

Universidade Presbiteriana Mackenzie

Escola de Engenharia

Relatório Final

ESTUDO DA INTERAÇÃO DE GRAFENO E ÓXIDO DE GRAFENO COM OS
FLAVONÓIDES QUERCETINA, NARINGENINA E APIGENINA.

Profa Dra Anamaria Dias Pereira Alexiou

Pesquisador-líder

Prof. Dr. Jairo José Pedrotti

Profa. Dra. Maura Vincenza Rossi

Pesquisadores colaboradores

Setembro de 2016

SUMÁRIO

Resumo do projeto.....	4
1. INTRODUÇÃO.....	5
1.1. OBJETIVOS.....	8
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	9
2.1. REAGENTES, SOLVENTES, MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS.....	9
2.1.1. Análise elementar.....	9
2.1.2. Determinação de manganês.....	10
2.1.3. Determinação de enxofre.....	10
2.1.4. Termogravimetria.....	10
2.1.5. Espectroscopia Raman.....	10
2.1.6. Difração de raios-X.....	11
2.1.7. Espectroscopia vibracional.....	11
2.1.8. Espectroscopia eletrônica.....	11
2.1.9. Microscopia eletrônica de varredura.....	11
2.1.10. Microscopia de varredura por tunelamento.....	11
2.2. OBTENÇÃO DE GRAFENO POR ESFOLIAÇÃO COM SOLVENTE.....	11
2.2.1. Esfoliação da grafite em dmso na presença de naringenina.....	12
2.2.2. Efeito do tempo de sonicação e velocidade de centrifugação.....	12
2.2.3 Efeito da forma de adição dos flavonoides.....	12
2.2.4 Efeito do solvente.....	12
2.2.5. Efeito da temperatura.....	13
2.3. OBTENÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO.....	13
2.4. INTERAÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO COM OS FLAVONÓIDES.....	15
2.4.1. Interação a temperatura ambiente.....	15
2.4.2. Interação a quente.....	16
2.5. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS.....	16

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
3.1. OBTENÇÃO DE GRAFENO POR ESFOLIAÇÃO COM SOLVENTE.....	17
3.1.1. Esfoliação da grafite em dmso na presença de naringenina.....	17
3.1.2. Efeito do tempo de sonicação e velocidade de centrifugação.....	19
3.1.3 Efeito da forma de adição do flavonoide.....	21
3.1.4 Efeito do solvente.....	24
3.1.5 Efeito da temperatura.....	27
3.2. CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO.....	33
3.2.1. Análise elementar.....	33
3.2.2. Análise termogravimétrica.....	34
3.2.3. Espectroscopia Raman.....	35
3.2.4. Difração de raios-X.....	37
3.2.5. Espectroscopia vibracional.....	38
3.2.6. Espectroscopia eletrônica.....	40
3.3. INTERAÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO COM OS FLAVONÓIDES.....	42
3.3.1. Interação a temperatura ambiente.....	42
3.3.2. Interação a quente.....	45
3.4. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS.....	47
4. CONCLUSÃO	51
5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS	52
6. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA	53
REFERÊNCIAS	54

RESUMO DO PROJETO

Grafeno uma das formas alotrópicas do carbono, exibe uma estrutura bidimensional, onde os átomos apresentam um arranjo hexagonal. Ele é transparente, possui uma área superficial extremamente elevada, é mais forte que o aço e apresenta uma alta condutividade elétrica e térmica. Ele foi preparado pela primeira vez pela esfoliação da grafite, e desde então diversas técnicas tem sido utilizadas para produzir grafeno em grande escala. Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos visando aplicações em eletrônica, spintrônica, fotônica e optoeletrônica, sensores, armazenamento de energia e compósitos. Uma área menos explorada é a da interação do grafeno com moléculas biológicas. Assim, esse trabalho teve por meta estudar a interação de grafeno e de óxido de grafeno com flavonoides com o objetivo de verificar se é possível usar esses polifenóis para estabilizar o grafeno obtido por esfoliação por solvente, reduzir o óxido de grafeno e estabilizá-lo bem como verificar se há diferença nas propriedades do grafeno obtido por esses dois métodos. Os flavonoides escolhidos foram 3-hidroxiavona, 5-hidroxiavona, 3,7-dihidroxiavona, a naringenina e a apigenina. Utilizou-se, também, a quercetina, para servir de base de comparação, visto que há alguns trabalhos na literatura com esse flavonoide. Os estudos de espectroscopia eletrônica mostraram que há uma interação entre o grafite esfoliado e os flavonoides. Essa interação depende da posição das hidroxilas no anel dos polifenóis, pois verificou-se que a 3-hidroxiavona interage mais intensamente que a 5-hidroxiavona. A maioria dos trabalhos emprega N-metilpirrolidona como solvente para fazer a esfoliação da grafite, contudo ele não se mostrou adequado quando se utiliza a espectroscopia eletrônica como técnica de estudo. Quando a esfoliação foi feita na presença da 3,7-dihidroxiavona, uma nova banda surgiu ao redor de 400nm. A intensidade dessa banda depende do solvente e da presença ou não de grafite. Estudos de espectroscopia Raman mostram que grafeno de poucas camadas (*few layer*) foi obtido a temperatura ambiente a partir da esfoliação na presença da 3,7-dihidroxiavona. Melhores resultados foram conseguidos quando se utilizou a quercetina e o processo foi feito a 80°C. Óxido de grafeno (GO) foi obtido a partir da oxidação da grafite e caracterizado por diversas técnicas. Quanto a estabilidade das soluções, GO permanece mais tempo disperso em meio básico. Os estudos mostraram que é possível reduzir GO com quercetina, naringenina e apigenina. Mas, o processo precisa ser otimizado. Por fim, os estudos eletroquímicos mostraram que quando se emprega um eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido há uma melhora no sinal do processo de oxidação da quercetina e da naringenina.

1. INTRODUÇÃO

Grafeno, uma das formas alotrópicas do carbono, possui uma estrutura bidimensional onde os átomos se organizam em anéis hexagonais (figura 1). Esse novo material tem a espessura de um átomo e possui propriedades elétricas e mecânicas excepcionais. Ele é transparente, mais forte que o aço e apresenta uma alta condutividade elétrica e térmica (NOBEL PRIZE, 2012).

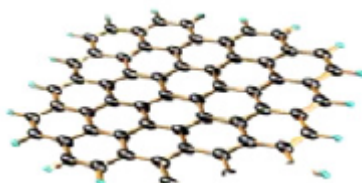


Figura 1. Representação esquemática do grafeno

Ele foi preparado pela primeira vez por Novoselov e colaboradores (2004), a partir da esfoliação micromecânica do grafite pirolítico. Essa técnica consiste em remover sucessivamente lâminas de grafite por meio de uma fita adesiva até se obter uma monocamada de grafeno. Esse método, contudo é impraticável para aplicações em larga escala.

A fabricação de grafeno de qualidade e em escala industrial vem sendo um grande desafio. Na literatura encontra-se diferentes métodos para a síntese do grafeno, como o crescimento epitaxial, sobre as superfícies electricamente isolante (BERGER et.al., 2004), método por deposição química de vapor (CVD) de hidrocarbonetos em substratos de metais de transição (LEE, LEE & ZHONG, 2010), descarga de arco elétrico (SUBRAHMANYAM et.al., 2009), sonicação direta (LOTYA et.al., 2009), bem como a redução química a partir de uma solução de óxido de grafeno (GO) (STANKOVICH et al., 2007; SKALTSAS et al., 2012).

Este último tem recebido maior atenção, pois vem sendo considerado como um caminho possível para a produção industrial, por se tratar de um processo simples e de baixo custo. Basicamente, o grafite é oxidado em meio ácido e na presença de agentes oxidantes como o permanganato de potássio e o nitrato de sódio (HUMMERS; OFFEMAN, 1958) seguido da redução química do óxido de grafeno (GO).

A oxidação do grafite na presença de ácidos e oxidantes introduz grupos hidroxila ou epóxido na estrutura e grupos carbonila e carboxila nas bordas. Esses grupos funcionais tornam as camadas de óxido de grafite fortemente hidrofílicas e diminui a interação entre elas (MATTEVI et al., 2009). Assim, as camadas de óxido de grafite são facilmente dispersáveis em água e vários outros solventes, gerando o óxido de grafeno.

Assim sendo, muitas tentativas têm sido dedicadas à redução de GO, no entanto o agente redutor mais eficiente até o momento é a hidrazina mas que apresenta desvantagens por ser um produto corrosivo, potencialmente explosivo e tóxico. Além disso, forma átomos de carbono com hibridização sp^3 e alguns ligados a átomos de nitrogênio, os quais reduzem a esperada alta mobilidade e condutividade dos elétrons nesse nanomaterial. Grafeno obtido dessa forma tende a formar agregados de modo irreversível, devido às fortes forças de Van de Waals entre as camadas (AKHAVAN et al.,2012).

Na procura de métodos menos agressivos, eficientes, biocompatíveis e ambientalmente corretos, alguns pesquisadores tem empregado o chá verde (AKHAVAN et al.,2012; WANG et al.,2011) e polifenóis (LIAO et al., 2011a) para a redução do óxido de grafeno. O mecanismo proposto envolve a reação do polifenol com o grupo epóxido e formação subsequente de uma quinona (figura 2). Uma das vantagens desse método é que a interação entre o polifenol e o grafeno evita a agregação de suas camadas.

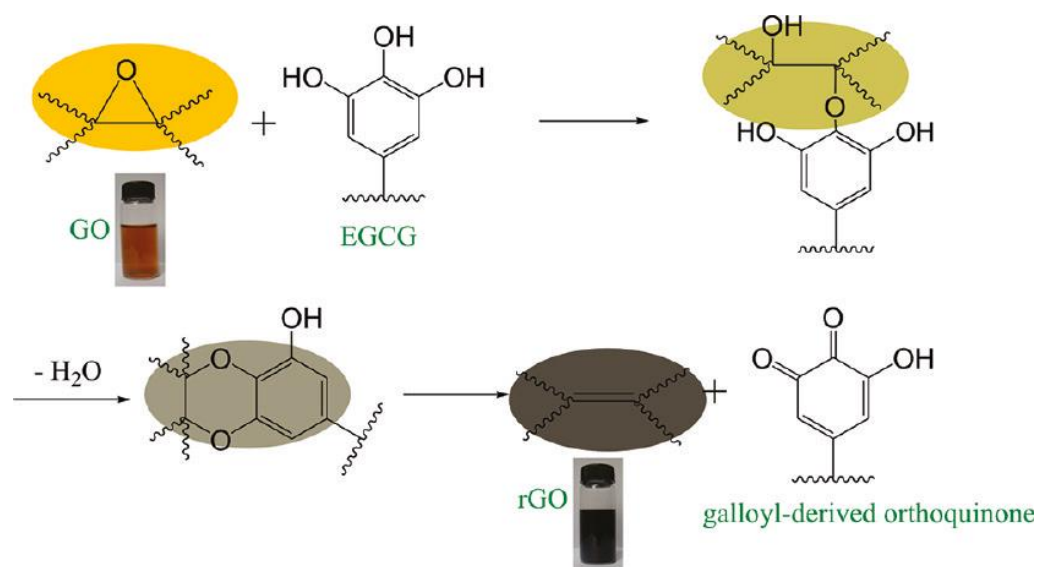


Figura 2. Mecanismo proposto para a redução do óxido de grafeno por galato de epigalocatequina (EGCG) (LIAO et al., 2011a).

Diversas técnicas são utilizadas na caracterização do grafeno e seu óxido, sendo que a espectroscopia Raman é uma das mais utilizadas. No espectro Raman de uma monocamada de grafeno são esperadas bandas em 1580cm^{-1} (banda G) e em 2690cm^{-1} (banda 2D), sendo essa última quatro vezes mais intensa. A presença de uma banda em 1350cm^{-1} (banda D) indica a presença de carbono sp^3 ou defeitos na estrutura (SUN, et al., 2010).

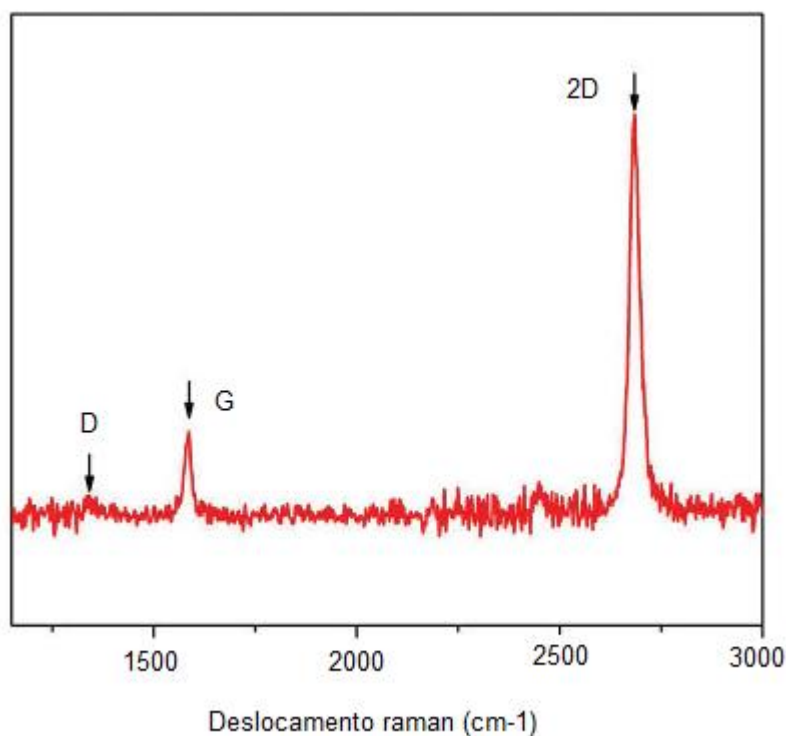


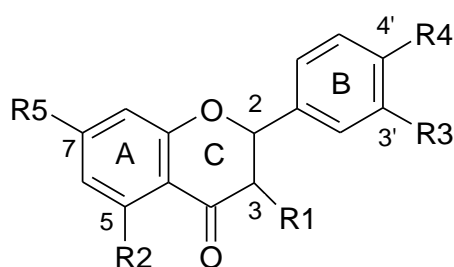
Figura 3. Espectro Raman do grafeno (SUN, et al., 2010)

A espectroscopia eletrônica pode ser empregada na caracterização do grafeno e seu óxido, visto que o primeiro apresenta bandas ao redor de 262nm e o último em 230nm (KUILA et al., 2012). Técnicas de microscopia (eletrônica, de transmissão ou de força atômica), além de difração de raios X e análise térmica também podem ser empregadas na caracterização do grafeno.

Nanomateriais bidimensionais de carbono, incluindo grafeno e óxido de grafeno, são candidatos potenciais para aplicações biomédicas (LIAO et al., 2011b; ZHANG et al., 2013). Devido ao fato de todos os átomos situarem-se na superfície eles podem interagir com material biológico de diferentes formas e tamanho. Por ser robusto e inerte, o grafeno pode servir de suporte para espécies reativas e assim atuar como um liberador de drogas (RAHMANIAN et al., 2014) e engenharia de tecidos. Além disso, devido a sua estrutura hexagonal, podem-se empregar princípios de química orgânica para ligar uma série de biomoléculas ao grafeno. Estudos recentes mostraram que grafeno obtido a partir da redução com chá verde apresentou alta eficiência na terapia fototérmica contra células de câncer de cólon HT29 and SW48 (ABDOLAHAD et al., 2012).

Outra linha de investigação envolve o desenvolvimento de eletrodos contendo óxido de grafeno e polímeros para a determinação eletroquímica de quercetina, um dos flavonoides com maior atividade antioxidante (SUN et al., 2013).

Flavonoides são compostos polifenólicos, que possuem um sistema de três anéis hexagonais incluindo dois aromáticos ligados através de três carbonos que normalmente formam um anel heterocíclico oxigenado (figura 4). Esses compostos são encontrados em plantas, alimentos e bebidas e apresentam atividade antioxidante, antitumoral e antibacteriana (ANDERSEN, 2006). Contudo, uma limitação na aplicação desses compostos em meio biológico é a baixa solubilidade dos complexos em água. Assim, é interessante testar a possibilidade de utilizar o grafeno para atuar como transporte de flavonoides para os organismos vivos.



Composto	Abreviatura	R1	R2	R3	R4	R5
3-hidroxi flavona	3-HF	OH	H	H	H	H
5-hidroxi flavona	5-HF	H	OH	H	H	H
3,7-dihidroxi flavona	3,7-diHF	OH	H	H	H	OH
naringenina	Nar	H	OH	H	OH	OH
apigenina	Apg	H	OH	H	OH	OH
quercetina	Q	OH	OH	OH	OH	OH

Figura 4: Esquema da estrutura de alguns flavonóides, com o sistema de numeração da IUPAC.

1.1. OBJETIVOS

Esse trabalho teve por meta estudar a interação de grafeno e de óxido de grafeno com flavonoides com o objetivo de verificar se é possível usar esses polifenóis para estabilizar o grafeno obtido por esfoliação por solvente, reduzir o óxido de grafeno e estabilizá-lo bem como verificar se há diferença nas propriedades do grafeno obtido por esses dois métodos. Os flavonoides escolhidos inicialmente foram a naringenina, uma flavanona, e a apigenina, um flavonol, cuja única diferença situa-se na ligação entre os carbonos 2 e 3. Também se utilizará a quercetina, para servir de base de comparação, visto que há alguns trabalhos na literatura com esse flavonoide. Alguns testes foram realizados com 3-hidroxi flavona, 5-hidroxi flavona e 3,7-dihidroxi flavona.

