

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ABC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NANOCIÊNCIAS E
MATERIAIS AVANÇADOS

GILSON PEDRO LOPES

**Filmes finos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ funcionalizados com glicose oxidase
para detecção de glicose**

SANTO ANDRÉ - SP

2022

GILSON PEDRO LOPES

**Filmes finos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ funcionalizados com glicose oxidase
para detecção de glicose**

Dissertação de mestrado apresentada ao curso de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados da Universidade Federal do ABC como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Nanociências e Materiais Avançados.

Orientadora: Profa. Dra. Marcia Tsuyama Escote

Co-orientadora: Profa. Dra. Iseli Lourenço Nantes

SANTO ANDRÉ – SP

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do ABC
Elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFABC
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Lopes, Gilson Pedro

Filmes finos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ funcionalizados com glicose oxidase para detecção de glicose / Gilson Pedro Lopes. — 2022.

80 fls. : il.

Orientadora: Márcia Tsuyama Escote

Coorientadora: Iseli Lourenço Nantes

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do ABC, Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados, Santo André, 2022.

1. Biossensores. 2. Niquelatos. 3. Perovskita. 4. Glicose. I. Escote, Márcia Tsuyama. II. Nantes, Iseli Lourenço. III. Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados, 2022. IV. Título.

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, de acordo com as observações levantadas pela banca examinadora no dia da defesa, sob responsabilidade única do(a) autor(a) e com a anuência do(a) (co)orientador(a).

Santo André , 04 de Outubro de 2022 .

Gilson Pedro Lopes

Nome completo e Assinatura do(a) autor(a)

Signer ID: C6P03VVLO8...

Márcia Tsuyama Escote

Nome completo e Assinatura do(a) (co)orientador(a)



SIGAA - Sistema Integrado de Gestão de Atividades Acadêmicas
UFABC - Fundação Universidade Federal do ABC
Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados
CNPJ nº 07.722.779/0001-06
Av. dos Estados, 5001 - Bairro Santa Terezinha - Santo André - SP - Brasil
ppg.nanomat@ufabc.edu.br



FOLHA DE ASSINATURAS

Assinaturas dos membros da Banca Examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato GILSON PEDRO LOPES, realizada em 14 de Setembro de 2022:

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCIA TSUYAMA ESCOTE
Data: 14/09/2022 12:53:42-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dra. MARCIA TSUYAMA ESCOTE, UFABC

Presidente - Interno ao Programa

Documento assinado digitalmente
gov.br JULIANA MARCHI
Data: 14/09/2022 17:51:56-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dra. JULIANA MARCHI, UFABC

Membro Titular - Examinador(a) Interno ao Programa

Documento assinado digitalmente
gov.br FABIANA VILLELA DA MOTTA
Data: 15/09/2022 18:26:20-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Dra. FABIANA VILLELA DA MOTTA, UFRN

Membro Titular - Examinador(a) Externo à Instituição

Dr. DANIEL ZANETTI DE FLORIO, UFABC

Membro Suplente - Examinador(a) Interno ao Programa

Dra. DENISE CRIADO PEREIRA DE SOUZA, UFABC

Membro Suplente - Examinador(a) Externo ao Programa

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001."

Dedico esta conquista

À minha mãe, ao meu pai e em memória de meu irmão,

Principais incentivadores nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Márcia Tsuyama Escote, pelo embasamento que precedeu este trabalho, por todos os conselhos, orientações e paciência, que não se limitaram a parte acadêmica, mas sim à carreira e a vida.

Aos meus pais, Geraldo e Emília, por sempre ressaltarem a importância dos estudos e pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, sobretudo neste período acadêmico. A Ana Clara Lopes da Costa pelo amor, companheirismo e apoio incondicional.

Aos amigos e colegas do Lab. de Materiais Avançados – Nanoestruturas e dispositivos (LMAND). Em especial, ao Jessica Helisa Hautrive Rossato, Murillo Donizetti dos Santos Rosa, pela amizade, discussões e conselhos prestado. Não seria possível a realização da parte experimental deste trabalho sem esta ajuda e conhecimento. Aos Prof. Alexandre Lanfredi e Prof. José Fernando Queiruga Rey do LMAND pelas contribuições, discussões e pelos cafés.

À coorientadora, Prof^a. Iseli Lourenço Nantes e colegas do laboratório de Nanoestruturas e Materiais Avançados pelas diversas colaborações.

Ao Prof. Neftali Lenin Villareal Carreño e ao grupo Novonano - Grupo de Tecnologias Aplicadas em Materiais Avançados pelas diversas colaborações. Em especial, ao Lucas da Silva Rodrigues pelas colaborações, discussões e amizade.

Aos técnicos da Central Experimental Multiusuário (UFABC) pelo suporte experimental e treinamentos. Por fim, aos membros da banca, pela colaboração neste trabalho.

À UFABC e a CAPES, pelo suporte para realização deste mestrado.

RESUMO

A glicose é um composto essencial ao corpo humano pois está diretamente relacionada a processos metabólicos importantes. Por isso, o monitoramento é um importante mecanismo para controle de doenças e acompanhamento de processos metabólicos. A literatura descreve diferentes materiais e compósitos para a construção de biossensores de glicose. Entre estes, a família de óxidos RNiO_3 , (R = terra rara) tem sido estudada por apresentarem características que são interessantes para diferentes aplicações que envolvem biossensores, catalise, dispositivos eletrônicos, entre outras. Estes óxidos ($\text{R} \neq \text{La}$) cristalizam-se na estrutura perovskita distorcida ortorrombicamente e apresentam propriedades físicas diferenciadas, como a presença de uma transição metal-isolante que pode ser modulada por dopagem, tensão na rede e introdução de defeitos. Neste trabalho, foi investigado a sensibilidade das propriedades de transporte de filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($x=0; 0,30; 0,35$) funcionalizados com enzimas GOx (*Glucose Oxidase*) na presença de glicose. Os filmes foram preparados por deposição de solução química e a presença da fase cristalina desejada foi confirmada por caracterizações através de difração de raios X. Imagens de microscopia eletrônica de varredura indicam uma microestrutura superficial homogênea e livre de trincas, com espessuras da ordem de 320nm. As medidas de resistividade elétrica versus temperatura nos filmes revelaram a presença da transição MI, com variação crescente de 200 a 330K para os filmes com $x= 0, 0,30$ e $0,35$, respectivamente. Para a construção dos biossensores, eletrodos de ouro (~100 nm) foram depositados e foram funcionalizados com cisteamina e GOx . Medidas de resistência elétrica versus tempo, a temperatura ambiente, foram usadas para monitorar a interação de glicose sobre estes filmes. Os filmes de $x=0$ e $0,35$ apresentaram uma resposta expressiva a presença da Glicose mesmo em concentrações da ordem de 10^{-12} ML^{-1} . Foi avaliado interferência, seletividade, repetitividade e reprodutibilidade dos resultados. A introdução de Eu^{3+} na matriz de NdNiO_3 modifica sua estrutura eletrônica, isto parece ter uma relação direta com a resposta sensora destes dispositivos, de fato a literatura descreve o mecanismo de reação como dependente da proporção $\text{Ni}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$ e da T_{MI} dos niquelatos. Os resultados preliminares sugerem que estes compostos podem ser excelentes candidatos para a construção de biossensores de glicose.

PALAVRAS-CHAVE: Biossensor de glicose; sensores enzimáticos; niquelatos; glicose oxidase; resistência elétrica; transição metal-isolante;

ABSTRACT

Glucose is an essential compound for human body, which are directly related to metabolic processes. Therefore, monitoring is an important mechanism for disease control and monitoring of metabolic processes. The literature describes several materials and composites for the construction of glucose biosensors. Among these, the family of oxides RNiO_3 , (R=rare earth) has been studied because they have characteristics that are interesting for several applications involving biosensors, catalysis, electronic devices, etc. These oxides ($\text{R} \neq \text{La}$) crystallize in the orthorhombically distorted perovskite structure with different physical properties, such as the presence of a metal-insulator transition that can be modulated by doping, lattice voltage and introduction of defects. In this work, the sensitivity of the transport properties of $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ films ($x=0; 0.30; 0.35$) functionalized with GOx enzymes (Glucose Oxidase) to the presence of glucose was investigated. The films were prepared by chemical solution deposition, X-ray diffraction characterizations show the presence of the desired crystalline phase. Scanning electron microscopy images reveal a homogeneous and crack-free surface microstructure, with thicknesses of the order of 320nm. Measurements of electrical resistivity versus temperature in the films indicate the presence of the MI transition ranging from 200 to 330K for the films with $x=0, 0.30$ and 0.35 , respectively. For the construction of the biosensors, gold electrodes (~ 100 nm) were deposited and were functionalized with cysteamine and GOx. Electrical resistance measurements at room temperature were used to monitor the interaction of glucose on these films. Films with $x=0$ and 0.35 showed an expressive response to the presence of glucose even at concentrations of the order of 10^{-12} ML^{-1} . Interference, selectivity, repeatability, and reproducibility of the results were evaluated. The introduction of Eu^{3+} in the NdNiO_3 matrix modifies its electronic structure, this seems to have a direct relationship with the sensing response of these devices, in fact the literature describes the reaction mechanism as dependent on the $\text{Ni}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$ ratio and the T_{MI} values in nickelates. Preliminary results suggest that these compounds may be excellent candidates for the construction of glucose biosensors.

KEY-WORDS: Glucose biosensor; enzymatic sensors; nickelates; glucose oxidase; electrical resistance; metal-insulator transition.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Proporção da população de adultos com diabetes não diagnosticada (CHO et al., 2018).

Figura 2 - Fluxograma com as principais camadas aplicadas na construção de biossensores.

Figura 3 – Reação de oxidação enzimática da molécula de glicose.

Figura 4 – Estrutura eletrônica de óxidos de metais de transição: a) Regime de Mott-Hubbard: $\Delta > U$ e dominância de estados do metal de transição nas proximidades do nível de Fermi. b) Regime de transferência de carga: $\Delta < U$ e caráter misto p-d nas proximidades do nível de Fermi.

Figura 5 – Estrutura perovskita $RNiO_3$: (a) cúbica, (b) ortorrômbica. Nestas os círculos roxos são R; esferas marrons o Ni e as esferas vermelhas o O. (c) ilustra o octaedro NiO_6 e (d)-(e) a distorção deste octaedro com a diminuição do fator de tolerância t e a variação do ângulo de ligação Ni-O-Ni.(CATALANO, S; GILBERT, M.; INIGUEZ, J; TRISCONE, J-M; KREISEL, 2018).

Figura 6 – Diagrama de fases da família de compostos $RNiO_3$ relacionando suas propriedades físicas, estruturais com o ângulo de ligação Ni-O-Ni e o fator de tolerância t . (CATALANO, S; GILBERT, M.; INIGUEZ, J; TRISCONE, J-M; KREISEL, 2018).

Figura 7 – Diagrama esquemático das etapas gerais do processo de eletrooxidação em um eletrodo de perovskita. Mecanismos de eletrooxidação para glicose que ocorrem simultaneamente via (C) por redox Co^{3+}/Co^{4+} , e (D) reação de evolução de oxigênio mediada por oxigênio (LOM-OER) (HE et al., 2017).

Figura 8 - Ilustração esquemática da transferência entre a glicose e os filmes perovskitas: a) Figura esquemática da transferência de hidrogênio atômico da glicose para a perovskita, onde as enzimas de glicose oxidase (GOx) são ancoradas no eletrodo de ouro por meio de ligação de cistamina, b) Mecanismo de reação de transformação de glicose em gluconolactona. A enzima GOx servindo como um catalisador e transfere o hidrogênio da glicose para o $SmNiO_3$, conhecido como G- $SmNiO_3$, c)

Configuração de preenchimento de elétrons dos orbitais Ni 3d em SmNiO₃ e G-SmNiO₃ (adaptado de (ZHANG et al., 2019a)).

Figura 9 – Desenho esquemático dos principais métodos de deposição Desenho esquemático dos principais métodos de deposição: *Coating*, deposição direta, Impressão e crescimento direto (adaptado de (AHMAD et al., 2018)).

Figura 10 – Ilustração esquemática das reações de complexação e poliesterificação dos reagentes para a formação das soluções sol-gel (UNIFESP).

Figura 11 – Difractogramas de raios X dos filmes de (a) NNO; (b) NENO30 e (c) NENO35 depositados sobre substrato de SiO₂/Si(100) com 6 camadas de deposição.

Figura 12 – (a) Microscopia da superfície da amostra NdNiO₃ (40000x); (b) da superfície da amostra NENO30 (100000x); e da (c) da superfície da amostra NENO35 (40000x), com o histograma dos diâmetros das partículas das amostras.

Figura 13 – Espectro de FTIR obtidos para: (a) o substrato de SiO₂/Si(100); (b) Filme de NNO; (c) Filme NENO30 e (d) Filme NENO35.

Figura 14 – (a) Espectroscopia de UV-vis e (b) gráfico de Tauc dos filmes de NNO, NENO30 e NENO35.

Figura 15 – Esquema da estrutura eletrônica dos niquelatos no estado metálico e isolante.

Figura 16 – (a) Curvas de resistência elétrica $R(T)/R(300K)$ versus temperatura (K) para os filmes de Nd_{1-x}Eu_xNiO₃/SiO₂/Si(100) com 6 camadas. Curvas de $-d(\ln(R))/dT$ versus temperatura para as amostras b) NNO, c) NENO30 e d) NENO35.

Figura 17 – Esquema do dispositivo enzima-NNO, com eletrodos de ouro decorados com Glicose Oxidase (GOx).

Figura 18 – Ilustração do processo de decoração da superfície de ouro com enzimas de GOx (adaptado de (ZHANG et al., 2019b)).

Figura 19 – Ilustração esquemática das medidas elétricas dos filmes.

Figura 20 - FT-Raman amostra de a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 decoradas com a cisteamina, antes e após a funcionalização.

Figura 21 – Espectros de UV-vis das amostras de a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 decorados com GOx, respectivamente, antes e após a deposição de uma solução de 0,5 M de glicose na superfície.

Figura 22 – Gráfico de Tauc estimado para a 2 transição nos filmes de (a) NNO/Au/Cys/GOx; (b) NENO30/Au/Cys/GOx; e (c) NENO35/Au/Cys/GOx.

Figura 23 – Resistência temporal dos dispositivos de a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35, decorados com as enzimas GOx, durante a adição de uma solução de glicose de 0,5 M na superfície.

Figura 24 – Variação da resposta elétrica em função da concentração de glicose para os dispositivos de a) NNO/Au/Cys/GOx, b) NENO30/Au/Cys/GOx e c) NENO35/Au/Cys/GOx.

Figura 25 – Medidas de R/R_0 versus tempo para os dispositivos de GOx-NENO30 repetido por 3 vezes, após reação com 0,5M de Glicose.

Figura 26 – Seletividade dos filmes a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 a soluções de 0,5 M de Frutose.

Figura 27 – Seletividade dos filmes a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 a soluções de 0,5 M de Galactose.

Figura 28 – Curvas de R/R_0 versus tempo com a adição de 0,5M de glicose nos filmes NNO de ITO/PET e Si (100)/SiO₂ decorados com GOx.

Figura 29 – Estabilidade dos dispositivos de a) GOx-NNO, b) GOx-NENO30 e c) GOx-NENO35 monitorada por 30 min, após reação com 0,5M de Glicose.

Figura 30 – Estabilidade do filme de NENO30 decorados com GOx monitorada ao longo de dias, após reação com 0,5M de Glicose.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros de rede (a, b e c), parâmetro de rede projetado para uma estrutura pseudo-cúbica (apc), volume da cela unitária (V), tamanho de cristalito (D) e tensão na interface filme/substrato (e), para os filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$.

Tabela 2 – Diâmetros de partículas médios dos filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$.

Tabela 3 – Temperaturas de Transição Metal-Isolante das curvas de resfriamento (TMIdesc) e aquecimento (TMIsup) para os filmes de $\text{NdNiO}_3/\text{SiO}_2/\text{Si}(100)$.

Tabela 4 – Biossensores de glicose de base perovskita.

LISTA DE ABREVIATURAS

NNO – NdNiO₃

NENO30 – Nd_{0,7}Eu_{0,3}NiO₃

NENO35 – Nd_{0,65}Eu_{0,35}NiO₃

GOx – *Glucose Oxidase*

Cys – Cisteamina

T_{MI} – Temperatura de transição metal-isolante

FHWM – Largura a meia altura

LOM – Mediado por oxigênio da rede (*Lattice Oxygen Mediated*)

OER – Reação de evolução do oxigênio (*Oxygen Evolution Reaction*)

GCE – Eletrodo de carbono vítreo

CGM - Monitoramento contínuo da glicemia

ISF - Fluido intersticial

CSD - Deposição de solução química

LOD - Limite de detecção

PtNPs – Nanopartículas de platina

AuNPs – Nanopartículas de ouro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 MOTIVAÇÃO	12
1.2 LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	13
1.2.1 DIABETES	13
1.2.2 MONITORAMENTO DA GLICOSE	16
1.3 BIOSSENSORES DE NNO	18
1.3.1 BIOSSENSORES	18
1.3.2 COMPONENTES E FUNCIONAMENTO DE UM BIOSSENSOR	20
1.3.3 COMPONENTES BIOLÓGICOS	21
1.3.3.1 GLICOSE OXIDASE	22
1.3.4 SISTEMA DE TRANSDUÇÃO	23
1.3.4.1 NIQUELATOS DE TERRAS RARAS	23
1.3.4.2 MECANISMO DE REAÇÃO	28
1.3.5 CRESCIMENTO DOS FILMES DE $RNiO_3$	30
2. METODOLOGIA	34
2.1 FILMES DE $ND_{1-x}EU_xNiO_3$ DEPOSITADOS POR CSD	34
2.2 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES PRECURSORAS	34
2.3 CRESCIMENTO DOS FILMES	35
2.4 CARACTERIZAÇÕES ESTRUTURAIS E MICROESTRUTURAIS	36
2.5 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	36
2.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	37
2.7 ESPECTROSCOPIA DE INFAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	38
2.8 ESPECTROSCOPIA NO ESPECTRO DO VISÍVEL (UV-VIS)	38
2.9 MEDIDAS DE TRANSPORTE ELÉTRICO	39
3 RESULTADOS FILMES $ND_{1-x}R_xNiO_3$	41
3.1 CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E MICROESTRUTURAIS DOS FILMES DE $ND_{1-x}R_xNiO_3$	41
3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	44
3.3 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFAVERMELHO POR TRANSFORMADO DE FOURIER (FT-IR)	46
3.4 MEDIDAS DE RESISTIVIDADE ELÉTRICA	48

4 BIOSSENSOR DE GLICOSE	51
4.1 MONTAGEM EXPERIMENTAL.....	51
4.2 DECORAÇÃO DAS SUPERFÍCIES DOS DISPOSITIVOS COM ENZIMAS GOX	51
4.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FT-RAMAN) 53	
4.4 ESPECTROSCOPIA NO ESPECTRO DO VISÍVEL (UV-VIS).....	53
4.5 CARACTERIZAÇÕES DE PROPRIEDADES SENSORAS	53
4.5.1 MEDIDAS DE RESISTIVIDADE ELÉTRICA	53
4.6 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOSSENSORES.....	55
4.6.1 FT-RAMAN.....	55
4.6.2 UV-VIS	57
4.7 MEDIDAS DE TRANSPORTE	58
4.7.1 APLICAÇÃO DO BIOSSENSOR	59
4.7.2 REPRODUTIVIDADE DOS DISPOSITIVOS NENO/GOX.....	61
4.7.3 SELETIVIDADE DOS DISPOSITIVOS NENO/GOX.....	62
4.7.4 ESTABILIDADE DISPOSITIVOS NENO/GOX.....	63
4.8 APLICAÇÃO	64
5. CONCLUSÕES	67
6. ATIVIDADES FUTURAS	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1. INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

Na literatura a glicose é um carboidrato essencial no corpo humano, envolvida em mecanismos metabólicos importantes como a fosforização oxidativa e glicólise para a criação de proteínas, glicogênios e lipídios (THATIKAYALA et al., 2020). Uma das principais doenças associada a esse carboidrato é a diabetes, cujo diagnóstico e controle requerem o monitoramento do nível de glicose de maneira acurada, sensível, confiável, rápida e de maneira que permita aferição diária no paciente. Geralmente no monitoramento da glicose, reações glicose/enzima produzem H_2O_2 , que apesar de ser uma molécula instável, pode ser danoso, por exemplo, no metabolismo de proteína, carboidratos entre outros.

Assim, diferentes métodos analíticos têm sido propostos para quantificar a concentração de glicose em diferentes fluídos corpóreos, podendo ser classificadas de acordo com o nível agressividade na medida (técnicas invasivas, minimamente invasiva, ou não invasiva). Tanto no sangue quanto no suor em seres humanos, técnicas de espectroscopias, eletroquímicas, cromatografia, entre outras, são efetivamente aplicadas em diferentes estudos, apresentando resultados satisfatórios de sensibilidade e seletividade (CHINNAPPAN et al., 2022; ZAFAR et al., 2022). Também diferentes materiais nanoestruturados têm sido propostos e funcionalizados com enzimas, de forma a permitir aplicação em plataformas sensoras para glicose (THATIKAYALA et al., 2020). Entre estes materiais podemos citar compósitos nanoestruturas de ouro/nanotubo de carbono/GCE, poli(3,4-etileno dioxidotiofeno):poli(estireno sulfonato) (PEDOT:PSS)/PET e com eletrodos de platina, nano partículas de Fe_3O_4 :Poliamidoamina (PAMAN), nanocubos de Cu_2O :grafeno, entre outros (CHINNAPPAN et al., 2022; LEE et al., 2021).

Entretanto, poucos trabalhos estudam a aplicação de compostos niquelatos como sensores de glicose. Em trabalhos descritos na literatura (SIVAKUMAR et al., 2017)(WANG et al., 2013) foram montados sensores eletroquímicos não enzimáticos com nanopartículas e nanofibras de $NdNiO_3$ e $LaNiO_3$, respectivamente. Em outros estudos, plataformas de filmes finos de $SmNiO_3$ e $NdNiO_3$ /Náfion também foram usadas para estudos de biossensores enzimáticos de glicose e glutamato para a construção de neurotransmissores (SUN et al., 2020; ZHANG et al., 2019a). Por apresentarem propriedades físicas (transição metal-isolante MI) que podem ser controladas por diferentes fatores (pressão, tensão na rede cristalina, luz,

dopagem), os niquelatos podem ser promissores também para construção de dispositivos *in vivo* como neurotransmissores dentro de tecidos do cérebro (SHI et al., 2013; ZHANG et al., 2019b).

Neste contexto, neste trabalho propomos usar filmes finos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($x = 0, 0.30$ e 0.35) como plataforma para biossensores enzimáticos de glicose. Até o presente trabalho, apenas compostos NdNiO_3 (temperatura de transição MI, $T_{\text{MI}} \sim 200\text{K}$) e o SmNiO_3 ($T_{\text{MI}} \sim 400\text{K}$) foram aplicados em biossensores. Sendo assim, dado que a substituição de Nd^{3+} por Eu^{3+} na matriz de NdNiO_3 promove um aumento da temperatura de transição metal-isolante nestes compostos, (ESCOTE et al., 2006) este estudo permitirá avaliar a resposta sensora destes compostos com a sua estrutura eletrônica com valores de T_{MI} variando de 200 a 340K.

1.2 Levantamento Bibliográfico

Para um melhor entendimento, nas próximas seções serão introduzidos conceitos para mostrar a importância de estudar sensores de glicose, os tipos de sensores disponíveis e os compostos que serão estudados neste trabalho.

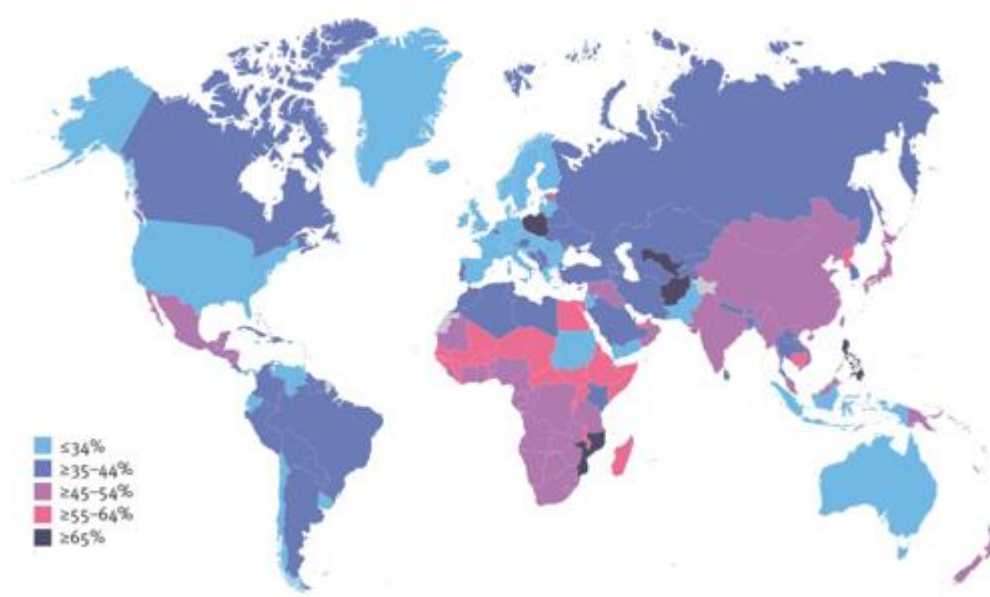
1.2.1 Diabetes

A diabetes mellitus é uma doença do metabolismo da glicose causada pela falta ou má absorção da insulina, hormônio produzido pelo pâncreas e responsável por regular os níveis do açúcar, principal fonte de energia para o organismo. Isso prejudica a capacidade de regulação da glicemia, que é a concentração de glicose no sangue, o que a longo prazo pode ocasionar o desenvolvimento de complicações como acidente vascular cerebral (AVC), cegueira e doenças cardíacas (BAENA-DÍEZ et al., 2016). Segundo a Federação Internacional de Diabetes o número de pessoas com a doença aumentou em 74 milhões, sendo estimado em cerca 537 milhões de adultos no mundo em 2021. No Brasil, as estimativas mais recentes somam 16,8 milhões de pessoas com a doença, cerca de 7% da população (BARRETO, 2021). De acordo com o último relatório, nessa região, 1 em cada 3 pessoas convivem com a doença sem saber, sendo responsável por mais 400 mil mortes no ano de 2021. A taxa de diabéticos não diagnosticados é de quase 50% para a população mundial, assim como apontado nos relatórios anteriores e outros estudos (CHO et al., 2018; OGURTSOVA et al., 2022).

