

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE FÍSICA**

**DEPOSIÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE FILMES
NANOESTRUTURADOS DE ZnO: BIOSSENSORES DE GLICOSE E
UREIA***

Adriana Rodrigues

Tese realizada sob a orientação dos
Profs. Jonder Moraes e Maria do Carmo
M. Alves e apresentada ao Instituto de
Física da UFRGS, em preenchimento
parcial dos requisitos para a obtenção
do título de Doutor (a) em Ciências.

PORTO ALEGRE- 2014

*Trabalho financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Aos meus pais, Ari Alves Rodrigues e
Antônia Regina Rodrigues

*“Quanto maior o conhecimento, menor o ego,
quanto maior o ego, menor o conhecimento”.*
Albert Einstein

Agradecimentos

Agradeço a Deus, por ter me dado saúde e dignidade para realizar este trabalho.

Ao Prof. Dr. Jonder Morais por ter aceitado orientar-me, pela dedicação e ensinamento ao longo desse período.

À Prof^a. Dra. Maria do Carmo M. Alves pela paciência e apoio nas medidas e análise dos dados desse trabalho.

À Prof^a. Dra. Jacqueline Arguello pelo suporte nas discussões e medidas eletroquímicas.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) – Campinas/SP pela possibilidade de realizar as medidas do presente trabalho e o suporte financeiro recebido.

Ao Laboratório de Espectroscopia de Elétrons, ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME), ao Instituto de Física e Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo apoio no decorrer deste trabalho.

Aos colegas do laboratório Marcus, Jéssica, Jocenir, Alex, William, Vagner e o Rubens de Carvalho da sala M207 pela convivência e amizade.

À minha família pelo apoio e incentivo.

A todos os amigos e aqueles que contribuíram de alguma forma na realização desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro através da bolsa de doutorado.

Índice

1. Introdução	16
2. Revisão Bibliográfica.....	18
2.1 O Óxido de Zinco (ZnO)	18
2.2 Semicondutores	20
2.3 Propriedades ópticas e defeitos em ZnO	23
2.4 Deposição de Filmes de ZnO por CBD	24
2.5 Aplicações das Nanoestruturas de ZnO.....	29
2.6 Biossensores baseados em Nanoestruturas de ZnO.....	30
2.6.1 Sensores de Glicose	31
2.6.2 Sensores de Ureia.....	34
3. Técnicas de Caracterização	36
3.1 Difração de Raios X (DRX)	36
3.2 Espectroscopia de Fotoelétrons induzidos por Raios X (XPS)	40
3.3 Espectroscopia de Absorção de Raios X (XAS)	44
3.4 Voltametria Cíclica.....	48
3.5 Potenciometria.....	49
4. Metodologia	51
4.1 Preparação dos Filmes de ZnO	51
4.1.1 ZnO depositado sobre a lâmina de vidro, aço inoxidável e cobre	51
4.1.2 Estudos <i>in situ</i> da formação de ZnO (grafite).....	53
4.2 Caracterização	53
4.2.1 Microscopias Eletrônicas (MEV, FIB e MET).....	53
4.2.2 Difração de Raios X (DRX).....	54
4.2.3 Fotoluminescência (PL).....	54
4.2.4 Espectroscopia de Fotoelétrons induzidos por Raios X (XPS).....	54
4.2.5 Espectroscopia de Absorção de Raios X (XAS).....	55
4.2.6 Voltametria Cíclica (VC) e Potenciometria.....	55
5. Resultados e Discussões.....	57
5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Transmissão (MET).....	57
5.1.1 Influência do substrato.....	57
5.1.2 Influência do tempo de deposição	58
5.1.3 Influência da variação da concentração do Diaminopropano (DAP)	62
5.2 Difração de Raios X (DRX)	69
5.3 Fotoluminescência	73

5.4	Espectroscopia de Fotoelétrons induzidos por Raios X (XPS)	75
5.5	Formação de ZnO: estudos <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>	80
5.5.1	Espectroscopia XAS <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>	80
5.5.2	Difração de Raios X.....	86
5.5.3	Microscopia Eletrônica de Varredura	87
5.5.4	XPS do filme ZnO/grafite	92
5.6	Testes Eletroquímicos de Biossensores	94
5.6.1	Sensor de Glicose.....	94
5.6.2	Sensor de Ureia	102
6.	Conclusões	107

Relação de Figuras

Figura 1. Estruturas cristalinas de ZnO. Em (a) estrutura cristalina de face centrada, (b) Blenda de zinco e (c) Wurtzita. As esferas em cinza representam os átomos de zinco e na cor preta são os átomos de Oxigênio ^[8]	18
Figura 2. Estrutura cristalina hexagonal do ZnO, também denominada Wurtzita ^[10]	19
Figura 3. Desenho das polaridades da estrutura Wurtzita de ZnO, em (a) terminação em zinco e em (b) terminação em oxigênio ao longo do eixo c ^[11]	19
Figura 4. Representação esquemática das bandas de energia em semicondutores. As regiões hachuradas representam a ocupação dos elétrons em $T > 0$. A distância entre as bandas é o ‘gap’ de energia E_g , E_V é a energia da banda de valência, E_F é a energia de Fermi e E_C é a energia da banca de condução dos elétrons ^[13]	21
Figura 5. Desenho da rede cristalina do silício (a) do tipo- <i>n</i> dopado com fósforo e (b) do tipo- <i>p</i> dopado com boro, adaptado de ^[16]	22
Figura 6. Esquema da representação das bandas para semicondutores: (a) intrínseco, (b) tipo- <i>n</i> e (c) tipo- <i>p</i>	23
Figura 7. Esquema do sistema da deposição de filmes por CBD.....	26
Figura 8. Morfologias de ZnO obtidas pelo método CBD ^[45-48]	29
Figura 9. Representação esquemática dos diferentes tipos de gerações de biossensores: (a) Primeira geração, (b) Segunda geração e (c) Terceira geração ^[61]	32
Figura 10. Representação da estrutura molecular da GOx. O cofator FAD é mostrado em vermelho, e o asterisco amarelo indica o sítio ativo onde ocorrem as reações com a molécula de glicose ^[65]	33
Figura 11. Representação da estrutura da enzima Urease ^[71]	35
Figura 12. Representação das redes de Bravais ^[73]	36
Figura 13. Esquema representativo da difração de raios X e a Lei de Bragg.....	37
Figura 14. Difratoograma da amostra de ZnO padrão.....	38
Figura 15. Representação dos planos através dos índices de Miller.....	39
Figura 16. Representação dos índices de Miller-Bravais para uma célula unitária hexagonal ^[75]	39
Figura 17. Diagrama representativo da estrutura hexagonal do ZnO, mostram (a) as faces apolares e (b) os planos basais.....	40

Figura 18. Diagrama esquemático do processo de fotoemissão, mostrando a fotoionização de um átomo pela absorção de um fóton, e a emissão de um fotoelétron ^[76]	40
Figura 19. Gráfico do caminho livre médio inelástico de um elétron em função da energia cinética. Em tracejado temos a chamada de curva “universal”, devido ao comportamento do λ para vários sólidos ^[77]	42
Figura 20. Espectro de XPS, varredura ampla da amostra de ZnO padrão.	43
Figura 21. Espectro de XPS da região do Zn 2p da amostra de ZnO padrão.	44
Figura 22. Representação esquemática do experimento de absorção.	45
Figura 23. Espectro de XAS na borda K do Zn para uma amostra de ZnO padrão, mostrando as regiões da pré-borda, XANES e EXAFS.	46
Figura 24. Espectro de XANES na borda K do Zinco da amostra ZnO padrão, e um detalhe representando o espalhamento múltiplo.	47
Figura 25. Desenho de uma célula eletroquímica com três eletrodos, o eletrodo de trabalho, o eletrodo auxiliar e o eletrodo de referência.	49
Figura 26. Desenho de uma célula eletroquímica com dois eletrodos, o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência.	50
Figura 27. Fluxograma da metodologia de preparação dos filmes de ZnO.	52
Figura 28. Foto do reator de vidro desenvolvido para realizar a deposição de filmes de ZnO/grafite por CBD e permitir medidas de XAS <i>in situ</i>	55
Figura 29. Imagem de MEV do filme de ZnO/vidro depositado por 8 h e [100 mM] de DAP, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.	57
Figura 30. Imagem de MEV do filme de ZnO/cobre depositado por 8 h, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.	58
Figura 31. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 8 h, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.	58
Figura 32. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 1 h, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.	59
Figura 33. Imagem de FIB da amostra de ZnO/aço depositado por 1 h.	59
Figura 34. Imagens de MEV dos filmes de ZnO/aço depositados por (a) 4 h e (b) 6 h, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.	60
Figura 35. Gráfico da espessura dos filmes e o diâmetro médio versus o tempo de deposição na concentração de 100 mM de DAP.	61

Figura 36. Desenho esquemático da formação e crescimento de colunas de ZnO.....	62
Figura 37. Imagens de MEV dos filmes de ZnO/aço depositado por 8 horas nas concentrações de DAP: (a) 0 mM e (b) 20 mM.	63
Figura 38. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado durante 8 horas com 30 mM de concentração de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.	63
Figura 39. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado durante 8 horas com 75 mM de concentração de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.	64
Figura 40. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 8 horas com 150 mM de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.	64
Figura 41. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 8 horas com 200 mM de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.	65
Figura 42. Imagem de MEV da lateral do filme de ZnO/aço depositado com 8 horas e 200 mM de DAP.....	65
Figura 43. Gráfico da espessura dos filmes e diâmetro das colunas em função da concentração do reagente Diaminopropano (8 h de reação).....	66
Figura 44. Imagem MET de uma única nanocoluna de ZnO/aço com 1 hora de deposição na concentração de 100 mM de DAP e (b) HRTEM.	67
Figura 45. Imagem MET das nanocolunas de ZnO/aço: (a) ZnO com 8 horas de deposição na concentração de 30 mM e (b) 200 mM de DAP.....	68
Figura 46. (a) HRTEM e (b) EDS do filme ZnO/aço com 8 h de deposição na concentração de 200 mM de DAP. (c) EDS do filme preparado com 100 mM de DAP e 1 h de deposição.	68
Figura 47. Difratoformas das amostras crescidas com 8 horas de deposição e 100 mM de DAP: (a) amostra de ZnO padrão, (b) amostra de ZnO/aço, (c) ZnO/cobre e (d) ZnO/vidro.	69
Figura 48. Difratoformas dos filmes de ZnO/aço preparados com 100 mM de DAP e (a) 1 h de deposição, e (b) 8 h de deposição.	70
Figura 49. Difratoformas das amostras de ZnO/aço preparadas com tempo deposição de 8 h, em diferentes concentrações de diaminopropano: (a) 200 mM, (b) 100 mM, (c) 30 mM, (d) 20 mM e (e) 0 mM.....	71
Figura 50. Espectro de Fotoluminescência dos filmes de ZnO preparados com tempos de deposição de 1 h e 8 horas, e com a concentração de DAP de 100 mM.	73
Figura 51. Espectro de Fotoluminescência dos filmes de ZnO/aço preparados com 8 h de deposição e várias concentrações de DAP: (a) 20 mM, (b) 30 mM, (c) 75 mM, (d) 150 mM e (e) 200 mM.	74

Figura 52. Gráfico da energia proibida em função da tensão da rede cristalina para as amostras preparadas com 20, 30, 100 e 200 mM de DAP.....	75
Figura 53. Espectro de XPS, varredura ampla, da amostra de ZnO/aço depositado por 8 h e com a concentração de DAP de 100 mM.	76
Figura 54. Espectros de XPS da amostra ZnO padrão na região do Zn 2p (a) e O 1s (b). Em (c) e (d) para a amostra de ZnO/aço por 1 h de deposição com a concentração de 100 mM de DAP.	77
Figura 55. Espectros de XPS da amostra ZnO/aço depositada por 8 h e com 100 mM de DAP na região do (a) Zn 2p e (b) O 1s. Em (c) e (d) são mostrados os espectros para a amostra de ZnO/aço com 200 mM de DAP e 8 h de deposição.	78
Figura 56. Espectro de XPS da região de N 1s da amostra de ZnO/aço (8 h) preparada com 200 mM de DAP.....	78
Figura 57. Espectros de XANES obtidos na borda K do Zn para as soluções aquosas: (a) acetato de zinco, (b) acetato de zinco com HMT, (b) + 20 mM, (b) + 100 mM e (b) + 200 mM de DAP.	81
Figura 58. Espectros XANES <i>in situ</i> da reação na borda K do Zn coletados durante os 120 minutos de deposição do filme ZnO/grafite (100 mM de DAP).	82
Figura 59. Espectros XANES <i>in situ</i> na borda K do Zn coletados para os tempos de 30, 48, 60, 90 e 120 minutos. O XANES do ZnO padrão também é mostrado.	82
Figura 60. Espectros XANES na borda K do Zn coletados do filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição (<i>ex situ</i>) e o ZnO padrão.	83
Figura 61. Espectro XANES do filme de ZnO/grafite (<i>in situ</i>) com 48 min de deposição e o resultado da combinação linear com os padrões ZnO e a solução inicial, (b) CL do filme ZnO/grafite (<i>ex situ</i>) obtido com 2 h de deposição.	84
Figura 62. Espectro XANES do filme de ZnO/grafite (<i>in situ</i>) com 48 min de deposição e o resultado da combinação linear com os padrões Zn(OH) ₂ e a solução inicial, (b) CL do filme ZnO/grafite (<i>ex situ</i>) obtido com 2 h de deposição.	85
Figura 63. Gráfico da fração de ZnO <i>versus</i> o tempo de reação obtida com a CL dos padrões ZnO e a solução inicial para cada espectro XANES. A curva da temperatura para cada tempo de reação é indicada.....	85
Figura 64. Difratomogramas das amostras (a) ZnO padrão, ZnO/grafite com o tempo deposição de 2 h: (b) 100 mM de DAP e (c) 20 mM.	86
Figura 65. Região ampliada do difratograma das amostras de ZnO/grafite preparadas no tempo de deposição de 2 h: (a) 100 mM DAP e (b) 20 mM DAP. Tabela 7. Valores das intensidades de cada pico de DRX.	87
Figura 66. Imagens de MEV das estruturas de ZnO depositadas em grafite nos tempos de: (a)	

30 min e (b) 48 min.	88
Figura 67. Imagem de MEV das flores de ZnO depositadas em grafite (60 min de deposição).	88
Figura 68. Imagem de MEV das flores de ZnO depositadas em grafite (90 minutos), e (b) imagem ampliada em 15000X.....	89
Figura 69. Imagens de MEV das flores de ZnO depositadas em grafite depois de 120 min (a), e (b) imagem ampliada em 15000X.	89
Figura 70. Desenho ilustrativo do mecanismo de formação de flores de ZnO em grafite e 100 mM de DAP.....	90
Figura 71. Imagens de MEV do filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição e 20 mM de DAP.	91
Figura 72. Imagens de MEV do filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição e 200 mM de DAP.	91
Figura 73. Espectros de XPS obtido para o filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) região do Zn 2p _{3/2} , (b) região do O 1s e (c) região do N 1s.....	92
Figura 74. Imagens de MEV do filme ZnO/aço preparado com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) sem e (b) com a enzima Glicose Oxidase imobilizada na superfície do filme.	94
Figura 75. Espectro de EDS do filme ZnO/aço preparado com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) sem e (b) com a enzima Glicose Oxidase na superfície do filme.	95
Figura 76. Espectros de XPS obtido para o filme de GOx/ZnO/aço com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) região do Zn 2p _{3/2} e (b) região do O 1s.	96
Figura 77. Espectros de XPS da região do C 1s para o filme de ZnO preparado com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) ZnO/aço e (b) GOx/ZnO/aço.	97
Figura 78. Espectros de XPS obtido para a região do N 1s do filme de GOx/ZnO/aço com 8 h de deposição e 100 mM de DAP.	97
Figura 79. Desenho representativo da imobilização da GOx sobre as nanocolunas de ZnO e as reações que ocorrem com a enzima e a solução de glicose.....	98
Figura 80. Voltamogramas do eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço (a) na presença de solução tampão (curva azul), (b) na presença de solução glicose 2,6 mM (curva vermelha) e (c) eletrodo de ZnO/aço sem a enzima na presença de 2,6 mM de glicose (curva preta), realizados na velocidade de varredura de 20 mVs ⁻¹	99
Figura 81. Voltamogramas do eletrodo (a) Nafion/GOx/ZnO/aço na presença de solução de glicose nas concentrações de 4 mM (curva laranja), 8 mM (curva verde) e 16 mM (curva preta) realizada na velocidade de varredura de 20 mVs ⁻¹ . Em (b) gráfico da corrente elétrica <i>versus</i> a concentração da glicose.	99

- Figura 82.** Voltamogramas do eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço na presença de 2,6 mM de glicose em (a) diferentes velocidades de varredura, e (b) curva linear da raiz quadrada da velocidade de varredura em função do pico da corrente no potencial 0,9 V.....100
- Figura 83.** Voltamogramas do eletrodo (Nafion/GOx/ZnO/aço) na presença da solução de glicose com pH 7,4 (0 a 40 mM) realizada na velocidade de varredura de 20 mVs⁻¹ 101
- Figura 84.** Gráfico da corrente elétrica dos voltamogramas (eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço) em 0,95 V em função da concentração da glicose no pH 7,4..... 101
- Figura 85.** Imagens de EDS do filme preparado com 8 h de deposição e 200 mM de DAP: (a) ZnO/aço e (b) enzima Urease/ZnO/aço. 102
- Figura 86.** Curva obtida com a Potenciometria do eletrodo Nafion/Urs/ZnO/aço em função do tempo e as adições sequenciais de alíquotas da solução de ureia nas concentrações de 1,3 mM a 21,4 mM..... 103
- Figura 87.** Curva de calibração do eletrodo Nafion/Urs/ZnO/aço da variação do potencial elétrico *versus* o log da concentração da ureia. 103
- Figura 88.** Curva de calibração do eletrodo Nafion/Urs/ZnO/aço dividida em duas partes, dada pela variação do potencial elétrico *versus* o log da concentração da ureia..... 104
- Figura 89.** Curva da resposta do sensor (Nafion/Urs/ZnO/aço) em função do número de reuso para a concentração de 9 mM de uréia. 105
- Figura 90.** Curva da resposta do sensor (Nafion/Urs/ZnO/aço) em função da concentração de uréia (1 a 9 mM) após três semanas de armazenagem em tampão a 4°C. 105
- Figura 91.** Curva obtida com a Potenciometria para o estudo de substâncias interferentes, tais como: ácido ascórbico, glicose, NaCl e KCl. 106

Relação de Tabelas

Tabela 1. Propriedades do ZnO ^[13]	20
Tabela 2. Relação dos reagentes utilizados neste trabalho.....	53
Tabela 3. Resumo das amostras e parâmetros de deposição para os filmes de ZnO.....	68
Tabela 4. Parâmetros de rede, tamanho de cristalito e a tensão da rede cristalina calculado para os filmes de ZnO.....	74
Tabela 5. Valores de E_g para os filmes de ZnO/aço preparado nas concentrações de 20 mM, 30 mM, 100 mM e 200 mM de DAP.....	77
Tabela 6. Análises de XPS para os filmes de ZnO/aço depositada por 1 h e 8 h nas concentrações de DAP: 0 mM, 30 mM, 100 mM e 200 mM.....	81
Tabela 7. Valores das intensidades de cada pico de DRX.....	89
Tabela 8. Valores das energias de ligação para as amostras de ZnO/grafite com 20 mM, 100 mM e 200 mM de DAP preparadas no tempo de 2 h de deposição.....	95

Resumo

Este trabalho foi dedicado à produção e caracterização de filmes nanoestruturados de ZnO, depositado pelo método CBD (*Chemical Bath Deposition*). Trata-se de um método atrativo por ser simples, de baixo custo, por permitir o uso de diferentes substratos cristalinos ou amorfos, e por ser muito efetivo no crescimento de nanoestruturas bem orientadas. Foram realizados estudos da influência do tipo de substrato, tempo de reação e a concentração do reagente Diaminopropano na morfologia dos filmes de ZnO depositados por CBD. As técnicas MEV e MET (Microscopia Eletrônica de Varredura e Transmissão) foram utilizadas para avaliar detalhes da morfologia das nanoestruturas obtidas, enquanto que a DRX (Difração de Raios X) foi usada para fornecer a estrutura cristalina dos filmes. PL (Fotoluminescência) foi empregada para estudo das propriedades ópticas dos filmes. A técnica XPS (Espectroscopia de Fotoelétrons excitados por Raios X) permitiu sondar o ambiente químico dos elementos presentes na superfície das amostras. Também, foram realizados experimentos de XAS (absorção de raios X) *in situ*, com o qual monitoramos a formação dos filmes de ZnO crescidos sobre o substrato de grafite. Finalmente, testes eletroquímicos com eletrodos construídos a partir da imobilização de enzimas na superfície dos filmes foram realizados, visando sua aplicação como biossensores de glicose e ureia.

Abstract

This work was dedicated to the production and characterization of nanostructured ZnO films deposited by CBD (Chemical Bath Deposition) method. This is an attractive method because it is simple, low cost, allowing the use of different substrates, crystalline or amorphous, and to be very effective for the growth of well-oriented nanostructures. The investigation of the influence of the type of substrate, the reaction time and the concentration of the Diaminopropane on the morphology of ZnO films deposited by CBD were performed. The SEM and TEM (Scanning Electron Microscopy and Transmission) techniques were used to evaluate details of the morphology of the nanostructures obtained, while the XRD (X-Ray Diffraction) was used to provide the crystalline structure of the films. The photoluminescence was employed to analyze the optical properties of the films. The XPS (X-Ray photoelectron spectroscopy) allowed probing the chemical environment of the elements present on the sample surface. With the *in situ* XAS measurements we monitored the formation of ZnO films deposited on graphite substrate. Finally, electrochemical tests were performed on electrodes produced with the immobilization of enzymes on the surface of the ZnO films, foreseeing their use as glucose and urea biosensors.

1. Introdução

O desenvolvimento de materiais nanoestruturados tornou-se um tema de pesquisa muito amplo, no qual se tenta compreender e controlar os fenômenos físicos e químicos que influenciam a formação das diferentes morfologias. Esse avanço no desenvolvimento de nanomateriais é de fundamental importância pela interdisciplinaridade entre vários campos da ciência, e por permitir a obtenção de novos materiais com melhores propriedades, aplicáveis em vários dispositivos modernos.

O interesse na obtenção de nanoestruturas de ZnO em uma dimensão (1D) tem aumentado nos últimos anos, o que tem conduzido a avanços fundamentais na pesquisa nessa área. Considerando que a morfologia destes materiais influencia suas principais propriedades físicas ^[1], têm-se produzido nanomateriais com dimensões e formas bem controladas. Por exemplo, são obtidas estruturas de ZnO na forma de nanofios, nanotubos, nanocolunas, nanoflores, nanoesferas, etc. Estas nanoestruturas quando aplicadas em dispositivos, tais como lasers, sensores de gases e transistores, apresentam melhor desempenho se comparadas com aqueles feitos com o ZnO na forma massiva (“bulk”).

O ZnO nanoestruturado também possui vantagens promissoras na aplicação em biosensores, pois possui boa estabilidade química, rápida resposta eletroquímica. Além de ser um material biocompatível. Dentre os biosensores, destacamos aqui o sensor de glicose, de colesterol e de uréia, os quais têm sido muito investigados devido a sua importância em aplicações clínicas.

As diferentes morfologias de nanoestruturas têm sido obtidas por vários métodos de produção de filmes de ZnO. Entre eles destacam-se a deposição por vapor químico (CVD), deposição epitaxial por feixe molecular (MBE), deposição por “vapor-líquido-sólido” (VLS), deposição por laser pulsado (PLD) e a deposição por banho químico (CBD). O método CBD é amplamente usado em laboratórios para depositar óxidos semicondutores sobre substrato. Este método tem suas vantagens particulares se comparado com os demais, incluindo o baixo custo, por ser feito a baixa temperatura, e a pressão atmosférica, pela possibilidade de se depositar substratos com áreas relativamente grandes ^[2-3].

No CBD a morfologia cristalina é fortemente influenciada pelas condições experimentais, como a temperatura, o tempo de deposição, pH, tipo do substrato e solvente. O controle do tamanho, a forma e a orientação dos cristais de ZnO no substrato é um pré-requisito para criação de materiais de alta área superficial para uso em muitos tipos de

dispositivos, incluindo os dispositivos fotovoltaicos e optoeletrônicos [4-5].

De acordo com a literatura, há pouco esclarecimento do mecanismo e fatores que governam o tipo de morfologia formada. Dois mecanismos de crescimento de estruturas são geralmente discutidos: o crescimento por dissolução e cristalização, e a formação de partículas agregadas. Na deposição de ZnO, em ambos mecanismos, primeiramente ocorre a formação de uma fase intermediária, a precipitação da fase Zn(OH)₂, que depois é convertida em ZnO [6-7].

Com o intuito de entender o processo de deposição de filmes de ZnO através do método CBD, este trabalho investigará as influências do tipo de substrato, do tempo de reação e da concentração do reagente Diaminopropano nas propriedades dos filmes. Também foram realizados estudos *in situ* com a técnica de Espectroscopia de Absorção de Raios X (XAS- *X-ray Absorption Spectroscopy*), para entender as etapas envolvidas durante a deposição do ZnO.

Neste trabalho, primeiramente será apresentada uma revisão sobre as propriedades, métodos de obtenção, tipos e aplicações de nanoestruturas de ZnO informadas na literatura. Na parte das técnicas de caracterização, serão descritos os conceitos físicos envolvidos nas técnicas empregadas neste trabalho. Na metodologia, serão abordados o método de preparação de amostras e a descrição das medidas e dos tratamentos dos dados. A seguir, serão apresentados os resultados obtidos com a deposição e caracterização de filmes de ZnO em substratos de lâmina de vidro, cobre e aço inoxidável, em função do tempo de deposição e da concentração de Diaminopropano. Também discutiremos o estudo com a técnica XAS *in situ* na borda K do Zn, que empregamos para monitorar (*in situ*) a formação do filme de ZnO durante a deposição sobre o substrato de grafite. Finalmente os testes eletroquímicos, de biossensores de glicose e uréia desenvolvidos serão apresentados. Por fim, serão relatadas as conclusões deste estudo.

2. Revisão Bibliográfica

Neste capítulo, serão descritas algumas propriedades do ZnO e será feita uma revisão bibliográfica referente os tipos de sínteses, aplicações e a importância desse material.

2.1 O Óxido de Zinco (ZnO)

A grande maioria dos semicondutores pertencentes ao grupo II-IV da tabela periódica, como o Óxido de Zinco (ZnO), cristalizam-se na estrutura Wurtzita (hexagonal), Blenda de zinco ou estrutura cúbica típica do NaCl. Em condições normais de pressão e temperatura, o ZnO possui estrutura cristalina do tipo Wurtzita, que é a fase cristalina mais estável termodinamicamente. A estrutura cristalina como Blenda de zinco pode ser encontrada em alguns crescimentos epitaxiais, e em condições de altas pressões (10 GPa) ele pode se cristalizar na estrutura cúbica, como no caso do GaN. A Figura 1 corresponde as estruturas cristalinas mencionadas para ZnO.

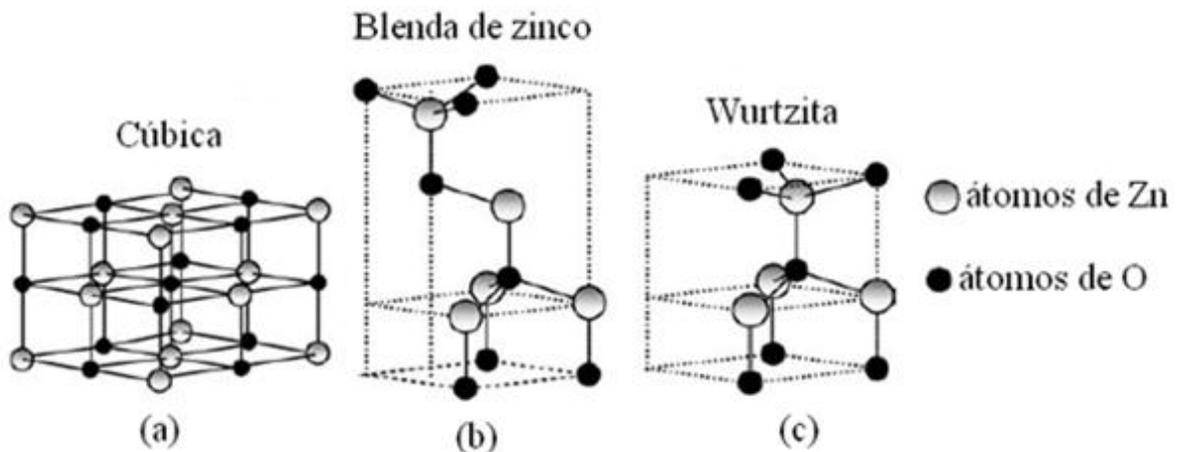


Figura 1. Estruturas cristalinas de ZnO. Em (a) estrutura cristalina de face centrada, (b) Blenda de zinco e (c) Wurtzita. As esferas em cinza representam os átomos de zinco e na cor preta são os átomos de Oxigênio^[8].

A estrutura cristalina Wurtzita tem uma célula unitária hexagonal com parâmetros de rede $a = b = 3,2495 \text{ \AA}$, $c = 5,2069 \text{ \AA}$ e ângulos $\alpha = \beta = 90^\circ$ e $\gamma = 120^\circ$ que pertence ao grupo espacial cristalográfico $P6_3mc$ ^[8-9]. Esse tipo de estrutura pode ser descrita como uma série de planos cristalinos alternados, e são compostos por átomos de O^{2-} e Zn^{2+} coordenados tetraedricamente, e empilhados alternadamente em torno do eixo c . Uma representação esquemática da estrutura cristalina Wurtzita é ilustrada na Figura 2.

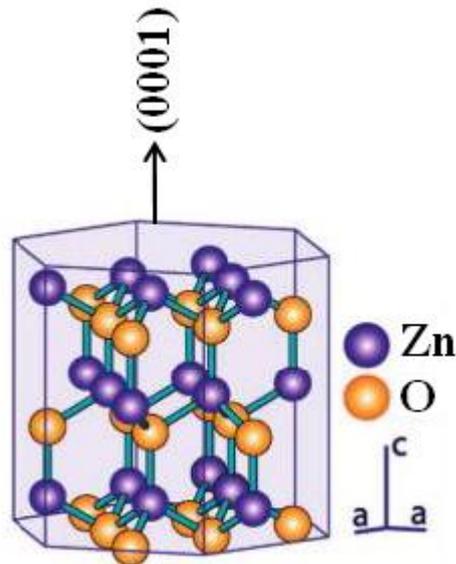


Figura 2. Estrutura cristalina hexagonal do ZnO, também denominada Wurtzita ^[10].

O ZnO também apresenta uma outra característica importante, que é a superfície polar, e a mais comum é o plano basal. A Figura 3 representa o desenho das polaridades para a estrutura Wurtzita de ZnO. Quando as terminações dos átomos ao longo do eixo *c* são provenientes de cátions (Zn), se refere como a polaridade em Zn (face (0001)) e quando prevalece as terminações em ânions (O), denomina-se polaridade em O (face (0001⁻)). Muitas propriedades de ZnO dependem dessa polaridade, por exemplo, o crescimento e a rugosidade da superfície, a origem de defeitos e a piezoelectricidade.

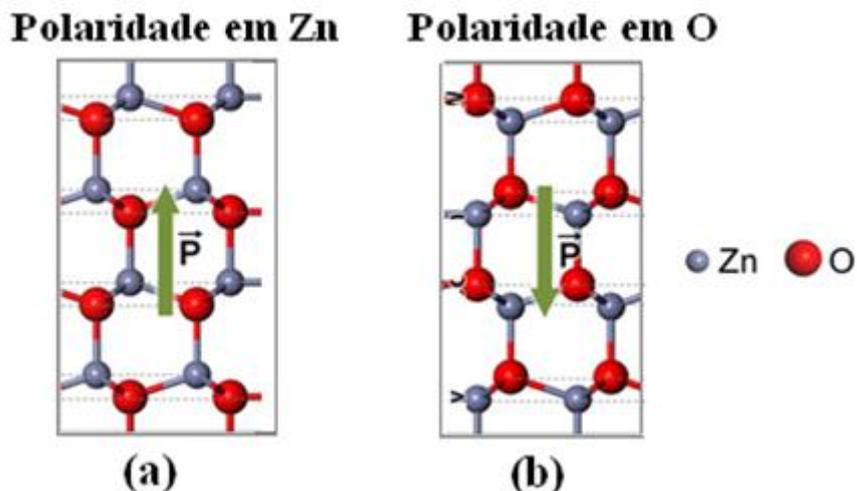


Figura 3. Desenho das polaridades da estrutura Wurtzita de ZnO, em (a) terminação em zinco e em (b) terminação em oxigênio ao longo do eixo *c* ^[11].

O ZnO possui uma densidade de 5,605 g/cm³, e classifica-se no grupo dos óxidos anfóteros por ser solúvel em ácidos e bases. O pó tem coloração branca e decompõe-se à

pressão atmosférica em temperaturas superiores a 2070 K, possuindo portanto boa estabilidade química. A tabela 1 relata alguns parâmetros físicos desse material.

Propriedade	Valor
Parâmetros de rede a 300 K	
a_0	0.324 95 nm
c_0	0.520 69 nm
a_0/c_0	1.602 (valor p/ estrutura hexagonal ideal 1, 633)
u	0.345
Densidade	5.606 g cm ⁻³
Fase estável a 300	Wurtzite
Ponto de fusão	1975 °C
Condutividade térmica	0.6, 1–1.2
Coefficiente linear de expansão térmica	$a_0: 6.5 \times 10^{-6}$ $c_0: 3.0 \times 10^{-6}$
Constante dielétrica	8.656
Índice de refração	2.008, 2.029
Energia de gap	3.4 eV
Concentração de cargas intrínsecas	$<10^6$ cm ⁻³
Energia de ligação do éxciton	60 meV
Massa efetiva do elétron	0.24
Mobilidade de Hall do elétron a 300 K (tipo-n)	200 cm ² V ⁻¹ s ⁻¹
Massa efetiva do buraco	0.59
Mobilidade do buraco a 300 K (tipo-p)	5–50 cm ² V ⁻¹ s ⁻¹

Tabela 1. Propriedades do ZnO ^[12].

2.2 Semicondutores

Um semicondutor é caracterizado por possuir uma banda de valência e uma banda de condução para os elétrons, separados por uma banda de energia proibida (“gap”). Em temperaturas próximas ao zero absoluto a banda de valência dos semicondutores está completamente preenchida por elétrons e a banda de condução está vazia, devido a tendência que os elétrons têm de ocuparem os estados de menor energia. Quando o sistema sofre um aumento da temperatura, os elétrons ficam termicamente excitados e podem passar da banda de valência para a banda de condução, caso possuam energia suficiente para vencer o “gap” ^[13]. A Figura 4 ilustra a ocupação das bandas de valência e de condução para um semicondutor.

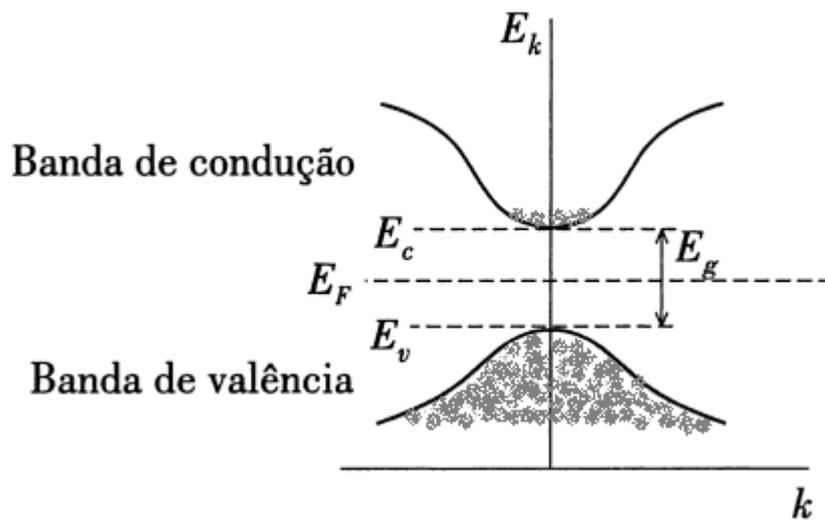


Figura 4. Representação esquemática das bandas de energia em semicondutores. As regiões hachuradas representam a ocupação dos elétrons em $T > 0$. A distância entre as bandas é o ‘gap’ de energia E_g , E_v é a energia da banda de valência, E_F é a energia de Fermi e E_c é a energia da banda de condução dos elétrons ^[13].

Os semicondutores são classificados em semicondutores intrínsecos e extrínsecos. Quando um semicondutor não contém impurezas em quantidade suficiente para alterar as suas propriedades é chamado de semicondutor intrínseco ou puro. A concentração de elétrons na banda de condução de um semicondutor puro varia exponencialmente com a temperatura, o que faz sua condutividade depender fortemente da temperatura. Esta é uma das razões pelas quais os semicondutores puros são pouco utilizados em dispositivos, pois apresentam uma condutividade relativamente baixa e alta dependência da temperatura.

A condutividade dos semicondutores também pode ser drasticamente alterada com a adição de impurezas, ou seja, de átomos diferentes dos que compõem o cristal puro. Os semicondutores com impurezas (átomos de outro elemento) são chamados de materiais extrínsecos ou dopados. O processo de colocar impurezas num semicondutor é chamado de dopagem. Esta propriedade possibilita a fabricação de uma variedade de dispositivos eletrônicos a partir de um material semicondutor.

Quando um ou mais átomos da rede cristalina são trocados por outro átomo de um elemento diferente, e se o átomo dopante possuir elétrons a mais do que o átomo original, dizemos que é um semicondutor do tipo- n . Como os átomos das impurezas cedem elétrons ao cristal, elas são chamadas de impurezas doadoras, e n se refere à carga do elétron (negativa). Se o átomo dopante possuir um elétron a menos, é chamado de semicondutor do tipo- p . As impurezas que retiram elétrons do cristal deixando buracos são chamadas de impurezas

aceitadoras, e p se refere à carga do buraco (positiva) ^[14].

Na Figura 5 é ilustrado um esquema de dopagem do silício com fósforo (pentavalente) e boro (trivalente), formando semicondutores do tipo- n e do tipo- p , respectivamente. O átomo de fósforo é uma impureza doadora, pois como tem cinco elétrons na camada de valência, dos quais quatro desses elétrons estarão ligados com os elétrons do átomo de silício e um elétron estará disponível que poderá ser excitado termicamente para a banda de condução. O átomo de boro é classificado como uma impureza aceitadora, pois ele possui três elétrons na camada de valência, e para completar as quatro ligações covalentes, captura elétrons do silício, deixando buracos na banda de valência ^[15].

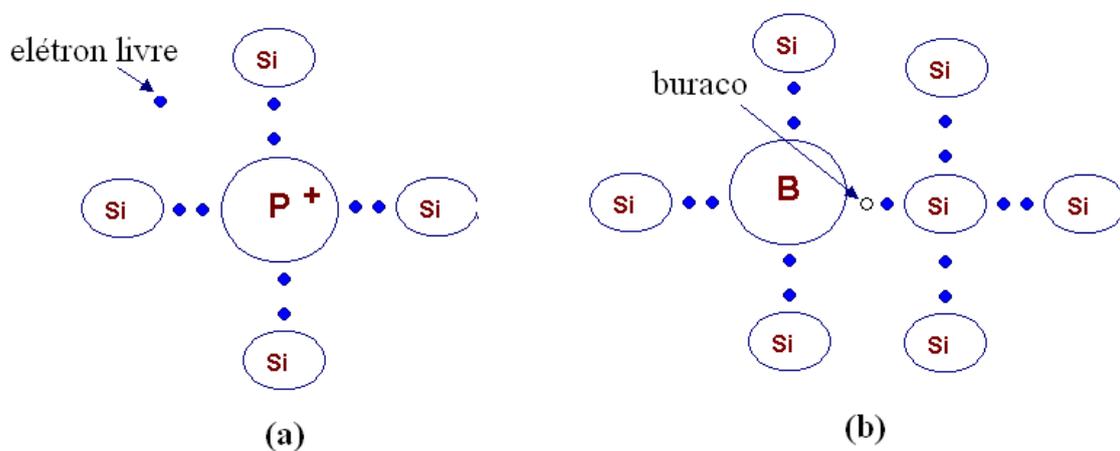


Figura 5. Desenho da rede cristalina do silício (a) do tipo- n dopado com fósforo e (b) do tipo- p dopado com boro, adaptado de ^[16].

Os semicondutores intrínsecos não têm elétrons livres como os metais, e quando a temperatura aumenta, as ligações covalentes se rompem, devido à agitação térmica. O elétron é despreendido e deixa um buraco na banda de valência. Esses buracos são chamados de portadores, pois é através deles que se realiza transporte de cargas de um ponto para outro do cristal. O número de elétrons na banda de condução é igual ao número de buracos na banda de valência ($n = p$, sendo n a concentração de elétrons e p a concentração de buracos).

O nível de Fermi dos semicondutores intrínsecos está situado entre a banda de valência e a banda de condução, aproximadamente no meio do diagrama de energia, de modo que $E_v < E_F < E_c$. Uma representação do diagrama de bandas no equilíbrio térmico para um semicondutor intrínseco, tipo- n e tipo- p é ilustrado na Figura 6 (a), (b) e (c), respectivamente. Nos semicondutores do tipo- n , o nível de Fermi encontra-se mais próximo da banda de condução, e o número de elétrons da banda de condução é maior do que na banda de condução do semicondutor intrínseco. Para os semicondutores do tipo- p , o nível de Fermi está

mais próximo da banda de valência ^[17].

