



Universidade de Brasília
Faculdade Ceilândia - FCE
Curso de Farmácia

CAIO ALVES DE OLIVEIRA LINO

**Prospecção do uso de óxido de grafeno como sensor
de íons.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Brasília - DF
2020**

CAIO ALVES DE OLIVEIRA LINO

Prospecção do uso de óxido de grafeno como sensor de íons.

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade de Brasília (UnB) - Faculdade Ceilândia (FCE), como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de farmacêutico.

Orientador: Profa. Dra. Claire Nain Lunardi Gomes

Brasília - DF
2020

Agradecimentos

Hoje quero agradecer! Agradecer pelas pessoas que estiveram comigo ao decorrer dessa caminhada, as vezes que eu passei noites em claro, mas que me tornaram um super-homem, de quem duvidou do meu potencial e que me fez lutar com ainda mais entusiasmo e a quem também não desistiu de mim. Não desistiu mesmo com tantas ausências, com tantos “não posso, preciso estudar”.

Agradeço minha orientadora por ser um ser humano sensacional! Chego a dizer que é uma das pessoas em que eu mais me inspiro e super admiro! Porque, além de uma ótima profissional, também se tornou uma ótima amiga que sempre esteve presente e me compreendeu nos momentos mais delicados.

Não poderia deixar de mencionar meu marido, Tom Galeanno, que foi a pessoa chave em todas minhas conquistas. Quem esteve comigo quando meu mundo desmoronava, quem sempre esteve ao meu lado para enxugar minhas lágrimas e também é a primeira pessoa a comemorar meu sucesso e dizer com todas as letras “VOCE CONSEGUE!”. E cá estou eu!

“Um pássaro sentado em uma árvore nunca tem medo do galho quebrar, porque sua confiança não está no galho, mas em suas próprias asas. Sempre acredite em você mesmo!”
- Autor Desconhecido.

Resumo

Com o crescimento da bionanotecnologia, novos compósitos foram sendo descobertos e com eles, houve o surgimento do grafeno. Este se caracteriza por uma folha de carbono plana com diversas propriedades tanto físicas quanto químicas. Desta forma, a utilização de nanoestruturas para construção de biossensores se tornou demasiadamente importante tanto para aplicações junto ao meio ambiente, quanto aplicações biomédicas. O presente trabalho buscou caracterizar o corante de galocianina e acoplá-lo juntamente ao óxido de grafeno possibilitando assim, avaliação de suas características fotoquímicas por meio de espectrofotometria de UV-Visível.

Palavras-chave: Grafeno, galocianina, nanocompósitos, espectrofotometria.

Abstract

With the growth of bionanotechnology, new composites were discovered and with them, Graphene appeared. It stands out for its flat carbon sheet with diverse physical properties as well as particles. Thus, the use of nanostructures for the construction of biosensors has become too important both for applications to the environment and for biomedical applications. The present work sought to characterize the gallocyanine dye and couple it with graphene oxide, thus enabling the evaluation of its photochemical characteristics by means of UV-Visible spectrophotometry.

Keywords: Graphene, gallocyanine, nanocomposites, spectrophotometry.

Lista de ilustrações

Figura 1 – Mecanismo de ação das nanopartículas direcionando-se à órgãos alvo sem a necessidade de circular por toda a corrente sanguínea e, conseqüentemente, diminuindo a toxicidade e efeitos adversos dos medicamentos	12
Figura 2 – Comparação da condutibilidade de demais semicondutores e grafeno...	15
Figura 3 – Conformações da estrutura de carbono	16
Figura 4 – Propriedades do grafeno	16
Figura 5 – Reação de oxidação do grafeno em óxido de grafeno	17
Figura 6 – Mecanismo de funcionamento do biossensor	18
Figura 7 – Esquema de ligação entre membrana de acetato de celulose e GC.	19
Figura 8 – Estrutura da Galocianina (Cloreto de 1-carboxi-7- (dimetilamino) -3,4-dihidroxifenoxazin-5-io).	20
Figura 9 – Mecanismo de funcionamento da via de sinalização Wnt.	21
Figura 10 – Mecanismo de funcionamento do espectrofotômetro de UV-Vis.....	23
Figura 11 – Transição eletrônica do estado fundamental para o estado excitado da amostra.	24

Lista de abreviaturas e siglas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Abs	Absorbância
BS	biossensores
DA	Doença de Alzheimer
DKK-1	Proteína Dickkopf-1
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
GC	Galocianina
GF	Grafeno
GON	Óxido de grafeno
Hb	Hemoglobina
H&E	Hematoxilina-Eosina
ICP	Espectroscopia de Absorção Atômica
III	Três
K	Constante de associação
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LRP	Lipoproteína de baixa densidade ligada a proteína 6
M	Molar
MEDLINE	Sistema Online de Busca e Análise de Literatura Médica
MeHb	Metahemoglobina
NO	Óxido nítrico
NO ₂ -	Nitrito
ONU	Organização das Nações Unidas
R ²	Coeficiente de determinação
SciELO	Biblioteca Eletrônica Científica Online

UV

Ultravioleta

Vis

Região do visível

Sumário

1	Introdução	11
1.1	Justificativa.....	12
2	Objetivos	14
2.1	Objetivo Geral	14
2.2	Objetivo Específico	14
3	Revisão da Literatura	15
3.1	Grafeno.....	15
3.2	Biossensores	18
3.3	Íons Nitrito.....	19
3.4	Corante de Galocianina.....	22
4	MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1	Metodologia da revisão da literatura.....	22
4.2	Ensaio exploratório	22
4.3	Preparo de soluções	22
4.3.1	Solução de galocianina.....	22
4.3.2	Solução de nitrito de sódio.....	23
4.4	Análise espectrofotométrica de UV-Vis	23
5	Resultados e discussão	25
6	Conclusão	27
7	Referências	28

1 Introdução

O conceito de biotecnologia havia sido descrito pela ONU em 1996, no qual era definido como qualquer tecnologia que disponha de um sistema biológico que contenham ou sejam provenientes de organismos vivos para produzir ou alterar produtos e processos para uma determinada aplicação (UNIDAS, 1992).