Com esse trabalho pretende-se contribuir para o desenvolvimento de rotas ambientalmente corretas para a síntese de grafeno, aumento da solubilidade dos

flavonoides, além de desenvolvimento de sensores eletroquímicos para a detecção desses compostos orgânicos.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. REAGENTES, SOLVENTES, MATERIAIS E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

Usou-se grafites de diferentes tamanhos de grão $\leq 45\mu\text{m}$, $\leq 150\mu\text{m}$ (99,9%) e +100 mesh (*flakes*, $\geq 75\%$ min) todos da Sigma Aldrich e da companhia Nacional de Grafite de ~1mm de tamanho, denominados G45, G150, Gflakes e GN. Também utilizou-se um grafite vendido como lubrificante para verificar se é possível obter óxido de grafeno a partir de um material de baixo custo (Glm). Os solventes N-metilpirrolidona (NMP) da Sigma-Aldrich, metanol da Tedia, dimetilsulfóxido (DMSO) e etanol ambos da Synth, foram utilizados sem purificação adicional. Os flavonoides, quercetina diidratada(Q), apigenina(Apg), naringenina(Nar), 3-hidroxiflavona(3HF), 5-hidroxiflavona(5HF) e 3,7-dihidroxiflavona(3,7diHF) foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

Na síntese do óxido de grafite utilizou-se ácido sulfúrico (Synth), permanganato de potássio (Nuclear), peróxido de hidrogênio (Dinâmica), ácido clorídrico (37%, Merck) e ácido fosfórico (85%, Neon). As propriedades do óxido de grafeno obtido foram comparadas com o comercial (Sigma-Aldrich ,2mg/mL).

2.1.1. Análise elementar

O teor de carbono e hidrogênio nas amostras do óxido de grafeno (GO) foi determinado num analisador da Perkin Elmer CHN 2400 da Central Analítica do Instituto de Química da USP.

2.1.2. Determinação de manganês

Para a avaliação da quantidade de manganês residual nas amostras de óxido de grafeno utilizou-se um espectrômetro de emissão atômica de plasma indutivamente acoplado, marca Varian, modelo Vista MPX (ICP-OES) do Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT). As medidas foram realizadas a partir de soluções resultantes da digestão de 10mg de cada amostra com 5mL de água régia (3HNO₃:1HCl), sob agitação e aquecimento (100°C) por duas horas, seguida por filtração da solução, lavagem do resíduo até um volume final 10mL.

2.1.3. Determinação de enxofre

O teor de enxofre nas amostras de GO foi avaliado a partir da determinação da concentração de sulfato por cromatografia de íons. As análises cromatográficas foram

feitas num sistema cromatográfico Metrohm modelo 792 com detecção condutométrica, sendo o controle da instrumentação e o tratamento das informações analíticas efetuados com o software Metrohm 792 IC Basics. Para a determinação dos ânions utilizou-se coluna aniônica Metrosep A-Supp 5 (250 x 4 mm) da Metrohm, como eluente solução tampão de Na_2CO_3 4,0 mmol/L / NaHCO_3 1,0 mmol/L, vazão 1,0 mL/min, volume injetado de 20 μL , coluna supressora Metrohm. Para a supressão foi utilizado H_2SO_4 50 mmol/L e água deionizada em vazão de 0,9 mL/min. Para a construção da curva de calibração, preparou-se diversas soluções padrões em concentrações que variaram de 5 a 20 mg/L de íons sulfato.

2.1.4. Termogravimetria

As curvas termogravimétricas foram obtidas num analisador termogravimétrico STA i1500 da Central Analítica do Instituto de Química da USP, utilizando massa de amostra de 1 a 3 mg, cadinho de cerâmica, fluxo de nitrogênio de 50mL/min e uma taxa de aquecimento de 10°C/min.

2.1.5. Espectroscopia Raman

Os espectros Raman da grafite (flakes em torno de 1mm da Nacional de Grafite) e do óxido de grafeno foram obtidos num Microscópio Confocal Raman alpha 300R da Witec, usando laser de 488, 532 e 633 nm. As amostras na forma líquida foram colocadas sobre lamínulas de vidro.

2.1.6. Difração de raios-X

As medidas de difração de raios-X foram obtidas num Difrátômetro da Rigaku, modelo Miniflex II - Geometria Bragg-Brentano $\theta:2\theta$, usando a radiação $K\alpha$ do Cu- ($\lambda=1.540596 \text{ \AA}$). As amostras de grafite e óxido de grafeno foram colocadas sobre o suporte do equipamento.

2.1.7. Espectroscopia vibracional

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrômetro da Shimadzu modelo IRAffinity-1, no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} , a partir da amostra dispersa em pastilha de KBr.

2.1.8. Espectroscopia eletrônica

Na obtenção dos espectros eletrônicos utilizou-se um espectrofotômetro UV-Visível da Agilent modelo 8453. As medidas foram efetuadas na região de 190 a 1100 nm usando cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

2.1.9. Microscopia eletrônica de varredura

As imagens das amostras foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (MEV) de baixa energia (Tabletop Microscop,) da HITACHI modelo TM3000, a partir de uma alíquota destas amostras em uma lamínula de vidro. As lamínulas de vidro foram limpas com H_2O_2 e H_2SO_4 , na proporção 1:1, em uma placa de Petri durante dez minutos e depois sonicadas com água deionizada.

2.1.10. Microscopia de varredura por tunelamento (STM, scanning tunneling microscopy)

Imagens topográficas do material depositado sobre as placas de silício foram obtidas num microscópio SPM da Molecular Image (PicoSPM I) acoplado a um controlador Picoscan 2100 do Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia do Instituto de Química da USP.

2.2. OBTENÇÃO DE GRAFENO POR ESFOLIAÇÃO COM SOLVENTE

2.2.1. Esfoliação da grafite em DMSO na presença de naringenina.

Em dois frascos de vidro adicionou-se 10 mL de solução $9,18 \cdot 10^{-4}$ mol/L de naringenina em DMSO e num deles adicionou-se 10mg de GN e no outro 10mg de G45. As soluções foram levadas a um banho ultrassônico durante 1 hora, e as soluções rapidamente passaram de incolor para um tom acinzentado. A seguir, espectros eletrônicos das duas soluções foram obtidos.

2.2.2. Efeito do tempo de sonicação e velocidade de centrifugação

Soluções contendo 0,5mg/mL de grafite G150 foram sonicadas nos banhos ultrassônicos da Cole-Parmer (CP-32W), modelo 08891-01 ou da Elmassonic-P (EP-programado para 32% de 100W) e o material não esfoliado foi removido em uma centrifuga da CentriBio, modelo 80-2B.

Para determinar o melhor tempo de sonicação e melhor velocidade de centrifugação, preparou-se soluções contendo 0,5mg/mL de grafite, que permaneceram num banho ultrassônico por 1 hora, 1h30 ou 2h30 e foram centrifugados a 2000rpm, 2500rpm, 3000rpm, 3500rpm e 4000rpm, por 15 minutos. Logo após, espectros eletrônicos dos sobrenadantes foram obtidos.

2.2.3 Efeito da forma de adição dos flavonoides

Três procedimentos diferentes foram feitos para verificar qual o efeito da adição de flavonoides (3-HF e 5-HF) na esfoliação e estabilização da dispersão de grafeno resultante:

- a) Adição do flavonoide sólido (10mg) a 15mL de solução do grafite esfoliado (0,5mg/mL) em DMSO,
- b) Adição do grafite sólido (10mg) a solução do flavonoide (2,9mmol/L) em DMSO,
- c) Adição de grafite(10mg) e o flavonoide sólido(25mg) a 50mL de DMSO.

De um modo geral, as soluções permaneceram em banho ultrassônico por uma hora e foram centrifugadas por 30 minutos a 4000 rpm.

2.2.4 Efeito do solvente

Adicionou-se 9,97 mg de Gflakes em dois balões volumétricos de 25 mL, acrescentado apenas em um deles 9,98 mg da 3,7-diHF, tendo o volume de ambos completado com NMP. As duas soluções foram sonicadas durante 1h30 e centrifugada a 3000rpm por 15 min.

Em seis balões volumétricos de 10mL adicionou-se 9,98 mg de 3,7-di-HF, sendo dois completados com etanol, outros dois com dimetilsulfóxido (DMSO) e o restante com NMP. Em seguida foi acrescentado 9,99 mg de Gflakes em apenas um balão de cada solvente, sendo estes sonicados por um período de 1h e depois centrifugados a 4000rpm por 15 minutos. Logo após, foi obtido o espectro eletrônico de cada solução e a imagem de cada amostra utilizando um MEV.

2.2.5 Efeito da temperatura

Dois experimentos foram realizados empregando o flavonoide quercetina: um a temperatura ambiente(método 1) e outro a quente(método 2).

No procedimento realizado a temperatura ambiente 3,93mg de grafite GN e 3,68mg de grafite G150 foram adicionados separadamente a 10mL de solução $3,5 \cdot 10^{-5}$ mol/L de quercetina em metanol. As duas amostras foram colocadas num banho ultrassônico por 1 hora e logo em seguida foi obtido o espectro eletrônico de cada solução (método 1)

No método 2, colocou-se 15 mL de solução $1,75 \cdot 10^{-5}$ mol/L de quercetina em metanol em três frascos e adicionou-se ao primeiro 15 mg de G45, ao segundo 15mg de G150 e no terceiro 15mg de GN. Em outros 3 frascos, repetiu-se o procedimento acima utilizando 15 mL de álcool metílico, sem o flavonoide. Esses frascos foram colocados no banho ultrassônico por 1 hora. Em seguida, as soluções foram levadas para o banho termostático (Huber, modelo D 77656 Offenburg) a temperatura constante de 80°C por 8 horas. As soluções foram centrifugadas a 1000 rpm por 10 minutos e uma parte de cada uma delas foi filtrada usando um filtro de PVDF 0,45 μ m (Millex). Em seguida, espectros eletrônicos foram obtidos para cada uma das condições citadas acima.

2.3. OBTENÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO

Foram realizados nove procedimentos de obtenção do óxido de grafeno designadas por 1G, 2SD, 3AR, 4M1, 5M2, 6Gf, 7G150, 8G45 e 9Mlm, com o objetivo de verificar se o tamanho do grafite de partida e as condições de síntese influenciariam no produto final. Os óxidos 1G, 2SD, 4M1e 5M2 foram obtidos através do método de Hummers modificado (KRISHNAMOORTHY et al., 2013), o 3AR pelo procedimento descrito como *Improved Hummers* por Margano e colaboradores (2010) e o 6Gf, 7G150, 8G45 e 9Mlm pelo método de desenvolvido por Dimiev e Tour (2014). Foram utilizados cinco tipos de grafite e diferentes proporções de reagentes (tabela 1).

Tabela1. Resumo das quantidades de reagentes utilizados nas sínteses do óxido de grafite(GrO).

Síntese	Procedência do grafite	m _{grafite} (g)	V _{H₂SO₄} (mL)	V _{H₃PO₄} (mL)	m _{KMnO₄} (g)	G:KMnO ₄
1G	GN	0,5	11	-	1,5	1:3
2SD	GN	2,0	45	-	6,0	1:3
3AR	G150	2,0	240	27	12,0	1:6
4M1	G45	3,0	200	-	9,0	1:3
5M2	G45	3,0	200	-	9,0	1:3
6Gf	Gflakes	1,2	125	-	4,5	1:4
7G150	G150	1,0	125	-	4,0	1:4
8G45	G45	1,0	125	-	4,1	1:4
9Mlm	Glm	5,1	500	-	20,1	1:4

De um modo geral, grafite foi dispersa em ácido sulfúrico concentrado com o auxílio de um agitador mecânico. A seguir, quatro porções de KMnO₄ foram adicionados,

separadamente, a suspensão de grafite. Após o término da reação, evidenciado pelo desaparecimento da cor verde da solução, a mistura foi colocada lentamente em um béquer contendo gelo (~300mL) e gotas de H₂O₂ 30% foram adicionados a mistura até o desaparecimento da coloração violeta, característica do KMnO₄. A seguir a mistura foi dividida em tubos e centrifugada a 4000rpm(1G, 2SD, 3AR, 4M1, 5M2) ou 12000rpm(6Gf, 7G150, 8G45 e 9Mim). O sobrenadante foi removido e o material restante foi disperso em água, sob agitação por 1 hora, e novamente centrifugado a 4000rpm ou 12000rpm. Logo após, o precipitado foi lavado com água (três vezes), solução HCl 5% (uma vez) e novamente com água até pH neutro. O sólido obtido foi seco a vácuo(1G, 2SD, 3AR, 4M1, 5M2, 8G45) ou liofilizado(6Gf, 7G150, e 9Mim). Uma parte do material 7G150 foi seco em estufa a 50°C (denominado 7G150-50).

2.4. INTERAÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO COM OS FLAVONÓIDES

Nesse trabalho foram empregadas duas metodologias, uma a temperatura ambiente para verificar se o óxido de grafeno pode incorporar os flavonoides como relatado na literatura (Rahmanian et al., 2014) e outra a quente, pois autores sugerem que os flavonoides podem reduzir o GO (Liao et al., 2011).

2.4.1. Interação a temperatura ambiente

A incorporação dos flavonoides (quercetina, naringenina e apigenina) no GO foi feita seguindo o procedimento descrito por Rahmanian e colaboradores (2014).

De um modo geral, dispersões aquosas contendo GO(4M1 ou comercial) foram adicionadas a soluções de quercetina, naringenina e apigenina em etanol a e as misturas permaneceram em mesa orbital por 7 dias. Após esse tempo, as suspensões foram filtradas a vácuo e os sólidos foram lavados com água e secos em dessecador a vácuo. Os filtrados foram analisados por espectroscopia eletrônica.

Foram feitas quatro tentativas de incorporar o flavonoide no GO e um resumo das condições experimentais é mostrado na tabela 2.

Tabela 2: Resumo das concentrações do óxido de grafeno(GO), dos flavonoides quercetina, apigenina e naringenina utilizadas no experimento de incorporação do flavonoide em GO e a proporção em massa deles.

Tentativas	Tipo de GO	[GO] mg/mL	[quercetina] mol/L	[apigenina] mol/L	[naringenina] mol/L	GO:Q m/m
1 ^a	4M1	0,25	1,65.10 ⁻³	1,86.10 ⁻³	1,84.10 ⁻³	1:2
2 ^a	Sigma	0,50	1,66.10 ⁻³	1,87.10 ⁻³	-	1:1
3 ^a	4M1	0,17	2,20.10 ⁻³	2,48.10 ⁻³	2,46.10 ⁻³	1:2
4 ^a	4M1	0,20	2,65.10 ⁻³	-	-	1:4

2.4.2. Interação a quente

O processo de redução foi realizado segundo o procedimento de Liao e colaboradores(2011).

Em dois erlenmeyers, adicionou-se 25mL de dispersão de GO (0,2mg/mL) e em um deles 100mL de solução 3,33mM de quercetina em etanol. A mistura ficou em banho termostático (MPC-K6 Huber) com temperatura constante de 80°C por 8 horas. O sobrenadante foi separado com pipeta, filtrado à vácuo usando um filtro de náilon de 0,45µm e o sólido foi lavado com água deionizada, e seco em dessecador com vácuo.

2.5. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS

Os voltamogramas foram obtidos em um potenciostato/galvanostato da Autolab PGSTAT 302N, controlado pelo software NOVA versão 1.11, na região -1,0V e +1,5V, usando uma cela eletroquímica, constituída de um eletrodo de trabalho (carbono vítreo, GCE), um de referência (Ag/AgCl) dentro de um capilar de LUGGIN e um auxiliar (tarugo de carbono vítreo).

Foram adicionadas a cela eletroquímica 1,5mL de solução de quercetina ($1,97 \cdot 10^{-3}$ mol/L) ou de naringenina ($1,79 \cdot 10^{-3}$ mol/L) em DMSO foram adicionadas a cela eletroquímica juntamente com 13,5mL de solução de 0,02mol/L de tampão fosfato pH 6,59. Os estudos foram realizados com o eletrodo de carbono vítreo não modificado (GCE) e com o óxido de grafeno depositado e reduzido (GCE/GOr).

A eletrodeposição do GO foi adaptada de procedimentos descritos na literatura (CHEN et al., 2011). Em um eletrodo de carbono vítreo(GCE) com a superfície limpa, adicionou-se uma gota (10µL) da solução do óxido de grafeno comercial e deixou secar embaixo da lâmpada de 100W por 1hora com temperatura média de 35°C.

O GO depositado sobre o eletrodo foi reduzido eletroquimicamente fazendo 10, 15, 20 e 30 varreduras cíclicas entre 0,0 to -1,2V vs Ag/AgCl, em solução tampão acetato, pH 4.7. Para avaliar a qualidade do eletrodo modificado com GO (GCE/GOr), voltamogramas cíclicos de solução 10 mmol/L de ferricianeto de potássio em KCl 0,1mol/L, a 25mV/s foram obtidos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. OBTENÇÃO DE GRAFENO POR ESFOLIAÇÃO COM SOLVENTE

3.1.1. Esfoliação da grafite em dmsu na presença de naringenina.

Soluções contendo naringenina e grafite de diferentes tamanhos de grão apresentaram cores distintas, acinzentado para GN e acastanhado G45 (figura 5). Pode-se perceber na figura 5 que o grafite com menor tamanho de grão apresentou uma melhor dispersão, que permaneceu estável por aproximadamente 2 semanas. O mesmo não ocorreu com o GN, que rapidamente decantou após a sonicação.

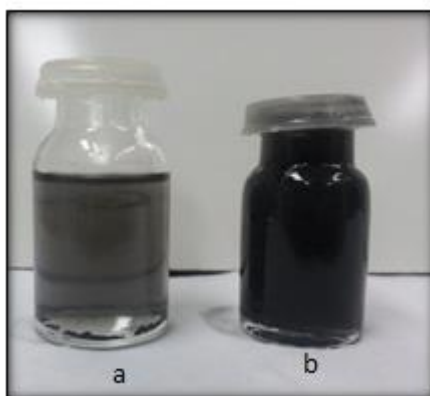


Figura 5: Imagens de soluções contendo naringenina $9,18 \cdot 10^{-4}$ mol/L e 10mg de grafite GN (a) e 10mg de G45(b) obtidas após 1h de permanência no banho de ultrassom.

O espectro eletrônico da dispersão de grafite na presença de naringenina (figura 6a) apresenta bandas típicas do flavonoide em 288nm e um ombro ao redor de 330nm (figura 6b), que são atribuídas as transições $\pi-\pi^*$ dos anéis A e B, respectivamente (PEREIRA et al.,2007). O grafite G45 esfoliado somente em DMSO apresenta uma banda pouco intensa e mal definida ao redor de 290nm, conforme mostra a figura 6c.