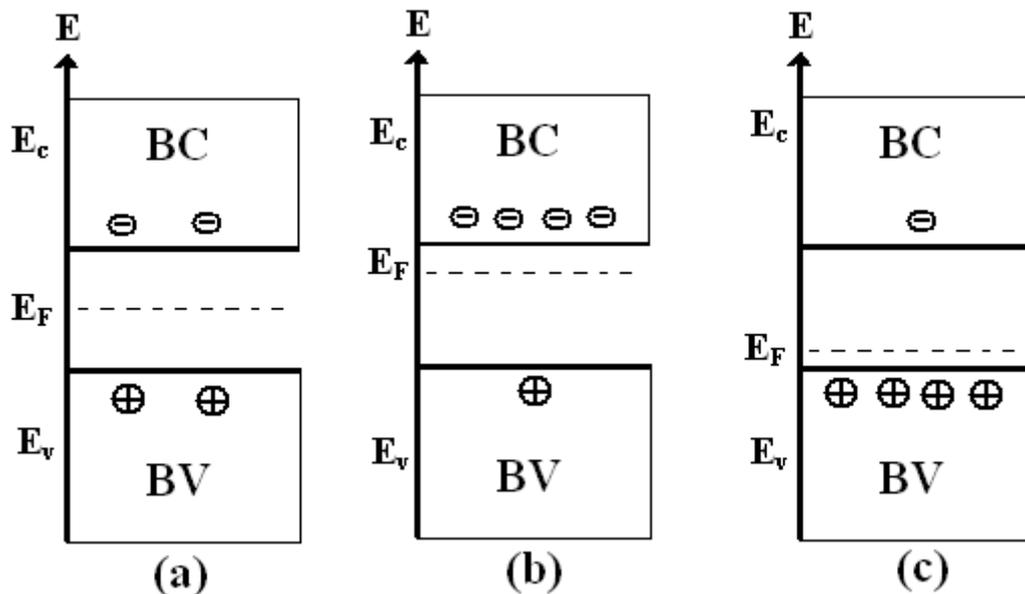


Figura 6. Esquema da representação das bandas para semicondutores: (a) intrínseco, (b) tipo-*n* e (c) tipo-*p*.

2.3 Propriedades ópticas e defeitos em ZnO

O ZnO possui uma largura em energia da banda proibida (E_g) de 3,37 eV, com alta energia excitônica de 60 meV que assegura a eficiência na emissão excitônica à temperatura ambiente ^[18].

Entre os diversos óxidos, o ZnO é um dos materiais mais importante de uso industrial e, atualmente tem aumentado a demanda em muitas aplicações por apresentar elevada atividade óptica e luminescente, além de alta abundância natural e baixa toxicidade. Trata-se de um material com ampla aplicabilidade na área da óptica, na microeletrônica, na fotocatalise e em sensores, devido as suas importantes propriedades físico-químicas, como a piezoelétrica, a piroelétrica e a condutividade acústica ^[19].

O ZnO na estrutura cristalina Wurtzita é um semicondutor naturalmente do tipo *n*, não estequiométrico, e possui defeitos intrínsecos, tais como vacâncias de oxigênio (V_o) e zinco intersticiais (Zn_i), são os defeitos mais comuns encontrado para este material. Há controvérsias na literatura sobre o defeito pontual predominante em ZnO, se predomina os defeitos em oxigênio ou em zinco ^[8,20-21]. Esses defeitos podem contribuir para melhorar as propriedades ópticas e elétricas do material.

Os defeitos em cristais podem causar uma interrupção na periodicidade da rede

cristalina e originar níveis de energia no ‘gap’ do material. Em geral, os principais defeitos ocorrem quando um átomo é removido da sua posição real na rede cristalina (vacâncias) e quando um átomo está posicionado de forma irregular na rede cristalina (intersticiais).

O ZnO é um material de destaque por também apresentar bandas de luminescência na região do ultravioleta, na faixa de comprimento de onda para o azul, amarelo, vermelho e verde, sendo a região verde a mais destacada para a emissão. Estas regiões de emissão podem estar associadas com os diferentes tipos de defeitos encontrados para o ZnO. Por exemplo, a emissão na faixa do amarelo (~ 563 nm) é associada aos defeitos por impurezas ou dopantes de outros materiais. A luminescência na região do vermelho (~708 nm) pode ser uma competição entre buracos e impurezas aceitadoras responsáveis pela emissão no vermelho [8].

Entretanto, a origem da luminescência na região do verde (~ 496 nm) em ZnO não dopado é atribuída aos defeitos provocados pelas vacâncias de oxigênio na banda de valência.

2.4 Deposição de Filmes de ZnO por CBD

Como os estudos recentes revelaram que os filmes nanoestruturados de ZnO possuem propriedades tecnologicamente promissoras, houve um grande empenho no desenvolvimento e aprimoramento de métodos utilizados na formação deste material. Dentre os métodos podemos citar: a deposição por vapor químico (CVD), a deposição por “vapor-líquido-sólido” (VLS), a deposição por laser pulsado (PLD), a epitaxia por feixe molecular (MBE), e a deposição por banho químico (CBD) [22].

O CVD é uma técnica de deposição controlada de materiais, principalmente os semicondutores, que permite obter filmes com espessura nanométrica. No processo, uma mistura de gases interage com a superfície de um substrato e com o material fonte (precursor), à temperaturas relativamente altas. Todos os compostos decompõem-se e formam-se filmes sólidos, morfologicamente nanoestruturados, sobre o substrato.

A deposição pelo método VLS é muito semelhante ao CVD, porém deposita-se um metal catalisador (Au, por exemplo) sobre o substrato antes da deposição do ZnO. Este catalisador induz a produção de uma liga com o substrato na forma de pequenas gotas, sobre as quais ocorre a formação do ZnO proveniente da fase vapor. A função do catalisador é ativar o crescimento do ZnO e absorver os vapores em níveis de supersaturação [23]. Desta forma se obtém estruturas unidimensionais, tais como nanofios, que crescem sob as gotas no sentido perpendicular à superfície do substrato.

A deposição por PLD acontece pela irradiação do alvo sólido de ZnO através de um

laser pulsado. O alvo fica próximo do substrato, que também é aquecido. O laser possui um determinado comprimento de onda, com duração de pulso e fluência (energia/área) que podem ser ajustados. Quando o laser irradia o alvo, ocorre o aquecimento do material, e o mesmo é evaporado e condensado sobre o substrato, formando um filme fino ^[24].

O MBE é uma técnica usada no crescimento de nanoestruturas a partir da evaporação de um material puro, tais como Zn, Ga, Fe, As, e outros. É indispensável o uso de uma câmara de crescimento de ultra alto vácuo, a uma pressão na ordem de 10^{-10} Torr, para limitar os níveis de impurezas na amostra ^[25].

Outro método muito utilizado na deposição de ZnO micro e nanoestruturado é a deposição por banho químico (*Chemical Bath Deposition*), o qual foi utilizado neste trabalho. Em geral, refere-se a reações em fase aquosa contendo precursores de Zn, que reagem com o oxigênio presente na água e formam ZnO, que pode ser tanto depositado sobre um substrato quanto coletado na forma de um precipitado.

Vayssieres *et al* ^[26] relatou a preparação de microtubos de ZnO altamente orientado através do método hidrotérmico com a temperatura relativamente baixa. Recentemente, diminuindo a concentração dos reagentes e mantendo a concentração do Zn⁺ e aminas de 1:1, foi obtida a redução do diâmetro das colunas de ZnO de 1-2 μm para 100-200 nm ^[27]. Boyle *et al* ^[28] desenvolveu uma síntese utilizando dois passos de preparação: o primeiro envolve uma pré-camada de cristais de ZnO e o outro passo é a subsequente solução para o processo de precipitação e crescimento dos cristais, para produzir microcolunas de ZnO orientada perpendicularmente. Greene *et al* ^[29] também relatou a formação de matrizes de nanocolunas de ZnO em diferentes substratos e estudou as suas propriedades fotoluminescentes como uma função da temperatura.

Recentemente relatamos através do método CBD a síntese de nanocolunas de ZnO altamente orientadas com diâmetro médio de ~ 80 nm e comprimento de $\sim 0,5$ a $3,5$ μm ^[30].

Este método possibilita a formação de ZnO em temperaturas relativamente baixas, entre 60 °C e 180 °C. É considerado um método atrativo por ser de baixo custo, e pela possibilidade de se usar diferentes substratos, cristalinos ou amorfos, e por ser muito efetivo no crescimento de nanoestruturas bem orientadas ^[31-32]. A concentração molar dos reagentes nas soluções pode ser variada, e após a sua preparação, as soluções são colocadas em frasco autoclavável e aquecidas em banho térmico, ou em estufa, por um tempo determinado.

Os substratos mais usados na deposição de ZnO são: silício, vidro, quartzo e safira. Estes substratos requerem uma limpeza adequada antes do seu uso, através de um ataque químico, para retirar impurezas que podem danificar morfologicamente as nanoestruturas. Na

Figura 7, observamos o esquema do arranjo experimental para o crescimento de filmes de ZnO utilizado em CBD.

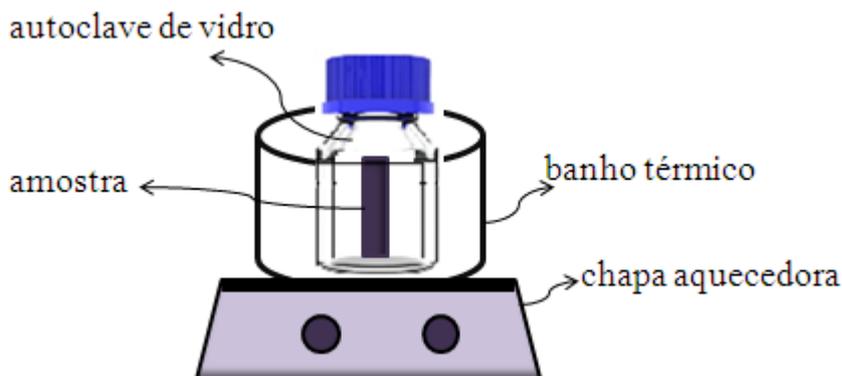


Figura 7. Esquema do sistema da deposição de filmes por CBD.

A deposição de filmes de óxidos metálicos por CBD envolve a precipitação controlada do óxido sobre um substrato via hidrólise, e/ou reações de condensação de íons metálicos, e/ou complexos, em solução aquosa [4-5]. No CBD, a morfologia do cristal é fortemente influenciada pelas condições experimentais, incluindo a espécie química na solução (ligantes, pH, metal, contra-íon, força iônica), o nível de supersaturação, a temperatura e a natureza do substrato. Alguns cátions não são facilmente hidrolisados, como o Zn^{2+} , a precipitação pode ser auxiliada através do aumento do pH, utilizando uma solução base. As bases de Lewis, tais como, etilenodiamina, trietanolamina e diaminas podem formar complexos com o metal. Esses complexos atuam como reservatórios para o metal, mantendo a concentração livre abaixo do ponto de precipitação, influenciando na morfologia dos filmes.

Estudos relatam que o tempo de deposição e o tipo de substrato utilizados na síntese, também influenciam no diâmetro médio dos cristalitos do filme de ZnO crescido por CBD. O controle do tamanho, a forma e a orientação dos cristais de ZnO no substrato, é um pré-requisito para a criação de materiais com alta área superficial de aplicabilidade em muitos dispositivos, incluindo os fotovoltaicos e dispositivos optoeletrônicos.

Para entender os processos físico-químicos envolvidos neste método de síntese do ZnO é interessante estabelecer as etapas que ocorrem durante a reação, que serão descritas a seguir. Em uma solução aquosa, cátions de metal M^{z+} são solvatados pela água originando íons do tipo $[M(OH_2)_n]^{z+}$. A ligação $M-OH_2$ é polarizada, o que facilita a desprotonação da molécula de água coordenada ao metal. Em soluções diluídas, uma variedade de espécies podem existir, tais como $[M(OH_2)_{n-p}(OH)_p]^{(z-p)+}$ e outra espécie na forma de $[M(OH)_n]$; por fim, oxi-ânions são formados. A fim de formar espécies polinucleares, o que

subsequentemente origina partículas de óxidos metálicos, ocorrem reações de condensação. Dois importantes processos são conhecidos: em (1) está representada a formação de uma ponte “OH” pela reação de uma espécie metal-hidroxila e uma metal-água:



e em (2) tem a formação de uma ponte “Oxi”, a partir da desidratação.



O Zn(OH)_2 é anfótero, e a complexação por OH^- pode levar a espécies solúveis tais como $[\text{Zn(OH)}_3^-]$ e $[\text{Zn(OH)}_4^{2-}]$, e assim, o hidróxido de zinco é mais solúvel em solução básica do que uma simples consideração do produto da solubilidade ($\sim 10^{-16}$). No CBD de ZnO, são empregados agentes de crescimento para manter baixa a concentração do Zn^{+2} livre em solução. O aumento da temperatura do banho promove a dissociação do complexo de zinco, levando à supersaturação controlada do metal livre [33-34].

Na síntese por CBD podem ser formados ambos Zn(OH)_2 e ZnO, a fase menos estável, em geral, é o primeiro precipitado. Se as condições de síntese permitirem que o precipitado na forma de hidróxido, altere a sua temperatura ou o pH, então pode resultar na formação do óxido. Em geral, ZnO tem uma forte tendência de crescimento por automontagem. Esse processo é descrito por duas principais etapas de mecanismo, chamadas de nucleação e crescimento dos cristais [35-36].

Na etapa da nucleação, os íons de Zn^{2+} e os íons de O^{2-} em solução aquosa reagem rapidamente, e formam colóides de Zn(OH)_2 . Esses colóides atingem o grau de supersaturação e precipitam. O precipitado de Zn(OH)_2 decompõe-se em núcleos de ZnO sobre o substrato. Estes núcleos podem agregar-se e crescerem individualmente por automontagem, originando um filme fino sobre o substrato. Esta etapa é chamada de crescimento ou amadurecimento dos cristais (*ripening*). Em nanoestruturas altamente orientadas podem ocorrer o efeito de coalescência, isto é, as partículas ou estruturas se colidem no meio aquoso e unem-se entre si, formando uma nanoestrutura com maior diâmetro [37].

Também é destaque em CBD, a importância da camada semente de cristais de ZnO sobre o substrato antes do crescimento das estruturas. Esta camada semente pode facilitar o crescimento das nanoestruturas de ZnO e desempenha três principais funções primárias. Primeiramente, o crescimento das nanoestruturas sobre a camada semente pode ocorrer como

uma homoepitaxia. Essa camada semente pode diminuir a energia da interface, entre o substrato e o núcleo do cristal, reduzindo a barreira de nucleação. Segundo, as interfaces cristalinas entre as sementes têm a tendência de adsorver as partículas ou núcleos. E a terceira função, as camadas sementes de ZnO aumentam a rugosidade da superfície, contribuindo para o crescimento de nanoestruturas. Em geral, as sementes são cruciais para obter estruturas crescidas verticalmente em filmes de ZnO [38].

Na preparação dos filmes deste trabalho, as reações principais que ocorrem na síntese do ZnO são listadas abaixo (3, 4, 5), e envolvem a decomposição térmica do hexametilenotetramina (HMTA). Trata-se de um composto orgânico heterocíclico, não iônico, com a fórmula química $(\text{CH}_2)_6\text{N}_4$. O HMTA decompõe-se gerando formaldeído e amônia. A amônia reage com a água da solução para produzir OH^- , que auxilia na cristalização do ZnO. Então, o HMTA tem a função de uma base em solução aquosa e ajuda a controlar o pH [39].



A precipitação dos íons Zn^{2+} ocorre por duas vias:



Na fase de decomposição térmica, os íons Zn^{2+} produzidos da dissociação do acetato de zinco com os OH^- da água, durante o processo de nucleação inicial, geram primeiramente o Zn(OH)_2 e depois, com os cátions Zn^{2+} e os ânions O^{2-} , formam o ZnO [40-41].

O Diaminopropano (DAP) pertence à família das diaminas, que são moléculas orgânicas que quando presentes na solução inibem ou promovem o crescimento de cristais. Elas atuam na reação como um agente de crescimento de cristais. O DAP também controla a solubilidade do Zn^{2+} na reação e por ser um composto básico, aumenta o pH da solução. O pH é importante porque Zn^{2+} e OH^- formam complexos hidro-zinco (Zn(OH)_2) que afetam a solubilidade do zinco e precipitam o Zn^{2+} como ZnO(s) [42-43]. Essas moléculas orgânicas podem controlar a densidade de nucleação, a orientação cristalina, a morfologia e particularmente a espessura dos filmes. O DAP é um reagente importante na obtenção de nanocolunas de ZnO, ele é adsorvido na superfície do cristal de ZnO, controlando ambos a forma da nanoestrutura e a taxa de crescimento [44].

A síntese de filmes de ZnO pelo método CBD permite obter estruturas com diversos tipos de morfologias e tamanho de estrutura, tais como: anéis, placas, esferas, tubos, flores e folhas (Figura 8), etc. Um grande número de estudos tem se dedicado para investigar a morfologia de ZnO através da síntese por fase aquosa (CBD).

Tal possibilidade de se obter diversos tipos de morfologias o torna muito atrativo em diversas áreas de pesquisa e aplicações. O controle da morfologia pode ser atribuído a combinações de precursores, concentrações, temperatura, método e tempo de deposição. Trata-se de um processo que ainda não é bem explicado na literatura ^[19].

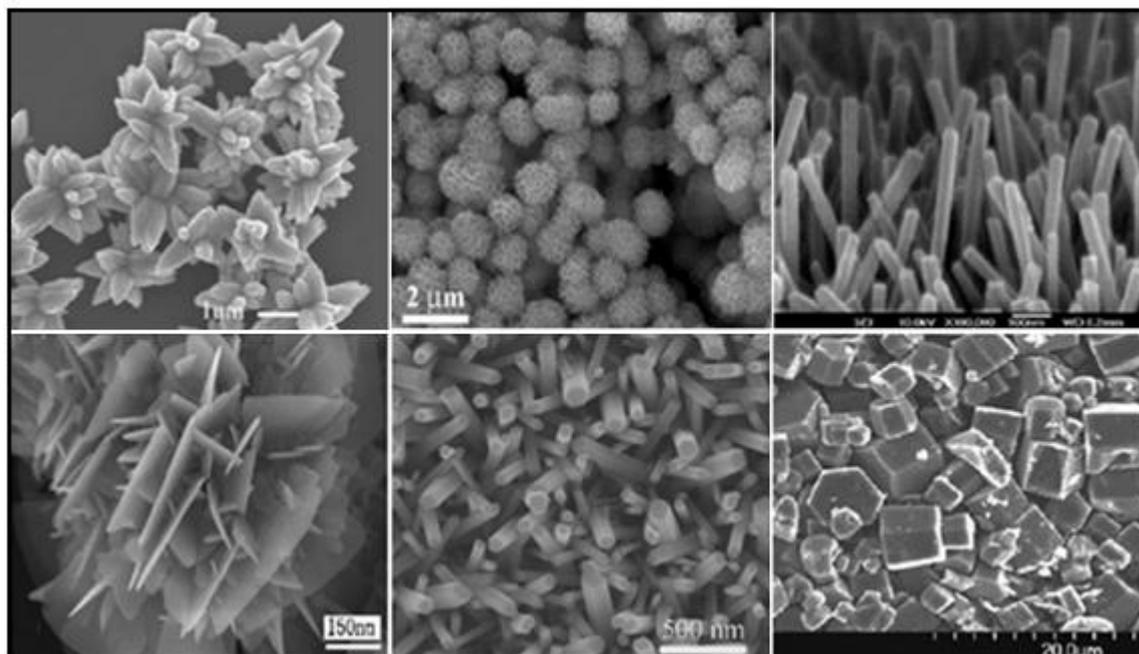


Figura 8. Morfologias de ZnO obtidas pelo método CBD ^[45-48].

2.5 Aplicações das Nanoestruturas de ZnO

Nanoestruturas de ZnO, com morfologias bem definidas, têm atraído considerável atenção em estudos fundamentais sobre o papel da dimensionalidade nas propriedades físicas, ou aplicações em dispositivos eletrônicos e optoeletrônicos ^[49].

O ZnO se tornou um dos materiais mais importantes para aplicações em nanotecnologia, e tem recebido enorme atenção científica devido às suas promissoras aplicações em dispositivos optoeletrônicos, catálise, geradores piezoelétricos, células solares e em biossensores ^[50-51]. Diversos estudos informados na literatura, como o do autor Wong que investigou o efeito das propriedades das nanopartículas de ZnO no desempenho de células solares. O ZnO tem uma melhor mobilidade de elétrons se comparado com o TiO₂.

Conseqüentemente, tem-se interesse em melhorar o transporte de elétrons em células solares a partir de eletrodos de ZnO nanoestruturados com diferentes morfologias ^[52]. Também o autor Lee relatou estudos com filmes de ZnO sobre substrato flexível para possíveis aplicações em dispositivos de memórias resistente (ReRAMs) ^[53]. Os óxidos semicondutores transparentes com transmissão óptica de 80% na região do visível (550 nm) e uma resistividade menor do que $10^{-3} \Omega \text{ cm}$ tem sido amplamente aplicado em eletrodos transparentes para dispositivos optoeletrônicos (painéis eletrônicos, diodos emissores de luz, etc.) ^[54].

O filme de ZnO com morfologia de nanogrão possui propriedades ferromagnéticas que o tornam num candidato promissor para aplicações na spintrônica ^[55]. As Nanoestruturas de ZnO também são bastante aplicadas em fotocatalise heterogênea. Os processos fotocatalíticos fazem parte de uma área com várias aplicações ambientais, tais como purificadores de ambiente, descontaminação de poluentes da água, na degradação de resíduos químicos perigosos, tratamentos de efluentes e na decomposição de lixo ^[56].

Vários grupos de pesquisas têm investigado a oxidação fotocatalítica de compostos orgânicos utilizando diferentes metais semicondutores. Eles têm características importantes para auxiliar nos problemas ambientais. Tanto o ZnO como o TiO_2 possuem aspectos interessante para a fotocatalise. Por exemplo, são materiais com um custo relativamente baixo comparado com os metais, e possuem maior poder de oxidação devido à ampla banda proibida de energia.

As nanopartículas ou nanoestruturas de ZnO tem um melhor desempenho fotocatalítico para degradar poluentes orgânicos do que o ZnO massivo e o TiO_2 comercial. A eficiência catalítica depende do tamanho da partícula, cristalinidade e área superficial ^[57].

2.6 Biossensores baseados em Nanoestruturas de ZnO

Nos estudos dos biossensores são utilizadas técnicas eletroquímicas para quantificar processos biológicos, medindo o sinal elétrico das concentrações de um analito biológico. Em geral, biossensores são dispositivos usados na detecção de um componente biológico com um componente químico. Entre eles podemos citar sensores de glicose, colesterol, ácido úrico, sensores de ureia e pH.

O ZnO tem sido muito investigado para uso em biossensores, por ser um material adequado para adsorver proteínas com baixo ponto isoelétrico, sendo que a imobilização da proteína em sua superfície é regida por interação eletrostática. As nanoestruturas de ZnO

possuem grande área superficial, boa estabilidade química e atividade eletroquímica, qualidades importantes para o uso em biossensores ^[58]. As nanoestruturas se formam como uma espécie de matrizes, que funcionam como um suporte sólido na imobilização das enzimas. Os biossensores têm alcançado um elevado grau de sofisticação, resultado de progressos na manipulação e controle da síntese em nanoestruturas.

A interdisciplinaridade encontrada entre a Ciência dos Materiais, Biologia, Química e Física, tem tornado este num campo fértil para o desenvolvimento científico e tecnológico de biossensores ^[59].

2.6.1 Sensores de Glicose

O sensor de glicose é um dos biossensores mais populares e tem sido muito investigado devido à sua importância em análises clínicas, pois oferece a possibilidade de efetuar a medida da glicose sanguínea com um procedimento simples e rápido. É um indicador crucial em doenças, tais como diabetes e desordem metabólica ^[60]. Além de auxiliar no controle da glicose sanguínea que em níveis normais é de 4 a 6 mM, é também promissor para outras aplicações, como em análises de alimentos e monitoramento em bioprocessos.

Os estudos de biossensores para glicose iniciaram em 1962 quando Clark e Lyons ^[61] sugeriram que uma camada muito fina da enzima GOx (glicose oxidase) poderia ser retida na superfície de um eletrodo de oxigênio, através de uma membrana semipermeável. As análises eram feitas baseada no monitoramento do oxigênio consumido pela reação da enzima catalisada. Observaram que a diminuição na concentração do oxigênio era proporcional à concentração da glicose.

O avanço na área de biossensores desde a década de 1980 permitiu a classificação deles como: biossensores de glicose de Primeira geração, Segunda geração e Terceira geração ^[62].

Na Figura 9 é ilustrada uma representação esquemática da classificação das gerações dos biossensores. A definição principal dos biossensores de glicose de Primeira geração, é que eles dependiam do uso do oxigênio natural, da produção e detecção do peróxido de hidrogênio como um co-substrato entre o eletrodo e a enzima. Os dispositivos de Segunda geração utilizam mediadores (soluções derivada de ferroceno e ferricianeto), para auxiliar no transporte de elétrons do centro ativo da enzima para o eletrodo.

Os sensores de Terceira geração têm a transferência de elétrons direta entre o eletrodo e a enzima. A enzima GOx é diretamente fixada na superfície do eletrodo,

geralmente em matrizes de nanomateriais. A ausência de mediadores é a principal vantagem desta Terceira geração, e representa um importante avanço na área de sensores.

Nessa geração de biossensores, a eficiência na transferência direta de elétrons dá origem a um sinal amperométrico, que permite detectar a presença de concentrações de glicose.

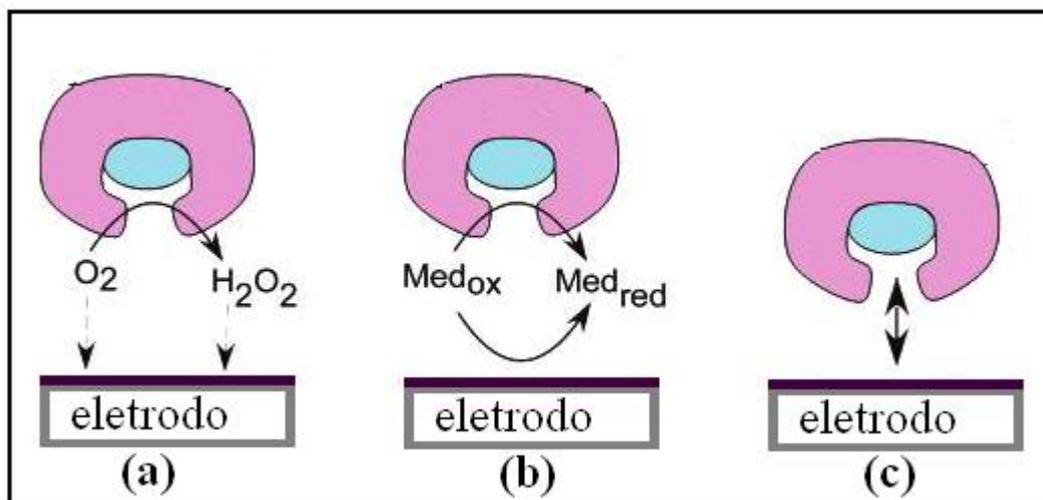


Figura 9. Representação esquemática dos diferentes tipos de gerações de biossensores: (a) Primeira geração, (b) Segunda geração e (c) Terceira geração ^[61].

A GOx é uma das mais importante enzimas aplicadas em sensores para glicose, devido a sua alta seletividade, rápida resposta e ter um custo relativamente baixo comparado com outras enzimas ^[63]. A GOx é uma proteína dimérica, ou seja, é composta de duas sub-unidades idênticas. Cada sub-unidade ou monômero, possui dois domínios, um que se liga à molécula de glicose enquanto que o outro se liga não covalentemente ao cofator FAD (Flavina Adenina Dinucleótido), que é um poderoso agente oxidante. Este cofator é um componente importante em reações biológicas de óxido-redução, também chamadas de reações redox onde uma molécula ganha ou perde elétrons ^[64].

Na Figura 10 é representada a estrutura molecular desta proteína. Nesta Figura, o cofator FAD é indicado na Figura e está representado na cor vermelha. O sítio ativo da GOx é conhecido e indicado como um asterisco amarelo na Figura 10, e é a região onde ocorre a reação entre o cofator FAD e a molécula de glicose.

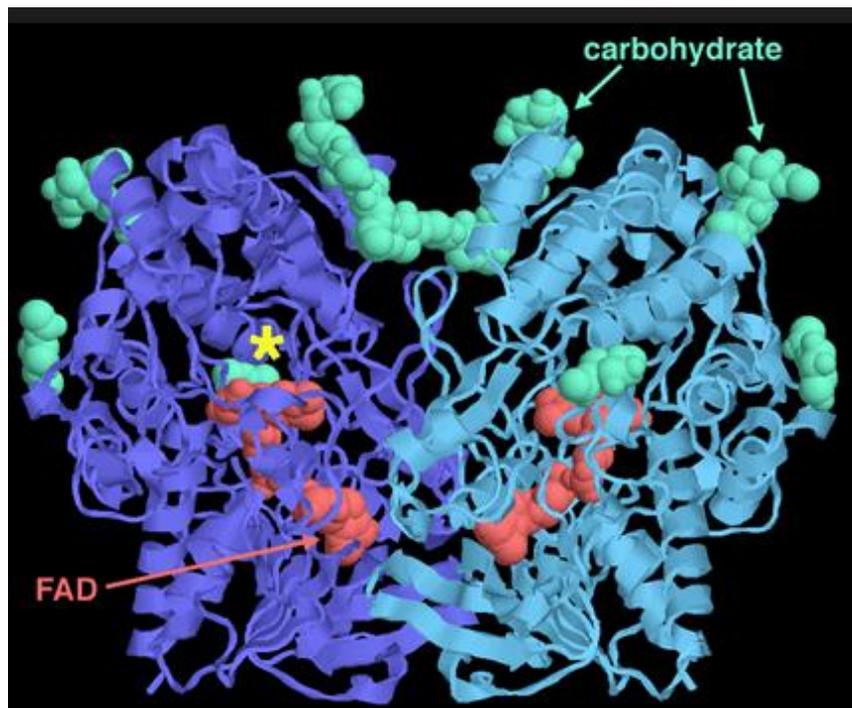
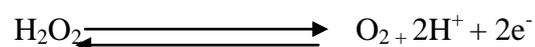
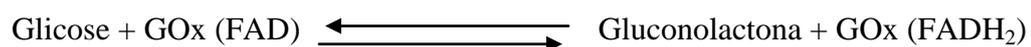


Figura 10. Representação da estrutura molecular da GOx. O cofator FAD é mostrado em vermelho, e o asterisco amarelo indica o sítio ativo onde ocorrem as reações com a molécula de glicose ^[65].

Na glicose oxidase, o cofator FAD age como um receptor de elétrons, ou seja, quando na presença da molécula de glicose provoca a oxidação da mesma e ele por sua vez se transforma na espécie reduzida (FADH₂). A espécie FADH₂ na presença de oxigênio molecular se oxida gerando a espécie FAD original. Nesta última reação o oxigênio molecular se reduz a peróxido de hidrogênio (H₂O₂). O peróxido de hidrogênio se transforma em oxigênio liberando elétrons livres, responsáveis pelo aumento da corrente elétrica na detecção da glicose ^[66]. Na literatura, essas reações são chamadas de reações redox. As reações que ocorrem com a GOx na presença da glicose estão representadas no esquema abaixo:



A GOx pode ser imobilizada na superfície das matrizes de ZnO através de adsorção,

ligação covalente, encapsulação em carbono ou em polímeros e ligação cruzada (*cross-linking*). A forma mais destacada de imobilização é pela adsorção física, pois a enzima GOx em soluções com pH neutro está carregada negativamente, o que favorece a sua fixação na superfície do filme de ZnO, que possui cargas positivas ^[67].

De acordo com a literatura, as nanoestruturas de ZnO na forma de nanocolunas (NCs) ou nanotubos (NTs) são as mais apropriadas para aplicações em sensores de glicose, pois apresentam maior área superficial quando comparadas com as outras possíveis morfologias de ZnO ^[68]. Além disso, podem apresentar tamanho compatível com as moléculas biológicas. Desta forma, é bastante interessante desenvolver um biossensor utilizando ZnO como substrato para a imobilização da proteína GOx.

2.6.2 Sensores de Ureia

A ureia é um composto orgânico, incolor, formada basicamente por carbono, nitrogênio, oxigênio e hidrogênio, e apresenta a fórmula molecular $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$. Este composto é amplamente distribuída na natureza e de considerável interesse em análises clínicas e químicas. Ela está presente no sangue, na linfa, na decomposição das células e nas proteínas dos alimentos. A ureia também é encontrada nas folhas e sementes de vários legumes e cereais.

A história do biossensor de ureia surgiu em 1969 quando Guilbault e Montalvo descreveram o primeiro eletrodo baseado em enzimas. Era um eletrodo específico para a determinação da ureia no sangue ^[69].

A importância em desenvolver biossensores de ureia é um assunto relevante de pesquisa, pois auxilia na prevenção do descontrole nos níveis de ureia na circulação sanguínea. Tais descontroles dos níveis de ureia podem ocasionar muitas doenças, como: insuficiência renal, desidratação, síndrome nefrítica e outras ^[70]. As taxas normais de ureia sanguínea em pessoas adultas correspondem de 3-7 mM/L.

O emprego de matrizes de ZnO para a imobilização da enzima Urease se deve as mesmas características descritas para o sensor de glicose, pois a Urease também é uma enzima com baixo ponto isoelétrico (PI ~5), e o ZnO possui uma forte habilidade para adsorção de proteínas.

A Urease é uma enzima trimérica, ou seja, composta de três subunidades com sítios catalíticos em cada uma delas. Na Figura 11 é apresentado um desenho da estrutura da enzima Urease.

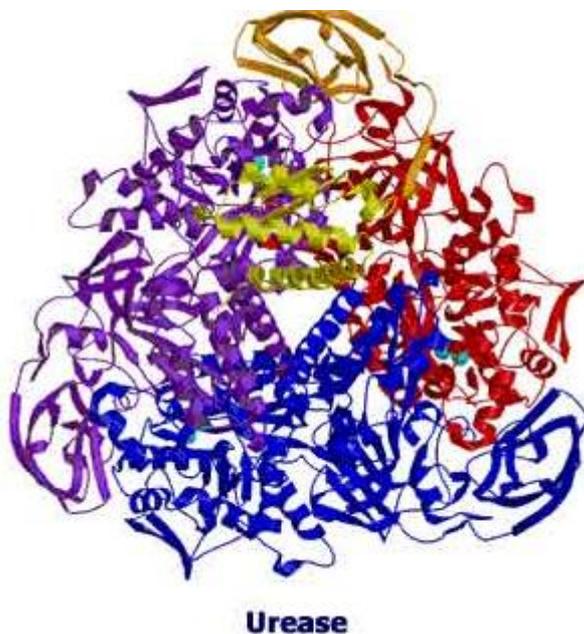
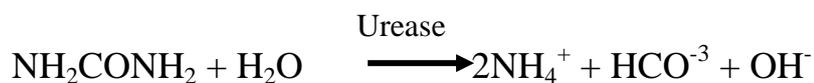


Figura 11. Representação da estrutura da enzima Urease ^[71].

A interação da enzima Urease (Urs) imobilizada na superfície da matriz das NCs de ZnO na presença da solução de ureia é catalisada e a ureia é hidrolisada formando o íon amônio, o bicarbonato e o íon hidróxido. O íon amônio e o íon hidróxido podem ser detectados e quantificados através de um sinal amperométrico ou potenciométrico ^[72]. As reações da solução de ureia com a enzima Urease estão representadas a seguir:



As nanoestruturas de ZnO são promissoras no desenvolvimento de sensores biológicos, tanto para glicose como para a ureia, por ser favorável à imobilização de biomoléculas que permitem a transferência de cargas sem a necessidade de utilizar mediadores para auxiliar no transporte de elétrons.

3. Técnicas de Caracterização

Neste capítulo, serão abordados os conceitos físicos relacionados às técnicas de caracterização DRX, XPS, XAS, Voltametria Cíclica e Potenciometria.

3.1 Difração de Raios X (DRX)

A difração de raios X foi descoberta por Max Von Laue em 1912, o qual propôs que um sólido cristalino pode ser considerado uma rede de difração ideal para os raios X. Através de um experimento feito com um feixe de raios X incidente em um cristal e uma chapa fotográfica, Laue observou que se formava um padrão de difração. Com isso, ele demonstrou o caráter ondulatório dos raios X, ou seja, uma radiação eletromagnética de curto comprimento de onda entre de 0,5 a 2,5 Å.

Os materiais sólidos cristalinos são formados por átomos, que estão ordenados formando um arranjo atômico. Esse arranjo atômico é o que chamamos de rede cristalina, que é de grande importância para definir as propriedades químicas e físicas de um material. Os materiais sólidos cristalinos apresentam diferentes tipos de configurações na sua estrutura conhecida como rede de Bravais, que estão representadas na Figura 12.

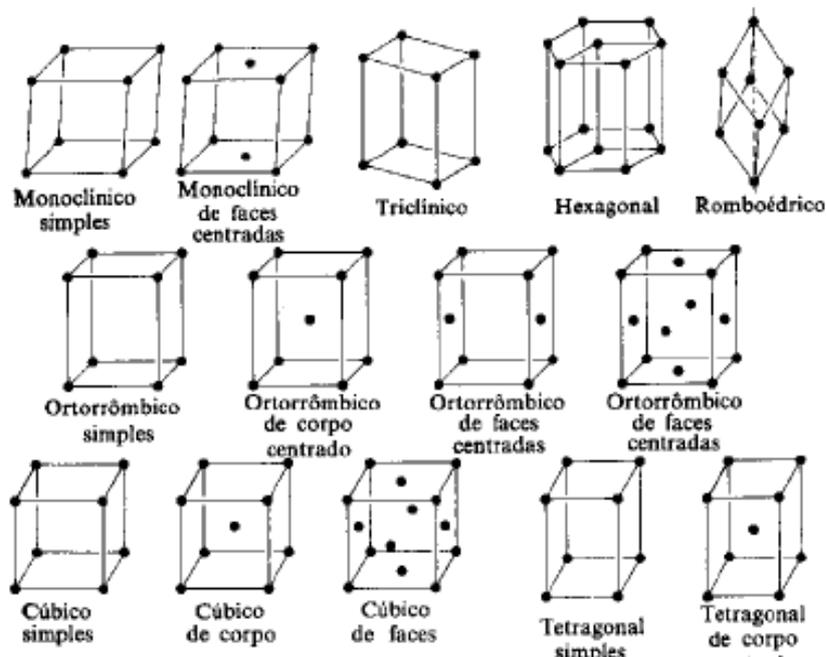


Figura 12. Representação das redes de Bravais [73].

Quando os raios X atingem um cristal, eles podem ser espalhados elasticamente, isto é, sem ter perdas de energias pelos elétrons de um átomo. Após a colisão dos raios X com os elétrons, ocorrem mudanças de sua trajetória, mantendo a mesma fase e energia do fóton incidente. O comprimento de onda da radiação incidente é da ordem de grandeza das distâncias interatômicas e por isso permitem estudar estruturas cristalinas.

A difração de raios X por um material cristalino envolve um processo de interferência construtiva ou destrutiva. Considere um feixe monocromático de raios X que incide sobre um material cristalino, com distâncias interplanares d , e ângulo de incidência θ . Os feixes refletidos por dois planos subseqüentes apresentarão a interferência construtiva se a diferença entre seus caminhos ópticos for um número inteiro de comprimentos de onda. Um pico na intensidade dos raios X refletidos será observado, como consequência de uma interferência construtiva; caso contrário, haverá interferência destrutiva, ou seja, não se observará sinal de raios X no detector. Os padrões de interferência na difração de raios X seguem a lei de Bragg que é descrita pela equação:

$$n\lambda = 2d \sin\theta,$$

sendo que λ corresponde ao comprimento de onda do feixe de raios X incidente, e n é um número inteiro da ordem de difração ^[74]. A Figura 13 representa a incidência de um feixe de raios X em que planos atômicos são difratados conforme a lei de Bragg.

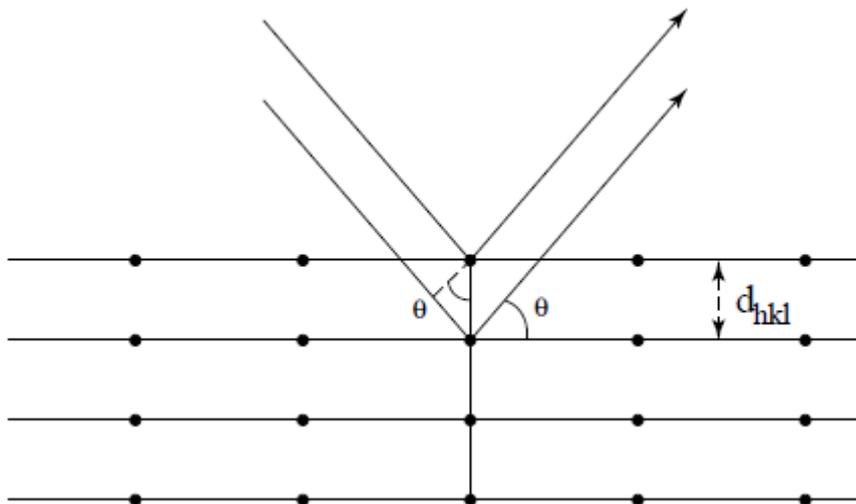


Figura 13. Esquema representativo da difração de raios X e a Lei de Bragg.