Associa-se biotecnologia com: “bio” + “tecnologia”, ou seja, uso de produtos biológicos para produção de algum produto (terapia gênica para tratamento de câncer, por exemplo) ou resolução de problemas (produção de plástico biodegradável para diminuição da poluição na natureza). Contudo, nessa definição estão inclusos outros atributos, como: conhecimento, ciência e tecnologia, agentes biológicos, organismos, moléculas, células e organelas (MALAJOVICH, 2016)

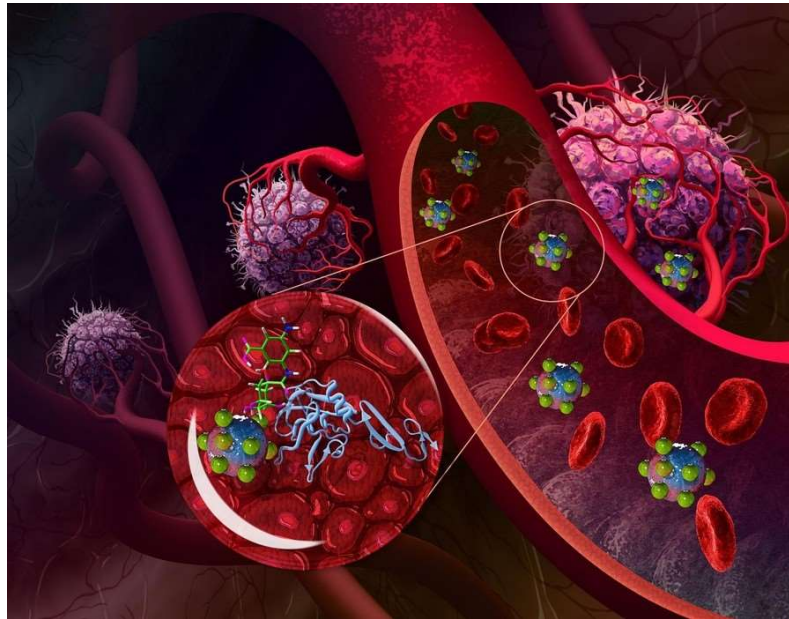
A nanotecnologia foi introduzida inicialmente por Norio Taniguchi em 1974, porém, a ideia de construção de nanoestruturas se deu por Richard Feynman em 1959. Ele pressupôs que máquinas conseguiriam construir outras máquinas menores, que conseqüentemente chegaria a um controle atômico (NUNES *et al.*, 2019). Nanotecnologia também está direcionado a caracterização de materiais, síntese, funcionalização de estruturas biológicas e não biológicas em escala nanométrica.

O prefixo nano está diretamente relacionado a escala nanométrica (nm) que representa a bilionésima parte de um metro (m) ou 10^{-9} m. De acordo com o Relatório da Comissão Europeia (2019), os nanomateriais são definidos como qualquer material particulado, sendo livremente natural ou artificial com tamanhos de 1 a 100 nm. Além disso, as moléculas singulares não participam dessas considerações, exceto compostos extraídos do grafeno (fulereno, nanotubos, entre outros) (ASSIS *et al.*, 2012).

Estruturas nanométricas possuem propriedades únicas que são elas: maior permeabilidade nos tecidos e vasos, entrega de drogas em sítios direcionados se tornando um sistema seletivo e redução da toxicidade de medicamentos, pois estes são direcionados ao órgão alvo como no tratamento de vários tipos de canceres (ASSIS *et al.*, 2012).

No caso de nanopartículas agirem diretamente em células cancerígenas e seja detectado eficácia durante o tratamento, a chance do paciente obter uma evolução no tratamento é cada vez mais alta. Desta forma, a probabilidade de afetar outros tecidos (metástase) é diminuída, como demonstrado na figura 1 (CANCINO; MARANGONI; ZUCOLOTTI, 2014).

Figura 1 – Mecanismo de ação das nanopartículas direcionando-se à órgãos alvo sem a necessidade de circular por toda a corrente sanguínea e, conseqüentemente, diminuindo a toxicidade e efeitos adversos dos medicamentos.



NEWS, G. E. B. (2018)

A partir da nanotecnologia, é possível o desenvolvimento de biossensores, que são dispositivos em tamanhos nanométricos que detectam, traduzem e amplificam os sinais com o analito alvo de algum sistema biológico. Podem atuar tanto para o tratamento quanto na detecção de doenças (VITORETI, 2014).

Os nanomateriais desempenham um papel importante na construção de biossensores possibilitando realizar determinações microbiológicas, elementares, imunológicas e eletroquímica. De uma forma simplificada, os biossensores são sistemas que transformam ligações químicas em sinal analítico (YANG *et al.*, 2015), podendo ela ser diretamente proporcionais quando apresentam-se totalmente ligadas com o sensor ou quando consumidas em uma reação.

1.1 Justificativa

Os estudos fotoquímicos são indispensáveis por serem precursores de produtos finais, além de atuarem como pilares para demais pesquisas científicas. Desta forma, é de suma importância dados espectrofotométricos, estatísticos, revisões de literatura para elucidação de novas estruturas, informações moleculares e intermoleculares.

Os sensores são foco de bastante interesse na área científica, devido serem de baixo custo e serem demasiadamente sensíveis, como demonstrado por YUSOF, Nor

Azah & OMAR, Zainab (2009) no qual realizou a comparação entre o método físico-químico e espectrofotométrico. Demonstrou em seus estudos que o método utilizando o sensor era sensível a pequenas concentrações (0,04 ppm), dando uma resposta rápida (aproximadamente 5 minutos) e em condições favoráveis (temperatura ambiente e pH 2).

Estudos utilizando corantes são incomuns e demonstram que a galocianina não se restringe a um corante histológico, mas possui propriedades farmacológicas ainda pouco elucidadas, mas alguns de seus mecanismos vêm sendo elucidados, como demonstrado por em que utilizava GC modificada para o tratamento de Alzheimer (MPOUSIS *et al.*, 2016).

Desta forma, estudos elucidativos de ambas estruturas se tornam fundamentais para a ciência e para futuras aplicabilidades.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Busca-se realização da revisão de literatura da estrutura de grafeno (GF), demonstrando seu vasto potencial de aplicação e dispor de informações, tais como: descoberta, histórico, aplicabilidade em setores produtivos e biológico, propriedades físicas e químicas, biocompatibilidade, biotoxicidade e conformações moleculares. Ademais, demonstrar aplicabilidade do corante de galocianina, além de seu uso como corante histológico.

2.2 Objetivo Específico

- Revisão de dados da literatura científica com ênfase em nanotecnologia, grafeno e derivados, sensores iônicos e fotoquímica de corantes.
- Estudos preliminares com o corante galocianina (GC) e íons nitrito utilizando técnicas espectrofotométricas.
- Avaliar a resposta espectrofotométrica do corante GC em associação com o nitrito e o óxido de grafeno.