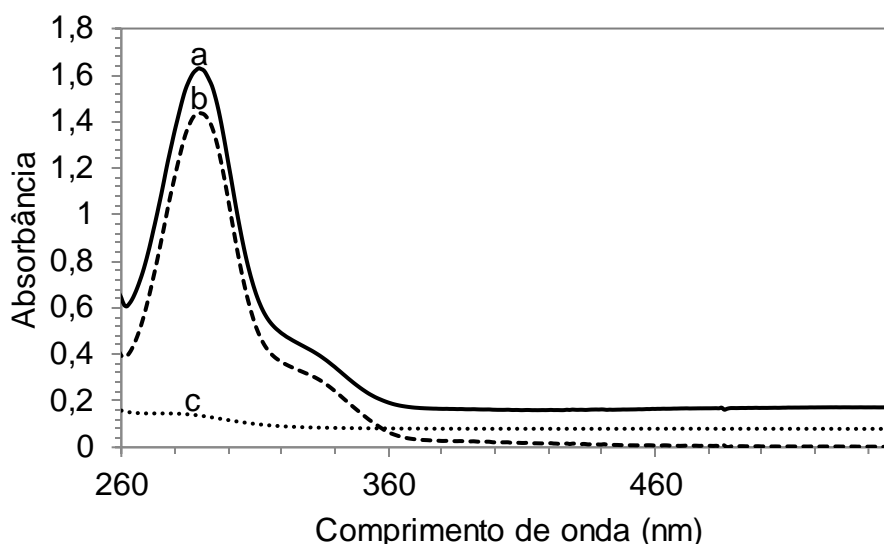


Figura 6: Espectros eletrônicos de soluções 0,05mg/mL do grafite G45 na presença de naringenina (a), $7,56 \cdot 10^{-5}$ mol/L de naringenina em DMSO (b) e 0,05mg/mL de grafite G45 na ausência de naringenina em DMSO(c).

Segundo KUILA e colaboradores (2012), o grafeno apresenta uma banda ao redor de 262nm que é devida as transições $\pi\pi^*$ das ligações C-C aromáticas. Com o intuito de visualizar essa banda, subtraiu-se o espectro eletrônico obtido a partir de soluções contendo grafite e naringenina daquele contendo somente o flavonoide. A curva da diferença apresenta (figura 7) uma banda em 268nm e outra em 305nm que podem ser atribuídas, respectivamente, ao grafeno livre e interagindo com a naringenina via elétrons π .

O valor da transmitância em 550 nm pode ser utilizado para determinar se o processo de esfoliação gerou um grafeno monocamada ou multicamada (KUILA et al., 2012). Se o valor de %transmitância for igual a 97,1% temos grafeno monocamada, se for igual a 94,3% bicamada e assim por diante. Nesse trabalho, os valores obtidos para grafeno sem naringenina e com naringenina foram iguais a 89% e 69%, indicando que obtivemos grafeno multicamada. O fato do valor de %T obtido a partir da solução contendo naringenina ser menor, reforça a ideia de um empilhamento das folhas de grafeno possivelmente intercaladas com naringenina.

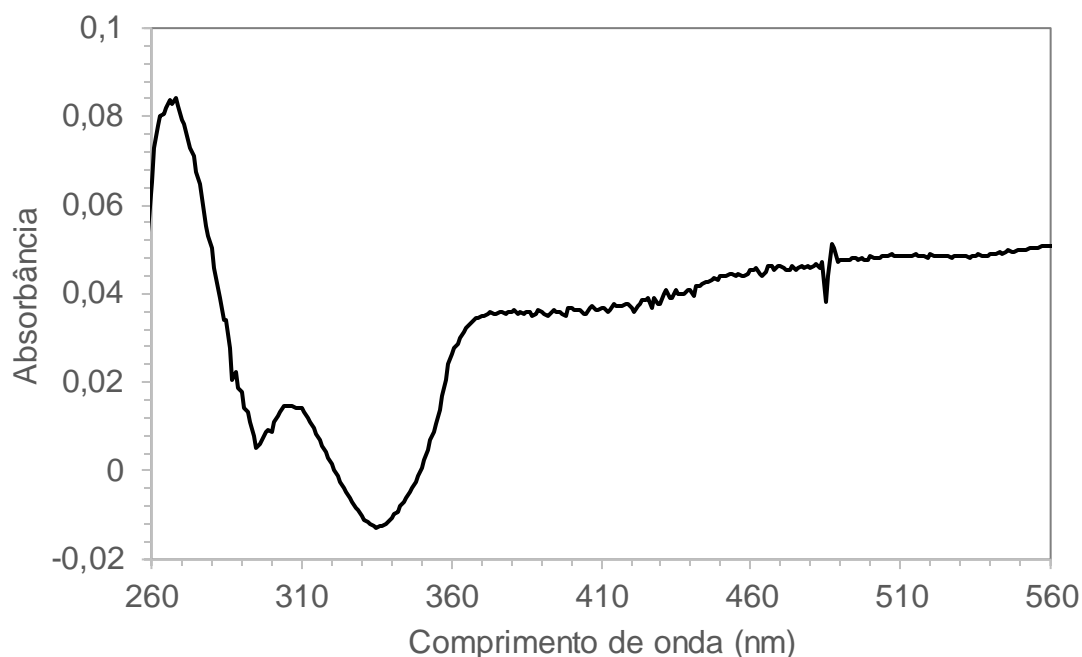


Figura 7: Gráfico da diferença entre o espectro da solução de grafite G45 contendo a naringenina subtraindo o espectro da solução contendo somente o flavonoide, para melhor visualização da banda do grafite esfoliado.

3.1.2. Efeito do tempo de sonicação e velocidade de centrifugação

Na literatura existem diversos trabalhos referentes a esfoliação da grafite (KHAN et al., 2010, 2011 e 2012; SKALTSAS et al., 2012; WU et al., 2014), onde se utilizou diferentes equipamentos de ultrassom (banho ou sonda), potência aplicada (25 a 150W) e tempo de permanência no aparelho (0,5 hora até 420h).

O ultrassom, além de auxiliar na separação das camadas do grafite, também pode promover a quebra da mesma. Assim, em alguns trabalhos após a sonicação, a solução permanece em repouso por 2 horas para que a grafite não esfoliada e as partículas de maior tamanho sejam separadas das demais. Em outros as partículas maiores são separadas por centrifugação a diferentes velocidades de rotação e tempo (KHAN et al., 2012; SKALTSAS et al., 2012). Devido à falta de consenso, resolveu-se determinar, inicialmente qual a melhor condição de trabalho com os equipamentos disponíveis no laboratório.

Na figura 8 encontram-se os espectros eletrônicos das soluções de grafeno em DMSO em diferentes tempos de sonicação e velocidades de centrifugação, onde observou-se que quanto maior o tempo de permanência da solução no banho ultrassônico e menor a velocidade de centrifugação, maior é a absorbância das soluções. A posição das bandas, contudo, não se alterou significativamente tendo um valor médio de 278 ± 1 nm, valor um pouco acima do descrito na literatura (KUILA et al.,

2012) e obtido no item anterior. Tal fato deve estar relacionado ao tamanho do grafeno obtido, visto que no item 2.2.1 utilizou-se G45 e aqui G150. Chen e colaboradores(2013) observaram que no espectro eletrônico do óxido de grafeno, as bandas deslocam-se para maiores comprimentos de onda conforme o aumento no tamanho das nanofolhas.

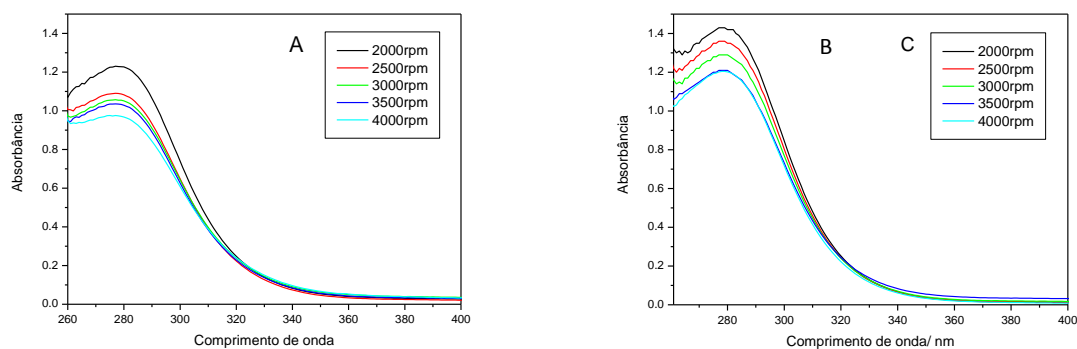


Figura 8: Espectros eletrônicos das soluções contendo grafite G150 em DMSO sonicadas por 1h(A) e 1h30(B), e centrifugadas por 15 min em diferentes velocidades.

A %T em 550nm foi medido em todos os espectros da figura 8, e o valor mais próximo de monocamada foi obtido para as soluções que ficaram 1 hora no banho ultrassônico e centrifugada a 2500rpm ou 1h30 no ultrassom e centrifugada a 3000rpm.

Na figura 9 encontra-se os espectros eletrônicos obtidos das amostras de grafite G150 sonicadas durante 1h30 em dois equipamentos diferentes CP e EP, mas ajustados para ter a mesma potência e centrifugadas a 3000rpm. Uma maior quantidade de amostra foi obtida a partir do banho EP (figura 9A), contudo esse banho promove uma maior quebra dentro das camadas de grafite. Esse fato foi confirmado pelas imagens obtidas no MEV, uma amostra proveniente do banho EP apresentou um tamanho de 78 μ m (figura 9B), contrastando com os 129 μ m obtidos a partir da amostra sonicadas no banho CP(figura 9C). Assim, nos estudos a seguir, utilizou-se somente o banho CP.

As imagens obtidas mostram contornos irregulares e indicam que temos, na melhor das hipóteses, grafeno multicamada.

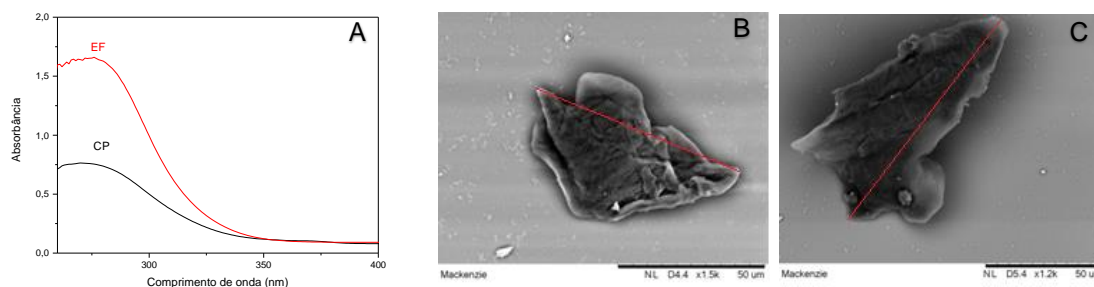


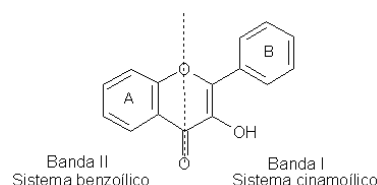
Figura 9. (A) Espectros eletrônicos das suspensões de grafite G150 esfoliado usando diferentes banhos de ultrassom: 1h30 EP e CP, ambas centrifugadas a 3000rpm. (B) Imagens obtidas no MEV das amostras sonicadas nos banhos EP (B) e CP (C) sobre suporte de lamínula de vidro. Os flakes de grafite esfoliado foram medidos a partir do traço vermelho

3.1.3 Efeito da forma de adição do flavonoide

a) Adição do flavonoide sólido a solução do grafite esfoliado

Os espectros eletrônicos das soluções contendo 3HF e os grafites G150 e G45 encontram-se na figura 10A e 10B, respectivamente, onde pode-se observar que em ambos os casos não há praticamente alteração na posição das bandas do flavonoide.

Segundo a literatura, as bandas em 306 e 345nm são chamadas de banda I e são provenientes de transições $\pi-\pi^*$ (SOUZA, 2003, DANGLETERRE, 2008), relativas ao anel B do flavonóide (sistema cinamoílico). A banda II (240nm) relativa ao anel A (sistema benzoílico), não é observada devido a absorção do solvente.



Para tentar localizar a banda do grafeno, obteve-se uma curva das diferenças dos espectros contendo a 3HF e o grafite menos o contendo só o flavonóide. Na curva ampliada pode-se observar uma banda ao redor de 290nm que deve ser devido ao grafeno. Esta banda estaria deslocada em função da interação π entre o grafeno e o flavonoide. A posição dessa banda desloca-se de 295 para 290nm, quando o tamanho do grafite de partida muda de 150µm para 45 µm.

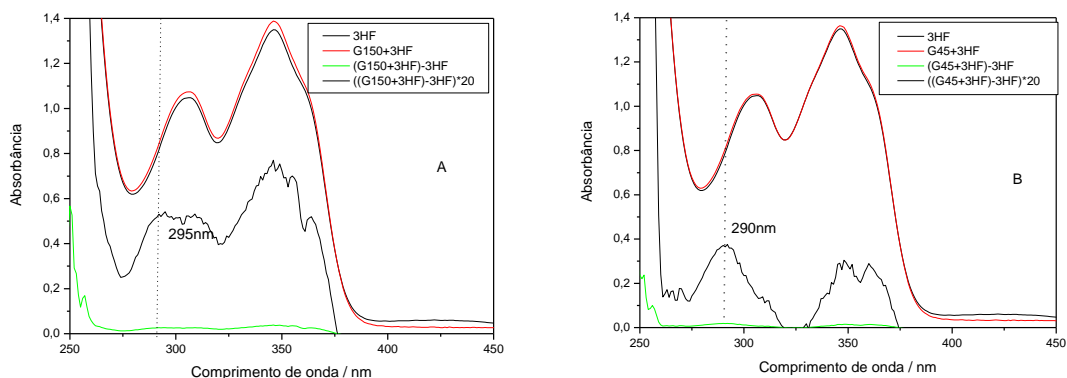
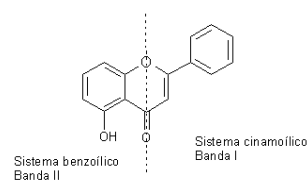


Figura 10: Espectros eletrônicos de soluções contendo (A) 3HF (9,46 μ mol/L), G150 (10,8 μ g/mL) e 3HF(61,5 μ mol/L) e a curva da diferença entre os dois; (B) 3HF (9,46 μ mol/L), G45 (5 μ g/mL) e 3HF(56,8 μ mol/L) e a curva da diferença entre os dois.

O mesmo comportamento foi observado quando trocou-se o flavonoide. Os espectros eletrônicos das soluções contendo a 5HF e os grafites G150 e G45 (figuras 11A e 11B) não apresentaram alteração na posição das bandas do flavonoide.

O espectro eletrônico da 5-hidroxi flavona mostra duas bandas em 337nm (banda I), atribuída ao anel B do flavonóide (sistema cinamoílico), outra em 273nm (banda II) ao anel A (sistema benzóico) e um ombro em 304nm (DANGLETERRE, 2008).



A curva da diferença, entre os espectros contendo grafite e flavonoide menos o do flavonoide, não mostrou uma banda do grafeno bem definida, indicando que a esfoliação é menos bem-sucedida na presença da 5HF.

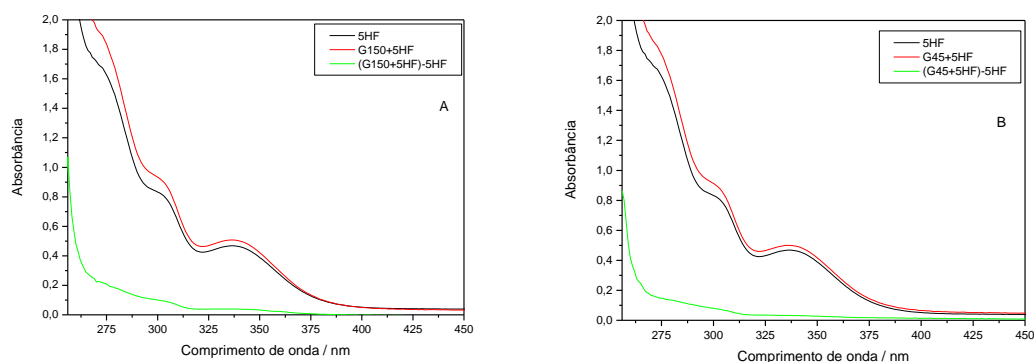


Figura 11: Espectros eletrônicos de soluções contendo (A) 5HF (14,2 μ mol/L), G150(6,67 μ g/mL) e 5HF(56,8 μ mol/L) e a curva da diferença entre os dois; B 5HF (14,2 μ mol/L), G45(5 μ g/mL) e 5HF(42,6 μ mol/L) e a curva da diferença entre os dois.

b) Adição do grafite sólido a solução do flavonoide

Na figura 12A, encontra-se o espectro eletrônico do grafite esfoliado em DMSO, que apresenta uma banda mal definida ao redor de 280nm. Comparando-se os espectros eletrônicos da solução contendo a 3HF e G150 com o da 3HF observa-se pontos isobésticos ao redor de 375 e 325nm, mostrando que há uma interação entre o flavonoide e o grafeno. A curva da diferença entre os espectros das soluções contendo (G150 e 3HF) menos o da 3HF apresenta uma banda em 278nm, mais bem definida do que aquela vista no item anterior, sugerindo que é preferível esfoliar o grafite na solução do flavonoide, do que dissolver o flavonoide na suspensão do grafite esfoliado. Os espectros eletrônicos mostrados na figura 12B foram obtidos a partir de uma suspensão contendo uma menor quantidade de grafite e que foi centrifugada a uma maior velocidade. Isso justificaria a menor quantidade de grafeno obtida (vide curva das diferenças).

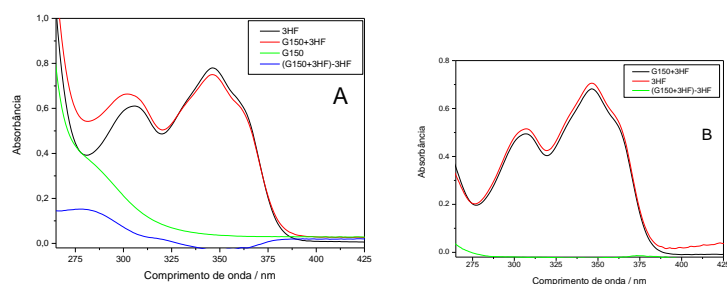


Figura 12: Espectros eletrônicos de soluções contendo (A) 3HF (33,4 μ mol/L), G150(12,0 μ g/mL), 3HF e G150; curva da diferença entre os espectros contendo G150 e 3HF menos o da 3HF; (B) espectros eletrônicos das soluções contendo 3HF (24,6 μ mol/L) e G150 (5,84 μ g/mL).

