de Biotecnologia

**Desenvolvimento de um sensor de pH
de baixo-custo e flexível para
monitorização biológica**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Bioquímica

Orientador: Elvira Maria Correia Fortunato, Prof. Doutora, FCT - UNL
Coorientador: Lídia Santos, Doutora, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutor José Ricardo Ramos Franco Tavares
Arguente: Prof. Doutor Hugo Manuel Brito Águas
Vogais: Prof. Doutora Elvira Maria Correia Fortunato
Doutora Lídia Santos



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Abril de 2016

Sérgio Luís Seixas Filipe

Licenciado em Química Aplicada – Ramo de Biotecnologia

Desenvolvimento de um sensor de pH de baixo-custo e flexível para monitorização biológica

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Bioquímica

Orientador: Elvira Maria Correia Fortunato, Prof. Doutora, FCT - UNL

Coorientador: Lídia Santos, Doutora, FCT - UNL

Abril de 2016

DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR DE PH DE BAIXO-CUSTO E FLEXÍVEL PARA MONITORIZAÇÃO BIOLÓGICA

© Sérgio Luís Seixas Filipe

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

“Science never solves a problem without creating ten more.”

George Bernard Shaw

AGRADECIMENTOS

É com um enorme sentimento de realização pessoal e profissional que termino mais uma etapa da minha formação académica. Este feito teria sido impossível sem a ajuda de muitas pessoas a quem deixo o meu mais sincero agradecimento.

À minha orientadora, Professora Elvira Fortunato por me ter proporcionado a integração num centro de investigação de excelência, pela orientação e por ser um exemplo a seguir.

À minha coorientadora, Lúcia Santos pela orientação, paciência, conhecimentos transmitidos e capacidade de estímulo ao longo de todo o trabalho. Obrigado pelo apoio.

À Alexandra Gonçalves pela paciência em responder a todos os meus imensos pedidos no laboratório. À Sónia Pereira também pelo apoio no laboratório e pelo cuidado com as minhas amostras para análise. À Daniela Gomes pela ajuda e paciência na visualização das minhas amostras no Microscópio eletrónico de varrimento. Aos restantes colegas do CENIMAT, que embora não estejam mencionados, fomentaram sempre a boa disposição e cooperação no laboratório.

Ao Mauro e à Diana por terem aparecido na minha vida. Que boa surpresa. Ao Hugo, ao Nuno e ao Alexandre que foram e serão sempre grandes pilares na minha vida.

À Carolina por todo o amor, compreensão e ajuda que me deu ao longo desta minha jornada académica. Sem ti não teria sido possível. Te dua! ::)

Aos meus pais que sempre acreditaram na minha pessoa. Devo-vos o Mundo por terem tornado na pessoa que sou. Será sempre até ao fim. Também ao meu irmão que, como irmão mais velho, me cultivou o espírito científico de sempre querer saber mais. Obrigado!

RESUMO

O desenvolvimento de sensores para monitorização biológica, incorporados em diferentes tipos de substratos, é uma área de investigação em constante crescimento. Este tipo de sensores podem ser usados para monitorizar condições de saúde e estado físico, providenciando benefícios significativos em diversas áreas. O pH é um parâmetro fisiológico vital que pode ser usado no diagnóstico e tratamento de doenças, assim como na monitorização de outros processos biológicos. Contudo, os sensores de pH convencionais possuem uma arquitetura difícil de integrar nos dispositivos de diagnóstico da próxima-geração que requerem sensores flexíveis, leves e de tamanho reduzido. O objetivo principal deste trabalho foi o desenvolvimento de um sensor eletroquímico de pH flexível e de baixo-custo para monitorização biológica, utilizando nanopartículas de trióxido de tungsténio como camada ativa do elétrodo de trabalho. Para isso, foram padronizados elétrodos de ouro num substrato flexível de poli-imida, onde foram depositadas diferentes amostras de nanopartículas de WO_3 por *drop-casting*. As nanopartículas com estrutura cristalográfica hexagonal, sintetizadas por um método hidrotermal durante 1 hora, permitiram a medição do pH numa gama de 5 a 9 com uma sensibilidade de -30,6 mV/pH e um erro associado de 2,1 mV. Estas nanopartículas foram então depositadas, também por *drop-casting*, em elétrodos de grafeno poroso produzidos pela técnica de indução a laser, apresentando uma sensibilidade de -10,5 mV/pH, com um erro associado de 2,1 mV. O sensor de pH desenvolvido com elétrodos de grafeno poroso não apresenta um comportamento típico Nernstiniano, devido à elevada espessura da camada de nanopartículas de WO_3 na superfície do elétrodo de trabalho, o que impede a passagem eficaz dos eletrões. Verificou-se assim que o método de deposição de nanopartículas necessita ser otimizado. Contudo, este trabalho permitiu demonstrar que a técnica de indução a laser de grafeno poroso, em substratos de poli-imida, pode ser aplicada ao fabrico de sensores eletroquímicos de baixo-custo, de rápida produção (15 segundos/sensor), flexíveis e de tamanho reduzido.

Palavras-chave: sensor de pH, nanopartículas de trióxido de tungsténio, técnica de indução a laser, grafeno poroso, monitorização biológica

ABSTRACT

The development of sensors for biological monitoring, embedded into different types of substrates, is a growing area of research. These type of sensors can be used to monitor personal health and physical status, thus providing significant benefits in diverse fields. pH is a vital physiological parameter that can be used for disease diagnosis and treatment as well as in monitoring other biological processes. However, conventional pH sensors have an architecture difficult to integrate in the next generation of diagnostic devices, which require flexible, lightweight and small size sensors. The main goal of this work was to develop a flexible and low cost electrochemical pH sensor, using tungsten trioxide nanoparticles as the working electrode active layer. For that, gold electrodes were patterned in a flexible polyimide substrate, were different WO₃ nanoparticles samples were drop-casted. The hexagonal crystallographic structure nanoparticles, synthesized through a hydrothermal method during 1 hour, allowed the pH measurement in a range from 9 to 5 with a sensibility of -30.6 mV/pH and an associated error of 2.1 mV. These nanoparticles were then drop-casted in laser-induced porous graphene electrodes, showing a sensibility of -10.5 mV/pH and an associated error of 2.1 mV. The developed pH sensor, with porous graphene electrodes, doesn't show a typical Nernstian behavior, due to the high thickness of the WO₃ nanoparticles layer on the working electrode surface, which inhibits the effective passage of electrons. This studied revealed that the nanoparticles deposition method still requires some optimization. However, this work has allowed to demonstrate that the porous graphene laser induced technique, in polyimide substrates, can be applied to the manufacture of low cost, fast production (15 seconds per sensor), flexible and small sized electrochemical sensors.

Keywords: *pH sensor, tungsten trioxide nanoparticles, laser-induced technique, porous graphene, biological monitoring*

LISTA DE ACRÓNIMOS

ELISA – *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*

ISFET – *Ion-Selective Field Effect Transistor*

NPs – Nanopartículas

WO₃NPs – Nanopartículas de Trióxido de Tungstênio

CENIMAT – Centro de Investigação em Materiais

NTC – Nanotubos de Carbono

LCD – *Light Crystal Display*

OLED – *Organic Light-Emitting Diode*

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

GP – Grafeno Poroso

GIL – Grafeno Induzido a Laser

DRX – Difração de Raios-X

SEM – Microscopia Eletrônica de Varrimento (do inglês, *Scanning Electron Microscopy*)

FIB – *Focused Ion Beam*

PCA – Potencial de Circuito Aberto

ADE – Agentes Direcionais de Estrutura

ICDD – *International Centre for Diffraction Data*

o1H – WO₃NPs ortorrômbica hidratada com tempo de síntese de 1 hora

h1H – WO₃NPs hexagonal com tempo de síntese de 1 hora

h6H – WO₃NPs hexagonal com tempo de síntese de 6 hora

LISTA DE SÍMBOLOS

- c_H – Concentração dos íons H^+ em mol/dm³
 c^0 – Concentração-padrão
 a_H – atividade relativa de H^+
 γ_H – Coeficiente de atividade molecular de H^+
 m_H – Molalidade dos íons H^+
 m^0 – Molalidade padrão
 E – Potencial
 E_0 – Potencial de referência
 $\{H_s^{+}\}$ – Atividade dos íons H^+ em solução
 $\{H_e^{+}\}$ – Atividade dos íons H^+ no eletrólito
 e^- – Eletrão
 λ – Comprimento de onda do feixe incidente
 θ – Ângulo de Bragg
 n – Número de reflexões
 d_{hkl} – Distância entre planos
 θ_c – Ângulo de contanto
 γ_{SG} – Tensão superficial sólido-gás
 γ_{SL} – Tensão superficial sólido-líquido
 γ_{LG} – Tensão superficial líquido-gás
SiC – Carbetto de Silício
u. a. – Unidade Adimensional

ÍNDICE DE MATÉRIAS

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	V
ABSTRACT	VII
LISTA DE ACRÓNIMOS.....	IX
LISTA DE SÍMBOLOS.....	XI
ÍNDICE DE MATÉRIAS.....	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XV
ÍNDICE DE TABELAS	XIX
1. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	3
2.1. SENSORES: DEFINIÇÃO, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES	3
2.1.1. SENSORES ELETROQUÍMICOS	4
2.2. SENSORES DE PH	5
2.2.1. TRANSDUÇÃO COLORIMÉTRICA	5
2.2.2. TRANSDUÇÃO ELETROQUÍMICA	6
2.3. SENSORES FLEXÍVEIS BASEADOS EM ÓXIDOS METÁLICOS	8
2.3.1. TRIÓXIDO DE TUNGSTÊNIO	9
2.3.2. PRODUÇÃO DOS SENSORES COM NANOPARTÍCULAS.....	11
2.4. GRAFENO	11
2.4.1. GRAFENO POROSO	15
2.4.2. TÉCNICAS DE PRODUÇÃO.....	16
3. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO.....	19
3.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	19
3.2. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO.....	21
3.2.1. FEIXE DE IÕES FOCALIZADOS	22
3.3. ESPETROSCOPIA DE RAMAN.....	23
3.4. ÂNGULOS DE CONTACTO	24

3.5. POTENCIAL DE CIRCUITO ABERTO.....	26
4. DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL	27
4.1. SÍNTESE HIDROTERMAL DE WO ₃ NPS	27
4.2. PRODUÇÃO DOS SENSORES DE PH	28
4.2.1. SENSOR DE PH COM ELÉTODOS DE OURO	28
4.2.2. SENSOR DE PH COM ELÉTODOS DE GRAFENO	29
4.2.3. DEPOSIÇÃO DA CAMADA DE WO ₃ NPS	30
4.3. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA.....	31
5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS	33
5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE WO ₃ SINTETIZADAS.....	33
5.1.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X.....	34
5.1.2. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO	36
5.2. DESENVOLVIMENTO DO SENSOR DE PH	37
5.2.1. SENSOR DE PH COM ELÉTODOS DE OURO	37
5.2.2. SENSOR DE PH COM ELÉTODOS DE GRAFENO POROSO	40
5.2.2.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	43
5.2.2.2. ESPETROSCOPIA DE RAMAN	43
5.2.2.3. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO.....	44
5.3. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA.....	45
5.3.1. SENSIBILIDADE, REPRODUTIBILIDADE E REVERSIBILIDADE DO SENSOR DE PH....	45
5.3.1.1. SENSORES DE PH COM ELÉTODOS DE OURO.....	45
5.3.1.2. SENSORES DE PH COM ELÉTODOS DE GRAFENO POROSO	49
6. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS.....	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
8. ANEXOS	55
A – Fichas cristalográficas das estruturas cristalográficas ortorrômbica hidratada e hexagonal.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Esquema geral do funcionamento de um sensor.	3
Figura 2.2 Indicadores redox com a mudança de cor representada nos diferentes valores de pH.	6
Figura 2.3 Representação esquemática de um sensor de pH de vidro. Adaptado de Silberberg, 2009. ^[14]	7
Figura 2.4 Exemplos de aplicações do WO ₃ desenvolvidas no CENIMAT. (a) Janela electrocrômica; (b) Display electrocrômico num sensor de gás; (c) Sensor colorimétrico; (d) Sensor de pH.	9
Figura 2.5 Representação esquemática da estrutura de bandas do WO ₃ , onde se vê as orbitais O2p totalmente preenchidas e as orbitais W5d vazias. Os números representam o número de eletrões máximo em cada nível energético. Adaptado de Niklasson, 2007. ^[23]	10
Figura 2.6 Célula unitária da estrutura de perovskite. O átomo C representa a lacuna da estrutura com defeito. Adaptado de Marques, 2014. ^[22]	10
Figura 2.7 Laureados com o Prémio Nobel da Física 2010 pelas suas experiências inovadoras em relação ao grafeno. Retirado de Berger, 2014. ^[25]	12
Figura 2.8 Estrutura atômica do grafeno e dos materiais à base do grafeno. Adaptado de Zhang, 2012. ^[30]	12
Figura 2.9 Produção e aplicação do grafeno: (a) Principais produtores de grafeno nos anos de 2012 e 2015; (b) Distribuição de volume de patentes que envolvem grafeno no ano 2015. Adaptado de Peplow, 2015. ^[33]	13
Figura 2.10 Tipos de métodos de produção de grafeno: (a) Esfoliação mecânica de grafite: 1 e 2 – descamação da grafite; 3 e 4 – transferência para o substrato pretendido; (b) Crescimento epitaxial em substratos de SiC: 1 e 2 – aquecimento do substrato a 1500 °C e evaporação dos átomos de Si; 3 – restantes átomos de carbono na superfície do substrato rearranjados na forma de folhas de grafeno. Adaptado de Norimatsu, 2014 e Novoselov, 2012. ^[34,35]	14
Figura 2.11 Dispositivo com membrana de GP para a sequenciação de ADN. É aplicada uma tensão de polarização, V _B , entre os reservatórios para conduzir o ADN pelo nanoporo. Retirado de Xu, 2012. ^[37]	16
Figura 2.12 Técnica de indução a laser de grafeno num substrato de poli-imida. A ampliação mostra uma imagem microscópica da morfologia do GP induzido pelo laser (GIL – grafeno induzido por laser). Adaptado de Lin, 2014 ^[45]	16
Figura 3.1 Equipamento utilizado na Difração de raios-X.	20
Figura 3.2 (a) Equipamento utilizado na Microscopia eletrónica de varrimento; (b) Respresentação esquemática de um equipamento de SEM.	21
Figura 3.3 Espetroscopia de Raman – emissão de radiação: (a) Efeito de Raman normal; (b) Efeito de Raman de ressonância. Adaptado de Kurouski et al, 2015. ^[46]	23
Figura 3.4 Esquema ilustrativo do comportamento de uma gota numa superfície.	24
Figura 3.5 Equipamento utilizado na medição dos ângulos de contato.	25
Figura 4.1 Autoclave e forno utilizados na síntese hidrotermal das WO ₃ NPs.	27
Figura 4.2 Esquema do sensor de pH produzido com o contra-eléctrodo e o eléctrodo de trabalho.	28

Figura 4.3 (a) Equipamento <i>e-beam</i> ; (b) Substrato de poli-imida com a máscara de acetato após a deposição do ouro; (c) Sensor de pH com elétrodos de ouro em substrato de poli-imida.....	29
Figura 4.4 (a) Técnica de indução a laser para a padronização dos elétrodos de GP; (b) Sensores de pH com elétrodos de GP; (c) Sensores de pH com elétrodos de GP com os contatos pintados com tinta condutora de prata.	30
Figura 4.5 Sensores de pH finais com a camada ativa de WO ₃ NPs: (a) sensor de pH com elétrodos de GP; (b) sensor de pH com elétrodos de ouro.	31
Figura 4.6 Aparato experimental para a caracterização eletroquímica dos sensores de pH desenvolvidos.....	32
Figura 5.1 Difractogramas das WO ₃ NPs sintetizadas a pH 1,8. (a) WO ₃ NPs sintetizadas a partir das soluções com Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O e NaCl durante 1 hora (<i>o1H</i>); (b) WO ₃ NPs sintetizadas a partir das soluções com Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O e Na ₂ SO ₄ durante 1 hora (<i>h1H</i>) e 6 horas (<i>h6H</i>).....	34
Figura 5.2 Imagens da geometria das estruturas cristalográficas obtidas na síntese de WO ₃ NPs. (a) Estrutura cristalográfica ortorrômbica hidratada; (b) Estrutura cristalográfica hexagonal. Adaptado de Marques, 2014.	36
Figura 5.3 Imagens de SEM das amostras de WO ₃ NPs sintetizadas.	36
Figura 5.4 Imagens de SEM-FIB da superfícies dos elétrodos de ouro com as três amostras de WO ₃ NPs depositadas: (a) Imagem SEM-FIB do elétrodo com a amostra <i>o1H</i> (estrutura cristalográfica ortorrômbica hidratada); (b) Imagem ampliada da amostra <i>o1H</i> na superfície do elétrodo mostrando a altura da camada formada; (c) Imagem SEM-FIB do elétrodo com a amostra <i>h1H</i> (estrutura cristalográfica hexagonal); (d) Imagem ampliada da amostra <i>h1H</i> na superfície do elétrodo mostrando a altura da camada formada; (e) Imagem SEM-FIB do elétrodo com a amostra <i>h6H</i> (estrutura cristalográfica hexagonal); (f) Imagem ampliada da amostra <i>h6H</i> na superfície do elétrodo mostrando a altura da camada formada. As imagens foram coloridas artificialmente para uma melhor distinção entre as diferentes camadas: amarelo: ouro; verde: WO ₃ NPs <i>o1H</i> ; azul escuro: WO ₃ NPs <i>h1H</i> ; azul vivo: WO ₃ NPs <i>h6H</i>	39
Figura 5.5 Fotografia do sensor de pH com elétrodos de ouro, com o contra-elétrodo e o elétrodo de trabalho em destaque. A camada ativa de WO ₃ NPs é da amostra <i>h1H</i> , cuja imagem SEM é também apresentada.	40
Figura 5.6 Estrutura molecular da poli-imida.....	41
Figura 5.7 Imagens de lupa ótica dos elétrodos de grafeno poroso produzidos pela técnica de indução a laser, num substrato de poli-imida.	42
Figura 5.8 Difractograma do pó de grafeno produzido no laser (a azul) e do substrato de poli-imida (a preto).	43
Figura 5.9 Espetro de Raman do GP na superfície do substrato de poli-imida produzida com 25 W de potência a uma velocidade de 30%.	43
Figura 5.10 Imagens de SEM da morfologia do grafeno produzido na superfície do substrato de poli-imida: (a) Imagem obtida com uma ampliação de 50 X, onde é também possível ver o substrato de poli-imida; (b) Imagem obtida com uma ampliação de 1 KX; (c) Imagem obtida com uma	

ampliação de 3 KX; (d) Imagem obtida com uma ampliação de 20 KX, com o cálculo do diâmetro do poro.	44
Figura 5.11 (a) Imagem de SEM-FIB das NPs <i>h1H</i> na superfície do eletrodo de GP; (b) Imagem ampliada da amostra <i>h1H</i> na superfície do eletrodo mostrando a altura da camada formada. As imagens foram coloridas artificialmente para permitir uma melhor distinção das diferentes camadas: azul: WO_3 NPs <i>h1H</i> ; amarelo escuro: GP.	45
Figura 5.12 Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com eletrodos de ouro e sem camada ativa de WO_3 NPs.	46
Figura 5.13 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra <i>o1H</i> , onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra <i>o1H</i>	46
Figura 5.14 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra <i>h6H</i> , onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra <i>h6H</i>	47
Figura 5.15 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra <i>h1H</i> , onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra <i>h1H</i>	48
Figura 5.16 Testes de sensibilidade e reprodutibilidade das três amostras de WO_3 NPs.	48
Figura 5.17 Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com eletrodos de ouro e sem camada ativa de WO_3 NPs.	49
Figura 5.18 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra <i>h1H</i> , onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra <i>h1H</i>	49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 Gama de aplicações e limitações de elétrodos de pH mais comuns. Adaptado de Kurzweil, 2009. ^[13]	8
Tabela 2.2 Métodos de produção de grafeno, morfologia, características e aplicações do grafeno obtido. Adaptado de Berger, 2014. ^[25]	13
Tabela 4.1 Condições utilizadas na síntese hidrotermal de WO ₃ NPs.	27
Tabela 4.2 Parâmetros de deposição dos elétrodos de ouro (com titânio como promotor de adesão) 29	
Tabela 4.3 Preparação das soluções-tampão.....	31
Tabela 5.1 Nomenclatura das WO ₃ NPs sintetizadas.....	33
Tabela 5.2 Parâmetros da célula das amostras obtidas calculadas com o software <i>HighScore Plus</i> . 34	
Tabela 5.3 Ângulos de contato medidos de uma gota da dispersão de WO ₃ NPs com a superfície do elétrodo de ouro. As dispersões cujos ângulos de contato foram medidos foram em água destilada e na mistura de água destilada com butil éter, nas razões 50:1 e 10:1.	37
Tabela 5.4 Amostras obtidas através da variação da potência e da velocidade para a produção de grafeno por indução a laser no substrato de poli-imida. As resistividades do grafeno obtido foram medidas com um multímetro, mantendo uma distância de 1 cm entre os crocodilos. As medidas foram feitas em triplicado.	41

1. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS

O desenvolvimento de sensores para monitorização biológica, integrados em diferentes tipos de substratos, tem-se tornado uma área de pesquisa intensiva por parte da comunidade científica. Este tipo de sensores podem ser utilizados para monitorizar remotamente condições de saúde e o estado físico de uma pessoa, trazendo benefícios em diversos campos, como por exemplo, no desporto, em aplicações militares e na saúde.

O pH é um parâmetro fisiológico vital que pode ser usado no diagnóstico e tratamento de doenças assim como para monitorizar outros processos biológicos. No entanto, a integração de sistemas de medição de pH na próxima geração de dispositivos para monitorização biológica requer uma arquitetura diferente da que é atualmente usada nos elétrodos de vidro convencionais. Apesar de já terem sido desenvolvidos alguns sensores de pH flexíveis em substratos de papel, em membranas de nitreto de silício e em substratos de poli-imida, apresentam ainda algumas limitações, maioritariamente relacionadas com a resistência à tensão mecânica e à miniaturização.