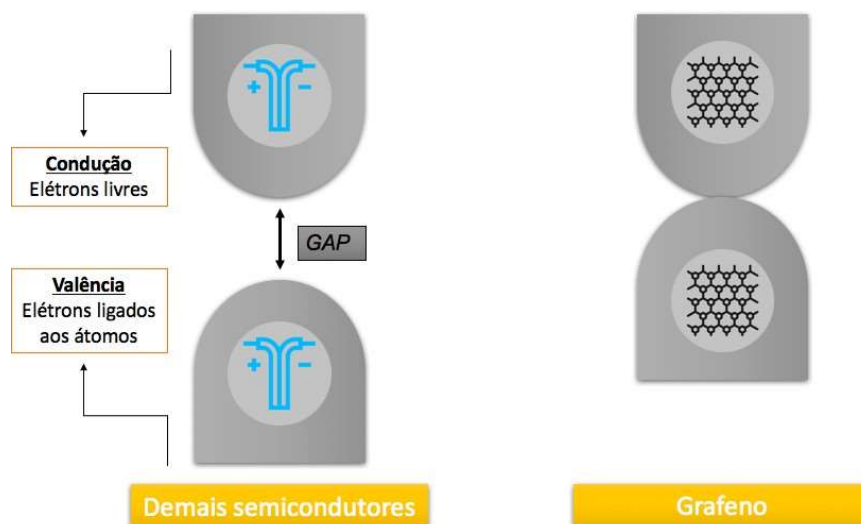
3 Revisão da Literatura

3.1 Grafeno

O nanomaterial de carbono é uma estrutura composta de monocamada de folha de carbono, com ligações sp^2 possuindo elétrons livres no orbital p, realizando ligações $\pi-\pi$ o tornando viável para diversas aplicações. Devido possuir uma estrutura surpreendente, o GF possui elevada condutibilidade de calor e de energia, transparência, boa resistência mecânica, grande área superficial e baixo custo (SEGUNDO; VILAR, 2016).

O GF possui excelentes propriedades físico-químicas, como: condutibilidade térmica caracterizando-se pela habilidade de transporte ou absorção de calor, espessura reduzida por possuir somente átomos de carbonos formando uma rede, alta condutibilidade elétrica, pois possuem um “GAP” menor que outros semicondutores, como demonstrado na figura 2 e alta resistência mecânica. Ademais, ótimas características mecânicas, ópticas, biomédicas atuando em *drug delivery*, imageamento molecular e biossensores (SEGUNDO; VILAR, 2016; CANCINO; MARANGONI; ZUCOLOTTO, 2014).

Figura 2 – Comparação da condutibilidade de demais semicondutores e grafeno, comparando o GAP (vão) entre ambas estruturas, demonstrando que o grafeno possui uma condução facilitada.

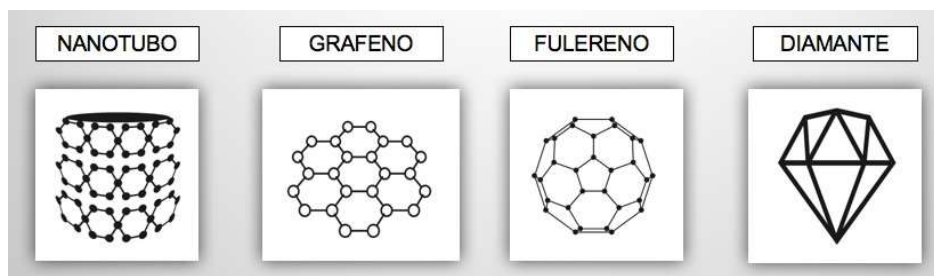


Autor (2020).

O grafeno é um material nanoestruturado que está sendo cada vez mais estudado devido propriedades únicas e estrutura diferenciada. É um material derivado do grafite, possui uma estrutura hexagonal, por possuir átomos hibridizados, consequentemente, tendo um elétron livre por átomo de carbono no orbital p o tornando ótimo para possíveis aplicações mecânicas, ópticas, térmicas, elétricas, (figura 4) (FERRARI et al., 2015) ou seja, outras moléculas podem facilmente ligar-se

a estrutura. Além disso, pode-se assumir diversas conformações, como: nanotubos (organização em forma de esfera), fulereno (organização em forma de esfera) e diamante (organização em forma de tetraedro), conforme figura 3:

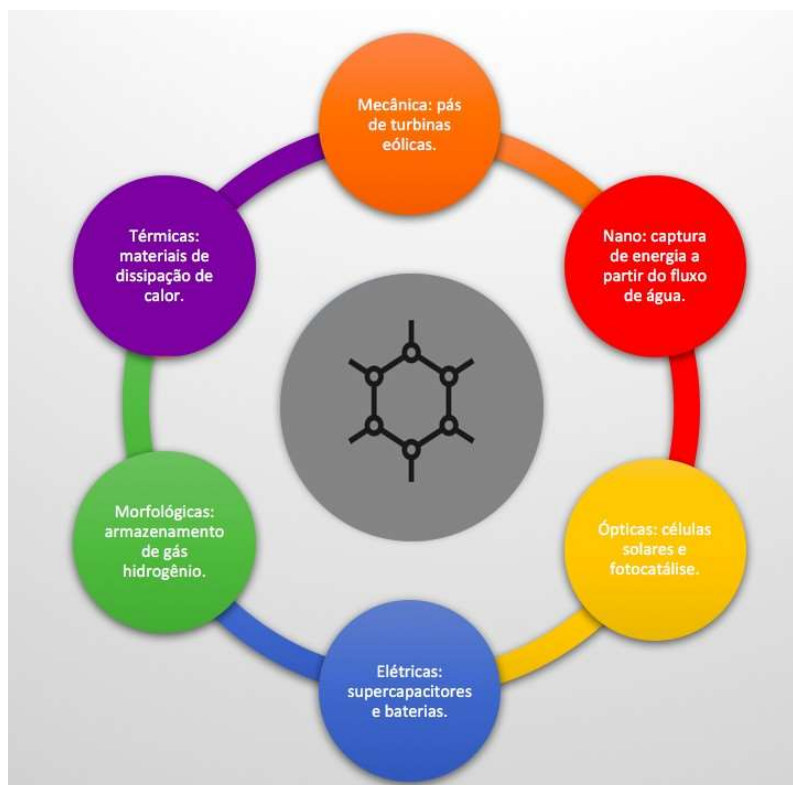
Figura 3 – Conformações da estrutura de carbono.



Autor (2020).

Devido sua estrutura, o grafeno possui uma boa resistência mecânica, alta condutividade elétrica e térmica, flexibilidade para atuar em diversas conformações e uma extensa área superficial (figura 4). Contudo, para atuar de forma mais reativa, são necessários introdução de grupos funcionais em sua superfície (SEGUNDO; VILAR, 2016).

Figura 4 – Propriedades do grafeno.