A radiação na faixa dos raios X pode ser produzida quando elétrons são acelerados em direção a um alvo metálico. A fonte mais comum utilizada é Cu K α ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$).

Para a realização dos experimentos de DRX é utilizado um difratômetro contendo

um feixe de raios X que partem de um tubo e incidem em um cristal que pode ser posicionado em diferentes ângulos (θ). Com o detector de raios X é medido a intensidade dos raios X difratados.

Os dados são coletados e representados na forma de um difratograma, conforme ilustrado na Figura 14, que representa os padrões de interferência construtiva observados na amostra de ZnO padrão.

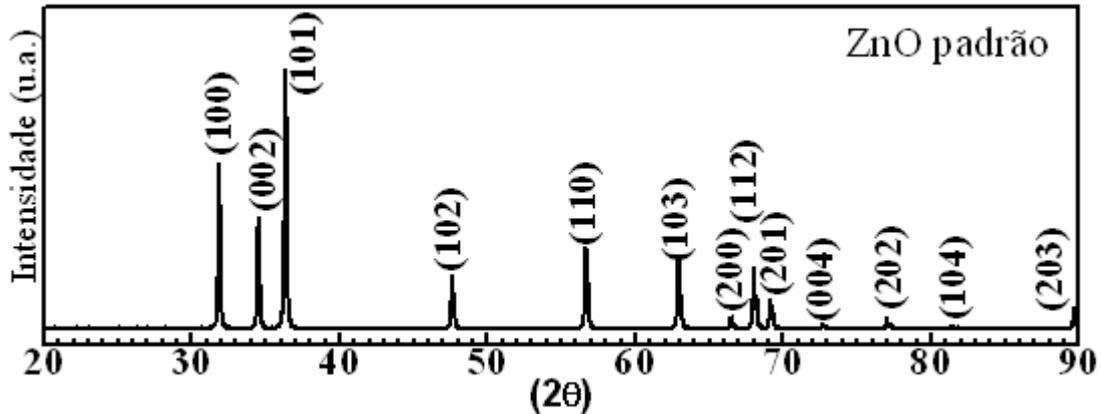


Figura 14. Difratograma da amostra de ZnO padrão.

Os picos de difração são identificados através dos índices de Miller h , k e l . Estes índices cristalográficos são utilizados para representar os planos cristalinos, e correspondem aos inversos inteiros dos valores em que o plano atômico intercepta os eixos cristalográficos a , b e c (Figura 15).

Para os cristais hexagonais podem ser utilizados quatro números para representar a simetria da rede hexagonal (índices de Miller-Bravais). A célula unitária possui quatro eixos cristalográficos, dos quais três são horizontais, com comprimentos iguais e formando entre si ângulos de 120° , e o quarto é o vertical, com comprimento diferente dos demais.

Os índices de Miller de um plano são representados por h , k , i e l , ($hkil$). Estes índices são os recíprocos dos interceptos sobre os eixos a_1 , a_2 , a_3 e c , (Figura 16).

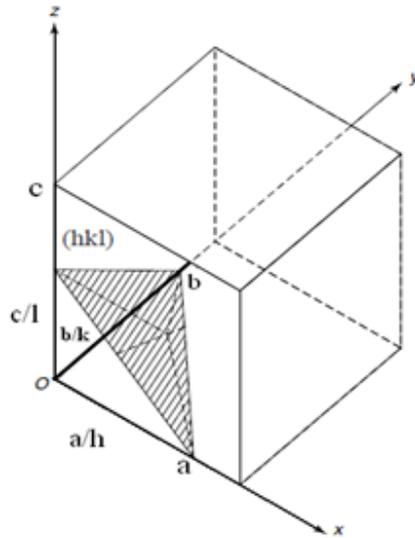


Figura 15. Representação dos planos através dos índices de Miller.

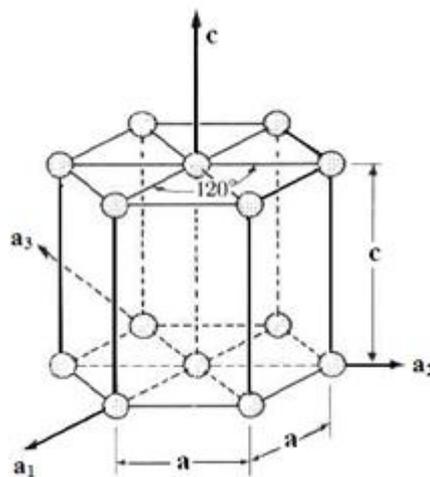


Figura 16. Representação dos índices de Miller-Bravais para uma célula unitária hexagonal [75].

Para o material ZnO, os três principais picos de difração representam os planos cristalinos (100), (002) e (101). Escrevendo estes planos em termos de índices de Miller-Bravais tornam-se (1000), (0001) e (1001). Na Figura 17 são representados os planos da célula hexagonal para o ZnO, com as faces apolares e os planos basais.

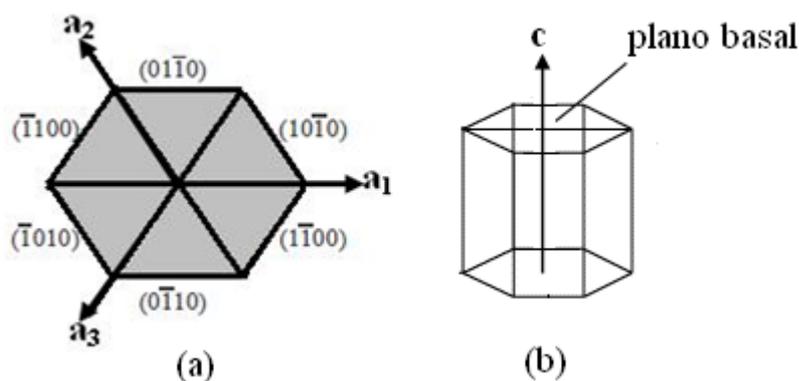


Figura 17. Diagrama representativo da estrutura hexagonal do ZnO, mostram (a) as faces apolares e (b) os planos basais.

3.2 Espectroscopia de Fotoelétrons induzidos por Raios X (XPS)

O XPS (X-Ray Photoelectron Spectroscopy), também chamado de ESCA (Electron Spectroscopy for Chemical Analysis), é uma importante técnica usada para explorar as propriedades dos átomos, moléculas, sólidos e superfícies, baseada no efeito fotoelétrico.

Esta técnica consiste em irradiar a superfície de uma amostra, em vácuo, com uma fonte de raios X monoenergética e analisar a energia cinética dos fotoelétrons emitidos. A Figura 18 é uma representação esquemática do processo de fotoemissão para um átomo isolado, onde um fotoelétron da camada eletrônica K é emitido.

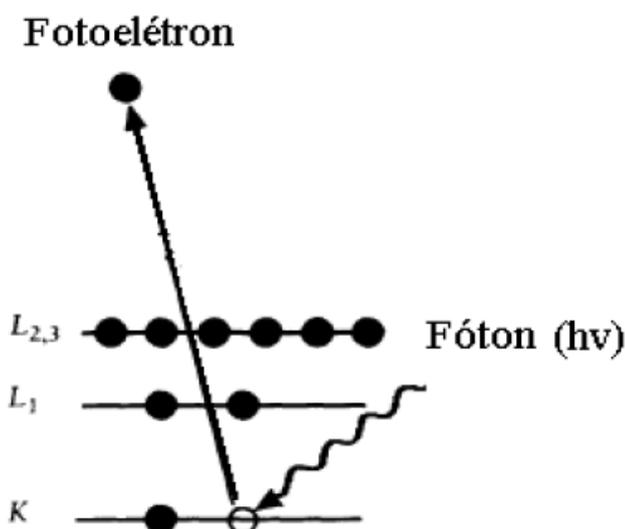


Figura 18. Diagrama esquemático do processo de fotoemissão, mostrando a fotoionização de um átomo pela absorção de um fóton, e a emissão de um fotoelétron ^[76].

Para ocorrer a fotoemissão é necessário que a energia do fóton seja suficiente para

ejetar o fotoelétron do átomo. Desta forma, a conservação da energia é dada pela seguinte equação:

$$E_k = h\nu - E_b - \Phi \quad (6)$$

Onde:

E_k = energia cinética do fotoelétron emitido;

E_b = energia de ligação do elétron no átomo;

$h\nu$ = energia do fóton incidente;

Φ = função trabalho da amostra.

Através da técnica de XPS são obtidas informações como o estado químico (número de oxidação) e a estrutura eletrônica do átomo a ser estudado. Também podemos analisar a composição do material, através da posição e intensidade dos picos observados. Geralmente, as amostras analisadas por XPS são metais, óxidos e semicondutores, e devem ser materiais compatíveis com ultra alto vácuo.

A técnica de XPS é sensível à superfície da amostra, pois os elétrons percorrem apenas alguns Angstroms (\AA) no interior do sólido antes de sofrerem colisões inelásticas. Os elétrons com energia cinética entre 20 a 1000 eV são ideais ao estudo de superfícies, pois seus caminhos livres médios são de apenas algumas camadas atômicas.

Na Figura 19 temos o gráfico do caminho livre médio inelástico (λ) em função da energia cinética dos elétrons (eV). São mostrados os valores experimentais de λ para vários elementos sólidos. A curva tracejada é chamada de curva universal de caminho livre médio em sólidos ^[77].

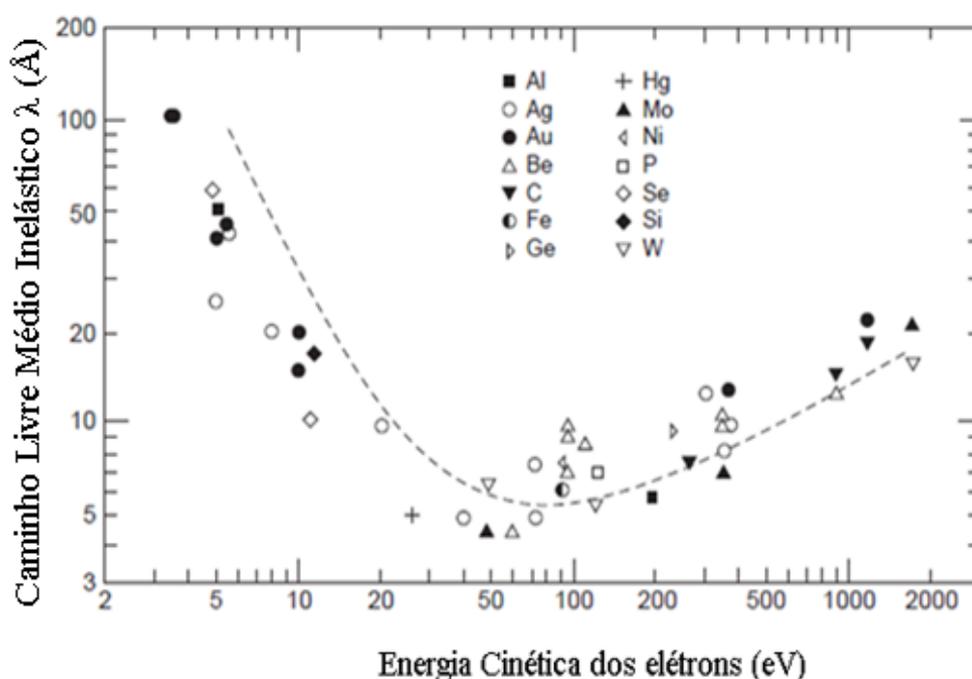


Figura 19. Gráfico do caminho livre médio inelástico de um elétron em função da energia cinética. Em tracejado temos a chamada de curva “universal”, devido ao comportamento do λ para vários sólidos ^[77].

Na prática, para realizar medidas de XPS são necessários os seguintes equipamentos básicos: fonte de raios X, manipulador de amostras e um analisador de elétrons com um detector, todos instalados em uma câmara de vácuo.

As medidas de XPS podem ser feitas em laboratórios, com fontes de raios X convencionais ou em laboratórios de luz síncroton ^[78].

As fontes de raios X convencionais são formadas por um ânodo de um determinado material, que é bombardeado por elétrons energéticos emitidos do cátodo. Geralmente são utilizadas as radiações Mg $K\alpha$, com energia de 1253,6 eV e largura total à meia altura (FWHM) de 0,7 eV, ou a Al $K\alpha$, com energia de 1486,3 eV e FWHM de 0,85 eV.

Para as análises de XPS, a câmara deve ser mantida em ultra alto vácuo. As condições de vácuo são mantidas através de bombas mecânicas, iônicas e as turbomoleculares, o que evita a contaminação da superfície estudada com a adsorção de moléculas gasosas. Também, se as amostras não estiverem em vácuo, os elétrons emitidos sofrerão perda de energia ou serão espalhados no percurso até o analisador.

Os fotoelétrons ejetados do material são coletados pelas lentes do analisador de elétrons, que funciona como uma espécie de filtro de energia. O analisador do tipo hemisférico (mais usado) consiste de duas calotas esféricas metálicas. Entre as calotas

metálicas existe uma diferença de potencial, que cria um campo elétrico. O campo elétrico seleciona os fotoelétrons com determinada energia cinética, suficiente para atingir o detector de elétrons [79].

O detector de elétrons tem a função de contar o número de elétrons que saem da amostra com determinada energia cinética em um intervalo de tempo. O sinal produzido fornece um espectro de contagem de elétrons versus a energia cinética (ou de ligação se usarmos a equação 6). Para analisarmos os dados é necessário um ajuste utilizando um software, onde os picos de intensidade de fotoelétrons são considerados uma convolução das funções Gaussiana e Lorentziana.

Na Figura 20 é mostrado um espectro de XPS da amostra de ZnO padrão medida na estação de trabalho da linha SXS localizada no LNLS (Laboratório Nacional de Luz Síncrotron). Foi realizada uma ampla varredura em energia (*wide scan*). Podemos observar os picos dos fotoelétrons Zn 2p, O 1s e o C 1s, também aparecem picos de transições Auger que estão identificados no gráfico.

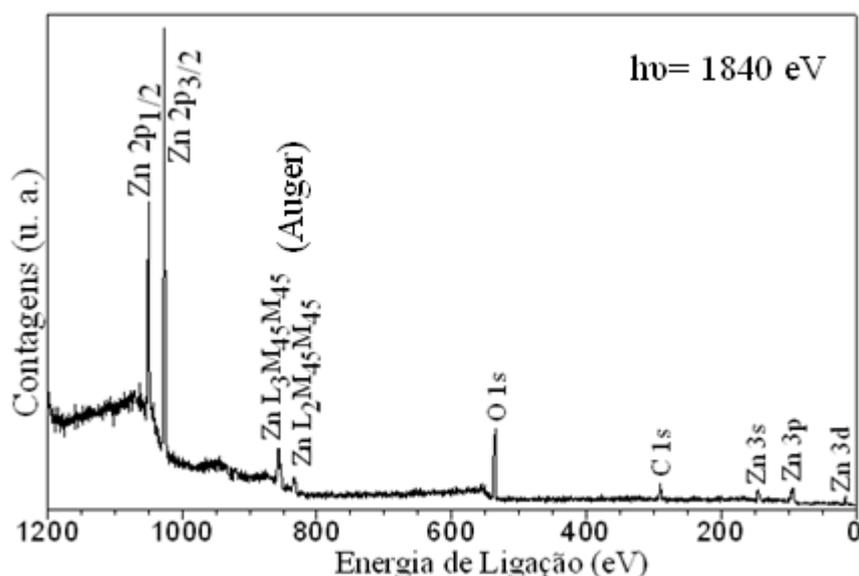


Figura 20. Espectro de XPS, varredura ampla da amostra de ZnO padrão.

A varredura em energia na região em torno de um pico de interesse permite descobrir o estado químico de um determinado elemento.

Um exemplo típico de XPS medido na região do Zn 2p de uma amostra de ZnO padrão é mostrado na Figura 21. As camadas eletrônicas são representadas pelas letras K, L, M, N..., correspondentes aos números quânticos $n = 1, 2, 3, 4, \dots$, sendo que $n = 1$ representa a camada mais interna do átomo. O elétron tem um momento angular orbital l (s, p, d, f) e um momento angular de spin s , com um momento angular total $j = l + s$. Cada nível j tem dois

sub-níveis, pois pode ser $s = \pm 1/2$, conhecida como spin. Por exemplo, os elétrons do nível 2p ($l=1$) do Zn originam dois níveis eletrônicos: com $l = 1, j = 1 + 1/2$, temos $2p_{3/2}$ e com $l = 1, j = 1 - 1/2$ temos $2p_{1/2}$. Então, os fotoelétrons são identificados conforme o número quântico do nível de onde o elétron foi ejetado.

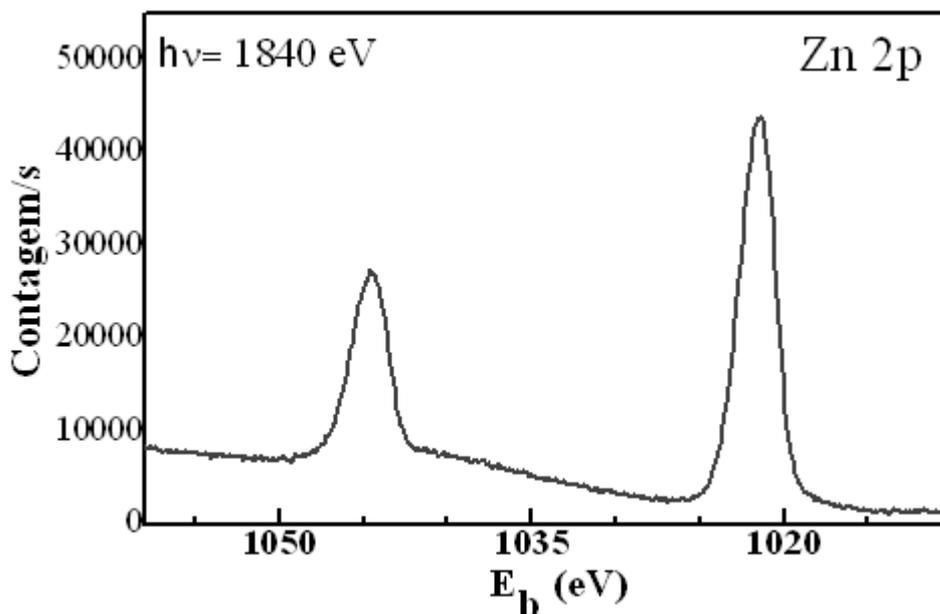


Figura 21. Espectro de XPS da região do Zn 2p da amostra de ZnO padrão.

3.3 Espectroscopia de Absorção de Raios X (XAS)

As primeiras observações publicadas sobre as estruturas finas acima de uma borda de absorção ocorreram em 1920, sete anos depois de Broglie ter publicado uma medida de um espectro de absorção ^[80]. A explicação básica para o fenômeno foi fornecida por Kronig formulando que as oscilações são devidas à modificação do estado final do fotoelétron pelo cristal, ou no caso de moléculas gasosas, pelos átomos vizinhos que rodeiam o átomo excitado ^[81]. O começo da era moderna do EXAFS coincide com uma publicação em 1971, por Sayers e colaboradores, que propôs pela primeira vez o uso da transformada de Fourier (TF) no sinal de EXAFS ^[82], a qual permite posterior determinação de dados estruturais. Os avanços da técnica de XAS, ocorridos a partir dos anos 70, são devidos ao concomitante desenvolvimento das fontes de luz síncrotron, que fornecem fótons de alta intensidade e de energia variável, em uma ampla faixa espectral (do infra-vermelho ($E < 1\text{eV}$) ao raio X duro ($E \sim 100\text{keV}$)).

A radiação síncrotron é produzida quando cargas elétricas aceleradas a velocidades relativísticas são defletidas por campos magnéticos. Estas cargas são formadas por elétrons ou pósitrons que percorrem uma trajetória dentro de um sistema de ultra alto vácuo, chamado de

anel de armazenamento. As principais características das fontes de luz síncrotron, além da alta intensidade, são seu amplo espectro de energia e luz altamente polarizada ^[83].

A técnica de XAS consiste na medida do coeficiente de absorção de raios X, por um elemento químico presente na amostra, em função da energia de fótons incidentes. O feixe de raios X, monocromático ou policromático, atravessa a amostra que pode ser um material cristalino, policristalino, amorfo, sólido ou líquido. A absorção pode ser descrita pela lei de Beer-Lambert através da seguinte equação:

$$I = I_0 e^{-\mu x}$$

Quando um feixe de raios X monocromático de intensidade I_0 incide sobre uma camada de espessura fina x de um material absorvedor, sua intensidade é reduzida a I (Figura 22). As intensidades são relacionadas por uma constante de proporcionalidade μ , chamada de coeficiente de absorção linear (cm^{-1}).

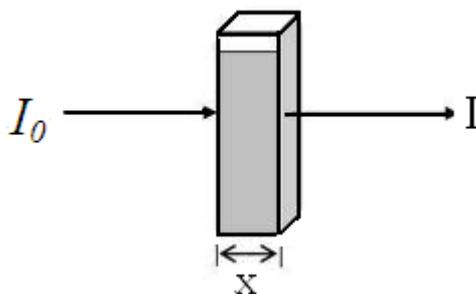


Figura 22. Representação esquemática do experimento de absorção.

A interação de um fóton de raios X com a matéria ocorre basicamente através de espalhamento e absorção. No processo de espalhamento estão envolvidos dois fótons e no processo de absorção apenas um fóton está envolvido. O fenômeno de absorção de raios X ocorre quando um fóton com uma dada energia interage com os átomos que compõe o material, excitando um elétron de um nível ligado para um estado desocupado, criando assim um fotoelétron.

Na Figura 23 é apresentado um espectro de absorção de raios X obtido na borda K do zinco para uma amostra de ZnO padrão na forma de pó. O espectro pode ser dividido em três regiões: a primeira região abaixo da borda de absorção é chamada de pré-borda. A segunda região é chamada de XANES (*X-ray absorption near edge structure*) que se caracteriza por um salto no espectro de absorção de (50 – 100) eV em torno da borda. A região de EXAFS (*extended X-ray absorption fine structure*) inicia ao final da região de XANES, terminando ao final do espectro de absorção.

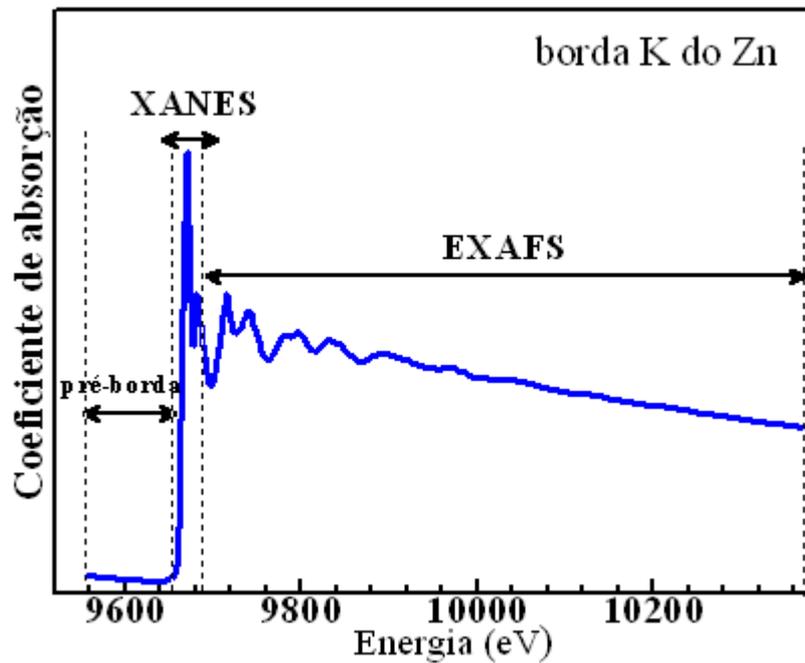


Figura 23. Espectro de XAS na borda K do Zn para uma amostra de ZnO padrão, mostrando as regiões da pré-borda, XANES e EXAFS.

No início da varredura, a energia dos fótons incidentes, ($h\nu$), é menor do que a energia de ligação dos elétrons, E_L , ($h\nu < E_L$), do nível 1s e a absorção observada se deve aos elétrons das camadas mais externas do zinco e aos átomos de oxigênio da rede do ZnO. Esta região é chamada de pré-borda. Quando $h\nu = E_L$, ocorre uma transição eletrônica do nível 1s para um nível não ocupado, ou para o contínuo. O espectro de absorção apresentado na borda K do Zn (Fig. 23) possui a borda de absorção na posição em energia de 9659 eV, e corresponde à transição eletrônica do $1s \rightarrow 4p$. Quando $h\nu > E_L$, os fotoelétrons excitados são emitidos com um excesso de energia cinética dada por $E_c = h\nu - E_L$. O fotoelétron emitido pode ser considerado como uma onda esférica, cujo comprimento de onda é definido por:

$$\lambda = \frac{2\pi}{k}$$

Onde k é o vetor de onda do fotoelétron, descrito por:

$$k = \frac{\sqrt{2 \cdot m_e \cdot (h \cdot \nu - E_L)}}{\hbar}$$

Na região de XANES a energia cinética dos fotoelétrons é pequena, e o seu espalhamento com os átomos vizinhos tende a ser bastante forte, permitindo que seja

espalhado várias vezes, caracterizando assim o fenômeno de espalhamento múltiplo. O espalhamento múltiplo na região de XANES permite obter detalhes do arranjo atômico ao redor do átomo absorvedor, e possibilita identificar a presença de compostos químicos, por exemplo, pelos deslocamentos em energia da borda de absorção. A análise cuidadosa da região de XANES fornece informações eletrônicas e estruturais, a geometria local do sítio ocupado pelo átomo absorvedor, o estado de oxidação e a densidade de estados desocupados [84]. Na Figura 24 é mostrado a região de XANES coletado na borda K do Zn e um detalhe do espalhamento múltiplo.

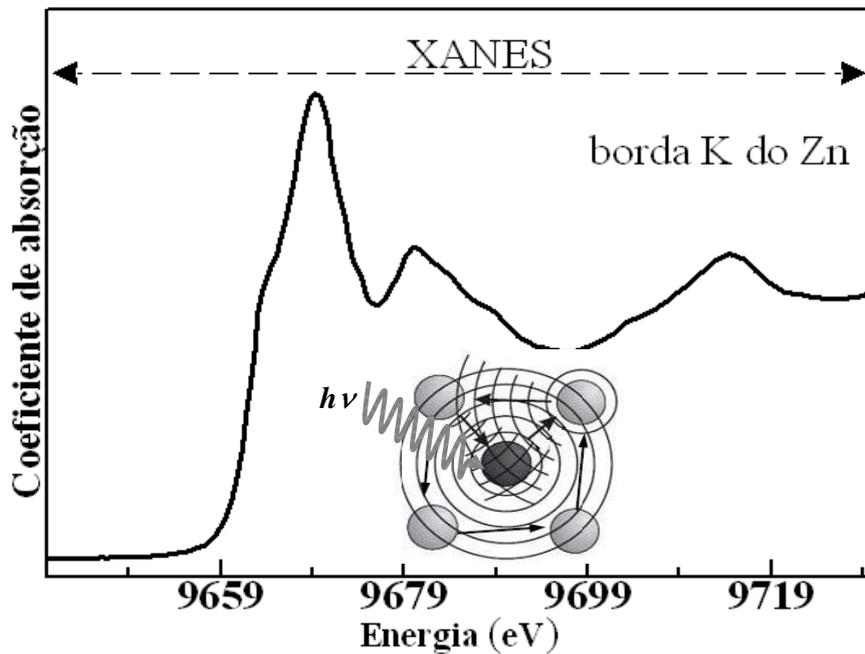


Figura 24. Espectro de XANES na borda K do Zinco da amostra ZnO padrão, e um detalhe representando o espalhamento múltiplo.

A absorção de raios X é regida pela regra de ouro de Fermi que permite descrever o coeficiente de absorção $\mu(E)$ por meio da aproximação dipolar, para a transição de um elétron em um estado inicial a um estado final [85] dado por:

$$\mu \propto \left| \langle i | V | f \rangle \right|^2 \delta (h\nu - E_f + E_i)$$

Onde: $|i\rangle$ e $|f\rangle$ correspondem respectivamente aos estados inicial e final do fotoelétron ejetado, E_i e E_f são as energias desses estados, V é o potencial de interação da radiação eletromagnética incidente com os elétrons ligados do material, e $h\nu$ é a energia do fóton incidente. A função delta garante a conservação da energia. O potencial de interação V pode ser escrito em uma expansão de multipolos. Considerando apenas o primeiro termo não nulo

dessa expansão, obtemos a regra de ouro de Fermi na aproximação dipolar. Dentro dessa aproximação, existe uma relação de simetria entre o estado inicial e final do fotoelétron, que dá origem as regras de seleção dipolares onde $\Delta l = \pm 1$ e $\Delta m = 0, \pm 1$. Isso significa que em um espectro de absorção medido na borda K ($1s \ l = 0$) e L_I ($2s \ l = 0$), estão sendo sondados os estados finais ($p \rightarrow l = 1$).

A técnica XAS tem uma grande vantagem de permitir a realização de medidas nas condições *in situ*. Pode-se, por exemplo, acompanhar a evolução das propriedades estruturais e eletrônicas em torno de um átomo específico durante uma reação.

Recentemente, foram informados na literatura^[86-87] alguns trabalhos que utilizaram a técnica XAS *in situ* para entender o mecanismo de formação de partículas de ZnO e quais os fatores que são responsáveis para a formação da fase ZnO no precipitado final. Nesses trabalhos foram utilizados o método sol-gel. Porém, para experimentos de XAS *in situ* para a deposição de ZnO pelo método CBD ainda é pouco explorado^[88]. Trata-se de um sistema que requer uma célula de reação especial, que permita o aquecimento e a passagem dos raios X pela solução da amostra. Na produção de filmes, é um experimento ainda mais crítico, pois é necessário um substrato que não absorva totalmente os raios X.

3.4 Voltametria Cíclica

A Voltametria Cíclica (VC) é uma técnica eletroanalítica importante e amplamente utilizada para investigar as reações de oxi-redução que uma molécula é capaz de sofrer. Ela fornece informações diretas sobre os potenciais de redução e as estabilidades dos diferentes produtos de oxidação ou de redução^[89].

A VC é realizada utilizando um potenciostato, um dispositivo eletrônico que controla a diferença de potencial elétrico entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, os quais são imersos em uma solução dentro de uma célula eletroquímica. A célula eletroquímica é geralmente composta por três eletrodos: um eletrodo de trabalho (ET), um de referência (ER) e um auxiliar (EA) imersos numa solução condutora de íons.

A diferença de potencial aplicada entre eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência. O eletrodo auxiliar é um fio de platina, também chamado de contra-eletrodo, deve ter uma área superior à do eletrodo de trabalho, a corrente circula entre o ET e o EA. O eletrodo de trabalho pode ser constituído de diferentes materiais, metais ou óxidos^[90].

Na VC, a varredura do potencial é feita em um sentido (crescente) e, em seguida no

outro (decrecente) completando o ciclo, o potencial é linearmente variado com o tempo, enquanto a corrente é medida. É possível realizar o experimento com diferentes velocidades de varreduras de potencial dadas em mV/s ou V/s.

A VC foi utilizada neste trabalho para a caracterização eletroquímica do ZnO com a Glicose Oxidase (GOx), que é a espécie sensível a glicose. O eletrodo de trabalho consiste de ZnO nanoestruturado depositado sobre uma superfície condutora, na superfície do qual foi imobilizada a GOx. Na Figura 25 é representada esquematicamente uma célula eletroquímica de três eletrodos.

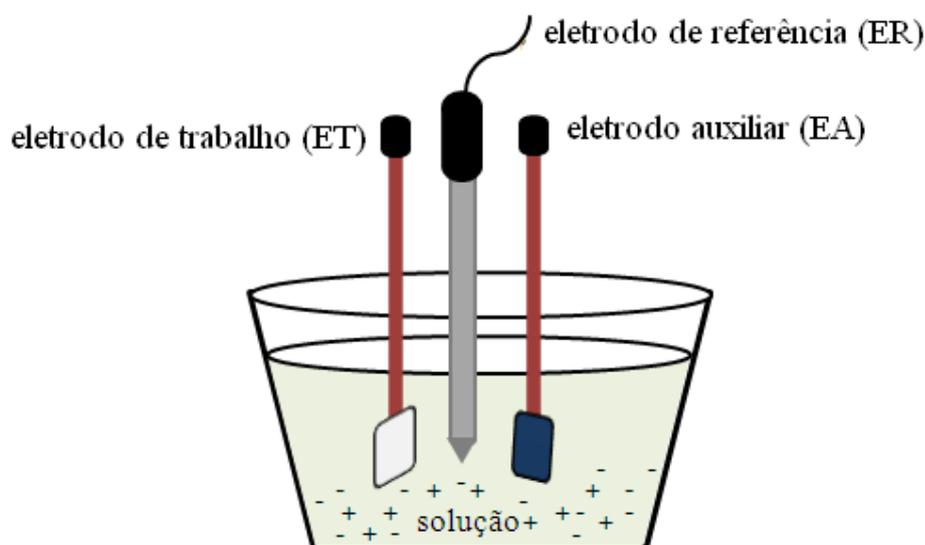


Figura 25. Desenho de uma célula eletroquímica com três eletrodos, o eletrodo de trabalho, o eletrodo auxiliar e o eletrodo de referência.

3.5 Potenciometria

A base da técnica de potenciometria foi estabelecida por Nernst, em 1888, quando descreveu a origem do potencial de eletrodo entre um metal e uma solução contendo íons deste metal, e o potencial redox entre um metal inerte e uma solução contendo um sistema redox ^[91].

Trata-se de uma técnica de análise química que se baseia na medida da diferença de potencial de uma célula eletroquímica na ausência de corrente elétrica. É um método utilizado para detectar um determinado constituinte em uma solução, através da medida do potencial de um eletrodo sensível ao íon em análise.

Esta técnica é realizada utilizando o potenciostato, conectado a um eletrodo de referência e um eletrodo de trabalho. O eletrodo de referência tem um potencial conhecido, constante e insensível à composição da solução do analito. O eletrodo de trabalho é construído

com diferentes materiais de interesse para a análise (metais ou óxidos), e o potencial varia com as alterações na concentração do analito. O eletrodo responde de uma forma rápida e reprodutível as variações da concentração da solução em análise ^[90].

Um potencial de eletrodo é uma medida das concentrações das espécies presente em uma célula eletroquímica. As reações envolvidas no processo são de oxi-redução determinada pela equação de Nernst, dada pela seguinte expressão:

$$E = E_0 - \frac{0,0592}{n} \log \frac{[\text{reduzida}]}{[\text{oxidada}]}$$

Onde E_0 representa o potencial padrão do sistema, e $[\text{reduzida}] / [\text{oxidada}]$ é a razão das espécies reduzida e oxidada na reação. A Figura 26 representa um desenho da célula eletroquímica com dois eletrodos utilizados nas medidas de potenciometria.

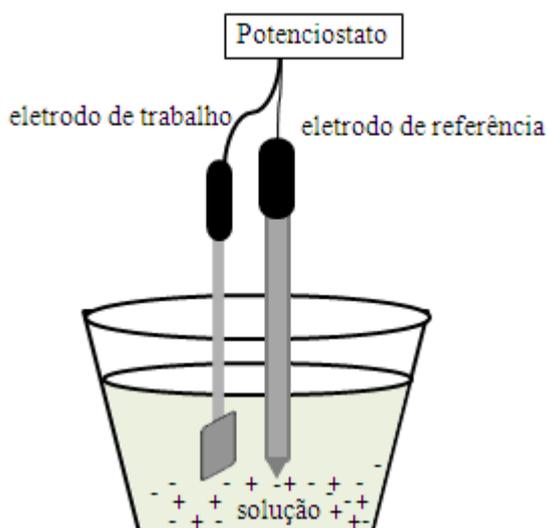


Figura 26. Desenho de uma célula eletroquímica com dois eletrodos, o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência.

Neste trabalho a potenciometria foi utilizada para analisar a resposta eletroquímica do eletrodo construído com a imobilização da enzima Urease sobre as nanoestruturas de ZnO. Também foi analisada a interação do eletrodo com outros interferentes, tais como: glicose, ácido ascórbico, KCl e NaCl.

4. Metodologia

Neste capítulo será apresentada a metodologia que foi utilizada para preparar os filmes de ZnO e a descrição experimental de cada técnica de caracterização. A síntese desenvolvida neste trabalho permitiu o crescimento de ZnO sobre substratos em lâmina de vidro, aço inoxidável, cobre e grafite.

4.1 Preparação dos Filmes de ZnO

4.1.1 ZnO depositado sobre a lâmina de vidro, aço inoxidável e cobre

A lista de todos os reagentes utilizados neste trabalho é apresentada na Tabela 2.

Reagente	Procedência
Acetato de Zinco	Vetec
Hexametenotetramina	Synth
Diaminopropano	Aldrich
Ácido Ascórbico	Nuclear
NaCl	Aldrich
KCl	Aldrich
Glicose	Aldrich
Ureia	Aldrich
Enzima Glicose Oxidase	Aldrich (211U/mg)
Enzima Urease (Jack bean)	Aldrich (15.000-50.000 U/g)
Fosfato de Potássio	Nuclear
Fosfato de Sódio	Nuclear

Tabela 2. Relação de todos os reagentes utilizados neste trabalho.

Primeiramente foi feita uma limpeza dos substratos. O aço inoxidável foi desgordurado com acetona, e depois limpo com álcool isopropílico. O substrato de vidro foi primeiramente desgordurado com acetona. Depois foi imerso numa solução preparada com 50% de ácido fluorídrico (HF) e 50% de água destilada, permanecendo coberto por esta solução no banho de ultra-som durante 3 minutos. O substrato foi lavado com água destilada várias vezes e secado em ar ambiente. O cobre foi imerso em uma solução de H_3PO_4 and HNO_3 durante 3 minutos no banho de ultra-som e depois foi lavado com água destilada.

A síntese possui duas etapas, que inclui a formação de uma fina camada-semente de cristalitos de Acetato de Zn, e o crescimento subsequente das estruturas de ZnO através do

método CBD. Na primeira etapa, uma solução com 5 mM de acetato de zinco em etanol foi gotejado sobre a superfície dos substratos e deixado secar à temperatura ambiente. Os substratos foram então aquecidos a 200 °C durante 20 minutos.

Na segunda etapa, a solução de reação foi preparada com a mistura de três soluções aquosas de 20 mM de acetato de zinco ($C_4H_6O_4Zn \cdot 2H_2O$), 20 mM de HMT ($C_6H_{12}N_4$) e DAP ($C_3H_{10}N_2$) (entre 0 mM a 200 mM) em 50 mL de água deionizada. A mistura foi agitada até todos os reagentes solubilizarem-se completamente. A solução reacional foi colocada em uma garrafa autoclavável. Os substratos com a primeira etapa foram submersos na solução, a garrafa foi selada e imersa em um banho térmico na temperatura controlada em 95 °C. O tempo de reação foi variado de 1, 4, 6 e 8 h, e cada filme produzido foi caracterizado posteriormente. Um fluxograma da metodologia de preparação das amostras é representado na Figura 27.

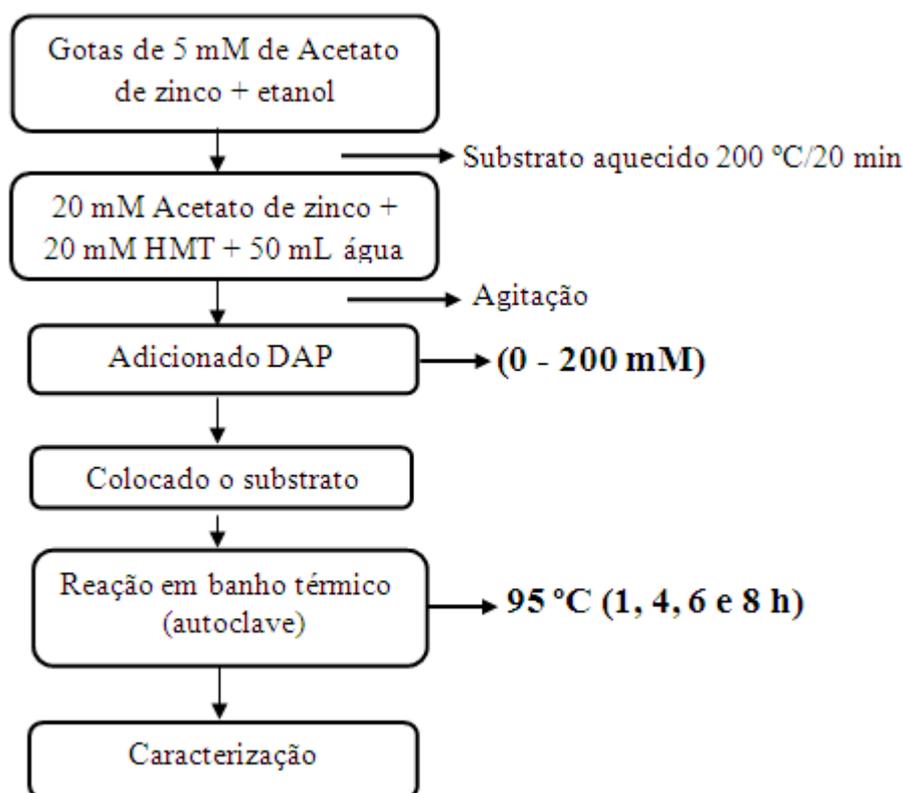


Figura 27. Fluxograma da metodologia de preparação dos filmes de ZnO.

Após o tempo de reação, as amostras foram retiradas da solução e deixadas secar à temperatura ambiente e estavam prontas para serem caracterizadas. A concentração de DAP foi variada para estudar a sua influência na morfologia dos filmes depositados por 8 horas.