Os sistemas de medição eletroquímicos baseados em óxidos metálicos apresentam diversas vantagens devido aos seus baixos custos de produção, compatibilização com processos de produção à pequena escala, elevada sensibilidade e abundância. Além disso, a medição do pH pode ser realizada por um método potenciométrico que é uma das técnicas eletroquímicas mais comuns, simples e passíveis de portabilidade.

O trióxido de tungsténio (WO_3) é um óxido metálico bastante promissor devido ao seu baixo custo de produção, elevada estabilidade, elevado controlo na sua morfologia e estrutura na síntese de nanoestruturas. Apresenta ainda mudanças reversíveis de condutividade, elevada sensibilidade, seletividade e biocompatibilidade. Além disso, sendo o WO_3 um semicondutor bastante estudado, é utilizado em diversas aplicações como por exemplo em sensores, material cromogéneo ou como catalisador.

Neste trabalho pretendeu-se desenvolver um sensor de pH flexível e de baixo-custo para ser utilizado na monitorização biológica. Para tal, foram produzidos diferentes tipos de elétrodos planos em substratos poliméricos e utilizou-se nanopartículas de WO_3 (WO_3 NPs) como camada sensível.

As etapas principais deste trabalho englobaram:

- a. Síntese hidrotermal de WO_3 NPs com diferentes estruturas cristalográficas para aplicar no elétrodo de trabalho;
- b. Deposição de elétrodos de ouro em substratos de poli-imida;
- c. Otimização da técnica de indução de grafeno a laser em substratos de poli-imida para utilização como elétrodos de baixo custo;
- d. Produção do sensor de pH e deposição da camada sensível no elétrodo de trabalho;
- e. Caracterização eletroquímica dos diferentes sensores produzidos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Sensores: definição, propriedades e aplicações

Por definição, um sensor é um dispositivo que responde a um estímulo físico ou químico de maneira específica, traduzindo este estímulo num sinal mensurável.^[1,2] De uma forma geral, um sensor é composto por três componentes principais: um recetor sensível a um determinado estímulo externo, um transdutor que converte a informação obtida num sinal mensurável e um detetor que lê o sinal (Figura 2.1).^[1,2]

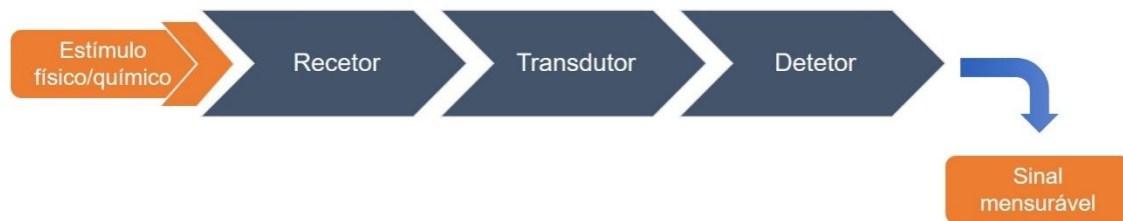


Figura 2.1 Esquema geral do funcionamento de um sensor.

Existem várias classificações possíveis de tipos de sensores, as quais se podem basear no tamanho, tipo de aplicação ou mecanismo de transdução da resposta. Considerando esta última, existem transdutores baseados nos seguintes mecanismos:^[1]

- **Eletroquímico:** voltamétrico, potenciométrico, amperométrico;
- **Químico:** concentração ou presença de um analito/ião, pressão parcial, atividade química;
- **Ótico:** transmissão/absorção, reflexão, luminescência, índice de refração, efeito optotérmico, polarização;
- **Sensíveis à variação de massa:** piezoelétrico, superfície de onda acústica;
- **Magnético:** medidas de paramagnetismo;
- **Efeito térmico:** medidas de mudança de temperatura.

Tendo em conta o tipo de medida a que se destinam, os sensores existentes podem também ser classificados como químicos ou físicos. Os sensores físicos medem propriedades como viscosidade, temperatura, índice de refração, etc.^[1] Os sensores químicos medem normalmente concentrações de fluidos (líquidos ou gases). Dentro dos sensores químicos, inserem-se também os biossensores que detetam amostras biológicas e possuem biorecetores, como por exemplo, enzimas, anticorpos, etc.^[1]

De acordo com a base de dados *Web of Science*, cerca de 680 mil artigos científicos foram publicados contendo a palavra-chave “*sensor*” ou “*sensors*”, desde 2010. Estes trabalhos referem-se a investigações com sensores de diversos tipos e incluem transdução potenciométrica, amperométrica, piezoelétrica, ótica, térmica, condutimétrica, colorimétrica, entre outras. Percebe-se, portanto, a vastidão de uma área vigorosamente crescente. Mesmo no que concerne às técnicas

eletroquímicas, verifica-se a existência de milhares de trabalhos sobre o assunto em que são abordados tópicos sobre novos materiais, aplicações em amostras ambientais, biológicas e de interesse industrial, novos métodos de fabricação, estratégias para melhoria na seletividade e nos limites de detecção, etc.

O desenvolvimento de sensores flexíveis para monitorização biológica, incorporando diferentes tipos de substratos, é uma área em grande desenvolvimento. Sensores deste tipo podem ser incorporados em diferentes têxteis que podem providenciar grandes benefícios em diversas áreas como no desporto, medicina e exército. Tais sensores permitem a monitorização remota do estado de saúde de uma pessoa, tal como o estado físico de soldados ou atletas de alto nível.^[3,4]

Tem vindo também a aumentar a necessidade de uma monitorização constante de contaminantes no nosso ambiente. Devido a novas técnicas e legislações sobre as mesmas, é importante monitorizar o desperdício de resíduos nas águas residuais, bem como a monitorização da emissão de agentes cancerígenos ou resíduos de explosivos para o ambiente. À parte do impacto direto na saúde e no ambiente, a contaminação dos solos e águas pode ter repercussões económico-financeiras bastante consideráveis, daí haver uma grande urgência em desenvolver sensores nestas áreas capazes de oferecer uma monitorização constante *in situ* e em tempo real.^[5,6]

2.1.1. Sensores eletroquímicos

Neste trabalho foi desenvolvido um sensor eletroquímico flexível e de baixo-custo para a quantificação do pH, de forma a permitir a monitorização biológica. Mais especificamente este sensor pode complementar o diagnóstico de doenças, como na deteção de ADN (ácido desoxirribonucleico) de agentes patogénicos, na quantificação de glucose para pacientes com diabetes ou até no controlo da adesão dos anticorpos em microplacas de ensaios de ELISA (do inglês, *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*).^[3,7-9]

Um sensor eletroquímico é normalmente composto por um eléctrodo de trabalho, um contra-eléctrodo, um eléctrodo de referência e um electrólito. Acoplado ao sensor encontra-se o equipamento de medição que funciona como transdutor. A informação obtida nas medidas com estes sensores resulta da interacção do analito alvo com a camada de reconhecimento do eléctrodo de trabalho, originando uma alteração química no recetor (eléctrodo de trabalho), que depois é convertido num sinal eléctrico pelo transdutor.^[5]

Dependendo do tipo de sinal eletroquímico que se pretende medir, existem diferentes técnicas divididas em potenciométricas, condutimétricas, amperométricas ou voltamétricas.

O sensor ideal deve ser específico para um determinado analito alvo, sensível a pequenas alterações na concentração desse mesmo analito, possuir um tempo de resposta rápido, um tempo de vida longo de pelo menos vários meses e um tamanho pequeno com um baixo custo de produção.^[3]

2.2. Sensores de pH

A determinação do pH é uma das medidas mais importantes e comuns em meios biológicos, pois é capaz de indicar as condições de processos importantes como o crescimento populacional, no caso de cultura de micro-organismos, ou o estado metabólico de um paciente, podendo ser aplicado na monitorização de infeção de feridas, no diagnóstico e tratamento de doenças, além de outros processos biológicos.^[3,4]

Os termos “valor de pH” foi introduzido, pela primeira vez, em 1909 pelo bioquímico Søren P. L. Sørensen para descrever a pressão dos iões hidrogénio (H⁺) em soluções aquosas dada pela Equação 2.1, onde c_H é a concentração dos iões H⁺ em mol/dm³ e c^0 é a concentração-padrão que é igual a 1 mol/dm³. O “p” vem do alemão *potenz*, que significa poder de concentração, e o “H” representa o ião de hidrogénio (H⁺).^[10]

$$pH = -\log(c_H/c^0) \quad \text{Equação 2.1}$$

Subsequentemente foi aceite que era mais correto definir a quantidade pH como a atividade relativa dos iões H⁺ em solução, dada pela Equação 2.2:

$$pH = -\log(a_H) = -\log(m_H\gamma_H/m^0) \quad \text{Equação 2.2}$$

onde a_H é a atividade relativa dos iões H⁺, γ_H é coeficiente da atividade molal dos iões H⁺ à molalidade m_H , e m^0 é a molalidade padrão. No entanto, apesar de esta ser a definição aceite pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), a mesma considera que uma vez que a quantidade pH é definida em termos de uma quantidade que não pode ser medida por nenhum método termodinâmico, a Equação 2.2 apenas pode ser considerada uma notação empírica.^[10-12]

Existem vários tipos de medidores de pH que se baseiam essencialmente na transdução colorimétrica ou na transdução eletroquímica.^[10,13]

2.2.1. Transdução Colorimétrica

Os indicadores colorimétricos de pH são frequentemente soluções de ácidos ou bases fracas. Quando adicionados a uma solução, os indicadores de pH ligam-se aos iões H⁺ ou OH⁻. A ligação a estes iões provoca uma alteração da configuração eletrónica dos indicadores, e consequentemente, altera-lhes a cor.^[14]

Existem vários tipos de indicadores colorimétricos que mudam de cor a diferentes intervalos de pH (Figura 2.2).

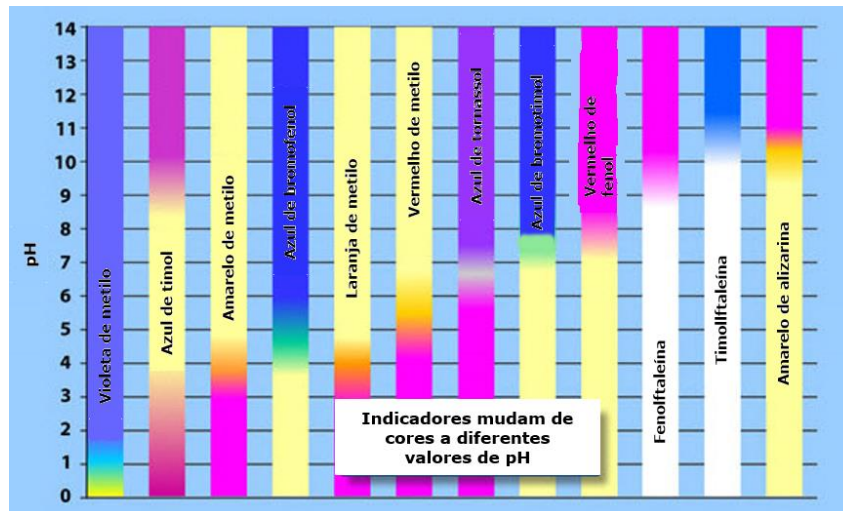


Figura 2.2 Indicadores colorimétricos com a mudança de cor representada nos diferentes valores de pH.

Por exemplo, entre o pH 3,1-4,4 o laranja de metilo ($C_{14}H_{14}N_3O_3SNa$) muda de vermelho para amarelo e é usado como um indicador de ácidos, enquanto que o azul de bromotimol ($C_{27}H_{28}Br_2O_5S$) tem o seu ponto de viragem entre o pH de 6,0-7,6, mudando da cor amarela para azul, sendo assim usado como indicador de bases.

A concentração das formas dissociadas e não dissociadas deve ser diferente, pois o equilíbrio deve estar deslocado para se perceber a alteração de cor do indicador. O ponto de viragem ocorre quando a solução entra em equilíbrio.^[14]

Estes indicadores colorimétricos são vendidos comercialmente sob a forma de solução ou, mais comumente, sob a forma de tiras de teste colorimétricas.

2.2.2. Transdução Eletroquímica

O princípio da medida do pH por potencial elétrico consiste na determinação da atividade iónica do hidrogénio utilizando o eléctrodo padrão de hidrogénio, que consiste de uma haste de platina sobre a qual o gás hidrogénio flui a uma pressão de 101 kPa. O eléctrodo de hidrogénio, no entanto, não é bem-adaptado para uso universal, especialmente em trabalho de campo ou em soluções contendo espécies químicas que contaminam o eléctrodo. Assim, utiliza-se geralmente um eléctrodo de vidro. Ao mergulhar o eléctrodo na amostra, a diferença entre as atividades dos iões H^+ da solução interna e a amostra gera o potencial elétrico a ser medido.^[14,15]

Os sensores de pH de vidro surgiram em 1909, baseado nas experiências de Cremer (1906), sobre membranas de vidro, F. Haber e Z. Klemensiewicz que consistia num balão de vidro cheio com um eletrólito e por dentro um eléctrodo de referência de prata/cloreto de prata. Foi por volta dos anos 70 que começaram a haver medidores potenciométricos disponíveis no mercado. Em 1986, Ingold substituiu o líquido eletrolítico do interior do tubo por um gel eletrolítico, de modo a diminuir a perda de eletrólito pelas junções entre o eléctrodo de referência e a solução exterior, mas tendo assim um tempo de vida menor. Com a criação do eléctrodo de junção dupla introduziu-se uma câmara adicional entre o eléctrodo de referência e a solução exterior de forma a evitar contaminações do eletrólito.^[13]

Atualmente, o elétrodo de vidro (Figura 2.3) é um bolbo construído em vidro especial contendo uma solução de concentração fixa (0,1 ou 1 M de HCl) ou uma solução-tampão de cloreto de prata em contato com o elétrodo de referência interno (normalmente constituído de prata revestida com cloreto de prata) que assegura um potencial constante na interface da superfície interna do sensor com o eletrólito, mantendo, desta forma, a atividade a_{iI} constante.^[14]

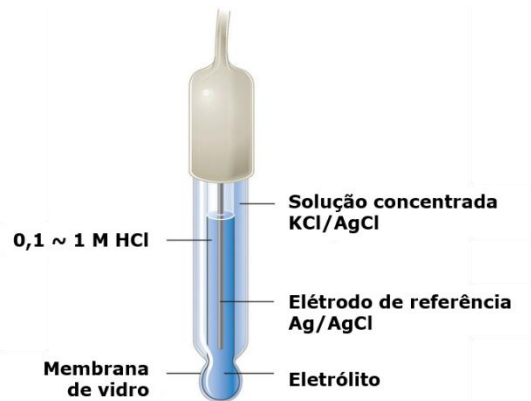


Figura 2.3 Representação esquemática de um sensor de pH de vidro. Adaptado de Silberberg, 2009.^[14]

O elemento sensor do elétrodo, situado na extremidade do bolbo, é constituído por uma membrana de vidro que, hidratada, forma uma camada de gel externa, seletiva ao ião H^+ . Essa seleção é, de fato, uma troca de iões sódio (Na^+) por iões H^+ que formam uma camada sobre a superfície do sensor. Além disso, ocorrem forças de repulsão de aniões por parte do silicato, negativamente carregado, que está fixo no elemento sensor. Na camada externa do sensor, ocorre a geração de um potencial que é função da atividade do ião H^+ na solução. O potencial observado no elétrodo de vidro depende da atividade ou concentração (admitindo-se $\gamma_H = 1$) dos iões H^+ na solução $\{H_s^+\}$ e no eletrólito $\{H_e^+\}$. O valor do potencial (E) pode ser calculado a partir da Equação de Nernst modificada, obtendo-se a Equação 2.3:^[14,15]

$$E = E_0 + 0,059 \log\left(\frac{H_s^+}{H_e^+}\right) \quad \text{Equação 2.3}$$

como a atividade $\{H_e^+\}$ é constante, a Equação 2.3 pode ser simplificada, resultando na Equação 2.4:

$$E = E_0 + 0,059 \log(H_s^+) \quad \text{Equação 2.4}$$

Aplicando-se o conceito de pH, a Equação 2.4 resulta na Equação 2.5:

$$E = E_0 - 0,059 pH \quad \text{Equação 2.5}$$

Na Tabela 2.1 encontram-se descritas as aplicações e limitações dos sensores de pH de vidro, assim como, outros sensores comuns, ISFETs (do inglês, *Ion-Selective Field Effect Transistor*), sensores de antimônio e também, os sensores óticos.

Tabela 2.1 Gama de aplicações e limitações de elétrodos de pH mais comuns. Adaptado de Kurzweil, 2009.^[13]

Tipo de sensor de pH	Gama de aplicações	Características
Elétrodo de vidro	<ul style="list-style-type: none"> ○ Temperatura: < 80 °C – 130 °C ○ Pressão: < 60 bar ○ Estabilidade: ± 1 mV/semana 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Instabilidade mecânica da membrana de vidro ○ Necessária calibração individual para cada elétrodo ○ Destruição por fluoretos e soluções muito hidros cópicas <ul style="list-style-type: none"> ○ Elevado custo de produção
ISFET	<ul style="list-style-type: none"> ○ Temperatura: < 85 °C ○ Pressão: < 2 bar 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Formação de filmes na superfície do sensor <ul style="list-style-type: none"> ○ Baixo rendimento ○ Qualidade moderada ○ Baixo custo ○ Contém impurezas
Elétrodo de antimônio	Ex: soluções causticas muito concentradas e águas contaminadas com fluoretos	<ul style="list-style-type: none"> ○ Possibilidade de adaptar à escala industrial ○ Fraca estabilidade ao longo do tempo ○ Fraca estabilidade do elétrodo de referência
Elétrodos óticos	<ul style="list-style-type: none"> ○ Líquidos transparentes ○ Pequenos e flexíveis ○ Não é necessário elemento de referência ○ Transmissão de sinal a grandes distâncias 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Mudança de transparência da solução <ul style="list-style-type: none"> ○ Cuva de calibração não-linear

2.3. Sensores flexíveis baseados em óxidos metálicos

O desenvolvimento de sensores de pH alternativos tem um considerável interesse no sentido de eliminar as limitações apresentadas pelos sensores convencionais, além da possibilidade da sua miniaturização e facilidade de integração em vários sistemas para monitorização biológica e/ou ambiental.

Foram já publicados alguns artigos sobre sensores de pH flexíveis em substratos de papel, membranas de nitreto de silício e substratos de poliamida, sendo ainda necessário ultrapassar algumas dificuldades como a adequação a superfícies não planares, resistência à tensão mecânica e miniaturização.^[4]

Os elétrodos á base de óxidos metálicos oferecem várias vantagens como o baixo-custo, fácil miniaturização, alta sensibilidade, e abundância. Para além disso, a monitorização do pH pode ser feita através do método potenciométrico, método este bastante comum, simples e a mais portátil das técnicas eletroquímicas.^[4,6,16]

Óxidos metálicos como o dióxido de titânio (TiO₂), pentóxido de tântalo (Ta₂O₅), trióxido de tungsténio (WO₃), dióxido de manganês (MnO₂), dióxido de ósmio (OsO₂), entre outros foram já

descritos na literatura como materiais para sensores de pH. A maioria dos óxidos metálicos são sensíveis a variações de pH na gama de 2 a 11 apesar de mostrarem uma histerese acentuada, isto é, o potencial do eléctrodo sofre uma alteração significativa se a solução mudar do pH de 2 para 11 e de volta ao pH 2 novamente.^[13]

Comparando com os eléctrodos *bulk*, os eléctrodos com a presença de nanopartículas (NPs) à superfície permitem cinéticas mais rápidas de transferência eletrónica, aumentando a área eletroativa da superfície do eléctrodo, o que diminui a sobretensão, fazendo com que as reacções redox se tornem cineticamente fiáveis. As nanoestruturas de óxidos metálicos apresentam uma estrutura robusta, apresentando outras várias características desde o isolamento à condutividade eléctrica e da inércia a altamente catalíticas. A aplicação de óxidos metálicos em sensores é uma prática menos usual, comparando com outras nanoestruturas, mas bastante promissora. Por exemplo, NPs de óxido de irídio foram usadas como camada ativa de um sensor de pH, integrado com outros sensores electroquímicos.^[17]

2.3.1. Trióxido de tungsténio

O primeiro artigo sobre um sensor de pH com WO_3 foi publicado em 1987 por Wrighton *et al* onde um transístor microelectroquímico conseguia alternar a sua forma de funcionamento, quer eléctrica quer química, alternando a tensão ou o pH da solução, respetivamente. Mais recentemente, foi desenvolvido um sensor de pH flexível, num substrato de poli-imida com eléctrodos de ouro, onde o eléctrodo de trabalho foi funcionalizado com WO_3 NP's depositadas por eletrodeposição (Figura 2.4 – d).^[4,16] Contudo, o uso de WO_3 em grandes áreas superficiais foi usado principalmente para fazer a deteção de gases não tendo sido ainda muito explorado a sua utilização em sensores de pH.^[4]

O WO_3 é um material inorgânico, semiconductor, com um baixo custo de produção, capaz de mudanças reversíveis de condutividade, com sensibilidade e seletividade elevada e biocompatível.^[18-21] Devido a estas propriedades, o WO_3 pode ser utilizado em imensas aplicações como material cromogéneo, em sensores ou como catalisador (Figura 2.4).

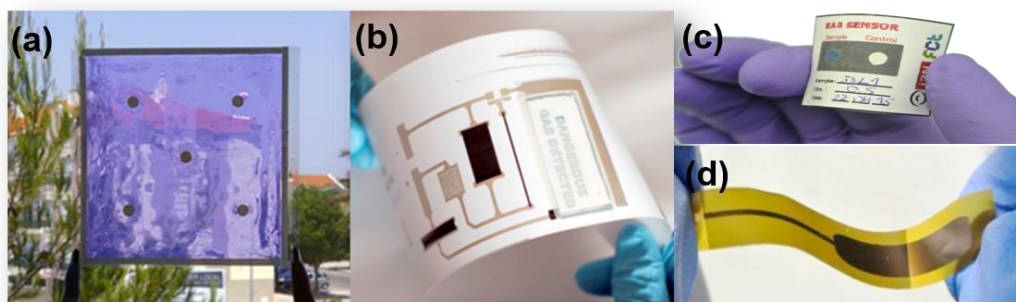


Figura 2.4 Exemplos de aplicações do WO_3 desenvolvidas no CENIMAT. (a) Janela electrocrómica; (b) Display electrocrómico num sensor de gás; (c) Sensor colorimétrico; (d) Sensor de pH.