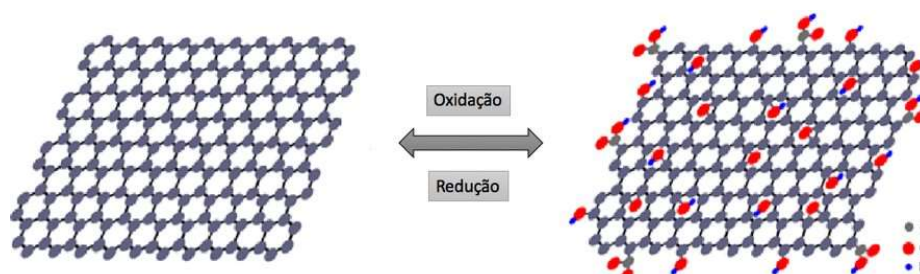


Autor (2020).

A partir da estrutura do GF outras formas também surgiram, dentre elas o óxido de grafeno (GON). Essa estrutura é formada a partir de um processo de oxidação em que são adicionados alguns grupamentos à monocamada de GF (figura 5). Os grupos de oxigênio presente na plataforma de GON o torna um material ideal para ligações de outras moléculas, podendo desempenhar a função de biossensor (CHEN; FENG; LI, 2012).

O óxido de grafeno é uma estrutura hidrofílica e dispersível em meio aquoso devido presença de grupamentos funcionais com oxigênio, tais como: ácido carboxílico, hidroxila e grupamentos epóxido (CHEN; FENG; LI, 2012). É uma estrutura de grafeno formada a partir da esfoliação do óxido de grafite em folhas, camadas por ultrassonificação ou agitação mecânica (LI *et al.*, 2015).

Figura 5 – Reação de oxidação do grafeno em óxido de grafeno.



CHEN, D. (2012).

3.2 Biossensores

Um biossensor (BS) pode ser definido como um transdutor de sinal que, a partir do contato com alguma substância biológica, gera uma resposta mensurável, que por sua vez consegue gerar uma resposta analítica diretamente proporcional à concentração da substância alvo (MIRANDA *et al.*, 2018). Como demonstrado na figura 6, há presença de uma amostra, que algumas moléculas se ligam seletivamente ao suporte (sensor), é gerado um sinal analítico em que é captado e transformado pelo equipamento, conseqüentemente, gerando um resultado.

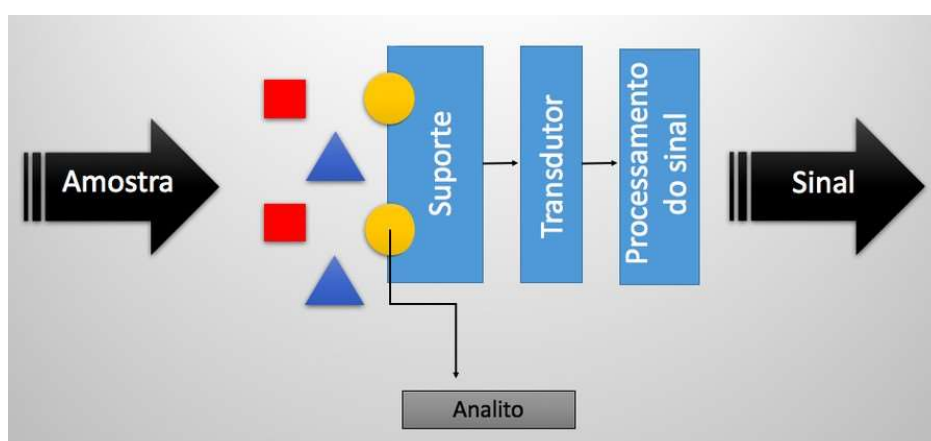
De acordo com OLIVEIRA, Inês Rosane Welter Zwirtes & VIEIRA, Iolanda Cruz (2006) os biossensores são muito usados e se tornaram importantes devido inúmeras vantagens, dentre elas: facilidade na produção, baixo custo na fabricação, capacidade de identificar claramente o analito na presença de outros componentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE (2017)) e resposta ágil.

Para a criação de um biossensor é utilizado a funcionalização, pois permite a fixação de elementos biológicos na folha de óxido de grafeno. É possível a ligação desses compostos por diversos tipos de interações, sendo elas por ligação covalente e não covalente, adsorção física (se formam basicamente por forças de Van Der Waals

em que não há formação de ligações químicas) e adsorção eletrostática (uma geração de cargas cria um potencial de atração elevado e, portanto, a adsorção é facilitada) (OLIVEIRA; VIEIRA, 2006).

Os protocolos desenvolvidos para fabricação de sensores eletroquímicos fundamenta-se na dissolução do GF em solvente podendo haver presença ou ausência de aditivos (SEGUNDO; VILAR, 2016). Contudo, é favorável o uso destes devido disponibilizar maior seletividade ao sensor realizando melhor identificação do analito alvo, em que observa-se a presença de outros componentes da amostra, porém, foi possível realizar a distinção da molécula alvo.

Figura 6 – Mecanismo de funcionamento do biossensor.



Autor (2020).

3.3 Íons Nitrito

O nitrito é bastante conhecido na medicina justamente por estar presente na urina de pacientes com infecções bacterianas, estas que possuem a capacidade de converter nitrato a nitrito, além desse composto ser utilizado frequentemente em alimentos afim de atribuir coloração avermelhada a carnes e possuir ação bacteriostática (IAMARINO *et al.*, 2015).

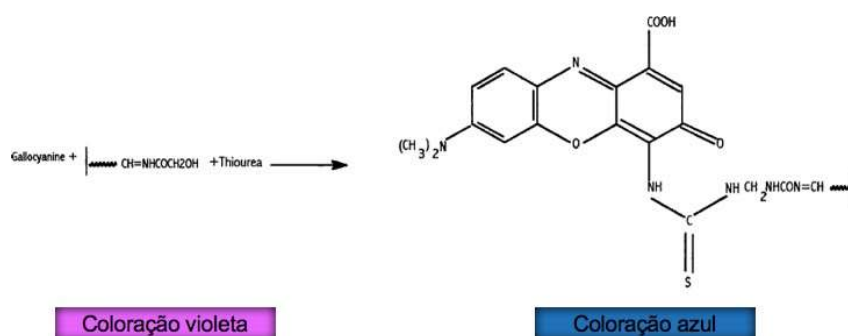
Este composto pode atuar no corpo humano contribuindo para a formação de metahemoglobinas (MeHb). A reação ocorre após o nitrito ligar-se a hemoglobina (Hb) havendo a oxidação do ferro do seu estado de Fe²⁺ para Fe³⁺, formando a MeHb. Conseqüentemente, a ligação as células encontram-se incapacitadas para o transporte de oxigênio (FAASSEN; VANIN; SLAMA-SCHWOK, 2007).