Quando se compara o espectro da 5HF com o da solução contendo 5HF e G150 (figura 13A), observa-se que não há pontos isobésticos entre as curvas. Contudo, quando a proporção de flavonoide grafeno aumenta (figura 13B), pontos isobésticos aparecem, indicando a interação grafeno–5HF é mais fraca que a grafeno-3HF.

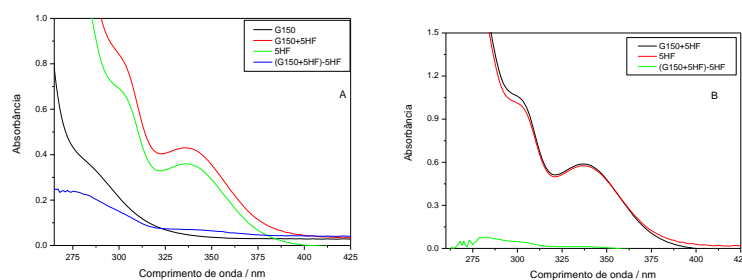


Figura 13: Espectros eletrônicos das soluções contendo (A) G150(12,1 μ g/mL), 5HF (33,6 μ mol/L), 5HF e G150 (e curva da diferença entre os espectros contendo G150 e 5HF menos o da 5HF); (B) 5HF (24,6 μ mol/L), G150(5,9 μ g/mL) 5HF e G150 e curva da diferença entre os espectros contendo G150 e 5HF menos o da 5HF.

c) Adição de grafite e flavonoide sólido ao solvente DMSO

Quando os dois sólidos (G150 e 3HF) foram colocados juntos com o solvente, a curva da diferença (figura 14) não mostra a banda do grafeno bem definida. Talvez porque a solução estava muito diluída. O mesmo foi observado quando utilizou-se a 5HF (figura 15).

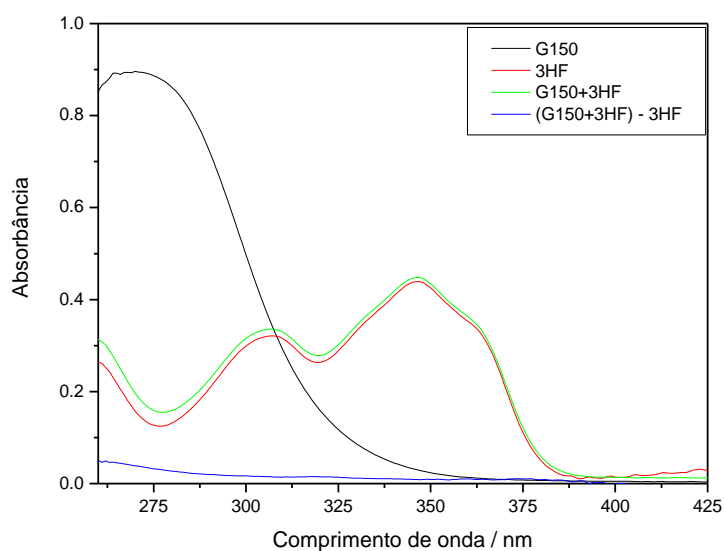


Figura 14: Espectros eletrônicos das soluções contendo G150(0,5g/mL), 3HF (24,5 $\mu\text{mol/L}$), G150(5,8 $\mu\text{g/mL}$) e 3HF e curva da diferença ((G150+3HF) -3HF).

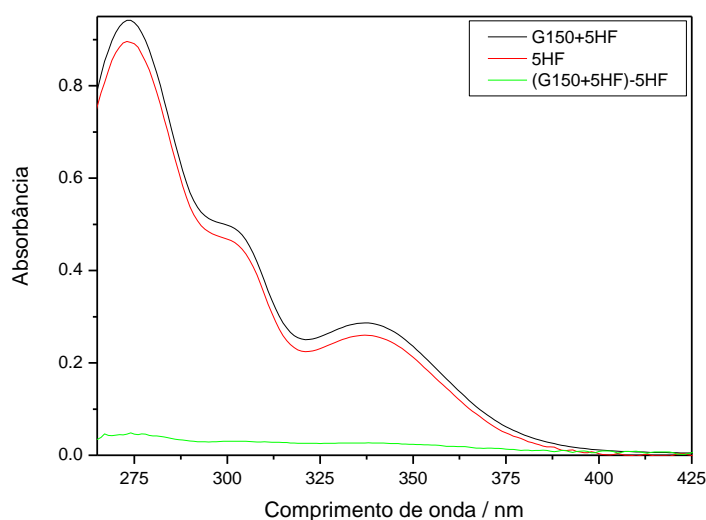


Figura 15: Espectros eletrônicos das soluções contendo G150(5,8 $\mu\text{g/mL}$) e 5HF, 5HF (24,5 $\mu\text{mol/L}$) e curva da diferença ((G150+5HF) -5HF).

3.1.4 Efeito do solvente

A maioria dos estudos de esfoliação da grafite são feitos em N-metilpirrolidona (NMP), pois é o solvente que produz uma maior quantidade de material esfoliado (COLEMAN, 2013). Outro solvente que produz bons resultados é o DMSO (COLEMAN, 2013), e o etanol foi utilizado nesse trabalho, pois os flavonoides são muito solúveis nesse solvente.

O espectro eletrônico da 3,7-dihydroxyflavona, 3,7-diHF, (figura 16A) apresenta uma banda ao redor de 341nm (banda 1), com ombros em 324nm e 355nm em média, atribuída ao anel B do flavonóide (sistema cinamóilico). Em DMSO uma nova banda surge em 415nm e em NMP em 405nm, que normalmente é associada a formação de complexos. A posição dessa banda é próxima a observada para complexos de háfnio com 3,7-di-HF (393nm) obtidos em meio ácido (ITO et al., 1986). Em etanol essa banda não aparece. Na figura 16A, é possível visualizar um ombro ao redor de 280nm, em DMSO, cuja origem está sendo investigada.

Ao se esfoliar o grafite em solução de 3,7-diHF (figura 16B), a intensidade da banda em 405nm em NMP fica maior que a da banda em 415nm em DMSO, o mesmo ocorre com o ombro em 321nm. Isso sugere que a grafite de alguma forma está interagindo com o flavonóide. Os motivos disso serão investigados.

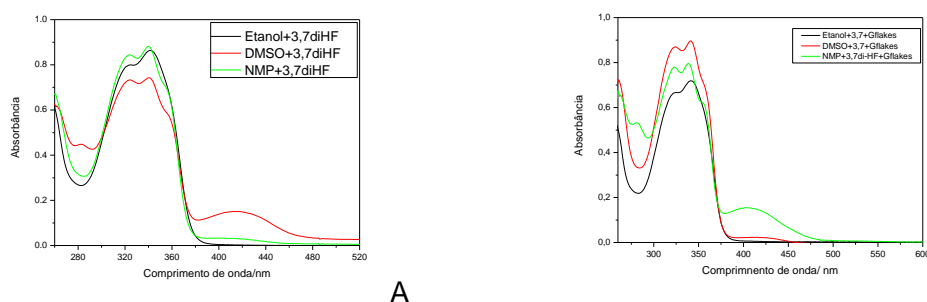


Figura 16. Espectros eletrônicos da 3,7-dihydroxyflavona ($2,60 \cdot 10^{-5}$ mol/L) na ausência (A) e na presença (B) de grafite esfoliado.

Na figura 17 encontram-se as imagens obtidas no MEV das soluções contendo Gflakes esfoliado na presença de 3,7-di-HF em NMP, DMSO ou etanol, onde se observa que a morfologia dos flakes muda com o solvente, obtendo estruturas circulares, para o DMSO e NMP, e tiras para o etanol.

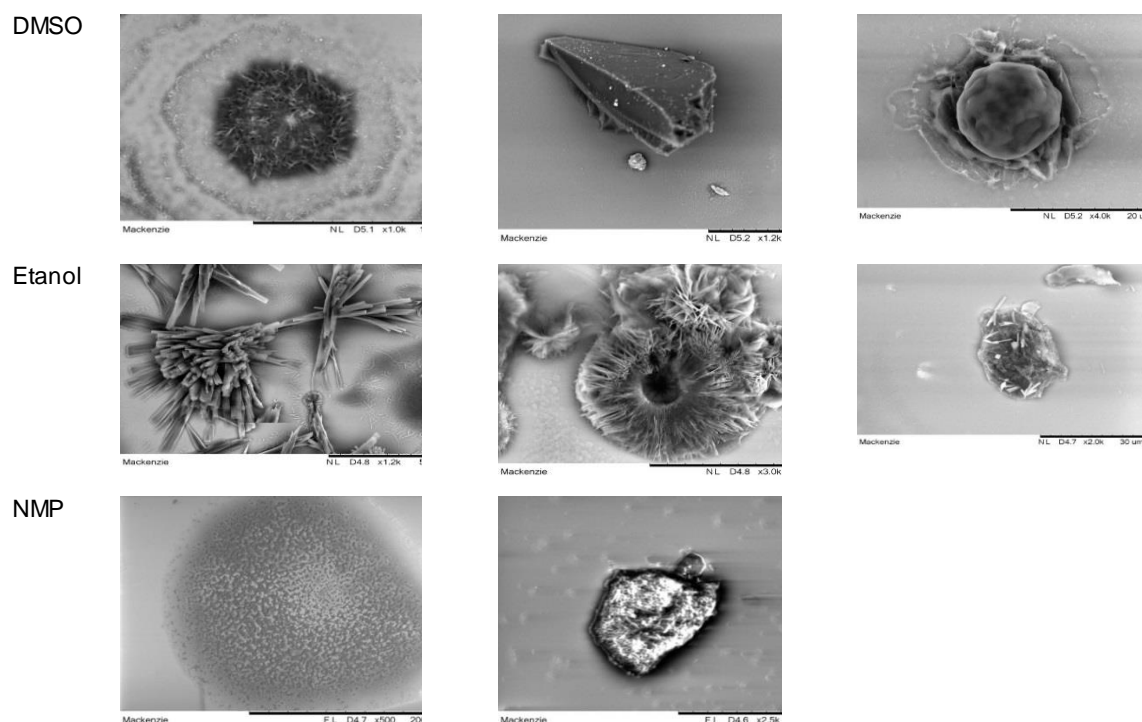


Figura 17. Imagens obtidas no MEV da grafite Gflakes esfoliado na presença de 3,7-diHF em diferentes solventes.

Apesar da maioria dos estudos de esfoliação líquida do grafeno serem feitos em NMP, não conseguimos visualizar a banda do grafeno no espectro eletrônico, provavelmente a devido a absorção do solvente na mesma região (figura 18A).

O espectro Raman dessa solução apresentou as bandas esperadas para o grafeno (figura 18Ba). A banda D, localizada em aproximadamente 1350cm^{-1} , cuja a intensidade informa o grau de desordem na amostra e geralmente associada a falhas na estrutura (ligações sp^2) e ao efeito de borda (efeito no qual as bordas apresentam ligações incompletas), causando uma intensidade maior nessa banda (SU et al., 2009 & MALARD et al., 2009). A banda G, localizada em aproximadamente 1580cm^{-1} é atribuída ao estiramento $\text{C}=\text{C}$ da estrutura e sendo assim está presente em todos materiais de carbono (nanotubos, fullerenos, grafite, grafeno, carbono amorfo, polímeros). A banda 2D localizada aproximadamente em 2700cm^{-1} , é característica de materiais de carbono cristalinos.

A intensidade relativa das bandas G e 2D (I_G/I_{2D}) é aproximadamente igual a 2,5 (figura 18Ba), maior que o valor esperado para grafeno monocamada ou bicamada, respectivamente iguais a 0,4 e 0,8 (SUN, et al., 2010). Contudo o perfil do espectro é semelhante ao descrito na literatura (Figura 18C, PATON et al., 2014), Assim, o grafeno obtido deve ter algumas camadas (*few-layers*).

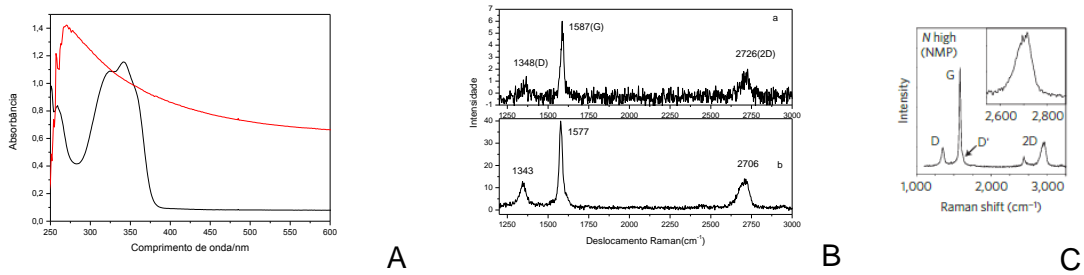


Figura 18. Espectros eletrônicos da 3,7di-HF(preto) e do Gflakes esfoliado em NMP (vermelho) (A). (B) Espectros Raman normalizado do grafite esfoliado em NMP na ausência(a) e na presença(b) da 3,7-diHF. (C) Espectro Raman do grafeno encontrado na literatura(PATON *et al.*, 2014)

As bandas do grafite esfoliado na presença de 3,7-diHF estão deslocadas para menor energia e apresentam maior intensidade, provavelmente devido a interação com o flavonoide.

3.1.5 Efeito da temperatura

As soluções contendo grafite e quercetina após 1 hora no banho ultrassônico a temperatura ambiente apresentam uma coloração acinzentada(figura 19) e tem a mesma aparência, mesmo se tratando de grafites com diferentes granulometrias.

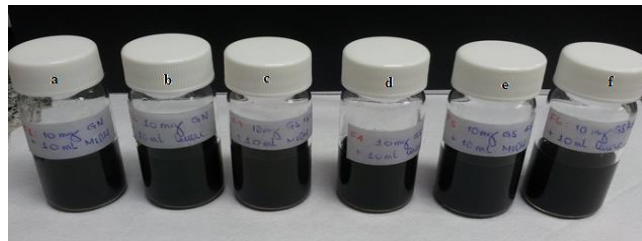


Figura 19. Imagem das soluções contendo grafite GN (a), GS 150 (c), GS 45 (e) em álcool metílico e GN (b), GS 150 (d) e GS 45 (f) em solução de quercetina.

Os espectros eletrônicos das suspensões contendo grafite e quercetina (figura 20) apresentam bandas em 372nm e 254nm que são atribuídas, respectivamente, as transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ envolvendo o anel B (sistema cinamófico) e o anel A (sistema benzólico) do flavonóide (ZHOU *et al.*,2001). Apesar da posição das bandas não terem sido alteradas, pontos isobésticos podem ser observados ao redor de 250nm (entre as curvas a e b) e 225nm (entre as curvas a e c) indicam que alguma interação existe entre a grafite esfoliada e o flavonóide.

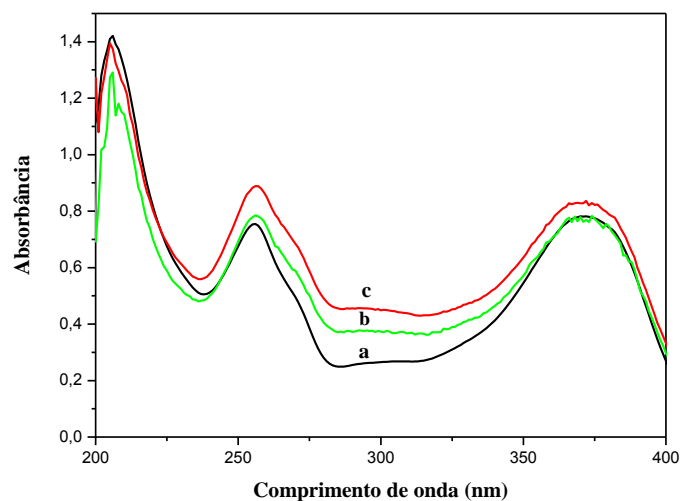


Figura 20. Espectros eletrônicos da solução contendo $1,75 \cdot 10^{-5}$ mol/L de quercetina (a), e das suspensões contendo o flavonóide e 0,368mg/mL de G150 (b) e 0,393mg/mL de GN (c) em álcool metílico.

Na figura 21 encontram-se as curvas das diferenças entre os espectros das suspensões contendo grafite (Figuras 20b e 20c) e o espectro da quercetina em metanol (Figura 20a). As curvas para G150 (Figura 21a) e o GN (Figura 21b) apresentam bandas em 280nm e 279nm, respectivamente, que podem ser atribuídas à banda do grafeno deslocada devido à interação com a quercetina. Liao e colaboradores (2011a) verificaram que o espectro eletrônico do óxido de grafeno reduzido com polifenóis apresenta uma banda em 278nm, ou seja, em um comprimento de onda maior que o esperado para o grafeno, que apresenta uma banda em 262nm.

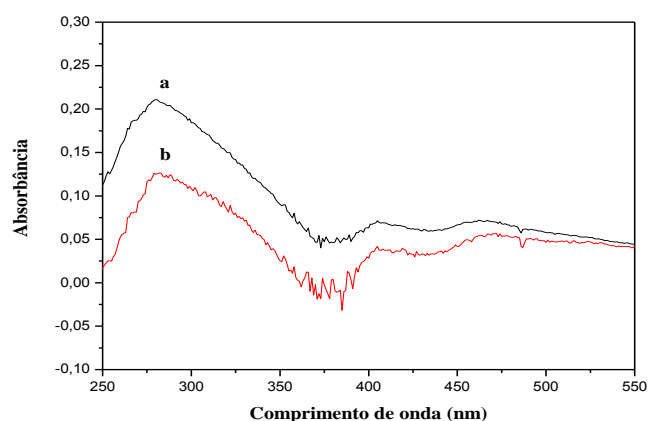


Figura 21. Curvas da diferença entre os espectros eletrônicos obtidos (figura 4) para as soluções de GS 150(a) e GN (b) menos o obtido para a solução de quercetina.