Os óxidos metálicos constituídos por metais de transição, especialmente os metais com configuração d^0 e d^{10} , sem terem a orbital d semipreenchida, possuem características interessantes e uma boa estabilidade, o que os torna aptos a serem utilizados em sensores. O WO_3 é um destes

óxidos metálicos, com uma configuração d^0 , possuindo um hiato ótico que pode variar entre 2,6 e 3,25 eV, consoante a estrutura cristalina do material. O hiato ótico deste material corresponde à diferença entre os níveis energéticos da banda de valência, formada pelas orbitais O2p totalmente preenchidas, e da banda de condução, formadas pelas orbitais W5d vazias^[22] (Figura 2.5).

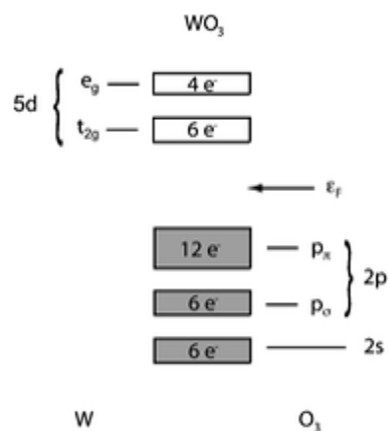


Figura 2.5 Representação esquemática da estrutura de bandas do WO_3 , onde se vê as orbitais O2p totalmente preenchidas e as orbitais W5d vazias. Os números representam o número de elétrons máximo em cada nível energético. Adaptado de Niklasson, 2007.^[23]

Este material é constituído por blocos de WO_6 octaédricos, onde os iões de tungsténio (W^{6+}) ocupam os vértices de uma célula unitária primitiva e os iões de oxigénio ficam na bisetriz das arestas da célula unitária, formando assim uma estrutura de perovskite com defeito. O átomo central da célula unitária está ausente, permitindo o alojamento de iões^[22,24] (Figura 2.6).

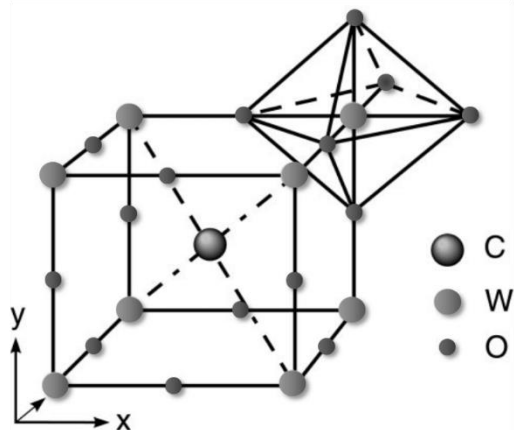
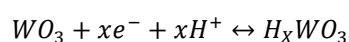


Figura 2.6 Célula unitária da estrutura de perovskite. O átomo C representa a lacuna da estrutura com defeito. Adaptado de Marques, 2014.^[22]

Apesar de ainda não estar totalmente compreendido o mecanismo de deteção do WO_3 , crê-se que seja dependente de uma redução envolvendo uma injeção dupla de catiões e elétrons na sua estrutura, formando assim um bronze de óxido tungsténio, que tem uma condutividade maior que o próprio óxido de tungsténio (Equação 2.6).^[4,21]



Equação 2.6

Onde x corresponde ao número de prótons (H^+) e elétrons (e^-) envolvidos na reação e H_xWO_3 representa o bronze de óxido de tungstênio. De acordo com a equação, a dependência do pH no potencial dos elétrodos de WO_3 está relacionada com a intercalação e desintercalação dos íons H^+ na camada de óxido. A fácil intercalação de prótons na rede cristalina da estrutura do WO_3 só é possível devido à existência de uma relação estequiométrica e fase cristalina quando estes estão intercalados na sua estrutura.^[4] Espera-se que com a integração de WO_3 NPs na superfície do eletrodo de trabalho nos sensores de pH irá melhorar o seu desempenho devido às suas características e ao seu processo de redução reversível.

2.3.2. Produção dos sensores com nanopartículas

Existem várias técnicas para depositar soluções coloidais que variam entre os métodos físicos e químicos. O tamanho da partícula e a sua distribuição são das características mais importantes das NPs no seu desempenho como sensores eletroquímicos pois, dependendo do tamanho e distância entre partículas adjacentes, o grau de sobreposição da camada de difusão (natureza do sinal) pode ser manipulado. Uma grande dificuldade na construção de sensores eletroquímicos é obter uma camada de NPs definida e ordenada. A superfície do eletrodo pode ser modificada com NPs simplesmente adicionando uma gota da dispersão de NPs, mas estão também a ser estudados e desenvolvidos outros métodos, como a evaporação de solventes, crescimento de redes de sol-gel com NPs modificadas na superfície do próprio eletrodo ou por eletroagregação. Como alternativa, é também possível misturar as NPs com materiais condutores como uma solução polimérica condutora de forma a funcionalizar o eletrodo num só passo.^[5]

As NPs são bastante usadas em aplicações eletroquímicas, eletroanalíticas e bioeletroquímicas. Aquilo que faz das NPs únicas são as suas propriedades mecânicas, elétricas, óticas, catalíticas e magnéticas assim como a elevada razão de área superficial por massa. Com o fabrico destes sensores diminui-se então o custo, diminuindo-se a necessidade de materiais caros e com uma menor geração de resíduos. Isto é especialmente importante para a substituição de elétrodos de ouro ou platina, já que materiais menos dispendiosos, como por exemplo carbono com NPs proporcionam uma maior área superficial.^[5] Neste trabalho usou-se uma técnica de deposição simples (*drop casting*) e de baixo-custo para a produção da camada sensível, uma vez que se pretendia testar a produção e o desenho do sensor de uma forma rápida e eficaz.

2.4. Grafeno

O carbono existe em diversas formas, desde a grafite presente nos lápis até aos mais caros diamantes do mundo. Em 1980, apenas eram conhecidas três formas básicas de carbono, nomeadamente o diamante, a grafite e o carbono amorfo. Depois, foram descobertos os fulerenos e os nanotubos de carbono (NTC) e, em 2004, foi isolado pela primeira vez em laboratório o grafeno, pelos investigadores Andre Geim e Konstantin Novoselov, valendo-lhes o Prémio Nobel da Física, em 2010, por experiências inovadoras em relação ao grafeno^[25,26] (Figura 2.7).

The Nobel Prize in Physics 2010



Photo: U. Montan
Andre Geim
Prize share: 1/2



Photo: U. Montan
Konstantin
Novoselov
Prize share: 1/2

Figura 2.7 Laureados com o Prémio Nobel da Física 2010 pelas suas experiências inovadoras em relação ao grafeno. Retirado de Berger, 2014.^[25]

O grafeno pode ser definido como uma única camada atômica de grafite, consistindo numa folha bidimensional de átomos de carbono, com ligações do tipo sp^2 , numa configuração hexagonal^[25,27-29]. Todas as formas existentes de carbono consistem basicamente em folhas de grafeno, ou ligadas umas por cima das outras, formando a grafite, ou enroladas ou dobradas sobre si mesmas, formando ou nanotubos de carbono ou fulerenos, respetivamente^[30] (Figura 2.8).

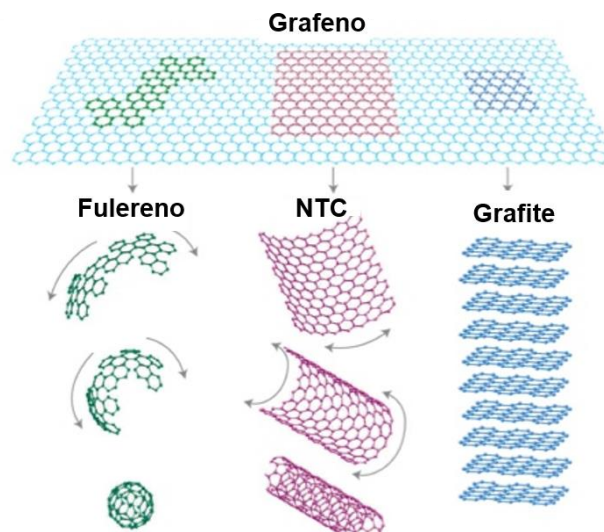


Figura 2.8 Estrutura atômica do grafeno e dos materiais à base do grafeno. Adaptado de Zhang, 2012.^[30]

Na última década, os nanomateriais à base de grafeno têm sido bastante estudados devido às suas propriedades físico-químicas únicas^[27,28,31,32]:

- Elevada área superficial ($2630 \text{ m}^2/\text{g}$);
- Hiato ótico ajustável;
- Elevada força mecânica (200 vezes superior ao aço);
- Elevada elasticidade;
- Elevada condutividade térmica;
- Elevada condutividade elétrica.

Estas propriedades tornam o grafeno num excelente candidato para ser utilizado em inúmeras aplicações, sendo assim crucial o desenvolvimento de processos de produção de grafeno otimizados e de baixo-custo. A produção de grafeno intensificou-se bastante nos últimos anos, sendo a Ásia o continente com maior produção de grafeno por ano (Figura 2.9-a). Analogamente, a maior percentagem de patentes relacionadas com o grafeno, concentram-se maioritariamente no continente asiático, com maior incidência na China (Figura 2.9-b). A maior percentagem de patentes relaciona-se com processos de produção seguida de aplicações relacionadas com o armazenamento de energia^[33].

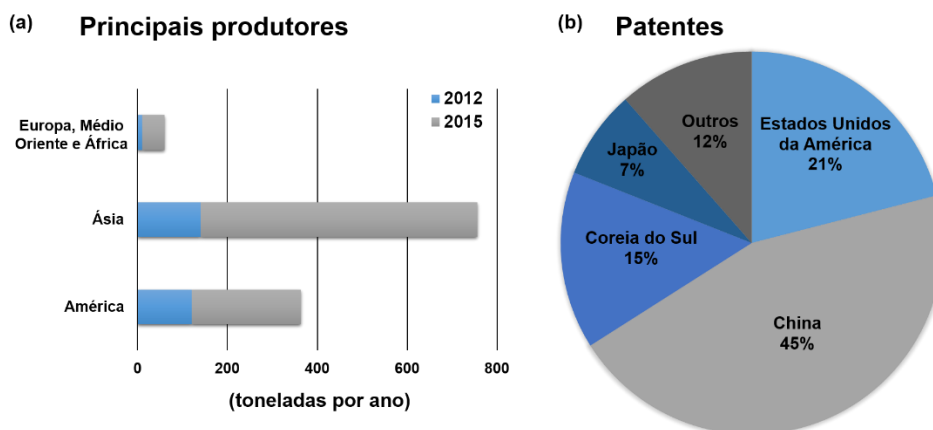


Figura 2.9 Produção e aplicação do grafeno: (a) Principais produtores de grafeno nos anos de 2012 e 2015; (b) Distribuição de volume de patentes que envolvem grafeno no ano 2015. Adaptado de Peplow, 2015.^[33]

A qualidade do grafeno produzido é muito importante, uma vez que, a presença de defeitos, impurezas ou desordens estruturais podem ter um efeito adverso nas propriedades óticas e eletrónicas do material. Na Tabela 2.2, encontram-se reunidos alguns métodos de produção do grafeno e suas características, assim como, algumas aplicações do grafeno produzido pelos diversos métodos.

Tabela 2.2 Métodos de produção de grafeno, morfologia, características e aplicações do grafeno obtido. Adaptado de Berger, 2014.^[25]

Métodos de produção	Morfologia (escala)	Características	Aplicações
Esfoliação mecânica de grafite	Nanofolhas (nm a poucos μm)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Difícil de adaptar à escala industrial ○ Baixo rendimento ○ Qualidade elevada ○ Baixo custo 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Eléctrodos transparentes ○ Sensores ○ Compósitos
Esfoliação em fase líquida	Nanofolhas (nm a poucos μm)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Fácil de adaptar à escala industrial ○ Baixo rendimento ○ Qualidade moderada ○ Baixo custo ○ Contém impurezas 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Enchimentos poliméricos ○ Eléctrodos transparentes ○ Sensores
Deposição química em fase	Filmes finos (< 75 μm)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Possibilidade de adaptar à escala industrial ○ Qualidade elevada 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Ecrãs tácteis ○ Janelas inteligentes ○ LCDs e OLEDs flexíveis

de vapor		<ul style="list-style-type: none"> ○ Elevado custo ○ Temperaturas elevadas (> 1000 °C) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Células solares
Abertura de nanotubos de carbono	Nanofitas (poucos μm)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Possibilidade de adaptar à escala industrial ○ Elevado rendimento ○ Qualidade elevada ○ Pode ser de baixo custo 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Transístores ○ Compósitos
Crescimento epitaxial em carbeto de silício (SiC)	Filmes finos (> 50 μm)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Baixo rendimento ○ Qualidade elevada ○ Elevado custo (substrato muito dispendioso) ○ Temperaturas elevadas (1500 °C) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Transístores ○ Circuitos ○ Memórias ○ Semicondutores
Redução química de óxido de grafite	Nanoflocos (nm a poucos μm)	<ul style="list-style-type: none"> ○ Fácil de adaptar à escala industrial ○ Baixo custo ○ Baixa pureza ○ Elevada densidade de defeitos 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Tintas condutoras ○ Enchimentos poliméricos ○ Supercondensadores ○ Sensores

Entre os métodos mais usados, encontram-se a esfoliação mecânica de grafite, o crescimento epitaxial em SiC e também deposição química em fase de vapor, especialmente em substratos de cobre.

A técnica de esfoliação mecânica foi introduzida e elaborada maioritariamente pelos laureados com o Prémio Nobel da Física 2010, Geim e Novoselov. Este método envolve descamar a grafite, usando uma simples fita-cola, até ao seu componente primário, o grafeno (Figura 2.10 – a). Apesar de este método permitir a produção de grafeno de elevada qualidade, não é adequado para a produção de grafeno em larga escala.^[26]

Um possível método alternativo consiste em crescer em superfícies cristalinas usando materiais precursores. Este método envolve a exposição de um cristal hexagonal de SiC, crescido epitaxialmente, a temperaturas elevadas (1500 °C), para evaporar os átomos de Si ligados na superfície do cristal. Os restantes átomos de carbono na superfície rearranjam-se formando uma camada de grafeno (Figura 2.10 – b)^[34].

A deposição química em fase de vapor em substratos de cobre usa, normalmente, metano e hidrogénio como gases precursores, a temperaturas à volta 1000 °C^[30].

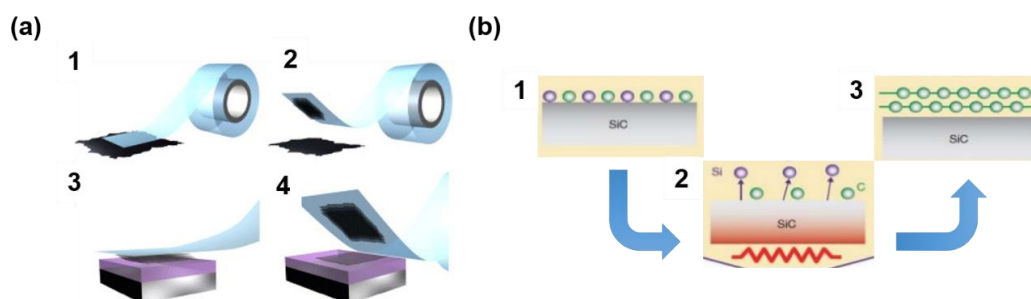


Figura 2.10 Tipos de métodos de produção de grafeno: (a) Esfoliação mecânica de grafite: 1 e 2 – descamação da grafite; 3 e 4 – transferência para o substrato pretendido; (b) Crescimento epitaxial em substratos de SiC: 1 e 2 – aquecimento do substrato a 1500 °C e evaporação dos átomos de Si; 3 – restantes átomos de carbono na superfície do substrato rearranjados na forma de folhas de grafeno. Adaptado de Norimatsu, 2014 e Novoselov, 2012.^[34,35]

2.4.1. Grafeno poroso

Desde a descoberta do grafeno, têm sido feitos muitos esforços no sentido de modificar a estrutura do grafeno, de forma a poder ser aplicado em imensas aplicações desde a nanoeletrónica à sequenciação de ADN^[36]. Estes esforços levaram à produção de diferentes tipos de materiais à base de grafeno, que possuem propriedades diferentes das do grafeno puro.

Recentemente, o grafeno poroso (GP) tem atraído o interesse de muitos investigadores. Este material pode ser descrito como uma folha de grafeno com alguns espaços vazios de átomos de carbono (buracos/poros) no mesmo plano. Genericamente, os materiais porosos contêm buracos distribuídos de uma aleatória ou ordenada, que podem ter diâmetros variados. Os poros podem ser classificados como microporos (diâmetros abaixo de 2 nm), mesoporos (diâmetros entre 2 a 50 nm) e macroporos (diâmetros abaixo de 50 nm).

O GP pode melhorar o desempenho em algumas aplicações do grafeno puro que necessitam das propriedades químicas e estruturais do grafeno puro, mas também da presença de poros. Assim, pode ser utilizado em diversas aplicações, desde a separação e purificação de gases até à sequenciação de ADN.

- Separação e purificação de gases:

Quer seja na indústria ou na investigação científica, existe uma grande procura de gases puros, como o hélio e o hidrogénio. Em comparação com os métodos tradicionais de separação e purificação de gases, como a destilação criogénica ou adsorção gasosa, a separação de gases por membrana tem um baixo custo energético, ocupa menos espaço e é menos complexa. Foram já desenvolvidos vários tipos de membranas, metálicas e poliméricas, com espessuras que podem ir dos 10 aos 103 nm. Visto que a permeabilidade da membrana é inversamente proporcional à sua espessura, este tipo de membranas é inferior às membranas de grafeno que, possui apenas a espessura de um átomo.^[36,37]

No entanto, as membranas feitas à base de grafeno puro são impermeáveis a gases, devido à elevada densidade eletrónica dos anéis aromáticos. Assim, a presença de poros no material é necessária para tornar as membranas permeáveis, o que tem tornado o GP um material bastante estudado para o uso em membranas de separação gasosas.^[36,37]

- Sequenciação de ADN:

Nos últimos anos têm sido desenvolvidos materiais nanoporosos, com o objetivo de detetar o fluxo de sinais elétricos durante a translocação de moléculas de ADN, identificar os quatro tipos de nucleótidos, permitindo assim fazer a sequenciação de ADN.^[36,37]

Alguns exemplos de materiais nanoporosos produzidos com este objetivo são SiO₂ (dióxido de silício), Al₂O₃ (trióxido de alumínio) e Si₃N₄ (nitreto de silício). Contudo, estes materiais não permitem a sequenciação de ADN com elevada resolução, devido à sua elevada espessura, tornando difícil distinguir os diferentes sinais elétricos de cada nucleótido. Para que seja apenas um nucleótido em

contato com os elétrodos, quando o ADN alvo passa pelo poro, a espessura ótima da membrana deve ser do tamanho de um nucleótido, que tem aproximadamente 1 nm^[36,37]. Por esta razão, o GP foi proposto como um material ideal para a sequenciação de ADN, tendo já sido usado, por dois grupos de investigação diferentes^[38,39], na translocação de uma única molécula de ADN (Figura 2.11).

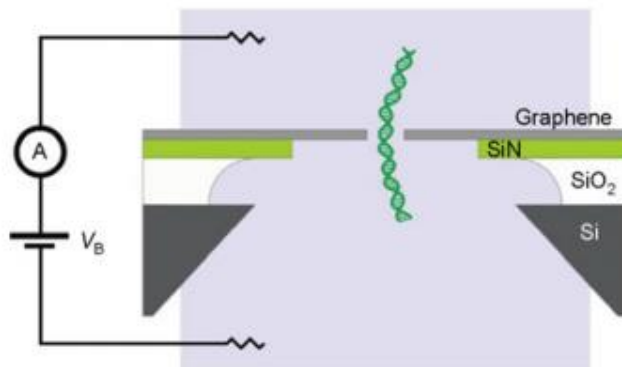


Figura 2.11 Dispositivo com membrana de GP para a sequenciação de ADN. É aplicada uma tensão de polarização, V_B , entre os reservatórios para conduzir o ADN pelo nanoporos. Retirado de Xu, 2012.^[37]

2.4.2. Técnicas de produção

Apesar dos grandes avanços até à data, os métodos atuais de produção de grafeno poroso requerem processos a elevadas temperaturas ou sínteses químicas com múltiplos passos, limitando assim o seu potencial para ser utilizado nas diversas aplicações.

A modificação de folhas de grafeno por exposição a um feixe de eletrões, fotoreação de óxido de grafeno sob radiação ultravioleta ou gaseificação de carvão de folhas de óxido de grafeno, são alguns dos métodos já referenciados na literatura ^[40–44].

Mais recentemente Lin, J., *et al*^[45] reportaram um método de produção de GP através de indução a laser em substratos de poli-imida. Este método usa a radiação do laser para transformar as ligações sp^3 que ligam os átomos de carbono presentes no substrato de poli-imida em ligação sp^2 , produzindo assim filmes de GP (Figura 2.12). A possibilidade de padronização do material com elevada resolução, a fácil adaptação à escala industrial, o baixo custo energético e a rapidez de produção constituem as principais vantagens deste método.

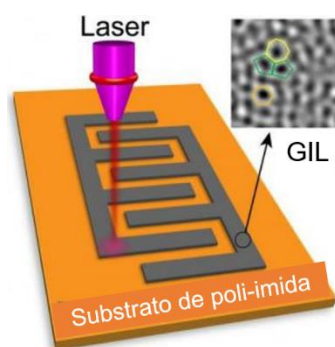


Figura 2.12 Técnica de indução a laser de grafeno num substrato de poli-imida. A ampliação mostra uma imagem microscópica da morfologia do GP induzido pelo laser (GIL – grafeno induzido por laser). Adaptado de Lin, 2014 ^[45]

Neste trabalho, o grafeno foi utilizado como material condutor devido às suas propriedades extraordinárias referidas anteriormente. Os eletrodos do sensor de pH foram padronizados num substrato de poli-imida, através da técnica de indução a laser, produzindo assim um sensor de baixo custo, rápido e biocompatível.

3. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

As técnicas de caracterização utilizadas no decorrer deste trabalho foram selecionadas com intuito de obter informações sobre a estrutura e morfologia das amostras de WO₃NPs e do grafeno poroso produzido. Os sensores de pH foram caracterizados eletroquimicamente.

3.1. Difração de raios-X

A difração de raios-X (DRX) é uma técnica utilizada para caracterizar estruturalmente um material com base na interação entre um feixe de raios-X e a geometria cristalina do material. Permite identificar diferentes estruturas cristalinas presentes num material e analisar as suas propriedades estruturais.

Um cristal é um material sólido, constituído por planos de átomos organizados, que formam um padrão tridimensional bem definido, a célula unitária. É um material que apresenta um arranjo periódico praticamente perfeito. Um material amorfo é, por oposição, um material que não apresenta qualquer periodicidade no arranjo atómico. Intermediamente pode-se classificar um material como policristalino quando é composto por diversos cristais microscópios, denominados cristalititos ou grãos.

Um feixe de raios-X, tal como a luz visível, pode ser descrito como uma onda eletromagnética. A dispersão ocorre quando uma onda em movimento é forçada a desviar a sua trajetória devido a um conjunto de objetos dispersantes. A difração é essencialmente um fenómeno de dispersão que envolve a cooperação de um conjunto de átomos. Numa estrutura cristalina os átomos encontram-se periodicamente organizados, pelo que os raios dispersados por este tipo de estrutura vão ter relações de fase bem definidas. Estas relações são de tal modo que geram interferência destrutiva na maior parte das direções da dispersão. Em raras exceções a interferência é construtiva, gerando raios difratados. A difração em geral ocorre apenas quando o comprimento de onda do feixe é da mesma ordem de grandeza da distância entre os centros dispersantes. Assim, considerando que os cristais são estruturas atómicas periodicamente organizadas e que os seus átomos agem como centros dispersantes, um cristal cuja distância interatómica é da mesma ordem de grandeza do comprimento de onda dos raios-X que nele incidem, vai difratar o feixe.

A interferência construtiva dos raios-X dispersados pelo cristal forma um pico de difração. A Lei de Bragg (Equação 3.1) descreve o fenómeno de difração em termos da difração dos diferentes planos cristalinos e especifica as condições de interferência construtiva para planos espaçados de uma distância d_{hkl} :

$$n\lambda = 2d_{hkl}\sin\theta$$

Equação 3.1

onde λ é o comprimento de onda do feixe incidente, θ , denominado ângulo de Bragg, é o ângulo formado entre os planos atómicos e o feixe de raios-X incidente (e difractado) e n é o número de reflexão.

Experimentalmente a Lei de Bragg pode ser utilizada de dois modos diferentes. Utilizando um feixe de raios-X de comprimento de onda conhecido, obtêm-se o ângulo de Bragg a partir do qual é possível calcular a distância interplanar. Esta é a análise estrutural na qual se baseia o funcionamento do DRX.

Foi utilizado o equipamento X'Pert Pro da PANalytical (Figura 3.1) com uma ampola de cobre na configuração de Bragg-Brentano, representado na Figura 2.2. O padrão de difração foi adquirido para ângulos 2θ entre 10° e 70° com um passo de $0,02^\circ$ em 2θ .



Figura 3.1 Equipamento utilizado na Difração de raios-X.

3.2. Microscopia eletrônica de varrimento

A microscopia eletrônica de varrimento (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) é um importante e versátil método de caracterização da morfologia de materiais e amostras biológicas.

O princípio físico de funcionamento da SEM consiste na emissão de um feixe de elétrons (elétrodo negativo) por um filamento capilar de tungstênio mediante a aplicação de uma diferença de potencial que pode variar de 0,5 a 30 kV, que são acelerados em direção ao elétrodo positivo. A correção da direção do feixe, nesse percurso, é realizada por lentes condensadoras que alinham o feixe em direção à abertura da lente objetiva. A objetiva ajusta o foco do feixe antes dos elétrons atingirem a amostra que será analisada. A imagem é assim obtida pelo varrimento do feixe eletrônico incidente sobre a superfície da amostra. Depois da amplificação e processamento apropriados, um detetor de elétrons é responsável pela geração da imagem mostrando-a no visor. A SEM produz imagens de alta resolução, o que garante obter alta ampliação de detalhes (até 300.000 vezes) sem perda de nitidez. Com a SEM, é possível obter imagens tanto pelo padrão de difração de elétrons secundários (emitidos pelos átomos excitados pelo feixe de elétrons) como de elétrons retrodifundidos. Quando é utilizado o padrão de elétrons secundários, obtêm-se imagens da topografia da superfície, enquanto que o padrão de elétrons retrodifundidos, proporciona imagens com diferença de contraste de acordo com o elemento que está a ser analisado, por exemplo, elementos pesados como o ferro aparecem mais claros e elementos leves como o carbono aparecem mais escuros.

Neste trabalho, a SEM foi utilizada para analisar a morfologia das três estruturas cristalográficas das WO_3 NPs sintetizadas e a morfologia do grafeno poroso. As análises foram realizadas num microscópio eletrônico de varrimento Carl Zeiss AURIGA Crossbeam SEM-FIB (Figura 3.2).

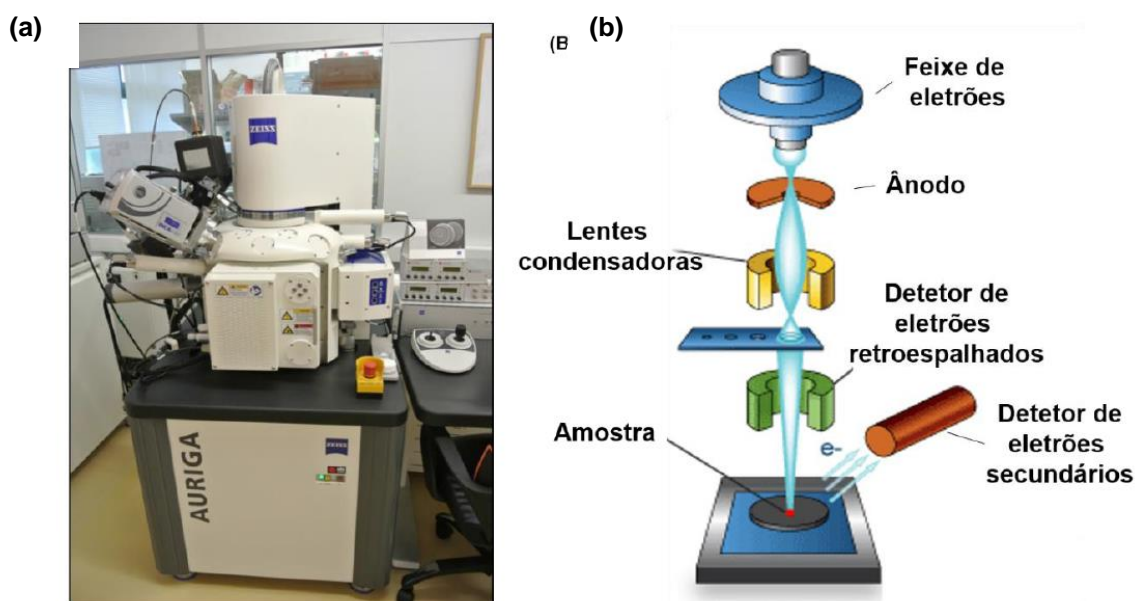


Figura 3.2 (a) Equipamento utilizado na Microscopia eletrônica de varrimento; (b) Representação esquemática de um equipamento de SEM.

3.2.1. Feixe de iões focalizados

Esta técnica que utiliza um feixe de iões focalizados (FIB, do inglês *Focused Ion Beam*), é um equipamento bastante parecido ao SEM mas possui um feixe de iões em vez de um feixe de eletrões. O FIB pode modificar diretamente a superfície da amostra através de um processo de *sputtering* com uma precisão nanométrica. Através do controlo da energia e intensidade do feixe de iões, é possível remover o material desejado numa área bem definida.

Esta técnica foi utilizada para observar as diferentes camadas dos elétrodos de trabalho de ouro e de GP com a camada ativa de WO₃NPs.

3.3. Espectroscopia de Raman

O efeito de Raman ocorre devido à interação de fótons com as vibrações das ligações químicas. Estes comprimentos de onda estão na região do infravermelho mas a fonte de excitação para a observação do efeito de Raman está muitas vezes na região do visível. A maior parte da luz incidente passa através do sistema sem variações de energia do fóton (efeito de *Rayleigh*); se há troca de energia com o sistema observa-se o efeito de Raman (Figura 3.3).^[46]

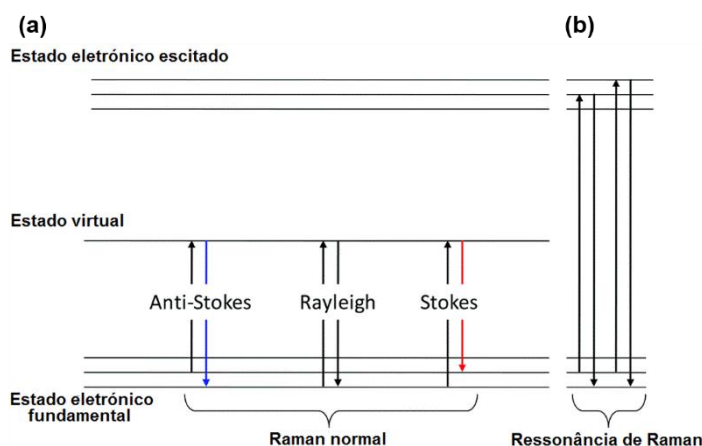


Figura 3.3 Espectroscopia de Raman – emissão de radiação: (a) Efeito de Raman normal; (b) Efeito de Raman de ressonância. Adaptado de Kurouski et al, 2015.^[46]

Os fótons excitam as moléculas para um estado eletrônico virtual (Figura 3.3 – a), a partir do qual ocorre a emissão; a emissão para o estado vibracional fundamental é a dispersão de *Rayleigh*. Se os fótons têm uma energia muito elevada, então o estado virtual está dentro dos níveis de vibração do estado eletrônico excitado. Neste caso há uma interação muito maior entre a radiação e as moléculas, e um aumento na intensidade do efeito de Raman por um fator de $10^4 - 10^6$ – o efeito de Raman de ressonância (Figura 3.3 – b).^[46]

O efeito de Raman de ressonância tem sido aplicado a células eletroquímicas, geralmente com excitação a laser. Como é possível construir células que são transparentes ao infravermelho, não é necessário usar elétrodos transparentes. Os resultados de Raman são úteis para o diagnóstico mecanístico e para investigar as propriedades vibracionais e eletrônicas das espécies em estudo.

Uma técnica relacionada baseia-se no fato de os sinais das espécies adsorvidas serem muito maiores do que os das mesmas espécies em solução (espectroscopia de Raman com efeito de intensificação de superfície, SERS) O fenómeno foi primeiro notado num estudo da adsorção da piridina em elétrodos de prata e tem sido estendido à investigação da adsorção de muitas espécies tais como, por exemplo, as porfirinas.

Neste trabalho, a espectroscopia de Raman foi usada para analisar o grafeno poroso obtido.

3.4. Ângulos de contacto

Com o crescente aumento do uso de agentes de ativação de superfície, revestimentos protetores e especialmente com a evolução da tecnologia de impressão, uma atenção renovada tem sido focada nos fenómenos de *wettability*, ou seja, a capacidade de um material se molhar quando em contacto com um líquido. Correntemente o método mais usado na determinação desta propriedade é o ângulo de contacto.

O termo ângulo de contacto refere-se ao ângulo formado na interface de um sistema constituído por materiais com estados físicos distintos. O sistema de fases mais comum é gás-sólido-líquido, na qual se assume que a superfície de interação do sólido é plana. O ângulo de contacto é definido como a condição de fronteira na superfície sólida que incorpora as propriedades físicas que governam a forma da interface líquido-vapor.

Num sistema ideal, uma superfície sólida homogênea, a formulação clássica do balanço de forças na linha de contacto prevê o ângulo de contacto em termos da densidade energética das três interfaces do sistema. Este balanço é descrito pela equação de Young (Equação 3.2), que pode ser derivada minimizando a energia mecânica do sistema para variações diferenciais das áreas de contacto das fases sólida, líquida e gasosa:

$$\cos(\theta_c) = \frac{\gamma_{SG} - \gamma_{SL}}{\gamma_{LG}} \quad \text{Equação 3.2}$$

onde θ_c representa o ângulo de contacto, γ_{SG} , γ_{SL} e γ_{LG} representam as tensões superficiais das interfaces sólido-gás, sólido-líquido e líquido-gás, respetivamente. Através da equação de Young é possível verificar que existe uma relação estreita entre o ângulo de contacto e a tensão superficial.

Deste modo, para medir do ângulo de contacto, pelo menos uma das três tensões superficiais presentes na equação tem de ser conhecida (Figura 3.4).

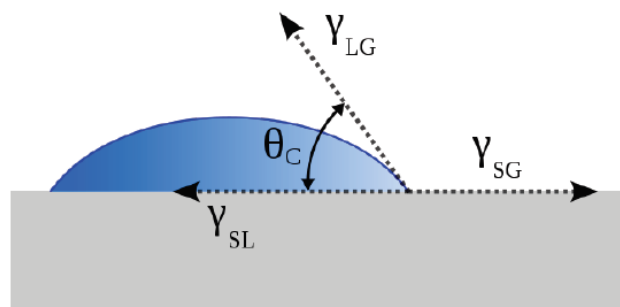


Figura 3.4 Esquema ilustrativo do comportamento de uma gota numa superfície.

A energia de superfície das fibras de celulose e do papel é um parâmetro que afeta o seu desempenho em termos de penetração de líquidos e adesão a outros materiais poliméricos.

Os ângulos de contato foram medidos com o equipamento OCA 20 da Data Physics, representado na Figura 3.5.

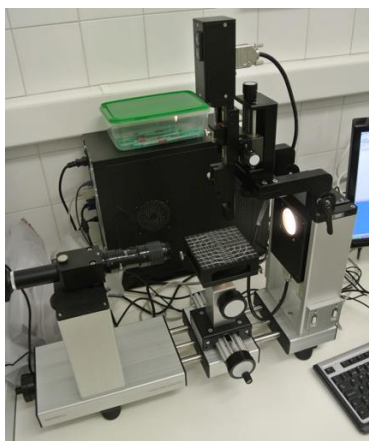


Figura 3.5 Equipamento utilizado na medição dos ângulos de contato.

Com este equipamento é possível visualizar em tempo real a deposição do líquido sobre o substrato, permitindo a medição do ângulo de contacto no momento exato em que o líquido entra em contacto com o substrato. O *software* do equipamento calcula o ângulo de contacto de acordo com a equação de Young apresentada anteriormente.

Se o ângulo de contacto for superior a 90° o substrato é considerado hidrofóbico, pois não se verifica uma boa adesão entre as superfícies dos materiais em contacto. Caso o ângulo encontrado seja inferior a 90° o substrato é hidrófilo, pois a adesão entre os materiais é favorecida.

Esta técnica foi utilizada na caracterização das três amostras de WO_3 NPs nos diferentes elétrodos.

3.5. Potencial de circuito aberto

O potencial de circuito aberto (PCA) é a diferença entre dois terminais de um dispositivo quando este se encontra desligado de qualquer circuito, isto é, sem nenhuma carga aplicada. Para além disso, não há qualquer corrente elétrica externa a fluir entre os terminais. Isto quer dizer que o potencial a ser medido corresponde ao potencial total do dispositivo.

Nesta técnica o potencial medido é a diferença entre o potencial do eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. Com esta técnica é possível determinar a redução de uma espécie através da Equação 2.5.

4. DESCRIÇÃO EXPERIMENTAL

Neste capítulo é feita a descrição experimental do trabalho realizado, o que englobou a síntese das WO₃NPs que foram utilizadas como camada ativa nos sensores de pH produzidos com elétrodos de ouro e de grafeno e a caracterização eletroquímica dos mesmos.

4.1. Síntese hidrotermal de WO₃NPs

Neste trabalho, foram sintetizadas WO₃NPs com duas estruturas cristalográficas diferentes, por um método hidrotermal. Para tal, utilizou-se como precursor o Na₂WO₄·2H₂O, obtido comercialmente, e foram usados dois sais diferentes como agentes direcionais de estrutura (ADE): NaCl e Na₂SO₄. Para cada ADE foram preparadas soluções aquosas e HCl 3 M para um valor de pH final próximo de 1,8, com um volume de solução final de 9 mL. As quantidades utilizadas de cada reagente e as condições de síntese estão representadas na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Condições utilizadas na síntese hidrotermal de WO₃NPs.

Precursor	Quantidade (g)	ADE	Quantidade (g)	Tempo de síntese (h)	Temperatura (°C)
Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	0,4	NaCl	0,15	1	180
		Na ₂ SO ₄	0,36	1	200
				6	

As soluções preparadas foram transferidas para um autoclave que foi posteriormente selado e colocado num forno (Figura 4.1), onde foi definida uma rampa de aquecimento de 3,33 °C/min. Após a etapa de arrefecimento as WO₃NPs foram recolhidas e lavadas com água destilada, por centrifugação (4000 rpm, 20 min) e dispersas em 10 mL de H₂O.

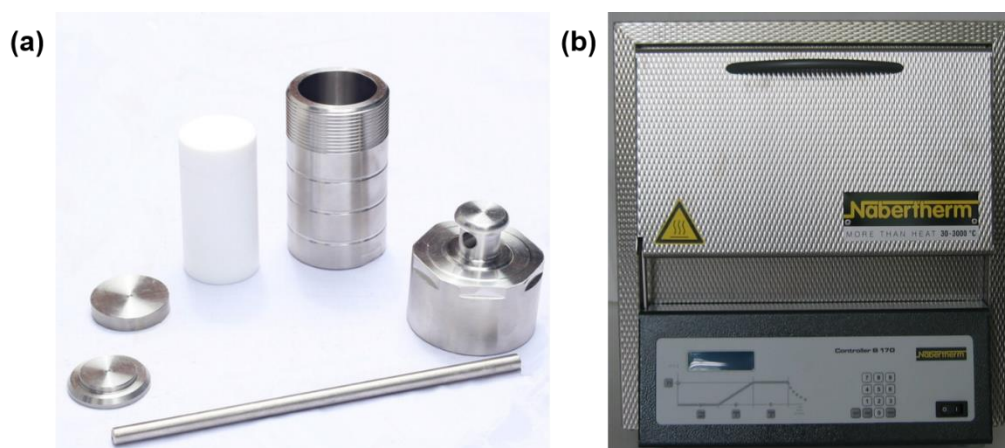


Figura 4.1 Autoclave e forno utilizados na síntese hidrotermal das WO₃NPs.

Os reagentes e equipamentos utilizados nesta etapa encontram-se indicados em seguida.

Reagentes: Tungstato de sódio ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) – Fluka 99,0 %; Ácido clorídrico (HCl) – Sigma-Aldrich 37 %; Cloreto de sódio (NaCl) – MERCK 99,5 %, Sulfato de sódio (Na_2SO_4) – Panreac 99 %; Água destilada – Milipore

Equipamentos: Forno Nabertherm, Placa de agitação Heidolph MR Hei-Tec, Balança analítica OHAUS, Centrifugadora Focus instruments

4.2. Produção dos sensores de pH

Os sensores de pH foram produzidos em substratos de poli-imida, com 76 μm de espessura, através da padronização dos elétrodos, como representado na Figura 4.2.

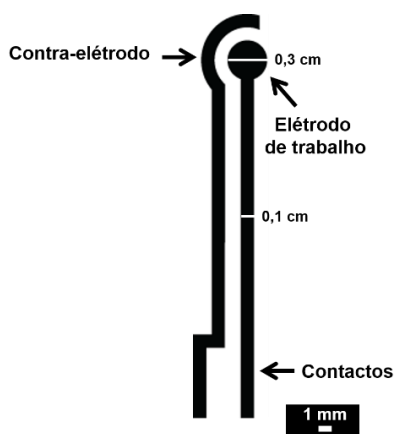


Figura 4.2 Esquema do sensor de pH produzido com o contra-elétron e o elétron de trabalho.

Foram produzidos sensores de pH com elétrodos de ouro pela técnica de *e-beam* e de grafeno poroso pela técnica de indução a laser. Posteriormente foi feita a deposição de uma camada de WO_3NPs por *drop-casting*, na superfície dos elétrodos de trabalho.

4.2.1. Sensor de pH com elétrodos de ouro

Os sensores de pH com elétrodos de ouro foram produzidos pela técnica de *e-beam*, onde é depositada uma camada de ouro com uma espessura definida em cima do substrato.

Para isso, foi cortada uma máscara em folha de acetato (10x10 cm) com o padrão representado na Figura 4.2. Esta máscara foi desenhada no *software* de imagem vectorial *Adobe illustrator* e foi enviada para uma máquina de corte a laser para o corte da folha de acetato (modo vectorial, 10 W de potência, 100% de velocidade).

Depois da máscara cortada foi colocada em cima do substrato de poli-imida, onde foi depositada uma camada de titânio (6 nm) como promotor de adesão, seguida de uma camada de ouro (60 nm) por evaporação *e-beam* (Figura 4.3).

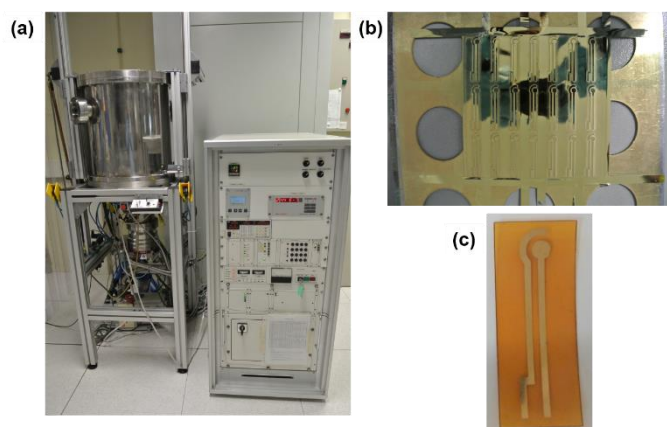


Figura 4.3 (a) Equipamento *e-beam*; (b) Substrato de poli-imida com a máscara de acetato após a deposição do ouro; (c) Sensor de pH com elétrodos de ouro em substrato de poli-imida.