KAZEMZADEH, A. & DAGHIGHI, S. (2004) desenvolveram um sensor contendo corante de GC, tendo potencial para atuar em determinações diretas dos íons nitrito. O limite de NO₂⁻ estabelecido foi de 45 µg.mL⁻¹, pois acima destes níveis há risco de ocorrência de metahemoglobinemia em bebês. O sensor baseava-se em um filme de polímero formado por acetato de celulose juntamente com o corante ligado a tiouréia.

Desta forma, é demonstrado um espectro de absorção das propriedades da GC imobilizada na membrana de celulose em concentrações crescentes de nitrito, de acordo com a figura 7. Após o procedimento de digestão da amostra, o complexo foi lido no espectrofotômetro de absorção UV-Vis.

Também foi demonstrada a ligação química em que elucida a ligação entre o corante de GC e a membrana de acetato de celulose no qual há alteração de coloração de azul para violeta, quando imobilizados em meio ácido com adição do nitrito em concentrações crescentes.

Figura 7 – Esquema de ligação entre membrana de acetato de celulose e GC.



KAZEMZADEH & DAGHIGHI (2004)

Foi demonstrado também que o sensor possui um limite de detecção (LD) de 0,001 $\mu\text{g/mL}$, e que a partir das concentrações de 0,008 a 1,50 $\mu\text{g/mL}$ o modelo mostrou-se linear, gerando uma resposta crescente. A medida em que há um aumento na concentração de nitrito o sinal analítico também aumenta proporcionalmente. Portanto, torna-se um sensor de fácil fabricação, baixo custo, boa estabilidade de tempo dos preparos de reagentes e com resposta analítica rápida.

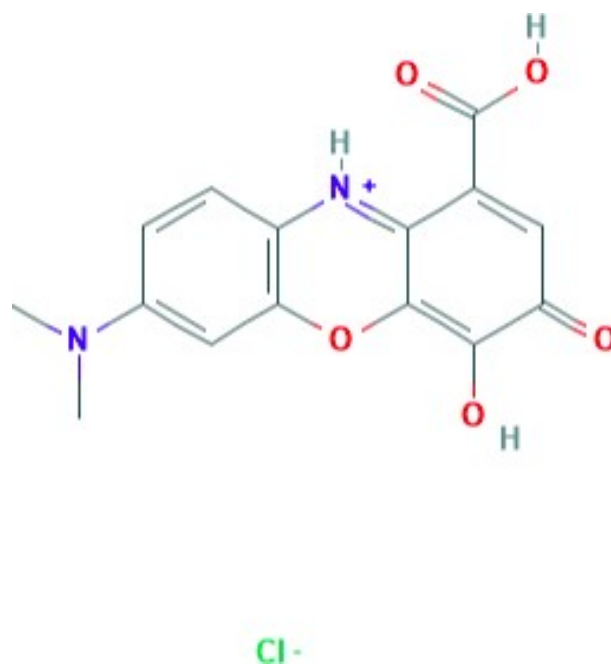
3.4 Corante de Galocianina

A galocianina é um corante classificado como um sal orgânico composto de 1-carboxi-7-(dimetilamino)-3,4-dihidroxifenoxazina-5-ium e íons cloreto na proporção 1:1. É utilizado como corante histológico fixador composto de sulfato de amônio e ferro (III) como substituto de hematoxilina numa solução de H&E (hematoxilina-eosina) além de agir como composto fluoróforo (PUBCHEM, 2004).

Como citado por YUSOF; AZAH, Nor & RASHID (2009) a GC dispõe de aplicações no meio ambiente quando imobilizada em um gel contendo quitosana para identificação de arsênio e validado em comparações com as determinações realizadas por ICP (espectroscopia de plasma indutivamente acoplado – técnica utilizada para quantificação de metais) e também como um sensor como citado por KAZEMZADEH,

A. & DAGHIGHI, S. (2004) quando o corante é ligado a um filme de acetato de celulose tendo como objetivo principal a detecção de nitrito tanto em alimentos quanto no solo.

Figura 8 – Estrutura da Galocianina (Cloreto de 1-carboxi-7- (dimetilamino) -3,4-dihidroxifenoxazin-5-io).

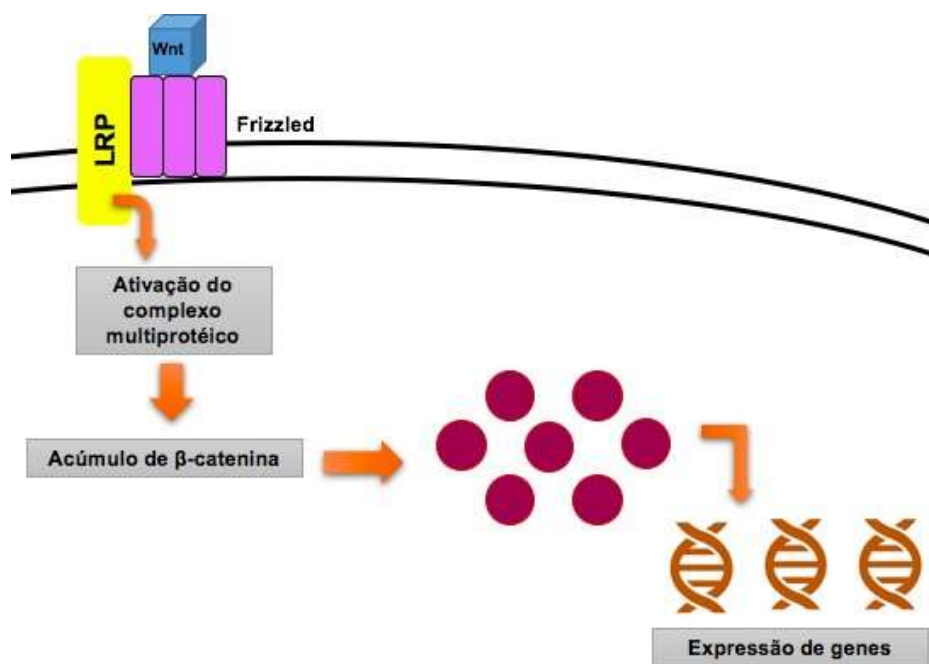


PubChem (2005).

Recentemente foi demonstrado por MPOUSIS, Spyros et. al (2016) que corantes de GC modificados também possuem aplicações biomédicas utilizando-se para o tratamento de Alzheimer e doenças neurodegenerativas.