4.1.2 Estudos *in situ* da formação de ZnO (grafite)

Neste trabalho foram realizadas medidas de XAS *in situ* na borda K do Zn para monitorar a deposição de ZnO em substrato de grafite. Primeiramente, o grafite foi limpo com uma solução de 50% em volume de H₂SO₄ no banho ultra-sônico durante 3 minutos. O substrato foi então lavado com água deionizada e secado à temperatura ambiente.

A solução reacional foi preparada com uma mistura de soluções aquosas de 20 mM de acetato de zinco, 20 mM de HMT e DAP nas concentrações de 20 mM, 100 mM e 200 mM. Após a solubilização dos reagentes em agitador magnético, as soluções foram colocadas dentro de uma célula de reação que foi construída e adaptada para permitir medidas de XAS durante a deposição de ZnO. O substrato de grafite foi submerso verticalmente na solução. A célula foi selada e foi iniciado o aquecimento utilizando uma fita aquecedora. A temperatura foi controlada e monitorada com o termopar na escala de 93 °C durante 2 horas. Após as medidas, o sistema de aquecimento foi desligado e o filme foi retirado da solução, deixado secar à temperatura ambiente, e posteriormente analisado por outras técnicas de caracterização. As amostras padrões de ZnO e Zn(OH)₂ foram depositadas em uma membrana a partir de 15 mg de pó.

4.2 Caracterização

4.2.1 Microscopias Eletrônicas (MEV, FIB e MET)

As análises por MEV das amostras foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFRGS. O equipamento utilizado foi o JEOL-JSM 6060. Antes da análise, as amostras de MEV foram metalizadas com ouro, para evitar efeito de carregamento. Para medir o diâmetro médio das colunas e sua distribuição foi utilizado o *software* ImageJ com ~ 500 contagens/imagem.

A espessura dos filmes foi medida através do FIB (Focused Ion Beam) utilizando o equipamento Dual Beam Jeol model JIB 4500 no laboratório de Conformação Nanométrica (LCN) da UFRGS. A erosão iônica foi usada para desbastar os filmes de ZnO, permitindo a medida da distância da superfície do substrato até o topo do filme com o uso do MEV.

A análise por MET foi realizada utilizando o microscópio JEOL-JEM 1200 disponível no (CME). Para a análise de MET, os filmes de ZnO eram removidos cuidadosamente do substrato e bem dispersados em álcool isopropílico. Uma gota da

suspensão foi colocada sobre a grade de cobre e seca à temperatura ambiente.

4.2.2 Difração de Raios X (DRX)

Nos experimentos de DRX deste trabalho foi utilizado um Difratorômetro Siemens D-500, com a fonte Cu K α (1,5406 Å), e passo de varredura de 0,05° numa região de 2 θ de 5° a 100°. As medidas foram realizadas no Instituto de Física da UFRGS. Os planos cristalinos da amostra foram identificados através da base de dados cristalográficos do software PCPDFWIN e SEARCH-MATCH através do arquivo PCPDF de número 36-1451 ^[92].

4.2.3 Fotoluminescência (PL)

Os filmes de ZnO foram submetidos à análise de Fotoluminescência (PL) para a caracterização de suas propriedades óticas. Os dados foram adquiridos com o espectrofotômetro Hitachi F-2700 (lâmpada de Xenônio) com excitação de 320 nm. Todas as amostras foram caracterizadas à temperatura ambiente.

4.2.4 Espectroscopia de Fotoelétrons induzidos por Raios X (XPS)

As medidas de XPS foram realizadas na estação experimental da linha SXS do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), utilizando fótons com energia de 1840 eV. Os espectros foram coletados por um analisador hemisférico do tipo Phoibos 150 SPECS, com energia de passagem fixada em 30 eV e passo em energia de 0,1 eV. Para a análise dos espectros foi utilizado o software XPSPEAK 4.1. Foi considerado um fundo do tipo Shirley, e uma função Gaussiana-Lorentziana (25% Lorentziana) para modelar os fotopicos. Também foram obtidas as frações entre as áreas da componente do O 1s relativa as vacâncias de oxigênio, e a área total pico do Zn 2p_{3/2}.

Nas amostras analisadas por XPS, foi medida a região do C 1s para corrigir possíveis deslocamentos das energias de ligação devido a efeitos de carregamento. O carbono é um elemento geralmente presente na superfície e também chamado de carbono adventício. Para a análise dos dados de XPS, a energia de ligação dos elementos químicos foi calibrada considerando a energia do C 1s 284,5 eV. Nos filmes de ZnO, medimos também as regiões do Zn 2p, O 1s e N 1s.

4.2.5 Espectroscopia de Absorção de Raios X (XAS)

As medidas de XAS *in situ* foram realizadas na linha de luz XAFS1 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS (Campinas-SP) na borda K do Zn (9659 eV). A energia do monocromador foi calibrada com uma folha de zinco metálico. Foi utilizado um monocromador de Si (111) e três câmaras de ionização preenchidas com uma mistura de gases para (I₀) 95% N₂ + 5% Ar, (I₁) 80% N₂ + 20% Ar e (I₂) 100% N₂. As medidas foram realizadas no intervalo de energia entre 9635 e 9735 eV com um passo em energia de 1 eV e 1s/ponto. Foi desenvolvida uma célula reacional de vidro com duas aberturas laterais (janelas de kapton) permitindo a entrada e saída dos raios X. Um substrato de grafite foi colocado dentro da célula, preenchida com a solução reação, a qual foi aquecida até a temperatura apropriada. O tempo de aquisição de cada espectro foi de aproximadamente 6 minutos. Os dados obtidos foram analisados através do programa Athena^[93].

A Figura 28 é uma foto do reator reacional desenvolvido para a deposição de filmes de ZnO/grafite por CBD e permitir as medidas de XAS *in situ*.

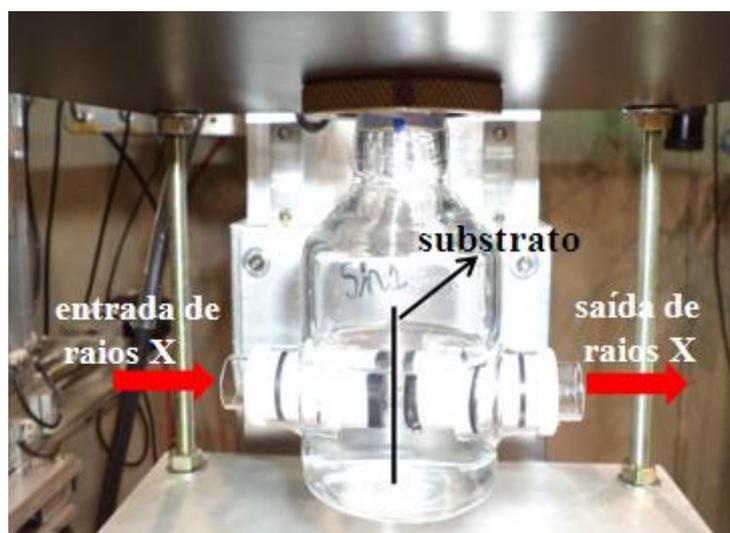


Figura 28. Foto do reator de vidro desenvolvido para realizar a deposição de filmes de ZnO/grafite por CBD e permitir medidas de XAS *in situ*.

Também foram realizadas medidas de XANES do filme ZnO/grafite (2 h) após ser extraído da solução e deixado secar em temperatura ambiente.

4.2.6 Voltametria Cíclica (VC) e Potenciometria

A caracterização eletroquímica foi realizada no Instituto de Química da UFRGS,

utilizando um potenciostato da marca Autolab PGSTAT 302N.

Para o sensor de glicose: foi preparada uma solução tampão com 0,01 M de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e KH_2PO_4 em água deionizada. O pH da solução foi controlado com um pHmetro (PHTEK) e o pH final da solução foi de 7,1. Foi preparada uma solução com 1 ml de solução tampão e 7,5 mg de GOx. O eletrodo de ZnO/aço preparado com 100 mM de DAP e 8 h de deposição, foi lavado com solução tampão e secado com nitrogênio em baixo fluxo, depois foi gotejado 40 μL da solução de GOx sobre a superfície do filme e mantido na geladeira por 12 h, numa temperatura de 4 °C. Após, foi gotejado 10 μL de solução Nafion sobre a enzima imobilizada e mantido na geladeira por mais 4 h. Depois, o eletrodo foi lavado com a solução tampão para retirar o excesso de GOx. A célula eletroquímica foi preenchida com 10 mL de solução tampão, na qual foram adicionada alíquotas de glicose nas concentrações de 2,6 mM, 4 mM, 8 mM e 16 mM.

A técnica selecionada foi a VC, e onde o eletrodo de trabalho era o filme de ZnO com a GOx adsorvida. O contra eletrodo era um fio de Pt e o eletrodo de referência, era um eletrodo de AgCl. A solução de trabalho na célula era a solução tampão ou a solução de glicose dissolvida na solução tampão. Também foram realizadas medidas utilizando a solução tampão com pH 7,4.

Para o sensor de ureia: o pH da solução tampão foi controlado em 7,4. Uma solução com 10 mg de Urease e 1 mL de solução tampão foi preparada. O eletrodo de ZnO/aço preparado com 200 mM de DAP e 8 h de deposição, foi lavado com solução tampão e secado com nitrogênio em baixo fluxo. O eletrodo foi imerso na solução de Urease misturado com 20 μL de solução Nafion e mantido na geladeira por 18 h, numa temperatura de 4 °C. Após, o eletrodo foi retirado da solução e lavado com tampão para remover o excesso de Urease que não foi adsorvida. A célula eletroquímica foi preenchida com 6 mL de solução tampão e adicionada várias alíquotas da solução de ureia nas concentrações de 1,3 mM a 25 mM.

A técnica utilizada foi a Potenciometria, e na célula eletroquímica o eletrodo de trabalho era o filme de ZnO com a Urease imobilizada, e o eletrodo de referência era um eletrodo de AgCl. Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas em temperatura ambiente e sob a agitação contínua da solução. Após o uso, o eletrodo foi armazenado em solução tampão e mantido na geladeira a 4° C.

O estudo com os interferentes foi realizado com o eletrodo de trabalho na presença de adições de alíquotas de 1 mM de ureia, 1 mM de ácido ascórbico, 6 mM de glicose, 6 mM de KCl e 6 mM de NaCl. Todas as soluções foram preparadas em solução tampão.

5. Resultados e Discussões

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos com a síntese e caracterização dos filmes de ZnO. Em cada seção serão descritos e discutidos os resultados obtidos com cada técnica.

5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Transmissão (MET)

5.1.1 Influência do substrato

A técnica de MEV permitiu avaliar a morfologia dos filmes de ZnO depositados em diferentes substratos (lâminas de vidro, aço inoxidável e cobre). A imagem de MEV (Figura 29) do filme de ZnO crescido sobre a lâmina de vidro por 8 h possui uma morfologia colunar bem definida, com o diâmetro médio de (105 ± 21) nm. A imagem de MEV inserida na Figura 29 foi feita da lateral do filme ZnO/vidro e observamos que essas colunas crescem verticalmente sobre o substrato.

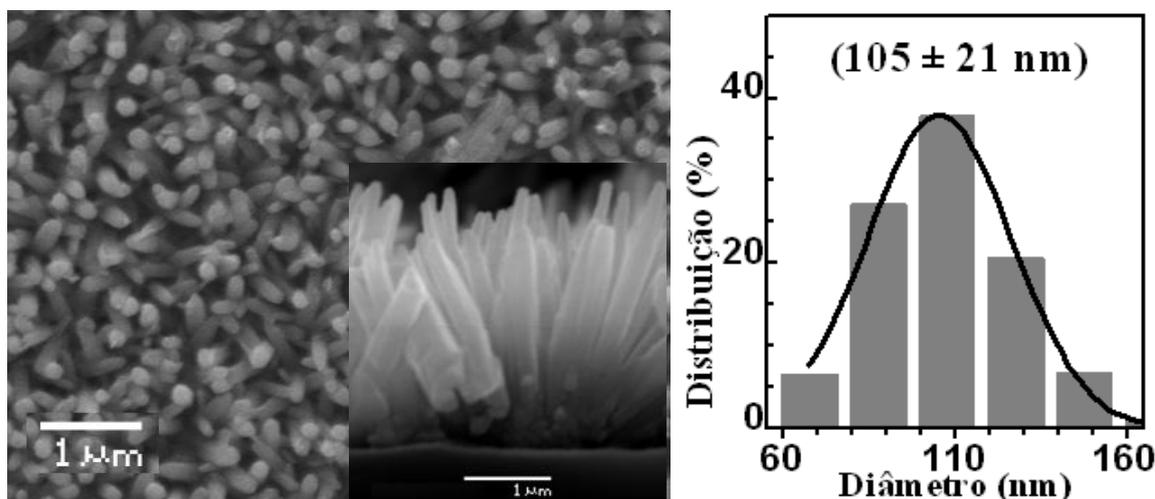


Figura 29. Imagem de MEV do filme de ZnO/vidro depositado por 8 h e [100 mM] de DAP, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.

No filme de ZnO depositado sobre o substrato de cobre (8 h) as estruturas formadas também são nanocolunas com diâmetro médio de (76 ± 21) nm conforme a imagem de MEV ilustrada na Figura 30. Para o filme de ZnO depositado (8 h) sobre o substrato de aço inox (Fig. 31), as colunas tem um diâmetro médio de (70 ± 16) nm e maior densidade de estruturas sobre o substrato.

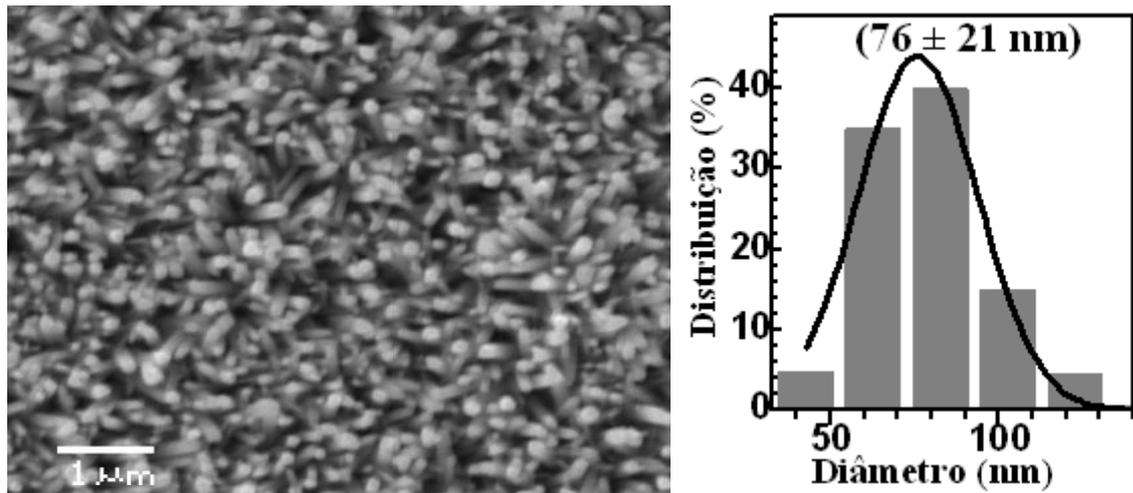


Figura 30. Imagem de MEV do filme de ZnO/cobre depositado por 8 h, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.

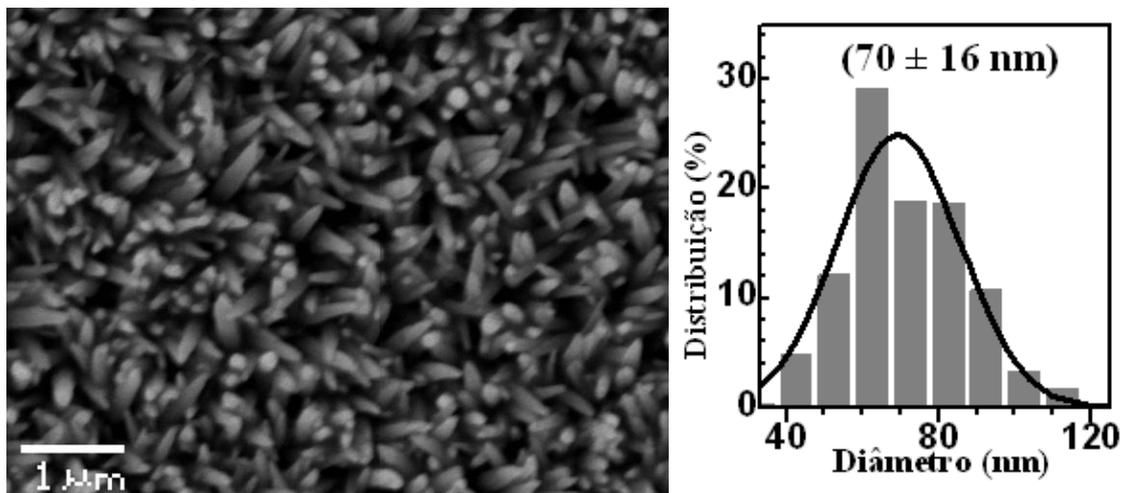


Figura 31. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 8 h, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.

5.1.2 Influência do tempo de deposição

A Figura 32 apresenta a imagem e a distribuição do diâmetro médio das estruturas da amostra de ZnO/aço inox crescido em 1 hora de deposição (100 mM DAP). São observadas colunas verticais bem definidas com diâmetro médio de $(88 \pm 16) \text{ nm}$, e altura das mesmas foi obtida com a técnica de FIB e é da ordem de $\sim (1,2 \pm 0,1) \mu\text{m}$. Na Figura 33 é apresentada uma imagem de FIB para esta amostra.

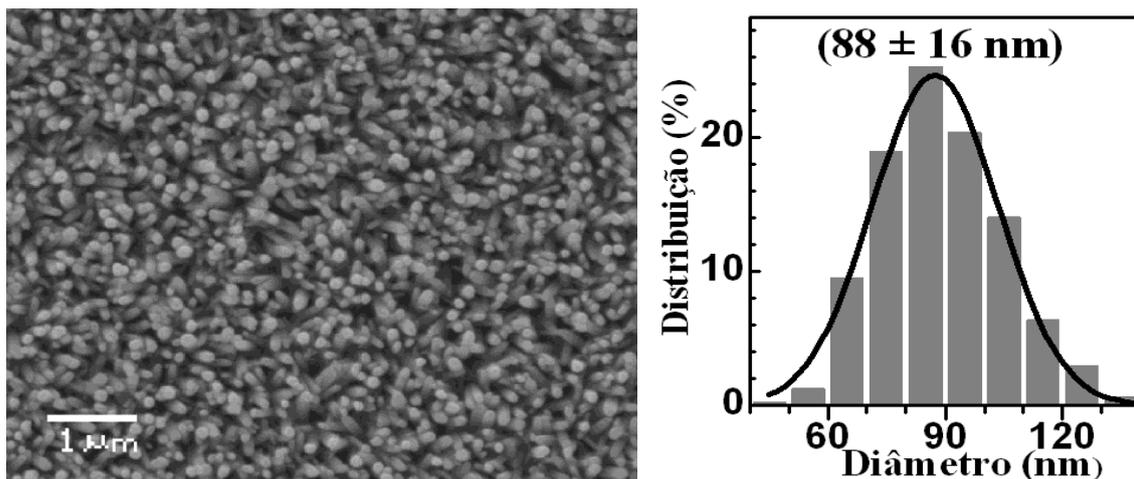


Figura 32. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 1 h, e o histograma correspondente da distribuição do diâmetro das colunas.

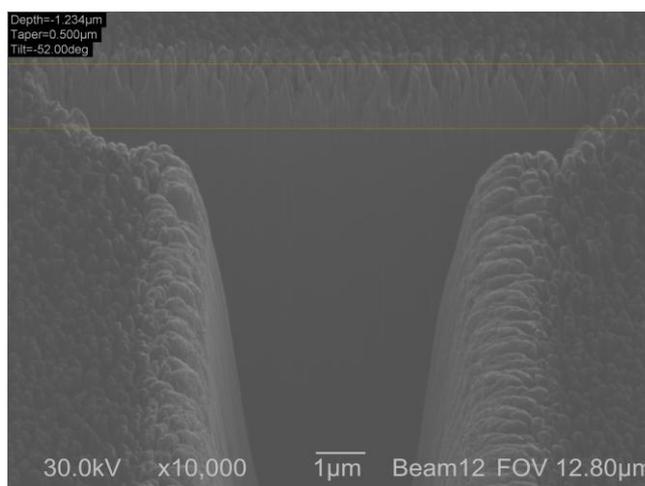


Figura 33. Imagem de FIB da amostra de ZnO/aço depositado por 1 h.

As amostras preparadas nos tempos de 4 h e 6 h de deposição (Figura 34 (a) e (b)) também apresentam morfologia colunar, embora com diâmetros das colunas da ordem de (136 ± 33) nm e (220 ± 38) nm, respectivamente.

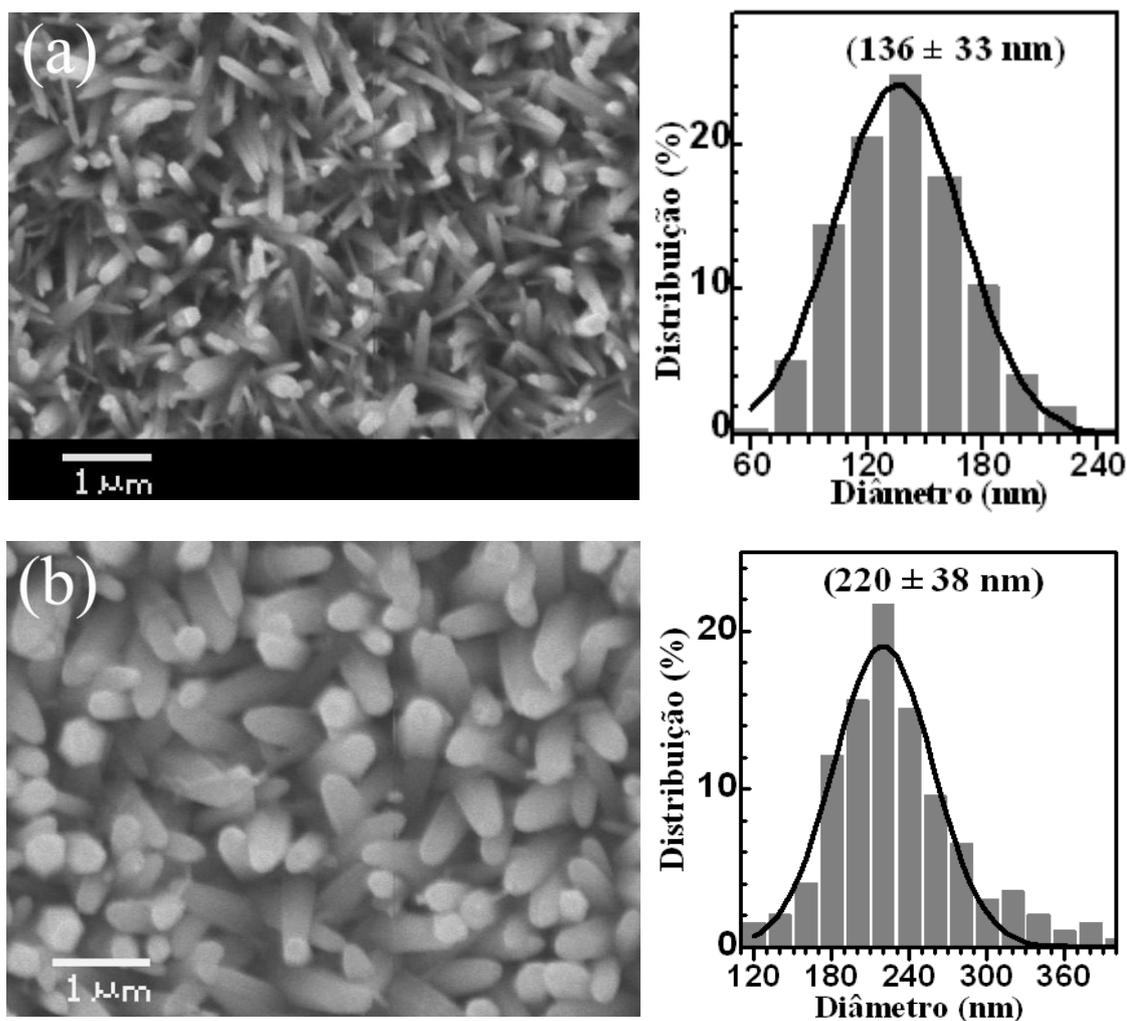


Figura 34. Imagens de MEV dos filmes de ZnO/aço depositados por (a) 4 h e (b) 6 h, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.

Quando o tempo de deposição aumenta para 8 h (Fig. 31), são observadas colunas com menor diâmetro (70 ± 16 nm) e $(1,4 \pm 0,2)$ μm de espessura.

Na Figura 35 é mostrado o gráfico da espessura dos filmes em função do tempo de deposição para deposições com 100 mM de DAP. A espessura do filme passa por um mínimo para um tempo de 4 h.

O tempo de reação altera a morfologia do ZnO influenciando o diâmetro das colunas e a espessura dos filmes. Para os tempos de reação de 1 h a 6 h, o diâmetro médio das colunas aumentou. Entretanto, para o tempo de crescimento de 8 horas, o diâmetro das colunas diminuiu significativamente, o que pode ser atribuído ao efeito de coalescência^[94]. Na síntese de ZnO, vários parâmetros afetam as características de crescimento das estruturas, tais como: a temperatura, o tempo de reação, a concentração dos reagentes e o pH da solução. Estes

parâmetros devem ser bem controlados para se obter estruturas de ZnO com boa orientação cristalina e uniformes ^[95].

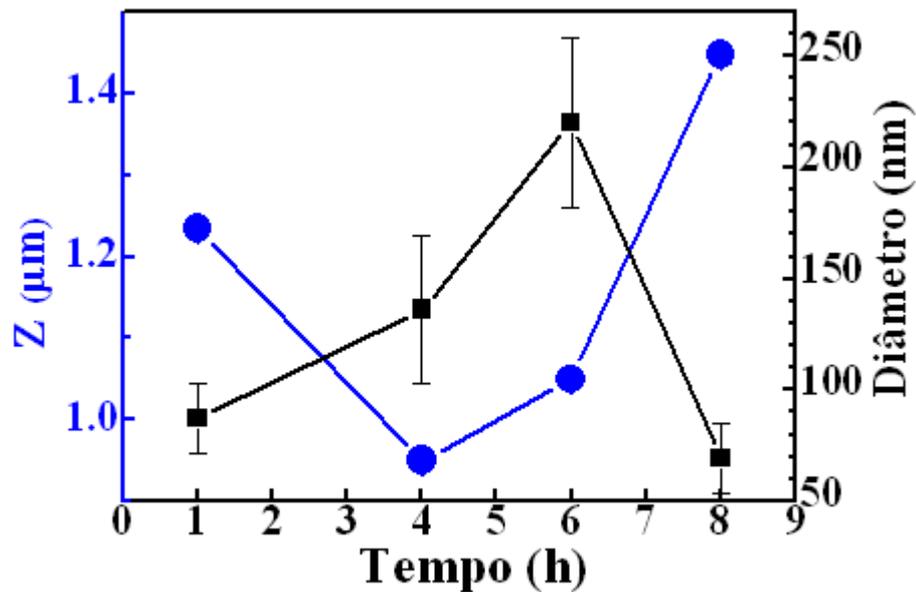


Figura 35. Gráfico da espessura dos filmes e o diâmetro médio versus o tempo de deposição na concentração de 100 mM de DAP.

Para compreender a formação das colunas de ZnO sobre o substrato, é mostrado na Figura 36 um desenho esquemático. Primeiramente, temos as sementes depositadas no substrato que promovem os sítios de nucleação para o crescimento do ZnO (Fig.36 (a)). A rápida dissolução do íon Zn^{2+} na solução aquosa permite o crescimento das estruturas no tempo de 1 h (b).

Quando o tempo de deposição aumenta para 4 h (c) e 6 h (d) ocorre uma diminuição na taxa de crescimento, conseqüentemente as colunas aumentam o diâmetro e diminuem a altura, esta etapa é chamada de recristalização ^[96]. Na etapa de 8 h de deposição ocorre o efeito chamado de coalescência, seguido do crescimento de novas estruturas sobre as coalescidas (crescimento de estruturas secundárias). Na deposição de 1 h, minimizamos os efeitos de coalescência e a formação de superestruturas, obtemos um filme formado de somente colunas.

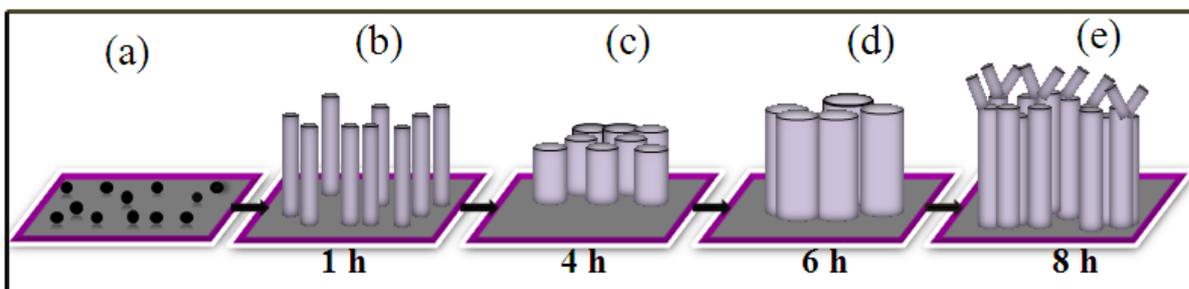


Figura 36. Desenho esquemático da formação e crescimento de colunas de ZnO.

O processo de deposição de ZnO com morfologia colunar envolve três principais etapas: nucleação, amadurecimento (Ostwald ripening) e o efeito de coalescência. Na etapa de nucleação, OH^- reage com Zn^{+2} na solução aquosa para formar colóides de $\text{Zn}(\text{OH})_2$. Quando a concentração de $\text{Zn}(\text{OH})_2$ atinge a supersaturação, os colóides de $\text{Zn}(\text{OH})_2$ precipitam, os quais se decompõem por efeito da temperatura em núcleos de ZnO. O amadurecimento dos núcleos ocorre por automontagem levando ao crescimento das colunas. No efeito de coalescência, duas ou mais colunas aglomeram-se, através de interações eletrostáticas. A presença das colunas com a ponta afinada é atribuída a alta densidade de crescimento e à coalescência das colunas de ZnO [97].

5.1.3 Influência da variação da concentração do Diaminopropano (DAP)

A seguir será apresentado o estudo da variação da concentração de DAP, o agente de crescimento, para o tempo de deposição de 8 horas. Primeiramente, investigamos a amostra preparada sem o DAP na reação (Figura 37 (a)), e observamos que as estruturas obtidas são hexagonais, e ordenadas aleatoriamente sobre a superfície do substrato. Nota-se a menor densidade de nucleação e o maior diâmetro médio das colunas de $\sim (430 \pm 100)$ nm. Para uma baixa concentração de DAP (20 mM) como mostrado na Fig. 37 (b), formou-se uma película homogênea sobre o substrato, que apresenta uma morfologia de pequenos grãos dispersos em toda a superfície do substrato.

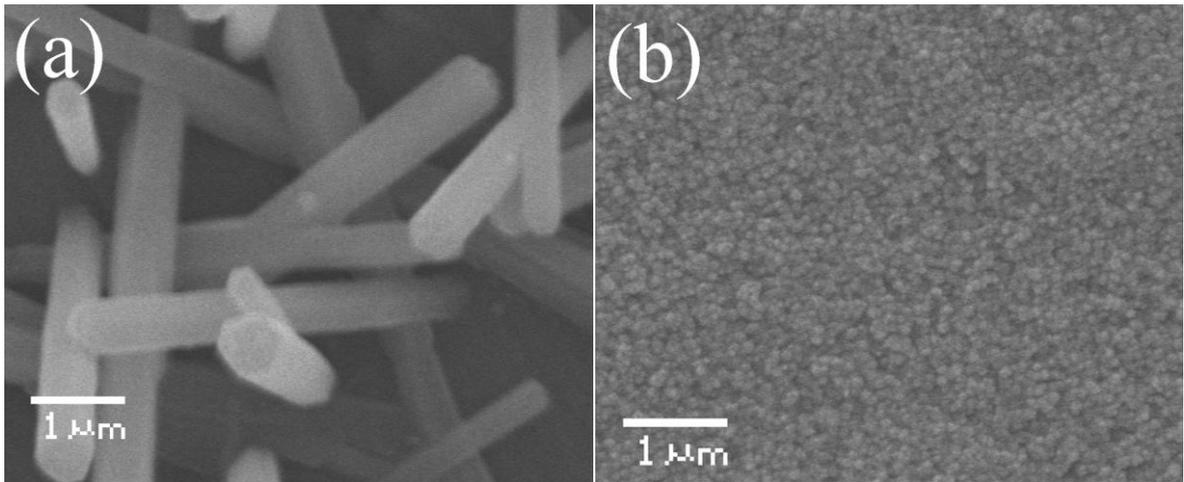


Figura 37. Imagens de MEV dos filmes de ZnO/aço depositado por 8 horas nas concentrações de DAP: (a) 0 mM e (b) 20 mM.

Aumentando-se a concentração do DAP para 30 mM e 75 mM (Fig. 38 e 39), observa-se a formação de um filme com morfologia colunar vertical bem definida. As colunas têm diâmetro médio de (81 ± 17) nm e (83 ± 18) nm, com comprimento de $(0,7 \pm 0,1)$ μm e $(1,2 \pm 0,2)$ μm, respectivamente.

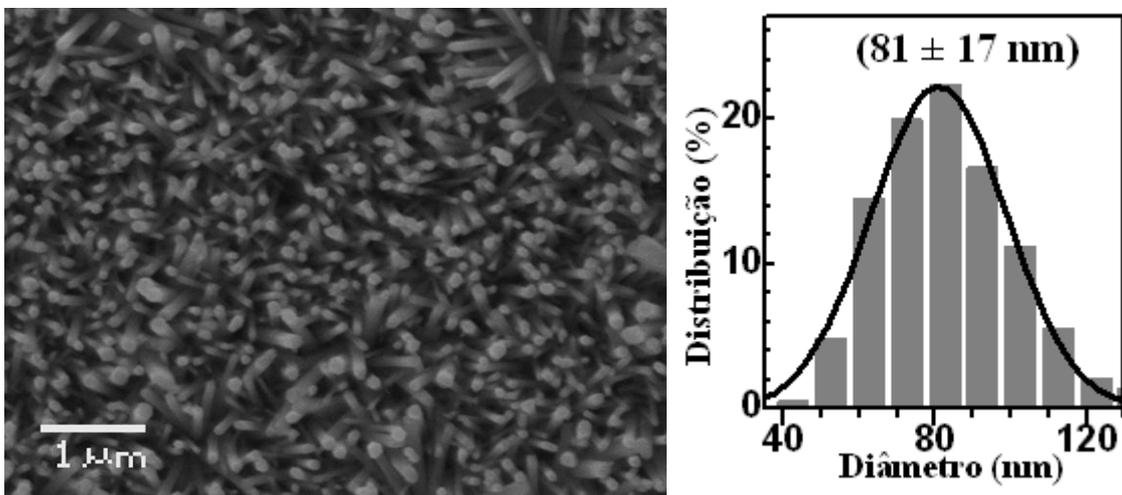


Figura 38. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado durante 8 horas com 30 mM de concentração de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.

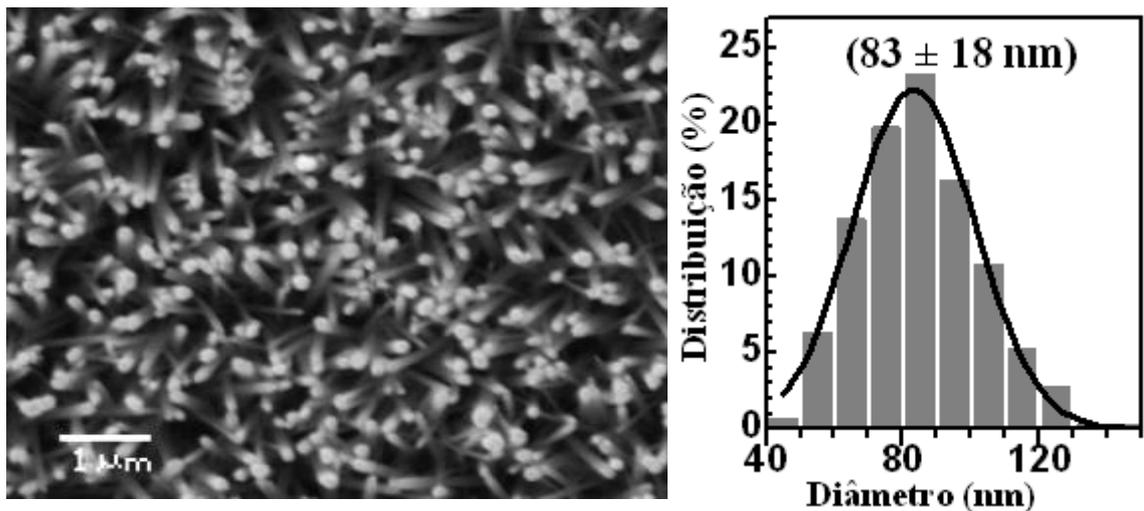


Figura 39. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado durante 8 horas com 75 mM de concentração de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.

Quando a concentração do DAP foi aumentada para 150 mM (Fig. 40) o diâmetro das colunas não alterou significativamente ($73 \pm 14 \text{ nm}$), embora a altura das colunas aumentou para $(2,1 \pm 0,1) \mu\text{m}$. Com a concentração de DAP em 200 mM (Fig. 41), observou-se a formação de filmes com colunas finas ($75 \pm 13 \text{ nm}$) e aumento significativo na espessura do filme, de $(3,5 \pm 0,2) \mu\text{m}$. Na Figura 42 é ilustrada uma imagem de MEV feita da lateral do filme, as colunas crescem perpendicular ao substrato.

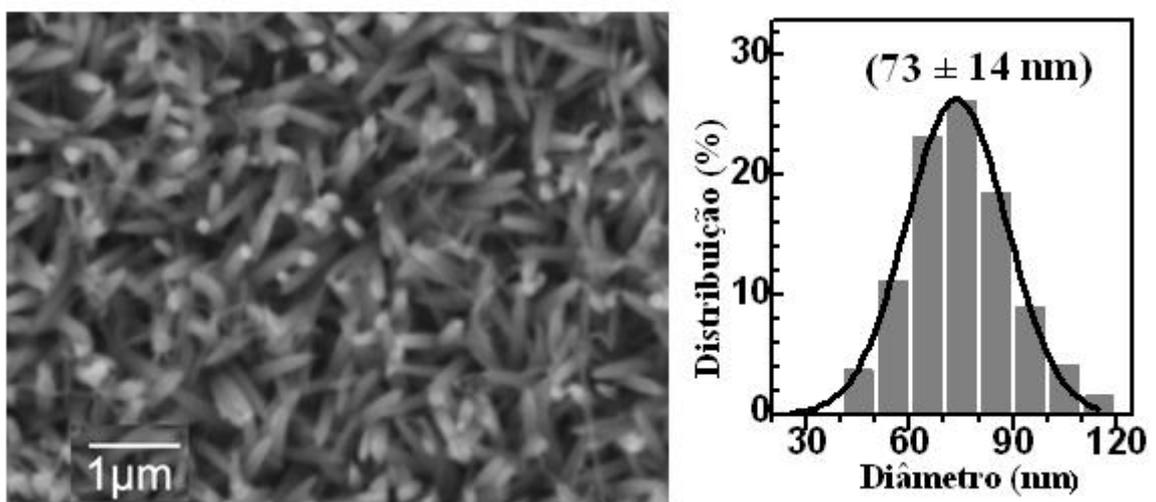


Figura 40. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 8 horas com 150 mM de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.

À medida que se aumenta a concentração de DAP de (20 mM para 200 mM) o pH inicial correspondente aumenta de 8,5 para 11, respectivamente. O aumento da concentração de DAP aumenta a quantidade de OH^- na solução, que por sua vez promove a formação e o crescimento mais rápido do ZnO [44].

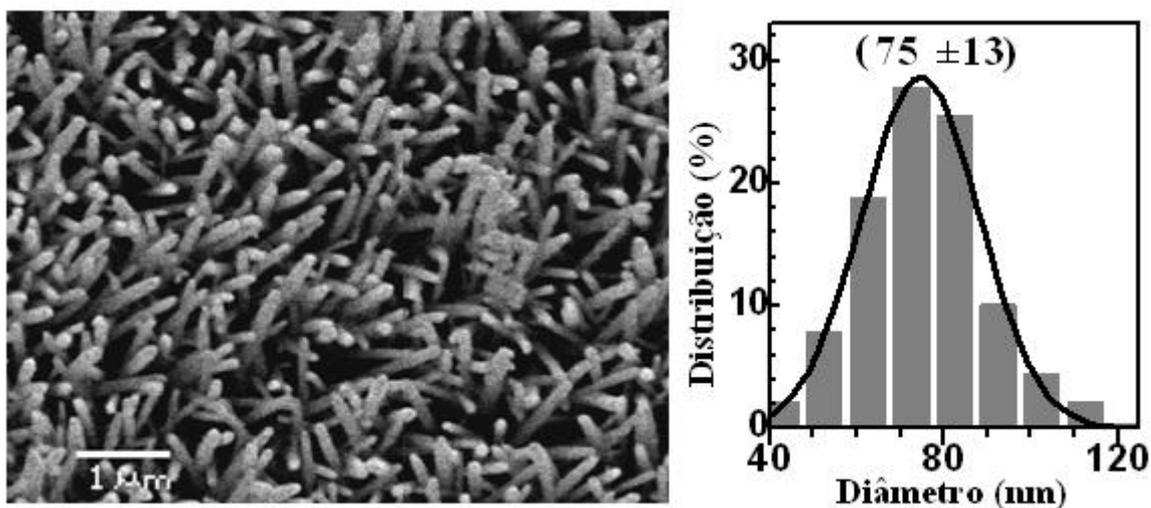


Figura 41. Imagem de MEV do filme de ZnO/aço depositado por 8 horas com 200 mM de DAP, e o histograma da distribuição do diâmetro das colunas.