Os parâmetros utilizados na deposição dos elétrodos de ouro estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 Parâmetros de deposição dos elétrodos de ouro (com titânio como promotor de adesão).

Parâmetros	Titânio	Ouro
P inicial (mbar)	1×10^{-6}	1×10^{-6}
T inicial (°C)	21	21
T H ₂ O (°C)	9	9
Densidade	4,5	19,3
Fator Z	14,1	23,17
Espessura (nm)	6	60
Velocidade de crescimento (nm/s)	0,06	0,14
Corrente (mA)	0,07	0,07
P final (mbar)	$3,6 \times 10^{-6}$	$3,6 \times 10^{-6}$
T final (°C)	37	37

4.2.2. Sensor de pH com elétrodos de grafeno

Na fabricação dos sensores com elétrodos de GP utilizou-se um substrato de poli-imida (10x10 cm) onde foram padronizados os elétrodos como mostra na Figura 4.4 – a, através da técnica de indução a laser.

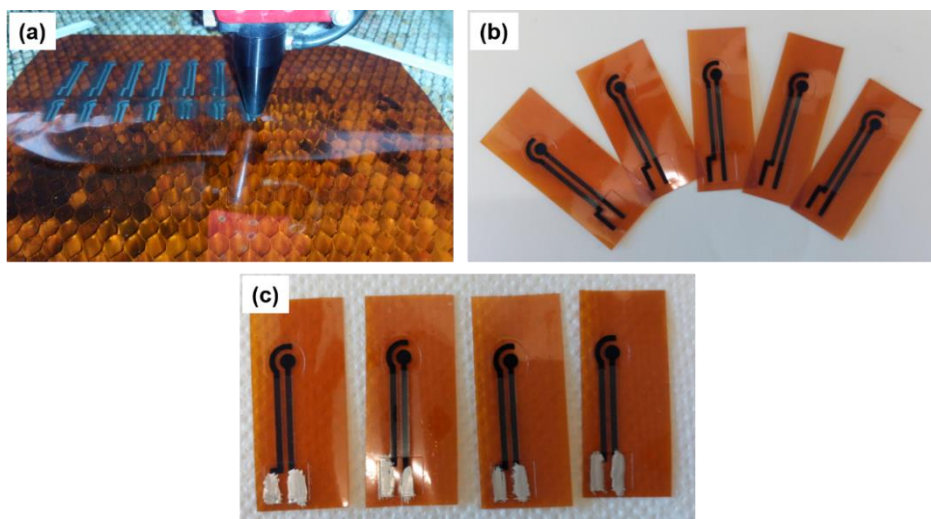


Figura 4.4 (a) Técnica de indução a laser para a padronização dos elétrodos de GP; (b) Sensores de pH com elétrodos de GP; (c) Sensores de pH com elétrodos de GP com os contactos pintados com tinta condutora de prata.

Para a padronização dos elétrodos foi utilizada a máquina de corte a laser em modo *raster*, com 25 W de potência e 35 % de velocidade. Após a padronização dos elétrodos os sensores foram individualizados (Figura 4.4 – b) e, de forma a garantir a condutividade em todo o sensor e de melhorar a resistência dos contactos estes foram pintados com tinta condutora de prata com o auxílio de um pincel (Figura 4.4 – c).

4.2.3. Deposição da camada de WO₃NPs

Após a padronização dos elétrodos no substrato de poli-imida, as WO₃NPs numa dispersão de 50:1 (água destilada: etileno glicol butil éter) foram depositadas na superfície do elétrodo de trabalho, num volume de 5 μ L. Os sensores foram colocados sobre uma placa de aquecimento a 60 °C durante 30 min até a gota secar. Posteriormente, foi adicionada 2 μ L de Nafion em cima da camada de WO₃NPs e deixou-se secar à temperatura ambiente durante 30 min. O Nafion foi adicionado de forma a melhorar a adesão das WO₃NPs à superfície do elétrodo de trabalho durante a caracterização eletroquímica. Os sensores foram guardados num ambiente seco e protegido da luz (Figura 4.5).

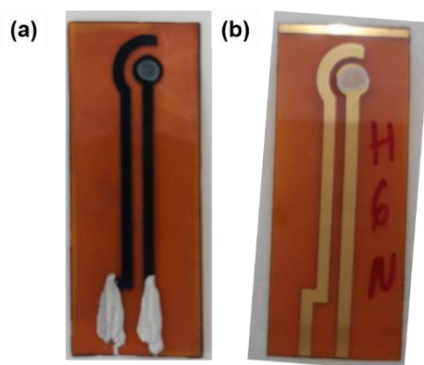


Figura 4.5 Sensores de pH finais com a camada ativa de WO_3 NPs: (a) sensor de pH com elétrodos de GP; (b) sensor de pH com elétrodos de ouro.

Os reagentes e equipamentos utilizados nesta etapa encontram-se indicados em seguida.

Reagentes/materiais: Etileno glicol butil éter – Sigma-Aldrich; Nafion – Sigma-Aldrich; Água destilada – Milipore; folhas de acetato; substrato de poli-imida 76 μ m - Dupont

Equipamentos: Máquina de corte a laser CO_2 – Universal laser systems VLS 3.5; Placa de aquecimento Heidolph MR Hei-Tec, *e-beam* – “Homemade”.

4.3. Caracterização eletroquímica

A caracterização eletroquímica dos sensores produzidos foi feita através de medições de potencial em circuito aberto num potenciômetro, com soluções-tampão preparadas previamente (Tabela 4.3) numa gama de pH de 5 a 9.

Tabela 4.3 Preparação das soluções-tampão.

pH	Reagentes (para 1 litro)		
5	205 mL Ácido cítrico 0,1 M	295 mL Citrato de Sódio 0,1 M	500 mL H_2O
6	95 mL Ácido cítrico	405 mL Citrato de Sódio 0,1 M	500 mL H_2O
7	756 mL Fosfato Dissódico Hidrogenado 0,1 M	244 mL HCl 0,1 M	-
8	955,1 mL Fosfato Dissódico Hidrogenado 0,1 M	44,9 mL HCl 0,1 M	-
9	955 mL Fosfato Dissódico Hidrogenado 0,1 M	45 mL HCl 0,1 M	-

Para isso utilizou-se uma célula eletroquímica em acrílico adaptada para os sensores desenvolvidos (Figura 4.6), onde os sensores são colocados na parte de baixo da célula, imersos nas soluções-tampão. Na parte de cima é colocado o elétrodo de referência Ag/AgCl.

As medidas foram feitas durante 300 segundos, com período de 5 segundos, à temperatura ambiente.

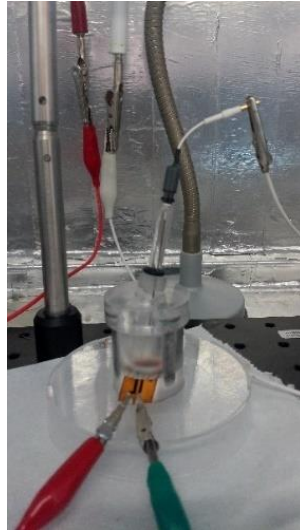


Figura 4.6 Aparato experimental para a caracterização eletroquímica dos sensores de pH desenvolvidos.

Reagentes: Soluções-tampão com pH de 5 a 9; água destilada - Milipore

Equipamentos: Potenciostato 600TM Gamry Instruments; eletrodo de referência Ag/AgCl; célula eletroquímica

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos no decorrer deste trabalho assim como a sua discussão.

Inicialmente é apresentada a caracterização estrutural e morfológica das WO₃NPs e de seguida, são apresentados os resultados decorrentes da produção do sensor de pH com elétrodos de ouro e de grafeno. No sensor de pH com elétrodos de grafeno é também apresentada a caracterização estrutural, química e morfológica do material produzido.

Por último, é apresentada a caracterização eletroquímica dos sensores de pH produzidos.

5.1. Caracterização das nanopartículas de WO₃ sintetizadas

No presente trabalho foram sintetizadas WO₃NPs por um método hidrotermal utilizando dois agentes direcionais de estrutura (ADE) diferentes e um tempo de reação diferente. As amostras obtidas foram caracterizadas por Difração de raios-X e por Microscopia eletrónica de varrimento.

De modo a facilitar a interpretação e discussão dos resultados seguintes foi atribuída uma nomenclatura a cada amostra de WO₃NPs sintetizadas, que é apresentada na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 Nomenclatura das WO₃NPs sintetizadas.

Precursor	ADE	Tempo de síntese (h)	Nomenclatura
Na ₂ WO ₄ ·2H ₂ O	NaCl	1	o1H
	Na ₂ SO ₄	1	h1H
		6	h6H

5.1.1. Difração de raios-X

A técnica de DRX foi utilizada para determinar as estruturas cristalográficas das amostras de WO₃NPs sintetizadas por um método hidrotermal. Os difratogramas resultantes da análise estão representados na Figura 5.1.

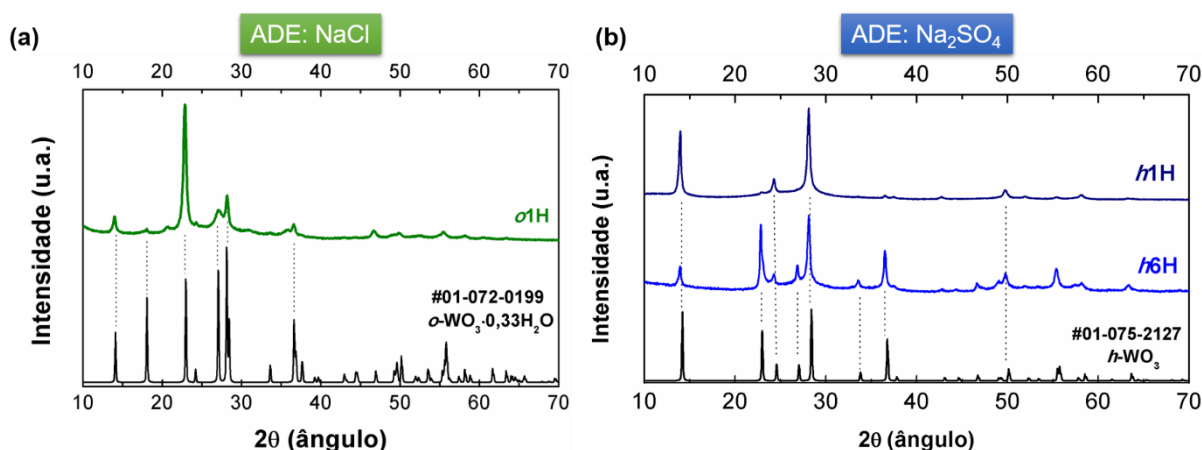


Figura 5.1 Difratogramas das WO₃ NPs sintetizadas a pH 1,8. (a) WO₃NPs sintetizadas a partir das soluções com Na₂WO₄·2H₂O e NaCl durante 1 hora (σ 1H); (b) WO₃NPs sintetizadas a partir das soluções com Na₂WO₄·2H₂O e Na₂SO₄ durante 1 hora (h 1H) e 6 horas (h 6H).

Pelos difratogramas obtidos verifica-se que com a variação do ADE foi possível obter-se estruturas cristalográficas diferentes. A identificação das estruturas cristalográficas, feita no *software HighScore Plus*, permitiu atribuir a estrutura ortorrômbica às NPs sintetizadas com o ADE NaCl (Figura 5.1 – a) e, a estrutura hexagonal às NPs sintetizadas com o ADE Na₂SO₄, durante 1 e 6 horas (Figura 5.1 – b). Esta atribuição foi feita a partir da comparação com as fichas cristalográficas existentes na base de dados do ICDD (do inglês, *International Centre for Diffraction Data*), com as referências #01-072-0199 (Anexo A.1) e #01-075-2127 (Anexo A.2), para as estruturas cristalográficas ortorrômbica hidratada e hexagonal, respetivamente.

De um modo geral, verifica-se que as estruturas obtidas têm todos os seus picos identificados e, que apesar de as estruturas obtidas com um tempo de síntese de 1 hora (σ 1H e h 1H) não possuírem todos os picos característicos, pode afirmar-se que correspondem à estrutura em questão, o que foi também confirmado pelo cálculo dos parâmetros de rede das amostras obtidas (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 Parâmetros da célula das amostras obtidas calculadas com o *software HighScore Plus*.

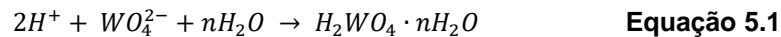
Amostra	Constantes da célula, Å			Ângulo, °		
	a	b	c	α	β	γ
σ 1H	7,31	12,51	7,72	90,00	90,00	90,00
h 1H	7,31	7,31	3,93	90,00	90,00	118,00
h 6H	7,32	7,32	3,91	90,00	90,00	120,00

Os valores estão de acordo com os característicos para as estruturas cristalográficas em questão, o que corrobora a atribuição das estruturas.

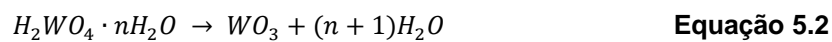
O processo de formação das WO₃NPs pode ser descrito em três passos principais:

1) **Formação do ácido túngstico:**

A formação do ácido túngstico (H₂WO₄·nH₂O) constitui o primeiro passo do processo de cristalização, ocorrendo pela acidificação da solução precursora, que é favorável a um pH inferior a 2.



2) **Formação de agregados de WO₃:**



3) **Crescimento dos núcleos cristalinos de WO₃.**

O método de síntese hidrotermal constitui um processo simples para a síntese de materiais anisotrópicos à escala nanométrica, a partir de solutos em água que são submetidos a elevadas pressões, o que permite aumentar a solubilidade do sólido, aumentando assim a velocidade da reação.^[47-49] Este método é bastante dependente das condições experimentais, o que foi comprovado pela obtenção de duas estruturas cristalográficas diferentes, com a variação do ADE, NaCl e Na₂SO₄.

Os ADE atuam como “*capping agents*” controlando cineticamente a taxa de crescimento de diferentes faces do cristal, através de processos de adsorção e desadsorção seletivos. Quando os íões são adicionados ao processo de síntese, eles ficam adsorvidos em algumas faces cristalinas, levando a um crescimento mais lento das mesmas, em comparação com as outras faces sem íões adsorvidos.^[18,22,50] No caso dos íões sulfato, sabe-se que os mesmos se ligam à superfície dos núcleos cristalinos do WO₃, diminuindo a energia superficial dos núcleos cristalinos em todas as direções exceto numa. Nesta direção, o crescimento cristalino continua por processos de aglomeração/ligação com outros núcleos cristalinos. Este processo continua até originar estruturas características dando origem à estrutura hexagonal em forma de agulha. Os íões positivos de sódio funcionam como estabilizadores no processo de crescimento.^[22,49]

No caso dos íões cloreto, ainda não foi descrito qual o efeito no crescimento das NPs mas prevê-se que seja similar ao dos íões sulfato.

As duas estruturas cristalográficas obtidas – ortorrômbica hidratada e hexagonal – possuem geometrias distintas (Figura 5.2) o que lhes confere diferentes propriedades.

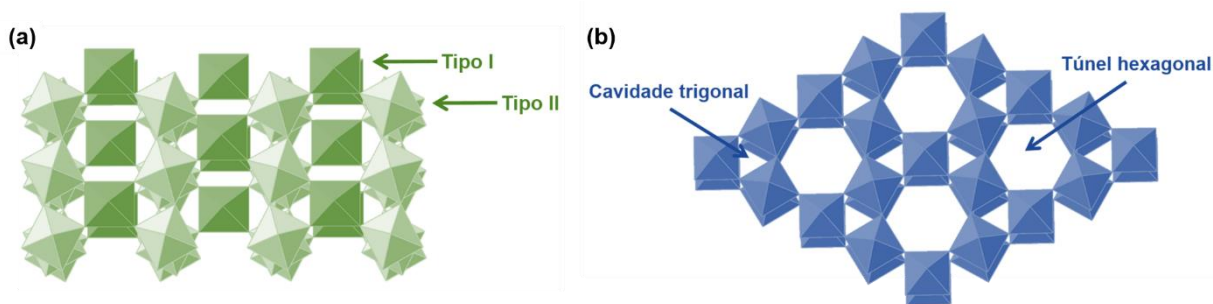


Figura 5.2 Imagens da geometria das estruturas cristalográficas obtidas na síntese de WO_3NPs . (a) Estrutura cristalográfica ortorrômbica hidratada; (b) Estrutura cristalográfica hexagonal. Adaptado de Marques, 2014.

A geometria ortorrômbica hidratada (Figura 5.2 – a) é constituída por dois tipos de octaedros WO_6 : tipo I e tipo II. O tipo I consiste em seis átomos de oxigénio a rodear o átomo central de tungsténio. Os quatro átomos de oxigénio no mesmo plano são partilhados por quatro octaedros vizinhos na mesma camada, enquanto que os outros dois átomos de oxigénio, que estão num plano perpendicular, são partilhados com as camadas adjacentes. Isto assegura a ligação entre as várias camadas e, conseqüentemente a estabilidade à estrutura. O tipo II consiste em quatro átomos de oxigénio no mesmo plano, e os outros dois átomos de oxigénio são substituídos pelas ligações terminais $\text{W}=\text{O}$ e $\text{W}-\text{OH}_2$, dando origem a octaedros $\text{WO}_5(\text{H}_2\text{O})$. A geometria hexagonal (Figura 5.2 – b) é, por sua vez, descrita por octaedros WO_6 com cada átomo de oxigénio a ser partilhado com outro octaedro. Estes octaedros são ligeiramente distorcidos e crescem numa única direção espacial. O empilhamento das várias camadas leva à formação de túneis e cavidades trigonais, entre os octaedros WO_6 . A existência destas cavidades tem atraído grande atenção por parte da comunidade científica, devido à fácil intercalação de iões positivos e à sua elevada área superficial.^[18,22,51]

5.1.2. Microscopia eletrónica de varrimento

A morfologia das WO_3NPs obtidas foi caracterizada por microscopia eletrónica de varrimento e encontra-se apresentada na Figura 5.3.

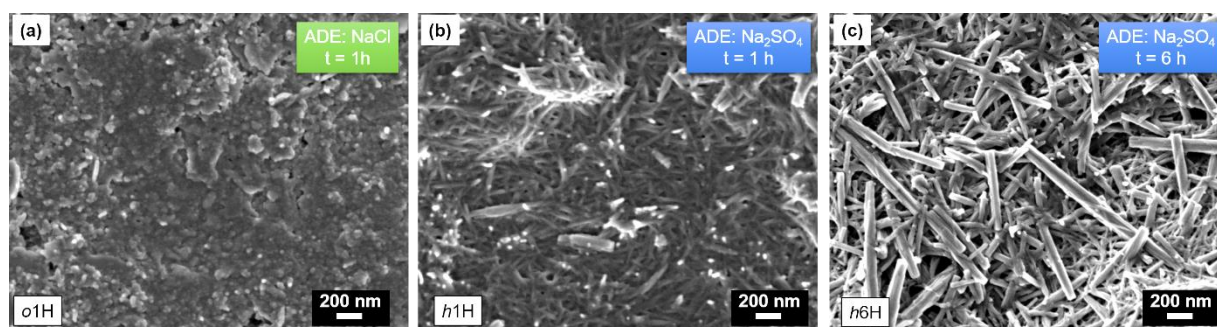


Figura 5.3 Imagens de SEM das amostras de WO_3NPs sintetizadas.

Os resultados mostram que as WO_3NPs sintetizadas com NaCl (o1H) (Figura 5.3 – a), cuja estrutura cristalográfica foi atribuída a ortorrômbica hidratada, possuem uma morfologia de nanodiscos. Por outro lado, as WO_3NPs sintetizadas com Na_2SO_4 possuem uma morfologia de

nanofios, verificando-se um aumento considerável do tamanho das NPs, na síntese feita durante 6 horas (*h6H*) (Figura 5.3 – c) em comparação com a síntese de 1 hora (*h1H*) (Figura 5.3 – d), o que era expectável, visto que o maior tempo de reação permite um maior crescimento das NPs. Esta estrutura unidimensional, ou seja, com uma dimensão elevada num dos eixos, confere à estrutura hexagonal características novas e otimizadas em termos de área superficial e propriedades físicas, como por exemplo, características óticas, magnéticas e eletrônicas.

5.2. Desenvolvimento do sensor de pH

No presente trabalho foram desenvolvidos dois tipos sensores de pH com elétrodos de ouro e de grafeno, com uma camada ativa de WO₃NPs, em substratos flexíveis de poli-imida. Uma vez que já tinha sido produzido pelo grupo um sensor de pH em substrato de poli-imida e com elétrodo de ouro com WO₃NPs^[4], o sensor produzido neste trabalho foi desenvolvido com o intuito de comparar com uma nova arquitetura e processo de fabrico, produzindo assim um sensor de baixo-custo. O sensor de pH com elétrodos de ouro serviu também para determinar qual a melhor amostra de WO₃NPs obtida, para a medição do pH, para posterior integração no sensor de pH com elétrodos de grafeno poroso.

No sensor de pH com elétrodos de grafeno foi feita a otimização das condições a utilizar na técnica de indução a laser, a caracterização do material obtido por Difração de raios-X, Espectroscopia de Raman e por Microscopia eletrônica de varrimento. Por último, foi feita a caracterização eletroquímica, por medição do potencial em circuito aberto, com a melhor amostra de WO₃NPs.

5.2.1. Sensor de pH com elétrodos de ouro

As NPs sintetizadas, depois de lavadas por centrifugação, foram dispersas em água destilada, no entanto verificou-se que as dispersões apenas em água destilada eram instáveis. Por esta razão, adicionou-se o solvente etileno glicol butil éter para garantir a estabilidade das dispersões. O mesmo foi adicionado nas razões 10:1 e 50:1 (WO₃NPs dispersas em água: etileno glicol butil éter).