Com pode ser observado na figura 1, as maiores proporções de diabetes não diagnosticada (53,6%) foram encontradas nas regiões da África, Pacífico Ocidental (52,8%) e Sudeste Asiático (51,3%), respectivamente. A menor proporção de diabetes não diagnosticada foi

observada na América do Norte e no Caribe (24,2%), segundo o relatório. A rápida identificação da doença, de maneira precoce durante o estágio assintomático, é considerada importante pois permite o início de tratamento antepositivo, para prevenir ou retardar o desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares. Estudos mostraram que uma pessoa pode passar de 5 a 6 anos nessa fase assintomática de pré-diabetes e diabetes mellitus tipo 2 (DM2) antes de ser diagnosticada, período durante o qual complicações micro e macrovasculares podem se desenvolver (WHICHER; O'NEILL; HOLT, 2020).

Figura 1: Proporção da população de adultos com diabetes não diagnosticada.



Fonte: adaptado de (CHO et al., 2018).

A regulação dos níveis de glicose no organismo é realizada de forma natural pelo pâncreas através da produção de insulina (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2009). Atualmente, os valores considerados normais de glicemia, em jejum, encontram-se compreendidos entre 70mg/dl e 99mg/dl. O excesso de glicose no sangue é denominado hiperglicemia e registra-se para valores acima de 120mg/dl. A hipoglicemia, por outro lado, é o estado em que a concentração de glicose no sangue encontra-se abaixo do normal, registrando valores abaixo de 60mg/dl. Uma falha na produção de insulina resulta na alteração desses níveis de glicose no sangue, já que esta última não é devidamente dirigida para o interior das células. Caso haja uma menor concentração de glicose no sangue, o pâncreas produz um antagônico da insulina, de modo a restabelecer os níveis de glicose na circulação sanguínea.

Atualmente a diabetes pode ser dividida em três tipos principais, de acordo com o conjunto de sintomas com características em comum, embora o segundo seja o caso majoritariamente diagnosticada em relação as demais (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2009):

- **Diabetes Tipo 1** (Diabetes Insulinodependente) - O pâncreas produz insulina em quantidade insuficiente e/ou em qualidade deficiente (ATKINSON; EISENBARTH; MICHELS, 2014). Com isso, as células do organismo não conseguem absorver o açúcar necessário, ainda que o seu nível se mantenha elevado, sendo posteriormente expelido para a urina. É o caso com maior incidência nas crianças e nos jovens, porém também pode ser diagnosticada em adultos e até em idosos, não sendo relacionada com hábitos de vida incorretos. Entre 5-10 % dos pacientes com diabetes tem esse tipo da doença. O tratamento inclui sessões terapêuticas com insulina para toda a vida, dado que o pâncreas deixa de a produzir, devendo ser acompanhado rotineiramente por médicos e/ou outros profissionais de saúde.

- **Diabetes Tipo 2** (Diabetes Não Insulinodependente) - O pâncreas produz insulina, no entanto as células do organismo oferecem resistência à ação da insulina (CHATTERJEE; KHUNTI; DAVIES, 2017). Nesse caso, observa-se sobrecarga do pâncreas, chegando ao ponto em que a insulina produzida se torna insuficiente e o organismo tem cada vez mais dificuldade em absorver o açúcar proveniente dos alimentos. Este tipo de diabetes surge normalmente na idade adulta, em geral, acometendo indivíduos depois dos 40 anos de idade, uma vez que a resistência observada está associada a fatores genéticos, sendo o tipo mais frequente da doença (90% dos casos). O tratamento, na maioria dos casos, consiste na adoção duma dieta alimentar saudável de forma a normalizar os níveis de açúcar no sangue, bem como a prática de atividade física (RISÉRUS; WILLETT; HU, 2009).

- **Diabetes Gestacional** – tipo observado durante a gravidez, que habitualmente desaparece quando concluído o período de gestação (KIM; NEWTON; KNOPP, 2002). Na maior parte dos casos é associada ao ganho de peso, no entanto, é fundamental que se tomem medidas de precaução de forma a evitar que a diabetes do tipo 2 se instale mais tarde no seu organismo. A diabetes gestacional requer muita atenção, sendo imperativo que depois de detectada a hiperglicemia, seja corrigida com a adoção de dieta apropriada. Quando esta não é suficiente há que recorrer ao uso da insulina para que a gravidez decorra de uma forma natural tanto para a mãe como para o bebê. Estatisticamente, uma em cada 20 grávidas, corre o risco de sofrer desta forma de diabetes.

Para saber se a Diabetes está controlada, cabe ao paciente a responsabilidade de monitorar os valores de glicemia rotineiramente. Como não há cura específica para o diabetes, as medidas glicêmicas diárias precisam ser realizadas em conjunto com tratamentos ativos (injeção de insulina ou cirurgia bariátrica) para melhorar a qualidade de vida dos pacientes diabéticos. Até o momento, foram desenvolvidos uma gama bastante ampla de métodos de monitoramento do nível de glicose que apresentam diferentes mecanismos de detecção, inclusive técnicas que envolvem espectroscopias e eletroquímicas.

1.2.2 Monitoramento da glicose

Atualmente os métodos mais comumente difundido de aferição dos níveis de glicose no organismo são baseados em reações eletro-enzimáticas, através de aparelhos portáteis medidores de glicose (TONYUSHKINA; NICHOLS, 2009). A primeira e segunda geração desses equipamentos baseiam-se em procedimentos semelhantes: inicialmente é feito uma punção no dedo e coleta de aproximadamente 1 μ L de sangue (depois de desinfetado), utilizando o dispositivo capilar com uma agulha. Com a coleta, encosta-se a gota de sangue a uma extremidade de uma tira descartável, própria para o procedimento. O método de medição utilizado na primeira geração consiste na análise da quantidade de luz refletida, ou absorvida, pela superfície da tira de forma a determinar a intensidade da cor. A segunda geração baseia-se na intensidade da corrente produzida pela reação de oxidação da glicose, sendo que a concentração é proporcional a essa corrente. Estes métodos apresentam resultados no qual permitem determinar se o paciente sofre de diabetes, no entanto, são métodos desconfortáveis dado a necessidade de picar o dedo, sendo considerados métodos invasivos.

Os medidores de glicose, pertencentes a estas duas gerações são equipamentos que apresentam alguma incerteza quanto ao seu resultado. Uma variedade de fatores pode afetar os resultados obtidos, incluindo técnica do operador, exposição ambiental e fatores do paciente, como medicação, oxigenoterapia, anemia, hipotensão e outros estados de doença. Alguns dos possíveis problemas encontrados com os métodos estão relacionados a: estresse mecânico aplicado às tiras; limpeza inadequada do aparelho; prazo de validade das fitas; medidor não calibrado para o tipo de fitas em uso; problemas de amostra com gota de sangue demasiado pequena, coágulos e bolhas. Deste modo, surgiu a necessidade de desenvolver técnicas menos invasivas e custosas, que permitissem obter resultados precisos e cujo método fosse mais direto. Além disso, o custo anual das tiras de teste é estimado em US\$ 750 por paciente (YEAU et al., 2015).

Nesse sentido, dispositivos semi-invasivos ou minimamente invasivos foram desenvolvidos com o objetivo de substituir esses dispositivos de punção digital e alcançar o monitoramento contínuo da glicemia (CGM). Neste caso, a medida da concentração de glicose no fluido intersticial (ISF) é feita através da implantação de um sensor subcutâneo minúsculo e relativamente indolor. No entanto, foi observado que a perda gradual de sensibilidade por efeito do acúmulo de proteína na superfície do sensor, exigindo portanto, necessária calibração com um certo grau de frequência (VASHIST; KUMAR VASHIST, 2012).

Por esses motivos, o desenvolvimento de dispositivos que utilizem técnicas não invasivas de monitoramento de glicose (NGM) tem sido amplamente estudados nos últimos anos. Os dispositivos NGM geralmente baseiam-se em técnicas de espectroscopia (Espectroscopia de bioimpedância, Espectroscopia de emissão térmica, Espectroscopia de absorbância, Espectroscopia de infravermelho próximo, Espectroscopia de infravermelho médio, Espectroscopia fotoacústica, Espectroscopia Raman) de fluorescência e eletromagnetismo, sendo considerados dispositivos de terceira geração uma vez que as amostras para análise são obtidas sem a interação direta com os tecidos humanos (CIUDIN; HERNANDEZ; SIMO, 2011; VASHIST; KUMAR VASHIST, 2012; ZHANG et al., 2019c). As técnicas mais usuais baseiam-se em métodos ópticos e, como utilizam métodos de radiações não ionizantes não interferem na composição da amostra. Uma das técnicas que tem tido um maior desenvolvimento é a polarimetria, onde se utiliza os conceitos da polarização da luz na análise de substâncias. No entanto, apesar de alguns resultados animadores e dos esforços feitos nos últimos 30-40 anos, não há atualmente nenhum dispositivo disponível para uso na prática clínica. Uma possível explicação pode ser a combinação entre as características específicas de cada método e as características específicas dos pacientes diabéticos, que os fazem responder diferentemente aos métodos físicos e químicos quando comparados aos saudáveis. Atualmente, os dispositivos NGM não estão sendo utilizados por diabéticos devido à falta de precisão, robustez, estabilidade e desempenho analítico em comparação aos medidores convencionais de glicemia.

Com todas essas limitações das técnicas alternativas, os biossensores eletroquímicos ainda são a principal forma disponível comercial de monitoramento de glicose no sangue (BGMD) sendo investigado materiais que apresentem alta sensibilidade, que permita ser produzido em massa e que tenha rápida resposta à detecção de glicose (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2009). Os medidores eletroquímicos de glicose amplamente utilizados requerem menos de 1 µL de sangue sendo utilizado lanceta de calibre bastante fino 32, tornando

a obtenção da amostra de sangue não tão dolorosa e além de não requerer necessariamente o uso do dedo como local de amostragem. As tiras associadas também podem ser feitas de forma tão reprodutível que a calibração não seja mais necessária. As medições são muito rápidas (alguns segundos) e o sistema de medição pode ser facilmente contido em um bolso. Assim, os valores de glicose podem ser obtidos discretamente durante o dia e armazenados no medidor associado. Com relação a valores, as tiras ainda são um pouco caras (geralmente 1 dólar cada), mas os preços tendem a cair, considerando que o valor real desses dispositivos estará incluído no desenvolvimento de sistemas de monitoramento contínuo de glicose vestíveis, pois evitar os problemas de biocompatibilidade dos sensores internos é um grande problema que foi resolvido apenas parcialmente.

1.3 Biossensores de NNO

1.3.1 Biossensores

Atualmente, a definição mais comum de biossensor é: “todo dispositivo que incorpore uma espécie biológica envolvida no reconhecimento de moléculas biológicas específicas”. Dentro desse campo, a busca por desenvolver sensores que apresentem alta sensibilidade e precisão, de rápidas respostas e de grande seletividade está na vanguarda do diagnóstico e da prevenção de sintomas perigosos de doenças crônicas em seus estágios iniciais (LEE et al., 2021). Diversos trabalhos descrevem a evolução das técnicas de monitoramento para métodos que permitam leituras rápidas e o uso de materiais como a estrutura do tipo perovskita como interface funcional em aplicações nos campos da bioengenharia e ciências biológicas (BOUBEZARI et al., 2021; CATALAN, 2008; ZHANG et al., 2019b).

Uma gama de métodos tem sido desenvolvido para a detecção e monitoramento de concentração de glicose, baseados em diferentes técnicas de composição, como cromatografia, análises fluorescentes, ressonância plasmônica de superfície, espectrofotometria, eletroforese capilar e eletroquímicos (PU et al., 2016; SONG et al., 2019) (WANG, J. *et al.*, 2017; ZHOU, X. *et al.*, 2020). Dentre esses, o método eletroquímico, destaca-se pela grande sensibilidade, pela a facilidade na operação de processo e pela a simples instrumentação empregada sendo o método de detecção comercialmente disponível (ZHU et al., 2015). Em comparação com técnicas baseadas em fluorescência, espectrofotometria ou eletroquimioluminescência, a detecção eletroquímica de glicose oferece vantagens mais práticas, como baixo custo, baixo limite de detecção, detecção rápida e portabilidade. As técnicas eletroquímicas que combinam componentes biológicos e transdutores têm atraído muita atenção considerando que este método

é relativamente simples, estável, fácil de usar, possui uma rápida resposta, alta sensibilidade e de baixo custo.

As técnicas eletroquímicas podem ser classificadas em duas categorias: os métodos de base enzimática e de base não enzimática. Nos métodos enzimáticos, o nível de glicose é detectado por meio da funcionalização com as enzimas glicose oxidase (GOD) ou glicose desidrogenase (GDH), que tem como característica a alta sensibilidade e excelente seletividade. O uso de glicose desidrogenase (GDH) em vez de GOx para biossensor, no entanto, requer uma fonte de NAD⁺ (Dinucleótido de nicotinamida e adenina em seu estado oxidado) e um mediador redox para diminuir a sobretensão para a oxidação do produto NADH (Dinucleótido de nicotinamida e adenina em seu estado reduzido) (SIVAKUMAR et al., 2017). Quimicamente, esses compostos orgânicos são usados como forma de transporte de elétrons em reações metabólicas de oxirredução, sendo preponderantes na produção de energia para atividade celular e estando presente nas células de todos os seres vivos. A quinoproteína GDH também pode ser usada em conexão com um cofator de quinona pirroloquinolina (PQQ) (ITO et al., 2021).

A glicose oxidase, por outro lado, é tida como a enzima padrão ouro para a detecção de glicose, em combinação com o monitoramento do peróxido de hidrogênio ou com o uso de um hidrogel contendo um mediador redox. O princípio de usar GOx e oxigênio como acceptor de elétrons para oxidação de glicose, foi proposto por Clark e Lyons, em 1962, sendo reconhecido posteriormente como sensores de 1ª geração de glicose (CLARK; LYONS, 1962). O sistema utilizava membranas hidrofóbicas, a enzima de glicose oxidase e eletrodos de O₂, sendo baseado no princípio de consumo do oxigênio da solução em proporção com quantidade de glicose presente. O desenho de Clark foi tão bem-sucedido que muitos biossensores experimentais e comerciais ainda são construídos segundo esta ideia original. No entanto, hoje em dia, é mais comum a medição de peróxido de hidrogênio.

Os sensores de glicose considerados de 2ª geração já eram baseados no uso de aceitadores de elétrons artificiais, ou mediadores, para a semi-reação oxidativa na oxidação da glicose por GOx ou por glicose desidrogenases (GDHs). Ao contrário do princípio reflectométrico aplicados na 1ª geração dos sistemas de monitoramento de glicose, onde eram utilizados monitores de tamanho relativamente grande para detectar mudanças de cor nas tiras de teste de glicose, e grande volume de amostra de sangue (aproximadamente 30 µL), os sistemas de sensores de glicose de 2ª geração foram baseados principalmente no princípio eletroquímico, que emprega tiras descartáveis de sensor de eletrodo, permitindo a miniaturização do

dispositivo de monitoramento (medidor) e uso de pequeno volume de amostra de sangue, que geralmente é inferior a 1 μL . O emprego de eletrodos enzimáticos descartáveis e monitores eletroquímicos portáteis, que forneceram os resultados em alguns segundos, permitiu reduzir o custo dos sensores e, simultaneamente, realizou o processo de amostragem de sangue menos doloroso por meio de testes em locais alternativos.

Recentemente, diversos materiais ativos têm sido propostos em aplicações em sensores de glicose, como nanocompósitos de carbono alotrópicos, óxidos/hidróxidos metálicos, polímero e carbono ativado derivado de biomassa. Uma classe de materiais promissores para o uso como material ativo e para o aumento da sensibilidade de detecção do AA por método eletroquímico são os niquelatos devido a estes serem sistemas eletronicamente correlacionados e exibirem propriedades eletrônicas sensíveis a pequenas alterações da microestrutura e dos defeitos presentes após a síntese e o tratamento térmico destes materiais. Essa sensibilidade às mudanças faz com que seja possível modificar as propriedades e o comportamento destes materiais de acordo com a aplicação.

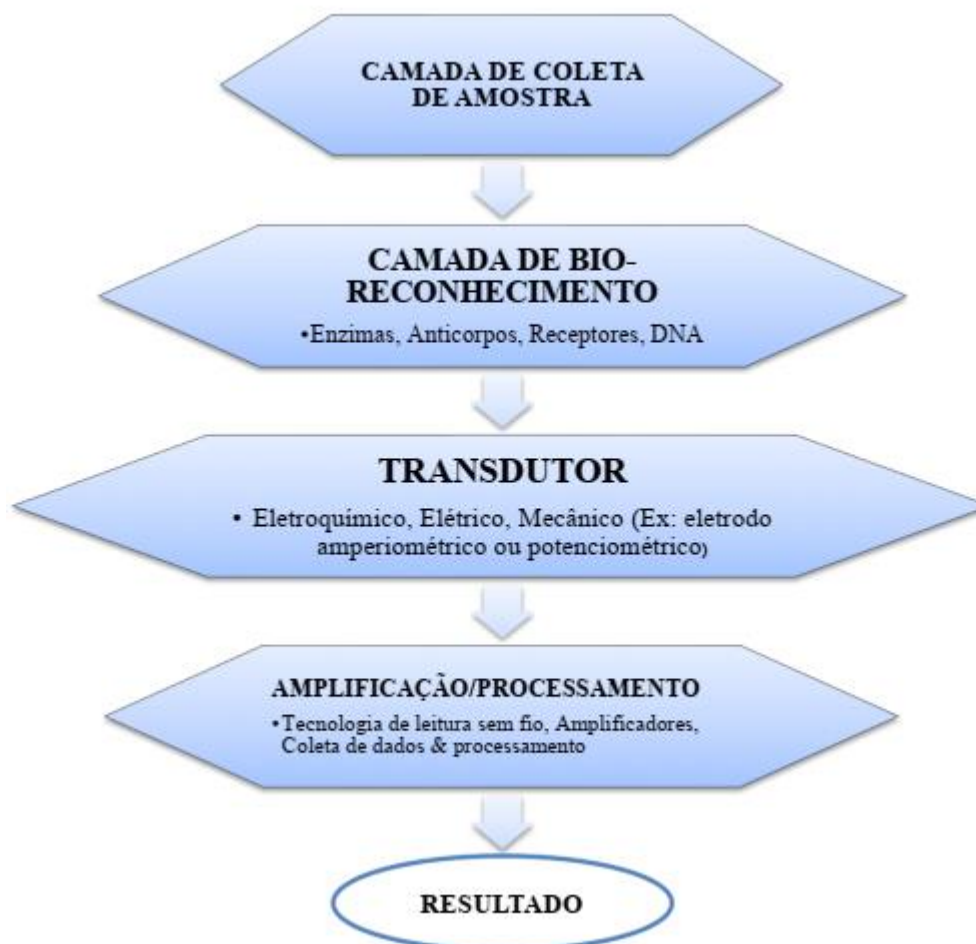
Uma série de métodos para controlar as propriedades da transição Metal-isolante (MI) foram investigados, como o aumento das deformações de tração ou compressão, a aplicação de um campo elétrico externo e uso da dopagem de terras raras para induzir deformações locais por meio de efeitos estéricos. As deformações ou efeitos estéricos induzem distorções estruturais, que modificam a hibridização Ni-O e a energia necessária para transferir os buracos do ligante. Na dopagem com íons terras raras, a temperatura de transição MI (T_{MI}) aumenta sistematicamente a medida que o raio das espécies iônicas é reduzido, como resultado do aumento do nível da distorção da estrutura ideal perovskita (CAPON et al., 2013).

1.3.2 Componentes e funcionamento de um biossensor

O funcionamento de um biossensor, de uma forma geral, envolve a especificidade e alta sensibilidade do componente biológico com o substrato de interesse. Através das variações de um ou mais parâmetros físico-químicos que são gerados como produto desta interação entre a molécula biológica e o substrato, são produzindo íons, elétrons, calor, luz, variação de massa, fluorescência ou gases, podendo ser convertidos em um sinal elétrico quantificável e processável pelo uso de um transdutor adequado. De modo geral, os biossensores são compostos por: componentes biológicos, sistema de transdução e um sistema de processamento

de dados e registro. Um fluxograma esquemático dos principais componentes está ilustrado na figura 2.

Figura 2: Fluxograma com as principais camadas aplicadas na construção de biossensores.



Fonte: Elaborado pelo autor. 2022.

Como exemplos de materiais empregados com a finalidade de um transdutor, diferentes nanocompósitos de carbono alotrópicos, compósitos de óxidos e hidróxidos metálicos, compósitos de polímero e carbono ativado e alguns trabalhos que utilizam de niquelatos em sensores eletroquímicos não enzimáticos tem sido propostos.

1.3.3 Componentes biológicos

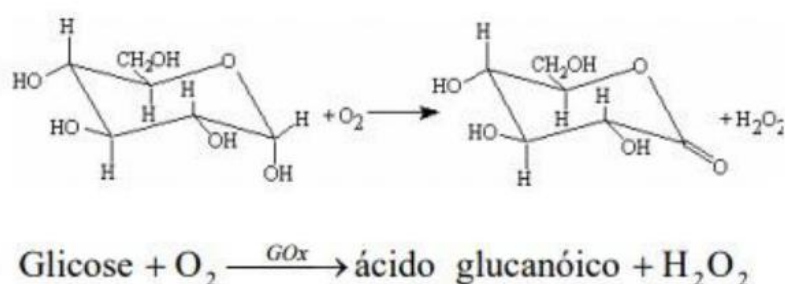
O componente biológico é responsável pelo reconhecimento da substância de interesse por meio de reações químicas, gerando sinal que pode ser resultado da variação na concentração de prótons, da liberação de gases, da emissão ou absorção de luz, da emissão de calor, da variação de massa, da mudança de estado de oxidação, entre outros. Grande parte dos

biossensores eletroquímicos tem sido funcionalizados com enzimas glicose oxidase e desidrogenase, conforme citado na sessões anteriores, sendo a decora  o com a GOx tida como padrão ouro, por sua relativa simplicidade e alta sensibilidade.

1.3.3.1 Glicose Oxidase

A Glicose oxidase (GOx)    um tipo de flavoproteína, enzimas responsáveis pela capacidade respiratória das células, sendo composta por duas subunidades idênticas (homodímero) e por dois dinucle  tidos de flavina adenina (FAD) (BANKAR et al., 2009). Naturalmente, a GOx atua na catalise da oxida  o se ligando    β -D-glicose, que    o is  mero de seis carbonos da glicose, de forma a auxiliar na quebra deste a   ar nos seus metabolitos, que posteriormente    hidrolisado em ácido gluc  nico (figura 3). Por serem extremamente específica para rea  o com a β -D-glicose tem sido amplamente aplicada na proposi  o de biossensores, sendo imobilizadas na superfície de eletrodos por diferentes técnicas de imobiliza  o (reticula  o, adsor  o, imobiliza  o covalente, imobiliza  o por afinidade e encapsulamento).

Figura 3: Rea  o de oxida  o enzimática da molécula de glicose.



Fonte: adaptado de (BANKAR et al., 2009).

A glicose oxidase    geralmente extraídas do micélio de fungos como *aspergillus niger* para disposi  o comercial e possuem uma estrutura de formato globular (PAZUR, 1966). Cerca de 11 a 16% de sua composi  o em peso    dada por carboidratos, estruturas cristalinas que conferem o grau de ordenamento da molécula. Como as outras glicoenzimas,    especialmente escolhida por sua estabilidade no armazenamento e grande resistência a proteólise, que    o processo de degrada  o da enzima por hidrolise das liga  es peptídicas formadas entre os aminoácidos de uma proteína (NAKAMURA; HAYASHI; KOGA, 1976).