Os espectros eletrônicos das suspensões contendo grafite e quercetina, submetidos a um aquecimento de 80° C por um período de 8 horas, são apresentados na figura 22. Os espectros eletrônicos obtidos para o grafite esfoliado proveniente das soluções de GN (22a) e G45 (22b) apresentam bandas em 256nm e 370nm atribuídas as transições $\pi-\pi^*$ da quercetina, além de uma nova banda em 290nm e 294nm, respectivamente. Entretanto, o espectro eletrônico obtido para a solução do G150 (22c) apresenta bandas em 293nm e 332nm, essa diferença sugere que ocorreu a decomposição da quercetina, pois o flavonóide oxidado apresenta bandas ao redor de 300nm (ALMEIDA et al.,2010).

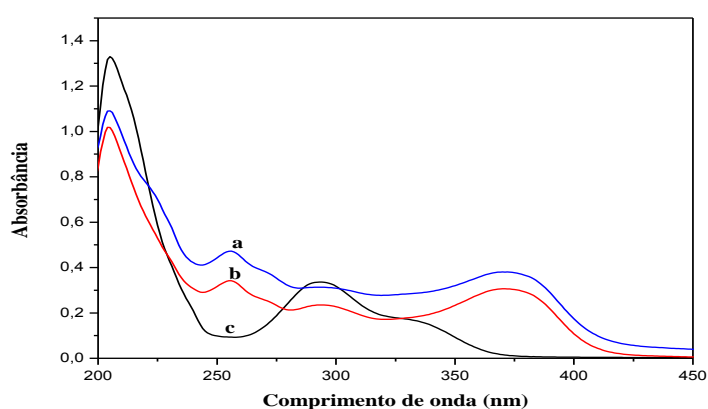


Figura 22. Espectros eletrônicos do grafeno obtido a partir dos grafites GN (a), G45 (b) e G150 (c) em álcool metílico na presença de quercetina.

Foram obtidos espectros eletrônicos da quercetina livre para controle, antes e após o aquecimento (figura 23), onde se observa que ela é estável a quente, visto que não houve mudança na posição das bandas, apenas uma pequena alteração na intensidade. Portanto a mudança observada no espectro eletrônico da quercetina (figura 22c) foi promovida pela grafite G150. O motivo será investigado.

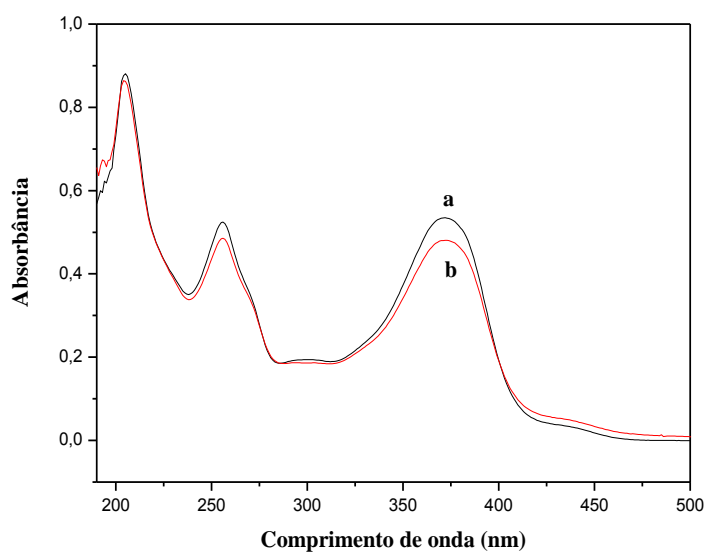


Figura 23. Solução $1,75 \cdot 10^{-5}$ mol/L de quercetina em álcool metílico antes (a) e após (b) aquecimento em banho termostático à 80°C por 8 horas.

Na figura 24 encontram-se as curvas da diferença entre os espectros eletrônicos da quercetina sem e com aquecimento (24a) e dos grafites esfoliados obtidos a partir de GN, G45 e G150 menos o obtido para a solução de quercetina após o aquecimento, todos os grafites apresentam banda em aproximadamente 291nm. Essa banda sugere que ocorreu uma decomposição, principalmente no G150, que possui uma curva distinta dos demais.

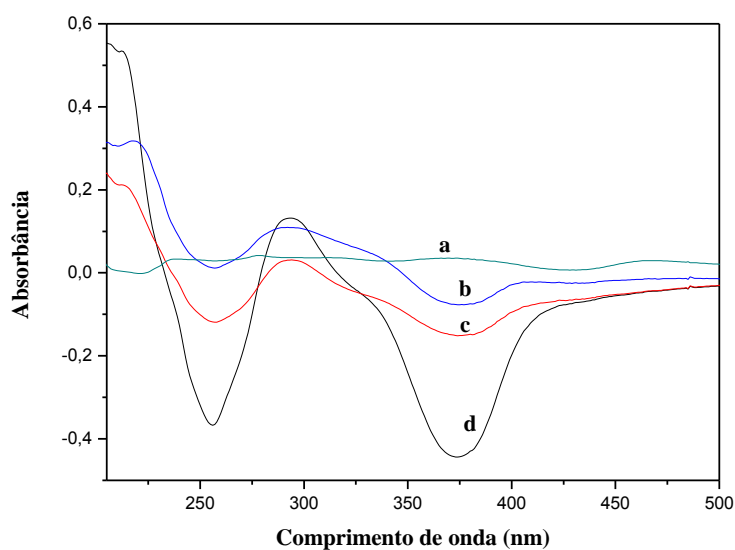


Figura 24. Curvas da diferença (a) entre os espectros eletrônicos da quercetina sem e com aquecimento (figura 23) e dos grafites esfoliados (figura 22) a partir de GN (b), G45 (c) e G150 (d) menos o obtido para a solução de quercetina após o aquecimento.

Nos espectros eletrônicos das soluções obtidas a partir da esfoliação das grafites realizadas na ausência de quercetina (Figura 25) após o aquecimento de 80° C por 8 horas, as amostras de G150 e G45 apresentaram bandas mal definidas em 222, 312 e 379nm, o GN apresenta bandas em 222 e 281nm. Esses dados sugerem que a grafite foi oxidada ou já apresenta algum grau de oxidação no sólido, pois o grafeno apresenta bandas em 262nm e o óxido de grafeno em 230nm (KUILA et al., 2012). Esses dados são preliminares e novos experimentos deverão ser feitos.

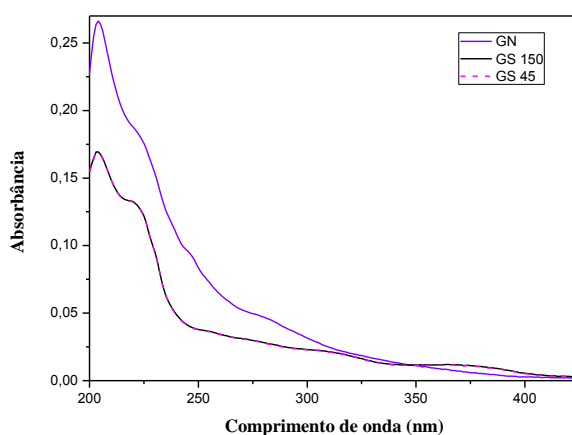


Figura 25. Espectros eletrônicos das soluções obtidas a partir da esfoliação da grafite GN (a), GS 150 (b) e GS 45 (c) com álcool metílico.

Os espectros Raman obtidos para as amostras de grafite com quercetina do método 2, estão ilustrados na figura 26.

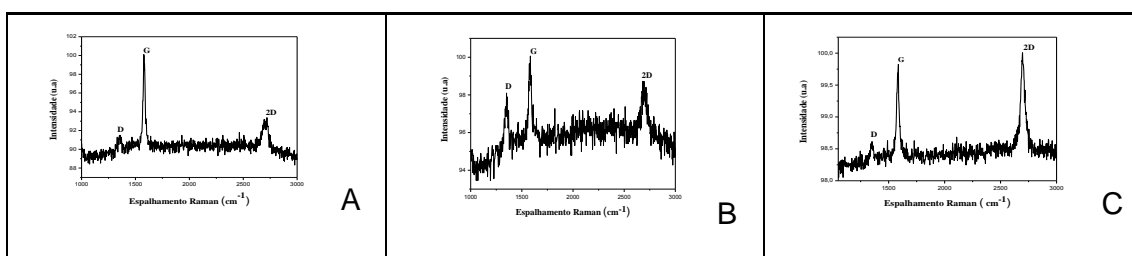


Figura 26. Espectros Raman do grafite esfoliado obtido a partir do G150(A), G45(B) e GN(C) sobre placas de silício.

Analisando o espectro Raman presente na figura 26A, nota-se que o grafeno obtido a partir do grafite G150 apresenta poucos defeitos, uma vez que a banda D apresenta baixa intensidade. Como a banda 2D é menos intensa que a G, pode-se concluir que trata-se de um grafeno multicamadas.

O espectro Raman obtido a partir da grafite G45 (figura 26B) apresenta uma linha base com muito ruído, o que dificulta a interpretação. Aparentemente tem-se grafeno bi ou tricamada, pois a banda 2D está com intensidade próxima da G. A banda D mais intensa indica defeitos na estrutura.

No espectro Raman obtido a partir do grafite GN (figura 26C) observa-se que a intensidade da banda 2D é aproximadamente igual a da G sugerindo que obteve-se um grafeno bicamada. A pequena intensidade da banda D indica que há poucos defeitos na estrutura do grafeno.

Para tentar determinar o número de camadas de grafeno sobre as placas de silício, foram obtidas imagens por microscopia de força atômica (AFM).

A figura 27 mostra a imagem do grafeno obtido a partir do grafite G150, onde se observa a presença de diversos agregados ao longo de todo substrato, com alturas de até 40,0 nm e placas com alturas variando em torno de 3nm, o que indica a presença de grafeno com 4 camadas. A figura 28 mostra a imagem do material obtido a partir do GN onde observa-se a presença de uma placa de grafeno no canto superior direito.

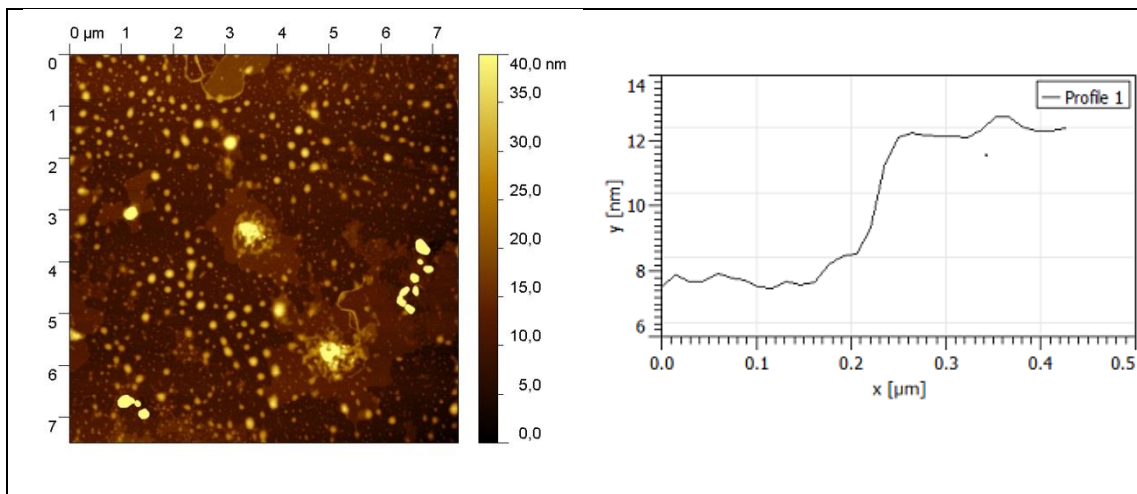


Figura 27. Imagem topográfica da amostra obtida a partir do grafite G150.

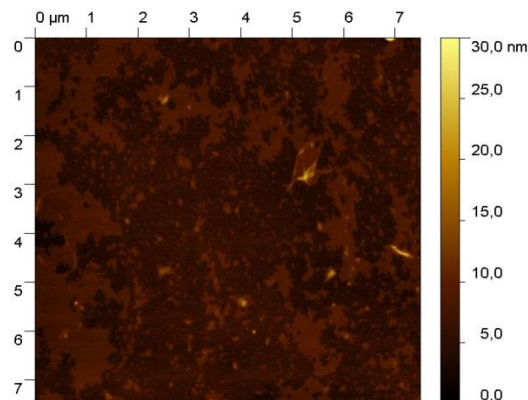


Figura 28. Imagem topográfica da amostra obtida a partir do grafite GN.

3.2. CARACTERIZAÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO

3.2.1. Análise elementar

Na tabela 3 encontram-se as porcentagens de carbono, hidrogênio, enxofre e manganês determinadas nas amostras de óxido de grafeno. A porcentagem de oxigênio nas amostras foi estimada subtraindo do total a quantidade dos outros componentes.

As amostras apresentam diferentes graus de oxidação, conforme pode ser visto na tabela 3. Este fato já era esperado, visto que o tipo de produto obtido depende do grafite e do oxidante utilizado, além das condições da reação (DREYER et al., 2010). No nosso caso a amostra mais oxidada (4M1) é aquela em que se empregou uma maior quantidade de agente oxidante (1G:4KMnO₄), e a menos oxidada é a 2SD2F (uma das primeiras a ser feita e aonde não se tinha pleno domínio do procedimento sintético).

Tabela 3. Dados obtidos na determinação de carbono, hidrogênio, enxofre e manganês nas amostras de GrO, além da quantidade de oxigênio estimada.

Amostra	%C	%H	%Mn	%S	%O	C:O
2SD1F*	58,7	2,28	0,1085	-	38,9	1 : 0,66
2SD2F*	61,7	2,23	0,1100	-	36,0	1 : 0,58
3AR	55,2	2,54	0,0056	1,32	40,9	1 : 0,74
4M1	44,2	2,72	0,0025	2,20	50,8	1 : 1,15
5M2	59,8	2,08	0,0004	0,64	37,5	1 : 0,63
6Gf	43,4	3,18	-	-	53,4	1 : 1,23
7G150	41,4	2,66	-	-	55,9	1 : 1,35
7G150-50	40,6	2,67	-	-	56,7	1 : 1,40
8G45	41,4	2,73	-	-	55,9	1 : 1,35
9Mlm	40,3	2,75	-	-	56,9	1 : 1,41

* Na 2ª síntese obteve-se duas frações denominadas 2SD1F e 2SD2F.

Observa-se na tabela 3, que o teor de hidrogênio nas amostras é praticamente constante, e deve estar relacionado a presença de grupos carboxilatos ou hidroxílicos no grafite oxidado, além de moléculas de água que estariam fazendo ligações de hidrogênio (figura 29)

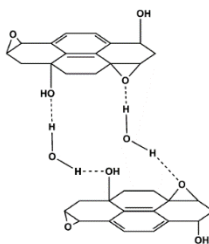


Figura 29. Esquema proposto das ligações de hidrogênio presentes no GO (DREYER et al., 2010).

Pode-se observar na tabela 3, que três das amostras possuem 0,64 a 2,2 % de enxofre. Segundo Dimiev e colaboradores (2012), impurezas contendo enxofre são muito difíceis de serem removidas do GO e normalmente as amostras contém de 0,5 a 1,0% de enxofre, mas teores de 1,9% já foram encontrados. No óxido de grafeno o enxofre pode estar na forma de um organosulfato cíclico (figura 30), que ao sofrer hidrólise gera dióis vicinais (figura 31).

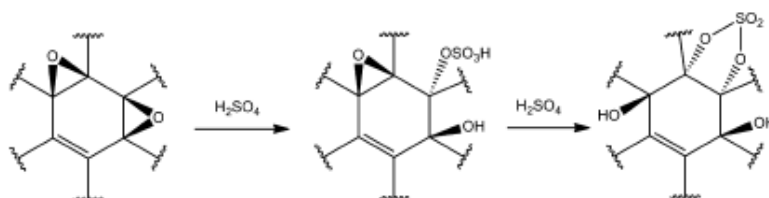


Figura 30. Esquema da formação de um sulfato covalente (DIMIEV et al., 2012).

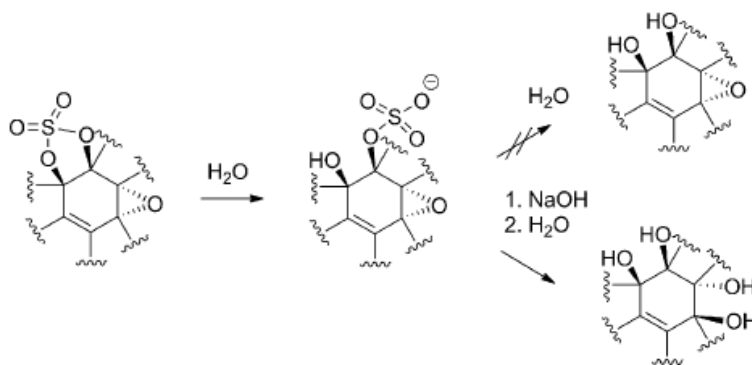


Figura 31. Hidrólise de um organosulfato cíclico (DIMIEV et al., 2012).

Para minimizar a presença de enxofre nas amostras, proveniente do H_2SO_4 , o sólido foi lavado até que o teste qualitativo para sulfato desse negativo.

Também pode-se notar na tabela 3, que a quantidade de manganês residual é relativamente pequena e foi diminuindo com o aumento da habilidade sintética da equipe.

3.2.2. Análise termogravimétrica

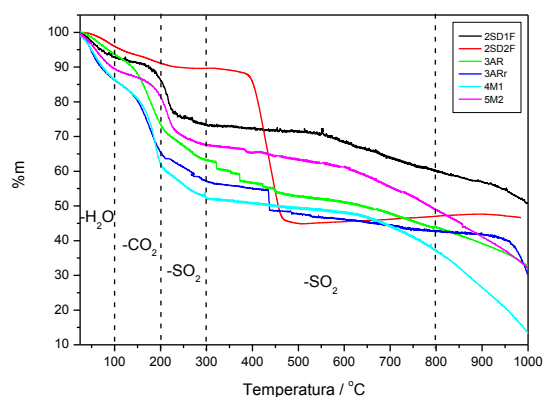
Segundo Zhu e colaboradores (2010), o GO apresenta uma perda de massa de cerca de 7% abaixo de 100°C e outra de 22% em 200°C , devida a remoção de grupos funcionais lábeis contendo oxigênio, tais como CO , CO_2 e H_2O .