Uma vez que era crucial garantir que a camada ativa de WO₃NPs ficasse apenas na superfície do elétrodo de trabalho, sem contaminar o restante sensor, foram medidos os ângulos de contato de uma gota de cada dispersão com a superfície de ouro. Estas medidas foram feitas para as três amostras de WO₃NPs (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 Ângulos de contato medidos de uma gota da dispersão de WO₃NPs com a superfície do elétrodo de ouro. As dispersões cujos ângulos de contato foram medidos foram em água destilada e na mistura de água destilada com butil éter, nas razões 50:1 e 10:1.

Amostras de WO ₃ NPs	Ângulos de contato (°)		
	Água	50:1	10:1
<i>o1H</i>	81,3 ± 1,6	57,5 ± 1,1	38,4 ± 3,2
<i>h1H</i>	74,4 ± 0,4	61,6 ± 2,8	26,8 ± 0,1
<i>h6H</i>	77,5 ± 1,7	63,8 ± 1,3	33,2 ± 2,2

Pelos dados obtidos, verificou-se que as dispersões em água e na razão 10:1 possuem os maiores e menores ângulos de contato, em todas as amostras, respectivamente. Estes resultados mostram que a adição do etileno glicol butil éter diminui os ângulos de contato da dispersão, uma vez que diminui a tensão superficial. Por esta razão, o solvente foi adicionado em volumes muito pequenos de forma a garantir a estabilidade da solução sem levar ao espalhamento total da gota.

Apesar das dispersões em água apresentarem os maiores ângulos de contato, optou-se pela dispersão 50:1, uma vez que forma um ângulo de contato suficiente para que a gota não contamine o restante sensor e, a dispersão de WO₃NPs mantém-se estável ao longo do tempo.

Os elétrodos de trabalho com as dispersões 50:1 das três amostras de WO₃NPs depositadas foram analisados por SEM-FIB de forma a determinar a espessura da camada de NPs em cima do eletrodo e observar aderência das mesmas ao eletrodo de trabalho (Figura 5.4).

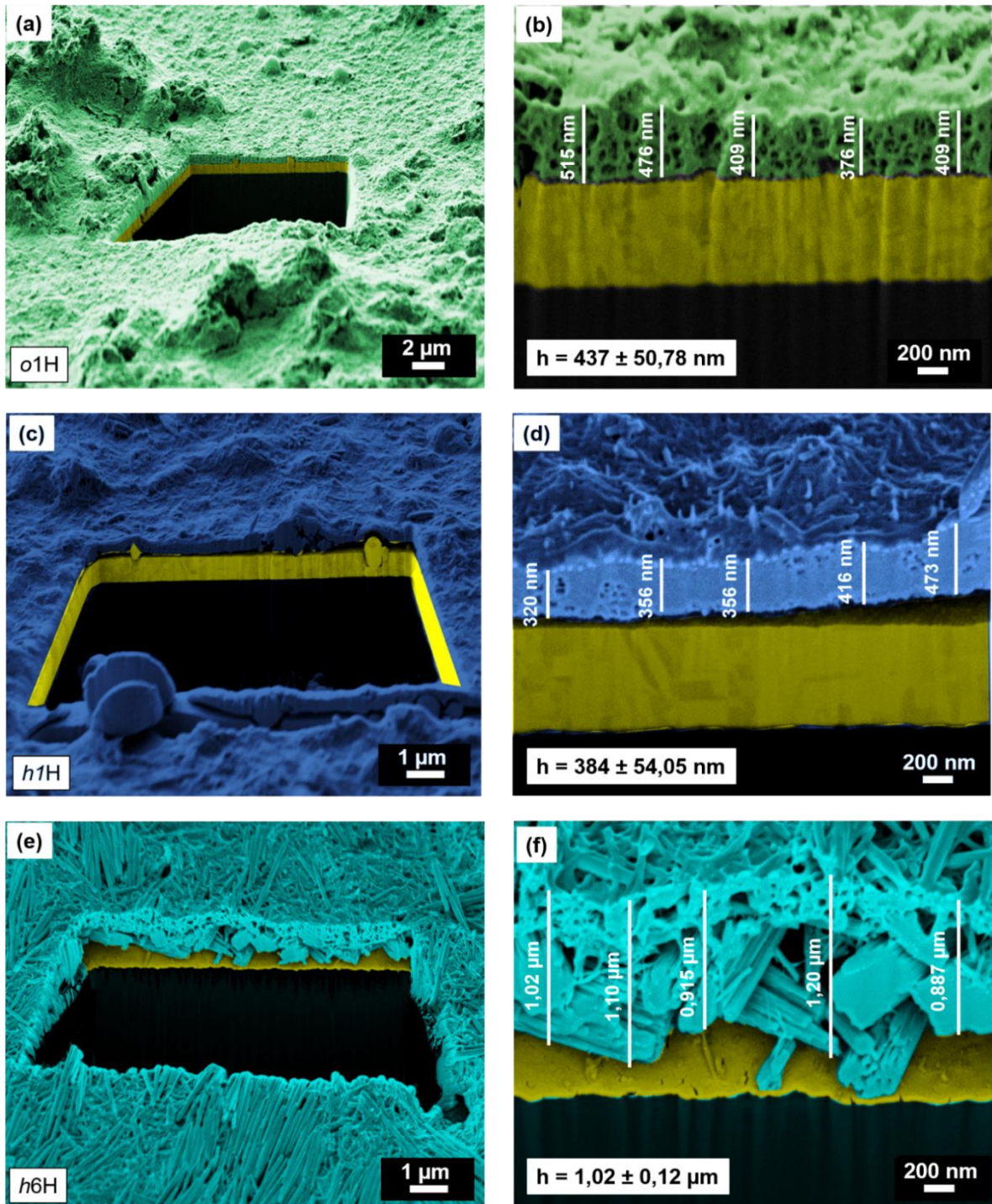


Figura 5.4 Imagens de SEM-FIB da superfícies dos elétrodos de ouro com as três amostras de WO₃NPs depositadas: (a) Imagem SEM-FIB do elétrodo com a amostra σ 1H (estrutura cristalográfica ortorrômbica hidratada); (b) Imagem ampliada da amostra σ 1H na superfície do elétrodo mostrando a altura da camada formada; (c) Imagem SEM-FIB do elétrodo com a amostra h1H (estrutura cristalográfica hexagonal); (d) Imagem ampliada da amostra h1H na superfície do elétrodo mostrando a altura da camada formada; (e) Imagem SEM-FIB do elétrodo com a amostra h6H (estrutura cristalográfica hexagonal); (f) Imagem ampliada da amostra h6H na superfície do elétrodo mostrando a altura da camada formada. As imagens foram coloridas artificialmente para uma melhor distinção entre as diferentes camadas: amarelo: ouro; verde: WO₃NPs σ 1H; azul escuro: WO₃NPs h1H; azul vivo: WO₃NPs h6H.

De um modo geral, verifica-se que as WO_3 NPs cobrem toda a superfície do eletrodo.

A camada depositada da amostra *o1H* (Figura 5.4 – a,b), de estrutura cristalográfica ortorrômbica hidratada, possui uma espessura de, aproximadamente, $437 \pm 50,78$ nm e, alguma aderência à superfície do eletrodo. No entanto, na imagem mais ampliada (Figura 5.4 – b), verifica-se mesmo assim alguma separação entre as WO_3 NPs e o eletrodo de trabalho. No caso da amostra *h1H* (Figura 5.4 – c,d), de estrutura cristalográfica hexagonal, a camada formada em cima do eletrodo possui uma espessura de $384 \pm 54,05$ nm. Relativamente à aderência, verifica-se que não é tão efetiva do que a amostra *o1H*, pelo menos em algumas zonas. No entanto, seria necessário mais estudos para determinar se a falta de aderência se deve aos solventes utilizados na dispersão das WO_3 NPs ou é apenas resultado da utilização do FIB utilizado no corte da amostra. Por último, na amostra *h6H* (Figura 5.4 – e,f) verifica-se que a camada de WO_3 NPs possui uma espessura bastante elevada de, aproximadamente $1,02 \pm 0,12$ μ m, apresentando também uma aderência muito fraca à superfície do eletrodo. Isto deve-se possivelmente, ao elevado tamanho das WO_3 NPs, com uma síntese de 6 horas, mostrando uma tendência para formar agregados.

Na Figura 5.5 apresenta-se uma fotografia do sensor, com o contra-eletrodo e o eletrodo de trabalho, depois da deposição das WO_3 NPs *h1H*.

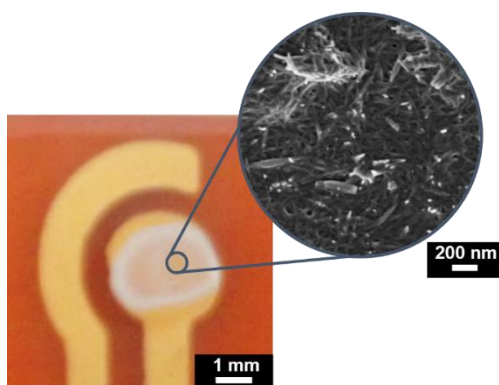


Figura 5.5 Fotografia do sensor de pH com eletrodos de ouro, com o contra-eletrodo e o eletrodo de trabalho em destaque. A camada ativa de WO_3 NPs é da amostra *h1H*, cuja imagem SEM é também apresentada.

Pela fotografia verifica-se que a dispersão das WO_3 NPs se encontra apenas na superfície do eletrodo de trabalho, sem contaminar o restante do sensor. Verifica-se também que a camada é homogênea, com uma maior acumulação das bordas devido ao processo de secagem. Mais se acrescenta que apesar da camada de WO_3 NPs não cobrir totalmente a superfície do eletrodo de trabalho, este está coberto quase na totalidade e controlando a quantidade da gota garante-se que todos os sensores possuem o mesmo número de WO_3 NPs.

5.2.2. Sensor de pH com eletrodos de grafeno poroso

Na produção do sensor de pH com eletrodos de grafeno foi usada a técnica de indução a laser, em substratos de poli-imida, para produzir e padronizar os eletrodos de GP.

A ablação de polímeros por radiação laser é estudada desde o início dos anos 80. Devido à sua natureza complexa, o mecanismo detalhado do processo de ablação polimérico é ainda debatido, até

aos dias de hoje, como sendo um processo fototérmico ou fotoquímico, ou ambos. Uma vez que os processos fotoquímicos tendem a ocorrer em lasers com comprimentos de onda baixos e largura de pulso curta, deduz-se que esta técnica de indução de grafeno a laser ocorre por um efeito fototérmico, uma vez que é conseguida num laser de CO₂, que possui um elevado comprimento de onda (~ 10,6 μm) e pulsos relativamente longos (~ 14 ms). A energia da radiação do laser provoca vibrações o que leva a temperaturas localizadas extremamente elevadas (> 2500 °C), que conseguem facilmente quebrar as ligações C-O, C=O e N-C, presentes na poli-imida (Figura 5.6). Estes átomos recombinam-se e são libertados como gases e, os compostos aromáticos rearranjam-se formando a estrutura atômica do grafeno.^[44,45]

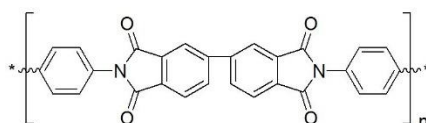
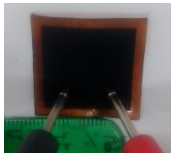










Figura 5.6 Estrutura molecular da poli-imida.

De forma a determinar quais as melhores condições, em termos de potência e velocidade do laser, para induzir a formação de GP, foram testadas diferentes condições no laser, e foi medida a resistividade das diferentes amostras produzidas, cujos resultados são apresentados na Tabela 5.4.

Tabela 5.4 Amostras obtidas através da variação da potência e da velocidade para a produção de grafeno por indução a laser no substrato de poli-imida. As resistividades do grafeno obtido foram medidas com um multímetro, mantendo uma distância de 1 cm entre os crocodilos. As medidas foram feitas em triplicado.

Condições utilizadas no laser de CO ₂		Velocidade (%)		
		30	60	90
			-	-
		Sem formação de GP	-	-
Potência (W)	12,5			
		R = 50 ± 2,2 Ω/cm	R = 61 ± 5,7 Ω/cm	Sem formação de GP
	25			
		R = 38 ± 0,8 Ω/cm	R = 53 ± 5,9 Ω/cm	R = 148 ± 37,5 Ω/cm
40		-	-	
	Excesso de potência	-	-	

Verifica-se que, a uma potência de 5 W não há formação de GP no substrato de poli-imida, pelo contrário, quando se utiliza um potência de 12,5 W observa-se a formação de GP, à velocidade de 30 e 60 %, com valores de resistividade de $50 \pm 2,2 \Omega/\text{cm}$ e $61 \pm 5,7 \Omega/\text{cm}$, respetivamente. À velocidade de 90 % também não se observa formação de GP, uma vez que a velocidade do laser é muita elevada e, a potência não é suficiente para induzir a formação do material.

No caso das amostras obtidas com potência de laser de 25 W, verifica-se que ocorre formação de GP em todas as velocidades usadas e que, o valor de resistividade aumenta com a velocidade do laser, uma vez que quanto maior a velocidade menos tempo o laser passa no mesmo local. As resistividades obtidas para as velocidades de 30, 60 e 90 % foram de 38 ± 1 , 53 ± 6 e $148 \pm 38 \Omega/\text{cm}$, respetivamente. Por último, foi testada uma potência mais elevada, de 40 W, que revelou ser muito elevada, levando à destruição do substrato de poli-imida.

Com estes resultados, optou-se por produzir os elétrodos de grafeno no substrato de poli-imida, com 25 W de potência e 30 % de velocidade, visto que são as condições que permitem a formação de GP com um menor valor de resistividade ($38 \pm 1 \Omega/\text{cm}$).

Na Figura 5.7 encontram-se imagens obtidas por lupa ótica da zona do elétrodo de trabalho e contra-elétrodo (Figura 5.7 – a), bem como a imagem do elétrodo de trabalho ampliado (Figura 5.7 – b). As imagens dos contatos do sensor (Figura 5.7 – c) bem como uma zona mais ampliada (Figura 5.7 – d) também são apresentadas.

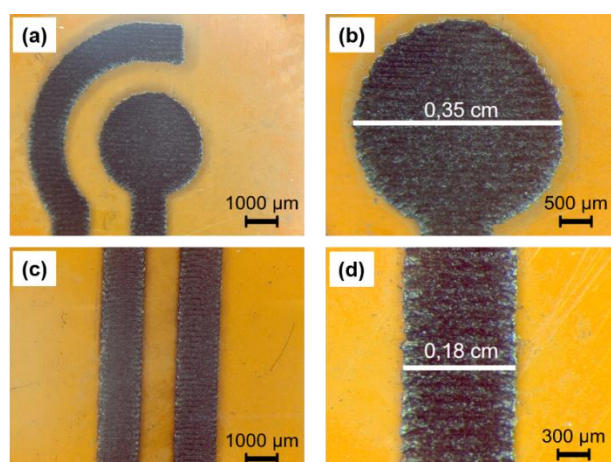


Figura 5.7 Imagens de lupa ótica dos elétrodos de grafeno poroso produzidos pela técnica de indução a laser, num substrato de poli-imida.

Pela observação da imagem pode-se afirmar que a técnica de indução a laser permite a padronização do sensor de pH através de linhas horizontais consecutivas, com uma elevada resolução e com um tempo de produção bastante baixo, de aproximadamente 15 segundos/sensor. Contudo, é de se notar que ocorreu um ligeiro aumento da área padronizada, devido ao aquecimento produzido pelo laser.

5.2.2.1. Difração de raios-X

O GP produzido por indução a laser foi caracterizado por Difração de raios-X, Espectroscopia de Raman e por Microscopia eletrônica de varrimento.

Na Figura 5.8 está apresentado o difratograma do GP produzido e do substrato de poli-imida.

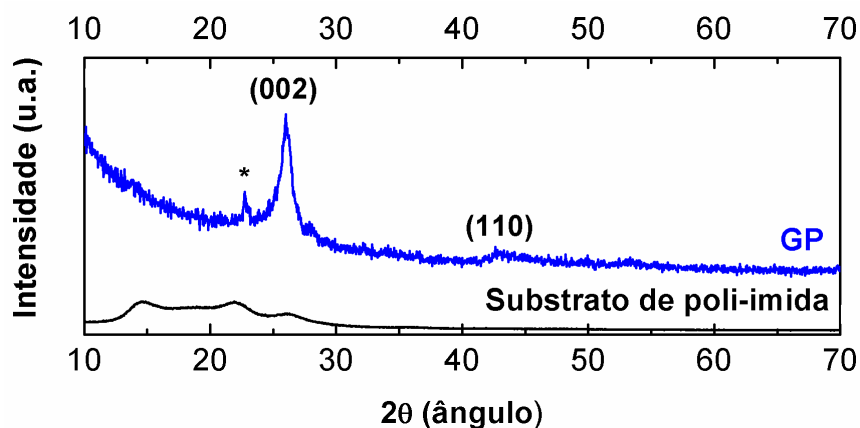


Figura 5.8 Difratograma do pó de grafeno produzido no laser (a azul) e do substrato de poli-imida (a preto).

Verifica-se que o material obtido possui os dois picos característicos do grafeno, um pico com maior intensidade a $\theta = 26,03^\circ$, correspondente ao plano (002) e um pico com menor intensidade, a $\theta = 49,80^\circ$, correspondente ao plano (100). Além disso, observa-se também a presença de um pico a $\theta = 22,60^\circ$, não identificado, que pode ser devido à presença de impurezas ou defeitos na estrutura obtido. Apesar disso, pode afirmar-se que a técnica de indução a laser produziu com sucesso grafeno, no substrato de poli-imida, uma vez que o difratograma está de acordo com a literatura.^[44,45]

5.2.2.2. Espectroscopia de Raman

Na Figura 5.9, está apresentado o espectro de Raman do GP produzido.

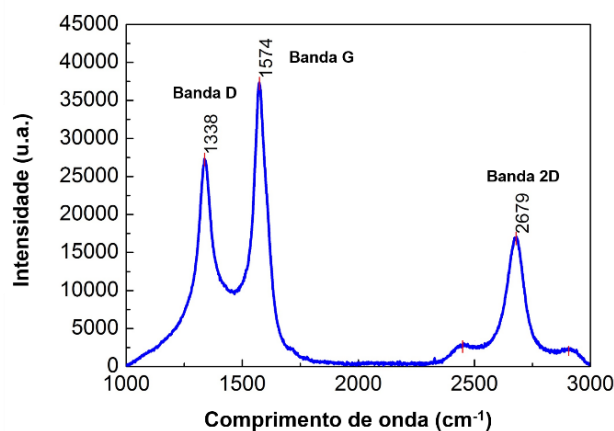


Figura 5.9 Espectro de Raman do GP na superfície do substrato de poli-imida produzida com 25 W de potência a uma velocidade de 30%.

Pela observação do espectro pode afirmar-se que a simetria da banda 2D ($\sim 2679 \text{ cm}^{-1}$) indica que não se trata de grafite, contudo apresenta uma intensidade demasiado baixa em relação à banda G ($\sim 1574 \text{ cm}^{-1}$) para ser grafeno de poucas camadas. Trata-se, portanto, de alguma forma de multicamadas de grafeno com empilhamento não ordenado (caso contrário a banda G' teria uma composição clara). A relação de intensidades da banda G com a D ($\sim 1338 \text{ cm}^{-1}$) indica a presença de defeitos estruturais e/ou muitas extremidades expostas, na morfologia do material produzido.^[29]

5.2.2.3. Microscopia eletrónica de varrimento

Na Figura 5.10 encontram-se as imagens de SEM do GP, com diferentes ampliações de forma a observar-se a morfologia do material.

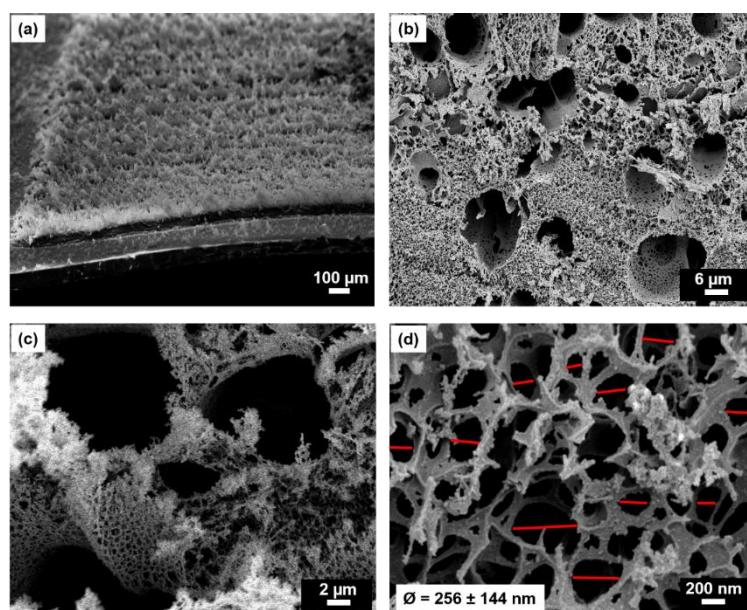


Figura 5.10 Imagens de SEM da morfologia do grafeno produzido na superfície do substrato de poli-imida: (a) Imagem obtida com uma ampliação de 50 X, onde é também possível ver o substrato de poli-imida; (b) Imagem obtida com uma ampliação de 1 KX; (c) Imagem obtida com uma ampliação de 3 KX; (d) Imagem obtida com uma ampliação de 20 KX, com o cálculo do diâmetro do poro.

As imagens de SEM obtidas demonstram uma aparência espumosa com uma estrutura porosa resultante da rápida libertação dos produtos gasosos. A indução a laser nas condições otimizadas (25 W de potência, 30 % de velocidade) mostrou produzir uma camada de grafeno com uma espessura de, aproximadamente, 100 μm (Figura 5.10 – a). A estrutura porosa apresenta poros de grandes dimensões assim como de pequenas dimensões. Os diâmetros dos poros de dimensões mais pequenas foram determinados a partir da imagem de SEM mais ampliada (Figura 5.10 – d), apresentado um diâmetro de 256 nm com um desvio-padrão de 144 nm, que é relativamente elevado, mostrando uma baixa uniformidade das dimensões dos poros.