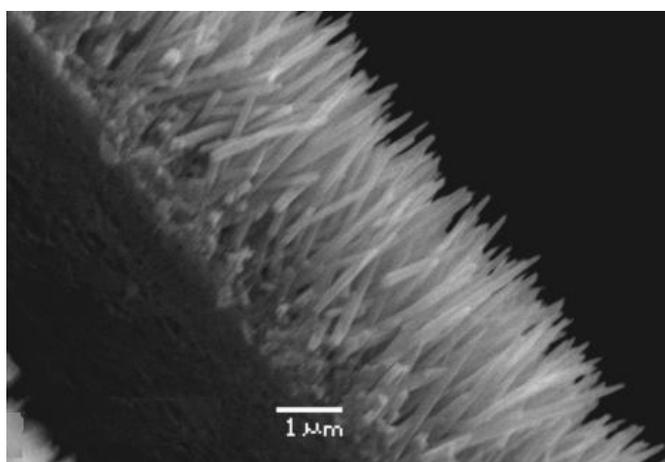


Figura 42. Imagem de MEV da lateral do filme de ZnO/aço depositado com 8 horas e 200 mM de DAP.

A Figura 43 apresenta um gráfico da espessura dos filmes (altura das colunas) e diâmetro das colunas *versus* a concentração de DAP. Observamos que a concentração do reagente DAP na reação influencia diretamente no comprimento das NCs obtidas. A espessura tem um comportamento quase linear. No entanto, o diâmetro das colunas não sofre alterações significativas.

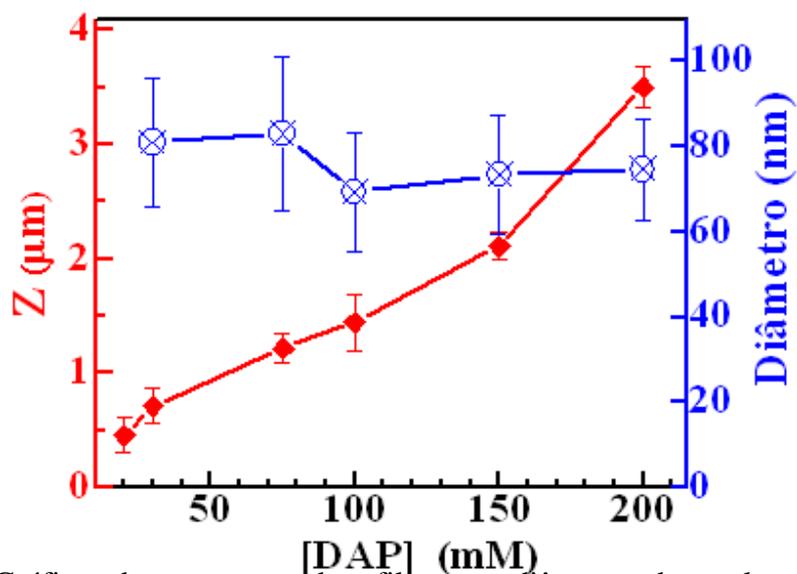


Figura 43. Gráfico da espessura dos filmes e diâmetro das colunas em função da concentração do reagente Diaminopropano (8 h de reação).

A Tabela 3 relata um resumo das amostras e os valores dos diâmetros e comprimento das NCs, especificando o tempo e a concentração do DAP. Podemos observar que a concentração do DAP é um parâmetro crucial para se obter NCs mais longas e alinhadas verticalmente sobre o substrato, embora a sua influência no diâmetro das colunas seja mínima.

Amostra	Tempo (h)	[DAP] mM	Diâmetro (nm)	Comprimento NCs (μm)
ZnO/vidro	8	100	105 ± 21	–
ZnO/cobre	8	100	76 ± 21	–
ZnO/aço	1	100	87,4 ± 16	1,2 ± 0,07
ZnO/aço	4	100	136 ± 33	0,95 ± 0,07
ZnO/aço	6	100	219,9 ± 38	1,04 ± 0,06
ZnO/aço	8	0	430 ± 100	–
ZnO/aço	8	20	–	0,45 ± 0,15
ZnO/aço	8	30	80 ± 17	0,70 ± 0,15
ZnO/aço	8	75	83 ± 18	1,2 ± 0,13
ZnO/aço	8	100	69,4 ± 16	1,4 ± 0,25
ZnO/aço	8	150	73,4 ± 14	2,1 ± 0,12
ZnO/aço	8	200	74,6 ± 13	3,5 ± 0,18

Tabela 3. Resumo das amostras e os parâmetros de deposição para os filmes de ZnO.

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e a HRTEM (Microscopia Eletrônica de Alta Resolução) contribuiu para explorar a morfologia, a orientação cristalina, e a distância entre os planos atômicos das NCs de ZnO. Na Figura 44 (a) é apresentada a imagem de MET de uma única nanocoluna de ZnO preparada com 100 mM de DAP, no tempo de deposição de 1 hora. A coluna tem a base inferior levemente mais larga do que a parte superior. A imagem de HRTEM (Fig. 44 (b)) exibe os espaçamentos atômicos bem definidos da nanocoluna. Para o filme de ZnO, o espaçamento de rede d entre duas franjas é de $\sim 0,52$ nm e corresponde ao plano cristalino (0001) da fase hexagonal do ZnO. O padrão de difração obtido através da Transformada de Fourier (TF) é ilustrado na inserção da Fig. 44 (b) e confirmou a fase hexagonal de ZnO das NCs obtidas neste trabalho.

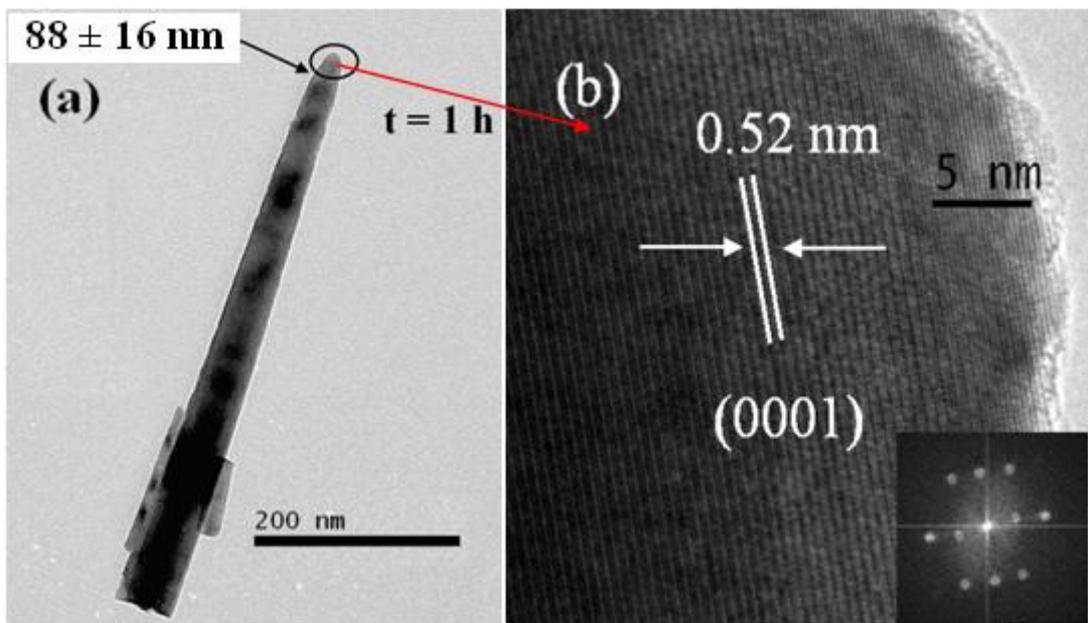


Figura 44. Imagem MET de uma única nanocoluna de ZnO/aço com 1 hora de deposição na concentração de 100 mM de DAP e (b) HRTEM.

Na Figura 45 (a) e (b) são apresentadas as imagens de MET para os filmes de ZnO preparados com 30 mM e 200 mM de DAP, respectivamente, e 8 h de deposição. As colunas possuem as mesmas características, porém com a concentração de 200 mM DAP as colunas são mais longas. A imagem de HRTEM no caso de 200 mM de DAP (Fig. 46 (a)) revela claramente os planos atômicos e o espaçamento de rede $d \sim 0,29$ nm, correspondente ao plano de orientação (0001). O crescimento alinhado das nanoestruturas de ZnO é provavelmente devido a influência das moléculas de DAP e à presença da camada-semente de cristalitos de acetato de zinco no substrato ^[95].

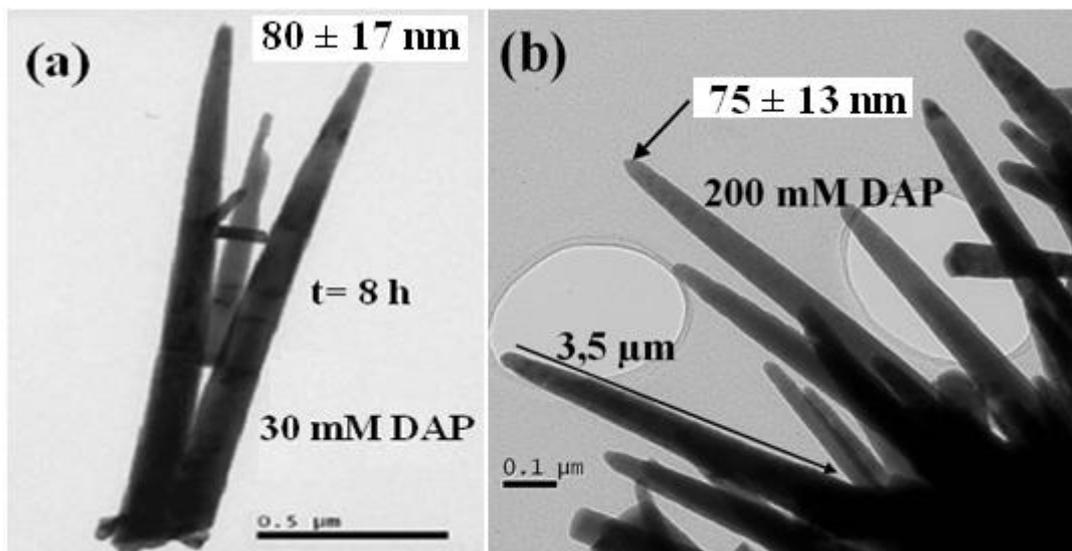


Figura 45. Imagem MET das nanocolunas de ZnO/aço: (a) ZnO com 8 horas de deposição na concentração de 30 mM e (b) 200 mM de DAP.

A análise por EDS (do inglês *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*) na Figura 46 (b) e (c), referente aos filmes de ZnO depositados por 1 e 8 h, respectivamente, revelou a presença de Zn e O nas NCs. Os sinais do cobre e carbono são provenientes da grade de microscopia e contaminantes. A presença de silício provém do detector.

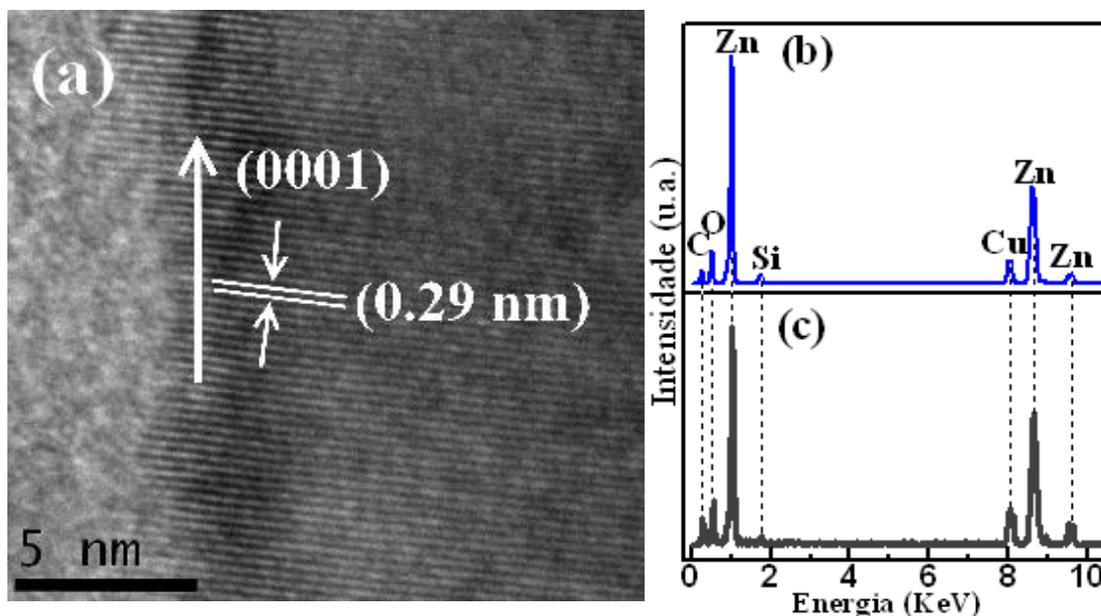


Figura 46. (a) HRTEM e (b) EDS do filme ZnO/aço com 8 h de deposição na concentração de 200 mM de DAP. (c) EDS do filme preparado com 100 mM de DAP e 1 h de deposição.

Assim, através do controle dos parâmetros de deposição (tempo, tipo de substrato, concentração dos reagentes), conseguimos crescer filmes de ZnO com morfologia colunar e com diâmetros abaixo de 100 nm (nanocolunas), ou seja, um filme nanoestruturado de ZnO.

Podemos também controlar a espessura dos filmes através da concentração do agente de crescimento (DAP).

5.2 Difração de Raios X (DRX)

A influência do tipo de substrato utilizado na deposição de ZnO foi analisado por DRX. Na Figura 47 (a) é apresentado o difratograma da amostra de ZnO padrão (Riedel-de Haën), onde os principais planos cristalinos foram todos indexados a uma estrutura hexagonal do ZnO (JCPDF 36.1451). Os difratogramas das amostras de ZnO/aço, ZnO/cobre e ZnO/vidro crescidas com o tempo de deposição de 8 horas, é ilustrada na Fig. 47 (b), (c) e (d), respectivamente. Os planos cristalinos indexados são referentes à estrutura hexagonal do ZnO. Para qualquer substrato utilizado notamos que a intensidade relativa majoritária está no plano (0001). O filme de ZnO crescido sobre o aço inox é o que menos apresenta contribuição dos planos (1010) e (1011). Portanto, as colunas de ZnO têm orientação preferencial na direção do plano (0001), como mostra o pico predominante nos difratogramas.

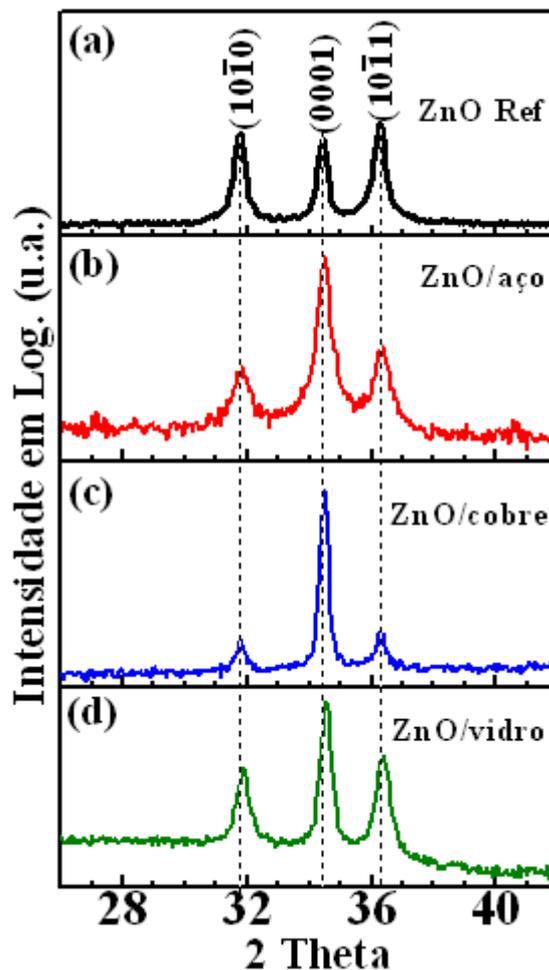


Figura 47. Difratogramas das amostras crescidas com 8 horas de deposição e 100 mM de

DAP: (a) amostra de ZnO padrão, (b) amostra de ZnO/aço, (c) ZnO/cobre e (d) ZnO/vidro.

O tempo de deposição também foi um parâmetro relevante para avaliar a estrutura cristalina dos filmes de ZnO. As amostras de ZnO/aço com tempo de deposição de 1 hora e 8 horas (Fig. 48 (a) e (b), respectivamente) também apresentam os planos cristalinos referentes ao ZnO, com a intensidade relativa majoritária no plano (0001), indicando que os filmes estão altamente orientados nesta direção.

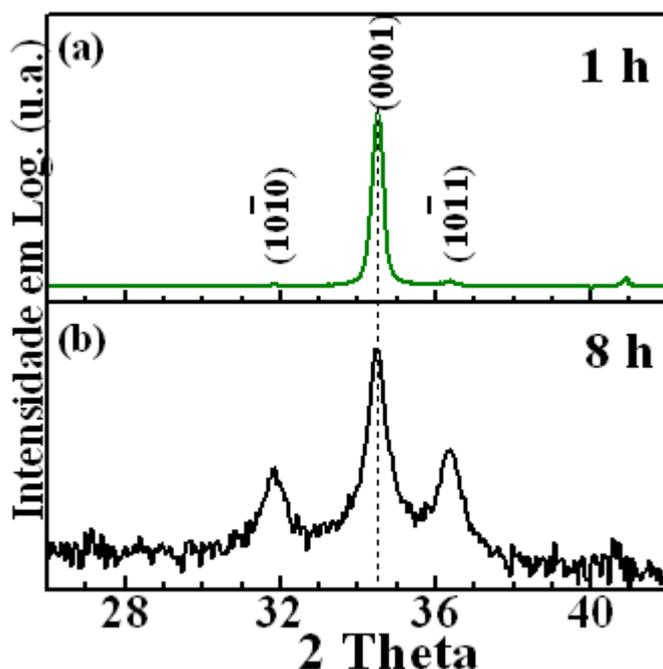


Figura 48. Difratogramas dos filmes de ZnO/aço preparados com 100 mM de DAP e (a) 1 h de deposição, e (b) 8 h de deposição.

Também foi realizado um estudo sobre a influência da variação da concentração do DAP na estrutura cristalina das colunas de ZnO. Na Figura 49 (a) e (b) estão representados os difratogramas das amostras de ZnO/aço com a concentração de 200 mM DAP e 100 mM de DAP. Podemos observar os planos cristalinos do ZnO. Para as amostras de ZnO/aço preparadas com 30 mM e 20 mM de diaminopropano (Fig. 49 (c) e (d)), são observados os três principais picos referentes a fase hexagonal do ZnO com baixa intensidade. Observamos que a intensidade do pico de difração (0001) é relativamente maior, que ilustra a orientação preferencial neste eixo. Pode-se observar que os picos têm baixas intensidades relativas quando a concentração do diaminopropano é baixa. Isto é atribuído à menor espessura dos filmes obtidos nestas condições. Na ausência de DAP (Fig. 49 (e)) o pico referente ao plano

(0001) é menos intenso do que os planos (1010) e (1011). As intensidades dos planos são similares ao ZnO padrão, indicando que a amostra é composta de estruturas massivas.

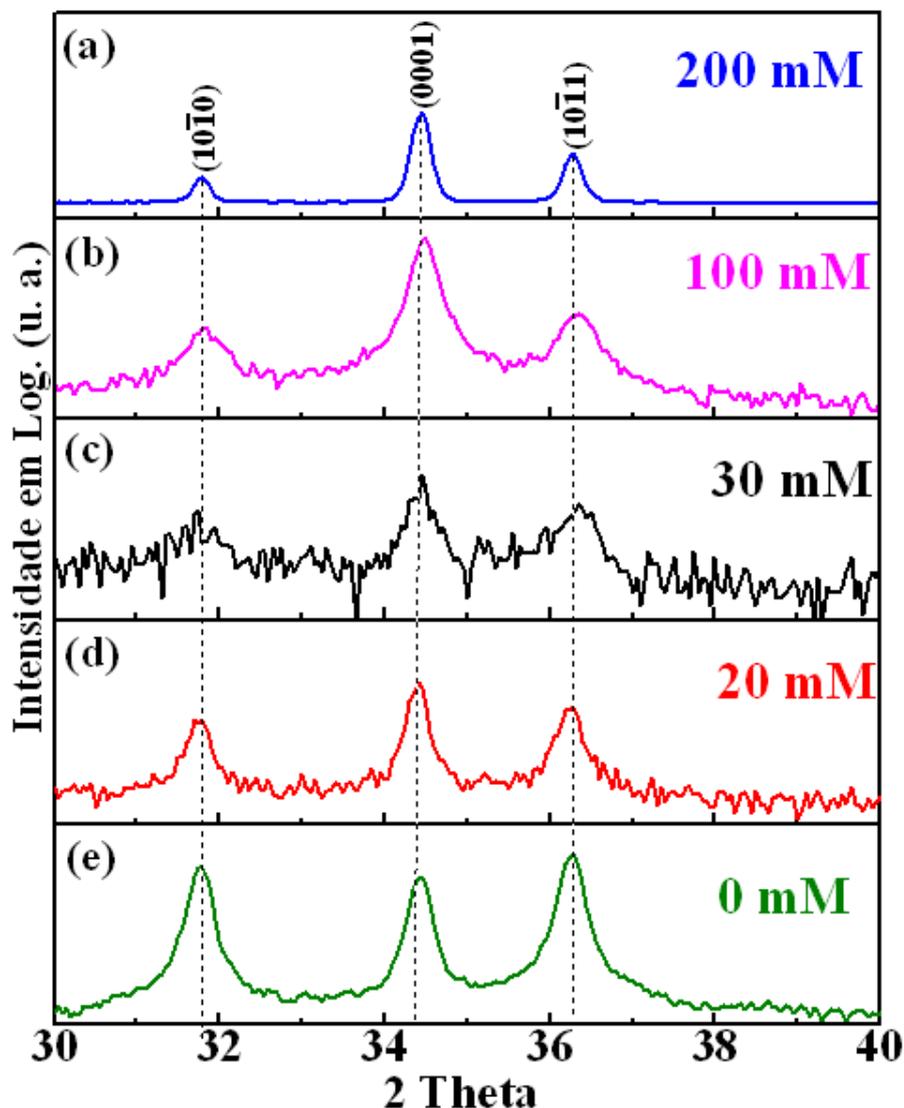


Figura 49. Difratomogramas das amostras de ZnO/aço preparadas com tempo deposição de 8 h, em diferentes concentrações de diaminopropano: (a) 200 mM, (b) 100 mM, (c) 30 mM, (d) 20 mM e (e) 0 mM.

Com os padrões de difratogramas dessas amostras foi possível calcular o tamanho dos cristalitos de ZnO através da equação de Scherrer, escrita por:

$$D = \frac{B\lambda}{\beta \cos \theta}$$

Onde: D é o tamanho médio das partículas; B é a constante que depende da forma das partículas (se esféricas = 0,94); λ é o comprimento de onda da radiação eletromagnética; θ é o ângulo de difração e β é a largura na metade da altura do pico de difração. Para estes

cálculos foi utilizada a posição e largura do pico referente ao plano (0001) de cada amostra.

Neste trabalho também calculamos os parâmetros de rede e a tensão da rede (ϵ_{zz}) cristalina para os filmes de ZnO. A tensão da rede é calculada pela seguinte equação:

$$\epsilon_{zz} = (c - c_0)/c_0 \times 100\%$$

C é o parâmetro de rede da amostra de ZnO e C_0 é o parâmetro de rede do ZnO padrão. Os valores calculados estão informados na Tabela 4.

Os parâmetros de rede a e c para o ZnO padrão foram encontrados 3,248 Å e 5,203 Å, respectivamente. Esses valores são muito próximos dos valores conhecidos para amostras massivas (“bulk”) informados na literatura ($a = 3,249$ Å e $c = 5,206$ Å)^[8].

Amostra	Parâmetro c (Å)	Parâmetro a (Å)	Tamanho cristalito (nm)	ϵ_{zz} (%)
ZnO padrão	5,203	3,248	85,8	-
ZnO/aço_8h_0mMDAP	5,204	3,248	85,8	0,0192
ZnO/aço_8h_20mMDAP	5,210	3,248	60,7	0,13
ZnO/aço_8h_30mMDAP	5,206	3,238	51	0,057
ZnO/aço_8h_100mMDAP	5,198	3,242	64	-0,096
ZnO/aço_8h_200mMDAP	5,201	3,248	84,9	-0,038
ZnO/aço_1h_100mMDAP	5,194	3,242	83,7	-0,17
ZnO/vidro_8h_100mMDAP	5,189	3,238	59	-0,27
ZnO/cobre_8h_100mMDAP	5,198	3,243	81,6	-0,096

Tabela 4. Parâmetros de rede, tamanho dos cristalitos e a tensão da rede cristalina calculado para os filmes de ZnO.

O filme de ZnO preparado sobre o substrato de vidro apresenta os parâmetros de rede com menores valores ($a = 3,238$ Å e $c = 5,189$ Å), se comparado com as amostras depositadas sobre o cobre e o aço inox com os mesmos tempo de deposição e concentração de DAP.

O filme depositado sem a presença de DAP possui os parâmetros de rede e tamanho de cristais similares ao do ZnO padrão. Os filmes de ZnO com as concentrações de DAP em 20 mM, 30 mM, 100 mM e 200 mM apresentam um pequeno aumento no diâmetro das

estruturas de 60,7 nm para 84,9 nm, à medida que a concentração do DAP aumenta. Porém, os filmes de ZnO produzidos com DAP nas concentrações de 20 mM e 30 mM possuem uma tensão de rede positiva, indicando que a rede cristalina do ZnO está tensionada. Enquanto que, para maiores concentrações de DAP, os filmes possuem uma tensão de rede negativa, e a rede cristalina está comprimida. A tensão da rede cristalina é inversamente proporcional ao tamanho do grão, quanto menor for a tensão da rede, maior é o tamanho das estruturas ^[97].

5.3 Fotoluminescência

Os espectros de PL dos filmes de ZnO preparados com 100 mM de DAP e nos tempos de 1 h e 8 horas são mostrados na Figura 50. As amostras apresentam um comportamento semelhante. O pico intenso em aproximadamente 397,5 nm é atribuído às transições eletrônicas que ocorrem entre a banda de valência com a banda de condução, também chamado de recombinação de éxcitons. Os picos presentes em aproximadamente 450 e 470 nm são provenientes de emissões da lâmpada de Xenônio utilizada no equipamento. A luminescência na região do verde (532 nm) é causada pela presença de vacâncias de oxigênio na superfície dos filmes de ZnO ^[8].

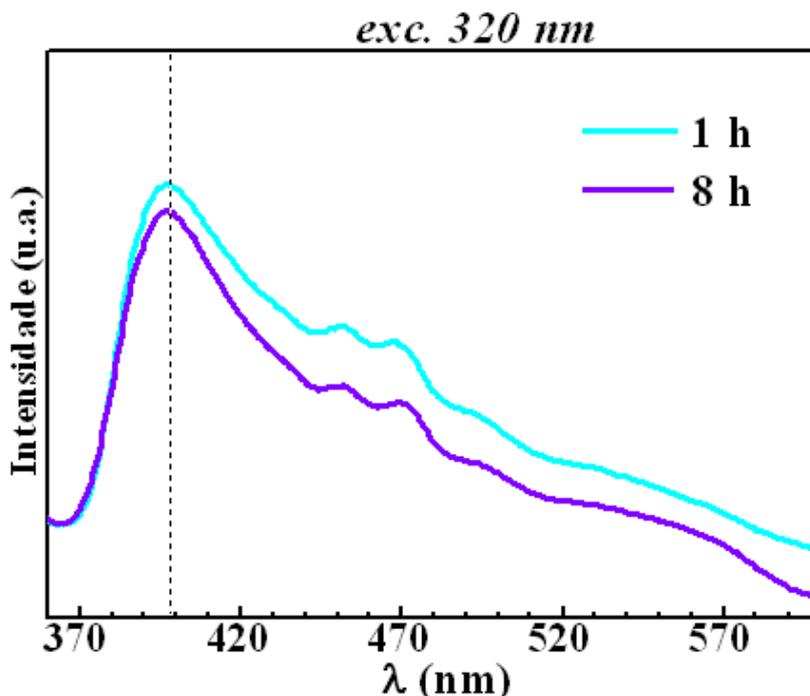


Figura 50. Espectro de Fotoluminescência dos filmes de ZnO preparados com tempos de deposição de 1 h e 8 horas, e com a concentração de DAP de 100 mM.

Também foi estudada a influência da variação da concentração do DAP nos filmes de

ZnO na fotoluminescência. Os filmes preparados com 20 mM e 30 mM de DAP (Fig. 51 (e) e (d)) possuem um pico intenso localizado em ~ 383 nm, o que se refere a recombinação de éxcitons e ao longo do espectro não se observa emissão em outras regiões. Quando a concentração do DAP foi aumentada para 75 mM a posição do pico atribuído às transições eletrônicas entre a banda de valência e a banda de condução deslocou-se para 395 nm (Fig. 51 (c)). Enquanto que, em 150 mM e 200 mM de DAP (Fig. 51 (b) e (a)) a posição do pico está localizada em 401 nm.

As amostras preparadas com 75 mM, 100 mM e 200 mM de DAP também apresentam a luminescência na região da emissão verde (490 a 550 nm), provavelmente são contribuições de defeitos na superfície do filme, atribuídos a vacâncias de oxigênio.

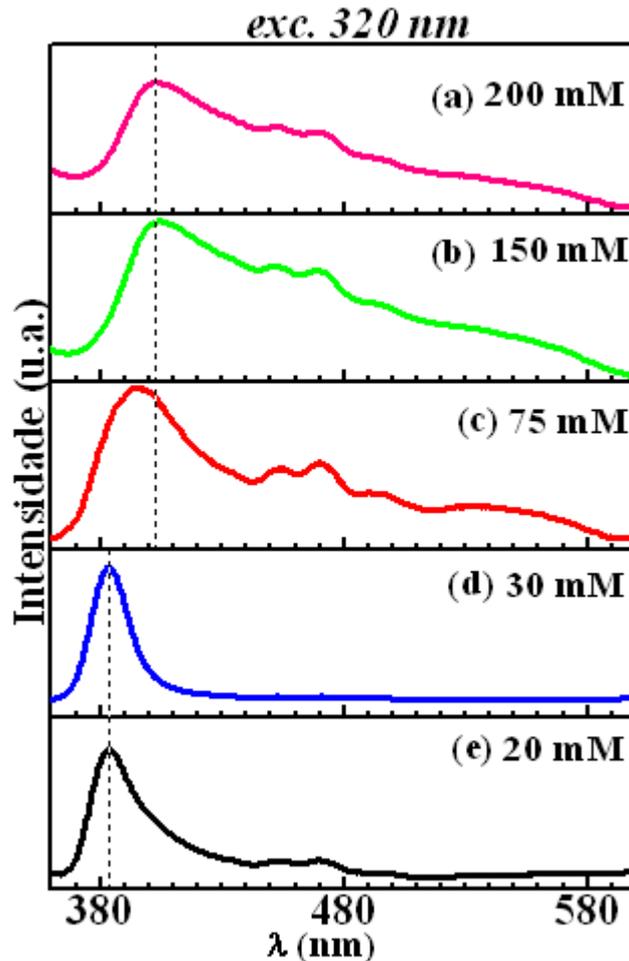


Figura 51. Espectro de Fotoluminescência dos filmes de ZnO/aço preparados com 8 h de deposição e várias concentrações de DAP: (a) 200 mM, (b) 150 mM, (c) 75 mM, (d) 30 mM e (e) 20 mM.

A partir da posição do pico referente à combinação de éxcitons, foi calculada a banda de energia proibida (E_g) para cada amostra (Tabela 5). Os filmes com 20 mM e 30 mM de DAP possuem uma banda de energia proibida em 3,23 eV, enquanto que para 75 mM e 100

mM é de 3,13 eV e 3,11 eV, respectivamente. E os filmes com 150 mM e 200 mM de DAP possuem uma E_g de 3,09 eV. Essas pequenas diferenças nos valores da E_g , podem estar relacionadas com a tensão da rede cristalina, calculados pelos dados de DRX. Para baixas concentrações de DAP, a rede cristalina está tensionada (tensão positiva), e em concentrações mais altas, a rede está comprimida (tensão negativa). Os valores de E_g obtidos foram próximos ao valor teórico (3,37 eV) citado na literatura.

[DAP] mM	E_g (eV)
20	3,23
30	3,23
100	3,11
200	3,09

Tabela 5. Valores de E_g para os filmes de ZnO/aço preparado nas concentrações de 20 mM, 30 mM, 100 mM e 200 mM de DAP.

Na Figura 52 é mostrado um gráfico da energia proibida E_g em função da tensão de rede calculada para os filmes. À medida que, a concentração do DAP foi aumentando a rede cristalina dos filmes de ZnO foi se comprimindo e alterando levemente o valor do E_g .

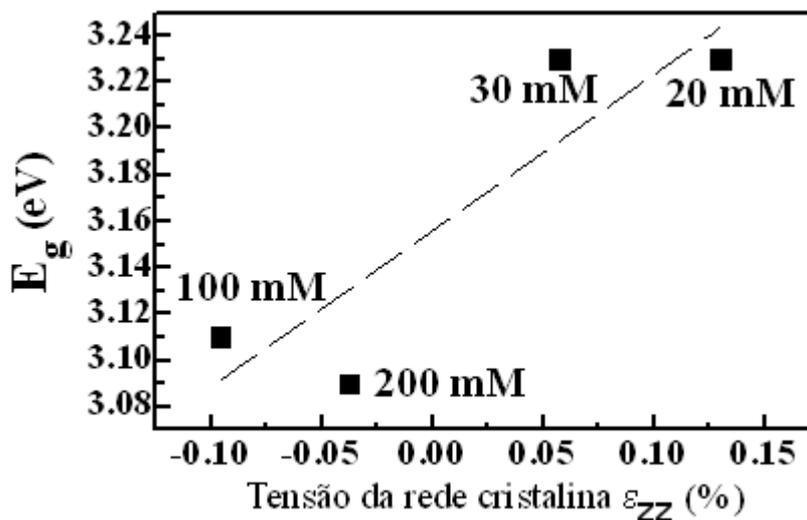


Figura 52. Gráfico da energia proibida em função da tensão da rede cristalina para as amostras preparadas com 20, 30, 100 e 200 mM de DAP.

5.4 Espectroscopia de Fotoelétrons induzidos por Raios X (XPS)

Nas medidas por XPS, primeiramente foram obtidos espectros de ampla varredura

das amostras para verificar os principais elementos químicos presentes na superfície. Na Figura 53 é apresentado o espectro de XPS (*wide scan*) correspondente ao filme de ZnO depositado sobre aço por 8 horas e 100 mM de DAP. São observados picos dos fotoelétrons dos níveis Zn 2p, O 1s, N 1s e o C 1s, também aparecem picos de transições Auger.

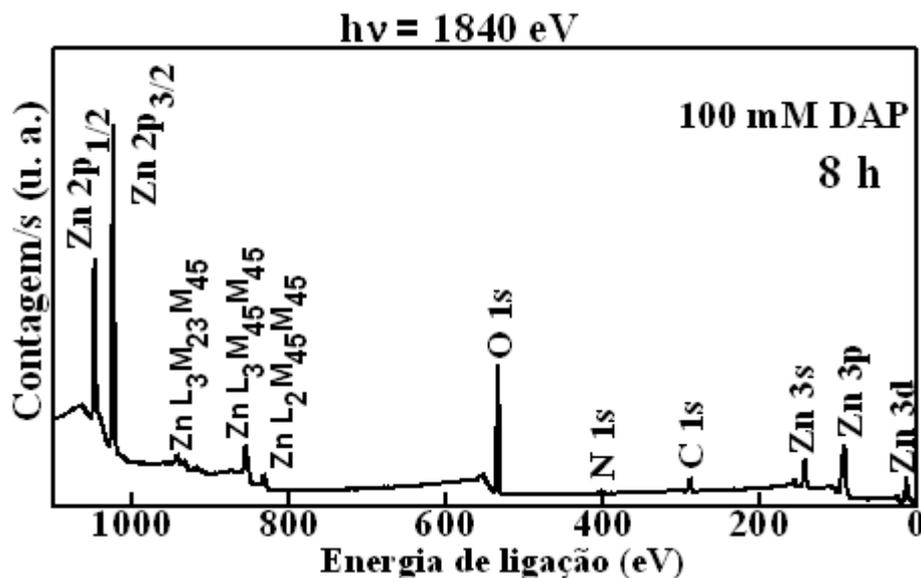


Figura 53. Espectro de XPS, varredura ampla, da amostra de ZnO/aço depositado por 8 h e com a concentração de DAP de 100 mM.

A região do Zn 2p (Fig. 54 (a)) da amostra de ZnO padrão foi ajustada com suas diferentes componentes, a saber: Zn 2p_{3/2} com energia de ligação de 1021,3 eV. O filme de ZnO depositado sobre aço por 1 hora tem energia de ligação em 1021,6 eV (Fig. 54 (c)). Podemos associar ambos os valores de E_b à ligações Zn-O, características do ZnO. A região do O 1s da amostra de ZnO padrão tem três componentes bem distintas, uma delas com energia de ligação em 532 eV, a outra em 531 eV e a terceira em 529,7 eV (Fig. 54 (b)). As componentes do O 1s para o filme de ZnO depositado por 1 h sobre aço apresentam energias de ligação muito semelhantes as do ZnO padrão. O pico do O 1s foi deconvoluído em três componentes, com energias de ligação em 531,7 eV, 530,7 eV e 529,7 eV, conforme apresentado na Figura 55 (d). De acordo com a literatura, a componente em maior energia é associada a ligações O-H, e está relacionada com moléculas de água adsorvidas na superfície de ZnO. As componentes presentes em 531 eV e 530,7 eV são devido a vacâncias de oxigênio na matriz de ZnO. A componente de menor energia corresponde aos átomos de oxigênio ligados ao Zn no ZnO [98-99].

Ao compararmos a região do O 1s da amostra de ZnO/aço (1 h) com o ZnO padrão observamos que há pequenas diferenças em energia entre as componentes referente a

vacâncias de O e (O-Zn). Enquanto que, para a região do Zn ocorreu uma diminuição de 0,3 eV. Estas diferenças em energia podem estar relacionadas com a morfologia das amostras, pois a amostra de ZnO/aço é composta de nanocolunas bem orientadas, com diâmetro médio de aproximadamente 80 ± 16 nm, e a amostra de ZnO padrão consiste de micropartículas.

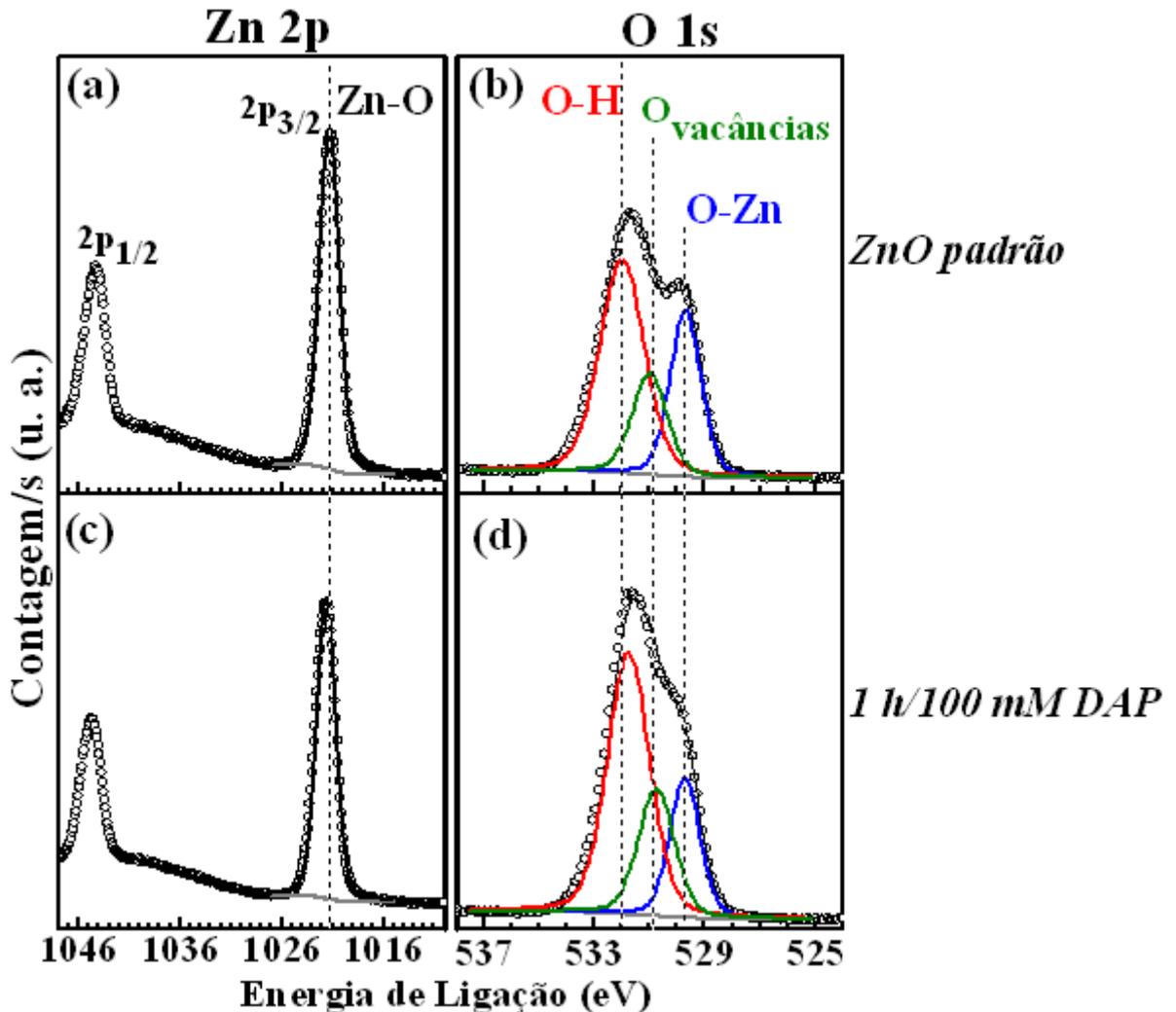


Figura 54. Espectros de XPS da amostra ZnO padrão na região do Zn 2p (a) e O 1s (b). Em (c) e (d) para a amostra de ZnO/aço por 1 h de deposição com a concentração de 100 mM de DAP.