A DA (Doença de Alzheimer) é formada a partir da ligação entre DKK-1 e LRP's (proteínas) impedindo, desta forma, a interação entre Wnt (via de sinalização) e Frizzled (receptor que atua como um sinalizador). A partir dessa ligação, a proteína beta-catenina é fosforilada, resultando em baixos níveis dessa proteína no citoplasma e inibindo a transcrição de genes. Além disso, a DA pode ser causada também por hiperfosforilação da proteína Tau, aumentando demasiadamente seus emaranhados em neurônios e afetando, conseqüentemente, funções biológicas e morfologia dos neurônios. A GC atua inibindo a proteína DKK-1 impedindo a ligação com LRP's e induzindo a inibição da fosforilação de Tau, conseqüentemente, tratando DA e tauopatias (classe de doenças neurodegenerativas).

Figura 9 – Mecanismo de funcionamento da via de sinalização Wnt.



Autor (2020).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Metodologia da revisão da literatura

Para o levantamento bibliográfico foram utilizados artigos científicos dos bancos de dados: MEDLINE, SciELO e Elsevier. Além disso, pesquisou-se livros e revistas no Google Acadêmico. Restringiu-se a pesquisa a palavras-chaves, como: “grafeno”, “galocianina”, “nanotecnologia”, “óxido de grafeno”, “nanocompósitos”, “sensor” e “espectrofotometria”.

Como critério de inclusão para seleção do material, utilizou-se artigos em língua portuguesa, inglesa e alemã, publicados em periódicos nacionais e internacionais entre os anos de 2004 a 2020.

Como critério de exclusão, definiu-se artigos não relacionados ao tema proposto e anteriores ao ano de 2004.

4.2 Ensaio exploratórios

Para realização dos experimentos, utilizou-se as marcas de reagente: Sigma-Aldrich e Merck, inclusive o grafeno.

Os equipamentos que foram utilizados são:

- Espectrofotômetro de UV-Vis de duplo feixe marca Hitachi High-Technologies Corporation®, modelo U-3900H;
- Balança analítica marca Marte®, modelo AY220;
- Sistema de água ultrapura (PURELAB PRIMA7-15-30);
- Micropipetas automáticas de volumes variáveis de 2-20 μL , 20-200 μL e 100-1000 μL , marca Capp®, modelo Ecopipette.

4.3 Preparo de soluções

4.3.1 Solução de galocianina

A solução de galocianina foi preparada em meio aquoso e homogeneizada mecanicamente com agitador vortex, afim de se obter uma solução homogênea. A partir da solução mãe foram feitas diluições também em meio aquoso para se atingir a concentração da solução estoque de 1,54 mM. As concentrações diluídas foram calculadas a partir da Lei de Lambert-Beer em que utilizou-se a fórmula $A = \epsilon \cdot b \cdot c$, onde:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} \text{ (adimensional);}$$

I_0 = Energia radiante transmitida;

I = Energia radiante incidente;

ϵ = Coeficiente de absorvidade molar ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}$);

b = Caminho óptico (cm);

c = Concentração da espécie absorvente (mol.L-1).

4.3.2 Solução de nitrito de sódio

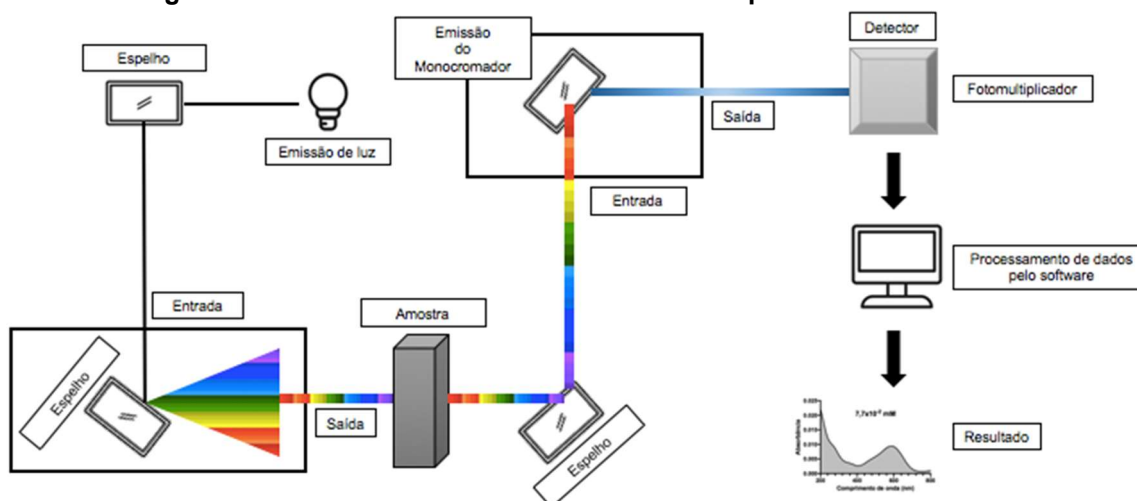
Ambas soluções foram preparadas em meio aquoso e homogeneizada por agitação mecânica e vigorosamente, evitando-se partículas submersas. Além de ser homogeneizada no momento do preparo, foi agitada anteriormente as utilizações. Foi realizado o preparo de uma solução mãe de concentração de 0,015 M com dispersão em água purificada.

4.4 Análise espectrofotométrica de UV-Vis

A utilização do espectrofotômetro UV-Vis se torna comumente necessária devido suas vantagens frente a técnica, pois se trata de uma ferramenta barata, rápida, não destrutiva à amostra e capaz de realizar quantificações de aproximadamente 200 a 1100 nm. Além disso, é possível realizar a quantificação de luz absorvida e luz transmitida (ROCHA *et al.*, 2018).

Seu mecanismo de funcionamento atua da seguinte forma: lâmpadas de tungstênio e deutério emitem radiação de luz, um espelho reflete essa luz para um monocromador, em que é selecionado o comprimento de onda (200 a 800 nm na faixa do visível), a amostra é excitada e a luz é novamente refletida por outro espelho, direcionando-se à fenda em que é selecionada a quantidade de luz que chegará ao detector, que por sua vez transforma a informação da luz em processamento de dados.

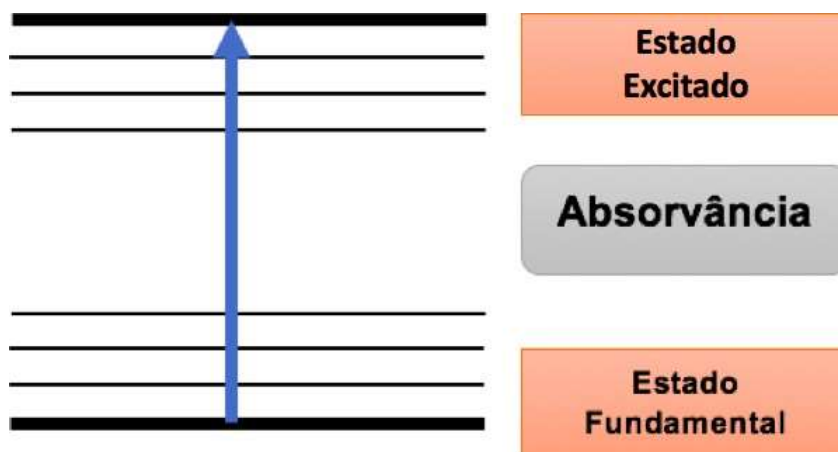
Figura 10 – Mecanismo de funcionamento do espectrofotômetro de UV-Vis.