Por último, utilizou-se a técnica de SEM-FIB para observar a distribuição, espessura e aderência das $\text{WO}_3\text{NPs } h1H (50:1)$ à superfície do elétrodo de GP (Figura 5.11).

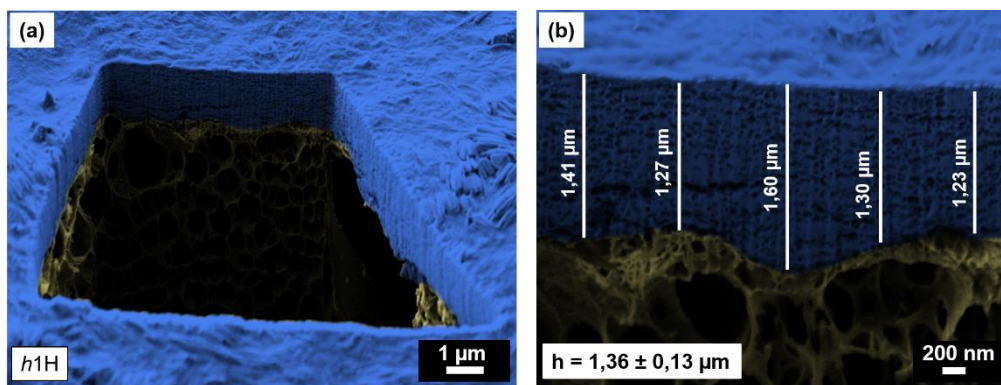


Figura 5.11 (a) Imagem de SEM-FIB das NPs *h1H* na superfície do eletrodo de GP; (b) Imagem ampliada da amostra *h1H* na superfície do eletrodo mostrando a altura da camada formada. As imagens foram coloridas artificialmente para permitir uma melhor distinção das diferentes camadas: azul: $\text{WO}_3\text{NPs } h1H$; amarelo escuro: GP.

Observando as imagens verifica-se que a superfície do eletrodo está totalmente coberta com as $\text{WO}_3\text{NPs } h1H$, cuja camada possui uma espessura de $1,36 \pm 0,13 \mu\text{m}$. Relativamente à aderência, verifica-se que as WO_3NPs estão totalmente em contacto com a superfície do eletrodo, ao contrário dos eletrodos de ouro.

5.3. Caracterização eletroquímica

Seguidamente será apresentada a caracterização eletroquímica dos sensores de pH produzidos com uma camada ativa de WO_3NPs . Em primeiro lugar é apresentada a caracterização do sensor de pH com eletrodos de ouro, com as três amostras de WO_3NPs sintetizadas – *o1h*, *h1H* e *h6H*. A caracterização foi feita através de medições do potencial em circuito aberto ao mergulhar o sensor em soluções-tampão de pH de 5 a 9, cujo intervalo está dentro dos valores de pH dos processos biológicas, uma vez que o objetivo principal do trabalho era o de desenvolver um sensor de pH flexível e de baixo-custo para monitorização biológica.

Por último, é apresentada a caracterização eletroquímica do sensor de pH com eletrodos de GP com a amostra de WO_3NPs que apresentou melhores resultados no sensor de pH com eletrodos de ouro.

5.3.1. Sensibilidade, reprodutibilidade e reversibilidade do sensor de pH

Segundo a bibliografia a sensibilidade ideal para um sensor de pH deve ser expresso segundo uma reta linear com um declive de $-59,1 \text{ mV/pH}$, resultado este deduzido da Equação de Nernst simplificada (Equação 2.5), mostrando assim que o potencial é dependente do pH.

5.3.1.1. Sensores de pH com eletrodos de ouro

Na Figura 5.12 pode-se observar a variação do potencial medido com um sensor de pH com eletrodos de ouro e sem camada ativa de WO_3NPs .

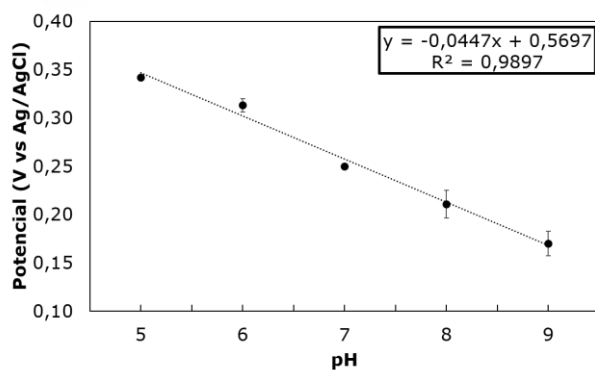


Figura 5.12 Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com eléctrodos de ouro e sem camada ativa de WO₃NPs.

De um modo geral, este sensor demonstra uma sensibilidade de $-44,7 \pm 4,7$ mV/pH, um pouco abaixo do valor teórico ($-59,1$ mV/pH), pois representa a variação da concentração dos prótons em solução devido à reação redox representada na Equação 2.6 de um eléctrodo de ouro sem camada ativa de WO₃NPs.

Na figura 5.13 pode-se observar o primeiro estudo do sensor de pH com a amostra de WO₃NPs o1H como camada ativa, onde se monitorizou a variação do seu potencial com o pH.

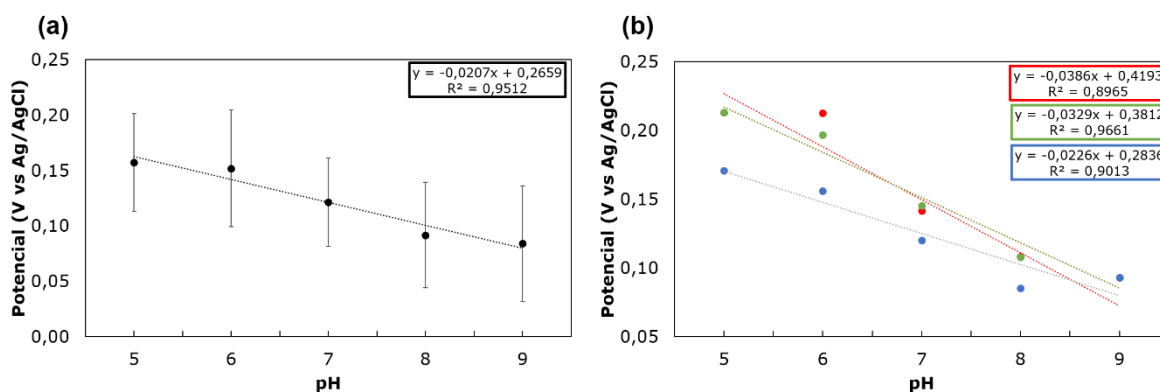


Figura 5.13 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra o1H, onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra o1H.

Para assegurar a fiabilidade da resposta ao pH deste sensor realizaram-se triplicados e este mostrou uma sensibilidade de $-20,7 \pm 11,8$ mV/pH (Figura 5.13 – a), uma sensibilidade bastante abaixo do valor teórico. Para além disso a sensibilidade apresenta um desvio padrão de 11,8 mV/pH, traduzindo-se num erro de mais de 50 %, revelando uma baixa reprodutibilidade do sensor.

O teste de reversibilidade (Figura 5.13 – b) revelou uma sensibilidade de $-38,6$ mV/pH na primeira descida e $-32,9$ mV/pH na subida. Na segunda descida a sensibilidade diminuiu consideravelmente para $-22,6$ mV/pH, o que corresponde a um decréscimo na ordem dos 41 %.

Este baixo valor de sensibilidade e reversibilidade pode dever-se ao facto de as WO₃NPs não aderirem bem à superfície do eléctrodo de ouro (Figura 5.4 – b), impossibilitando a troca eficaz de electrões entre as WO₃NPs e o eléctrodo de trabalho. Além disso, a estrutura cristalográfica

ortorrômbica hidratada não permite uma intercalação/desintercalação dos íons H^+ tão eficaz com a estrutura cristalográfica hexagonal, que possui túneis e cavidades trigonais, e cujos resultados são apresentados em seguida.

Na Figura 5.14 pode-se observar o estudo do potencial em circuito aberto do sensor de pH revestido com a amostra de WO_3 NPs *h6H*, de estrutura cristalográfica hexagonal.

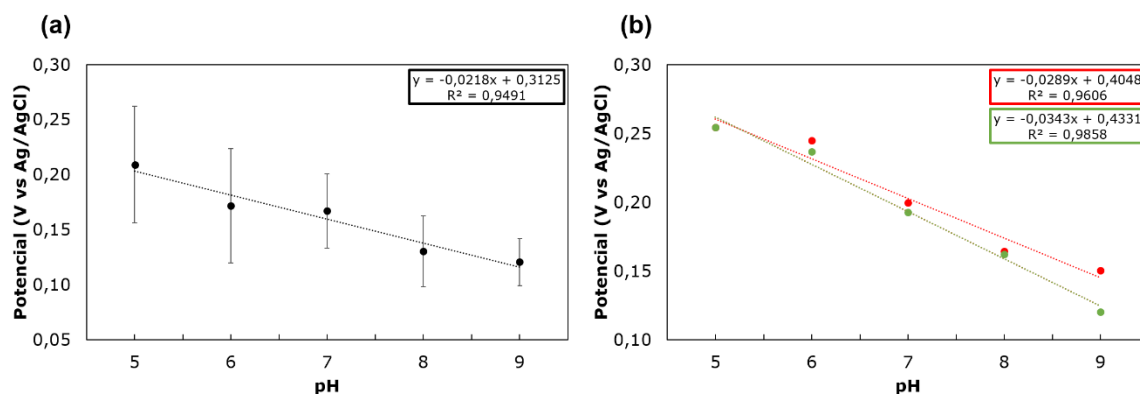


Figura 5.14 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra *h6H*, onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra *h6H*.

Para assegurar a fiabilidade da resposta ao pH deste sensor realizaram-se as medidas de potencial de circuito aberto em triplicado e este mostrou uma sensibilidade de $-21,8 \pm 7,9$ mV/pH (Figura 5.14 – a), uma sensibilidade abaixo do valor teórico ($-59,1$ mV/pH) mas um pouco mais sensível que o sensor com WO_3 NPs ortorrômbicas *o1H*. Esta diferença pode ser justificada pelo tipo de estrutura cristalográfica, pois a camada de WO_3 NPs *h6H* apesar de ter ficado mais espessa, apresentou uma sensibilidade maior. Além disso, este sensor mostrou um erro associado de $7,9$ mV/pH, abaixo do erro do sensor com WO_3 NPs *h6H*, revelando uma maior reprodutibilidade em relação ao sensor anterior.

Realizou-se ainda o teste de reversibilidade onde o sensor mostrou uma sensibilidade de $-28,9$ mV/pH na descida (pH 9 a 5) e de $-34,3$ mV/pH na subida (pH 5 a 9). O facto de a sensibilidade ter aumentado, na segunda medida, mostra que o tamanho e a aderência são um fator determinante na estabilidade do sensor. Pois, como se pode observar pela Figura 5.4 – f a camada de WO_3 NPs possui uma espessura muito elevada, na ordem dos micrómetros, e uma área de contacto com o eléctrodo de ouro bastante reduzida.

Na Figura 5.15 pode-se observar o estudo do potencial em circuito aberto do sensor de pH revestido com WO_3 NPs *h1H*.

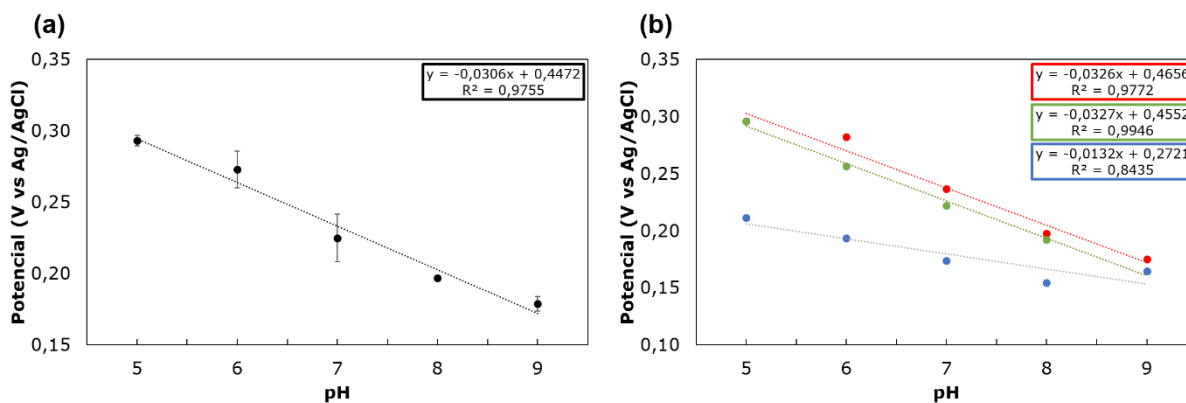


Figura 5.15 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra *h1H*, onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra *h1H*.

Para assegurar a fiabilidade da resposta ao pH deste sensor realizaram-se as medidas de potencial em circuito aberto em triplicado, e este mostrou uma sensibilidade média de $-30,6 \pm 2,1$ mV/pH (Figura 5.15 – a). Apesar de estar ainda abaixo do valor teórico, este sensor apresenta uma sensibilidade razoável e com um erro associado pequeno, mostrando que este sensor é bastante reprodutível. Este demonstrou ser o sensor com maior sensibilidade ao pH, comparativamente aos sensores produzidos com as outras estruturas de WO_3 NPs (*o1H* e *h6H*), devido às características da estrutura cristalográfica hexagonal e à baixa espessura da camada de WO_3 NPs na superfície do eletrodo (Figura 5.4 – d), o que facilita a troca eletrónica, entre as WO_3 NPs e o eletrodo de trabalho.

Realizou-se ainda o teste de reversibilidade, onde a primeira descida mostrou uma sensibilidade de $-32,6$ mV/pH e $-32,7$ mV/pH na subida. Estas sensibilidades são bastante próximas, mostrando que este sensor é reversível. No entanto, na segunda descida o sensor mostrou uma sensibilidade de $-13,2$ mV/pH, diminuindo bastante em relação aos ciclos anteriores com um decréscimo de 59 %, mostrando que o processo de redução/redução do WO_3 (Equação 2.6) vai deixando de ser reversível ao longo das medições de pH.

Na Figura 5.16 tem-se um resumo das três amostras diferentes com suas respectivas sensibilidades e desvios-padrão de cada um.

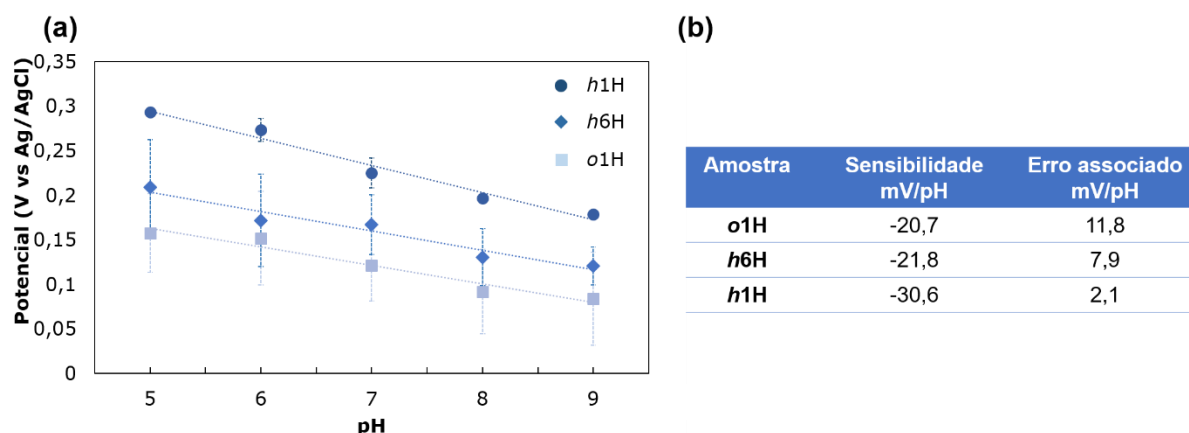


Figura 5.16 Testes de sensibilidade e reprodutibilidade das três amostras de WO_3 NPs.

É de realçar que a geometria com maior sensibilidade e reprodutibilidade foi a hexagonal e dentro desta estrutura cristalográfica, a síntese de 1 hora, que origina um tamanho de NPs menor, teve uma maior sensibilidade que a de 6 horas ($-30,6 \pm 2,1$ mV/pH).

5.3.1.2. Sensores de pH com eléttodos de grafeno poroso

Na Figura 5.17 pode-se observar a variação do potencial medido com um sensor de pH com eléttodos de GP e sem camada ativa de WO_3NPs .

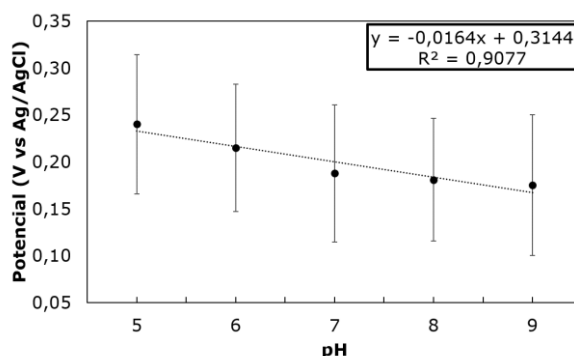


Figura 5.17 Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com eléttodos de GP e sem camada ativa de WO_3NPs .

Este sensor demonstra uma sensibilidade de $-16,4 \pm 0,1$ mV/pH, bastante abaixo do valor teórico ($-59,1$ mV/pH), pois representa a variação da concentração dos prótões em solução devido à reação redox representada na Equação 2.6 de um eléttodo GP sem camada ativa de WO_3NPs . Apesar disso, este sensor mostrou ser bastante reprodutível com um erro mínimo de 0,1 mV/pH.

Na Figura 5.18 pode-se observar o estudo do potencial em circuito aberto do sensor de pH com eléttodos de GP revestido com a amostra de WO_3NPs *h1H*, de estrutura cristalográfica hexagonal.

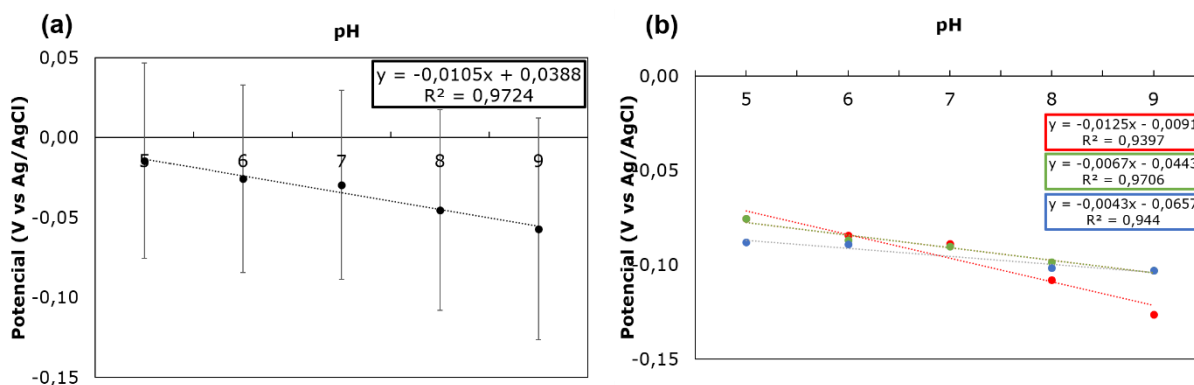


Figura 5.18 (a) Teste de sensibilidade e reprodutibilidade do sensor de pH com a amostra *h1H*, onde está representada a equação da reta. Os ensaios foram realizados em triplicados; (b) Teste de reversibilidade do sensor de pH com a amostra *h1H*.

Para assegurar a fiabilidade da resposta ao pH deste sensor realizaram-se as medidas de potencial em circuito aberto em triplicado, e este mostrou uma sensibilidade média de $-10,5 \pm 2,1$ mV/pH (Figura 5.18 – a) com um erro associado de cerca de 20%.

Realizou-se ainda o teste de reversibilidade, onde a primeira descida mostrou uma sensibilidade de $-12,5$ mV/pH e $-6,7$ mV/pH na subida. Na segunda descida o sensor mostrou uma sensibilidade de $-4,3$ mV/pH.

Neste sensor foram usadas as WO_3 NPs que obtiveram melhores resultados nos sensores com elétrodos de ouro (*h1H*), apesar disso o sensor apresentou uma sensibilidade muito mais baixa. Como se pode observar pelas imagens de FIB (Figura 5.11), devido à natureza altamente hidrofóbica do GP, este dificulta a formação de uma camada de NPs fina, levando a uma concentração das NPs no centro do elétrodo o que se traduz numa camada espessa de NPs e também na diminuição da área coberta do elétrodo de trabalho, em comparação com as mesmas NPs nos elétrodos de ouro. Estes dois fatores condicionam a passagem eficaz dos eletrões o que representa uma resposta baixa á variação de pH.

6. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

No âmbito deste trabalho utilizou-se grafeno poroso como elétrodo condutor no desenvolvimento de um sensor em substrato de poli-imida para monitorização biológica, neste caso do pH, usando como camada ativa nanopartículas de WO_3 .

Com o uso de um método hidrotermal na síntese de WO_3 NPs foi possível obter duas estruturas cristalográficas diferentes - ortorrômbica hidratada e hexagonal - através da variação dos agentes direcionadores de estrutura. Dentro da geometria hexagonal, foi possível obter duas amostras com tamanhos diferentes, aumentando o tempo de síntese de 1 para 6 horas, obtendo-se assim NPs maiores.

As amostras de WO_3 NPs dispersas em água destilada:etileno glicol butil éter na razão de 50:1 foram utilizadas nos testes de sensibilidade, reprodutibilidade e reversibilidade em sensores com elétrodos de ouro. A avaliação dos sensores foi realizada com recurso a um potencióstato com a técnica de potencial de circuito aberto, de modo a avaliar a variação de potencial da camada ativa de WO_3 NPs em função do pH, na gama de 5 a 9. A amostra que demonstrou melhores resultados nos testes eletroquímicos foi a *h1H*, de geometria hexagonal, apresentando uma sensibilidade de $-30,6 \pm 2,1$ mV/pH. O melhor desempenho destas WO_3 NPs deve-se aos benefícios da sua geometria, com a presença de túneis hexagonais e cavidades trigonais, da sua morfologia de estrutura unidimensional com uma elevada área superficial atômica e do seu tamanho que facilitou a adesão à superfície do ouro. Esta amostra foi então utilizada na produção do sensor com elétrodos de grafeno poroso (GP).