Para a preparação de concentrados enzimáticos brutos, o *Aspergillus niger* é cultivado em cultura submersa em meio mineral, aplicando uma fonte de nitrogênio orgânico e carboidrato, onde o micélio é posteriormente recolhido por filtração e extraído com água. A glicose oxidase de *Aspergillus niger* produzida por esse método apresentam dois mols de dinucleótido de flavina adenina (FAD) firmemente ligado à proteína. O peso molecular da enzima é de aproximadamente 160 kDa, conforme determinado a partir de dados de sedimentação e difusão. O pH ótimo para a atividade enzimática é 5,5 e o ponto isoelétrico é 4,2. Recentemente, foi relatado que a glicose oxidase contém resíduos de carboidratos como unidades estruturais integrais da molécula da enzima.

1.3.4 Sistema de transdução

O transdutor de um biossensor é a camada responsável por converter o sinal elétrico quantificável que é gerado pela camada de bio-reconhecimento, em uma resposta mensurável, tais como: corrente, potencial, variação de temperatura, ou outras variações. Diferentes materiais nanoestruturados têm sido propostos e utilizados como plataformas sensoras para os biossensores de glicose, entre eles os niquelatos de terras raras, como mencionado anteriormente, devido à propriedades físicas que podem ser controladas por diferentes fatores (pressão, tensão na rede cristalina, luz, dopagem).

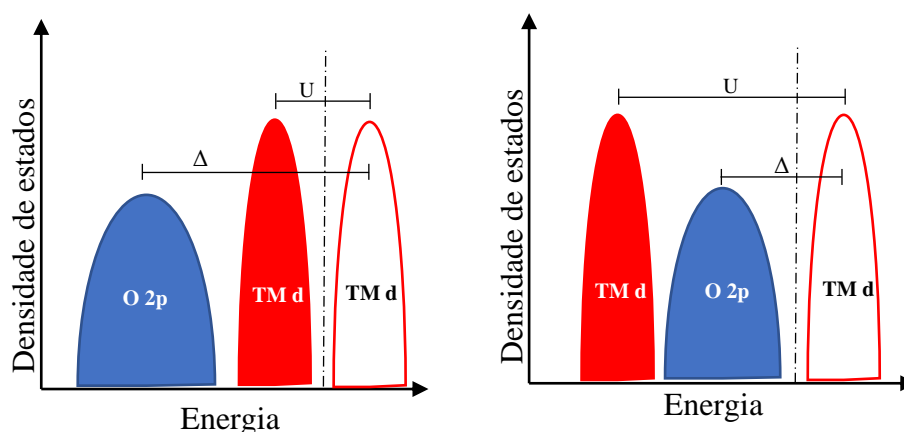
1.3.4.1 Niquelatos de terras raras

Os óxidos terra rara-níquel com estrutura perovskitas são materiais extensivamente estudados atualmente, graças a grande variedade de propriedades físicas que apresentam e forte correlação com a microestrutura que permitem um grande potencial de aplicação em distintos ramos da ciência e engenharia (LIU et al., 2021; MORAL et al., 2019; SZOSTAK et al., 2019). De fato, enquanto o composto LaNiO_3 apresenta um comportamento metálico em uma ampla faixa de temperatura (2-300K), outros niquelatos ($\text{R} \neq \text{La}$) apresentam uma característica transição metal isolante (MI), concomitantemente a uma pequena variação estrutural e em alguns casos o aparecimento de um ordenamento antiferromagnético na temperatura $T_N \sim T_{MI}$ (LACORRE et al., 1991; MEDARDE, 1997a). As temperaturas de transição MI (T_{MI}) podem ser modificadas em função do tamanho do raio iônico do íon terra rara e muitas vezes relacionada também com o ângulo de ligação Ni-O-Ni.

De acordo com o trabalho de Zaanen-Sawatzky-Allen (ZAAZEN; SAWATZKY; ALLEN, 1985), também denominado teoria ZSZ, os óxidos de metais de transição podem ser

classificados dentre diferentes regimes que descrevem a sua estrutura eletrônica. De maneira geral, existe compostos de metais de transição denominados leves (*early transition metals*), como titanatos e vanadatos, que comportam de acordo com um regime conhecido como de Mott-Hubbard, onde a estrutura eletrônica nas proximidades do nível de Fermi é dominada por estados do metal de transição. Por outro lado, existe compostos de metais de transição considerados pesados (*late transition metals*), como niquelatos e cupratos, que obedecem a um regime de transferência de carga, onde a estrutura eletrônica tem caráter misto dos orbitais p-d nas proximidades do nível de Fermi. Uma ilustração esquemática dos dois estados é apresentada na figura 4, descritos em termo da razão da repulsão Coloumbiana (U) e da energia de transferência de carga (Δ), segundo o modelo introduzido que descreve o comportamento elétrico de muitos compostos de óxido de metais de transição. Para materiais isolantes do tipo Mott-Hubbard, Δ é maior que U , então o intervalo é determinado por U . Para isolantes do tipo de transferência de carga, U é maior que Δ , então o intervalo é determinado por Δ . No caso de U e Δ serem ambos pequenos, o comportamento metálico é esperado.

Figura 4: Estrutura eletrônica de óxidos de metais de transição: a) Regime de Mott-Hubbard: $\Delta > U$ e dominância de estados do metal de transição nas proximidades do nível de Fermi. b) Regime de transferência de carga: $\Delta < U$ e caráter misto p-d nas proximidades do nível de Fermi.



Fonte: Elaborado pelo autor. 2022.

Dessa forma, para o primeiro caso, temos tanto elétrons como buracos movendo-se pelas bandas d do metal de transição e são considerados “pesados”, devido à baixa dispersão das bandas d. Por outro lado, no regime de transferência de carga, caso dos compostos estudados aqui, temos que a energia necessária para transferir elétrons entre os níveis do metal de transição e do oxigênio, definida pela energia de transferência de carga (Δ), é menor que a energia para transferir elétrons entre os níveis do metal de transição, definida pela repulsão Coulombiana (U). Com isso, a estrutura eletrônica revela comportamento de caráter misto dos orbitais p-d

nas proximidades do nível de Fermi, como representado na Figura 4b. Nesse caso, elétrons são “pesados”, devido à baixa dispersão das bandas d, enquanto buracos são “leves”, devido à maior dispersão das bandas p. O tamanho do elemento de terras raras também está diretamente relacionado, conforme discutido na seção anterior. A diminuição do fator de tolerância da microestrutura reduz o ângulo de ligação Ni-O-Ni, resultando em uma interação mais fraca entre os orbitais Ni 3d e O 2p.

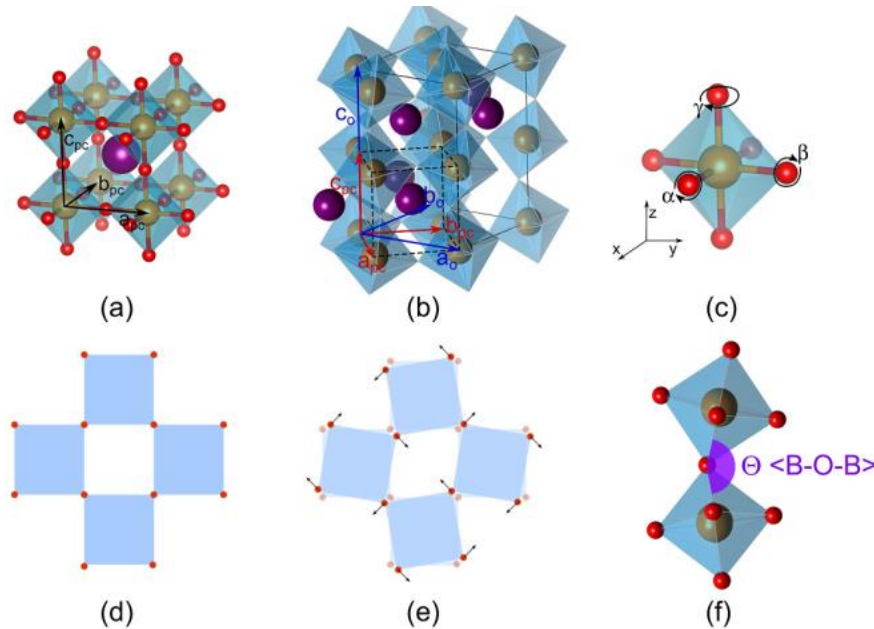
Os compostos $RNiO_3$ cristalizam-se na estrutura perovskita distorcida romboedricamente ($R-3c$) ou ortorrombicamente ($Pbnm$) (figura 5). A estrutura perovskita ideal é cúbica, onde o íon R localiza-se no centro (bola roxa), o íon Ni localiza-se no vértice desta estrutura (bolas marrons) e o oxigênio forma um octaedro ao redor do Ni (bolas vermelhas). Por questões de estabilidade da estrutura cristalina, a relação de distância entre os átomos R-O e Ni-O tendem a distorcer a estrutura ideal cúbica. O fator de tolerância t é utilizado para estimar estas distorções e é definido na equação (1). (CATALAN, 2008; GARCÍA-MUÑOZ et al., 1992a)

$$t = \frac{r_R + r_O}{(r_{Ni} + r_O) \cdot \sqrt{2}} = \frac{d_{R-O}}{(d_{Ni-O}) \cdot \sqrt{2}} \quad \text{Eq. (1)}$$

Aqui, o fator de tolerância, também chamado de fator de Goldschmidt, pode ser escrito em termos dos raios iônicos dos íons terra rara (r_R), oxigênio (r_O) e do níquel (r_{Ni}) ou em termos das distâncias de ligação terra rara-oxigênio (d_{R-O}) e níquel-oxigênio (d_{Ni-O}). Assim, valores de $1 > t > 0,9$, a estrutura cristalina relaxa em uma estrutura de cúbica para romboédrica. Para valores de $t < 0,9$ a estrutura tende a ser distorcida ortorrombicamente (veja Figura 5(b)). Note que a diminuição dos valores de t promove deslocamento da posição do íon R combinados com rotações e “tilts” e distorções dos octaedros NiO_6 (veja nas Figura 5 (c)-(e)). (CATALAN, 2008; CATALANO, S; GILBERT, M.; INIGUEZ, J; TRISCONE, J-M; KREISEL, 2018).

A condutividade eletrônica, a condutividade iônica do oxigênio e a não estequiometria do oxigênio (vacâncias de oxigênio) da perovskita podem ser adaptadas pela incorporação de diferentes componentes de óxido metálico. Essencialmente, a presença de vacâncias de oxigênio neste composto está subjacente à sua capacidade de catalisar o processo de eletrooxidação (HE et al., 2017). Durante a última década, os trabalhos com nanomateriais de perovskita apresentaram propriedades eletrocatalíticas para além da capacidade de moléculas bioativas serem facilmente detectadas de forma sensível e seletiva, usando eletrodos à base de perovskita, que apresentam a vantagem da estabilidade dos sensores.

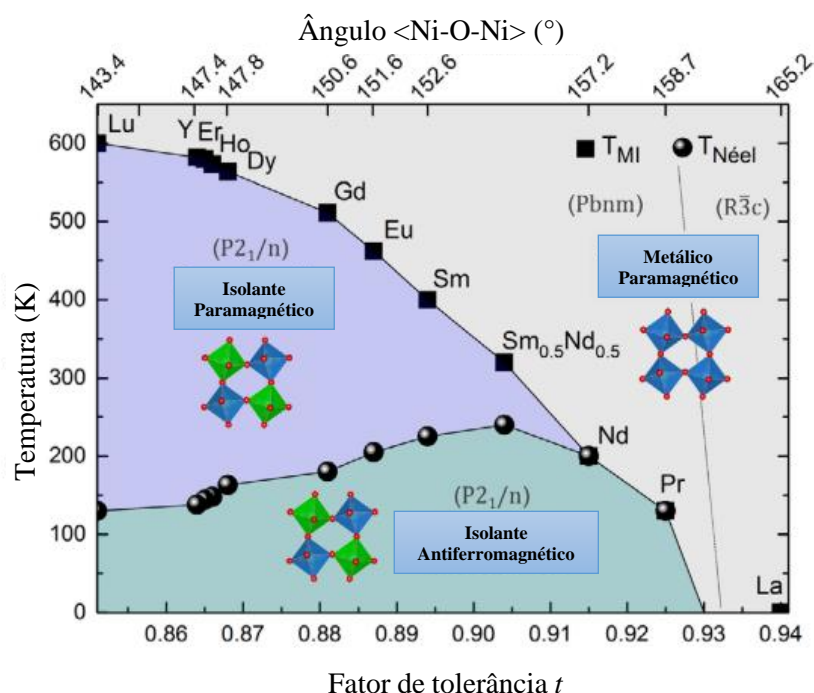
Figura 5: Estrutura perovskita RNiO_3 : (a) cúbica, (b) ortorrômica. Nestas os círculos roxos são R; esferas marrons o Ni e as esferas vermelhas o O. (c) ilustra o octaedro NiO_6 e (d)-(e) a distorção deste octaedro com a diminuição do fator de tolerância t e a variação do ângulo de ligação Ni-O-Ni.



Fonte: (CATALANO, S; GILBERT, M.; INIGUEZ, J; TRISCONE, J-M; KREISEL, 2018).

Particularmente, as transições de fase eletrônica observadas em niquelados de perovskita RNiO_3 (onde R = elementos de lantanídeos de terras raras) são de amplo interesse em física de materiais, para entender a estrutura de bandas e a eletrônica de óxidos. Essas estruturas têm como principais características a forte correlação de suas propriedades físicas com a temperatura, com transição metal isolante bem definida e além da forte dependência continua com o tamanho do íon terra rara utilizado na dopagem. Sistemas de elétrons correlacionados possuem diagramas de fase eletrônicos complexos que são excepcionalmente sensíveis à ocupação orbital de elétrons e dopagem química/portadora (MEDARDE, 1997b; SHI; ZHOU; RAMANATHAN, 2014). A Figura 6 ilustra um diagrama de fase mostrando as características físicas (metal/isolante, paramagnética/antiferromagnética) em relação ao ângulo de ligação Ni-O-Ni e o fator de tolerância t . (CATALANO, S; GILBERT, M.; INIGUEZ, J; TRISCONE, J-M; KREISEL, 2018; MEDARDE, 1997a)

Figura 6: Diagrama de fases da família de compostos $RNiO_3$ relacionando suas propriedades físicas, estruturais com o ângulo de ligação Ni-O-Ni e o fator de tolerância t .



Fonte: adaptado de (CATALANO, S; GILBERT, M.; INIGUEZ, J; TRISCONE, J-M; KREISEL, 2018).

Os materiais de $NdNiO_3$ tem transição abrupta metal-isolante, sendo bem definida em torno de 200 K (T_{MI}). Como é sabido, a T_{MI} é uma propriedade importante para o comportamento desses materiais, acima da qual se comporta como um metal (ou seja, o coeficiente de resistividade da temperatura (TCR) positivo). Caso contrário, ou seja, abaixo de T_{MI} , observa-se comportamento do tipo isolante negativo. Acredita-se que o fechamento e abertura do gap de transferência de carga entre a banda de condução 3d do metal e a banda de valência 2p do oxigênio seja responsável pela transição MI. Outra característica importante da resistividade elétrica deste material é a grande histerese térmica na resistividade (TORRANCE et al., 1992).

Os estudos dos niquelatos na área de biossensores eletroquímicos mostram-se eficientes na aplicação para a detecção de uma série de substâncias como glutamato, dopamina e glicose. Sun *et al.* (SUN et al., 2020) estudou o uso de filmes finos de $NdNiO_3$ em biossensores amperiométricos para detecção de neurotransmissores de glutamato. Nesse trabalho, os autores desenvolveram um biossensor heteroestruturado contendo um filme fino de $NdNiO_3$ recoberto com uma camada de náfion e com a enzima glutamato ancorada, o qual mostrou uma alta seletividade, rápida resposta e um baixo limite para detecção. Outro estudo, feito por Zhang *et*

al. (ZHANG et al., 2019a) descreveu o uso de filmes finos de SmNiO_3 no desenvolvimento de biossensores para o monitoramento de glicose e dopamina *in vivo* através de reações espontâneas de transferência de hidrogênio entre as substâncias e os filmes. Além disso, outros dois trabalhos mostraram que nanofibras de LaNiO_3 e nanopartículas de NdNiO_3 são bons candidatos para a detecção de glicose devido a alta eletroatividade presente, como apresentado nos trabalhos de Wang *et al.* (WANG et al., 2013) e Sivakumar *et al.* (SIVAKUMAR et al., 2017). Apesar dos recentes progressos no desenvolvimento de biossensores baseados no uso de niquelatos, é possível notar que os trabalhos têm explorado ainda poucas substâncias a ser detectadas. Além disso, há outras nanoestruturas que podem ser exploradas nessa área, como os nanotubos NdNiO_3 .

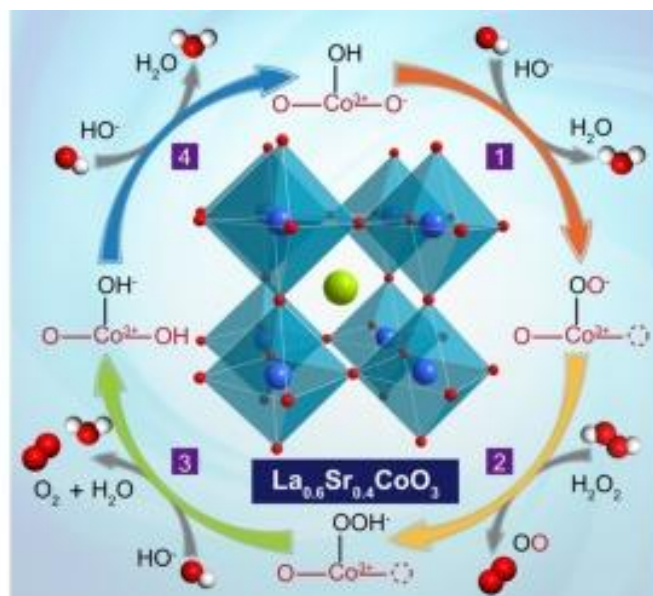
1.3.4.2 Mecanismo de reação

Alguns trabalhos já se dedicaram a estudar os mecanismos envolvidos nas reações de eletrooxidação da glicose e do peróxido de hidrogênio na superfície de estruturas perovskitas (HE et al., 2017). Geralmente, é observado que substituição parcial dos cátions do sítio A por cátions bivalentes como, por exemplo, Ca^{2+} , Sr^{2+} e Ba^{2+} pode levar a uma oxidação do cátion do sítio B como B^{3+} . O aumento dessa substituição também pode levar à redução na energia de formação de vacância de oxigênio, o que é consistente com a existência de espécies de oxigênio altamente oxidativas. Um exemplo do mecanismo mais possível de oxidação de H_2O_2 em um material do tipo perovskita ($\text{La}_{0,6}\text{Sr}_{0,4}\text{CoO}_{3-\delta}$) é apresentado na Figura 7. A reação de eletro-oxidação do H_2O_2 na superfície da perovskita envolve basicamente a reação de difusão, adsorção/dessorção e eletro-oxidação (BOUBEZARI et al., 2021). Duas vias paralelas estão envolvidas: formação de um par redox e formação de vacâncias de oxigênio que permitem a transferência de oxigênio da rede para os intermediários adsorvidos, gerando superóxido de íons (definido como a reação de evolução de oxigênio mediada por oxigênio da rede (LOM-OER)). A alta concentração de vacâncias de oxigênio induz a presença de espécies de oxigênio altamente oxidativas, $\text{O}_2^{2-}/\text{O}^-$ e as maiores taxas de difusão de íons de oxigênio, enquanto a alta quantidade de pares redox $\text{Co}^{4+}/\text{Co}^{3+}$ aumenta o processo de transferência de carga.

Outro mecanismo possível está relacionado a dopagem por hidrogênio, foi mostrada por Yoo e Liao e confirmam as propriedades de transportes de filmes RNiO_3 dopados quimicamente. Foi descrito que inserção do hidrogênio na microestrutura dos filmes pode induzir a transição metal isolante, aumentando a resistividade observada em até 8 ordens de magnitude (YOO; LIAO, 2020). Segundo os autores, os elementos que ocupam o sítio R exercem forte influência na energia de adsorção do hidrogênio e tem um papel importante na

barreira de migração das espécies, o que irá determinar a dificuldade com que os átomos migram para interior dos óxidos formados.

Figura 7: Diagrama esquemático das etapas gerais do processo de eletrooxidação em um eletrodo de perovskita. Mecanismos de eletrooxidação para glicose que ocorrem simultaneamente via (C) por redox $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{4+}$, e (D) reação de evolução de oxigênio mediada por oxigênio (LOM-OER).



Fonte: (HE et al., 2017).

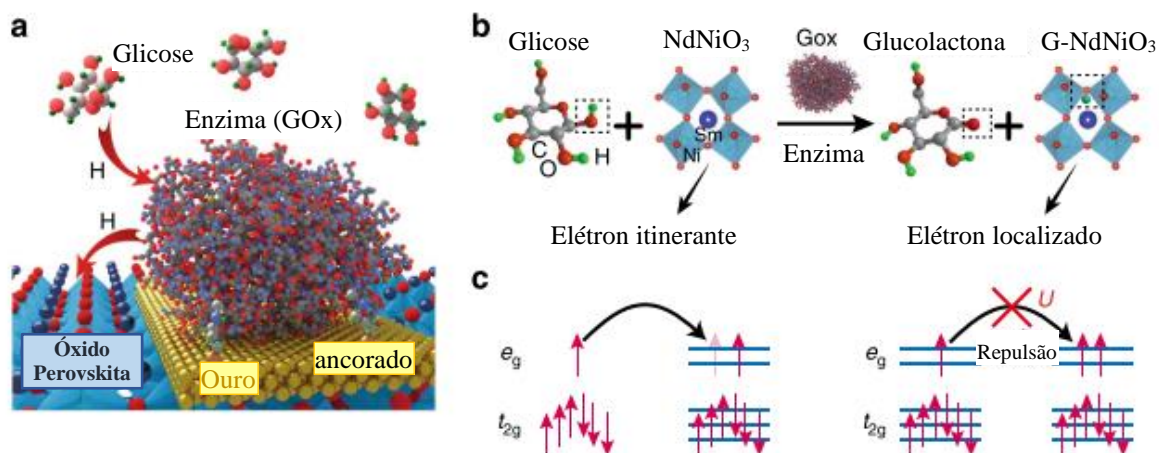
Com a estrutura montada na reação entre os óxidos perovskitas decorados com as enzimas GOx em biossensores de glicose, assume-se que uma cadeia entre a glicose-enzima-óxido é formada. Os filmes de níquelatos participam da reação como receptor dos hidrogênios que são transferidos espontaneamente através da cadeia (ZHANG et al., 2019a). Durante a reação, a Glicose oxidase imobilizada na superfície do filme atua na catalise da oxidação da molécula de β -D-glicose, formando uma molécula de D-glucono-1,5-lactona e peróxido de hidrogênio, como na reação descrita:



Como pode ser visto na equação, o biossensor de GOx/RNO é dependente de um ambiente oxigenado. Uma ilustração esquemática do mecanismo envolvido é apresentada na figura 8.

Figura 8: Ilustração esquemática da transferência entre a glicose e os filmes perovskitas: a) Figura esquemática da transferência de hidrogênio atômico da glicose para a perovskita, onde as enzimas de glicose oxidase (GOx) são ancoradas no eletrodo de ouro por meio de ligação de cistamina, b) Mecanismo de reação de transformação de glicose em gluconolactona. A enzima GOx servindo como

um catalisador e transfere o hidrogênio da glicose para o NdNiO_3 , conhecido como G-NdNiO_3 , c) Configuração de preenchimento de elétrons dos orbitais $\text{Ni } 3d$ em NdNiO_3 e G-NdNiO_3 .



Fonte: adaptado de (ZHANG et al., 2019a).

Depois que o dispositivo é decorado, a transferência dos átomos de hidrogênio da glicose ocorre de maneira natural para as enzimas GOx e posteriormente, para a rede cristalina dos óxidos perovskitas, também de maneira espontânea. Na rede, os hidrogênios se ligam aos ânions de oxigênio, intercalando entre as posições intersticiais dos octaedros característicos do NNO (figura 8b). Dessa forma, um elétron é adicionado aos orbitais d do níquel (SHI; ZHOU; RAMANATHAN, 2014; SUN et al., 2020). O elétron extra irá preencher o espaço do ligante no orbital hibridizado $\text{Ni}_{3d}-\text{O}_{2p}$ conforme representado na figura 8c. A repulsão elétron-elétron gerada no orbital do sítio Ni leva à localização dos elétrons e ao aumento da resistividade, como mecanismo de retroalimentação (TORRANCE et al., 1992).