Autor (2020).

Quando substâncias são excitadas por radiação, seus elétrons alteram-se de um estado fundamental para um estado energético excitado. As substâncias que absorvem em um comprimento de onda específico são conhecidos como cromóforos, responsáveis por sua monocromia (ROCHA *et al.*, 2018).

Figura 11 – Transição eletrônica do estado fundamental para o estado excitado da amostra.



Autor (2020).

5 Resultados e discussão

Hodiernamente, há presença de poucos estudos envolvendo sensores contendo GON devido ser um material relativamente novo. Além disso, a GC possui suas aplicabilidades escassamente exploradas.

Buscou-se avaliar a galocianina através de uma curva de calibração de modo a se verificar a menor concentração em que é possível ser quantificada. O espectro abaixo mostra que é possível realizar a quantificação em concentrações a partir de $7,7 \times 10^{-2}$ mM, no qual é possível observar sua curva de absorção em aproximadamente 580 nm.

Após encontrar-se a concentração mínima quantificável, realizou-se a curva de concentração entre $7,7 \times 10^{-2}$ mM e 1,54 mM. Pode-se verificar que o composto agiu se forma linear, a medida em houve o aumento da concentração do corante, o sinal analítico aumentou proporcionalmente.

A partir da variação na concentração de galocianina e com os valores de absorção em 580 nm, aplicou-se a regressão linear para o modelo, obtendo-se a equação $Y = 6978 \cdot X + 0,003375$ e o coeficiente de correlação de 0,9820.

Outro ensaio exploratório foi produzido com base nas 18 leituras (exceto o branco) de absorbância da galocianina, medidas depois da titulação com o NaNO_2^- . O volume do titulante variou progressivamente de 10 μL em 10 μL até 100 μL , sendo adicionado de 50 μL em 50 μL até 500 μL do volume final. As medidas foram realizadas de forma a não ter o efeito de diluição da amostra na cubeta.

A figura abaixo apresenta o gráfico obtido desta análise, onde observou-se o aumento da intensidade de absorção da galocianina, a medida que ocorre a interação com os íons nitrito. A linha em azul representa a absorção somente da GC e em vermelho, interação com o nitrito.

O resultado da prática confirmou o estudo de KAZEMZADEH & DAGHIGHI (2005) em que houve a imobilização de galocianina e deslocamento de bandas quando em presença de nitrito. É também observado um deslocamento para comprimento de ondas mais longos é denominado batocrômico (580 nm para 650 nm) e o aparecimento de nova banda em 480 nm indicando a associação dos íons nitrito a galocianina.

Outro protocolo exploratório realizado foi a avaliação do comportamento do corante galocianina na presença de óxido de grafeno. Neste teste, foi verificado ao longo do tempo, a absorbância em 530 nm em 60 minutos, sendo realizada a leitura periódica em intervalos de 5 minutos. Ao visualizar o gráfico abaixo é verificado a diminuição da absorbância à medida do tempo. Desta forma, a primeira leitura inicia-se em uma absorbância de 0,934 e finaliza em uma absorbância de 0,857. Portanto, houve uma leve queda de 8% na absorbância durante este período.

O óxido de grafeno apresentou uma absorvância máxima em 230 nm, conforme linha azul da figura abaixo (ZHANG et al., 2019). Ao decorrer das adições de concentrações crescentes de galocianina, houve uma diminuição da absorção nesse comprimento de onda e formação de um pico em 580 nm, região característica do corante. Além disso, a absorção demonstrou-se inversamente proporcional, pois com o aumento de corante, a absorção é diminuída.

6 Conclusão

A partir do levantamento bibliográfico, tornou-se possível compreender ainda melhor o funcionamento do óxido de grafeno e, ainda, princípios básicos de como seria utilizado para a construção de um produto final produzido a partir da bionanotecnologia. Além disso, foi possível adentrar entre suas principais características e demonstrar que é um material promissor para produção de sensores de íons.

A metodologia utilizada no desenvolvimento do sensor mostrou-se eficaz para a caracterização do corante, pois foi possível notar a absorção da GC e do aditivo nos espectros de varredura. Além disso, o método apresentou-se seletivo, pois foi capaz de distinguir o nitrito inequivocadamente na presença de outro composto.

Portanto, diante dos resultados obtidos, o sensor de íons mostrou-se promissor para uma futura aplicação, sendo necessários testes experimentais *in vitro*, *in vivo* para viabilizar o estudo. Ademais, a partir da produção do sensor, será possível determinar íons nitrito, tanto em modelos *in vivo* para detecção de bactérias indiretamente, que convertem nitrato em nitrito, quanto em metodologias físico-químicas no qual nitrito é uma impureza, além de contaminante de água e solo.

Referências

ALWAN, M. et al. Bias temperature instability from gate charge characteristics investigations in N-Channel Power MOSFET. **Microelectronics Journal**, v. 38, n. 6-7, p. 727 – 734, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mejo.2007.04.015>.

ASSIS, L. M. de et al. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 99 – 109, 2012. Acesso em: 2020.

CANCINO, J.; MARANGONI, V. S.; ZUCOLOTTI, V. Nanotecnologia em medicina: aspectos fundamentais e principais preocupações. **Química Nova.**, v. 37, n. 3, p. 521 – 526, 2014.

CHAI, F. et al. Auxiliary voltage enhanced microbial methane oxidation co-driven by nitrite and sulfate reduction. **Chemosphere**, v. 250, p. 1 – 11, 2020.

CHAU et al. The development of regulations for food nanotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, n. 5, p. 269 – 280, 2007.

CHEN, D.; FENG, H.; LI, J. Graphene oxide: Preparation, functionalization, and electrochemical applications. **Chemical reviews**, v. 112, n. 11, p. 6027 – 6053, 2012.

COSTA, A. O.; LUNARDI, C. N.; GOMES, A. J. Kinetic Evaluation of Anti-tumor Chloram- bucil Release from O-stearoyl Mannose PLGA Nanoparticles. **Current Nanomedicine**, v. 10, n. 1, p. 63 – 75, 2020.

ENSAFI, A. A.; DEHAGHEI, G. B. Ultra-trace analysis of nitrite in food sample by flow injection with spectrophotometric detection. **Resenius' journal of analytical chemistry**, v. 363, n. 1, p. 131 – 133, 1999.