Para as amostras de ZnO/aço preparada com tempo de deposição de 8 horas e na concentração de 100 mM e 200 mM de DAP (Fig. 55 (a) e (c)), o Zn 2p_{3/2} tem energia de ligação de 1021,6 eV. A região do O 1s também apresenta três componentes com energias de ligação de 531,7 eV, referente a ligação a O-H na superfície do filme. A componente que pertence as vacâncias de oxigênio tem a energia de ligação em 530,7 eV, e as ligações do O-Zn em 529,7 eV.

Na Figura 56 é mostrado a região do N 1s para a amostra de ZnO/aço (8 h) preparada

com 200 mM de DAP . O pico foi deconvolvido em duas componentes, com valores de E_b em 398, 5 eV e 399, 7 eV são associados as ligações do grupo amina e imina ^[100] .

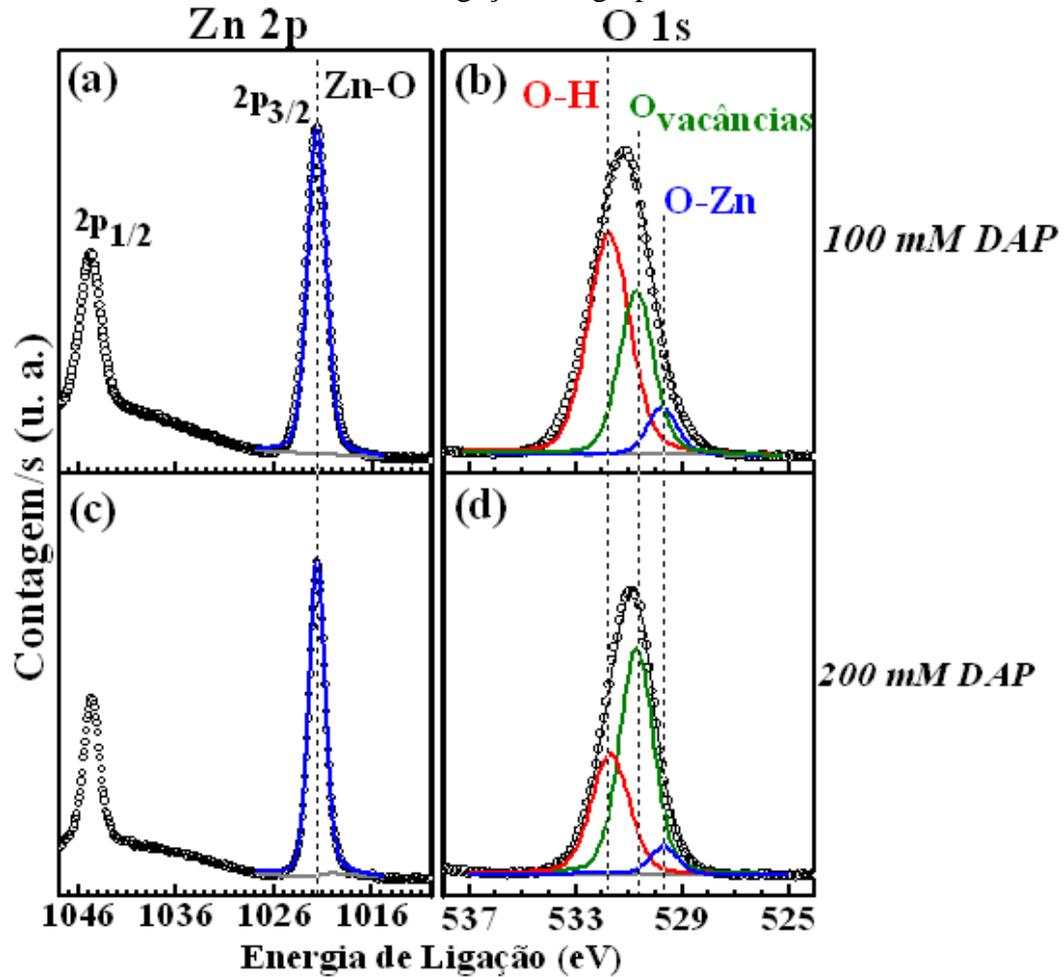


Figura 55. Espectros de XPS da amostra ZnO/aço depositada por 8 h e com 100 mM de DAP na região do (a) Zn 2p e (b) O 1s. Em (c) e (d) são mostrados os espectros para a amostra de ZnO/aço com 200 mM de DAP e 8 h de deposição.

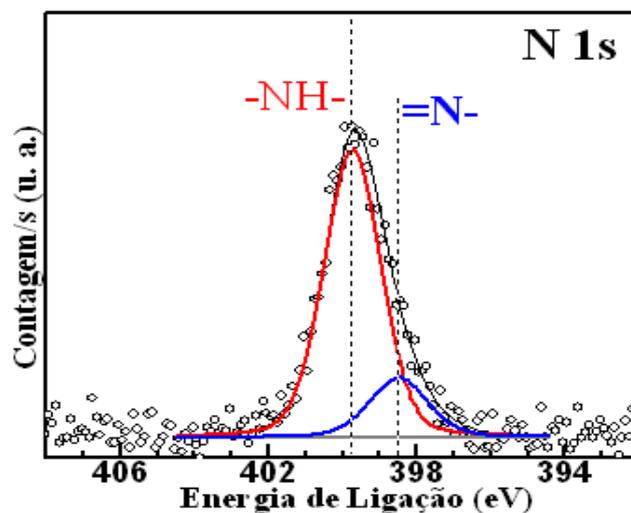


Figura 56. Espectro de XPS da região de N 1s da amostra de ZnO/aço (8 h) preparada com 200 mM de DAP.

Os valores das posições em energia e a largura meia altura dos picos de XPS, para a região do Zn 2p_{3/2}, O 1s e o N 1s das amostras preparadas neste trabalho e o ZnO padrão estão listados na Tabela 6. A região do Zn 2p_{3/2} para o filme preparado com 0 e 30 mM de DAP tem as energias de ligação em 1021,1 eV e 1021,6 eV. As diferenças em energia podem estar associadas com a morfologia das amostras, pois o filme preparado com 0 mM de DAP é formado de colunas micrométricas distribuídas aleatoriamente sobre o substrato. Podemos observar que com o aumento da concentração do DAP, maior é a razão entre a área da componente relacionada as vacâncias de oxigênio no O 1s e a área total pico Zn 2p_{3/2}.

Amostra	Área Zn 2p _{3/2} (eV)	FW HM (eV)	Área O 1s (eV)	FW HM (eV)	N 1s FW HM (eV)	Área O _{vacância} /Zn 2p _{3/2}
ZnO padrão	1021,3 (121300)	2,3	532 (26940) 531 (10150) 529,7 (14650)	1,9 1,5 1,3	-	0,08
ZnO/aço 0 mM DAP (8h)	1021,2 (241800)	2,1	531,7 (29000) 530,7 (40730) 529,7 (26240)	1,8 1,5 1,3	398,5 (1,9) 399,7 (1,8)	0,16
ZnO/aço 30 mM DAP (8h)	1021,6 (35900)	2,2	531,7 (23000) 530,7 (5500) 529,7 (5000)	1,8 1,5 1,3	-	0,15
ZnO/aço 100 mM DAP (8h)	1021,6 (89950)	2,2	531,7 (45200) 530,7 (27500) 529,7 (6900)	1,8 1,5 1,3	398,5 (1,9) 399,7 (1,8)	0,30
ZnO/aço 200 mM DAP (8h)	1021,6 (43000)	2,1	531,7 (8200) 530,7 (13685) 529,7 (1490)	1,7 1,5 1,3	398,5 (1,9) 399,7 (1,8)	0,31
ZnO/aço 100 mM DAP (1h)	1021,6 (167000)	2,2	531,7 (49800) 530,7 (19000) 529,7 (18500)	1,8 1,5 1,3	398,5 (1,9) 399,8 (1,8)	0,11

Tabela 6. Análises de XPS para os filmes de ZnO/aço depositado por 1 h e 8 h nas concentrações de DAP: 0 mM, 30 mM, 100 mM e 200 mM e o ZnO padrão.

5.5 Formação de ZnO: estudos *in situ* e *ex situ*

Neste trabalho foram realizados estudos *in situ* da formação de nanoestruturas de ZnO sobre o substrato grafite utilizando a técnica de XAS. As estruturas formadas de ZnO também foram caracterizadas *ex situ* pelas técnicas DRX, MEV e XPS.

5.5.1 Espectroscopia XAS *in situ* e *ex situ*

A técnica XAS permitiu seguir a evolução do entorno químico do Zn^{2+} durante a reação a partir da mistura dos reagentes, e posterior aquecimento em uma célula reacional.

A comparação dos espectros de XANES obtidos na borda K do Zn para as soluções de acetato de zinco, acetato de zinco com HMT e acetato de Zn com HMT e diferentes quantidades de DAP (20 mM, 100 mM e 200 mM) é mostrada na Figura 57.

O espectro da solução aquosa de acetato de zinco (curva preta) apresenta uma borda de absorção bastante intensa, e que corresponde à transição eletrônica $1s \rightarrow 4p$. A alta intensidade desta transição é uma indicação de que o Zn^{2+} está em um sítio octaédrico (O_h)^[101]. Desta forma, o íon Zn^{2+} se encontra na solução coordenado por moléculas de água, ou seja, na forma $[Zn(OH_2)_6]^{2+}$. O espectro correspondente à mistura de acetato de zinco com HMT (curva vermelha) é idêntico ao da solução de acetato de zinco puro, sugerindo que não existe nenhuma interação química entre essas duas espécies. No entanto, quando 20 mM de DAP é adicionada a essa mistura as mudanças observadas no espectro são pequenas em relação ao espectro da solução de acetato de Zn com HMT. Porém, com DAP nas concentrações de 100 mM e 200 mM ocorre a coordenação do DAP com o Zn^{2+} . Isto pode ser constatado pela diminuição na intensidade da transição $1s \rightarrow 4p$ (curva azul e marrom), que indica uma mudança da simetria do Zn^{2+} . Foi demonstrado por Garcia^[102] que a intensidade desta transição diminui com a diminuição do número de coordenação do cátion. As modificações observadas são uma indicação de que o Zn^{2+} na presença do DAP passa a ter número de coordenação 4, provavelmente em uma geometria tetraédrica (T_d) distorcida.

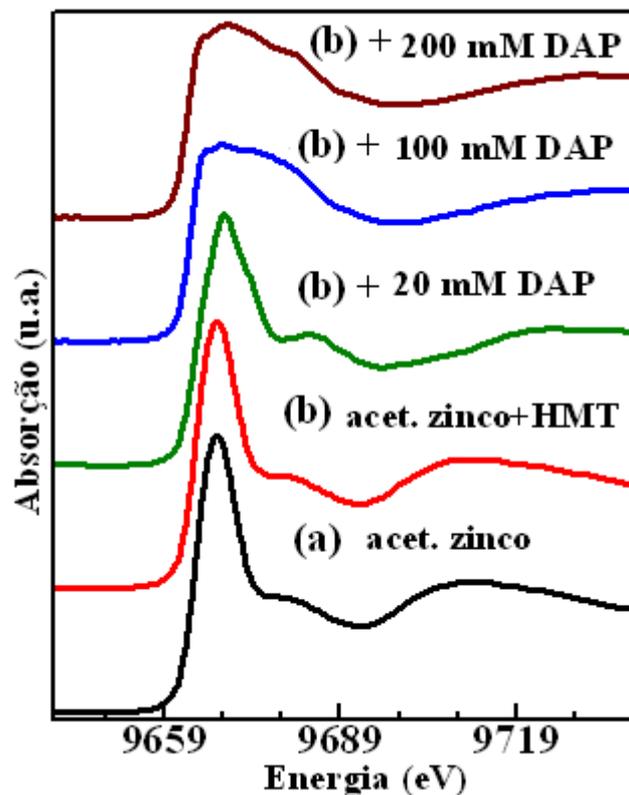


Figura 57. Espectros de XANES obtidos na borda K do Zn para as soluções aquosas: (a) acetato de zinco, (b) acetato de zinco com HMT, (b) + 20 mM, (b) + 100 mM e (b) + 200 mM de DAP.

Uma vez tendo entendido os espectros XANES de cada solução, iniciamos o estudo *in situ* para a solução reação preparada com 100 mM de DAP.

No período de duas horas de reação foi monitorada a evolução dos espectros de XANES na borda K do Zn. Na Figura 58 são mostrados os espectros coletados para esta reação. São observados alterações graduais que podem ser relacionadas com a nucleação de ZnO e o crescimento de ZnO. As estruturas presentes no espectro (intensidade da borda de absorção e oscilações) tornaram-se mais acentuadas com o aumento no tempo de reação. Isso é um fenômeno atribuído à fase de transição de materiais não cristalinos (desordenados) para materiais cristalinos ou ordenados ^[88].

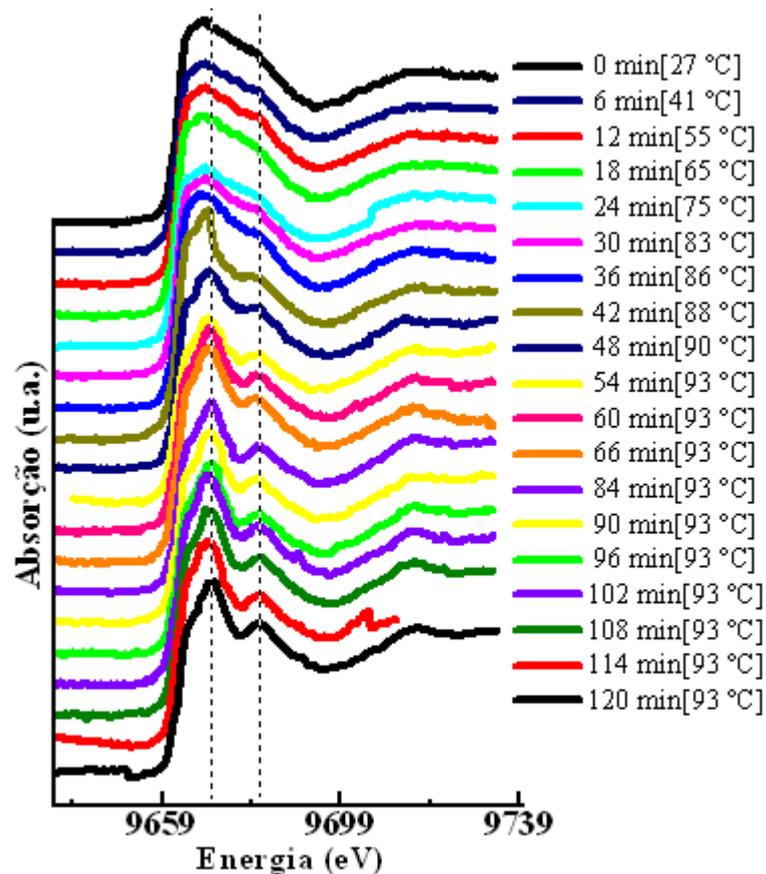


Figura 58. Espectros XANES *in situ* da reação na borda K do Zn coletados durante os 120 minutos de deposição do filme ZnO/grafite (100 mM de DAP).

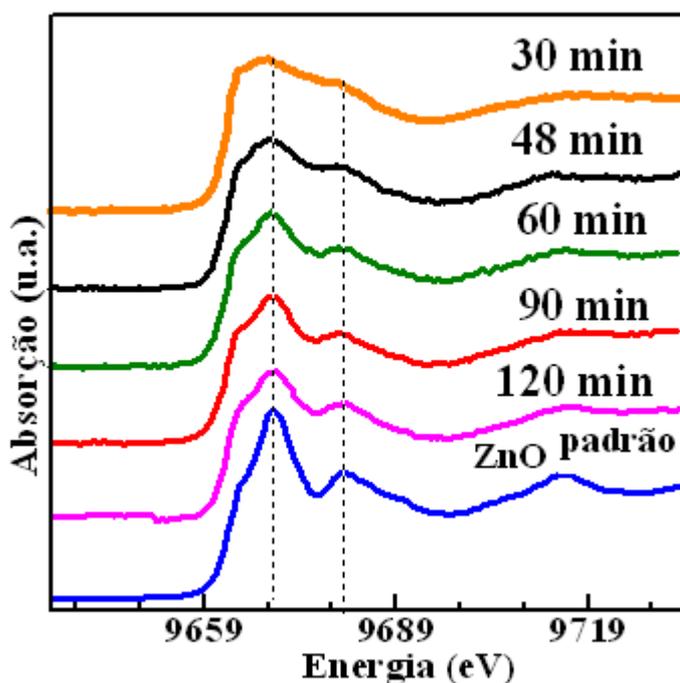


Figura 59. Espectros XANES *in situ* na borda K do Zn coletados para os tempos de 30, 48, 60, 90 e 120 minutos. O XANES do ZnO padrão também é mostrado.

Na Figura 59 são observados os espectros de XANES para o ZnO padrão e os coletados nos tempos de 30, 48, 60, 90 e 120 minutos de reação. Observamos que as duas estruturas assinaladas na Figura 59 (linhas pontilhadas) já são observadas no tempo de 30 min de reação. Essas estruturas evoluem, tornam-se mais intensas devido ao aumento na quantidade de ZnO depositado no grafite.

O espectro XANES na borda K do Zn para o filme de ZnO/grafite obtido com 2 h de deposição (*ex situ*) comparado com o ZnO padrão é ilustrado na Figura 60. O filme também apresenta 4 principais picos e nas mesmas posições em energia do ZnO padrão. Os picos estão localizados em $E_1 = 9664,4$ eV, $E_2 = 9669,1$ eV, $E_3 = 9680,2$ eV e o $E_4 = 9714,7$ eV. A borda de absorção em energia se encontra em 9662,3 eV. O pequeno ombro no espectro (E_1) que aparece acima da borda de absorção é característico para o ZnO. O E_2 é o pico principal e o mais intenso, típico da linha branca. O pico E_3 é característico de Zn^{2+} coordenado em um sítio tetraédrico, enquanto que o E_4 é proveniente das oscilações de EXAFS da primeira esfera de coordenação ^[103].

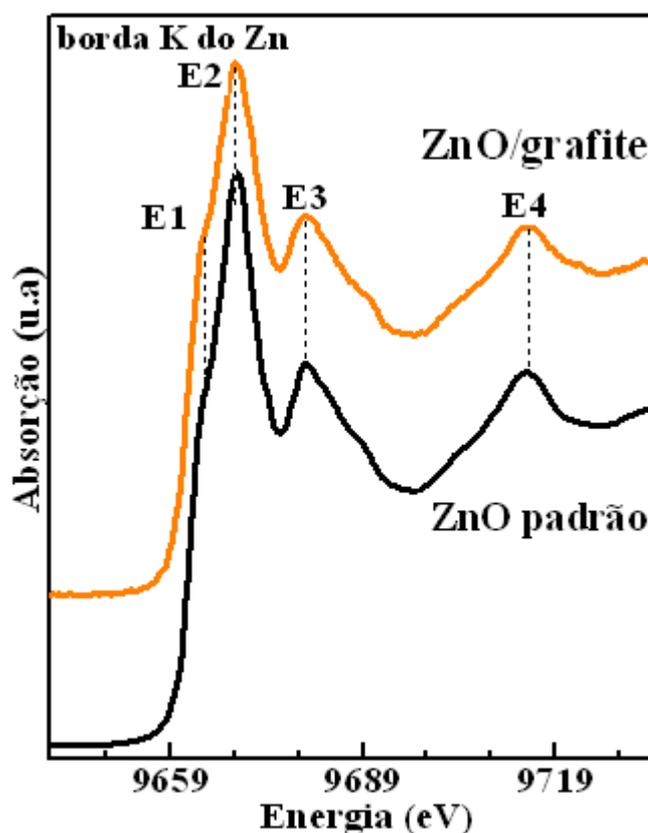


Figura 60. Espectros XANES na borda K do Zn coletados do filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição (*ex situ*) e o ZnO padrão.

Os espectros foram deconvoluídos através da combinação linear (CL) para quantificar a contribuição de cada espécie de Zn^{2+} ao longo da reação. As CLs foram feitas

utilizando os XANES do ZnO padrão e da solução inicial (Ac. ZnHMTDAP) na concentração de 100 mM de DAP. O espectro XANES do filme ZnO/grafite (*in situ*) obtido com o tempo de reação de 48 min e a CL é ilustrado na Figura 61 (a). Observamos que no tempo de 48 minutos de reação, já ocorreu a formação de uma fração de ZnO. A combinação linear do filme ZnO/grafite com 2 h de reação (*ex situ*) mostrou maior quantidade de ZnO, como esperado (Fig. 61 (b)).

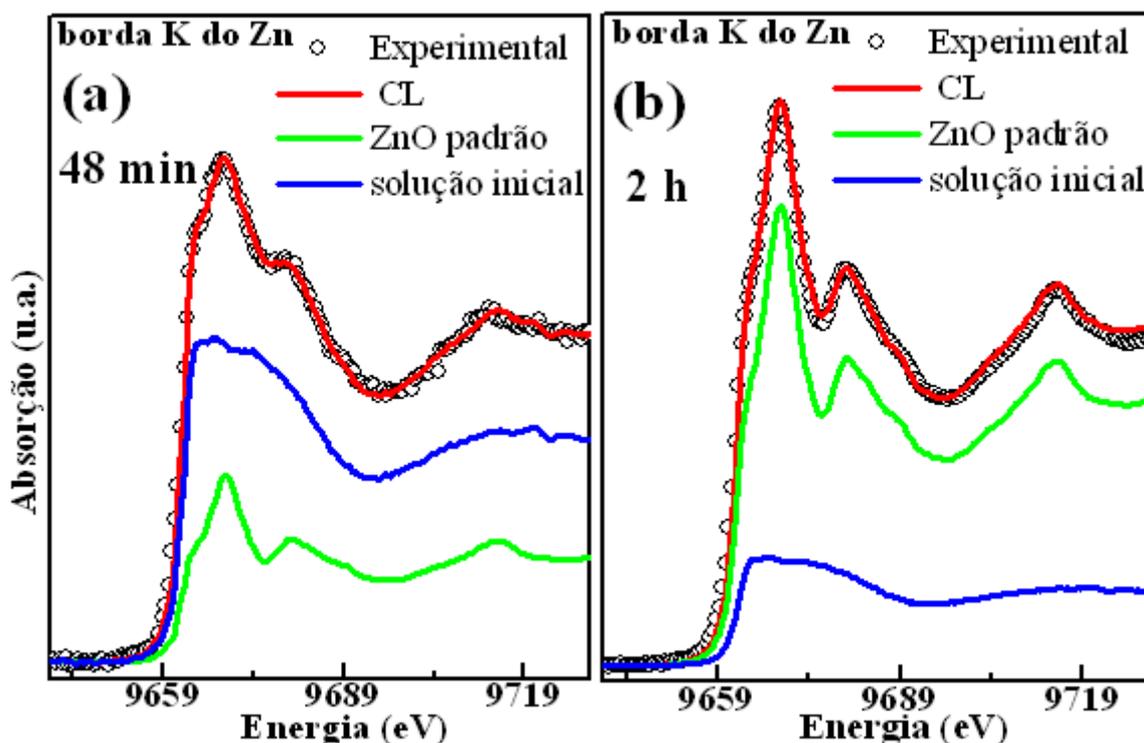


Figura 61. Espectro XANES do filme de ZnO/grafite (*in situ*) com 48 min de deposição e o resultado da combinação linear com os padrões ZnO e a solução inicial, (b) CL do filme ZnO/grafite (*ex situ*) obtido com 2 h de deposição.

Combinações lineares do filme ZnO/grafite (*in situ*) em 48 minutos e do filme com 2 h de deposição (*ex situ*) utilizando o padrão de $\text{Zn}(\text{OH})_2$ ao invés do padrão de ZnO é mostrado nas Figuras 62 (a) e (b). Observamos que, portanto mesmo em um tempo de reação relativamente curto (48 minutos) a fase $\text{Zn}(\text{OH})_2$ não está presente no filme de ZnO. Tanto na solução aquosa, como no filme seco não foi formado o hidróxido de zinco em quantidade significativa.

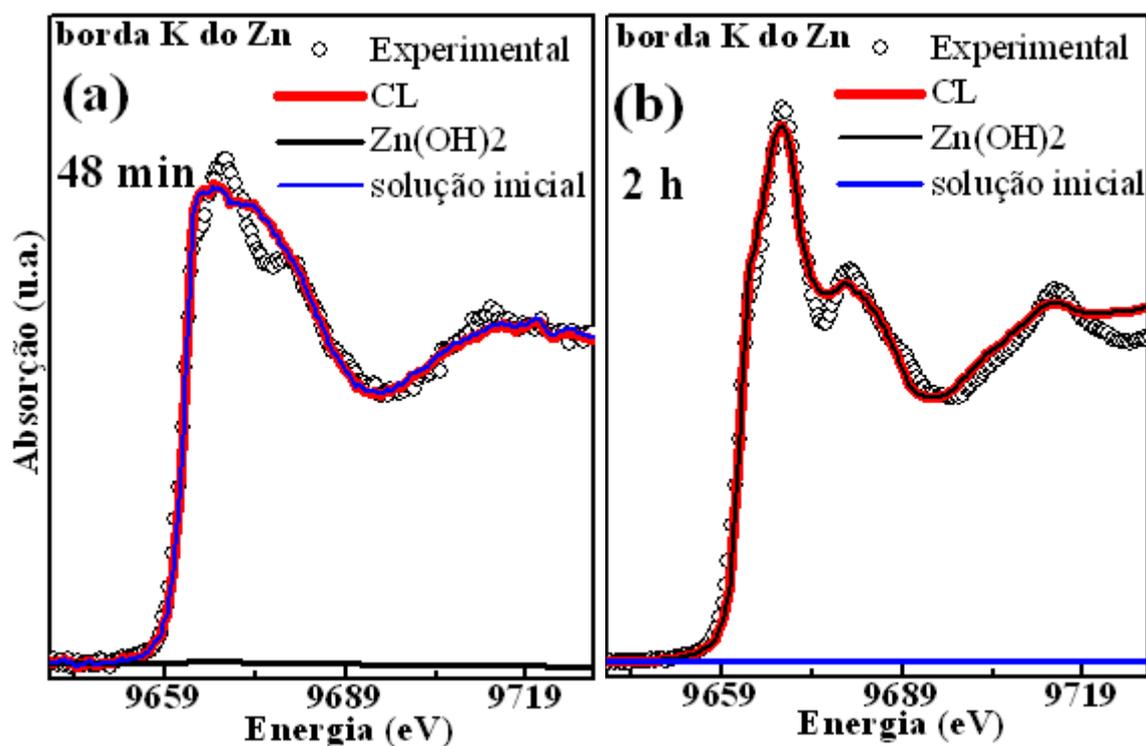


Figura 62. Espectro XANES do filme de ZnO/grafite (*in situ*) com 48 min de deposição e o resultado da combinação linear com os padrões Zn(OH)₂ e a solução inicial, (b) CL do filme ZnO/grafite (*ex situ*) obtido com 2 h de deposição.

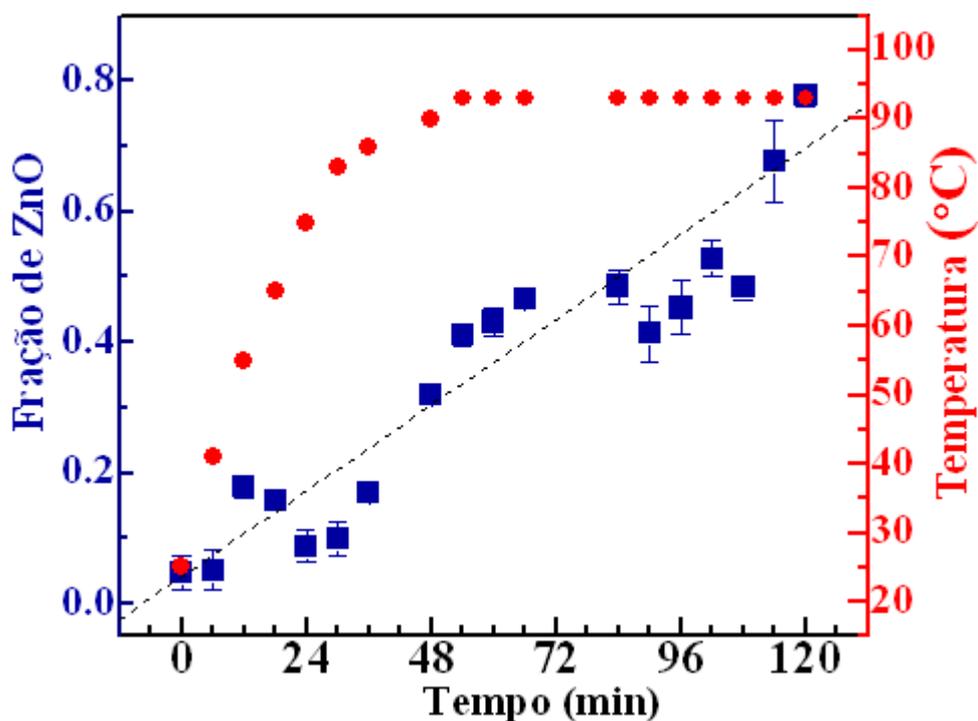


Figura 63. Gráfico da fração de ZnO *versus* o tempo de reação obtida com a CL dos padrões ZnO e a solução inicial para cada espectro XANES. A curva da temperatura para cada tempo de reação é indicada.

A combinação linear de cada espectro XANES permitiu obter um gráfico da fração de ZnO para cada tempo de reação (Fig. 63). Também está indicada no gráfico a curva da temperatura para cada tempo de reação correspondente.

Observamos que, à medida que o tempo de reação aumentou, a fração de ZnO também aumentou. Em 18 min de reação foi obtida uma fração de ZnO de 0,15, enquanto que para 48 min foi de 0,31. Em 60 minutos de reação (com a temperatura estável) a fração de ZnO foi de 0,43, e quando atingiu o tempo máximo para este experimento (120 min) temos uma fração de ZnO de 0,77.

5.5.2 Difração de Raios X

A DRX permitiu estudar a orientação cristalina das estruturas de ZnO crescidas sobre o substrato grafite no período de 2 horas, como mostrado na Figura 64. A curva (a) mostra o difratograma para a amostra de ZnO padrão. Também mostra os difratogramas dos filmes de ZnO crescidos sobre grafite com (b) 100 mM e (c) 20 mM de DAP. Todos os picos de difração observados foram indexados à estrutura hexagonal ZnO (JCPDF 36-1451). Observa-se claramente que a intensidade dos picos é fraca, quando comparada com o ZnO padrão, devido a baixa densidade das estruturas formadas.

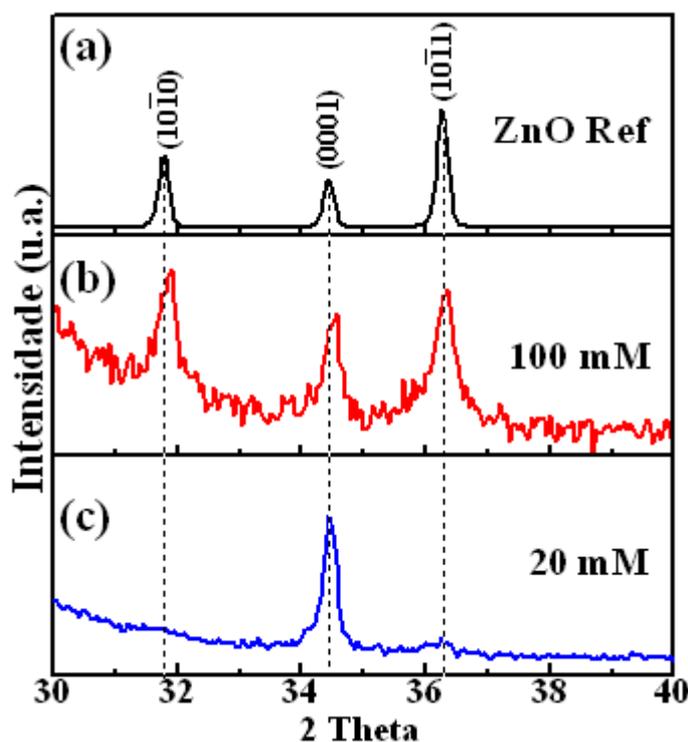


Figura 64. Difratogramas das amostras (a) ZnO padrão, ZnO/grafite com o tempo deposição de 2 h: (b) 100 mM de DAP e (c) 20 mM.

Na Figura 65 é apresentada a região de 30° a 38° em 2θ dos difratogramas das amostras de ZnO/grafite preparadas com 100 mM e 20 mM de DAP, para evidenciar os picos relativos aos planos cristalinos (1010), (0001) e (1011). Também é mostrada uma Tabela (7) com as devidas intensidades para cada pico. Podemos ver que os picos (1010) e (1011) são mais intensos que o pico (0001) para o filme com 100 mM de DAP. Isto indica que o ZnO depositado apresenta estrutura cristalina mais próxima ao cristal massivo, sem a forte orientação preferencial do pico (0001) observada no caso de ZnO/aço. O difratograma do filme preparado com a concentração de 20 mM de DAP é predominado pelo pico que aparece na posição 34,45°, referente ao plano cristalino da direção (0001).

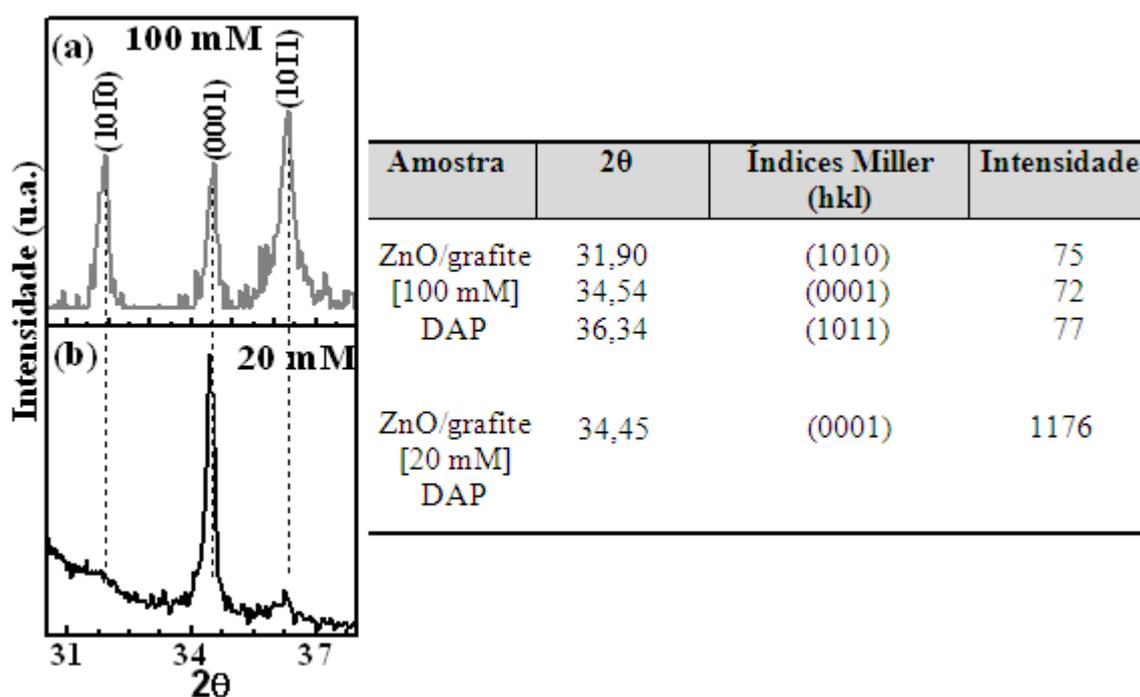


Figura 65. Região ampliada do difratograma das amostras de ZnO/grafite preparadas no tempo de deposição de 2 h: (a) 100 mM DAP e (b) 20 mM DAP. **Tabela 7.** Valores das intensidades de cada pico de DRX.

5.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

As imagens de MEV permitiram estudar a morfologia do filme de ZnO, crescido sobre o substrato de grafite, em diferentes tempos de deposição e concentrações de DAP. Na Figura 66 são mostradas as imagens de MEV das amostras depositadas por (a) 30 min e (b) 48 min. Primeiramente, após 30 min, são obtidos cristalitos depositados sobre o substrato de grafite. Com 48 min de reação podemos observar estruturas maiores e agregadas.

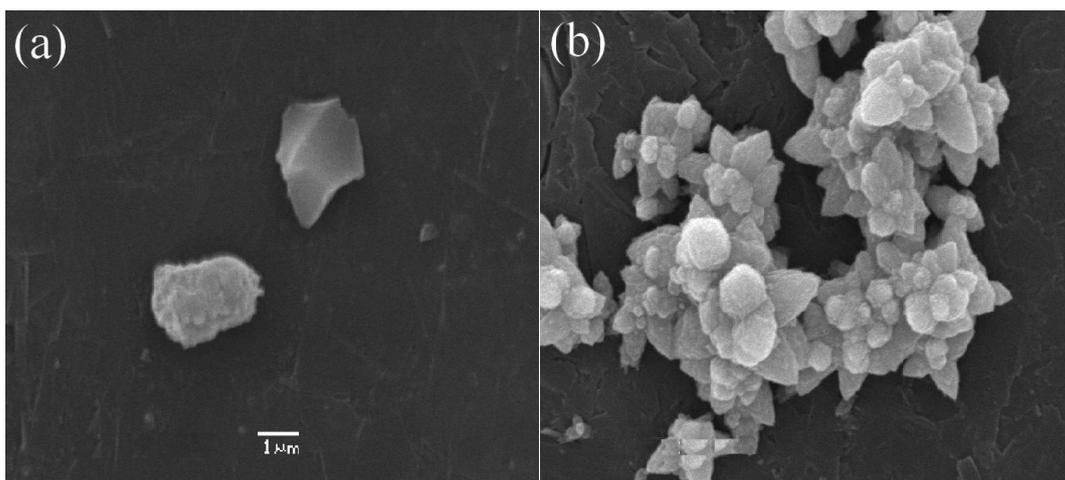


Figura 66. Imagens de MEV das estruturas de ZnO depositadas em grafite nos tempos de: (a) 30 min e (b) 48 min.

Quando o tempo de reação atinge os 60 min (Fig. 67), podemos observar que são formados aglomerados na forma de pequenas flores, que estão dispersas ao longo do substrato.

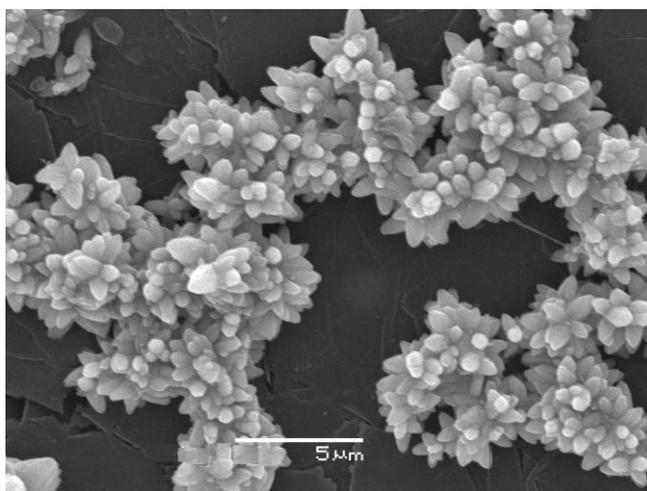


Figura 67. Imagem de MEV das flores de ZnO depositadas em grafite (60 min de deposição).

Com um tempo de deposição de 90 min (Fig. 68 (a)), obtemos uma maior densidade de crescimento das estruturas. As flores exibem seis pétalas bem distintas com 1,5 μm de comprimento. As pétalas são fixadas em um eixo central que possui diâmetro médio de 800 nm, e secção transversal hexagonal (Fig. 68 (b)).