1.3.5 Crescimento dos filmes de RNiO_3

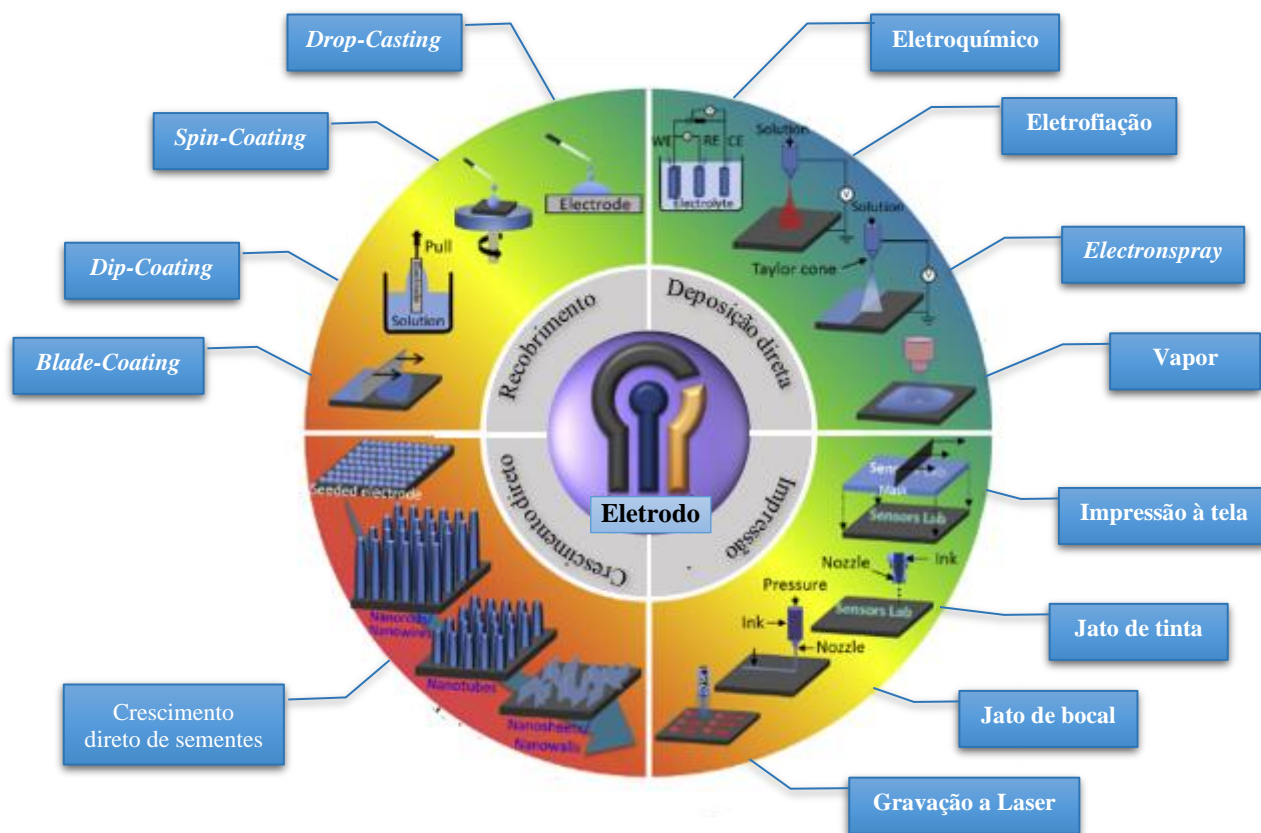
Entre os principais métodos de síntese de estruturas perovskitas estão os processos de coprecipitação, técnicas de estado sólido e os métodos de sol-gel dos precursores, aplicado nesse trabalho (MEDINA et al., 2020; MOURE; PEÑA, 2015; SIVAKUMAR et al., 2017). A síntese sol-gel é baseado no método Pechini que envolve duas reações químicas: a complexação dos íons metálicos com a mistura estequiométrica dos sais de nitrato, após a adição de ácido cítrico, e a poliesterificação dos complexos obtidos com a adição do etileno glicol (FERNANDES et al., 2002; MAULANA et al., 2020). No processo de coprecipitação, são empregados diferentes tipos de precursores: óxidos, alcóxidos, sais inorgânicos e nitratos. Os parâmetros de processamento (pH, taxa de coprecipitação, lavagem, secagem e temperatura de síntese) são controlados o que resulta em particulados nanométricos homogêneos e fracamente aglomerados. Podem ser sinterizados em temperaturas tão baixas quanto $1250\text{ }^{\circ}\text{C}$ e por curtos

tempos (1–2 h) para a obtenção de perovskitas de densidade próxima à teórica. Já no método de estado sólido são geralmente aplicadas técnicas de moagem mecânica. Quantidades estequiométricas de precursores de óxido metálico são transferidas para um moinho de bolas planetário. A moagem úmida é realizada por cerca de 20 h. Com base na análise térmica, o pó moído com bolas é calcinado a 900 °C por 2 h e depois moído em pós finos em um almofariz e pilão de ágata (BOUBEZARI et al., 2021).

Uma etapa crucial para a qualidade e empregabilidade é o processo de deposição dos filmes, uma vez que a presença de defeitos ou falhas nestas etapas, podem levar a perda de eficiência em sua área de atuação. Os filmes finos podem ser preparados por diferentes métodos, sendo que, nos métodos físicos, a maior dificuldade enfrentada é o controle da estequiometria dos materiais. Já, alguns métodos químicos podem oferecer resultados tão satisfatórios quanto os métodos físicos, mas com um melhor controle estequiométrico à baixo custo (AHMAD et al., 2018). Na figura 9 é apresentado alguns exemplos esquemáticos dos métodos utilizados para deposição de nanomateriais na superfície de eletrodos. Os principais métodos podem ser categorizados em 4 estratégias, que crescem em complexidade: (i) *coating*, (ii) deposição direta, (iii) impressão, e (iv) crescimento direto. Os métodos baseados em depósito direto/crescimento ajudam a reter a morfologia dos nanomateriais em suas formas de engenharia com grandes áreas de superfície para imobilização de biomoléculas ou reações catalíticas não enzimáticas, porém demandam equipamento mais caros e de uso limitado para imobilização de biomoléculas. Por isso, os nanomateriais são usualmente fixados utilizando métodos convencionais como *spin-coating*, *drop-casting*, *blade-coating*, entre outros).

Entre algumas técnicas de deposição de solução química, a deposição por *spin-coating* ou *dip-coating* são técnicas que permitem a fabricação de filmes com baixo custo e bom controle estequiométrico. A técnica *spin-coating* consiste em depositar uma pequena quantidade de solução líquida do material sobre o substrato e este, por sua vez, é submetido a rotações de altas velocidades (0-10000 rpm). A força centrífuga faz o fluido se espalhar para as bordas do substrato, deixando um filme fino do fluido na superfície. A espessura final do filme e outras propriedades dependem da natureza do material, como a viscosidade, e dos parâmetros escolhidos para o processo de rotação. No presente trabalho, filmes finos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ foram preparados pelo método dos precursores poliméricos, sendo depositados pela técnica de *spin-coating*.

Figura 9: Desenho esquemático dos principais métodos de deposição: Recobrimento, deposição direta, Impressão e crescimento direto.



Fonte: adaptado de (AHMAD et al., 2018).

Dentro deste contexto, este trabalho descreve o estudo da obtenção de dispositivos biossensores de NdNiO_3 e $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($x=0,3$ e $0,35$) funcionalizados com ouro/cisteamina/glicose oxidase, $\text{NNO}/\text{Au}/\text{Cys}/\text{GOx}$ e $\text{NENO}/\text{Au}/\text{cys}/\text{GOx}$, respectivamente. Estes compostos apresentam T_{MI} variando de 200 a 330 K, (ESCOTE et al., 2006) por isso, será possível também avaliar a fase metálica, intermediária Metal/isolante e a região isolante na interação destes materiais como biossensores de glicose. Assim, os principais objetivos deste trabalho envolvem a produção e caracterização de filmes finos de óxidos $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($0 \leq x \leq 0,35$). Também, a utilização destes filmes como plataformas para construção de dispositivos biossensores de glicose. Nos capítulos serão abordados os seguintes temas:

2) Metodologias empregadas para a síntese e caracterização de diferentes nanoestruturas de óxidos níquelatos. Resultados microestruturais e estruturais de Filmes Finos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$.

- 3) Propriedades de transporte dos filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ sintetizados. Metodologias empregadas para a caracterização e resultados das medidas de transporte dos filmes.
- 4) Construção dos dispositivos biossensores eletroquímicos de $\text{NNO}/\text{Au}/\text{Cys}/\text{GOx}$ e $\text{NENO}/\text{Au}/\text{cys}/\text{GOx}$ para detecção de Glicose. Propriedades elétricas e morfológicas.

Capítulo 2 – Filmes Finos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$

Neste capítulo será apresentado as etapas de síntese dos filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($x = 0,0; 0,30$ e $0,35$), que foi usado como material sensor na construção do biossensor, sendo nomeados daqui para frente como NNO, NENO30 e NENO35, respectivamente. Os filmes foram depositados por meio do método de deposição de solução química (CSD) e suas caracterizações iniciais são descritas. No próximo capítulo será apresentado as etapas de montagem do biossensor e os parâmetros analisados para avaliar sua atuação no sensoriamento de níveis de glicose.

2. METODOLOGIA

2.1 Filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ depositados por CSD

A primeira etapa na metodologia CSD é a preparação da solução precursora contendo quantidades estequiométrica de Nd-Eu-Ni para a produção dos filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$, como descrito na próxima seção.

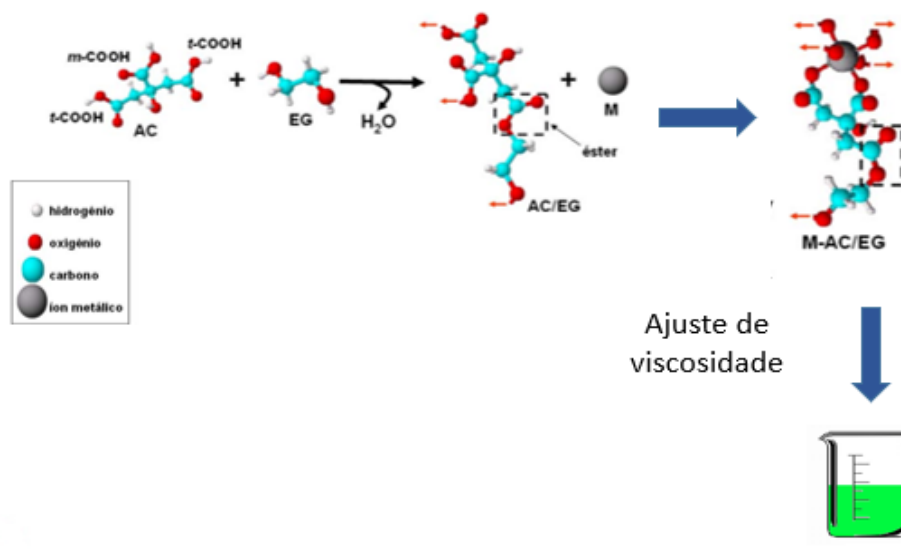
2.2 Preparação das soluções precursoras

As soluções precursoras de cada composição foram preparadas pelo método precursores poliméricos. Para isso, utilizou-se quantidades estequiométricas dos compostos lantanídeos, utilizando Ácido Cítrico e Etileno Glicol como agente complexante e agente de poliesterificação, respectivamente. Inicialmente, acetato de Níquel tetra hidratado ($\text{Ni}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, 99,9%) foi dissolvido em solução aquosa de ácido cítrico e colocado em chapa aquecida à 70°C sobre agitação constante. Posteriormente, o acetato de neodímio hidratado ($\text{Nd}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, 99,9%) é adicionado à solução em quantidade estequiométrica, sendo agitado magneticamente até a dissolução completa dos elementos, por cerca de 1h.

Nos filmes $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($x = 0,3$ e $0,35$), foram preparadas soluções contendo Európio em quantidades estequiométricas. Para isso, acetato de európio hidratado (III) ($\text{Eu}(\text{CH}_3\text{CO}_2)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, $\geq 99,99\%$) foi adicionado as soluções semelhantes as descritas anteriormente, seguindo a estequiometria de formação. Após a dissolução completa de todos os compostos, Etileno Glicol foi então adicionado e as soluções preparadas foram mantidas nessas condições por aproximadamente 1 h para a complexação dos íons metálicos e posterior

poliesterificação. Uma ilustração esquemática das reações envolvidas é apresentada na figura 10. A viscosidade destas soluções foi ajustada para valores entre 5 e 7 cP, utilizando um viscosímetro rotativo (Brookfield Viscometer DV-I Prime) e adicionando água ultrapura para ajustar a viscosidade.

Figura 10: Ilustração esquemática das reações de complexação e poliesterificação dos reagentes para a formação das soluções sol-gel.



Fonte: Diagrama elaborado pela Profa. Dra. Ana Paula Marques (UNIFESP).

Estas soluções precursoras contendo Nd-Ni-O e Nd-Eu-Ni-O foram utilizadas para deposição dos filmes de NdNiO_3 (NNO), $\text{Nd}_{0,7}\text{Eu}_{0,3}\text{NiO}_3$ (NENO30) e $\text{Nd}_{0,65}\text{Eu}_{0,35}\text{NiO}_3$ (NENO35), depositadas utilizando o método de *spin-coating*. A descrição detalhada das etapas desse processo é apresentada em detalhes na próxima seção.

2.3 Crescimento dos filmes

Antes do processo de deposição, os substratos passaram por um processo de limpeza conhecido como método RCA, para eliminação de possíveis contaminações de resíduos orgânicos e promover a aderência da solução precursora na superfície (UNICAMP, 2013). O método envolve a imersão em 3 soluções: uma de ácido sulfúrico (H_2SO_4) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), na proporção 4:1, outra de H_2O , H_2O_2 e hidróxido de amônia (NH_4OH) em proporção de 5:1:1 e, uma última em H_2O , H_2O_2 e Ácido Clorídrico (HCl), em proporção de 6:1:1. Os substratos foram mergulhados por 10 minutos na solução aquecida à uma temperatura de 80 °C. Em seguida, os substratos foram lavados em água deionizada por 1 minuto e secos em base giratória do *Spin-Coater* (Chemat Technology Spin-Coater KW-4A).

As soluções poliméricas foram depositadas, despejando 100 μl sobre as superfícies dos substratos limpos anteriormente e fixos no *spin coater*. A deposição foi feita utilizando 3000 rpm/3s para eliminar excesso de solução e, na sequência, 7000 rpm/20 s para formação do filme. Os filmes são secos em placa de aquecimento a $\sim 50^\circ\text{C}$ por aproximadamente 10 minutos, para a remoção de solventes. Cada camada depositada dos filmes foi tratada termicamente.

Os tratamentos térmicos foram feitos em um forno elétrico tubular (Thermo Scientific Lindberg Blue M), com atmosfera de oxigênio (O_2). O tratamento das amostras foi feito a temperatura de 300°C por 2h e a 700°C por 4h, s. Para obter filmes com espessuras da ordem de 200 a 400 nm, foram depositadas 6 camadas de cada solução para todas as amostras de NdNiO_3 , $\text{Nd}_{0,7}\text{Eu}_{0,3}\text{NiO}_3$ e $\text{Nd}_{0,65}\text{Eu}_{0,35}\text{NiO}_3$.

Uma vez produzidos os filmes, as características físicas destes filmes foram analisadas através da Difração de Raios X (DRX), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e das propriedades de transporte elétrica em função da temperatura, como descrito na próxima seção.

2.4 Caracterização Caracterizações Estruturais e Microestruturais

Para melhor entendimento a seguir são apresentados os detalhes experimentais utilizados para realização das caracterizações estruturais, microestruturais e elétricas das amostras produzidas de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($x = 0,3$ e $0,35$).

2.5 Difração de Raios X (DRX)

A técnica de caracterização por difração de raios X é frequentemente utilizada na Ciência dos Materiais para identificação de fases cristalinas presentes nos materiais, determinação das fases cristalina ou amorfa em compostos, bem como medição de diversas propriedades como tamanho de grãos, orientação, tensões, ordenamento e empacotamento dos cristais e seus arranjos atômicos ou moleculares.

Neste trabalho, a técnica em questão foi utilizada com a finalidade de estudar a estrutura cristalina dos filmes sintetizados de $\text{Nd}_{1-x}\text{R}_x\text{NiO}_3$ ($\text{R} = \text{Eu}$; $0 \leq x \leq 0,35$) através dos seus principais picos de difração, além de verificar a existência de formação de fases indesejáveis, considerando as incertezas envolvidas nos cálculos a partir desse método (TOMASZEWSKI, 2013).

Para o cálculo do tamanho de cristalitos foi empregado a equação de Scherrer, ferramenta amplamente usada na caracterização de amostras policristalinas, relacionando a largura dos picos de difração com o tamanho dos cristalitos (CULLITY; STOCK, 1979). A equação é descrita como:

$$D = \frac{K_S \lambda}{FWHM \cos \theta_B} \quad \text{Eq. (2)}$$

Aqui FWHM é a largura a meia altura do pico de difração na escala 2θ , D é o diâmetro médio dos cristalitos, λ é o comprimento de onda da radiação empregada, θ_B é o ângulo de difração e K_S é um parâmetro que depende da orientação relativa do vetor espalhamento e a forma externa do cristal.

Essa equação é baseada na teoria cinemática da difração de raios X, que fornece resultados satisfatórios para cristais pequenos ou com uma densidade alta de defeitos. Para cristais espessos, a teoria dinâmica da difração de raios X é mais apropriada. Semelhante a teoria cinemática, existe um limite de tamanho dos cristalitos, para a aplicação da equação de Scherrer, que depende do coeficiente linear de absorção (μ_0) e do ângulo de Bragg (θ_B) (MIRANDA, 2017). Com os resultados de DRX, os parâmetros de rede dos filmes foram calculados utilizando o software caseiro, que faz os cálculos utilizando o método de mínimos quadrados.

Todos os filmes produzidos foram caracterizados utilizando o Difratorômetro de Raios-X D8 Focus, da Bruker ASX, pertencente a Central Experimental Multiusuário (CEM), da UFABC. A radiação utilizada foi de Cu-K α ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$), na faixa angular de 20° a 80° , passo de $0,02^\circ$, e velocidade de varredura de 2s/passos.

2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) possibilita a realização da análise da morfologia, homogeneidade da superfície e identificação de defeitos. Neste projeto, utilizou-se o Microscópio Eletrônico de Varredura por Emissão de Campo (FESEM) JEOL JSM-6701F pertencente à Central Multiusuário da UFABC, para caracterizar as microestruturas superficiais dos filmes. As espessuras foram avaliadas por meio de observações da seção transversal dos filmes. Para a estimativa dos diâmetros médios das partículas, utilizou-se o *software* livre ImageJ nas imagens obtidas pelo MEV.

2.7 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), é uma técnica que fornece informação sobre os modos vibracionais dos átomos e moléculas, onde as transições entre os modos vibracionais e rotacionais implicam em variações nas bandas de absorção que permitem obter informações sobre variações de comprimentos de ligação em moléculas (MARTINHO, 2009; STUART, 2004). Neste trabalho, o FTIR foi utilizado como análise complementar ao DRX para verificar a formação da fase cristalina desejada, porque na fase inicial do trabalho o difratômetro de raios X da CEM estava sem funcionar.

As medidas foram realizadas em um Espectrofotômetro na região do Infravermelho com Transformada de Fourier 610-IR da Varian, pertencente à Central Multiusuário da UFABC. As medidas foram feitas em todas as amostras utilizando o opcional de refletância difusa da PIKE no intervalo de número de onda de 500 a 4000 cm^{-1} .

2.8 Espectroscopia no espectro do visível (UV-vis)

A espectroscopia no espectro do visível é uma técnica utilizada para medir a absorção de radiação eletromagnética na região do ultravioleta e do visível do espectro. São feitas medidas da quantidade de luz absorvida por uma amostra e relacionado a concentração de analito, a partir da absorbância e posição da banda. A posição da banda de absorção corresponde ao comprimento de onda da radiação cuja energia é igual àquela requerida para uma transição eletrônica. A intensidade de absorção depende de dois fatores: da probabilidade de interação entre a radiação eletromagnética e molécula e da diferença entre o estado fundamental e o estado excitado.

A transmitância é definida como I/I_0 onde I e I_0 são a intensidade do feixe incidente antes e após a atravessar a amostra. A absorbância (A) é definida com base na transmitância da seguinte forma:

$$A = -\log \left(\frac{T}{100} \right) \quad \text{Eq. (3)}$$

A análise do espectro de UV-vis é importante para se estimar informações como *bandgap* das amostras obtidas, bem como os efeitos das alterações decorrentes das mudanças na microestrutura. Uma das formas de se obter esse parâmetro é através do método gráfico de Tauc para determinação dos valores de energia de *bandgap* óptico (MAKUŁA; PACIA; MACYK, 2018), que considera que o coeficiente de absorção α e a energia do fóton obedecem a seguinte relação:

$$(\alpha \cdot h\nu)^{1/\gamma} = B(h\nu - E_g) \quad \text{Eq. (4)}$$

Onde h é a constante de Planck, ν é a frequência de fótons, E_g é o *bandgap* óptico e B é uma constante. O fator γ depende da natureza de transição do elétron, podendo assumir valores como $1/2$, $3/2$, 2 ou 3, para transições diretas permitidas, diretas proibidas, indiretas permitidas e indiretas proibidas, respectivamente. O gráfico resultante geralmente apresenta uma região linear, que permite simples extrapolação para determinação dos valores de banda proibida dos filmes produzidos.

A maior intensidade de absorção ocorre quando a transição é acompanhada por uma grande mudança no momento de dipolo de transição. As medidas de UV-vis foram tomadas no laboratório didático da professora Iseli Lourenço Nantes, na Universidade Federal do ABC.

2.9 Medidas de Transporte elétrico

As propriedades de transporte elétrico foram feitas para verificar as propriedades elétricas dos filmes de NdNiO₃ dopados com európio. No caso, era esperado observar a transição metal-isolante esperada para estes materiais como descrito na seção introdutória.

Para as medidas 4 terminais (fios de cobre) foram colados na superfície do filme com tinta epóxi de prata, com cura a 100°C por 10 min. Na sequência, os filmes foram conectados no porta-amostra do equipamento PPMS (*Physical properties measurements system*) da Quantum Design pertencente a Central Experimental Multiusuário da UFABC. Medidas de $R(T)$ também foram feitas no criostato de ciclo fechado ARS acoplado a um sistema de medidas (SourceMeter 2400 Keithley, controlador de temperatura Lakeshore 331) acoplados a microcomputador via conexão GPIB/USB e software de aquisição de dados LabVIEW.

Os valores da corrente e da tensão elétrica foram convertidos em resistência elétrica automaticamente aplicando-se a lei de Ohm ($V = RI$), e a resistividade elétrica pode ser obtida a partir da equação 2 (SINGH, 2013):

$$\rho(T) = \frac{R(T)A}{l} \quad \text{Eq. (5)}$$

Aqui, A é a área da secção transversal da amostra e l , o comprimento existente entre os contatos internos.

3 RESULTADOS FILMES $Nd_{1-x}R_xNiO_3$

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos na caracterização dos filmes de $Nd_{1-x}R_xNiO_3$ ($R = Eu$; $0 \leq x \leq 0,35$), com a finalidade de verificar suas propriedades físicas e se estão próximas aquelas esperadas com base na literatura. Foram realizadas medidas de difração de raios X, de Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia Raman com transformada de Fourier e avaliação das propriedades de transporte dos filmes. Para um melhor entendimento, as discussões apresentadas foram separadas de acordo com a composição dos filmes finos de $Nd_{1-x}R_xNiO_3$ ($R = Eu$; $0 \leq x \leq 0,35$). Uma revisão das propriedades de transportes e metodologia utilizada também será apresentado nesse capítulo. A varredura das medidas de resistividade elétrica em função da temperatura permite estudar propriedades como a transição Metal-Isolante (T_{MI}) e o comportamento do material.