ENSAFI, A. A.; KAZEMZADEH, A. Highly sensitive spectrophotometric kinetic determination of vanadium by catalytic effect on the galloycyanine-bromate reaction. **Analytica chimica acta**, v. 298, n. 1, p. 27 – 32, 1994.

FAASSEN, E. van; VANIN, A. F.; SLAMA-SCHWOK, A. Nitrite as endothelial NO donor under anoxia. **Radicals for Life**, Elsevier, p. 291 – 312, 2007.

FERRARI, A. C. et al. Science and technology roadmap for graphene, related twodimensional crystals, and hybrid systems. **Nanoscale**, v. 7, n. 11, p. 4598 – 4810, 2015.

GUI-ZHU, Z. G. et al. Studies on interaction between galloycyanine and DNA. **Chemical research in Chinese universities**, v. 18, n. 3, p. 267 – 269, 2002.

HOSSEINI-BANDEGHARAEIA, A. et al. Use of a selective extractant-

impregnated resin for removal of Pb(II) ion from waters and wastewaters: Kinetics, equilibrium and thermodynamic study. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 92, n. 3, p. 581 – 591, 2014.

HUANG, J. et al. Silver nanoparticles coated graphene electrochemical sensor for the ultrasensitive analysis of avian influenza virus H7. **Analytica chimica acta**, v. 913, p. 121 – 127, 2016.

HUERTAS, G. et al. Oscillation-based test in bandpass oversampled A/D converters. **Microelectronics Journal**, v. 34, n. 10, p. 927 – 936, 2003. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0026-2692\(03\)00163-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0026-2692(03)00163-0).

IAMARINO, L. Z. et al. Nitritos e nitratos em produtos cárneos enlatados e/ou embutidos. **Gestão Foco**, v. 7, p. 246 – 251, 2015.

KARALOVA, E. M. et al. Visualization of viral DNA assembly using nonfluorescent staining. **Biotechnic & Histochemistry**, v. 94, n. 5, p. 309 – 312, 2019.

KAZEMZADEH, A.; DAGHIGHI, S. Optical nitrite sensor based on chemical modification of a polymer film. **Elsevier**, v. 61, n. 8, p. 1871 – 1875, Junho 2004.

LI, F. et al. Graphene oxide: A promising nanomaterial for energy and environmental applications. **Nano energy**, v. 16, p. 488 – 515, 2015.

LI, Z. et al. An ultrasensitive and switch-on platform for aflatoxin B1 detection in peanut based on the fluorescence quenching of graphene oxide-gold nanocomposites. **Talanta**, v. 181, p. 346– 351, 2018.

LIU, J. et al. Pathoarchitectonics of the cerebral cortex in chorea-acanthocytosis and HD. **Neuropathology and applied neurobiology**, v. 45, n. 3, p. 230 – 243, 2019.

MIGUEL-SÁNCHEZ, J. et al. MBE growth and processing of diluted nitride quantum well lasers on GaAs (111)B. **Microelectronics Journal**, v. 37, n. 12, p. 1442 – 1445, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mejo.2006.05.005>.

NALWA, H. S. (ed.). **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**. [S.l.]: American Scientific Publishers, 2001.

NANOTECNOLOGIA: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química nova**, v. 32, n. 7, p. 1860 – 1870, 2009.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **PUBCHEM DATABASE**. **Gallocyanine**. 2005. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gallocyanine>.

NEWS, G. E. B. **Conjugated Nanoparticles Improve Chemo Drug Delivery**. 2018. Disponível em: <https://www.genengnews.com/news/conjugated-nanoparticles-improve-chemo-drug-delivery/>.

NOVOSELOV, K. S. et al. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. **Science**, v. 306, n. 5696, p. 666 – 669, 2004.

NUNES, D. et al. Metal oxide nanostructures: Synthesis, Properties and applications. **ScienceDirect**, p. 1 – 19, Novembro 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128115121000011>. Acesso em: 2020.

OLIVEIRA, I. R. W. Z. de; VIEIRA, I. C. Construção e aplicação de biossensores usando diferentes procedimentos de imobilização da peroxidase de vegetal em matriz de quitosana. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 932 – 939, 2006.

OU, L. et al. Toxicity of graphene-family nanoparticles: a general review of the origins and mechanisms. **Particle and fibre toxicology**, v. 13, n. 1, p. 1 – 24, 2016.

RAUSCHER, H. et al. An overview of concepts and terms used in the European Commission's definition of nanomaterial. **Publications Office of the European Union**, 2019.

ROCHA, F. S. et al. Experimental methods in chemical engineering: Ultraviolet visible spectroscopy—UV-Vis. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 96, n. 12, p. 2512 – 2517, 2018.

SEGUNDO, J. E. D. V.; VILAR, E. O. Grafeno: Uma revisão sobre propriedades, mecanismos de produção e potenciais aplicações em sistemas energéticos. **Revista eletrônica de materiais e processos**, v. 11, n. 2, p. 1 – 14, 2016.

SIQUEIRA, S. F. Nanogel como sistema de liberação de drogas. 2019. p. 9. Trabalho de conclusão de curso – Universidade de Brasília – Faculdade Ceilândia, Brasília, 2019.

VITORETI, A. B. F. **Desenvolvimento de um imunossensor eletroquímico para identificação de toxinas de serpentes**. 2014. 55 p. Dissertação (Química Analítico) — Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75135/tde-26012015-154508/publico/AnaBeatrizFerreiraVitoreti_R.pdf.

YANG, Z. et al. Preparation of 3D graphene-based architectures and their applications in supercapacitors. **Progress in Natural Science: Materials International**, v. 25, n. 6, p. 554 – 562, 2015.

YUSOF; RASHID, K.; AZAH, N. Development of Optical Test Strip for Rapid Determination of Trace Arsenic Using Immobilized Gallocyanine. **Asian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 1747, 2009.

YUSOF, Nor Azah & OMAR, Zainab. Spectrophotometric Determination of

Trace Arsenic (III) Ion Based on Complex Formation with Galloctyanine. **Pertanika Journal of Sciences and Technology**, v. 17, p. 53, 2009.

ZAWIERUCHA, I.; KOZLOWSKI, C.; MALINA, G. Immobilized materials for removal of toxic metal ions from surface/groundwaters and aqueous waste streams. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 18, n. 4, p. 429 – 444, 2016.

ZENG, G. et al. Unconventional Layer-by-Layer Assembly of Graphene Multilayer Films for Enzyme-Based Glucose and Maltose Biosensing. **Langmuir**, v. 26, n. 18, p. 15022 – 15026, 2010.