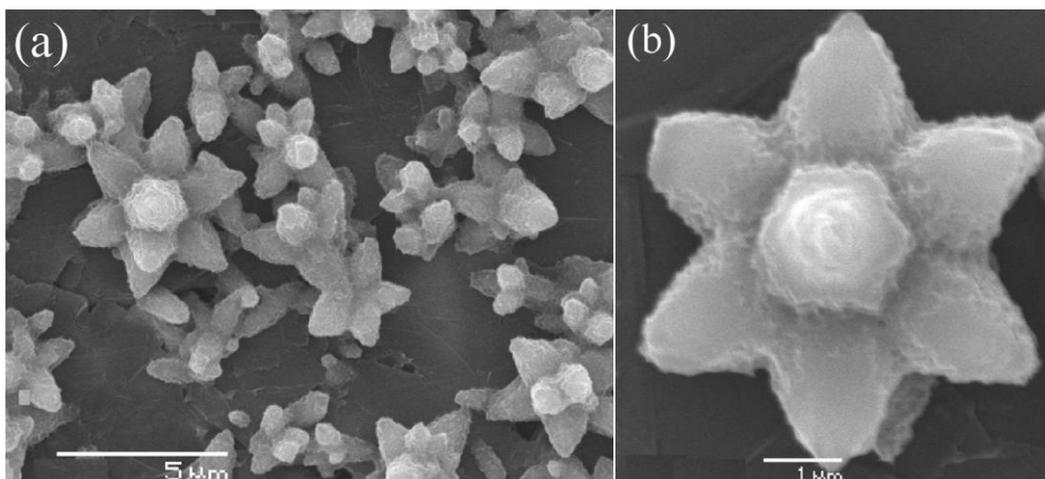


Figura 68. Imagem de MEV das flores de ZnO depositadas em grafite (90 minutos), e (b) imagem ampliada em 15000X.

Quando a síntese chega aos 120 min (Fig. 69 (a)), as flores modificam a sua forma, e as pétalas tornam-se alongadas. Observamos que, as flores são formadas de multicamadas de pétalas empilhadas ao redor de um eixo central (Fig. 69 (b)). A raiz apresenta diâmetro de ~ 500 nm, e pétalas com comprimentos de 2 μm.

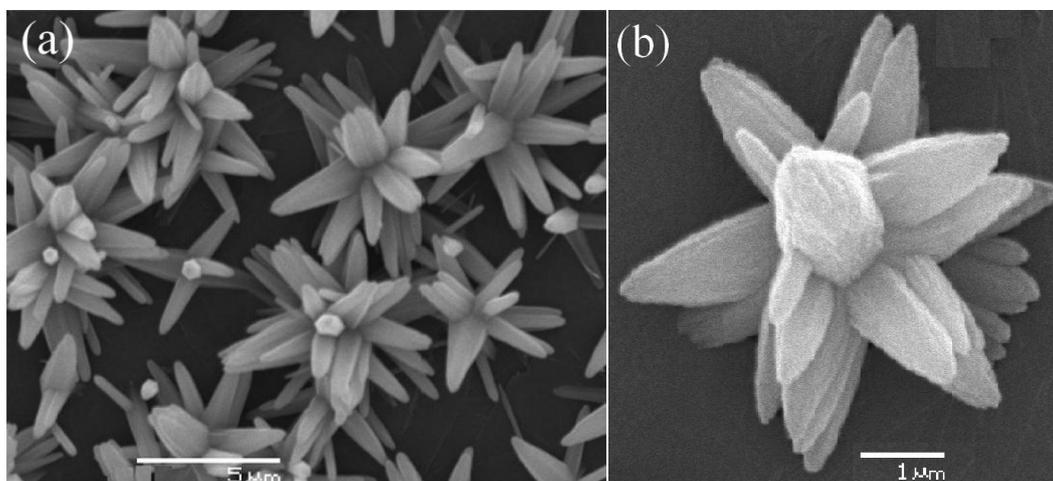


Figura 69. Imagens de MEV das flores de ZnO depositadas em grafite depois de 120 min (a), e (b) imagem ampliada em 15000X.

Uma análise dos dados obtidos por XRD, XAS e MEV permite sugerir algumas etapas do mecanismo reacional, e melhor entender a formação de estruturas de ZnO. Na Figura 70 é representado um esquema da nucleação e crescimento de filmes de ZnO sobre o substrato de grafite estudado aqui.

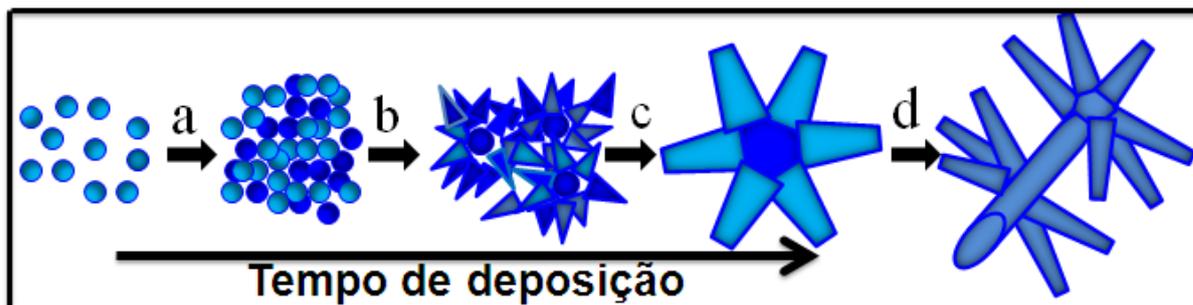


Figura 70. Desenho ilustrativo do mecanismo de formação de flores de ZnO em grafite e 100 mM de DAP.

Na fase inicial, a solução aquosa com os íons de Zn^{2+} e os complexos aminos estão completamente dispersos na solução. Quando se inicia o aquecimento da solução, com a excitação térmica das moléculas, elas têm a tendência de formar domínios de nucleação, através de interações eletrostáticas (a). Com o aumento da temperatura e o tempo de deposição, a taxa de crescimento é aumentada, formando muitos agregados (b). Os agregados atraem-se e formam o crescimento das estruturas em formato de flores (c). As flores são compostas por seis estruturas (pétalas) ligadas em torno de uma única estrutura central. São formadas multicamadas de pétalas (d), devido ao crescimento flores se sobrepõem em várias camadas ^[103-104].

A deposição de ZnO é um processo dependente do tempo de reação e da concentração dos reagentes. Podemos obter, estruturas com diferentes morfologias de ZnO, (bastões, flores e microtubos) controlando o tempo de deposição e a concentração do reagente DAP.

A concentração do diaminopropano também foi variada para os filmes de ZnO crescidos sobre grafite no tempo de 2 h de deposição. A imagem de MEV na Figura 71 é do filme preparado com 20 mM de DAP, observamos que as estruturas tem a morfologia como bastões alongados com diâmetro de $\sim 1 \mu m$ e comprimento de $\sim 4 \mu m$.

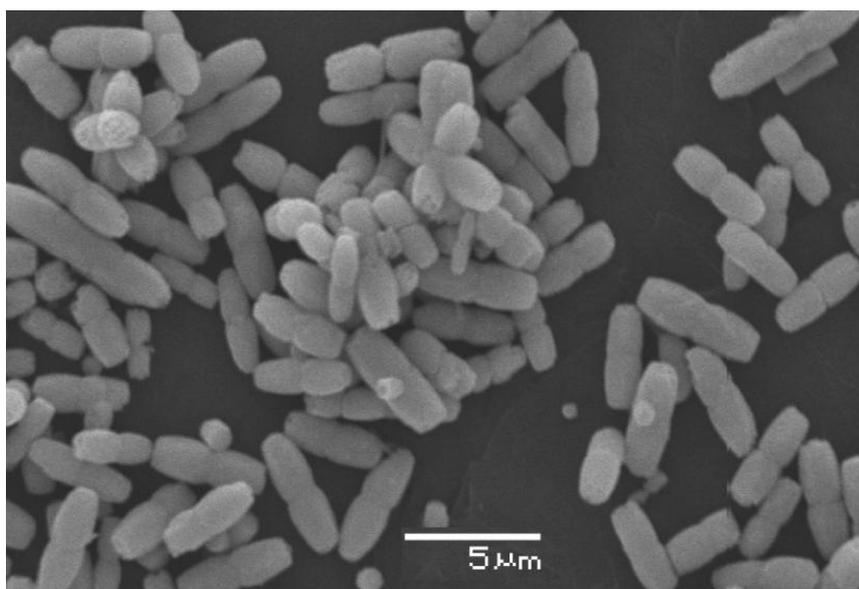


Figura 71. Imagens de MEV do filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição e 20 mM de DAP.

Quando a concentração de DAP aumentou para 200 mM, ocorreram mudanças na morfologia (Fig. 72). São formadas estruturas ocas na forma de microtubos, e possuem a ponta hexagonal bem definida com diâmetro de $\sim 1 \mu\text{m}$.

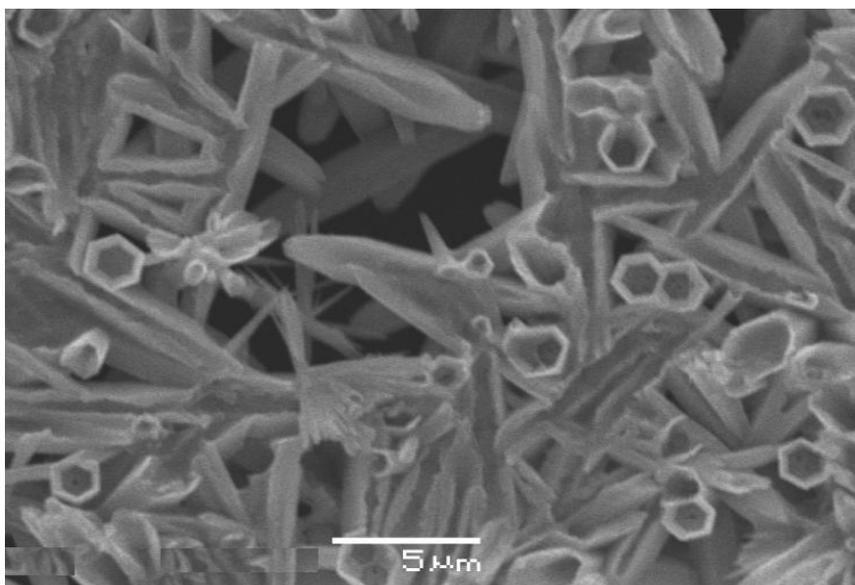


Figura 72. Imagens de MEV do filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição e 200 mM de DAP.

5.5.4 XPS do filme ZnO/grafite

As amostras de ZnO/grafite foram estudadas por XPS para analisar a superfície dos filmes depositados com diferentes concentrações de DAP. A análise de XPS da amostra com 100 mM de DAP é mostrada na Figura 73. Em (a) temos a região do Zn $2p_{3/2}$ que foi ajustada com uma componente em 1021,3 eV de energia de ligação. Podemos associar esse valor de E_b à ligações Zn-O, características do ZnO. Para as regiões do O 1s e N 1s (Fig. 73 (b) e (c)), os valores de E_b correspondem com as energias dos filmes de ZnO/aço discutidos na seção 5.4.

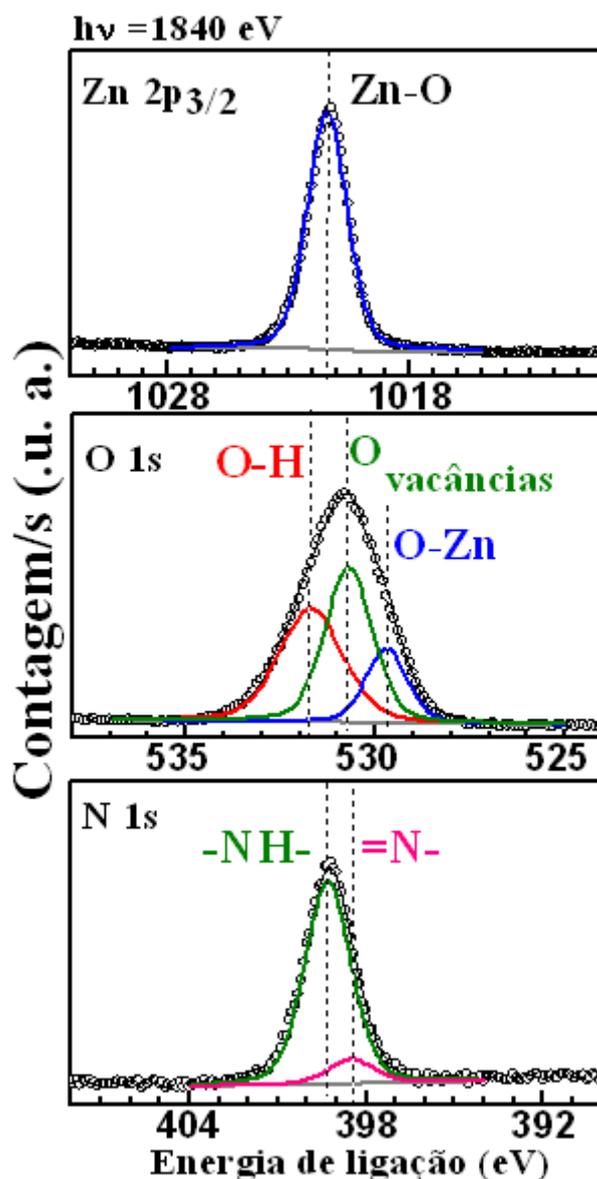


Figura 73. Espectros de XPS obtido para o filme de ZnO/grafite com 2 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) região do Zn $2p_{3/2}$, (b) região do O 1s e (c) região do N 1s.

A Tabela 7 apresenta os valores da energia de ligação das componentes Zn $2p_{3/2}$, O

1s e N 1s para as amostras preparadas com a concentração de 20 mM, 200 mM de DAP (gráficos não mostrados) e 100 mM de DAP. As componentes para cada região apresentam componentes similares da amostra de 100 mM de DAP, indicando que a concentração do DAP não altera a superfície dos filmes. Como observado anteriormente na amostras depositadas sobre aço, com o aumento da concentração do DAP, maior é a razão entre a área da componente relacionada as vacâncias de oxigênio no O 1s e a área total pico Zn 2p_{3/2}.

Amostra	Área Zn 2p _{3/2} (eV)	FW HM (eV)	Área O 1s (eV)	FW HM (eV)	N 1s FW HM (eV)	Área O _{vacância} /Zn 2p _{3/2}
ZnO/grafite	1021,4		531,7 (54100)	2	398,5 (1,9)	0,14
20 mM DAP	(216000)	2	530,8 (30790)	1,5	399,6 (1,8)	
(2 h)			529,7 (14000)	1,3		
ZnO/grafite	1021,4	2	531,7 (17500)	2	398,5 (1,9)	0,41
100 mM DAP	(43100)		530,8 (17930)	1,5	399,3 (1,8)	
(2 h)			529,7 (7450)	1,3		
ZnO/grafite	1021,5	2	531,7 (17450)	2	398,5 (1,9)	1,28
200 mM DAP	(5600)		530,7 (7200)	1,5	399,4 (1,9)	
(2 h)			529,7 (1514)	1,3		

Tabela 8. Valores das energias de ligação para as amostras de ZnO/grafite com 20 mM, 100 mM e 200 mM de DAP preparadas no tempo de 2 h de deposição.

5.6 Testes Eletroquímicos de Biossensores

Nesta seção será apresentado o estudo da aplicação dos filmes nanoestruturados de ZnO/aço para biossensores de glicose e ureia, obtidas através da imobilização das enzimas Glicose Oxidase (GOx) e Urease (Urs) sobre a superfície dos filmes, respectivamente.

5.6.1 Sensor de Glicose

Primeiramente foi analisada a alteração da morfologia do filme com a imobilização da enzima. A imagem de MEV do filme de ZnO/aço com 8 h de deposição e 100 mM de DAP, antes e depois da imobilização da GOx sobre as nanocolunas de ZnO é apresentada na Figura 74 (a) e (b). Na imagem sem a enzima observamos as colunas nitidamente, e com a enzima a imagem tornou-se desfocada.

Os filmes também foram submetidos à análise por EDS (Fig. 75). Em (a) temos o espectro do filme de ZnO sem a enzima que revelou a presença de Zn e O nas NCs. A presença de ferro e cromo são provenientes do substrato de aço inoxidável. O espectro de EDS da Fig. 75 (b) é do filme de ZnO/aço com a GOx imobilizada. A presença de potássio e fósforo são devido a solução tampão utilizada na preparação, e o carbono é provavelmente da enzima GOx sobre a superfície do filme.

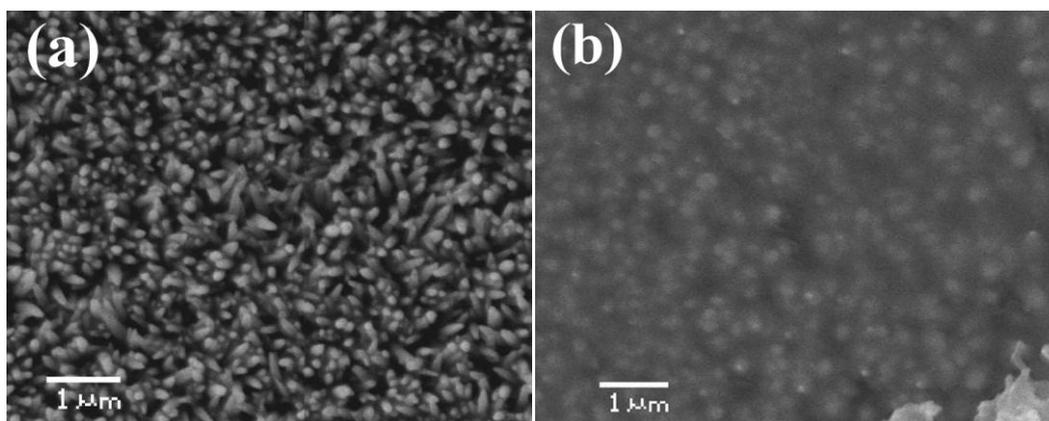


Figura 74. Imagens de MEV do filme ZnO/aço preparado com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) sem e (b) com a enzima Glicose Oxidase imobilizada na superfície do filme.

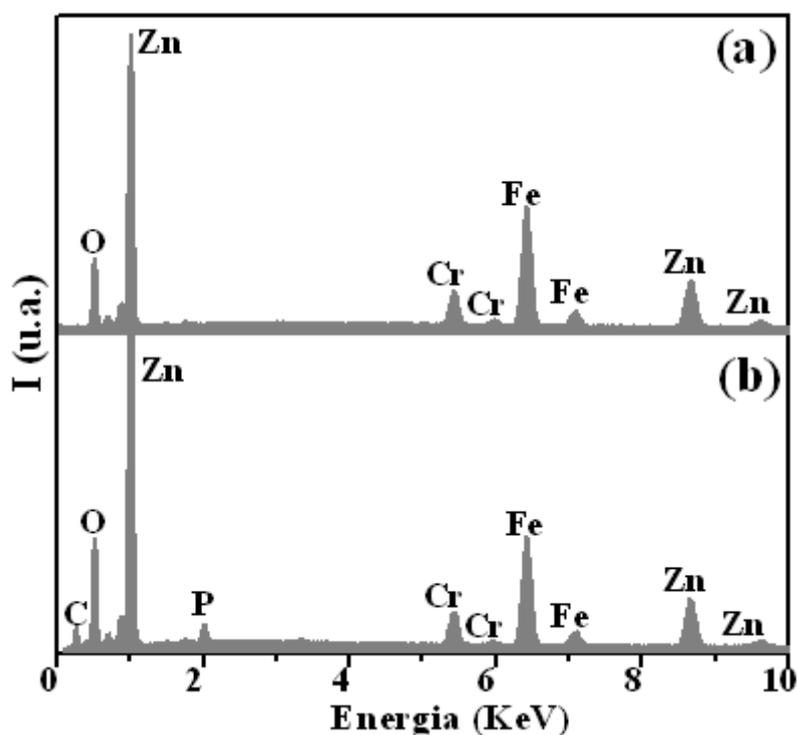


Figura 75. Espectro de EDS do filme ZnO/aço preparado com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) sem e (b) com a enzima Glicose Oxidase na superfície do filme.

A superfície do ZnO com a GOx imobilizada também foi caracterizada com XPS, cujo resultado é mostrado na Figura 76. A região do Zn $2p_{3/2}$ (a) foi ajustada com duas componentes: uma em 1021,1 eV e a outra em 1022,9 eV. A componente de menor energia é associada à energia de ligação do Zn-O, na estrutura do ZnO. A componente com maior energia de ligação é atribuída às ligações do Zn-OH na superfície do filme com a enzima.

A região do O 1s foi deconvoluída em quatro componentes bem distintas em energias (Fig.76 (b)). A primeira componente com energia de ligação em 532,9 eV, é proveniente do O adsorvido na superfície do filme. A segunda componente com E_b de 531,7 eV está relacionada com as ligações do OH-Zn. A terceira componente com energia em 530,7 eV é referente as vacâncias de oxigênio no ZnO e em 529,6 eV corresponde a energia dos átomos de O ligados aos átomos de Zn ^[95-96].

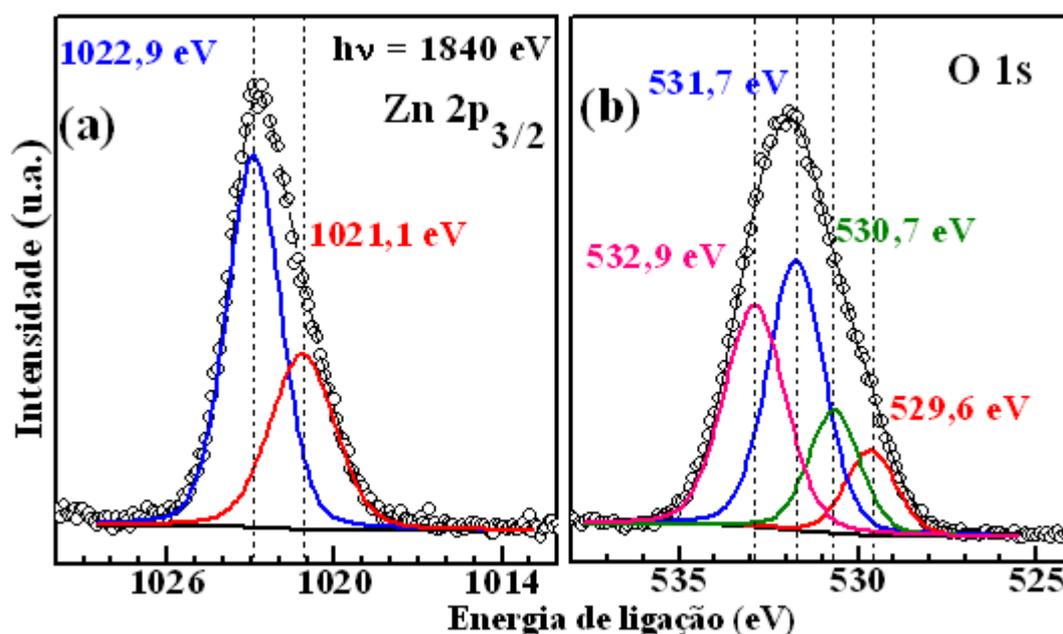


Figura 76. Espectros de XPS obtido para o filme de GO_x/ZnO/aço com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) região do Zn 2p_{3/2} e (b) região do O 1s.

A Figura 77 (a) mostra o espectro de XPS da região do C 1s do filme de ZnO/aço sem a imobilização da enzima. A região foi ajustada com 3 componentes, com energias de ligação de: 287,7 eV, 286,3 eV e 284,6 eV. Esses valores de energias estão associados com as ligações O=C-NH, C-O, C-C/C-H, respectivamente na superfície do filme ^[103].

Quando a enzima GO_x está adsorvida no filme de ZnO (Fig. 77 (b)), o pico do C 1s apresenta uma componente a mais, além das três componentes que estavam presentes antes da interação da enzima. Essa componente tem energia de ligação em 289 eV, e se refere as ligações de O=C-O, provenientes da interação da enzima com a superfície.

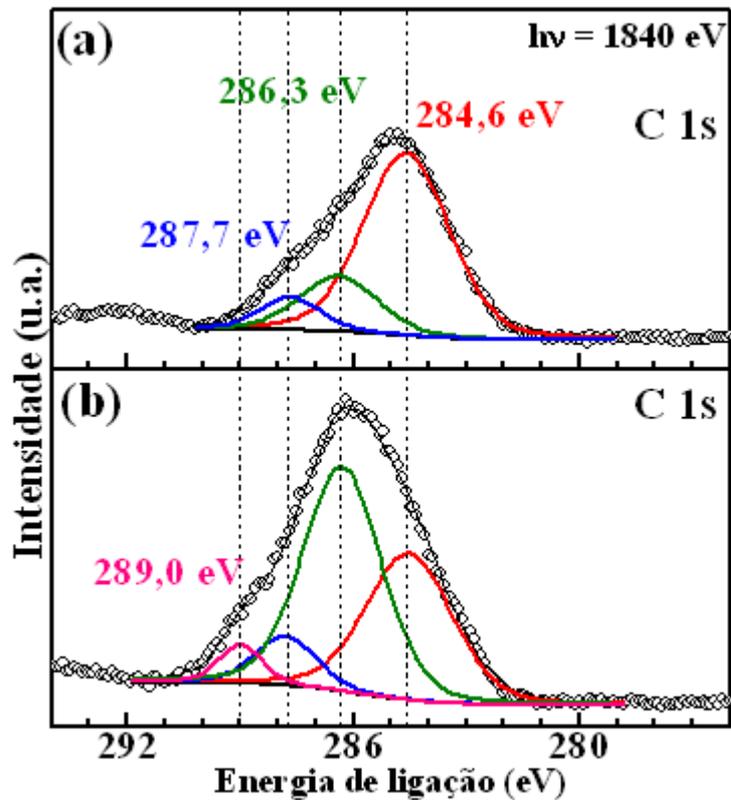


Figura 77. Espectros de XPS da região do C 1s para o filme de ZnO preparado com 8 h de deposição e 100 mM de DAP: (a) ZnO/aço e (b) GOx/ZnO/aço.

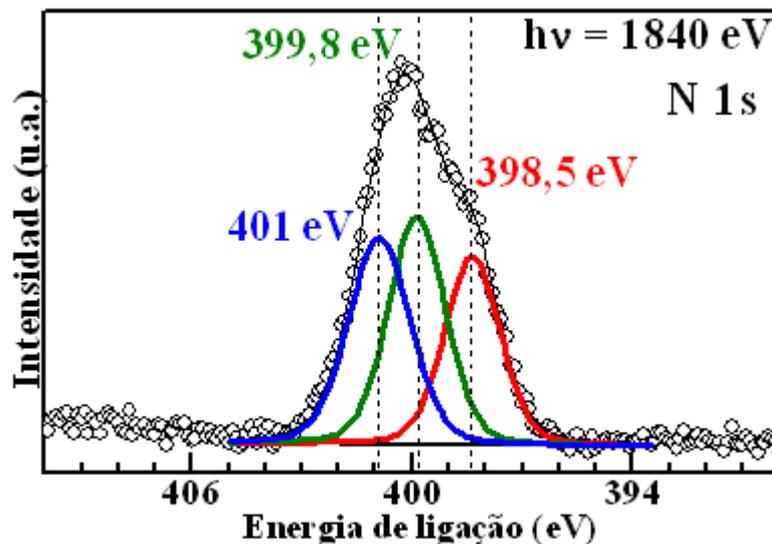


Figura 78. Espectros de XPS obtido para a região do N 1s do filme de GOx/ZnO/aço com 8 h de deposição e 100 mM de DAP.

A região do N 1s (Fig. 78) foi ajustada com três componentes. As duas componentes correspondentes as ligações do grupo amina e imina com energias de ligações em 399,8 eV e 398,5 eV, respectivamente. A terceira componente de maior energia (401 eV) pertence às

ligações do N⁺ [96]. Os valores para as energias de ligação no caso do filme de ZnO sem a imobilização da enzima foi descrito na Tabela 6.

Em todos os espectros de XPS, tanto para as regiões do Zn e O, como para as regiões do C e N sofreram modificações com a presença da enzima na superfície. Isso indica que a enzima foi completamente imobilizada na superfície do filme de ZnO.

Um esquema para representar como a enzima é imobilizada na superfície do ZnO é ilustrado na Figura 79. O filme de ZnO possui uma morfologia colunar, distribuídas verticalmente sobre o substrato, o qual proporciona um meio favorável para a adsorção das enzimas nas laterais das nanocolunas. O Nafion depositado sobre a enzima transforma-se em uma película protetora para evitar o desprendimento da enzima da superfície do ZnO.

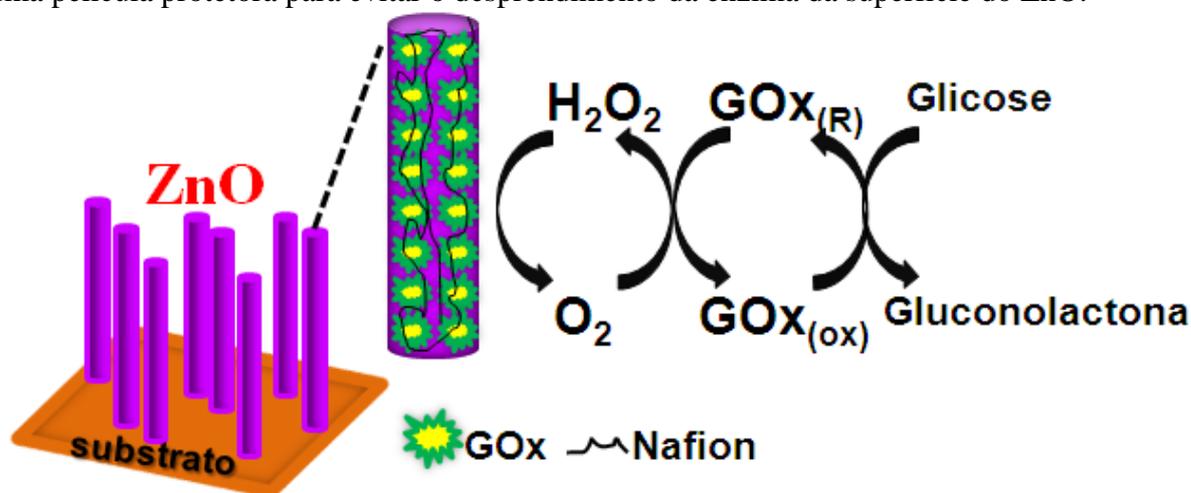


Figura 79. Desenho representativo da imobilização da GOx sobre as nanocolunas de ZnO e as reações que ocorrem com a enzima e a solução de glicose.

As reações que ocorrem durante as medidas eletroquímicas no sensor de glicose são descritas, como: a enzima GOx na presença da glicose é reduzida produzindo a gluconolactona. A GOx reduzida e o oxigênio presente na solução produz o peróxido de hidrogênio e a oxidação da GOx novamente. Então, o peróxido de hidrogênio pode liberar elétrons livres, que consequentemente contribuem para aumentar a corrente elétrica, detectada no voltamograma do eletrodo. Essas reações são descritas na literatura [66-68].

Na Figura 80 são ilustrados os voltamogramas do eletrodo de Nafion/GOx/ZnO/aço (a) na presença de solução PBS, (b) na presença de 2,6 mM de solução de glicose e em (c) o eletrodo sem a enzima na presença de 2,6 mM de glicose, realizadas na faixa de potencial entre 0,2 V a 1 V. Os voltamogramas tem formas similares, porém o eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço na presença da glicose possui um aumento na corrente elétrica a partir de 0,7 V. Esse aumento na corrente está associada com às reações de oxidação da glicose conforme indicada na Fig. 79. O eletrodo de ZnO/aço sem a enzima na presença de 2,6 mM

de glicose não apresenta alteração na corrente elétrica, indicando que o ZnO na presença da glicose não tem atividade catalítica.

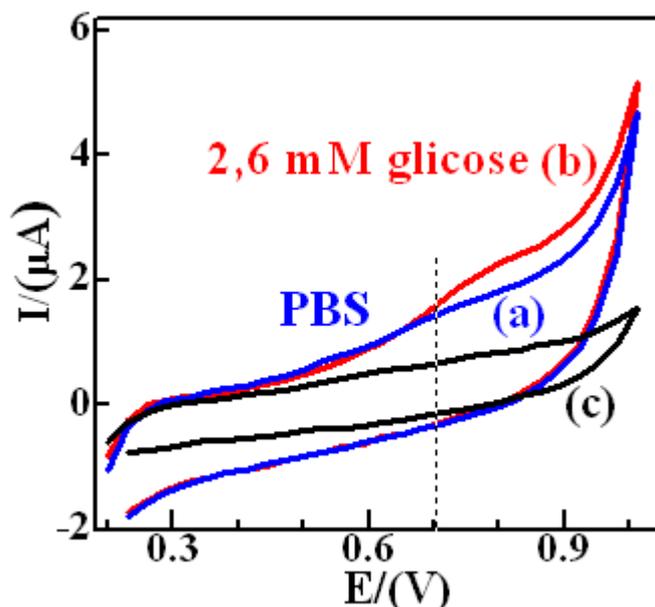


Figura 80. Voltamogramas do eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço (a) na presença de solução tampão (curva azul), (b) na presença de solução glicose 2,6 mM (curva vermelha) e (c) eletrodo de ZnO/aço sem a enzima na presença de 2,6 mM de glicose (curva preta), realizados na velocidade de varredura de 20 mVs^{-1} .

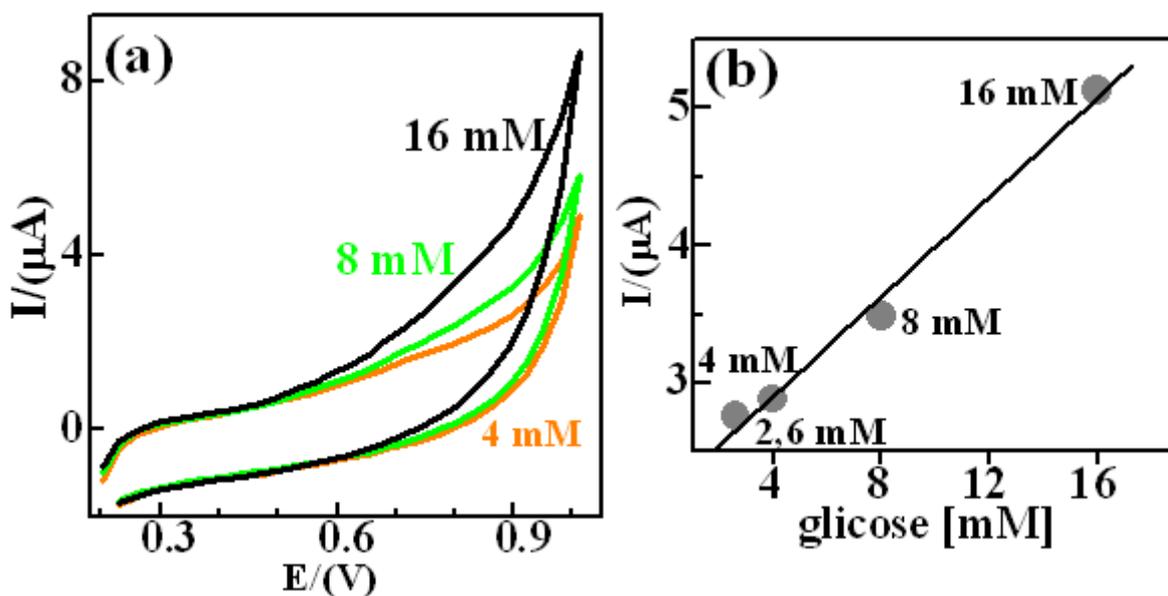


Figura 81. Voltamogramas do eletrodo (a) Nafion/GOx/ZnO/aço na presença de solução de glicose nas concentrações de 4 mM (curva laranja), 8 mM (curva verde) e 16 mM (curva preta) realizada na velocidade de varredura de 20 mVs^{-1} . Em (b) gráfico da corrente elétrica *versus* a concentração da glicose.

A resposta do eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço na presença de várias concentrações de

glicose é mostrado na Figura 81 (a). A curva na cor laranja é do eletrodo com 4 mM de glicose, e em verde é na presença de 8 mM de glicose e a curva preta é com 16 mM de glicose. Todas as curvas apresentam um aumento gradativo da corrente elétrica à medida que a concentração da glicose aumenta. Indicando que a resposta do eletrodo tem um comportamento linear para as concentrações da glicose (Fig. 81 (b)).

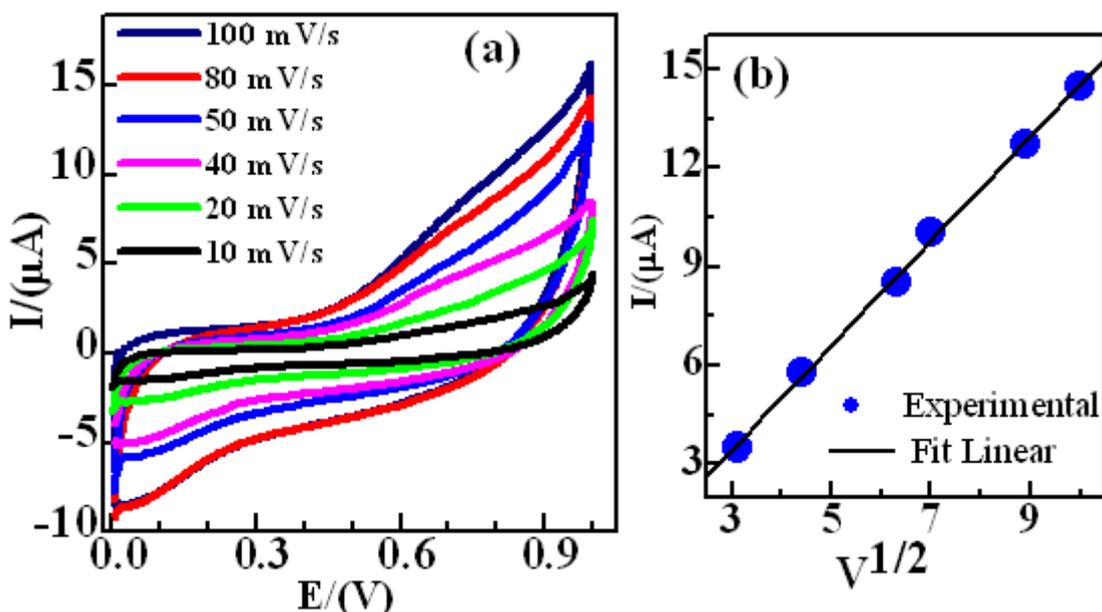


Figura 82. Voltamogramas do eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço na presença de 2,6 mM de glicose em (a) diferentes velocidades de varredura, e (b) ajuste linear da raiz quadrada da velocidade de varredura em função do pico da corrente no potencial 0,9 V.

Na Figura 82 (a) são representados os voltamogramas do eletrodo na presença de 2,6 mM de glicose em diferentes velocidades de varredura de potencial (10, 20, 40, 50, 80 e 100 mV/s). A corrente elétrica aumenta sequencialmente em função do aumento da velocidade de varredura de potencial. Em (b) está representado o gráfico da raiz quadrada da velocidade de varredura de potencial em função da corrente elétrica. Observamos que o pico da corrente é proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura, indicando o comportamento do eletrodo controlado pela difusão.

Nestas medidas também investigamos a resposta do sensor na presença da solução tampão com pH 7,4. Os voltamogramas mostrados na Figura 83 são referentes ao eletrodo (Nafion/GOx/ZnO/aço) na presença da solução de glicose nas concentrações de 0 mM a 40 mM. O sensor apresenta uma boa resposta na detecção da glicose mesmo em concentrações mais elevadas.

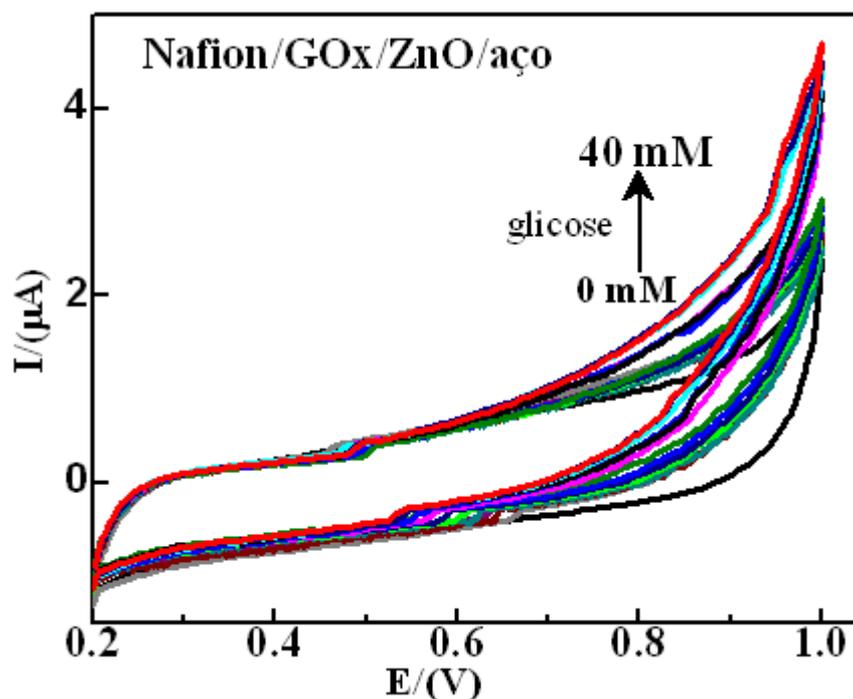


Figura 83. Voltamogramas do eletrodo (Nafion/GOx/ZnO/aço) na presença da solução de glicose com pH 7,4 (0 a 40 mM) realizada na velocidade de varredura de 20 mVs^{-1} .

O sensor testado neste trabalho com o pH 7,4 também tem um comportamento linear em função do aumento da concentração da glicose para um potencial fixo em 0,95 V (Fig. 84). Em ambos os pH 7,1 e 7,4 o eletrodo apresenta uma importante resposta para a glicose.