3.1 Características estruturais e microestruturais dos filmes de $Nd_{1-x}R_xNiO_3$

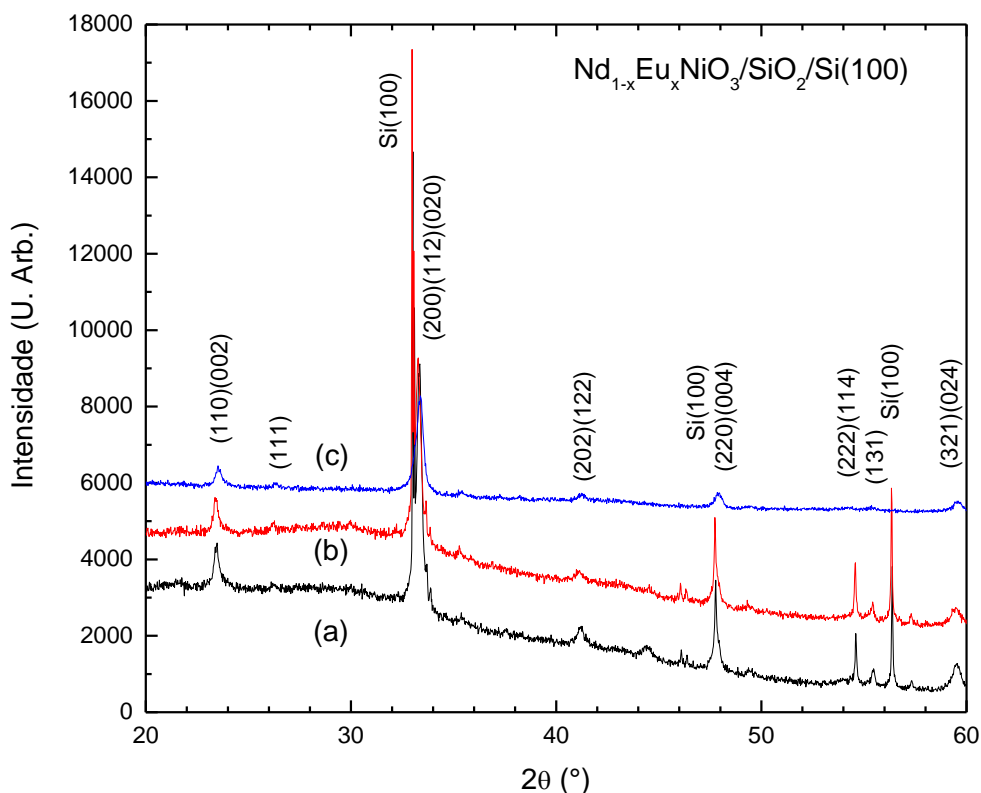
Note que filmes de $Nd_{1-x}R_xNiO_3$ foram produzidos anteriormente em trabalhos do nosso grupo de pesquisa e as condições de deposições foram baseadas nestes resultados. A Figura 11 apresenta os difratogramas de difração de raios X dos filmes de $Nd_{1-x}R_xNiO_3$ ($R = Eu$; $0 \leq x \leq 0,35$), para filmes com 6 camadas depositadas. Nesta figura é possível verificar presença de picos com as intensidades relativas identificadas como pertencente ao composto $NdNiO_3$. O $NdNiO_3$ cristaliza-se na estrutura perovskita distorcida ortorrômbicamente (MEDARDE, 1997b), grupo espacial $Pbnm$ (JCPDF 01-080-1947). De acordo com trabalhos da literatura, a substituição de Nd^{3+} por Eu^{3+} não promove modificações na simetria da estrutura cristalina destes compostos.(ESCOTE et al., 2006)

Como os filmes foram crescidos sobre substratos de $SiO_2/Si(100)$, nos padrões de difração de raios apresenta alguns picos adicionais que aparecem devido a presença do substrato. Como o pico em $2\theta \sim 33^\circ$, 48° e 56° . Note que estes picos estão presentes nos difratogramas de Raios X do substrato de Si (como indicado na Figura 11) observado para todas as amostras. O pico de reflexão observado para ângulos de difração $2\theta \sim 44^\circ$ é geralmente atribuído a presença da fase Ni_2SiO_4 , que pode ser formada na interface filme/substrato durante o processo de crescimento.(NAPIERALA et al., 2010)

De forma geral, é possível verificar, que os filmes são policristalinos, com a maioria das reflexões pertencentes à fase cristalina de $NdNiO_3$ presentes (LACORRE et al., 1991). Além disso, picos estritos e intensos pertencentes ao substrato de Si em $2\theta \sim 33^\circ$, 48° e 56° também

podem ser identificados, se comparado ao padrão de difração de raios X do substrato utilizado (indicado na Figura 11).

Figura 11: Difratogramas de raios X dos filmes de (a) NNO; (b) NENO30 e (c) NENO35 depositados sobre substrato de SiO₂/Si(100) com 6 camadas de deposição.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

A partir indexação foram estimados os parâmetros de rede destes filmes, para isso, as posições dos picos foram estimadas e com ambos os dados se calculou os parâmetros de rede destas amostras usando um software de mínimos quadrados caseiro.

Os parâmetros de rede obtidos estão listados na Tabela 1. É possível verificar que os valores obtidos de parâmetro de rede listados são um pouco diferentes dos listados na literatura para o NdNiO₃ na forma de bulk, sendo ligeiramente menores para os casos de b e c. Essa variação também fica mais evidente na variação observada do volume da célula unitária (V), o que se acredita ser relacionado a tensão gerada na interface filme/substrato. Para filmes de NdNiO₃ crescido sobre Si existem poucos trabalhos que reportem os valores do parâmetro a, da ordem de 3,802 Å (MEDARDE, 1997b). Nikulin e colaboradores ((NIKULIN et al., 2004) apontam que a baixa temperatura aplicada na síntese, na casa de 700 a 800 °C, pode levar a

formação incompleta das fases, com a possível presença de impurezas de níquel óxido (Ni-O). Entretanto, a presença de Ni-O não necessariamente afeta o comportamento elétrico dos filmes um vez que, estes apresentam resistividade muito superior e estão contidos em pequenas quantidades, sendo insuficientes para impedir a percolação da corrente através da matriz de NdNiO₃.

A estabilidade termodinâmica dos compostos RNiO₃ está relacionada ao raio da espécie R³⁺ (GARCÍA-MUÑOZ et al., 1992b). Dessa forma, é esperado o aumento da não estequiometria do oxigênio com a substituição dos íons de Ni³⁺ por Eu³⁺ na rede cristalina, de maior raio iônico. Sendo assim, pode-se esperar que a redução dos valores da constante de rede esteja relacionada ao efeito dos íons de Eu³⁺ na estrutura dos filmes sintetizados.

A maioria dos trabalhos da literatura sobre filmes finos de NdNiO₃ descreve estes parâmetros de rede para uma rede no plano pseudo-cúbica e lista, em geral, o valor médio do parâmetro de rede pseudo-cúbico. Para o caso dos parâmetros de rede da amostra de NdNiO₃ na forma de bulk o valor de $a_{pc} \sim 3,810$ Å. Na literatura estes valores variam de acordo com o substrato utilizado e esta variação é relacionada as tensões na interface filme/substrato. Por exemplo, para o substrato de SrTiO₃ obtém-se o parâmetro $a_{pc} \sim 3,805$ Å e para o substrato de LaAlO₃ este parâmetro fica $a_{pc} \sim 3,827$ Å (MEDARDE, 1997b. De fato, estimando a tensão da interface filme substratos (ϵ) a partir da relação: $\epsilon = (a_{pc} - a_{Si})/a_{Si}$, onde a_{Si} é o parâmetro de rede do substrato de Si(100) $\sim 5,43$ Å. Os valores obtidos de $\epsilon \sim -0,3\%$ indicam que a interface filme/substrato apresentam uma tensão compressiva.(OJHA et al., 2019)

Tabela 1: Parâmetros de rede (a, b e c), parâmetro de rede projetado para uma estrutura pseudo-cúbica (a_{pc}), volume da cela unitária (V), tamanho de cristalito (D) e tensão na interface filme/substrato (ϵ), para os filmes de Nd_{1-x}Eu_xNiO₃.

x	a (Å)	b (Å)	c (Å)	a_{pc} (Å)	V (Å ³)	D (nm)	ϵ (%)
0,0	5,379(3)	5,3660(8)	7,607(7)	3,80	232,07	134,7	-0,300
0,3	5,381(3)	5,3616(9)	7,613(8)	3,801	232,07	134,7	-0,300
0,35	5,362(9)	5,376(3)	7,567(2)	3,792	231,32	94,6	-0,301
NdNiO ₃ -Bulk ¹	5,3891	5,3816	7,6101	3,81	220,71		

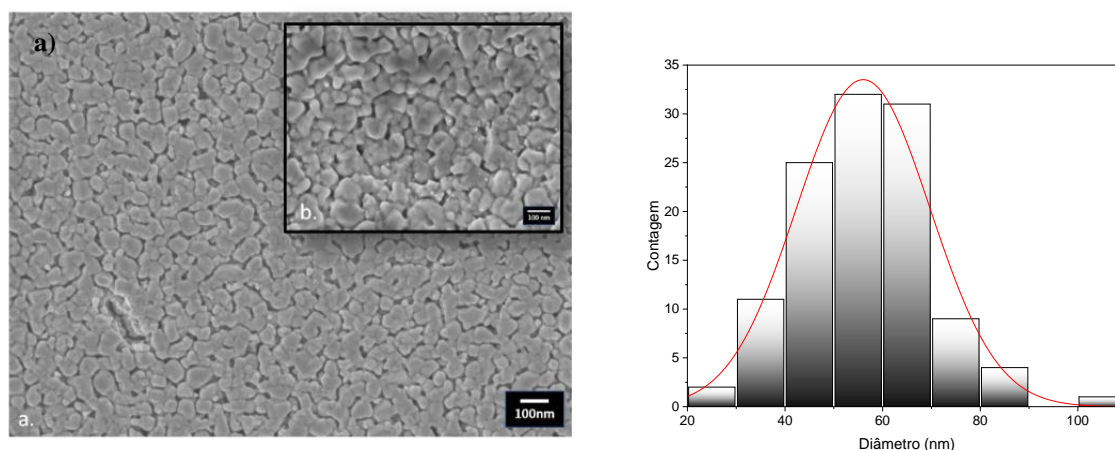
Com os dados de DRX também foi possível estimar os tamanhos de cristalito dos filmes sintetizados, para isto se fez uso da expressão de Scherrer (Equação 2). Os resultados obtidos encontram-se organizados na Tabela 1, seguindo o comportamento de redução para os

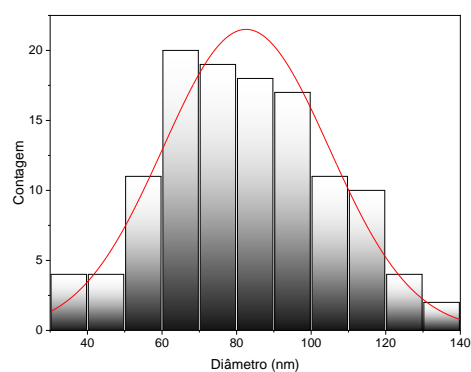
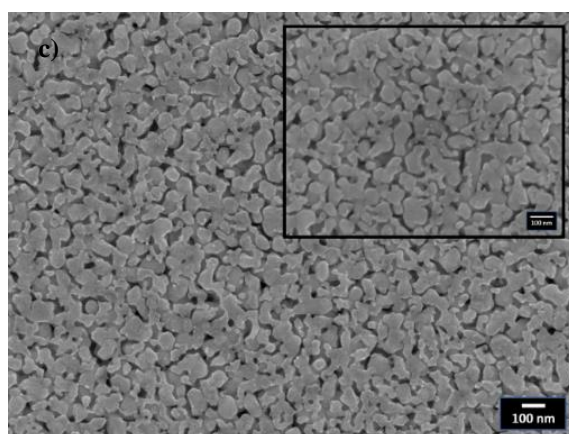
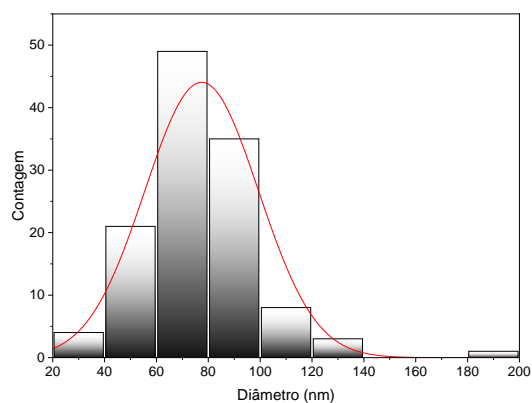
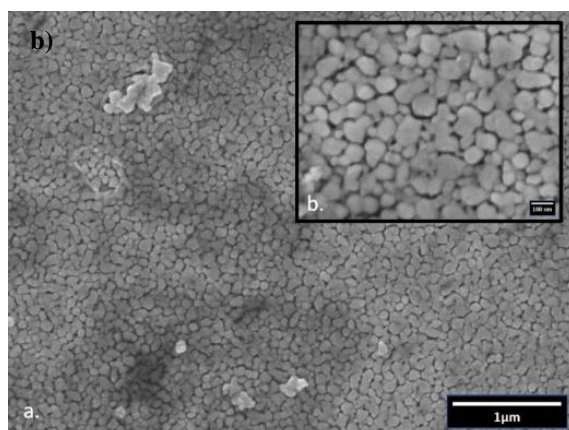
compostos mais substituídos. A espessura obtida para os filmes também pode ter influenciado nesse valor, considerando a metodologia de crescimento que, em geral, produz filmes com espessura da ordem de 200-400 nm, sendo superiores as espessuras dos filmes reportadas na literatura.

3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Figura 12 apresenta as imagens de MEV obtidas para as superfícies dos filmes de $Nd_{1-x}Eu_xNiO_3$ com 6 - camadas e $x = 0,0; 0,3; \text{ e } 0,35$. Na amostra é possível observar algumas trincas próximas da borda, que podem ser resultantes do tratamento térmico ao qual o filme foi submetido. Entretanto, de maneira geral, as imagens apresentam superfícies homogêneas, baixo empacotamento e poucos defeitos, com partículas aproximadamente arredondadas e levemente esticadas, com comprimento variando entre 50 a 178 nm. Resultados semelhantes foram observados nos trabalhos de Nikulin (NIKULIN et al., 2004) e Tiwari (TIWARI; RAJEEV, 1998) com síntese de pequenos cristalitos fracamente ligados entre eles.

Figura 12: Micrografias dos filmes produzidos: (a) superfície da amostra $NdNiO_3$ (40000x); (b) da superfície da amostra NENO30 (100000x); e da (c) da superfície da amostra NENO35 (40000x), com o histograma dos diâmetros das partículas das amostras.





Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Estimativas dos diâmetros médios de partículas foi feito com auxílio do software ImageJ (ABRÀMOFF; MAGALHÃES; RAM, 2004). O valor do diâmetro médio das partículas observada para todos os filmes de $Nd_{1-x}Eu_xNiO_3$ foi obtido a partir do ajuste de histogramas construídos com os dados de microscopia, sendo estimados os valores de diâmetro médio e apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Diâmetros de partículas médios dos filmes de $Nd_{1-x}Eu_xNiO_3$.

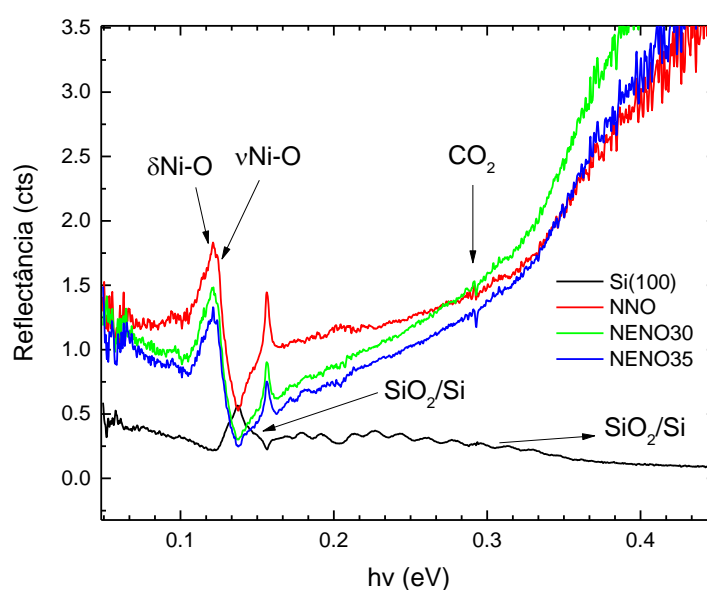
X	Diâmetro médio das partículas (nm)
0,00	56,01
0,30	77,43
0,35	82,54

Os dados revelam aumento do diâmetro médio das partículas obtidas acompanhando a o nível de dopagem crescente na estrutura. Esse é o comportamento esperado uma vez que a espécie substituinte apresenta um raio iônico relativamente maior. A análise do tamanho de partícula é importante para avaliar o efeito da resistividade dos contornos de grão no comportamento elétrico dos filmes. Em alguns casos, a resistividade a temperatura ambiente de filmes pode aumentar em quatro ordem de grandeza, por efeito da redução do tamanho de cristalito.

3.3 Espectroscopia na região do infravermelho por transformado de Fourier (FT-IR)

A Figura 13 apresenta os dados de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) obtidas para o substrato e para os filmes de NdNiO₃. Nesta imagem observa-se uma banda larga próxima a 0,138 eV e uma depressão abaixo de 0,350 eV que são atribuídas ao substrato de SiO₂/Si(100). Para os filmes de NdNiO₃ dois modos vibracionais são observados em 0,134 eV que se refere ao estiramento antissimétrico T_{1u} v(Ni-O) e outro em 0,124 atribuído a deformação do modo δ (Ni-O) do octaedro NiO₆ da estrutura perovskita. Este resultado está próximo aqueles reportados por Laffez e colaboradores (CAPON et al., 2013).

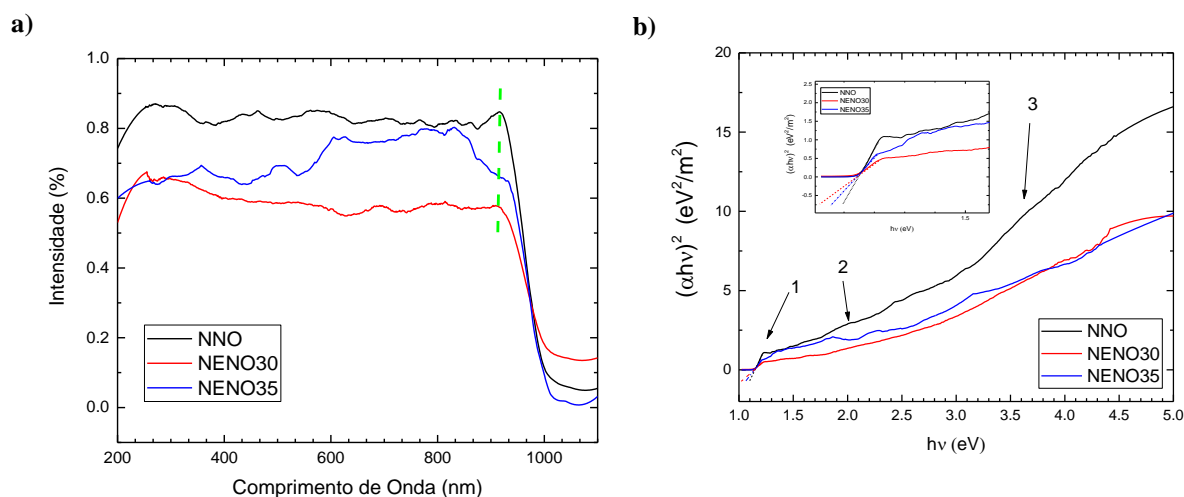
Figura 13: Espectro de FTIR obtidos para: (a) o substrato de SiO₂/Si(100); (b) Filme de NNO; (c) Filme NENO 30 e (d) Filme NENO35.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

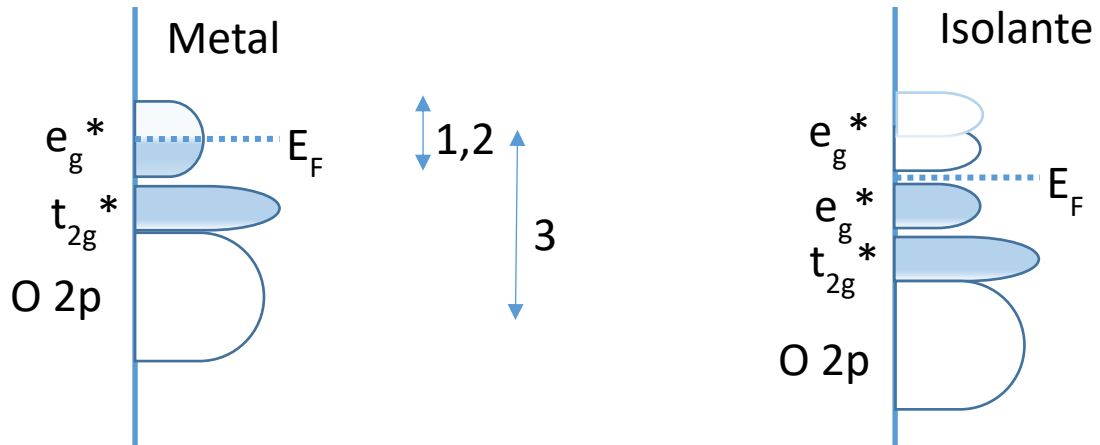
Medidas de espectroscopia na região UV-vis mostram o efeito da substituição de Nd^{3+} por Eu^{3+} na estrutura eletrônicas destes filmes (veja Figura 14). A redução do raio do elemento de substituição no sítio Nd do compostos perovskita pode afetar fortemente a estrutura eletrônicas de compostos de niquelatos, pois esta substituição pode provocar rotações, torções e distorções dos octaedros de NiO_6 que compõe a rede cristalina. Se considerarmos a estrutura eletrônica esquematizada na Figura 14, espera-se pelo menos 3 transições óticas. A primeira (1) e segunda (2) são atribuídas a excitação do estado ocupado para desocupado do orbital antiligante do metal de transição Ni e_g^* . A transição (3) é atribuída a transições do orbital hibridizado $t_{2g}^*/\text{não ligante do oxigênio } 2p$ para os orbitais e_g^* . Como pode ser visto Figura 14(b) na análise com método Tauc, as 3 transições são perceptíveis claramente para o filme de NNO (mudança de coeficiente angular) (representação esquemática na figura 15). A transição (1) também indica uma pequena modificação no band gap ótico de 1,15 eV para 1,13 eV do filme de NNO e NENO35, respectivamente. Aqui é importante observar que as medidas foram feitas a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) e nesta temperatura o filme de NENO35 encontra-se na fase isolante, enquanto os demais estão em fase metálica ou em uma região de transição.

Figura 14: (a) Espectroscopia de UV-vis e (b) gráfico de Tauc dos filmes de NNO, NENO30 e NENO35.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Figura 15: Esquema da estrutura eletrônica dos niquelatos no estado metálico e isolante.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

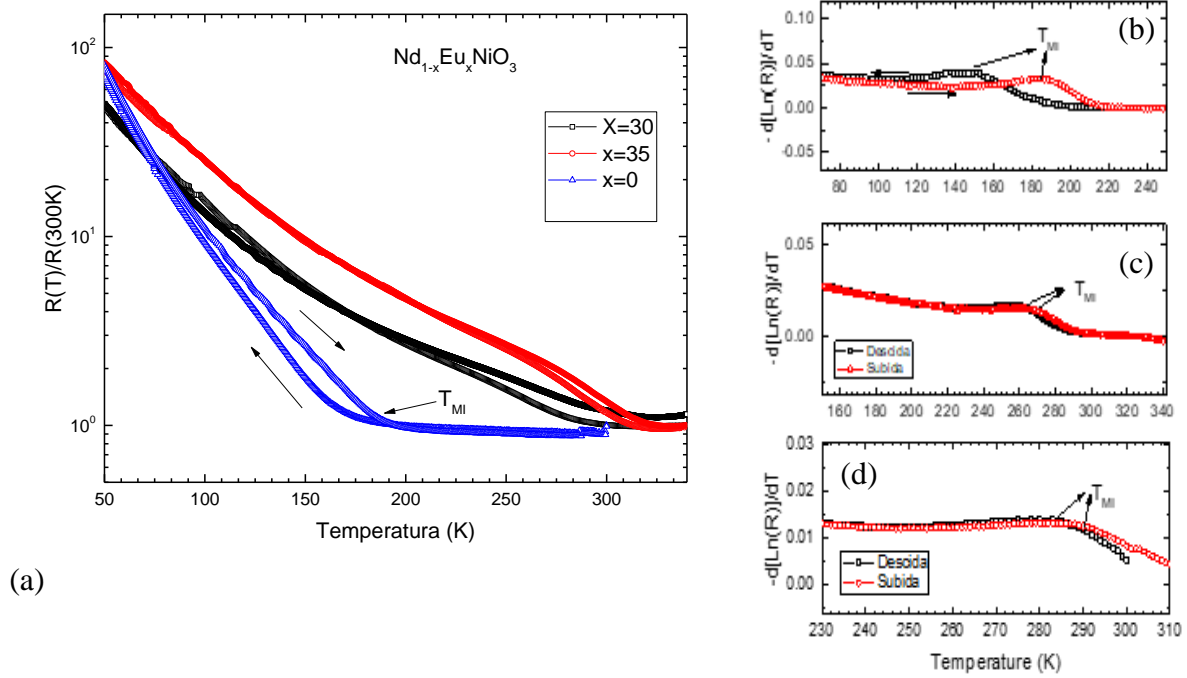
Johnston e colaboradores sugeriram que a fase isolante de óxidos de $RNiO_3$ transfere buracos entre sítios ligante do O2p para os Ni vizinhos, enquanto a fase metálica tem uma distribuição mais homogênea de buracos de ligante na microestrutura (JOHNSTON et al., 2014). Foi comprovado experimentalmente que esses buracos nos sítios ligantes podem alterar as vibrações ao longo da ligação Ni-O e modular a hibridização entre Ni e O (LACORRE et al., 1991; MEDARDE, 1997b; TORRANCE et al., 1992). Por isto, o estudo da resposta sensora dos filmes $Nd_{1-x}Eu_xNiO_3$ pode depender fortemente do valor de x .