Para os nossos compostos, até 100°C a perda de água observada foi de no máximo 20% (figura 32). Os compostos que foram liofilizados apresentaram uma maior

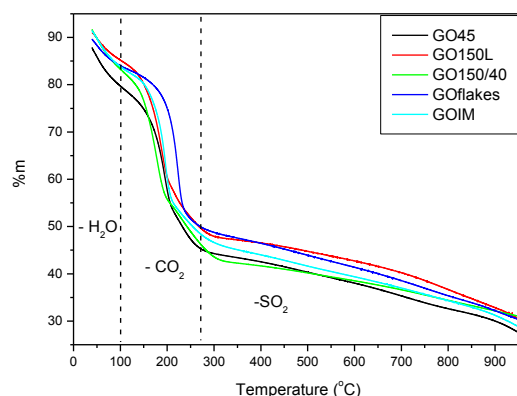
retenção de água que os que foram filtrados e secos a vácuo. De 100 a 200°C, a perda de massa foi de 5 a 35%, os mais oxidados (6Gf, 7G150, 8G45 e 9Mim) tiveram uma maior perda de grupos oxigenados.

Através da termogravimetria pode se obter um indício da forma em que o enxofre encontra-se no GO. Uma perda de massa, na região de 200 a 300°C, é um indicativo de que na amostra há um organosulfato, já sulfatos inorgânicos, como sulfatos ou sulfitos, decompõem se na região de 700 a 800°C (EIGLER et al., 2013).

Nas amostras provenientes das cinco primeiras sínteses (Figura 32A), há indícios da presença de organosulfatos, pois há ao redor de 12% de perda de massa compatível com o observado por Eigler e colaboradores (2013). Também se observa perda de massa na região de 700 a 800°C, onde ocorre a decomposição de sulfatos inorgânicos. As últimas amostras apresentam um caráter mais homogêneo (figura 32B), mas também pode conter algum teor de enxofre residual.



A

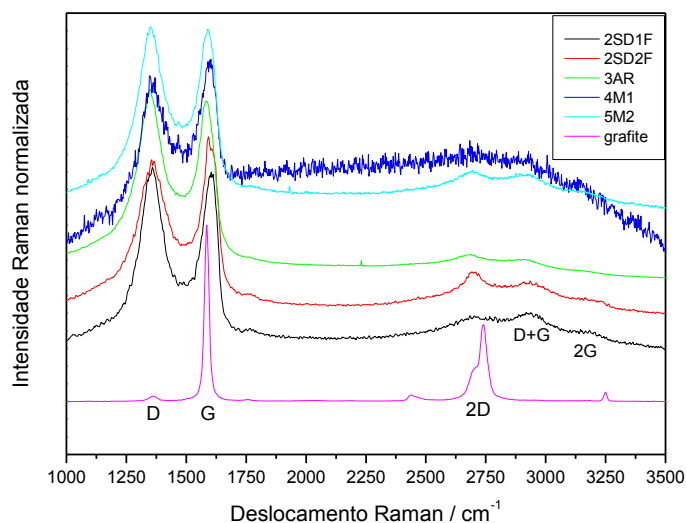


B

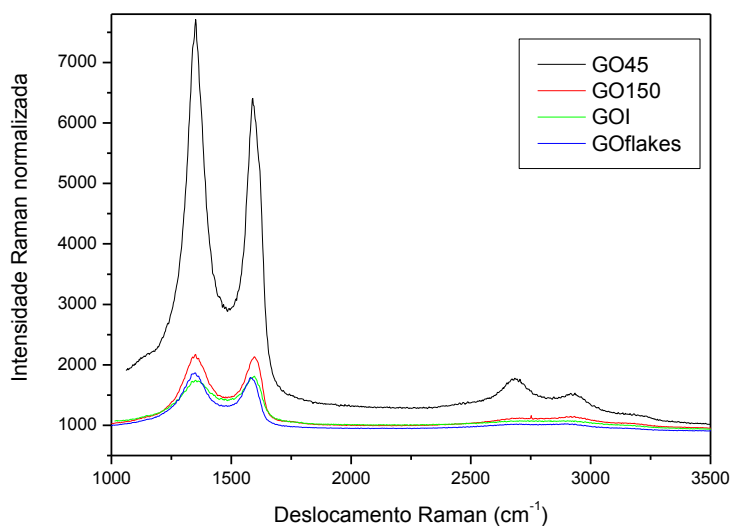
Figura 32. Curvas termogravimétricas dos óxidos de grafeno obtidos em atmosfera de nitrogênio (50mL/min) e usando uma taxa de aquecimento de 10°C/min.

3.2.3. Espectroscopia Raman

Na figura 33A pode-se observar que a grafite apresenta uma banda G intensa em 1586 cm^{-1} que é atribuída ao espalhamento de 1ª ordem do modo E_{2g} (KRISHNAMOORTHY et.al., 2013). Uma banda de menor intensidade, chamada de banda D, é observada em 1362 cm^{-1} , e é relacionada aos defeitos presentes na estrutura do grafite, tais como disordens nas distâncias ou ângulos de ligação, efeitos de borda ou vacâncias na estrutura. A segunda banda de maior intensidade aparece em 2741 cm^{-1} e apresenta um ombro em 2704 cm^{-1} . Essa banda, chamada de 2D, é um overtone da banda D e é muito sensível ao empacotamento da grafite ao longo do eixo c.



A



B

Figura 33. Espectros Raman da grafite e dos óxidos de grafeno usando laser de 488nm ou 532nm.

No espectro Raman do óxido de grafite (figura 33) pode-se observar que as bandas G e 2D diminuem de intensidade, enquanto a bandas D tem sua intensidade aumentada. No óxido, a banda G aparece em maiores comprimentos de onda, o que é um indício do nível de oxidação da grafite. A banda D apresenta um aumento na intensidade, que é atribuído a formação de defeitos e aumento na desordem, tais como a presença de heteroátomos no plano, contorno de grão, cadeias alifáticas, etc. A oxidação da grafite promove uma quebra no empacotamento das camadas, o que resulta na diminuição de intensidade da banda 2D. As bandas D+G ($\sim 2925\text{cm}^{-1}$) e 2G ($\sim 3195\text{cm}^{-1}$), que aparecem nos espectros dos GOs, estão relacionadas com a ruptura do empacotamento AB da grafite (KRISHNAMOORTHY et.al., 2013).

3.2.4. Difração de raios-X

No difratograma da grafite (figura 34) observa-se um pico em 2θ igual a $26,4^\circ$ correspondendo a uma distância interplanar de $0,34\text{nm}$, valor esse igual ao observado para a grafite pristine (KRISHNAMOORTHY et.al., 2013). Nos difratogramas dos óxidos de grafite 2SD1F, 2SD2F, 3AR e 4M1 (figura 34), ainda se observa o pico da grafite indicando que nem toda a grafite foi oxidada. Nas últimas sínteses (6Gf, 7G150, 8G45 e 9IMm) esse pico está ausente.

O pico típico de óxido de grafeno é observado ao redor de 10° . (KRISHNAMOORTHY et.al., 2013). Em algumas amostras picos adicionais são observado ao redor de $2\theta = 42^\circ$ e 78° relativos aos diferentes planos cristalográficos da amostra.

A distância entre as camadas de GO varia significativamente, de $0,6\text{nm}$ a $1,2\text{nm}$ dependendo do nível de humidade relativa entre as camadas (TOH et al., 2014). Para os óxidos obtidos nesse trabalho, a distância interplanar variou de $0,71$ a $1,03\text{nm}$ (tabela 4) dentro da faixa esperada.

Tabela 4. Valores de 2θ , obtidos a partir dos difratogramas da figura 34, e a distância interplanar (d).

Amostra	2SD1F	2SD2F	3AR	4M1	5M2	6Gf	7G150	8G45	9IMn
2θ ($^\circ$)	10,8	10,6	10,5	10,6	12,6	10,6	9,73	8,60	9,81
d(nm)	0,82	0,83	0,84	0,83	0,71	0,83	0,91	1,03	0,90

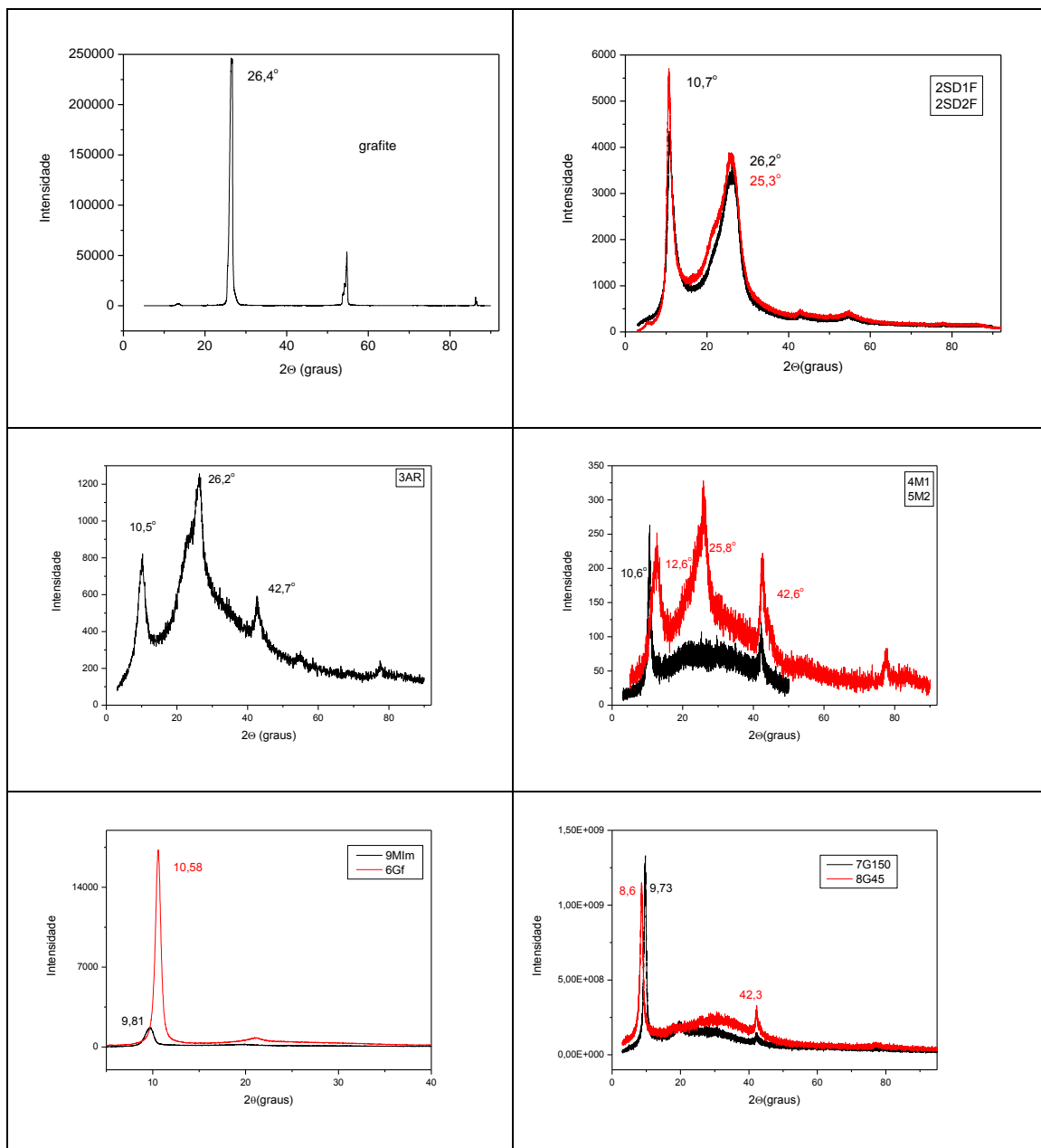


Figura 34. Difratoformas de raios-X (DRX) da grafite e dos óxidos de grafeno.

3.2.5. Espectroscopia vibracional

O espectro vibracional da grafite (figura 35) apresenta uma banda larga em 3433cm^{-1} devida ao estiramento da ligação OH das moléculas de água e outra em 1634cm^{-1} que tanto pode ser atribuída ao estiramento da ligação dupla C=C (dos domínios gráfiticos não oxidados) como a deformação angular da ligação OH da água intercalada entre as camadas da grafite (GUO et al., 2009). Essas mesmas bandas são observadas nos espectros do óxido de grafeno (figuras 35).

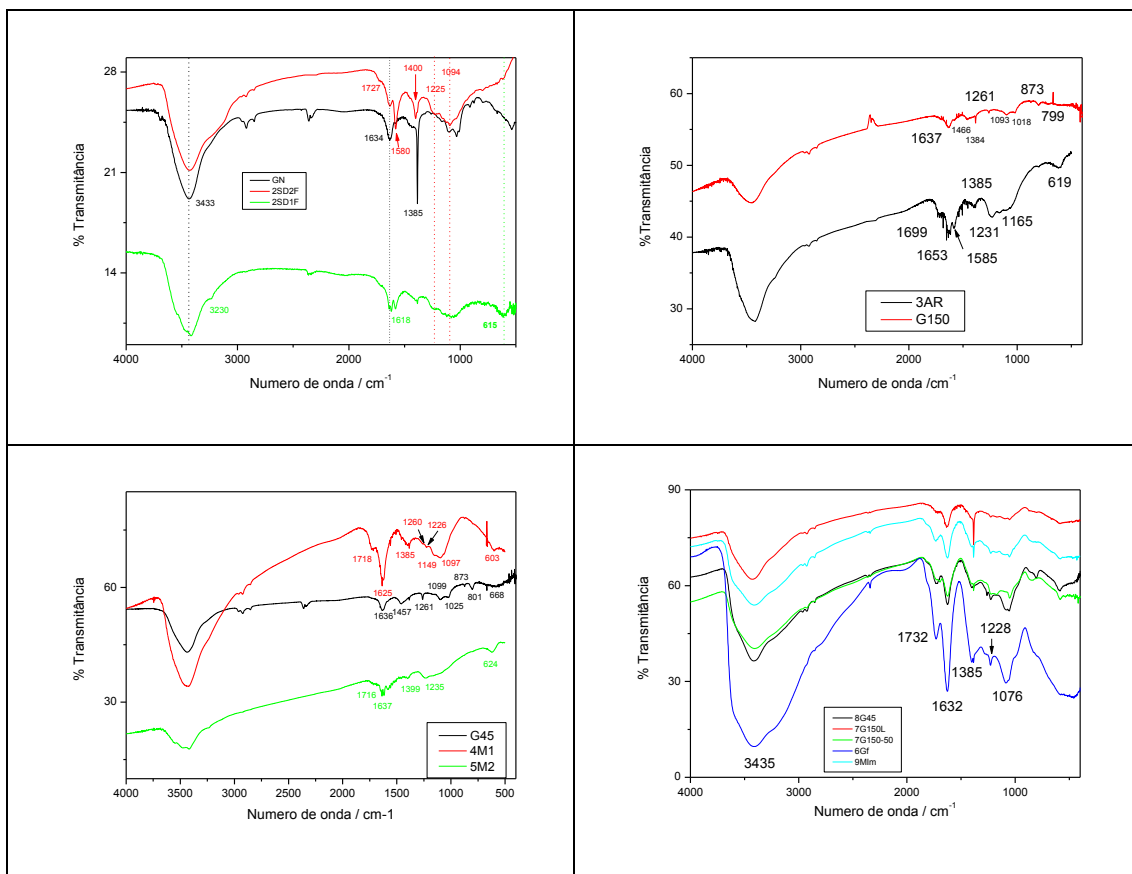


Figura 35. Espectros vibracionais (FTIR) da grafite e dos óxidos de grafeno.

A oxidação da grafite gera vários grupos oxigenados, -COOH, -OH, éter, epóxi e outros, tanto nas bordas como na superfície das camadas. O grau de oxidação da grafite depende do material de partida e do processo de oxidação, o que dificulta a determinação da estrutura do GO (KAR et al, 2013).

Si e colaboradores (2008) atribuíram as bandas em 1060cm^{-1} (ν_{CO}), 1250cm^{-1} (ν_{COC}), 1365cm^{-1} ($\nu_{\text{C-OH}}$) e 1720cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$) aos modos vibracionais dos sítios ácidos carboxílicos e/ou carbonílicos presentes no óxido de grafite. O estiramento OH dos grupos carboxilatos foi observado ao redor de 3230cm^{-1} (GUO et al., 2009). Alternativamente a banda em 1060cm^{-1} pode ser atribuída $\nu(\text{CO})$ dos grupos epóxi ou alcóxi (GUO et al., 2009). Cálculos teóricos indicam que o estiramento C=C deve ocorrer na região de $1540\text{-}1580\text{cm}^{-1}$ (KAR et al, 2013) e foi observado em 1573cm^{-1} por Krishnamoorthy e colaboradores (2013).

A banda em 1161cm^{-1} foi atribuída ao $\nu(\text{SO})$ que tanto pode ser devido ao sulfato ou a organosulfatos detectados nas medidas de termogravimetria. Si e colaboradores (2008) atribuíram as bandas em 1175 e 1126cm^{-1} a ácidos sulfônicos presentes na amostra.

O 2SD1F apresenta uma banda em 1618 cm^{-1} que está ausente do espectro do 2SD2F. Essa banda da pode ser devida ao estiramento C=O de grupos COOH na borda em zigzag do óxido de grafite (KAR et al, 2013).

Por fim, o 2SD1F apresenta uma banda fraca em 615 cm^{-1} , que pode estar relacionada a deformação angular fora do plano do grupo OH de álcoois (SILVERSTEIN et al., 1991).

3.2.6. Espectroscopia eletrônica

Os espectros eletrônicos de todas as amostras de GO (figura 36) apresentam uma banda ao redor de 230 nm e um ombro em 300nm, que são atribuídos as transições $\pi-\pi^*$ das ligações aromáticas C-C (KUILA et al., 2012) e $n-\pi^*$ das ligações C=O (LIAO et al., 2011).

Os valores de comprimento de onda (λ_{max}) dos GOs obtidos variaram de 225 a 231nm. A diferença nos valores de λ_{max} pode estar relacionado com o tamanho da “flake” do GO. Chen e colaboradores (2013) obtiveram os espectros eletrônicos de soluções de GO de diferentes tamanhos e observaram que quanto maior o “flake” maior o comprimento de onda da banda ao redor de 300nm.