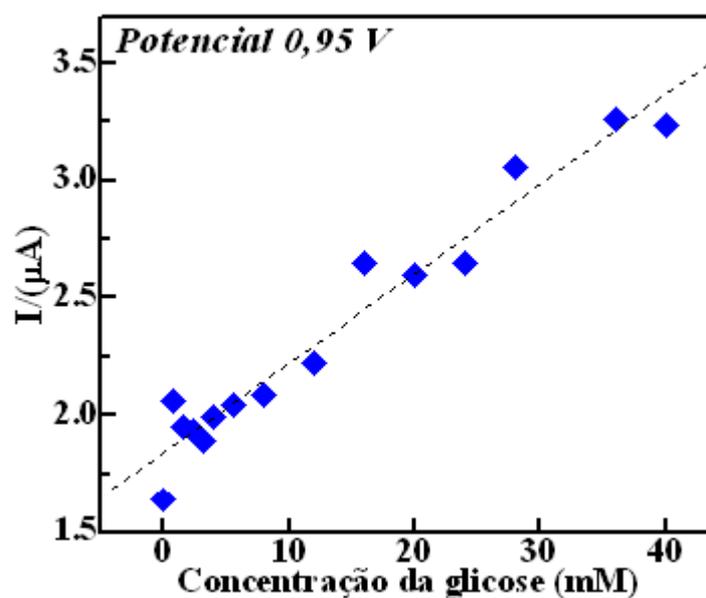


Figura 84. Gráfico da corrente elétrica dos voltamogramas (eletrodo Nafion/GOx/ZnO/aço) em 0,95 V em função da concentração da glicose no pH 7,4.

5.6.2 Sensor de Ureia

De modo análogo ao primeiro sensor, foi imobilizada a Urease no filme ZnO/aço que foram submetidos à análise por EDS, e os espectros estão representados na Figura 85. O filme de ZnO/aço (Fig. 85 (a)) apresenta os elementos químicos típicos para o ZnO (Zn e O). A presença de Fe é derivada do substrato aço inoxidável. O carbono e o silício são de contaminantes. O espectro do filme Urs/ZnO/aço, além de possuir Zn e O, contém K, P e N. O potássio e o fósforo são provenientes da solução tampão utilizada para preparar a solução de Urease. O nitrogênio é devido a presença da enzima.

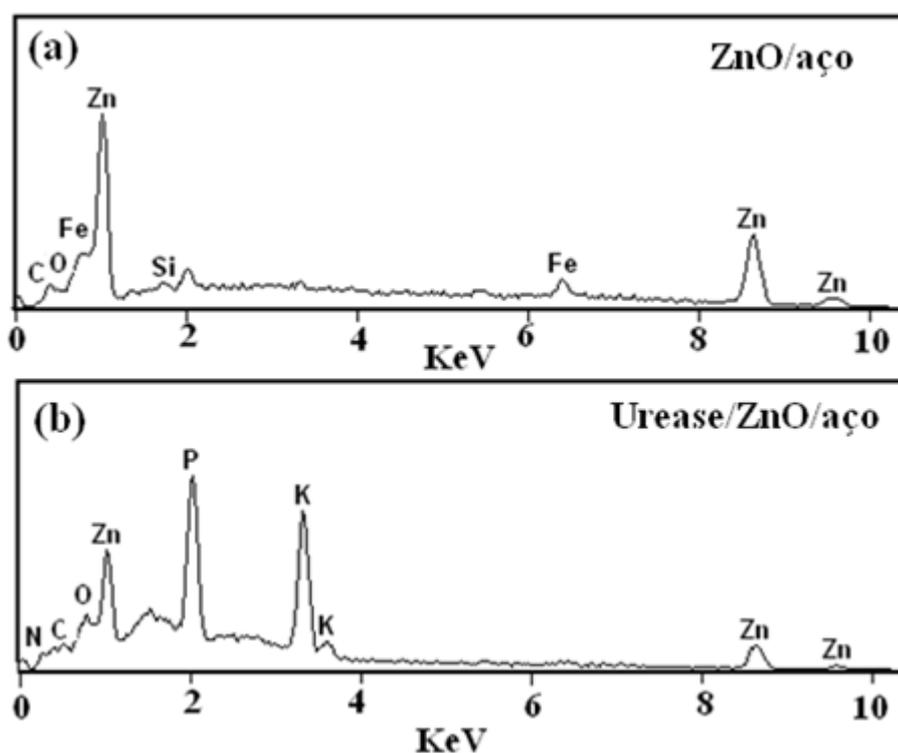


Figura 85. Imagens de EDS do filme preparado com 8 h de deposição e 200 mM de DAP: (a) ZnO/aço e (b) enzima Urease/ZnO/aço.

O eletrodo de Nafion/Urs/ZnO/aço foi empregado como um biossensor para detecção de ureia utilizando a potenciometria. A curva obtida com a variação do potencial elétrico em função do tempo, e as adições sequenciais de ureia em solução de PBS durante as medidas eletroquímicas é ilustrada na Figura 86. O sensor apresenta resposta eletroquímica para a ureia nas concentrações testadas neste trabalho de 1,3 mM a 21,4 mM. O íon amônio e o íon OH⁻ produzido na reação da enzima com a ureia promovem uma pequena mudança na escala do pH, detectado pela variação do potencial.

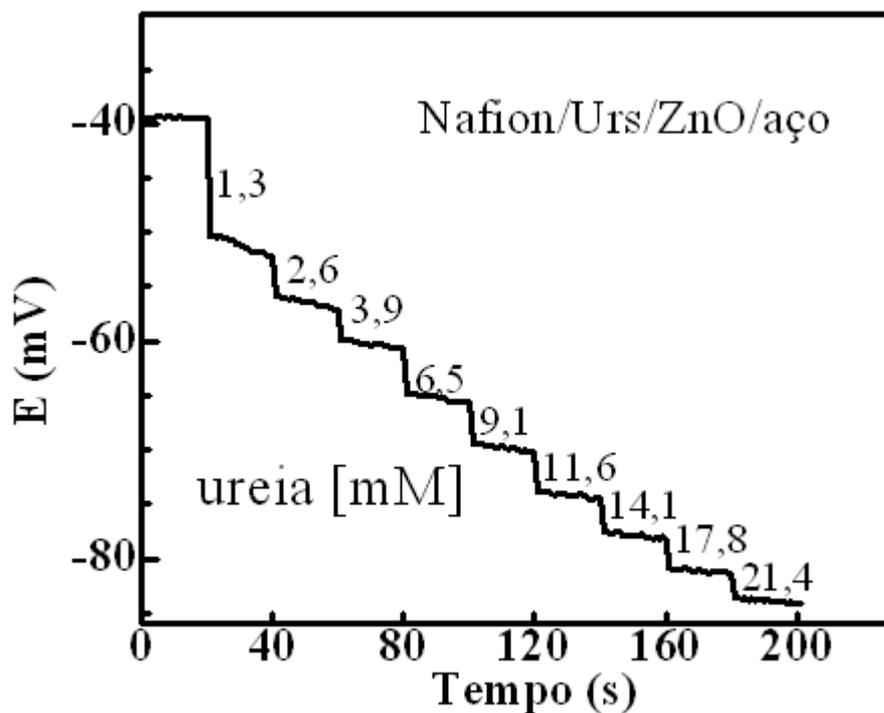


Figura 86. Curva obtida com a Potenciometria do eletrodo Nafion/Urs/ZnO/aço em função do tempo e as adições sequenciais de alíquotas da solução de ureia nas concentrações de 1,3 mM a 21,4 mM.

A partir dos resultados obtidos do sensor na presença de diferentes concentrações de ureia foi possível obter uma curva de calibração. A Figura 87 ilustra a variação do potencial elétrico para cada alíquota de ureia em função do log da concentração.

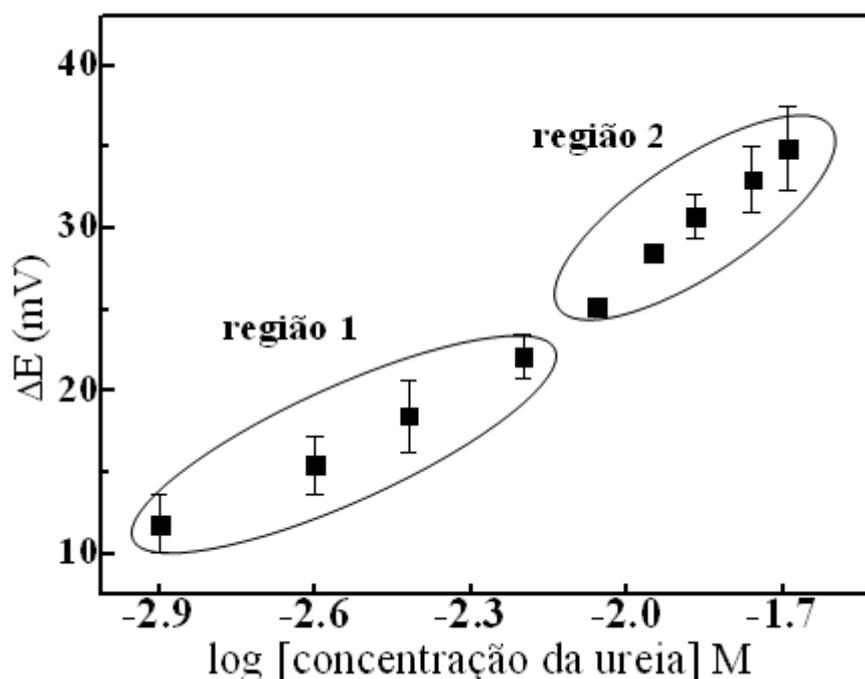


Figura 87. Curva de calibração do eletrodo Nafion/Urs/ZnO/aço da variação do potencial elétrico *versus* o log da concentração da ureia.

O sensor testado nesse trabalho apresenta mudanças no potencial para cada concentração de ureia específica. A curva descreve o comportamento e a sensibilidade do sensor na presença da solução de ureia. Portanto, para uma melhor análise a curva de calibração foi dividida em duas partes (Fig. 88).

As respostas eletroquímicas do sensor para as concentrações de ureia na escala de ~1 mM a ~ 7 mM, descreve um comportamento linear conforme ilustrado no gráfico da Fig. 86 (parte 1). Esta escala é adequada para a detecção da ureia, devido aos níveis normais de ureia estarem abaixo de 10 mM. À medida que a concentração da ureia aumenta a resposta do eletrodo também aumenta. A segunda região (parte 2) indica que o mesmo sensor pode detectar maiores concentrações de ureia na escala de ~ 9 mM a ~ 22 mM, testada para este eletrodo.

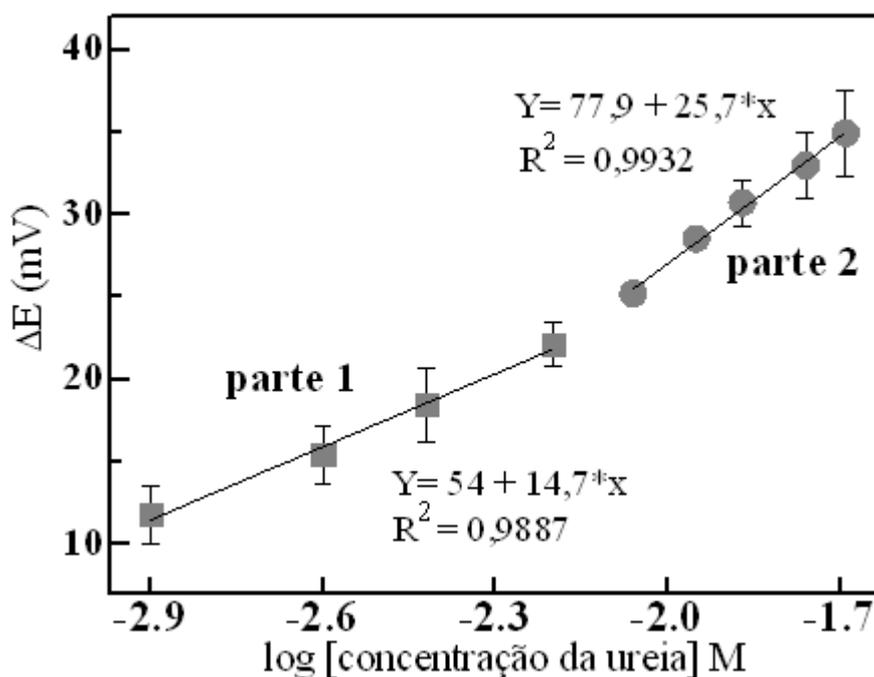


Figura 88. Curva de calibração do eletrodo Nafion/Urs/ZnO/aço dividida em duas partes, dada pela variação do potencial elétrico *versus* o log da concentração da ureia.

Nesse estudo, também foi testada a reprodutibilidade do sensor mostrado no gráfico da Figura 89, dada pela resposta do sensor em função das vezes que foram reutilizados (número de reuso). Apresenta atividade enzimática significativa para a concentração de 9 mM de uréia mesmo após cinco vezes de reuso.

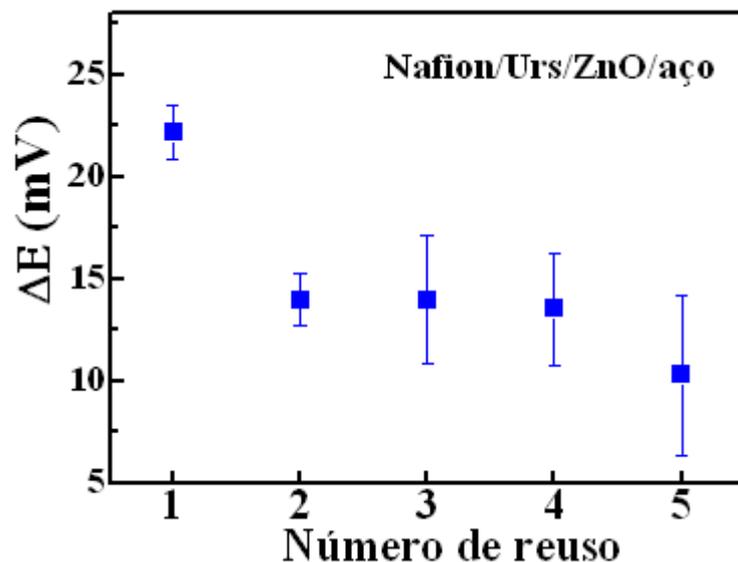


Figura 89. Curva da resposta do sensor (Nafion/Urs/ZnO/aço) em função do número de reuso para a concentração de 9 mM de uréia.

Também foi avaliada a estabilidade do sensor após ser armazenado em solução tampão e mantido a 4° C durante 3 semanas (Fig. 90). Na primeira, segunda e terceira semana o sensor apresenta o mesmo comportamento de resposta na detecção da uréia (1 a 9 mM). Portanto, mesmo após 3 semanas de reuso, o sensor manteve a sua atividade catalítica e ainda apresentou uma importante resposta para a ureia na escala que é considerada dentro dos níveis normais.

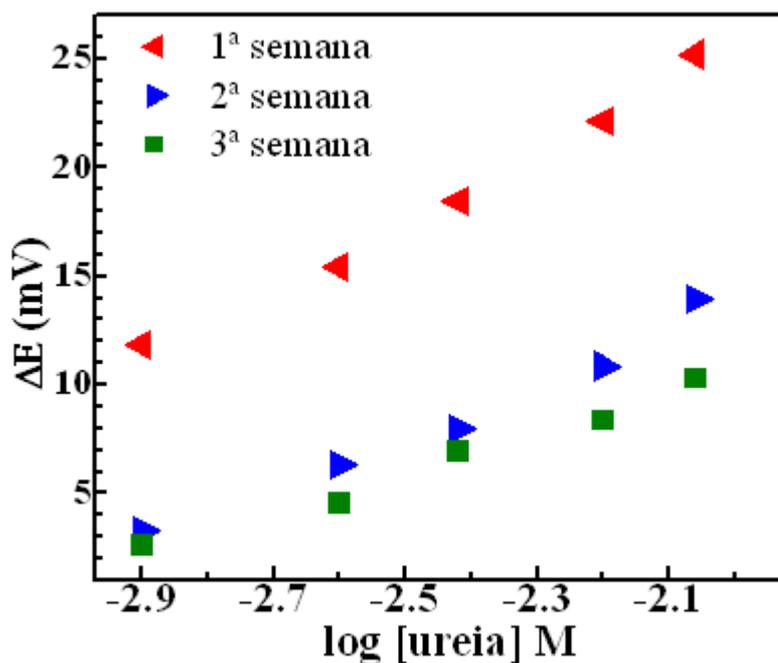


Figura 90. Curva da resposta do sensor (Nafion/Urs/ZnO/aço) em função da concentração de uréia (1 a 9 mM) após três semanas de armazenagem em tampão a 4°C.

Nos testes eletroquímicos do sensor de ureia também foram verificadas possíveis interferências de substâncias que podem ser encontradas no sangue humano, e alterar o comportamento do sensor de ureia. Foram realizadas medidas de potenciometria com adições de alíquotas de 1 mM de ureia, 1 mM de ácido ascórbico, 6 mM de glicose, 6 mM de NaCl e 6 mM de KCl. O resultado dessas medidas é ilustrado na Figura 91. Observamos que o sensor tem uma alta seletividade para a ureia e uma menor seletividade para as demais substâncias.

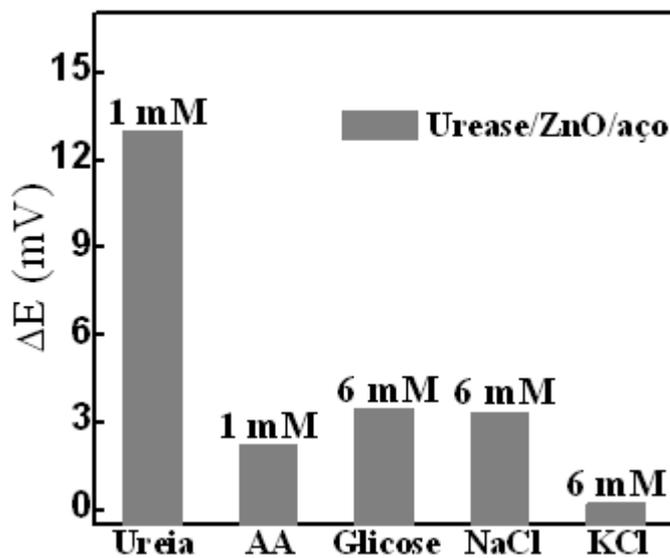


Figura 91. Curva obtida com a Potenciometria para o estudo de substâncias interferentes, tais como: ácido ascórbico, glicose, NaCl e KCl.

Desta forma, estes resultados demonstram que os sensores desenvolvidos neste trabalho possuem um potencial claro de aplicação.

6. Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados filmes de ZnO, crescidos sobre diferentes substratos (vidro, cobre e aço inoxidável) através do método CBD. Podemos afirmar que preparamos filmes de ZnO nanoestruturado na forma de colunas verticais bem definidas, com orientação cristalina preferencial na direção (0001).

O estudo da influência do tempo e o reagente DAP na deposição de ZnO permitiu entender as etapas de formação das estruturas de ZnO sobre o substrato aço inox. Concluímos que, modificando o tempo de deposição, altera-se diretamente o diâmetro das colunas, e variando a concentração do DAP aumenta-se linearmente a altura das nanocolunas. Portanto, é possível controlar a espessura do filme através da concentração do DAP.

Com o estudo *in situ* da formação de ZnO sobre grafite, podemos afirmar que houve a formação de estruturas de ZnO após cerca de 48 minutos de reação. Também propomos um estudo da formação de estruturas de ZnO com a morfologia do tipo flores.

Os testes eletroquímicos mostraram que o eletrodo GOx/ZnO/aço é sensível à presença de glicose em solução aquosa. O sensor também apresenta uma boa resposta para as variações da concentração da glicose, e possui um comportamento linear para a corrente elétrica em função do aumento da concentração da glicose.

O sensor de ureia apresentou sensibilidade na presença da solução de ureia e possui uma boa atividade enzimática para as adições de alíquotas de ureia. O sensor de ureia também é seletivo às espécies como o ácido ascórbico, glicose, KCl e NaCl.

Como perspectivas de trabalhos futuros temos o emprego das nanoestruturas de ZnO obtidas com a síntese descrita aqui em outros tipos de sensores (pH, colesterol, etc.).

Referências

- [1] LI, Z. et al. Morphology control and transition of ZnO nanorod arrays by a simple hydrothermal method. *Materials Letters* **2008**, 62 1503-1506.
- [2] TIEKUN, J. et al. Controlling Growth of ZnO Nanostructures Via a Solution Route. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater*, **2009**, 24, 2.
- [3] MIN, G. PENG, D. SHENGMIN, C. Hydrothermal growth of well-aligned ZnO nanorod arrays: Dependence of morphology and alignment ordering upon preparing conditions. *Journal of Solid State Chemistry*, **2005**, 178, 1864-1873.
- [4] KUVESHNI, G. DAVID S. B, PETER B. K, PAUL O'B. Understanding the factors that govern the deposition and morphology of thin films of ZnO from aqueous solution. *J. Mater. Chem.* 2004, 14, 2575-2591.
- [5] AMIR, M. MICHAEL, C. ANDREW, M. Aqueous pathways for the formation of zinc oxide nanoparticles. *Dalton Trans*, 2011, 40, 4871-4878.
- [6] CHEN, L. CHUANG, Y. Hydrothermal synthesis and characterization of hexagonal zinc oxide nanorods with a hexamethylenetetramine (HMTA) template-assisted at a low temperature. *Materials Letters* **2012**, 68, 460-462.
- [7] TONG, Y. et al. Growth of ZnO Nanostructures with Different Morphologies by Using Hydrothermal Technique. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 20263-20267.
- [8] MORKOÇ, H. OZGUR, U. Zinc Oxide: Fundamentals, Materials and Device Technology. EUA. *Wiley-VCH*. **2009**.
- [9] WANG, Z. L. Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications. *J. Phys.: Condens. Matter*, **2004**, 16, R829-R858.
- [10] MASUDA, Y. KATO, K. Morphology Control of Zinc Oxide Particles at Low Temperature. *Crystal Growth & Design*, **2008**, 8, 8.
- [11] HERNG, T. S. KUMAR, A. ONG, C. S. FENG, Y. P. LU, Y. H. ZENG, Y. K. DING, J. Investigation of the non-volatile resistance change in noncentrosymmetric compounds. *Nature*, **2012**, 2, 587.
- [12] PEARTON, S. J. NORTO, D. P. IPA, K. HEO, Y. W. STEINER, T. Recent progress in processing and properties of ZnO. *Superlattices and Microstructures*, **2003**, 34, 3-32.
- [13] REZENDE, M. S. Materiais e Dispositivos Eletrônicos. Livraria da Física. São Paulo. 2ª Ed. **2004**.
- [14] DE MELLO, A. H. BIASI, S. R. Introdução à Física dos Semicondutores. Edgard Blucher. São Paulo, **1975**.

[15] NUSSBAUM, A. Comportamento eletrônico e magnético dos materiais. São Paulo. Editora Edgard Blucher. **1973**.

[16] www.google.com.br/semicondutores acessado em 22/02/2014.

[17] [18] VAN VLACK, L. H. Princípios de Ciência dos Materiais. São Paulo. Ed. Blucher. 1970.

[18] WANG, X. Q. et al. Controllable ZnO Architectures by Ethanolamine-Assisted Hydrothermal Reaction for Enhanced Photocatalytic Activity. *J. Phys. Chem.* **2011**, C 115, 2769-2775.

[19] HUA, S. H. et al. Development of a wet chemical method for the synthesis of arrayed ZnO Nanorods. *Journal of Alloys and Compounds* **2010**, 500 L17-L21.

[20] SELIM, F. A. Nature of Native Defects in ZnO. *Physical Review Letters* **2007**, 99, 085502.

[21] KIM, Y. S. PARK, C. H. Rich Variety of Defects in ZnO via an Attractive Interaction between O Vacancies and Zn Interstitials: Origin of *n*-Type Doping. *Physical Review Letters* **2009**, 102, 086403.

[22] GUO, M. DIAO, P. CAI, S. Hydrothermal growth of well-aligned ZnO nanorod arrays: Dependence of morphology and alignment ordering upon preparing conditions. *Journal of Solid State Chemistry* **2005**, 178, 1864-1873.

[23] PETERSEN, W. E. et al. Growth of ZnO nanowires catalyzed by size-dependent melting of Au nanoparticles. *Nanotechnology* **2009**, 20, 405603 .

[24] GUANGTAO, Y. et al. Synchrotron radiation assistant MOCVD deposition of ZnO films on Si substrate. *Applied Surface Science* **2009**, 255, 7695 -7699.

[25] WAGNER, R. Vapor-Liquid-Solid Mechanism of single crystal Growth. *Applied Physics letters* 1964, 4, 89-90

[26] VAYSSIERES, L. Growth of Arrayed Nanorods and Nanowires of ZnO from Aqueous Solutions. *Adv. Mater.* **2003**, 15, 5.

[27] VAYSSIERES, L. KEIS, K. HAGFELDT, A. LINDQUIST, S. Three-Dimensional Array of Highly Oriented Crystalline ZnO Microtubes. *Chem. Mater.*, **2001**, 13, 12.

[28] BOYLE, S. D. GOVENDER, K. O'BRIEN, P. Novel low temperature solution deposition of perpendicularly orientated rods of ZnO: substrate effects and evidence of the importance of counter-ions in the control of crystallite growth. *Chem. Commun*, **2002**, 80-81.

[29] GREENE, L. Low-Temperature Wafer-Scale Production of ZnO Nanowire Arrays. *Angew. Chem. Int.* **2003**, 42, 3031-3034.

- [30] RODRIGUES, A. ALVES, M. C. M., MORAIS, J. Self-assembled nanocolumnar ZnO films chemically deposited on stainless steel with controlled morphology and thickness. *Materials Letters* **2014**, 114, 122-125.
- [31] LI, Q. BIAN, J. SUN, J. WANG, J. LUO, Y. SUN, K. YU, D. Controllable growth of well-aligned ZnO nanorod arrays by low-temperature wet chemical bath deposition method. *Applied Surface Science*, **2010**, 256, 1698-1702.
- [32] YANG, J. et al. Low-temperature growth and optical properties of ZnO nanorods. *Journal of Alloys and Compounds*, **2008**, 450, 521-524.
- [33] LOCKMANA, Z. Formation of self-aligned ZnO nanorods in aqueous solution. *Journal of Alloys and Compounds* **2010**, 493, 699-706.
- [34] LI, J. W. et al. Growth mechanism and growth habit of oxide crystals. *Journal of Crystal Growth* **1999**, 203, 186-196
- [35] CHEN, S. W. WU, J. M. Nucleation mechanisms and their influences on characteristics of ZnO nanorod arrays prepared by a hydrothermal method. *Acta Materialia* **2011**, 59, 841-847.
- [36] XU, S. WANG. L. Z. One-Dimensional ZnO Nanostructures: Solution Growth and Functional Properties. *Nano Res.* **2011**, 4, 1013-1098.
- [37] JEONG, S. J. Single-Crystalline ZnO Microtubes Formed by Coalescence of ZnO Nanowires Using a Simple Metal-Vapor Deposition Method. *Chem. Mater.* **2005**, 17, 2752-2756.
- [38] TONG, Y. et al. Growth of ZnO Nanostructures with Different Morphologies by Using Hydrothermal Technique. *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 20263-20267.
- [39] AHSANULHAQ, Q. Seedless Pattern Growth of Quasi-Aligned ZnO Nanorod Arrays on Cover Glass Substrates in Solution. *Nanoscale Res Lett* **2010**, 5, 669-674.
- [40] NEIL, Y. S. Hydrothermal Growth of ZnO Nanorods Aligned Parallel to the Substrate Surface. *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 9234-9239.
- [41] YANG, H. J. Growth mechanism and optical properties of ZnO nanotube by the hydrothermal method on Si substrates. *Journal of Alloys and Compounds* **2009**, 475, 741-744.
- [42] TAK, Y. YONG, K. Controlled Growth of Well-Aligned ZnO Nanorod Array Using a Novel Solution Method. *J. Phys. Chem. B.* **2005**, 109, 19263-19269.
- [43] SOUNART, T. L. et al. Secondary Nucleation and Growth of ZnO. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 15786-15793.
- [44] SOUNART, T. L. et al. Sequential Nucleation and Growth of Complex Nanostructured Films. *Adv. Funct. Mater.* **2006**, 16, 335-344.

- [45] YU, J. HUANG, B. QIN, X. ZHANG, X. WANG, Z. LIU, H. Hydrothermal synthesis and characterization of ZnO films with different Nanostructures. *Applied Surface Science*, **2011**, 257, 5563-5565.
- [46] KUO, C. L. KUO, T. J. HUANG, M. H. Hydrothermal Synthesis of ZnO Microspheres and Hexagonal Microrods with Sheetlike and Platelike Nanostructures. *J. Phys. Chem. B*, **2005**, 109, 20115-20121.
- [47] YI, S. H. CHOI, S. K. JANG, M. J. KIM, J.JUNG, W. G. Low-temperature growth of ZnO nanorods by chemical bath deposition. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2007**, 313, 705-710.
- [48] JIANG, H. HU, J. GU, F. LI, C. Stable field emission performance from urchin-like ZnO nanostructures. *Nanotechnology*, **2009**, 20, 055706.
- [49] XU, W Z. YE, Z.Z. MA, D.W. LU, H. M. ZHU, L. P. YANG, X. D. ZHAO, B. H. XU, Z. Y. Quasi-aligned ZnO nanotubos grown on Si substrates. *Appl. Phys. Lett.* **2005**, 87, 093110.
- [50] KLINGSHIRN, C. ZnO: From basics towards applications. *Phys. Stat. Sol*, **2007**, 244, 3027-3073.
- [51] WANG, X. SUMMER, J. C. WANG, L. Z. Large-scale hexagonal-patterned growth of aligned ZnO nanorods for nano-optoelectronics and nanosensor arrays. *Nano Letters*, **2004**, 423-426.
- [52] WONG, K. K. et al. Effect of ZnO Nanoparticle Properties on Dye-Sensitized Solar Cell Performance. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2012**, 4, 1254-1261.
- [53] LEE, S. KIM, H. YUN, J. D. RHEE, W. S. YONG, K. Resistive switching characteristics of ZnO thin film grown on stainless steel for flexible nonvolatile memory devices. *Appl Phys Lett* **2009**, 95, 262113.
- [54] CHU, S. et al. Electrically pumped waveguide lasing from ZnO nanowires. *Nature Nanotechnology* **2011**, 6.
- [55] STRAUMAL, B. B. Ferromagnetism of Zinc Oxide Nanograined Films. *JETP Letters* **2013**, 97, 6.
- [56] HARIHARAN, C. Photocatalytic degradation of organic contaminants in water by ZnO nanoparticles: Revisited. *Applied Catalysis A: General* **2006**, 304, 55-61.
- [57] Li, X. et al. Comparison of photocatalytic activity of ZnO rod arrays with various diameter sizes and orientation. *Journal of Alloys and Compounds* **2013**, 580, 205-210.
- [58] LIU, X. et al. Aligned ZnO nanorods: A useful film to fabricate amperometric glucose biosensor. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2009**, 74, 154-158.
- [59] SUN, X. W. WANG, X. J. WEI, A. Zinc Oxide Nanostructured Biosensor for Glucose Detection. *J. Mater. Sci. Technol*, **2008**, 24.

- [60] DAI, Z. et al. Immobilization and direct electrochemistry of glucose oxidase on a tetragonal pyramid-shaped porous ZnO nanostructure for a glucose biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, 24, 1286-1291.
- [61] WANG, J. Electrochemical Glucose Biosensors. *Chem. Rev.* **2008**, 108, 814-825.
- [62] BANKAR, B. S. et al. Glucose Oxidase - An Overview. *Biotechnology Advances* **2009**, 27, 489-501.
- [63] KONG, T. et al. An amperometric glucose biosensor based on the immobilization of glucose oxidase on the ZnO nanotubes. *Sensors and Actuators B*, **2009**, 138, 344-350.
- [64] YOO, H. E. LEE, Y. S. Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice. *Sensors* **2010**, 10, 4558-4576.
- [65] <http://www.rcsb.org> acesso em 06/03/2014.
- [66] YANG, K. ZnO Nanotube Arrays as Biosensors for Glucose. *J. Phys. Chem. C* **2009**, 113, 20169-20172.
- [67] WEI, A. et al. Enzymatic glucose biosensor based on ZnO nanorod array grown by hydrothermal decomposition. *Applied Physics Letters* **2006**, 89, 123902.
- [68] DHAWAN, G. SUMANA, G. MALHOTRA, D. B. Recent developments in urea biosensors. *Biochemical Engineering Journal* **2009**, 44, 42-52.
- [69] IVANOVA, S. et al. Urea Amperometric Biosensors Based on Nanostructured Polypyrrole and Poly Ortho-Phenylenediamine. *Open Journal of Applied Biosensor*, **2013**, 2, 12-19.
- [70] ANSARI, G. S. et al. Effect of nanostructure on the urea sensing properties of sol-gel synthesized ZnO. *Sensors and Actuators B* 137 (**2009**) 566-573.
- [71] <http://www.bmb.msu.edu> acesso em 01/03/2014.
- [72] AHMAD, R. TRIPATHY, N. HAHN, B. Y. Highly stable urea sensor based on ZnO nanorods directly grown on Ag/glass electrodes. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, 194, 290-295.
- [73] KITTEL, C. Introdução à Física do Estado Sólido. 5ª ed. Rio de Janeiro. *Guanabara*, **1978**.
- [74] OLIVEIRA, S. I. DE JESUS, B. L. V. Introdução à Física do Estado Sólido. São Paulo. Editora Livraria da Física. **2011**.
- [75] BRIAN S. M. An Introduction to Materials Engineering and Science for Chemical and Materials Engineers. New Jersey, *Wiley-Interscience*, **2004**.
- [76] WATTS, J. WOLSTENHOLME, J. An Introduction to Surface Analysis by XPS and AES. *Wiley*, **2003**, New York

- [77] CZANDERNA, A.W. *Methods of Surface Analysis*. Amsterdam, **1975**, New York.
- [78] DUKE, P. *Synchrotron Radiation*. Oxford Science Publications, **2000**, New York.
- [79] KONINGSBERGER, D.C, Mojet, B.L, Dorssen, G.E, Ramaker, D.E. XAFS spectroscopy; fundamental principles and data analysis. *Topics in Catalysis*, **2000**, 10, 143-155.
- [80] DE BROGLIE, M. C. R. *Hebd. Seances Acad. Sci.* **1913**, 157, 924
- [81] KRONIG, R. *Phys.* **1931**, 70, 317.
- [82] SAYERS, D. E. E. A. Stern, F. W Lytle,. *Phys. Rev. Lett.* **1971**, 27, 18, 1204.
- [83] CEZAR. J. C. VICENTIN, F. C. TOLENTINO, H. C. N. Aplicação de Técnicas de Absorção de Raios X no Estudo de Materiais Magnéticos. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, **2000**, 22, 3.
- [84] REHR, J. J. ALBERS, R. C. Theoretical approaches to x-ray absorption fine structure. *Reviews of Modern Physics*, **2000**, 72, 3.
- [85] BERNARDI, F. Estudo das propriedades eletrônicas e estruturais de catalisadores avançados. Tese de Doutorado, Porto Alegre, 2010.
- [86] CAETANO, L. B. *In Situ* and Simultaneous UV-vis/SAXS and UV-vis/XAFS Time-Resolved Monitoring of ZnO Quantum Dots Formation and Growth. *J. Phys. Chem. C* **2011**, 115, 4404-4412.
- [87] BRIOIS, V. *In situ* and simultaneous nanostructural and spectroscopic studies of ZnO nanoparticle and Zn-HDS formations from hydrolysis of ethanolic zinc acetate solutions induced by water. *J Sol-Gel Sci Techn* **2006**, 39:25-36.
- [88] MCPEAK, M. K, et al. *In situ* X ray Absorption Near-edge Structure Spectroscopy of ZnO Nanowire growth During Chemical Bath Deposition. *Chem Mater.* **2010**, 22, 6162-6170.
- [89] SHRIVER, D. ATKINS, P. *Química Inorgânica*. 4ª Ed. Porto Alegre. Bookman. **2008**.
- [90] SKOOG, D. et al. *Fundamentos de Química Analítica*. Cengage Learning, **2009**, São Paulo.
- [91] FERNANDES, B. J. C. KUBOTA, T. L. Eletrodos Íon- seletivos: Histórico, Mecanismo de reposta, Seletividade e Revisão dos Conceitos. *Quim. Nova*, **2001**, 24, 120-130.
- [92] PDF Database - Programa PCPDFwin Versão 2.1 – JCPDS-ICDD em CD-ROM.
- [93] <http://cars9.uchicago.edu/ifeffit>
- [94] LEE, W. W. et al. Morphology-Controlled Three-Dimensional Nanoarchitectures Produced by Exploiting Vertical and In-Plane Crystallographic Orientations in Hydrothermal ZnO Crystals. *Cryst. Growth Des.* **2011**, 11, 4927-4932.

- [95] ZHANG, T. et al. Kinetically Probing Site-Specific Heterogeneous Nucleation and Hierarchical Growth of Nanobranches. *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111, 13691-13695.
- [96] LEE, J. Y. et al. Tunable Arrays of ZnO Nanorods and Nanoneedles via Seed Layer and Solution Chemistry. *Crystal Growth & Design*, 2008, 8, 2037-2040.
- [97] GHOSH, R. BASAK, D. Effect of substrate-induced strain on the structural, electrical, and optical properties of polycrystalline ZnO thin films. *J. Appl. Phys.*, **2004**, 96, 5.
- [98] DE LA ROSA, E. et al. Controlling the Growth and Luminescence Properties of Well-Faceted ZnO Nanorods. *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111, 8489-8495.
- [99] SHI, Z. et al. Oxygen-induced physical property variation of deposited ZnO films by metal-organic chemical vapor deposition. *Appl Surf Sci* **2012**, 258, 8673-8677.
- [100] WAN, D. et al. Glucose Biosensor from Covalent Immobilization of Chitosan-Coupled Carbon Nanotubes on Polyaniline-Modified Gold Electrode. *Appl. Mater. Interfaces* **2010**, 2, 3083-3091.
- [101] BRIOIS, V. C. C. D. Moulin, M. Verdaguer. *Actualité Chimique*, **2000**, 3, 31-40.
- [102] GARCIA, J. *J. Phys.* **1986**, 47 (12), C8-49 C8-54.
- [103] RICHENG, P. A. ZnO flowers made up of thin nanosheets and their optical properties. *Journal of Crystal Growth*, **2005**, 282, 165-172.
- [104] XIN-YU XUE, et al. Enhanced Optical and Sensing Properties of One-Step Synthesized Pt-ZnO Nanoflowers. *J. Phys. Chem. C*, **2010**, 114, 18607-18611.

Trabalhos da autora durante o doutorado:

Trabalhos publicados relacionados à Tese:

1. RODRIGUES, A; ALVES, M. C.M. ; MORAIS, J. Self-assembled nanocolumnar ZnO films chemically deposited on stainless steel with controlled morphology and thickness. *Materials Letters*, 122-125, 114, 2014.

Trabalhos em preparação referente à Tese:

1. Investigation of ZnO structures Growth by *in situ* X-ray Absorption Near-Edge Spectroscopy during the hydrothermal synthesis.
2. Probing the ZnO-GOx interaction on a glucose biosensor.

Trabalhos publicados na forma de “Activity Report” relacionado à Tese

1. RODRIGUES, A; BOITA, J; KILIAN, S.A; BERNARDI, F; ALVES, M.C.M; MORAIS, J. Characterization of a ZnO/Si (111) Film Prepared by Chemical Bath Deposition. Activity Report 2010 - LNLS.

Trabalhos publicados na forma de “Activity Report” não relacionado à Tese

1. BOITA, J. KILIAN, S. A. RODRIGUES, A. BERNARDI, F. ALVES, M.C.M. MORAIS, J. Monitoring the formation of $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ particles by *in situ* DXAS and *ex situ* XPS. Activity Report 2010 - LNLS.

Participações em congressos:

[1] Poster - 24^a RAU (Reunião Anual de Usuários) - LNLS. ZnO films chemically deposited on stainless steel with controlled morphology and thickness. Campinas (Brazil), **2014**.

[2] Poster - 23^a RAU (Reunião Anual de Usuários) - LNLS. XANES *in situ* investigation during the growth of ZnO structures. Campinas (Brazil), **2013**.

[3] Contribuição - 23^a RAU (Reunião Anual de Usuários) – LNLS. Hydrothermal synthesis of ZnO: Correlation between structural properties and photocatalytic activity. Campinas (Brazil), **2013**.

[4] Poster - 2012 MRS Fall Meeting & Exhibit. Structural and Electronic Properties of Highly c-axis-Oriented Nanocolumnar ZnO Films. Boston (EUA), **2012**.

[5] Poster - 22^a RAU (Reunião Anual de Usuários) - LNLS. Synthesis and characterization of ZnO nanocolumns. Campinas (Brazil), **2012**.

[6] Poster - Mostra PG 2012. Caracterização de ZnO Nanoestruturado. Porto Alegre (Brasil), **2012**.

[7] Poster - X Brazilian MRS Meeting. Synthesis and Characterization of Nanostructured ZnO Films Deposited on Different Substrates. Gramado (Brazil) **2011**.

[8] Poster - 21^a RAU (Reunião Anual de Usuários) - LNLS. Desenvolvimento de nanoestruturas de ZnO para aplicação em um biosensor de glicose. Campinas (Brazil), **2011**.

[9] Poster - 7th Brazilian/German Workshop on Applied Surface Science. Synthesis and Characterization of Nanostructured ZnO Films: Development of a Glucose Biosensor. Búzios (Brazil) **2011**.

[10] Contribuição - 20^a RAU (Reunião Anual de Usuários) – LNLS. Gênese e propriedades estruturais e fotocatalíticas de partículas micro e nanoestruturadas de ZnO. Campinas (Brasil), **2010**.