3.4 Medidas de Resistividade elétrica

A Figura 16 apresenta as curvas de resistência elétrica como função da temperatura para os filmes $Nd_{1-x}Eu_xNiO_3/SiO_2/Si(100)$ com 6 camadas, as medidas foram feitas durante o processo de resfriamento e aquecimento. As curvas de resistência elétrica $R(T)$ versus temperatura mostram um comportamento metálico acima da temperatura de Transição Metal-Isolante (T_M), caracterizado pela diminuição dos valores de resistência elétrica com a diminuição de temperatura. Também observa-se um comportamento isolante, caracterizado pelo aumento dos valores de $R(T)$, em algumas ordens de grandeza, com a diminuição da temperatura (ESCOTE, 2002; LACORRE et al., 1991). Também é observado uma histerese entre as curvas de aquecimento e resfriamento para os três filmes analisados, que é característica da transição MI de primeira ordem. Um ponto importante a ser observado é que a temperatura

T_{MI} variou com o aumento da substituição de Nd^{3+} por Eu^{3+} , como esperado de trabalhos na literatura.(ESCOTE et al., 2006)

Figura 16: Comportamento elétrico: (a) Curvas de resistência elétrica $R(T)/R(300K)$ versus temperatura (K) para os filmes de $Nd_{1-x}Eu_xNiO_3/SiO_2/Si(100)$ com 6 camadas. Curvas de $-d(\ln(R))/dT$ versus temperatura para as amostras b) NNO, c) NENO30 e d) NENO35.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Em geral, por meio das curvas de medidas de resistividade elétrica em função da temperatura, é possível estudar propriedades como a transição Metal-Isolante (T_{MI}) e o comportamento do material. Conforme pode observar na figura 16, a resistividade elétrica diminui conforme a temperatura é reduzida, como esperado para sistemas metálicos. A dependência dessa propriedade com a temperatura pode ser descrita pela lei das potências:

$$\rho(T) = A + BT^n \quad \text{Eq. (6)}$$

Na equação, A é a constante da resistividade elétrica residual, B o coeficiente relacionado a temperatura e n é o fator de potência, que geralmente assume valores de 1 ou 2. Na amostra de NNO, para regiões de temperatura entre 200 e 340 K, n assume valores de $3/2$ e o espalhamento pode ser relacionado ao acoplamento elétron-fônon. Na região de temperatura

abaixo de T_{MI} , o comportamento é mais complexo, pois apresenta uma região de coexistência das fases metálicas e isolante (região da histerese) e a região com maior proporção da fase isolante não pode ser ajustada considerando a lei de Arrhenius [$\rho(T) = \rho_0 \exp(E_g k_B / T)$].

Os valores encontrados para transição metal-isolante para cada um dos filmes sintetizados, durante o aquecimento e o resfriamento, estão apresentados na figura e listados na tabela 5. Estes valores foram estimados calculando $-d[\ln R(T)]/dT$, que apresenta um máximo como apresentado na Figura 16(b)-(d).

Tabela 3: Temperaturas de Transição Metal-Isolante das curvas de resfriamento ($T_{MI\text{desc}}$) e aquecimento ($T_{MI\text{sub}}$) para os filmes de $\text{NdNiO}_3/\text{SiO}_2/\text{Si}(100)$.

x	$T_{MI\text{desc}} \text{ (K)}$	$T_{MI\text{sub}} \text{ (K)}$
0,00	146	184
0,30	260	266
0,35	282	288

Os valores listados estão em conformidade com reportados na literatura (BARBETA et al., 2012). Os filmes de $x = 0$ exibiram valores de T_{MI} na região de 190 K e aumenta com o nível de substituição para a região de 280 em $x = 0,35$. Como pode ser observado, com o aumento da concentração de Eu nos filmes preparados verifica-se um aumento da temperatura de transição de fase, T_{MI} . (WANG et al., 2015).

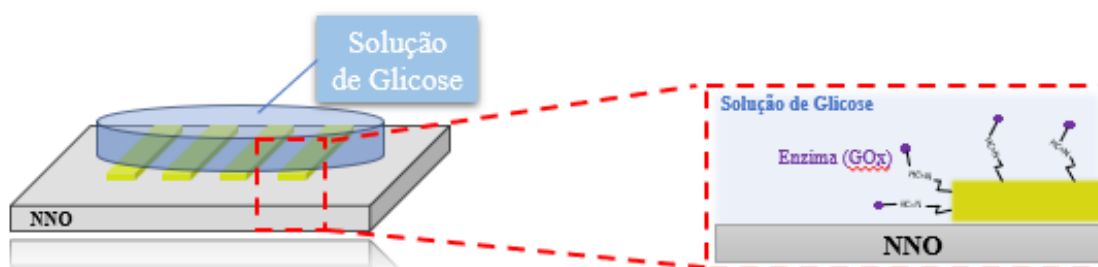
4 BIOSSENSOR DE GLICOSE

Como verificado na seção anterior, foram produzidos filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ com as propriedades físicas próximas das esperadas na literatura, sendo que a mais relevante são as propriedades de resistividade elétrica baixas e com transições de fase metal-isolante na faixa de 200 a 290 K. Neste contexto, eles foram utilizados como plataforma para a construção de sensores de glicose estudados neste trabalho. Baseados nos trabalhos descritos na literatura propomos uma montagem deste sensor funcionalizando a superfície do filme de óxido. (ZHANG et al., 2019b)

4.1 Montagem Experimental

A primeira etapa desta montagem envolveu a deposição de um eletrodo de ouro sobre a superfície, a forma do eletrodo é esquematizada na Figura 17. A deposição dos eletrodos foi realizada em um sistema de evaporação térmica montado no laboratório com espessura da ordem de 100nm. Após esta etapa a superfície dos filmes foram funcionalizadas como descrito na próxima seção.

Figura 17: Esquema do dispositivo enzima-NNO, com eletrodos de ouro decorados com Glicose Oxidase (GOx).



Fonte: adaptado de (ZHANG et al., 2019a).

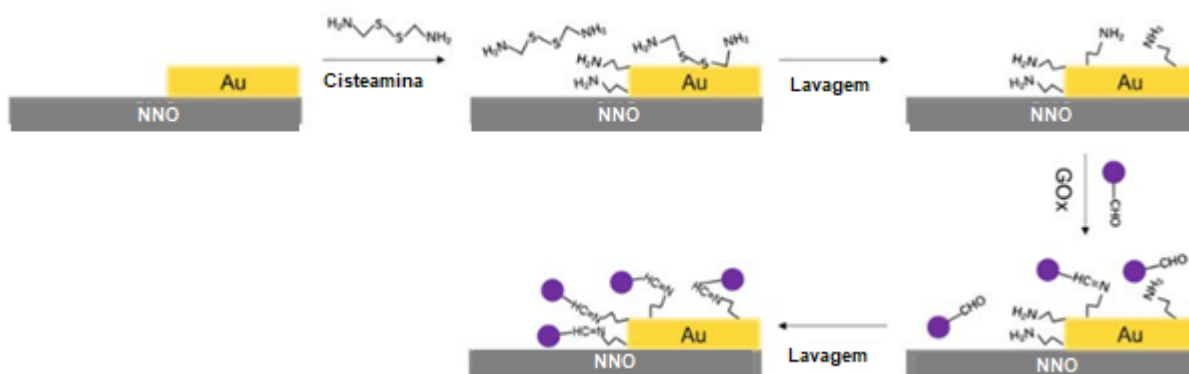
Como detalhado na seção experimental, a cisteamina foi utilizada para modificar a superfície dos eletrodos de ouro, onde os seus sítios de enxofre irão se ligar covalentemente. Com isso, os grupos amina ($-\text{NH}_2$) fixados na superfície do ouro irão reagir com os grupos aldóxilas ($-\text{CHO}$) das enzimas GOx, quando estas estiverem ligadas quimicamente a superfície dos eletrodos.

4.2 Decoração das superfícies dos dispositivos com enzimas GOx

Em técnicas eletroquímicas de base enzimática é necessário tratar a superfície dos eletrodos a serem utilizados com espécies químicas de maior afinidade, aumentando o efeito de

ancoragem das enzimas e formando o caminho de transferência do biossensor (ZHANG et al., 2019a). A Figura 18 mostra um diagrama esquemáticos do processo da funcionalização das enzimas de GOx na superfície dos eletrodos de ouro (Au) depositados sobre os filmes de Nd_{1-x}Eu_xNiO₃.

Figura 18: Ilustração do processo de decoração da superfície de ouro com enzimas de GOx.



Fonte: adaptado de (ZHANG et al., 2019b).

Para tal, os eletrodos de ouro depositados na superfície dos filmes finos foram submetidos a um tratamento químico para ancoragem de moléculas de cisteamina (Sigma-Aldrich) em sua superfície, onde as enzimas de GOx (*Aspergillus niger*, tipo VII, Sigma-Aldrich) irão se ligar quimicamente. Para isso, os dispositivos de NNO e NENO com eletrodos de ouro foram imersos em solução de 10 mM de cisteamina de, por 2 h em quarto escuro e a temperatura ambiente. Após a imersão, os dispositivos foram lavados em água deionizada para remoção das moléculas de cisteamina que não reagiram, e secadas no *spin coater*.

Uma outra etapa foi a oxidação da enzima GOx, que foi feita para estabilizar o GOx para que não sofra degradação no processo de medida. Para isso, foi preparado um buffer de pH 6,8 de fosfato de sódio de concentração de 0,1 M para oxidação da enzima. Uma solução de 20 µM de GOx foi formada utilizando 5 mL da solução tampão, sendo adicionado 30 mg de metaperiodato de sódio a mistura. A solução foi deixada em incubação por 1h à 4 °C e então, 6,97 µL de etileno glicol foi adicionado a mistura para parar a reação, sendo incubada novamente por mais 30 min à temperatura ambiente. O produto foi então purificado em membrana de diálise por 24 horas para coletar GOx oxidado e alterar o tampão de volta para 0,1 M pH 6,8 Fosfato de Sódio.

Os dispositivos de NNO/Au/Cys e NENO/Au/cys foram então imersos nesta solução de GOx mantidas por cerca de 1 hora em 4 °C e posteriormente lavados em água deionizada. Os

dispositivos foram então secos no *spin-coating* e armazenados à 4 °C, na geladeira. O processo todo é esquematicamente ilustrado na figura 18.

4.3 Espectroscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman)

Neste trabalho esta técnica foi utilizada para tentar identificar se houve reação entre a cisteamina e o GOx na superfície dos filmes. O equipamento que foi utilizado para caracterização dos dispositivos de NNO e NENO foi o FT-Raman *Spectroscopy* da BRUKER, pertencente a Central Experimental Multiusuário da UFABC. O sistema utiliza um laser de diodo bombeado (*Diode Pumped Solid State* – DPSS) por um Nd:YAG com comprimento de onda de 1064 nm. Para detecção foi utilizado um detector de germânio (Ge) mantido sobre refrigeração em nitrogênio líquido. Para obtenção e armazenamento de dados foi utilizado o software OPUS 7.0 oferecido pela própria empresa fornecedora do equipamento. Para as análises dos dispositivos construídos foram selecionados os parâmetros de potência de laser de 150 mW e número de varredura de 30.

4.4 Espectroscopia no espectro do visível (UV-vis)

A espectroscopia no espectro do visível foi utilizada também para verificar a funcionalização das superfícies dos filmes com eletrodos de ouro com Cys e GOx. As medidas de UV-vis foram tomadas no laboratório didático da professora Iseli Lourenço Nantes, na Universidade Federal do ABC.

4.5 Caracterizações de Propriedades Sensoras

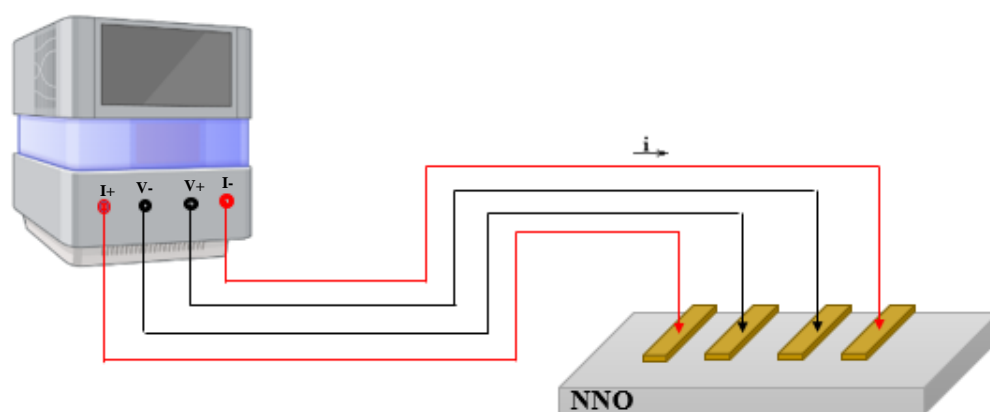
Para verificar as propriedades sensoras dos dispositivos montados de NNO, NENO30 e NENO35 funcionalizados com Au/Cys/GOx, foi monitorada a variação da resistência elétrica *versus* tempo destes filmes com diferentes concentrações de soluções com glicose (até uma concentração de 5×10^{-14} M) a temperatura ambiente ($\sim 20^\circ\text{C}$). Além disso, foi avaliado o limite de detecção, repetitividade, seletividade e reprodutibilidade.

4.5.1 Medidas de resistividade elétrica

A análise das propriedades de transportes dos filmes de $Nd_{1-x}R_xNiO_3$ ($R = Eu$; $0 \leq x \leq 0,35$) funcionalizados foram analisadas a partir de medidas de resistência elétrica R *versus* tempo quando soluções de glicose com diferentes concentrações foi colocada na superfície do dispositivo. O monitoramento da resistência elétrica dos dispositivos foi feito colando 4 fios de

cobre sobre os eletrodos de ouro com tinta epóxi de cura a temperatura ambiente, para não degradar as moléculas Cys/GOx na superfície dos filmes. Para desconsiderar efeitos de geometria dos filmes os valores de R foi dividido pelo valor de resistência elétrica do dispositivo antes de adicionar a glicose (R_0). Estas medidas foram realizadas em um porta-amostra conectado a um *SourceMeter* (Keithley, modelo 2400C) para monitorar a resistência elétrica dos filmes em função do tempo. Este equipamento foi conectado com um microcomputador PC via conexões GPIB/USB usando o software Labview da *National Instruments*. Uma ilustração esquemática dos equipamentos utilizados no monitoramento é apresentada na figura 19.

Figura 19: Ilustração esquemática das medidas elétricas dos filmes.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Outra propriedade importante para biossensores é a seletividade, conferida pelo biomaterial ativo associado aos dispositivos, sendo este capaz de discriminar analitos diferentes, ainda que apresentem semelhanças estruturais e funcionais. A nível superficial, o bom desempenho desses dispositivos nesse quesito requer alta concentração da biomolécula, baixa interação específica e estabilidade das moléculas ancoradas (BOUBEZARI et al., 2021). As estratégias para aumento desse parâmetro incluem aumento da exclusividade de ligação dos receptores biológicos e/ou desenvolvimento de receptores diferentes e de maior afinidade (CHEN et al., 2020). O conhecimento da relação entre estrutura e função é fundamental para o incremento das capacidades de incremento do biossensor. Neste trabalho para verificar este ponto foram feitas medidas de resistência versus tempo dos filmes funcionalizados com outros tipos de açúcares como a frutose e a galactose.

Adicionalmente, a sensibilidade, que determina o limite de detecção do biossensor, e a estabilidade, operacional e de armazenamento, são parâmetros importante a serem avaliados, sendo critério essenciais em aplicações de monitoramento e a detecção em tempo real e diretamente ligados ao método de imobilização escolhido. Em particular, o desenvolvimento de biossensores enzimáticos tem sido limitado pela instabilidade de muitas enzimas à temperatura ambiente de trabalho. O limite de detecção (LOD) foi estimado pela expressão (SHRIVASTAVA; GUPTA, 2011):

$$LOD = 3,3 \left(\frac{S_y}{S} \right) \quad \text{Eq. (7)}$$

Aqui, S_y é o desvio padrão de um ajuste da curva de R/R_0 versus concentração e S é o coeficiente angular desta curva.

Para avaliar a reprodutibilidade, 4 filmes de cada composição serão analisados nas mesmas condições. Quanto a reprodutibilidade, todos os filmes vão ser tratados termicamente a 200°C por 30 min, serão funcionalizados e novas medidas serão realizadas.

4.6 Caracterização dos biossensores

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos na caracterização interação dos filmes de *NNO*, *NENO30* e *NENO35* decorados com a enzima GOx e com a glicose. Foram tomadas medidas de espectroscopia Raman (FT-Raman), de espectroscopia ultravioleta/visível (UV-vis) para verificação da atuação da funcionalização na superfície dos filmes. Na sequência, serão apresentados o comportamento elétrico dos dispositivos montados, considerando o efeito da adição de soluções contendo glicose no tipo de resposta dos dispositivos montados e também avaliar o efeito da substituição química dos filmes finos de $Nd_{1-x}R_xNiO_3$ ($R = Eu$; $0 \leq x \leq 0,35$) na resposta do sensor.

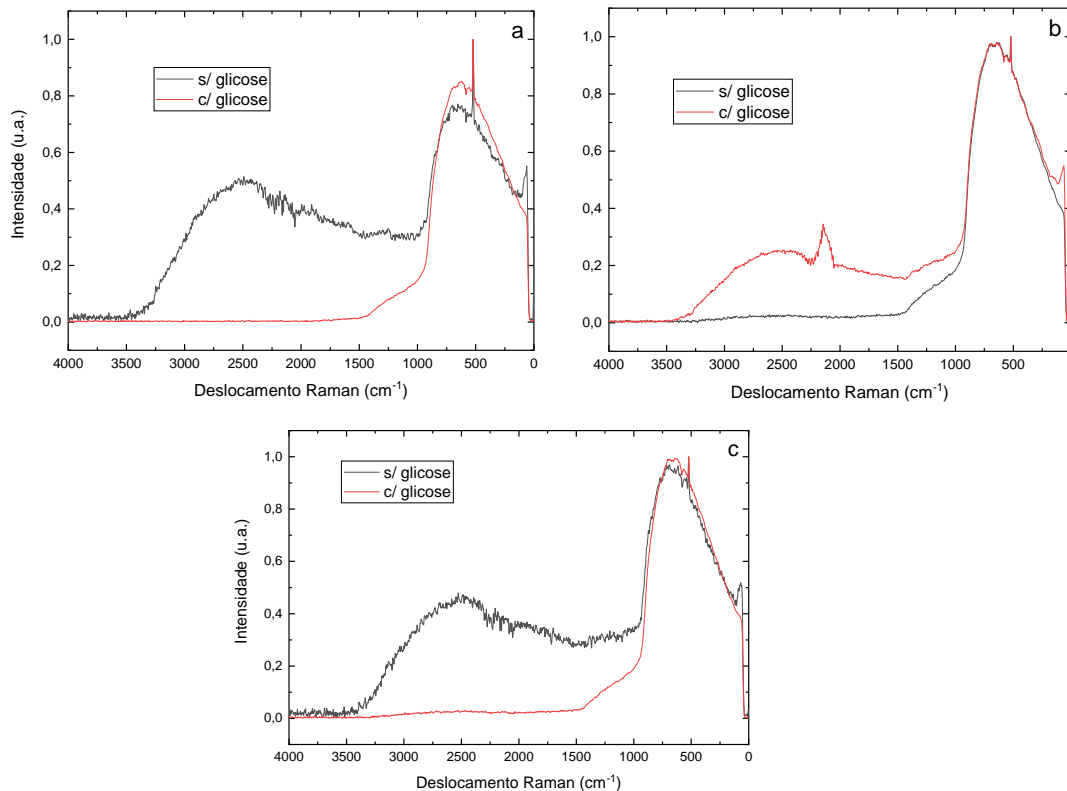
4.6.1 FT-RAMAN

Inicialmente foi analisado a resposta das soluções e dos filmes decorados com GOx com/sem a glicose por meio de FTIR, mas nos espectros das soluções não se observou a presença da banda de vibração do gluconolactona por volta de 1110 cm^{-1} (veja Figura 20). Esta banda indica que houve reação entre o GOx e a glicose (Apêndice 1 – Figura A1). Então, medidas de espectroscopia Raman por transformada de Fourier (FT-Raman) das 3 amostras foram tomadas para verificação de alterações nas bandas dos modos vibracionais dos filmes

antes e após a interação com a glicose. Para isso, inicialmente mediu-se os filmes apenas com cisteamina, neste caso para todos os filmes foi observado uma larga banda em aproximadamente 666 cm^{-1} para as três composições estudadas neste trabalho. Esta banda é a mais intensa da cisteamina e é atribuída ao modo vibracional da ligação C-S. Não foi possível identificar, mas nas medidas realizadas nas amostras após reação com glicose verificou-se a presença de uma banda larga com máximo por volta de 2500 cm^{-1} , que acreditamos indicar a reação entre GOx e a glicose.

No espectro FTIR da glicose, vibrações $\nu(\text{C-C})$ e $\delta(\text{C1-H1})$ são geralmente atribuídas as bandas em 838 e 856 cm^{-1} (MATHLOUTHI; VINH LUU, 1980). Entre as bandas de 820 e 950 cm^{-1} , as vibrações $\nu(\text{C-O})$, $\delta(\text{C-C-H})$, $\nu(\text{C-C})$ e $\delta(\text{C-C-O})$ são específicas para glicose (SÖDERHOLM et al., 1999). Uma banda em 1106 cm^{-1} também é comumente observada devido ao modelo de flexão angular $\delta(\text{C-O-C})$, além de contribuições de $\nu(\text{O-C-H})$, $\nu(\text{C-O-H})$ e $\nu(\text{C-C-H})$ abaixo de 1340 cm^{-1} e principalmente $\nu(\text{C-C-H})$ em torno de 1340 cm^{-1} .

Figura 20: FT-Raman amostra de a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 decoradas com a cisteamina, antes e após a funcionalização.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

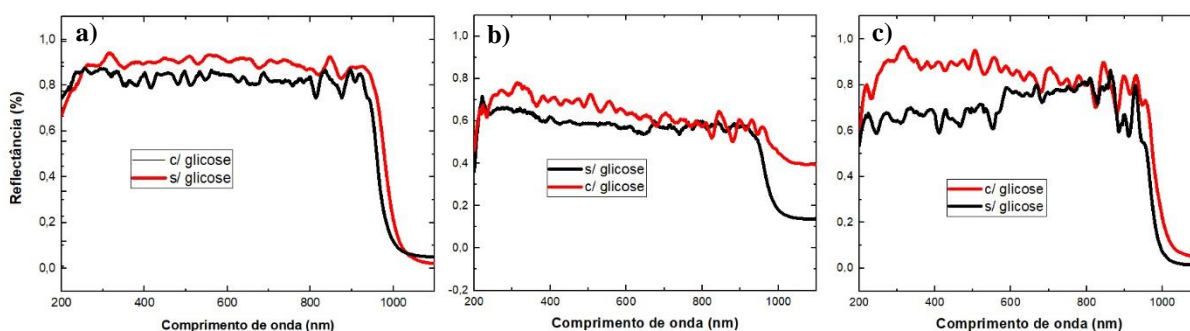
O cálculo mostra um modo em torno de 1230 cm^{-1} com uma amplitude particularmente grande para o modo de alongamento (C–O) no anel. Outros modos, em 1400 cm^{-1} a uma vibração $\nu(\text{O–C–H})$ quase pura e o modo em 1460 cm^{-1} uma vibração pura do grupo CH_2 . (ILASLAN; BOYACI; TOPCU, 2014). Na literatura, a comparação de resultados de FTIR de glicose pura e glicose reagido com NaOH observa-se que ao reagir com o NaOH uma banda larga na região entre 2500 e 3000 cm^{-1} (YANG et al., 2020). Assim, a banda larga observada a partir de $\sim 2000\text{ cm}^{-1}$ sugere que houve uma interação entre a enzima GOx e a glicose.

4.6.2 UV-vis

Para confirmar a interação das amostras de GOx/Cys/Au/NNO, GOx/Cys/Au/NENO30 e GOx/Cys/Au/NENO35 com a glicose, foram feitas medidas de espectroscopia UV-vis antes e depois da interação com a glicose, que são apresentados na Figura 21. Visto que dos resultados anteriores de UV-vis dos filmes sem decoração foram apresentados na seção anterior, eles não foram apresentados aqui.

A figura apresenta os espectros de UV-vis destas amostras antes e depois da reação com a solução de glicose. Nestes é possível observar um pequeno deslocamento para maiores comprimentos de ondas das bandas de absorção $\sim 1000\text{ nm}$.

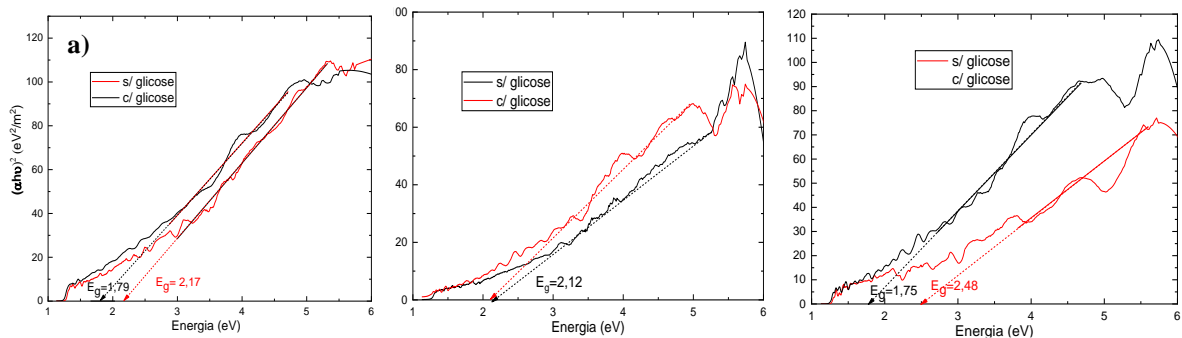
Figura 21: Espectros de UV-vis das amostras de a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 decorados com GOx, respectivamente, antes e após a deposição de uma solução de $0,5\text{ M}$ de glicose na superfície.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Para verificar este ponto fez-se a análise de Tauc para estimar o gap ótico para estas amostras. A figura 22(a)-(c) apresentam os gráficos de Tauc derivados dos espectros de UV-vis dos três filmes sintetizados. A partir do ajuste linear dos gráficos de Tauc plotados os valores de band gap ótico dos filmes foram estimados.