O sensor de pH com elétrodos de GP e a amostra de WO_3 NPs *h1H* apresentou uma sensibilidade inferior ($-10,5 \pm 2,1$ mV/pH) ao sensor com elétrodos de ouro e com a mesma amostra de WO_3 NPs. Este resultado deve-se a dois fatores, o primeiro relativo à superior resistividade do grafeno em relação ao ouro e o segundo devido à elevada espessura da camada de WO_3 NPs. Podemos concluir que o método de deposição das NPs não foi o mais adequado pois não foi possível obter uma camada ativa fina, e mais estudo devem ser realizados utilizando outros métodos de deposição como a impressão por *inkjet* que permite um maior controlo sobre o volume da gota, mas que encarece o processo, ou a eletrodeposição.

Estes resultados demonstram que é possível produzir sensores de pH de baixo custo e flexíveis através de um método rápido e barato de indução de grafeno a laser. Quando otimizado, este sensor de pH de baixo custo para monitorização biológica pode ser incorporado noutros sistemas de deteção mais complexos devido à sua flexibilidade, mais se acrescenta que este método de produção dos sensores pode também ser facilmente aplicado em diferentes arquiteturas de sensores eletroquímicos, uma vez que permite a padronização de elétrodos de uma forma rápida, com elevada resolução e de baixo custo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] M. G. Trevisan, *Quim. Nova* **2006**, 29, 1065.
- [2] F.-G. Banica, *Chemical Sensors and Biosensors Chemical Sensors and Biosensors*, **2012**.
- [3] T. Guinovart, G. Valdés-Ramírez, J. R. Windmiller, F. J. Andrade, J. Wang, *Electroanalysis* **2014**, 26, 1345.
- [4] L. Santos, J. P. Neto, A. Crespo, D. Nunes, N. Costa, I. M. Fonseca, P. Barquinha, L. Pereira, J. Silva, R. Martins, E. Fortunato, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, 13, 12226.
- [5] L. Rassaei, F. Marken, M. Sillanpää, M. Amiri, C. M. Cirtiu, M. Sillanpää, *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2011**, 30, 1704.
- [6] B. Hu, W. Chen, J. Zhou, *Sensors Actuators, B Chem.* **2013**, 176, 522.
- [7] S. Que Hee, *Biological Monitoring: An Introduction*, John Wiley & Sons, Ltd, **1993**.
- [8] B. Veigas, E. Fortunato, P. V Baptista, *Sensors (Basel)*. **2015**, 15, 10380.
- [9] B. Veigas, R. Branquinho, J. V Pinto, P. J. Wojcik, R. Martins, E. Fortunato, P. V Baptista, *Biosens. Bioelectron.* **2014**, 52, 50.
- [10] R. P. Buck, S. Rondinini, a. K. Covington, F. G. K. Baucke, C. M. a. Brett, M. F. Camoes, M. J. T. Milton, T. Mussini, R. Naumann, K. W. Pratt, P. Spitzer, G. S. Wilson, *Pure Appl. Chem.* **2002**, 74, 2169.
- [11] I. Mills, T. Cvitas, K. Homann, N. Kallay, K. Kuchitsu, *Quantities, Units and Symbols in Physical Chemistry; 2nd Edition*, **1993**.
- [12] a. K. Convington, R. G. Bates, R. a. Durst, *Pure Appl. Chem.* **1985**, 57, 531.
- [13] P. Kurzweil, *Metal oxides and ion-exchanging surfaces as pH sensors in liquids: State-of-the-art and outlook*, **2009**.
- [14] M. S. Silberberg, *Principles of General Chemistry*, **2009**.
- [15] A. Brett, C. Brett, *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*, **1993**.
- [16] L. Santos, J. P. Neto, A. Crespo, P. Baião, P. Barquinha, L. Pereira, R. Martins, E. Fortunato, **2015**, pp. 1–22.
- [17] C. Baj-Rossi, G. De Micheli, S. Carrara, *IEEE Life Sci.* **2014**, 12, 15.
- [18] A. Phuruangrat, D. J. Ham, S. J. Hong, S. Thongtem, J. S. Lee, *J. Mater. Chem.* **2010**, 20, 1683.
- [19] L. Santos, C. M. Silveira, E. Elangovan, J. P. Neto, D. Nunes, L. Pereira, R. Martins, J. Viegas, J. J. G. Moura, S. Todorovic, M. G. Almeida, E. Fortunato, *Sensors Actuators B Chem.* **2016**, 223, 186.
- [20] S.-H. Lee, R. Deshpande, P. A. Parilla, K. M. Jones, B. To, A. H. Mahan, A. C. Dillon, *Adv. Mater.* **2006**, 18, 763.
- [21] A. C. Marques, L. Santos, M. N. Costa, J. M. Dantas, P. Duarte, A. Gonçalves, R. Martins, C. A. Salgueiro, F. Fortunato, *Sci. Rep.* **2015**, 5, 1.
- [22] A. C. Marques, Desenvolvimento de um sensor colorimétrico em papel para a deteção de bactérias eletroquimicamente ativas, Universidade Nova de Lisboa, **2014**.
- [23] G. A. Niklasson, C. G. Granqvist, *J. Mater. Chem.* **2007**, 17, 127.
- [24] S. K. Deb, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells* **2008**, 92, 245.
- [25] M. Berger, «Nanotechnology primer: graphene - properties, uses and applications», can be found under <http://www.nanowerk.com/spotlight/spotid=34184.php>, **2014**.
- [26] K. Novoselov, A. Geim, S. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. Dubonos, I. Grigorieva, A. Firsov, *Science (80-.)*. **2004**, 306, 666.
- [27] M. J. Allen, V. C. Tung, R. B. Kaner, «Honeycomb carbon: A review of graphene», **2010**.
- [28] M. Pumera, A. Ambrosi, A. Bonanni, E. L. K. Chng, H. L. Poh, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2010**, 29, 954.
- [29] L. M. Malard, M. A. Pimenta, G. Dresselhaus, M. S. Dresselhaus, *Phys. Rep.* **2009**, 473, 51.
- [30] Y.-L. Zhang, Q.-D. Chen, Z. Jin, E. Kim, H.-B. Sun, *Nanoscale* **2012**, 4, 4858.
- [31] Y. Zhu, S. Murali, W. Cai, X. Li, J. W. Suk, J. R. Potts, R. S. Ruoff, *Adv. Mater.* **2010**, 22, 3906.
- [32] J. Chen, M. Zhao, Y. Li, J. Liang, S. Fan, S. Chen, *Ceram. Int.* **2015**, 41, 15241.
- [33] M. Peplow, *Nature* **2015**, 522, 268.
- [34] W. Norimatsu, M. Kusunoki, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2014**, 16, 3501.
- [35] K. S. Novoselov, A. H. Castro Neto, *Phys. Scr.* **2012**, T146, 014006.
- [36] P. Russo, A. Hu, G. Compagnini, *Nano-Micro Lett.* **2013**, 5, 260.
- [37] P. Xu, J. Yang, K. Wang, Z. Zhou, P. Shen, *Chinese Sci. Bull.* **2012**, 57, 2948.
- [38] G. Schneider, S. Kowalczyk, V. Calado, *Nano Lett.* **2010**, 10, 2915.

- [39] C. A. Merchant, K. Healy, M. Wanunu, V. Ray, N. Peterman, J. Bartel, M. D. Fischbein, K. Venta, Z. Luo, A. T. C. Johnson, M. Drndić, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 2915.
- [40] M. Fischbein, M. Drndić, *Appl. Phys. Lett.* **2008**, *93*, 113107.
- [41] D. Fox, A. O'Neill, D. Zhou, M. Boese, J. Coleman, H. Zhang, *Appl. Phys. Lett.* **2011**, *98*, 243117.
- [42] Z. Fan, Q. Zhao, T. Li, J. Yan, Y. Ren, J. Feng, T. Wei, *Carbon N. Y.* **2012**, *50*, 1699.
- [43] M. Koinuma, C. Ogata, Y. Kamei, K. Hatakeyama, H. Tateishi, Y. Watanabe, T. Taniguchi, K. Gezuhara, S. Hayami, A. Funatsu, M. Sakata, Y. Kuwahara, S. Kurihara, Y. Matsumoto, *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 19822.
- [44] P. Russo, A. Hu, G. Compagnini, W. W. Duley, N. Y. Zhou, *Nanoscale* **2014**, *6*, 2381.
- [45] J. Lin, Z. Peng, Y. Liu, F. Ruiz-Zepeda, R. Ye, E. L. G. Samuel, M. J. Yacaman, B. I. Yakobson, J. M. Tour, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 1.
- [46] D. Kurouski, R. Van Duyne, I. Lednev, *R. Soc. Chem.* **2015**, *140*, 4967.
- [47] R. R. Kharade, K. R. Patil, P. S. Patil, P. N. Bhosale, *Mater. Res. Bull.* **2012**, *47*, 1787.
- [48] J.-H. Ha, P. Muralidharan, D. K. Kim, *J. Alloys Compd.* **2009**, *475*, 446.
- [49] S. Rajagopal, D. Nataraj, D. Mangalaraj, Y. Djaoued, J. Robichaud, O. Y. Khyzhun, *Nanoscale Res. Lett.* **2009**, *4*, 1335.
- [50] Z. Gu, H. Li, T. Zhai, W. Yang, Y. Xia, Y. Ma, J. Yao, *J. Solid State Chem.* **2007**, *180*, 98.
- [51] K. Huang, Q. Pan, F. Yang, S. Ni, X. Wei, D. He, *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2008**, *41*, 155417.

8. ANEXOS

A – Fichas cristalográficas das estruturas cristalográficas ortorrômbica hidratada e hexagonal

A.1 – Ficha cristalográfica: Ortorrômbica hidratada (α - $\text{WO}_3 \cdot 0,33\text{H}_2\text{O}$)

Name and formula

Reference code: 01-072-0199
ICSD name: Tungsten Oxide Hydrate
Empirical formula: $\text{H}_{0,66}\text{O}_{3,33}\text{W}$
Chemical formula: $\text{WO}_3 (\text{H}_2\text{O})_{0,33}$

Crystallographic parameters

Crystal system: Orthorhombic
Space group: Fmm2
Space group number: 42

a (Å): 7.3590
b (Å): 12.5130
c (Å): 7.7040
Alpha (°): 90.0000
Beta (°): 90.0000
Gamma (°): 90.0000

Calculated density (g/cm^3): 6.68
Volume of cell (10^6 pm^3): 709.41
Z: 12.00

RIR: 6.13

Subfiles and Quality

Subfiles: Inorganic
Corrosion
Modelled additional pattern
Quality: Calculated (C)

Comments

Additional pattern: See PDF 35-270.
ICSD collection code: 015514

References

Primary reference: *Calculated from ICSD using POWD-12++*, (1997)
Structure: Gerand, B., Nowogrocki, G., Figlarz, M., *J. Solid State Chem.*, **38**, 312, (1981)

Peak list

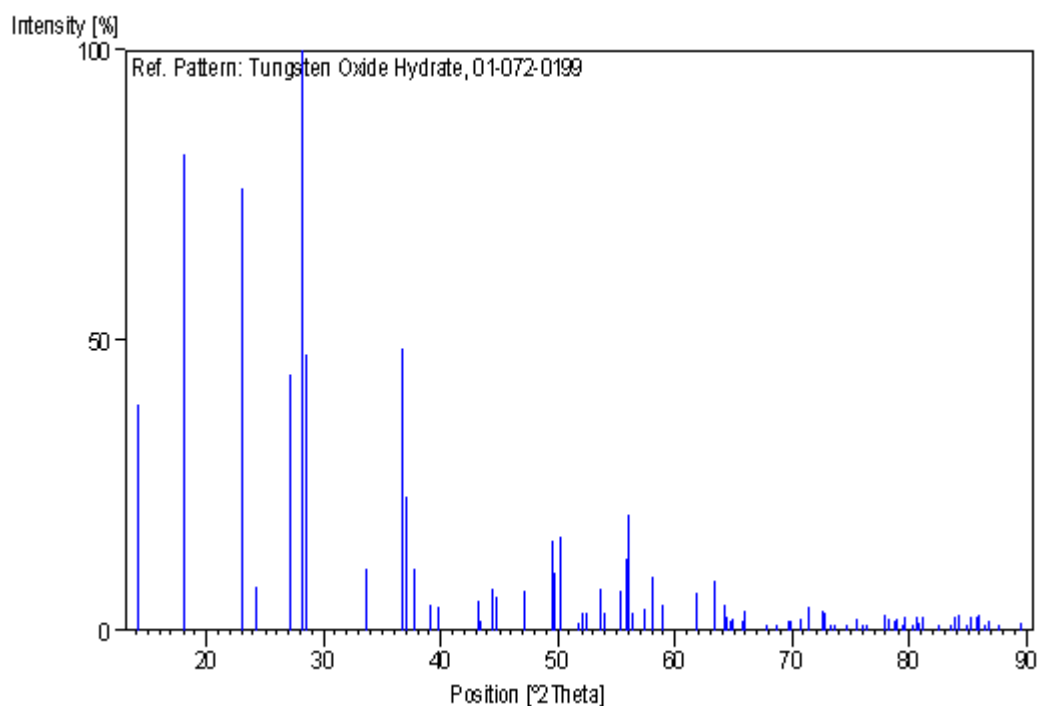
No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1	0	2	0	6.25650	14.144	38.9
2	1	1	1	4.89696	18.101	82.2
3	0	0	2	3.85200	23.071	76.4
4	2	0	0	3.67950	24.168	7.6
5	1	3	1	3.28276	27.142	44.2
6	2	2	0	3.17166	28.112	100.0
7	0	4	0	3.12825	28.510	47.6
8	2	0	2	2.66069	33.657	10.5
9	2	2	2	2.44848	36.674	48.5
10	0	4	2	2.42834	36.989	23.1
11	2	4	0	2.38034	37.763	10.6
12	3	1	1	2.29763	39.177	4.4
13	1	5	1	2.26466	39.771	4.2
14	1	3	3	2.09618	43.120	5.2
15	0	6	0	2.08550	43.352	1.8
16	3	3	1	2.03904	44.392	7.2
17	2	4	2	2.02675	44.676	5.9
18	0	0	4	1.92600	47.150	6.9
19	0	2	4	1.84075	49.476	15.3
20	0	6	2	1.83396	49.672	9.8
21	2	6	0	1.81434	50.246	16.1
22	4	2	0	1.76502	51.752	1.4
23	3	1	3	1.75624	52.030	2.9
24	1	5	3	1.74138	52.508	3.0
25	3	5	1	1.70637	53.670	7.1
26	1	7	1	1.69452	54.076	3.1
27	4	0	2	1.66012	55.291	6.9
28	2	2	4	1.64624	55.798	12.4
29	2	6	2	1.64138	55.978	20.0
30	3	3	3	1.63232	56.316	3.0
31	4	2	2	1.60460	57.378	3.7
32	4	4	0	1.58583	58.122	9.4
33	0	8	0	1.56412	59.008	4.3
34	2	4	4	1.49800	61.891	6.5
35	4	4	2	1.46642	63.376	8.6
36	0	8	2	1.44921	64.218	4.3
37	3	5	3	1.44715	64.320	2.4
38	2	8	0	1.43881	64.738	1.7
39	5	1	1	1.43610	64.876	2.1
40	3	7	1	1.41992	65.707	1.5
41	1	3	5	1.41824	65.795	1.5
42	0	6	4	1.41492	65.969	3.4
43	4	6	0	1.37964	67.881	0.3
44	5	3	1	1.36594	68.657	1.0
45	2	8	2	1.34839	69.678	1.6
46	1	9	1	1.34518	69.869	1.7
47	4	0	4	1.33035	70.763	2.0
48	2	6	4	1.32064	71.363	4.1
49	4	2	4	1.30125	72.594	3.5
50	4	6	2	1.29885	72.749	3.0
51	1	5	5	1.29169	73.218	1.0
52	0	0	6	1.28400	73.729	0.3
53	5	1	3	1.27035	74.655	0.8
54	0	2	6	1.25779	75.530	2.1
55	5	5	1	1.25181	75.955	0.6
56	3	3	5	1.24525	76.427	0.6
57	4	4	4	1.22424	77.983	2.8
58	5	3	3	1.22100	78.230	2.0
59	0	8	4	1.21417	78.755	1.5

60	2	0	6	1.21231	78.899	1.9
61	1	9	3	1.20611	79.385	0.8
62	6	2	0	1.20359	79.584	2.4
63	3	9	1	1.19492	80.278	0.5
64	4	8	0	1.19166	80.543	2.3
65	2	2	6	1.19017	80.664	1.4
66	0	4	6	1.18783	80.856	1.3
67	2	10	0	1.18467	81.117	2.2
68	6	0	2	1.16869	82.465	0.2
69	3	5	5	1.15696	83.487	0.5
70	2	8	4	1.15302	83.837	2.2
71	6	2	2	1.14882	84.214	2.7
72	6	4	0	1.14187	84.845	0.2
73	4	8	2	1.13843	85.162	2.5
74	2	10	2	1.13233	85.731	2.5
75	2	4	6	1.13039	85.914	2.6
76	5	7	1	1.12407	86.515	0.5
77	4	6	4	1.12158	86.755	1.7
78	1	11	1	1.11241	87.650	0.4
79	6	4	2	1.09478	89.435	0.8
80	0	6	6	1.09339	89.579	1.2

Structure

No.	Name	Elem.	X	Y	Z	Biso	sof	Wyck.
1	O1	O	0.00000	0.00000	0.76000	6.0000	1.0000	4a
2	O2	O	0.00000	0.00000	0.27000	6.0000	1.0000	4a
3	O3	O	0.25000	0.25000	0.31000	6.0000	1.0000	8b
4	O4	O	0.17000	0.11000	0.07000	6.0000	1.0000	16e
5	O5	O	0.00000	0.29000	0.10000	6.0000	1.0000	8c
6	W1	W	0.00000	0.00000	0.00000	1.3000	1.0000	4a
7	W2	W	0.25000	0.25000	0.06000	2.3000	1.0000	8b

Stick Pattern



A.2 – Ficha cristalográfica: Hexagonal (*h*-WO₃)

Name and formula

Reference code:	01-075-2187
ICSD name:	Tungsten Oxide
Empirical formula:	O ₃ W
Chemical formula:	WO ₃

Crystallographic parameters

Crystal system:	Hexagonal
Space group:	P6/mmm
Space group number:	191

a (Å):	7.2980
b (Å):	7.2980
c (Å):	3.8990
Alpha (°):	90.0000
Beta (°):	90.0000
Gamma (°):	120.0000

Calculated density (g/cm ³):	6.42
Measured density (g/cm ³):	6.36
Volume of cell (10 ⁶ pm ³):	179.84
Z:	3.00

RIR:	8.33
------	------

Subfiles and Quality

Subfiles: Inorganic
Alloy, metal or intermetallic
Corrosion
Modelled additional pattern
Quality: Calculated (C)

Comments

Additional pattern: See PDF 33-1387.
ICSD collection code: 032001

References

Primary reference: *Calculated from ICSD using POWD-12++*, (1997)
Structure: Gerand, B., Nowogrocki, G., Guenot, J., Figlarz, M., *J. Solid State Chem.*, **29**, 429, (1979)

Peak list

No.	h	k	l	d [Å]	2Theta[deg]	I [%]
1	1	0	0	6.32025	14.001	100.0
2	0	0	1	3.89900	22.789	67.4
3	1	1	0	3.64900	24.374	21.6
4	1	0	1	3.31836	26.845	22.0
5	2	0	0	3.16013	28.217	95.2
6	1	1	1	2.66423	33.611	11.0
7	2	0	1	2.45502	36.573	55.9
8	2	1	0	2.38883	37.623	10.0
9	3	0	0	2.10675	42.893	4.3
10	2	1	1	2.03692	44.441	3.8
11	0	0	2	1.94950	46.548	7.7
12	1	0	2	1.86289	48.849	3.7
13	3	0	1	1.85348	49.114	4.0
14	2	2	0	1.82450	49.947	16.2
15	3	1	0	1.75292	52.136	7.6
16	1	1	2	1.71949	53.229	2.5
17	2	0	2	1.65918	55.325	16.0
18	2	2	1	1.65252	55.568	17.3
19	3	1	1	1.59878	57.607	4.0
20	4	0	0	1.58006	58.355	8.4
21	2	1	2	1.51038	61.328	1.6
22	4	0	1	1.46439	63.474	9.3
23	3	2	0	1.44997	64.180	2.7
24	3	0	2	1.43087	65.142	1.2
25	4	1	0	1.37919	67.906	1.8
26	3	2	1	1.35903	69.055	1.5
27	2	2	2	1.33212	70.655	6.1
28	3	1	2	1.30348	72.450	1.5
29	4	1	1	1.30024	72.659	2.4
30	1	0	3	1.27303	74.471	0.4
31	5	0	0	1.26405	75.091	0.1
32	4	0	2	1.22751	77.736	4.0
33	1	1	3	1.22433	77.976	2.4
34	3	3	0	1.21633	78.588	0.2
35	5	0	1	1.20198	79.712	2.4
36	4	2	0	1.19442	80.319	7.5
37	3	2	2	1.16345	82.918	0.7
38	3	3	1	1.16114	83.119	0.5

39	4	2	1	1.14203	84.831	5.1
40	5	1	0	1.13515	85.467	0.9
41	4	1	2	1.12592	86.338	0.5
42	3	0	3	1.10612	88.277	0.2
43	5	1	1	1.08990	89.944	0.6

Structure

No.	Name	Elem.	X	Y	Z	Biso	sof	Wyck.
1	O1	O	0.21200	0.42400	0.00000	5.2000	1.0000	6i
2	O2	O	0.50000	0.00000	0.50000	6.3000	1.0000	3g
3	W1	W	0.50000	0.00000	0.00000	0.5000	1.0000	3f

Stick Pattern