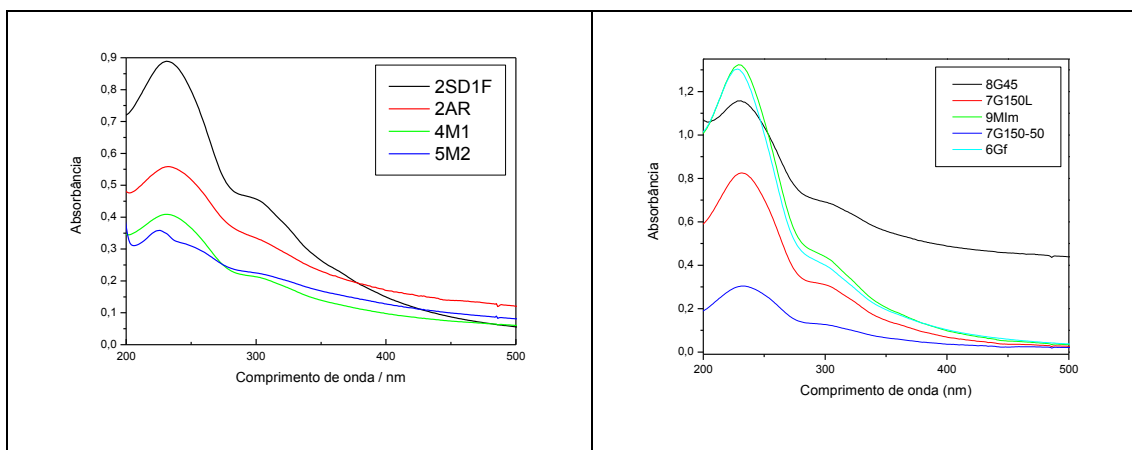


Figura 36. Espectros eletrônicos de soluções dos óxidos de grafeno.

Na figura 37 encontram-se os espectros eletrônicos de soluções do GO em diferentes pHs. De um modo geral, observa-se que a absorbância das soluções aumenta com o aumento dos valores de pH.

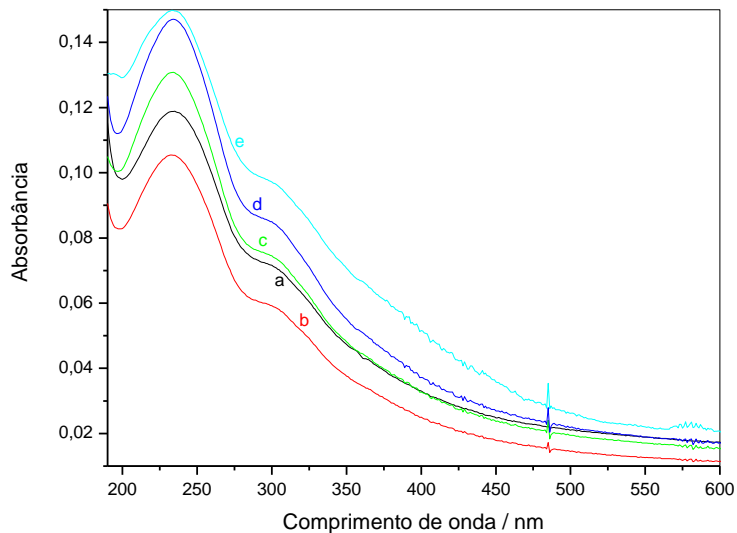


Figura 37. Espectros eletrônico de soluções do GO (~1mg/mL) em diferentes valores de pH (a) 4 (b) 6 (c) 8 (d) 10 (e) 12

Após 6 e 19 dias do preparo das amostras, o pH das soluções foi medido novamente (tabela 5). Observou-se na tabela 5, que o pH das soluções diminui em função do tempo, o que pode estar relacionado a lenta dissociação dos grupos ácidos nas amostras.

O GO apresenta boa dispersão em água até 1 dia após o preparo das amostras (figura 38), mas após 6 dias já se observa um depósito no fundo de alguns frascos. A amostra de GO só se estabiliza em meio fortemente básico (pH=11,2).

Tabela 5. Valores de pH medidos n mesmo dia do preparo das amostras e após 9 e 14 dias.

[GO] (mg/mL)	pH inicial	pH 9 dias	pH 16 dias
0,993	4,33	3,97	3,95
0,990	6,32	4,99	4,88
0,986	8,14	6,27	6,81
0,978	9,97	7,87	7,14
0,904	11,97	10,3	9,22

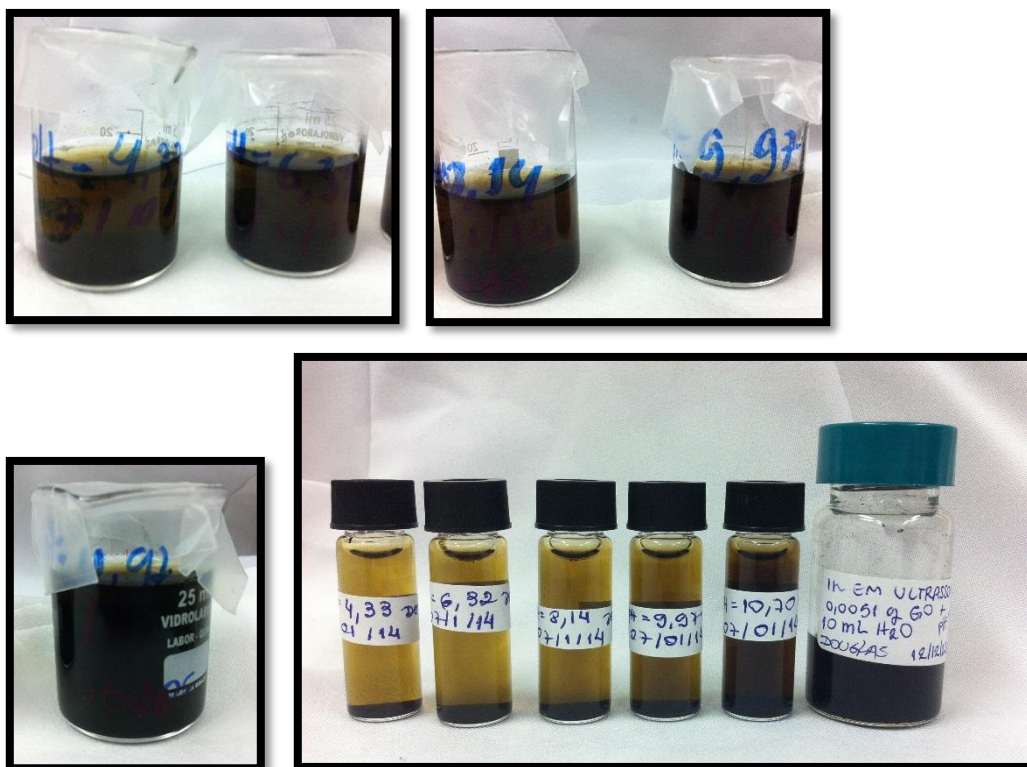


Figura 38. Imagem das soluções de GrO após 1 dia (acima) e 6 dias (abaixo) de preparo das amostras. O frasco com tampa verde tem solução de GrO-2SD1F (5mg/mL) em pH11,2.

3.3. INTERAÇÃO DO ÓXIDO DE GRAFENO COM OS FLAVONÓIDES

3.3.1. Interação a temperatura ambiente

Apigenina

O espectro eletrônico da apigenina (figura 39a e 40a) em etanol apresenta duas bandas em 269nm e 339nm, que são atribuídas às transições $\pi-\pi^*$ dos anéis A e B, respectivamente (SOUZA e GIOVANI, 2005). Em todas as tentativas a posição dessas bandas praticamente não se alteraram na presença de GO (figuras 39b e 40b), mas pontos isobésticos foram observados indicando que há uma interação entre o GO e o flavonoide.

O gráfico da diferença dos espectros (figura 39c - 2ª tentativa) tem bandas em 246nm e 286nm, sendo que está última pode ser devida a interação do grafeno com a apigenina. Liao e colaboradores(2011a) também observaram um deslocamento da banda do GO para 278nm na presença de polifenóis oriundos de chá verde, indicando que a conjugação eletrônica das folhas de grafeno é restabelecida após a redução. A banda em 246nm pode ser devida a apigenina oxidada.

Um comportamento similar foi observado, quando se utilizou o GO sintetizado no laboratório. Contudo, a posição dos pontos isobésticos e das bandas em 247nm e

289nm no gráfico da diferença dos espectros (figura 40c – 3ª tentativa) apresentou um pequeno deslocamento em relação ao experimento onde se utilizou o GO comercial.

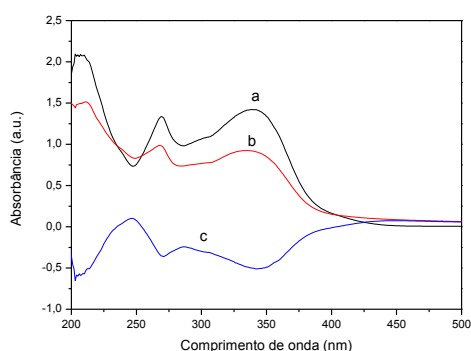


Figura 39: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) apigenina ($6,1 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) de apigenina ($6,0 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($1,6 \cdot 10^{-2}$ mg/mL) e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

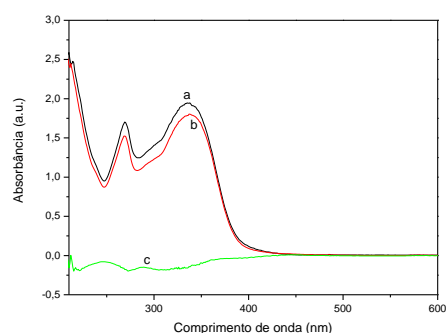


Figura 40: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) apigenina ($8,4 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) de apigenina ($8,0 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($5,5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL), e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

Naringenina

O espectro eletrônico da naringenina (figura 41a - 1ª tentativa) apresenta bandas em 291nm e um ombro ao redor de 326nm, que foram atribuídas as transições π - π^* dos anéis A e B, respectivamente. Tal atribuição foi feita com base no trabalho de Pereira e colaboradores (2007), que estudaram complexos de cobre com naringenina, um derivado glicosilado da naringenina. Há também uma outra banda em 211nm.

Tal como ocorreu com a apigenina, a posição das bandas do flavonoide não se alterou na presença do GO (figura 41b - 1ª tentativa) e pontos isobésticos foram observados em 257 e 306nm. O gráfico da diferença entre os espectros com e sem GO (figura 41c) apresenta bandas em 229nm, que provavelmente se deve ao GO (vide figura 36). Esses dados sugerem que nesse experimento a naringenina não reduziu o GO, mas somente interagiu fracamente com ele.

Na terceira tentativa, o gráfico da diferença entre os espectros da naringenina com e sem GO (figura 42c) apresentou bandas em 259nm e 306nm, sugerindo que nesse experimento houve redução do GO. Novos experimentos serão realizados para investigar o que realmente está ocorrendo nesse sistema.

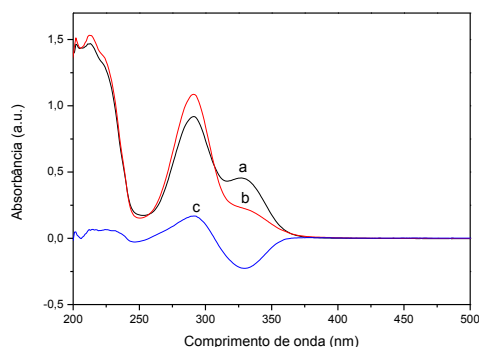


Figura 41: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) $5,9 \cdot 10^{-5}$ mol/L de naringenina, (b) naringenina ($5,8 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($8,1 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

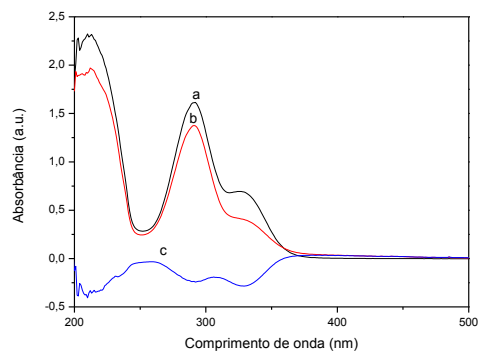


Figura 42: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) naringenina ($7,2 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) naringenina ($7,9 \cdot 10^{-5}$ mol/L) com GO ($5,5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

Quercetina

O espectro eletrônico da quercetina (figuras 43a, 44a, 45a e 46a) apresenta duas bandas em 376nm e 257nm, que são atribuídas, respectivamente, as transições eletrônicas $\pi \rightarrow \pi^*$ envolvendo o anel B (sistema cinamoílico) e o anel A (sistema benzoílico) do flavonóide (ZHOU *et al.*, 2001).

Assim como nos casos anteriores, a posição dessas bandas não se altera significativamente na presença do GO (figuras 43b, 44b, 45b e 46b), mas uma nova banda é formada em 295nm (1ª tentativa) e 302nm (3ª tentativa). Xu e colaboradores (2007) observaram que quando a quercetina é oxidada, uma nova banda surge em 301nm. Esse fato sugere que houve oxidação parcial da quercetina com redução de alguma parcela do GO.

As curvas da diferença apresentam bandas no intervalo de 235 a 256nm (tabela 6), que devem ser relativas ao GO interagindo com a quercetina, uma segunda banda ao redor de 291nm relativa a quercetina e uma terceira que pode ser devida ao grafeno reduzido.

A intensidade das bandas não se alterou muito na presença do GO, na maioria das tentativas, exceto quando se utiliza GO comercial. Há diferença entre o GO comercial e o produzido no laboratório e as causas serão investigadas.

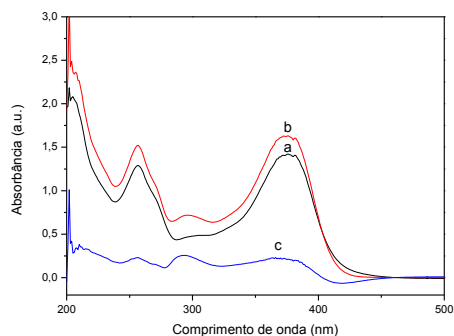


Figura 43: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) quercetina ($5,4 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) quercetina ($5,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($8,1 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

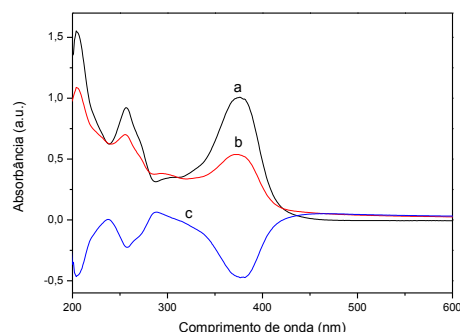


Figura 44: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) quercetina ($3,2 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) quercetina ($2,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($1,6 \cdot 10^{-2}$ mg/mL) e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

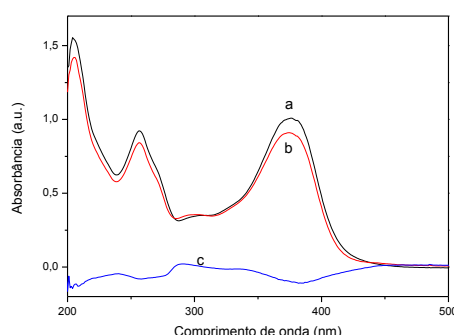


Figura 45: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) quercetina ($3,2 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) quercetina ($3,6 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($5,5 \cdot 10^{-3}$ mg/mL), (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

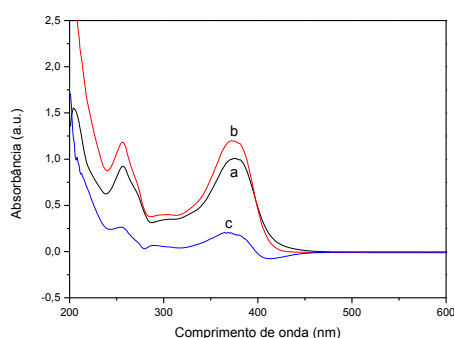


Figura 46: Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) quercetina ($3,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) quercetina ($3,5 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($2,6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

Tabela 6. Pontos isobésticos presentes nos espectros da quercetina com e sem GO e bandas observadas na curva da diferença entre esses espectros.

Tentativas	Pontos isobésticos (nm)	Bandas observadas (nm)		
1a	403	254	294	366
2a	235, 239, 280, 311 e 421	235	290	374
3a	284, 308, 438	240	290	-
4a	398	256	290	365

3.3.2. Interação a quente

Quando a reação do óxido de grafeno com a quercetina é feita a quente, há uma maior oxidação do flavonoide, fato este ilustrado pela maior intensidade da banda em 294 nm (figura 11b). Assim, como nos casos anteriores a posição das bandas da quercetina (257 nm e 375 nm) não se alteram significativamente na presença do GO. O gráfico da diferença dos espectros (figura 47c) mostra uma banda mal definida ao redor de 230 e 340 nm que podem ser devidas, respectivamente, ao GO não reduzido e reduzido interagindo com a quercetina.

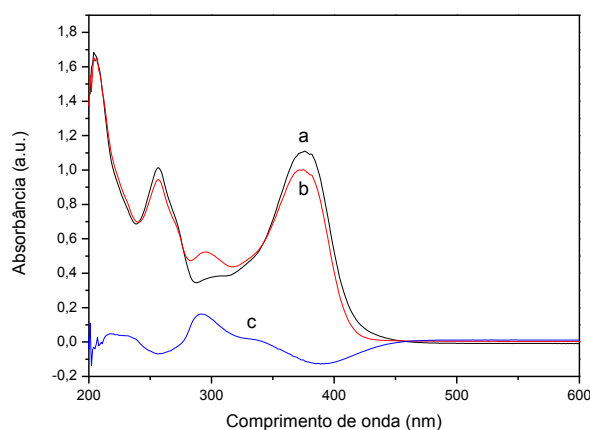


Figura 47 Espectros eletrônicos das soluções contendo (a) de quercetina ($4,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L), (b) quercetina ($4,3 \cdot 10^{-5}$ mol/L) + GO ($2,6 \cdot 10^{-3}$ mg/mL) e (c) a curva da diferença entre os espectros (b-a).

Espectro infravermelho

Como visto anteriormente, a oxidação da grafite gera vários grupos oxigenados, -COOH, -OH, éter, epóxi e outros, tanto nas bordas como na superfície das camadas (KAR et al, 2013).