Figura 22: Gráfico de Tauc estimado para a 2ª transição nos filmes de (a) NNO/Au/Cys/GOx; (b) NENO30/Au/Cys/GOx; e (c) NENO35/Au/Cys/GOx.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Embora tal ajuste não possa ser usado para determinar o valor preciso do *band gap*, pode-se verificar a tendência de redução dos valores de E_g com a introdução dos íons de Eu^{3+} na matriz do NdNiO_3 , o que sugere a abertura de um *band gap* óptico. Como descrito no capítulo introdutório, a abertura de *band gap* acompanha o mecanismo de desproporção de cargas na estrutura eletrônica de óxidos fortemente correlacionados, servindo como indicativo de mudança de fase e, portanto, de comportamento elétrico. Se por um lado, a torção provocada na estrutura de octaedros NiO_6 com a introdução de átomos de Eu aumenta a sobreposição dos orbitais, a injeção de um elétron extra no orbital e_g do Ni^{3+} leva a um comportamento mais isolante devido a efeito de localização dos elétrons (SHI; ZHOU; RAMANATHAN, 2014).

Os ângulos de ligação Ni-O-Ni estão intimamente relacionados com as estruturas eletrônicas do RNiO_3 de forma que, quando os ângulos de ligação Ni-O-Ni diminuem, o mesmo acontece com a largura de banda, o que induz uma lacuna de transferência de carga entre os estados O 2p e Ni 3d. Enquanto, para elementos de terras raras com grande raio iônico, a sobreposição entre os estados O 2p e Ni 3d leva a uma energia de transferência de carga (Δ) menor ou até negativa. Isso é consistente com o fato de que quando o elemento terra rara muda de Nd para Eu levou ao aumento da T_{MI} , como visto no capítulo anterior. Assim, a injeção de um elétron extra no orbital e_g do Ni^{3+} leva a um comportamento de aumento da resistência elétrica devido a efeito de localização dos elétrons e podem ser usados como elemento transdutor nos biossensores a base de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($R = \text{Eu}$; $0 \leq x \leq 0,35$).

4.7 Medidas de Transporte

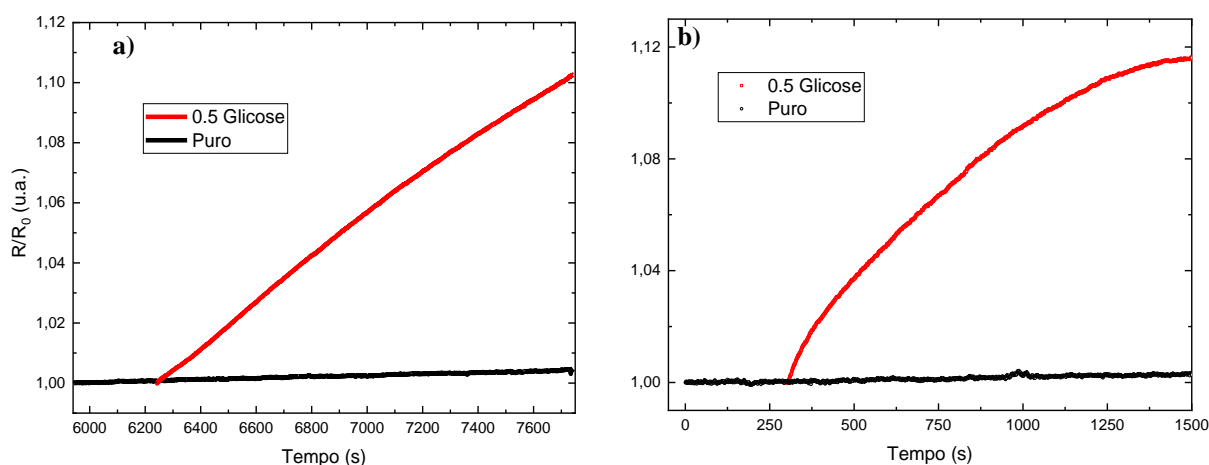
Neste trabalho a resposta sensorial dos filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ decorados foram avaliadas por medidas de resistência elétrica $R(t)$ normalizada em relação a $R_0 = R(t=0s)$, que denominamos aqui de R/R_0 . Medidas de resistividade em função da temperatura e curvas da

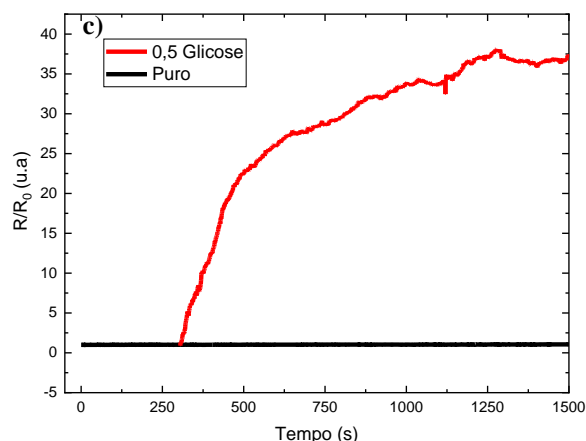
corrente em função da tensão após as etapas de fixação da cisteamina da enzima confirmaram a alteração da resistência como um indicativo de reação (reação entre o GOx, a cisteamina e a glicose (Apêndice 1 – Figura A2).

4.7.1 Aplicação do Biossensor

Primeiramente foi verificado o efeito na resposta elétrica dos dispositivos de NNO puros e dopados com Eu em 30% e 35%, monitorando a resistência elétrica em função do tempo dos filmes após o gotejamento de uma solução de 0,5 M de glicose. O resultado das medidas para os 3 dispositivos está apresentado na figura 23. Fica evidente a relação de aumento da razão R/R_0 em função da concentração da solução de glicose aplicada, apresentando uma tendência a formação de um platô de estabilização a partir de 20 minutos após a adição da solução. Os resultados confirmam a reação entre os dispositivos montados e a solução de 0,5 M de glicose depositada sobre a superfície, com rápido crescimento inicial da resistência. Sem a adição da solução o sinal permanece praticamente constante como indicam as linhas em preto de cada figura.

Figura 23 - Resistência temporal dos dispositivos de a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35, decorados com as enzimas GOx, durante a adição de uma solução de glicose de 0,5 M na superfície.

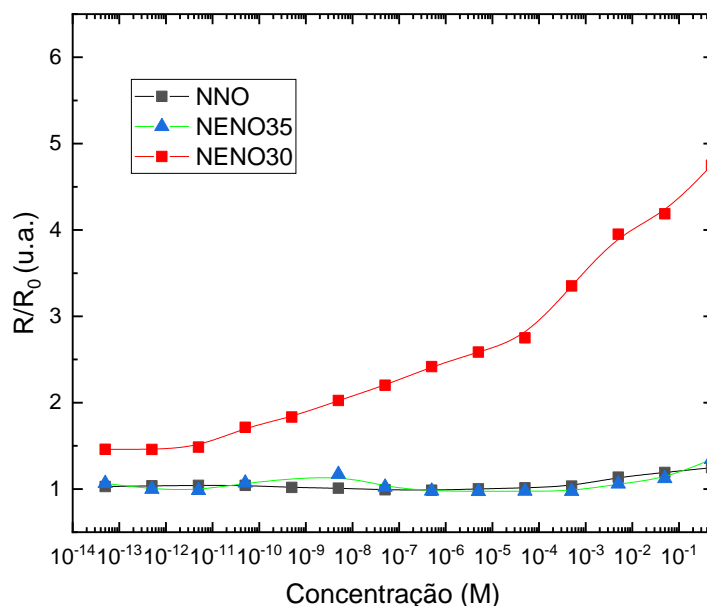




Fonte: Elaborado pelo autor. 2022.

Na figura 24 é apresentado a variação da resposta elétrica dos filmes construídos a adição de soluções de glicose crescentes em concentração. Fica evidente a sensibilidade dos dispositivos com relação de aumento da resposta de resistência após a aplicação e em função da concentração da solução de glicose aplicada para todos os filmes, apresentando uma curva de característica semelhante a exponencial.

Figura 24 - Variação da resposta elétrica em função da concentração de glicose para os dispositivos de a) NNO/Au/Cys/GOx, b) NENO30/Au/Cys/GOx e c) NENO35/Au/Cys/GOx.



Fonte: Elaborado pelo autor. 2022.

Esse comportamento de aumento resistivo era esperado e foi observado anteriormente na literatura em alguns trabalhos com sensores de SmNiO_3 funcionalizados com Cys e GOx,

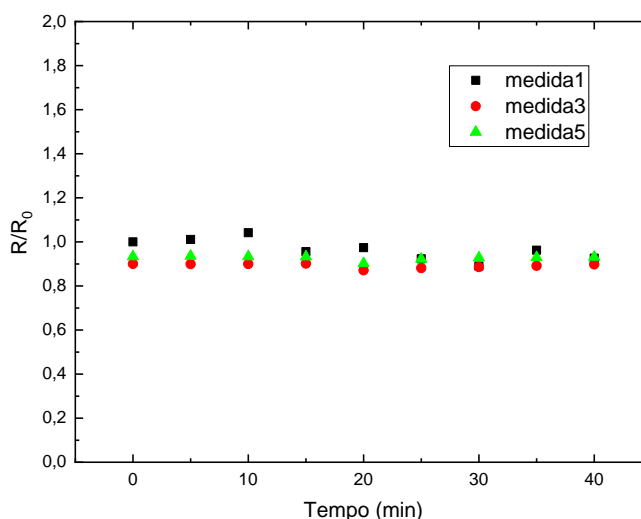
apresentando comportamento muito semelhante (ZHANG et al., 2019b). Analisando individualmente a resposta R/R_0 para diferentes concentrações de glicose, nota-se que o filme de NENO30 apresenta a melhor resposta sensora e indicando uma resposta quase cinco vezes maiores que os demais filmes. Este resultado sugere que a resposta sensora depende da concentração de Eu na amostra e acredita-se também a região ou metálica ou isolante analisada.

Para calcular o limite detecção, utilizou-se a equação 4 e extrapolando a curva para a região de mínima concentração. Note que o limite de detecção é uma característica importante dos materiais que apresentam fortes correlações eletrônicas, efeito conhecido da mecânica quântica onde um pequenas perturbações na ocupação de elétrons dos orbitais pode resultar em grandes modulações no gap de transporte. Os valores encontrados foram de $7,9 \mu\text{mol cm}^2 \text{L}^{-1}$, $7,6 \mu\text{mol.cm}^2 \text{L}^{-1}$ e $0,583 \mu\text{mol.cm}^2 \text{L}^{-1}$ para os filmes de NNO, NENO30 e NENO35, respectivamente. Os valores estão em conformidade com os descritos na literatura para diferentes sensores eletroquímicos de glicose, que utilizam como base um material de estrutura perovskita (BOUBEZARI et al., 2021; SIVAKUMAR et al., 2017).

4.7.2 Reprodutibilidade dos dispositivos NENO/GOx

Para verificar a repetitividade das respostas dos dispositivos de NENO/Au/Cys/GOx foram preparados 3 filmes de NNO, NENO30 e NENO35 e fez-se várias medidas R/R_0 versus tempo e acrescentando a glicose para ver se a resposta apresentada na seção anterior é reprodutível. De forma, geral, verificou-se que a reposta foi reprodutível como exemplificado na figura 25, que mostra 3 medidas consecutivas de R x tempo para a mostra de NENO30.

Figura 25: Medidas de R/R_0 versus tempo para verificar a reprodutibilidade dos resultados obtidos para dispositivos de GOx-NENO30 repetido por 3 vezes, após reação com 0,5M de Glicose.

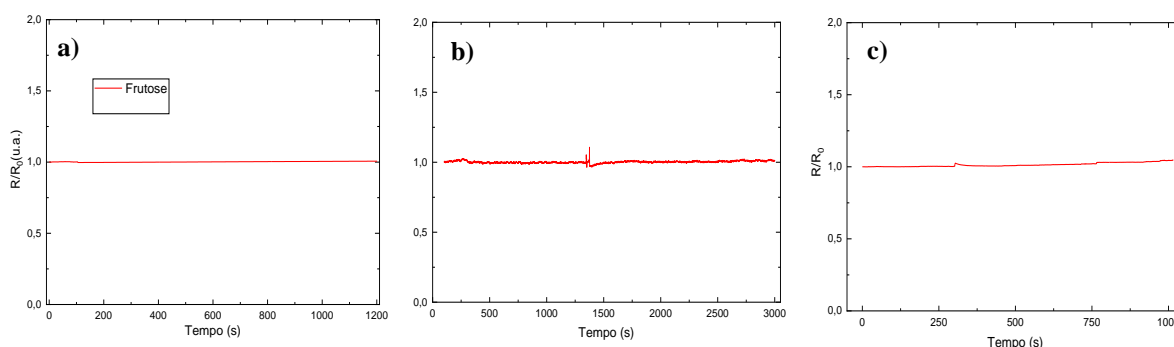


Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

4.7.3 Seletividade dos dispositivos NENO/GOx

Na figura 26 é apresentado a avaliação da seletividade para o filme de NENO30, a partir da adição de outras soluções diferentes da utilizada de glicose. Foram gotejadas soluções de 0,5 M de frutose e galactose, por período de 20 minutos de maneira semelhante a aplicada na secção com a glicose.

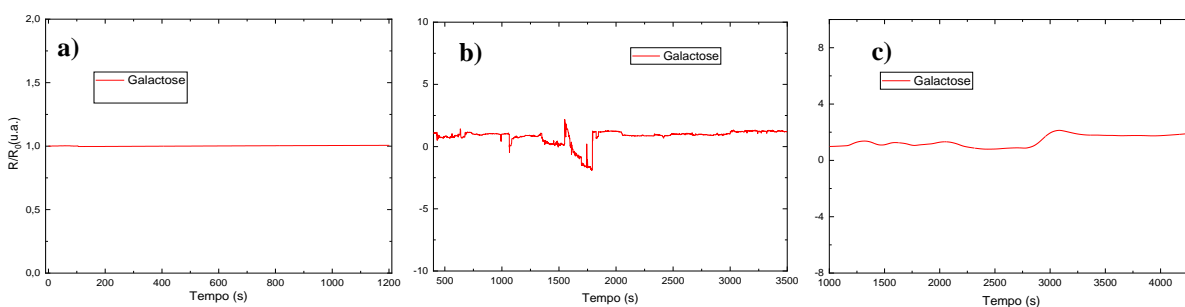
Figura 26: Seletividade dos filmes a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 a soluções de 0,5 M de Frutose.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

A Figura 27 apresenta a resposta R/R_0 versus tempo para todos os filmes com a adição de galactose. Como é possível verificar, a resposta resistiva dos tres filmes não apresentaram grande variação, retornando a sinal inicial após recuperar da perturbação causada pelo gotejamento das soluções. Resposta similar foi obtida para a Frutose, o que indica que os filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ apresentam seletividade para detecção de glicose, resultado similar também foi reportado por Ramanathan et al. para filmes de SmNiO_3 funcionalizado de forma similar a descrita neste trabalho.(ZHANG et al., 2019b)

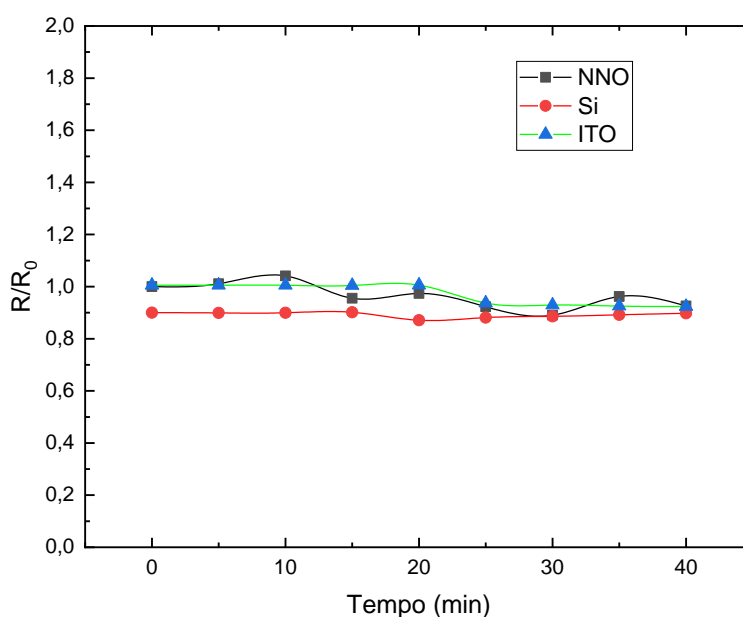
Figura 27: Seletividade dos filmes a) NNO, b) NENO30 e c) NENO35 a soluções de 0,5 M de Galactose.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

A influência do substrato e importância dos filmes de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ também foi avaliada, para isto foi avaliado a resposta R/R_0 de outros substratos funcionalizados com Au/Cys/GOx. Os eletrodos de ouro foram depositados em substratos de Si (100) e filmes de ITO/vidro e ITO/PET, sendo decorados com cys e GOx. As medidas também foram feitas monitorando R/R_0 versus tempo e com a adição da solução de 0,5 M de glicose na superfície. Os resultados são apresentados na figura 28, sendo que nenhuma mudança significativa no sinal elétrico foi observada, o que demonstra a ausência de reação entre a glicose adicionada e o GOx.

Figura 28: Curvas de R/R_0 versus tempo com a adição de 0,5M de glicose nos filmes NNO de ITO/PET e Si (100)/SiO₂ decorados com GOx.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Pode ser verificar que a razão R/R_0 da resposta manteve constante para um período de cerca de 40 minutos para os três filmes de substratos distintos, confirmando que nenhuma transferência espontânea de elétrons foi detectada. A importância da funcionalização das trilhas de ouro também fica evidente, uma vez que a resposta elétrica dos filmes se manteve constante, não apresentando o comportamento de variação com a adição da solução, como resultado da cadeia de transferência que é formada entre a glicose-enzima-óxido.

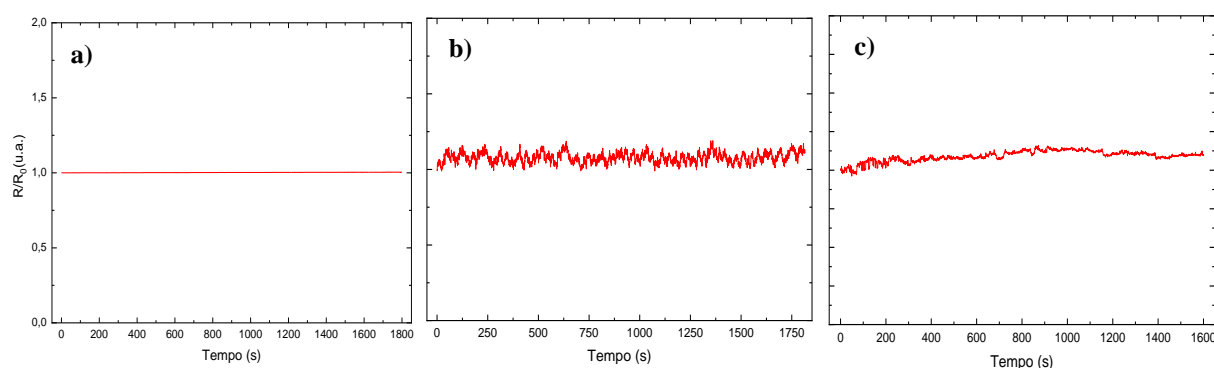
4.7.4 Estabilidade Dispositivos NENO/GOx

A estabilidade dos dispositivos também foi avaliada, verificando possíveis variações do sinal por um tempo de 30 minutos. Na figura 29 vemos o estudo da estabilidade dos três dispositivos de $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($R = \text{Eu}$; $0 \leq x \leq 0,35$) decorados com as enzimas de GOx. Todos

os filmes mantiveram uma resposta constante não apresentando variações consideráveis, mostrando serem estáveis e que a dopagem com glicose não é volátil a temperatura ambiente.

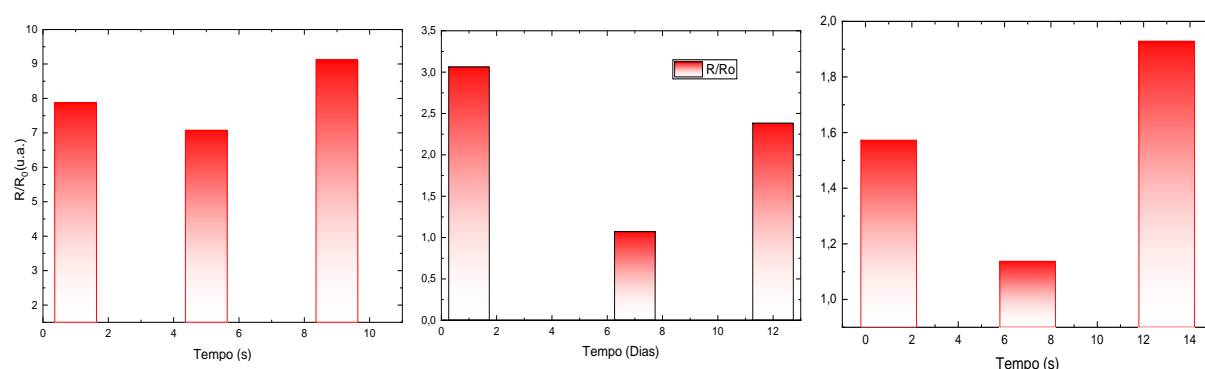
Um estudo da estabilidade dos filmes de GOx-NNO, GOx-NENO 30 e GOx-NENO35 funcionalizado ao longo de 15 dias também foi avaliado, conforme apresentado na figura 30. A resistência dos filmes tomadas depois em dias diferentes (1, 7, 9, 11, 12 e 13 dias) da construção seguiram valores da ordem 6Ω . Outras medidas adicionais de R/R_0 versus tempo bem como das respostas observadas para as demais amostras estão sendo tomadas para verificação da repetitividade e reprodutibilidade.

Figura 29: Estabilidade dos dispositivos de a) GOx-NNO, b) GOx-NENO30 e c) GOx-NENO35 monitorada por 30 min, após reação com 0,5M de Glicose.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

Figura 30: Estabilidade do filme de NENO30 decorados com GOx monitorada ao longo de dias, após reação com 0,5M de Glicose.



Fonte: elaborado pelo autor. 2022.

4.8 Aplicação

Neste trabalho foi verificado também que a modificação eletrônica causada pela introdução do íon Eu^{3+} na matriz de NdNiO_3 afeta o quanto que o valor de R/R_0 aumenta com

a adição da glicose. Note que este mecanismo é proposto para o SmNiO_3 ($T_{\text{MI}} \sim 400\text{K}$) e uma resposta similar é observada para nanotubos de NdNiO_3 quando utilizado como sensor de ácido ascórbico. Neste último caso, a presença de $\text{Ni}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$ no composto NdNiO_3 também contribui para a reposta sensora. Visto que as amostras estudadas aqui apresentaram a transição metal isolante entre 185 K e 300 K e como foram obtidas a partir de tratamento térmicos em baixas pressões de oxigênio devem apresentar na sua estrutura uma mistura $\text{Ni}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$. Sendo assim, acredita-se que estes fatores permitiram uma melhor resposta sensora da amostra NENO30, isto porque sua $T_{\text{MI}} \sim 300\text{K}$ assim apresenta uma maior sensibilidade a qualquer modificação na sua superfície.

A fim de se obter melhor efeito de comparação do desempenho obtido, a faixa e o limite de detecção (LOD) de alguns trabalhos que envolvem a construção de sensores de glicose de base perovskita é apresentado na tabela 4. Biossensores perovskita à base de La apresentam os menores limites inferiores de detecção como de 8 nM obtido para eletrodos de pasta de carbono modificados com $\text{LaNi}_{0,6}\text{Co}_{0,4}\text{O}_3$ (ZHANG et al., 2012). A perovskita também fornece um limite de detecção mais baixo para H_2O_2 , mostrando o maior efeito catalítico dos íons do sítio B, Ni e Co. Outros íons do sítio A de lantanídeos também são utilizados, como o praseodímio e neodímio, substituídos por alcalino-terrosos como Ba e estrôncio (EL-ADS; GALAL; ATTA, 2016; HE et al., 2017).

Tabela 4: Desempenho de biossensores de glicose de base perovskita.

Material	Faixa de Detecção	LOD	Ref.
$\text{NdNiO}_3/\text{GCE}$	0.0005–4.6 mM	0.3 μM	Sivakumar et al. (2017)
Nanotubos de Carbono	0–0.9 mM	0.9 mM	Park et al. (2018)
$\text{SmNiO}_3/\text{GOx}/\text{Cys}/\text{Au}$	5×10^{-11} – 5×10^3 μM	0.5 μM	Zhang et al. (2019)
$\text{Sr}_{1,7}\text{Ca}_{0,3}\text{PdO}_3/\text{Grafite}$	5 μM –1.4 mM	8.45 nM	El-Ads et al. (2016)
poly(MPC-co-EHMA-co-MBP)(PMEHB)	1.75–10000 μM	13,04 μM	Arakawa et al. (2020)
SilkNCT	25–300 μM	5 μM	He et al. (2019)
GRGO/AC/PtNP/Chit-GOx/nafion	0.002–10 mM	5.21 mM	Hossain and Park (2016)
$\text{LaNi}_{0,6}\text{Co}_{0,4}\text{O}_3/\text{CPE}$	0.05–200 μM	8.0 nM	Zhang et. al. (2012)

NiO/ITO	0.01–83 mM	8.1 μ M	Pal et. al. (2018)
Nanofios de Co ₃ O ₄ /Nafion/GCE	5–570 μ M	5 μ M	Kang et al. (2015)
SrPdO ₃ /AuNPs	0.1–6 mM	10.1 μ M	El-Ads et. al. (2015)

A modificação dos eletrodos com nanomateriais condutores, como PtNPs e AuNPs, também permite reduzir à limites de detecção muito baixo demonstrando ser uma técnica efetiva. Um limite inferior de detecção de 5,21 nM foi obtido para compósitos de carbono ativado por óxido de grafeno reduzido, associado a nanopartículas de platina revelando alta seletividade de glicose na presença de outras espécies interferentes bioativas como ácido ascórbico (AA), ácido úrico (UA) (EL-ADS; GALAL; ATTA, 2016; HE et al., 2020; HOSSAIN; PARK, 2016). O limite inferior de detecção de 2,11 nM foi obtido com eletrodos de grafite modificados com Sr₂Pd_{0,7}Au_{0,3}O₃ (EL-ADS; GALAL; ATTA, 2016).

As condições experimentais para detecção de glicose na presença de perovskitas à base de lantânio são muito próximas daquelas para detecção de glicose na presença de eletrodos modificados por óxido, mas o limite de detecção obtido é menor. Quando a glicose é detectada com eletrodos modificados com NiO, os limites de detecção obtidos estão entre 0,1 μ M e 8,1 μ M, em uma faixa de detecção de 10^{-4} M– 0,5 M (MISHRA et al., 2018; PAL; BANERJEE; BHAUMIK, 2018). Quando a glicose é detectada com eletrodos modificados com Co₃O₄, os limites de detecção obtidos estão entre 0,1 μ M a 5 μ M, com a glicose sendo detectada entre 0,1–0,3 M (HAN; YANG; LIU, 2015).

Considerando os níveis biológicos padrão de glicose em fluídos como suor, lágrima e saliva para indivíduos saudáveis e diagnosticados com diabetes, da ordem de 0,01 – 5 mM (TANG et al., 2020). Como pode ser observado, o desempenho obtido e alta seletividade de 5×10^{-6} - 5×10^3 μ M para os filmes como o de NENO30/Au/Cys/GOx está de acordo como os valores reportados para diferentes biossensores de base perovskita e se enquadram na série que permite aplicação em uma variedade de fluídos biológicos. A tecnologia de fabricação de biossensores apresentada neste trabalho também é prontamente aplicável à fabricação de outros biossensores baseados em oxidases, como biossensores para colesterol, álcool, lactato, acetilcolina, colina, hipoxantina e xantina.

5. CONCLUSÕES

Os resultados deste trabalho mostraram a possibilidade de obtenção de biossensores de NNO/Au/Cys e NENO/Au/cys de boa sensibilidade e limite de detecção. A vantagem deste método está relacionada a simplicidade na síntese e montagem do biossensor. O método de deposição de solução química permitiu obter filmes de óxidos NdNiO_3 e $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ ($x=0$; 0,30; 0,35) de estrutura perovskita distorcida ortorrômbicamente de microestrutura superficial homogênea e livre de trincas. Os filmes apresentaram propriedades físicas diferenciadas, como a presença de uma transição metal-isolante que pode ser modulada por dopagem e tensão da rede.

Na construção dos biossensores, a deposição de eletrodos de ouro (~100 nm) e funcionalização com cisteamina e GOx dos filmes apresentaram uma resposta expressiva a presença da Glicose mesmo em concentrações da ordem de 10^{-12} ML^{-1} . Foi avaliado interferência, seletividade, repetitividade e reprodutibilidade dos resultados através do monitoramento de medidas de resistência elétrica a temperatura ambiente. Com relação dos filmes de $x=0,30$ e 0,35, a introdução de Eu^{3+} na matriz de NdNiO_3 modifica sua estrutura eletrônica, revelando uma possível relação direta com a resposta sensora destes dispositivos, com o mecanismo de reação atribuído a proporção $\text{Ni}^{3+}/\text{Ni}^{2+}$ presente e da temperatura de transição metal-isolante dos niquelatos.

Por fim, os resultados obtidos sugerem que estes compostos podem ser excelentes candidatos para a construção de biossensores de glicose. Como sabido, embora a detecção não enzimática seja uma técnica mais econômica e de vida útil mais longa quando comparada a detecção eletroquímica enzimática, está apresenta várias desvantagens, como alto potencial de trabalho, cinética lenta do eletrodo, envenenamento por espécies intermediárias e parâmetros de detecção fracos.

6. ATIVIDADES FUTURAS

Como etapas futuras este trabalho pretende-se:

- Realizar medidas adicionais de R/R_0 versus tempo sem e com adição de glicose para verificar a repetitividade e reprodutibilidade.
- Caracterizar os filmes e biossensores com espectroscopia de fotoelétrons excitados por Raios X (XPS) para verificar a presença das espécies Ni^{3+} e Ni^{2+} nas amostras estudadas, associar este resultado a presença de vacâncias de oxigênio.
- Com estes resultados pretende-se redigir pelo menos um artigo científico e apresentar em conferência ou congresso da área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÀMOFF, M. D.; MAGALHÃES, P. J.; RAM, S. J. Image processing with imageJ. **Biophotonics International**, v. 11, n. 7, p. 36–41, 2004.

AHMAD, R. et al. Deposition of nanomaterials: A crucial step in biosensor fabrication. **Materials Today Communications**, v. 17, p. 289–321, 1 dez. 2018.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, ; **Standards of medical care in diabetes-2009** **Diabetes Care**, jan. 2009.

ATKINSON, M. A.; EISENBARTH, G. S.; MICHELS, A. W. Type 1 diabetes. **The Lancet**, v. 383, n. 9911, p. 69–82, 4 jan. 2014.

BAENA-DÍEZ, J. M. et al. Risk of Cause-Specific Death in Individuals With Diabetes: A Competing Risks Analysis. **Diabetes Care**, v. 39, n. 11, p. 1987–1995, 1 nov. 2016.

BANKAR, S. B. et al. Glucose oxidase — An overview. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 4, p. 489–501, 1 jul. 2009.

BARBETA, V. B. et al. Metal-insulator transition in $\text{Nd}_{1-x}\text{Eu}_x\text{NiO}_3$ probed by specific heat and anelastic measurements. **JOURNAL OF APPLIED PHYSICS**, v. 109, n. 2011, p. 67–70, 2012.

BARRETO, E. **Diabetes aumentou 16% na população mundial nos últimos dois anos | CNN Brasil**. Disponível em: <<https://www.cnnbrasil.com.br/saude/diabetes-aumentou-16-na-populacao-mundial-nos-ultimos-dois-anos/>>. Acesso em: 13 maio. 2022.

BOUBEZARI, I. et al. Sensitive Electrochemical Detection of Bioactive Molecules (Hydrogen Peroxide, Glucose, Dopamine) with Perovskites-Based Sensors. **Chemosensors** **2021**, Vol. **9**, Page **289**, v. 9, n. 10, p. 289, 12 out. 2021.

CAPON, F. et al. Metal – insulator transition at room temperature and infrared properties of $\text{Nd}_{0.7}\text{Eu}_{0.3}\text{NiO}_3$ thin films Metal – insulator transition at room temperature and infrared properties. **Applied Physics Letters**, v. 81, n. 2002, p. 22–25, 2013.

CATALAN, G. Progress in perovskite nickelate research. **Phase Transitions**, v. 81, n. 7–8, p. 729–749, jul. 2008.

CATALANO, S.; GILBERT, M.; INIGUEZ, J; TRISCONE, J-M; KREISEL, J. Rare-earth nickelates $R\text{NiO}_3$: thin films and heterostructures. **Reports on Progress in Physics**, v. 81, p. 046501, 2018.

CHATTERJEE, S.; KHUNTI, K.; DAVIES, M. J. Type 2 diabetes. **The Lancet**, v. 389, n. 10085, p. 2239–2251, 3 jun. 2017.

CHEN, T. W. et al. Graphene and Perovskite-Based Nanocomposite for Both Electrochemical and Gas Sensor Applications: An Overview. **Sensors (Switzerland)**, v. 20, n. 23, p. 1–24, 2 nov. 2020.

CHINNAPPAN, A. et al. Recent Advancement in Biofluid-Based Glucose Sensors Using Invasive , Minimally Invasive , and Non-Invasive Technologies : A Review. 2022.

CHO, N. H. et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 138, p. 271–281, 1 abr. 2018.

CIUDIN, A.; HERNANDEZ, C.; SIMO, R. Non-Invasive Methods of Glucose Measurement: Current Status and Future Perspectives. **Current Diabetes Reviews**, v. 8, n. 1, p. 48–54, 26 dez. 2011.

CLARK, L. C.; LYONS, C. ELECTRODE SYSTEMS FOR CONTINUOUS MONITORING IN CARDIOVASCULAR SURGERY. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 102, n. 1, p. 29–45, 1 out. 1962.

CULLITY, B. D. .; STOCK, S. R. **Elements of X-Ray Diffraction**. 3rd Editio ed. [s.l: s.n.]. v. 108

EL-ADS, E. H.; GALAL, A.; ATTA, N. F. The effect of A-site doping in a strontium palladium perovskite and its applications for non-enzymatic glucose sensing †. 2016.

ESCOTE, M. T. **Estudo da transição metal-isolante em óxidos de terra-rara e níquel**. São Paulo: Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, fev. 2002.

ESCOTE, M. T. et al. Metal-insulator transition in $\text{Nd}(1-x)\text{Eu}(x)\text{NiO}_3$ compounds. **Journal of physics. Condensed matter : an Institute of Physics journal**, v. 18, n. 26, p. 6117–32, 2006.

FERNANDES, J. D. G. et al. Synthesis and characterization of neodymium nickelate powder produced from polymeric precursors. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 344, n. 1–2, p. 157–160, 2002.

GARCÍA-MUÑOZ, J. et al. Neutron-diffraction study of $R\text{NiO}_3$ ($R=\text{La,Pr,Nd,Sm}$): Electronically induced structural changes across the metal-insulator transition. **Physical Review B**, v. 46, n. 8, p. 4414–4425, ago. 1992a.

GARCÍA-MUÑOZ, J. L. et al. Neutron-diffraction study of $R\text{NiO}_3$ ($R=\text{La,Pr,Nd,Sm}$): Electronically induced structural changes across the metal-insulator transition. **Physical Review B**, v. 46, n. 8, p. 4414–4425, 15 ago. 1992b.

HAN, L.; YANG, D. P.; LIU, A. Leaf-templated synthesis of 3D hierarchical porous cobalt oxide nanostructure as direct electrochemical biosensing interface with enhanced electrocatalysis. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 63, p. 145–152, 15 jan. 2015.

HE, J. et al. High-performance non-enzymatic perovskite sensor for hydrogen peroxide and glucose electrochemical detection. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 244, p. 482–491, 2017.

HE, L. et al. Efficient Anti-solvent-free Spin-Coated and Printed Sn-Perovskite Solar Cells with Crystal-Based Precursor Solutions. **Matter**, v. 2, n. 1, p. 167–180, 8 jan. 2020.

HOSSAIN, M. F.; PARK, J. Y. Plain to point network reduced graphene oxide-activated carbon composites decorated with platinum nanoparticles for urine glucose detection. **Scientific Reports**, v. 6, n. January, p. 1–10, 2016.

ILASLAN, K.; BOYACI, I. H.; TOPCU, A. Rapid analysis of glucose, fructose and sucrose contents of commercial soft drinks using Raman spectroscopy. 2014.

ITO, K. et al. Strategic design and improvement of the internal electron transfer of heme b domain-fused glucose dehydrogenase for use in direct electron transfer-type glucose sensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 176, p. 112911, 15 mar. 2021.

JOHNSTON, S. et al. Charge disproportionation without charge transfer in the rare-earth-

element nickelates as a possible mechanism for the metal-insulator transition. **Physical Review Letters**, v. 112, n. 10, p. 106404, 10 mar. 2014.

KIM, C.; NEWTON, K. M.; KNOPP, R. H. Gestational Diabetes and the Incidence of Type 2 DiabetesA systematic review. **Diabetes Care**, v. 25, n. 10, p. 1862–1868, 1 out. 2002.

LACORRE, P. et al. Synthesis, crystal structure, and properties of metallic PrNiO₃: Comparison with metallic NdNiO₃ and semiconducting SmNiO₃. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 91, n. 2, p. 225–237, abr. 1991.

LEE, I. et al. Continuous glucose monitoring systems-Current status and future perspectives of the flagship technologies in biosensor research. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 181, p. 956–5663, 1 jun. 2021.

LIU, A. et al. **Multidimensional coherent spectroscopy reveals triplet state coherences in cesium lead-halide perovskite nanocrystals.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://advances.sciencemag.org/>>.

MAKUŁA, P.; PACIA, M.; MACYK, W. **How To Correctly Determine the Band Gap Energy of Modified Semiconductor Photocatalysts Based on UV-Vis Spectra****Journal of Physical Chemistry Letters**American Chemical Society, , 6 dez. 2018.

MARTINHO, H. DA S. **Descrição das técnicas e acessórios de medida do sistema de espectroscopia de absorção no infravermelho FT-IR 660 da Varian.** [s.l: s.n.].

MATHLOUTHI, M.; VINH LUU, D. Laser-raman spectra of d-glucose and sucrose in aqueous solution. **Carbohydrate Research**, v. 81, n. 2, p. 203–212, 15 maio 1980.

MAULANA, M. I. et al. A New Synthesis and Characterization of NdNiO₃ Perovskite Nanoparticles via Coprecipitation Method. **Chemistry Research Journal**, v. 2020, n. 1, p. 156–166, 2020.

MEDARDE, L. Structural , magnetic and electronic properties of perovskites (R = rare earth)
Structural , magnetic and electronic properties of RNiO₃ perovskites (R = rare earth). **Journal Phys.: Condens. Matter**, v. 9, p. 1679, 1997a.

MEDARDE, M. L. Structural, magnetic and electronic properties of perovskites (R = rare earth). **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 9, n. 8, p. 1679, 24 fev. 1997b.

MEDINA, M. S. et al. Low oxygen pressure synthesis of NdNiO_{3-δ} nanowires by electrospinning. **Nano Express**, v. 1, n. 1, p. 010028, 1 jun. 2020.

MIRANDA, M. A. R. **O limite de aplicação da equação de Scherrer**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2017.

MISHRA, S. et al. Mesoporous Nickel Oxide (NiO) Nanopetals for Ultrasensitive Glucose Sensing. **Nanoscale Research Letters**, v. 13, n. 1, p. 1–7, 11 jan. 2018.

MORAL, R. F. et al. Synthesis of Polycrystalline Ruddlesden–Popper Organic Lead Halides and Their Growth Dynamics. **Chemistry of Materials**, v. 31, n. 22, p. 9472–9479, 26 nov. 2019.

MOURE, C.; PEÑA, O. Recent advances in perovskites: Processing and properties. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 123–148, 1 dez. 2015.

NAKAMURA, S.; HAYASHI, S.; KOGA, K. EFFECT OF PERIODATE OXIDATION ON THE STRUCTURE AND PROPERTIES OF GLUCOSE OXIDASE. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 445, p. 294–308, 1976.

NAPIERALA, C. et al. Moderate pressure synthesis of rare earth nickelate with metal–insulator transition using polymeric precursors. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 183, n. 7, p. 1663–1669, 1 jul. 2010.

NIKULIN, I. V. et al. Oxygen nonstoichiometry of NdNiO_{3-δ} and SmNiO_{3-δ}. **Materials Research Bulletin**, v. 39, n. 6, p. 775–791, 5 maio 2004.

OGURTSOVA, K. et al. IDF diabetes Atlas: Global estimates of undiagnosed diabetes in adults for 2021. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 183, p. 109118, 1 jan. 2022.

OJHA, S. K. et al. Anomalous electron transport in epitaxial NdNiO₃ films. **Physical Review B**, v. 99, n. 23, 2019.

PAL, N.; BANERJEE, S.; BHAUMIK, A. A facile route for the syntheses of Ni(OH)₂ and NiO nanostructures as potential candidates for non-enzymatic glucose sensor. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 516, p. 121–127, 15 abr. 2018.

PAZUR, J. H. [18] Glucose oxidase from *Aspergillus niger*. **Methods in Enzymology**, v. 9, n.

C, p. 82–87, 1 jan. 1966.

PU, Z. et al. A flexible electrochemical glucose sensor with composite nanostructured surface of the working electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 230, p. 801–809, 1 jul. 2016.

RISÉRUS, U.; WILLETT, W. C.; HU, F. B. Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. **Progress in Lipid Research**, v. 48, n. 1, p. 44–51, 1 jan. 2009.

SHI, J. et al. A correlated nickelate synaptic transistor. **Nature Communications**, v. 4, p. 1–9, 2013.

SHI, J.; ZHOU, Y.; RAMANATHAN, S. Colossal resistance switching and band gap modulation in a perovskite nickelate by electron doping. **Nature Communications**, v. 5, p. 1–9, 3 set. 2014.

SHRIVASTAVA, A.; GUPTA, V. B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. **Chronicles of Young Scientists**, v. 2, n. 1, p. 21–25, 2011.

SINGH, Y. Electrical Resistivity Measurements: A Review. **International Journal of Modern Physics: Conference Series**, v. 22, p. 745–756, jan. 2013.

SIVAKUMAR, M. et al. Facile synthesis of perovskite-type NdNiO₃ nanoparticles for an effective electrochemical non-enzymatic glucose biosensor. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 19, p. 11201–11207, 25 set. 2017.

SÖDERHOLM, S. et al. Raman spectra of fructose and glucose in the amorphous and crystalline states. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 30, n. 11, p. 1009–1018, 1999.

SONG, H. et al. Triangular silver nanoparticle U-bent fiber sensor based on localized surface plasmon resonance. **AIP Advances**, v. 9, n. 8, p. 085307, 1 ago. 2019.

STUART, B. (BARBARA H. . **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. [s.l.] J. Wiley, 2004.

SUN, Y. et al. In Vivo Glutamate Sensing inside the Mouse Brain with Perovskite Nickelate-Nafion Heterostructures. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 12, n. 22, p. 24564–24574, 3 jun. 2020.

SZOSTAK, R. et al. **Nanoscale mapping of chemical composition in organic-inorganic hybrid perovskite films**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://advances.sciencemag.org/>>.

TANG, L. et al. Non-Invasive Blood Glucose Monitoring Technology: A Review. **Sensors** **2020**, Vol. **20**, Page **6925**, v. 20, n. 23, p. 6925, 4 dez. 2020.

THATIKAYALA, D. et al. Progress of Advanced Nanomaterials in the Non-Enzymatic Electrochemical Sensing of Glucose and H₂O₂. . 22 out. 2020, p. 151.

TIWARI, A.; RAJEEV, K. P. Effect of oxygen stoichiometry on the electrical resistivity behaviour of NdNiO₃- δ . **Solid State Communications**, v. 109, n. 2, p. 119–124, 14 dez. 1998.

TOMASZEWSKI, P. E. The uncertainty in the grain size calculation from X-ray diffraction data. **Phase Transitions**, v. 86, n. 2–3, p. 260–266, 2013.

TONYUSHKINA, K.; NICHOLS, J. H. Glucose meters: A review of technical challenges to obtaining accurate results. **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 971–980, 1 jul. 2009.

TORRANCE, J. B. et al. Systematic study of insulator-metal transitions in perovskites RNiO₃ (R=Pr,Nd,Sm,Eu) due to closing of charge-transfer gap. **Physical Review B**, v. 45, n. 14, p. 8209–8212, 1992.

UNICAMP. **Limpeza padrão RCA**. Disponível em: <<https://www.ccs.unicamp.br/cursos/fee107/rca.html>>. Acesso em: 21 fev. 2022.

VASHIST, S. K.; KUMAR VASHIST, S. Non-invasive glucose monitoring technology in diabetes management: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 750, p. 16–27, 31 out. 2012.

WANG, B. et al. A novel route to prepare LaNiO₃ perovskite-type oxide nanofibers by electrospinning for glucose and hydrogen peroxide sensing. **Analyst**, v. 138, n. 1, p. 362–367, 27 nov. 2013.

WANG, L. et al. Competition between strain and dimensionality effects on the electronic phase transitions in NdNiO₃ films OPEN. **Nature Publishing Group**, v. 5, p. 18707, 2015.

WHICHER, C. A.; O'NEILL, S.; HOLT, R. I. G. Diabetes in the UK: 2019. **Diabetic Medicine**, v. 37, n. 2, p. 242–247, 1 fev. 2020.

YANG, L. W. et al. Improving linear range limitation of non-enzymatic glucose sensor by OH⁻ concentration. **Crystals**, v. 10, n. 3, 1 mar. 2020.

YEAW, J. et al. Cost of Self-Monitoring of Blood Glucose in the United States Among Patients on an Insulin Regimen for Diabetes. <https://doi.org/10.18553/jmcp.2012.18.1.21>, v. 18, n. 1, p. 21–32, 14 set. 2015.

YOO, P.; LIAO, P. First principles study on hydrogen doping induced metal-to-insulator transition in rare earth nickelates RNiO₃ (R = Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Yb). **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 13, p. 6888–6895, 2020.

ZAANEN, J.; SAWATZKY, G. A.; ALLEN, J. W. Band Gaps and Electronic Structure of Transition-Metal Compounds. **Physical Review Letters**, v. 55, n. 4, p. 418–421, 1985.

ZAFAR, H. et al. Comprehensive Review on Wearable Sweat-Glucose Sensors for Continuous Glucose Monitoring. p. 1–35, 2022.

ZHANG, H. T. et al. Perovskite nickelates as bio-electronic interfaces. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1–7, 2019a.

ZHANG, H. T. et al. Perovskite nickelates as bio-electronic interfaces. **Nature Communications** **2019 10:1**, v. 10, n. 1, p. 1–7, 10 abr. 2019b.

ZHANG, R. et al. Noninvasive Electromagnetic Wave Sensing of Glucose. **Sensors** **2019, Vol. 19, Page 1151**, v. 19, n. 5, p. 1151, 7 mar. 2019c.

ZHANG, Z. et al. A novel nonenzymatic sensor based on LaNi_{0.6}Co_{0.4}O₃ modified electrode for hydrogen peroxide and glucose. **Analytica Chimica Acta**, v. 745, p. 112–117, 1 out. 2012.

ZHU, C. et al. Electrochemical Sensors and Biosensors Based on Nanomaterials and Nanostructures. **Anal. Chem.**, v. 87, p. 249, 2015.

Apêndice A – Figuras complementares

Figura A1 – Espectro FTIR das soluções de GOx e glicose.

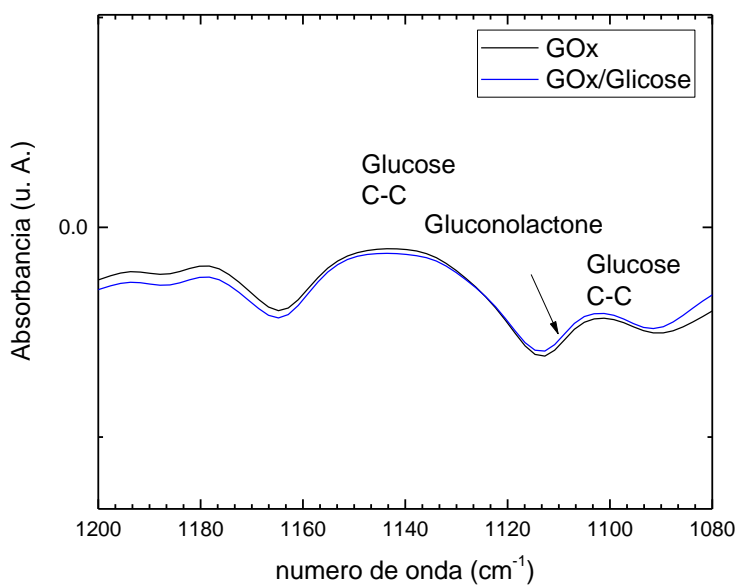


Figura A2 – Comportamento da resistividade dos filmes construídos, observada nas curvas: a) corrente vs. tensão de resistência em função da temperatura (b), antes (i) e após a fixação da cisteamina (ii) e da enzima glicose oxidase (iii).