O espectro vibracional do sólido obtido na 4ª tentativa da interação do GO com a quercetina (figura 48c) apresenta um perfil muito semelhante ao do GO (figura 48b) com bandas em 1635, 1457, 1385, 1260, 1097, 1029, 875 e 802 cm^{-1} . Algumas bandas da quercetina (figura 48a) aparecem na mesma região das do GO (vide pontilhados na figura 48). Contudo, não é possível afirmar com certeza que a quercetina adsorveu no GO. Se ela está presente, deve ser em pequena quantidade.

Na figura 49c encontra-se o espectro vibracional do sólido obtido na tentativa de redução do GO com quercetina a quente. Comparado com o espectro do GO (figura 49b) as maiores diferenças aparecem na região abaixo de 1000 cm^{-1} , onde há muita controvérsia na literatura sobre qual a atribuição dessas bandas.

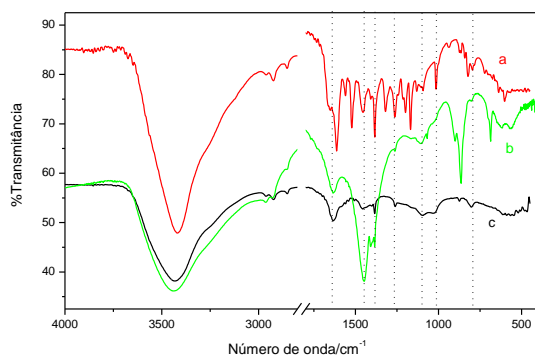


Figura 48: Espectros infravermelhos da (a) quercetina, (b) GO e (c) GO com quercetina

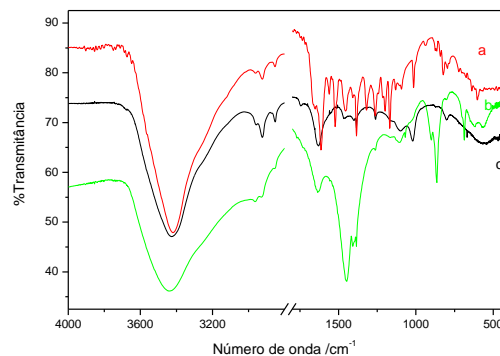


Figura 49: Espectros infravermelhos da (a) quercetina, (b) GO e (c) GO com quercetina

3.3. ESTUDOS ELETROQUÍMICOS

Na figura 50 encontram-se os voltamogramas cíclicos obtidos durante a redução do óxido de grafeno (GO) sobre eletrodo de carbono vítreo, onde se observa que o pico catódico desloca-se para potenciais mais positivos conforme aumenta o número de varreduras e estabiliza ao redor de -0,7V. O fato da corrente de pico catódico aumentar após varreduras sucessivas é um indício de ocorreu a deposição de grafeno reduzido sobre o eletrodo (CHEN et al., 2011).

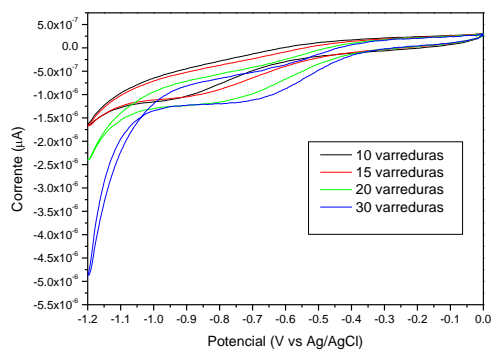


Figura 50. Voltamogramas cíclicos mostrando a redução eletroquímica do GO depositado sobre o eletrodo de carbono vítreo em solução tampão acetato, pH 4,7, após 10, 15, 20 e 30 varreduras a 10mV/s.

O voltamograma cíclico da solução de $K_3[(FeCN)_6]$ obtido usando o eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno reduzido (GCE/GOR), apresenta uma menor separação entre os picos, ΔE , 90mV para GCE/GOR contra 110mV para GCE, e uma maior intensidade de corrente (figura 51). O menor valor de ΔE observado está relacionado a um aumento na cinética de transferência de elétrons, devida ao

restabelecimento das ligações π do grafeno, após o processo de redução dos grupos oxigenados, o que torna a superfície do eletrodo mais condutora (WANG et al., 2009).

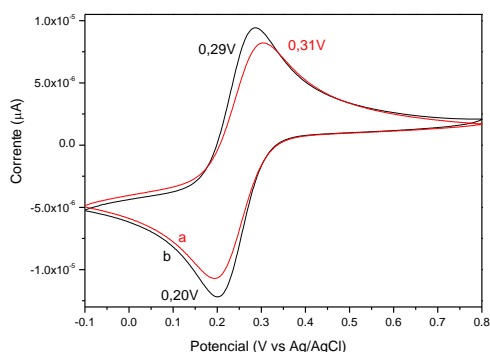


Figura 51. Voltamogramas cíclicos de solução 10 mmol/L de ferricianeto $[K_3(FeCN_6)]$ em KCl , 0,10mol/L, usando eletrodo de carbono vítreo (a) sem e (b) com óxido de grafeno reduzido (GOR) a 25mV/s.

Na figura 52 encontram-se os voltamogramas cíclicos da quercetina em solução tampão fosfato, pH 6,9, onde pode-se observar que ela apresenta dois picos anódicos em 0,17V e \sim 0,92V e um pico catódico em 0,13V. Quando se restringe a faixa de potencial e as medidas são feitas com o eletrodo modificado (GCE/GOR), o pico anódico em +0,13V torna-se mais bem definido e a intensidade de corrente de todos os picos aumenta.

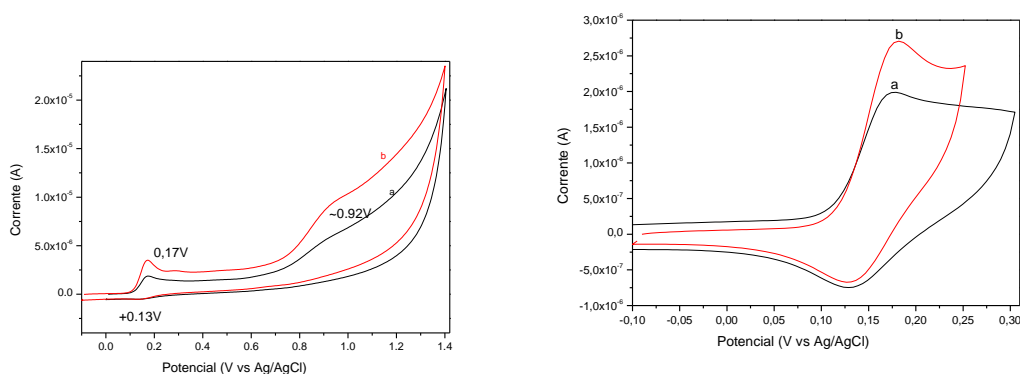


Figura 52: Voltamogramas cíclicos da quercetina ($1,97 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução contendo DMSO e tampão fosfato pH6,9 na proporção de 1:9 (a) sem o rGO e (b) Com rGO sobre o eletrodo de carbono vítreo, usando velocidade de varredura de 50 mV/s e faixa de potencial de -0,1 a 1,4V(a esquerda) e -0,1 a 0,31V(a direita).

Segundo Timbala e colaboradores (2006), o voltamograma cíclico da quercetina em solução hidro alcoólica 1:1 em pH 7 apresenta três picos em +0.15 V (Epa I), +0.46 V (Epa II) and +0.88 V (Epa III) como notamos na Figura 53. O pico I (em +0.15 V) é normalmente atribuído a oxidação dos substituintes 3'- e 4'-diidroxí no anel B e é independente da velocidade de varredura, já os picos II e III envolvem a oxidação do grupo

hidroxila em C-3 e os substituintes 5,7-diidroxi no anel A e tornam se mais evidentes com o aumento da velocidade de varredura. Uma explicação para esse fato seria que no pico I um produto eletroquimicamente ativo e instável é formado e posteriormente se oxida, quando o tempo de análise é suficientemente curto, gerando os picos II e III. Nas nossas condições não foi possível observar o pico II.

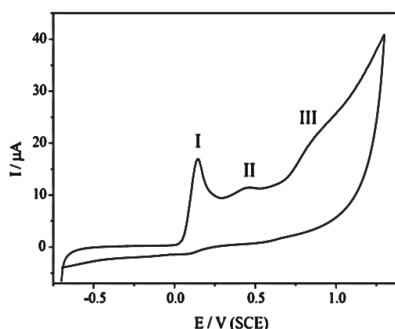


Figura 53: Voltamograma cíclico de quercetina em uma solução hidroalcoólica (pH 7,4) usando um eletrodo de trabalho carbono vítreo e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} (TIMBOLA et al., 2006).

O mecanismo proposto para a oxidação da quercetina (I), Figura 54 (TIMBOLA et al., 2006), envolve a participação de um elétron e de um próton que leva à formação da orto-semiquinona (II), a qual pode ser oxidada com um elétron e um próton e formar a para-quinona-metídeo (IV). O intermediário IV pode sofrer tautomerismo e se transformar em um dos seus análogos (III, V ou VI). A oxidação da quercetina em um processo envolvendo diretamente dois prótons e dois elétrons leva a formação da orto-quinona (III), a qual pode se converter nas paraquinonas-metídeo (IV V e VI), como se observa na Figura 54.

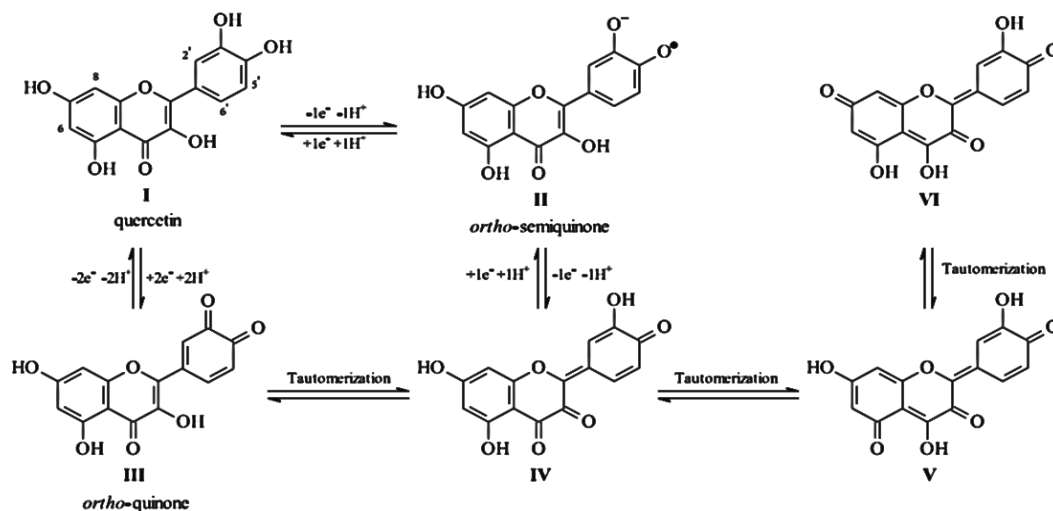


Figura 54: Sequência de reações de oxidação da quercetina que levam a formação de espécies quinona (TIMBOLA et al., 2006).

Um mecanismo similar foi proposto por KOSANOVIĆ e colaboradores (2010) (Figura 55), onde o primeiro pico do voltamograma cíclico deve-se a um processo envolvendo dois elétrons e dois prótons e corresponde a oxidação dos substituintes 3'- e 4'-diidroxí no anel B, o pico II à oxidação do grupo 3-OH no anel C e o pico III que corresponde à oxidação do grupo 5-OH no anel A. O primeiro pico é dependente do pH e é fortemente adsorvido na superfície do eletrodo.

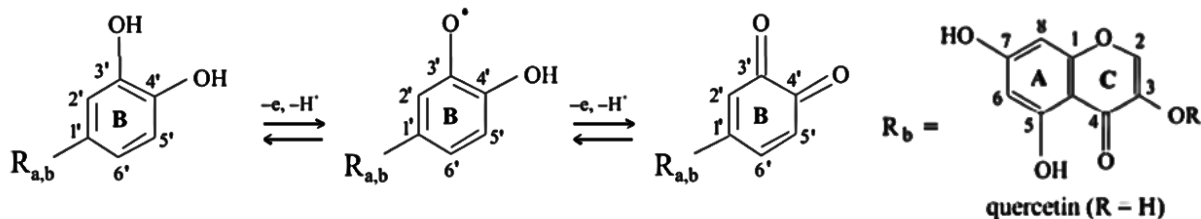


Figura 55: Um possível mecanismo de oxidação eletroquímica de quercetina (KOSANOVIĆ et al., 2010).

O voltamograma cíclico da naringenina (figura 56) apresenta dois picos anódicos mal definidos em 0,76V e 0,97V, próximo aos valores encontrados na literatura (ZHANG et al., 2011), respectivamente iguais a 0,710V e 0,955V. Assim como aconteceu com a quercetina, as medidas realizadas com o eletrodo modificado apresentaram uma maior intensidade de corrente. Quando se restringe a faixa de potencial (figura 56 a esquerda), um novo pico aparece em ~0,22V, aparentemente relativo a uma antecipação do sinal em 0,7V. Estudos similares foram realizados por Yang e Mu (2013).

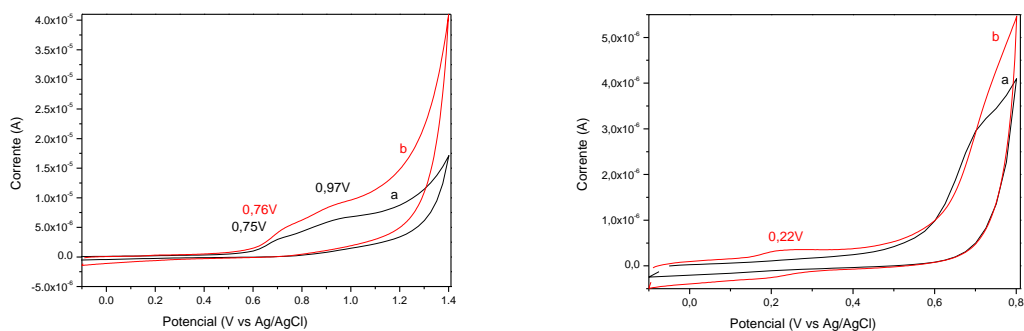


Figura 56: Voltamogramas cíclicos da naringenina ($1,79 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) em solução contendo DMSO e tampão fosfato pH6,9 na proporção de 1:9 (a) sem o rGO e (b) Com rGO sobre o eletrodo de carbono vítreo, usando velocidade de varredura de 50 mV/s e faixa de potencial de -0,1 a 1,4V (a esquerda) e -0,1 a 0,81V (a direita)

4. CONCLUSÃO

Nesse trabalho estudou-se a interação do grafeno e de óxido de grafeno com flavonoides com o objetivo de usar esses polifenóis para estabilizar o grafeno obtido por esfoliação por solvente, reduzir o óxido de grafeno e estabilizá-lo bem como verificar se há diferença nas propriedades do grafeno obtido por esses dois métodos.

Os estudos de espectroscopia eletrônica mostraram que há uma interação entre o grafite esfoliado e os flavonoides. Essa interação depende da posição das hidroxilas no anel dos polifenóis, pois verificou-se que a 3-hidroxi-flavona interage mais intensamente que a 5-hidroxi-flavona.

No processo de esfoliação utilizou-se dois banhos de ultrassom de fabricantes diferentes e verificou-se que o mais potente além de separar as folhas de grafeno, também as quebra. Os melhores resultados foram obtidos quando se adicionou grafite sólido a solução de flavonoide e utilizou-se 2500 a 3000rpm de velocidade de centrifugação.

A maioria dos trabalhos emprega N-metilpirrolidona como solvente para fazer a esfoliação da grafite, contudo ele não se mostrou adequado quando se utiliza a espectroscopia eletrônica como técnica de estudo. Quando a esfoliação foi feita na presença da 3,7-dihidroxi-flavona, uma nova banda surgiu ao redor de 400nm. A intensidade dessa banda depende do solvente e da presença ou não de grafite.

Estudos de espectroscopia Raman mostram que grafeno de poucas camadas (*few layer*) foi obtido a temperatura ambiente a partir da esfoliação empregando a 3,7-dihidroxi-flavona. Melhores resultados foram obtidos quando se utilizou quercetina e o processo foi feito a 80°C.

Óxido de grafeno (GO) foi obtido a partir da oxidação da grafite e caracterizado por diversas técnicas. Grafites de diferentes tamanhos e procedências foram empregados e verificou-se que o tamanho do grão interfere no procedimento de síntese. Uma das etapas críticas do procedimento é a filtração, que é mais rápida quando se emprega grafite de menor tamanho. Quanto a estabilidade das soluções, GO permanece mais tempo disperso em meio básico. Os estudos mostraram que é possível reduzir GO com quercetina, naringenina e apigenina. Mas, o processo precisa ser otimizado.

Por fim, os estudos eletroquímicos mostraram que quando se emprega um eletrodo modificado com óxido de grafeno reduzido há uma melhora no sinal do processo de oxidação da quercetina e da naringenina.

5. FORMAÇÃO DE RECURSOS HUMANOS

Os alunos abaixo, todos do curso de Química, iniciaram o projeto e nele permaneceram durante um semestre:

Douglas Nascimento Ferreira (412 0169-8) - 4º semestre – voluntário

Gilmara da Silva Ferasso (311 5493-1) - 7º semestre – bolsista

Grazielle Santos de Castro (311 66261) – 7º e 8º semestres – voluntária

Sumye Taniguti das Virgens (312 3858-0) – 5º semestre – voluntário.

Monique Belniowski dos Santos (413 2910-4) – 8º semestre - bolsista

Durante a vigência desse projeto, alguns estudos relacionados foram desenvolvidos por bolsistas PIBIC:

Ana Rita Noborikawa Paiva. Estudo da interação do grafeno e do óxido de grafeno com hidroxiflavonas, 2014.

André George Camaliente. Otimização das propriedades do óxido de grafeno empregado como aditivo químico para materiais cimentícios, 2015.

Débora Prada. Estudo da redução do óxido de grafeno com 3,7-diidroxiflavona, 2015

Isabella Stefanoni Teixeira de Almeida. Estudo da interação de óxido de grafeno com flavonoides, 2015.

Patrícia Palomares Ferreira. Diferenciação de mistura de flavonoides usando eletrodo de óxido de grafeno, 2016 (em andamento).

Cinco trabalhos de conclusão de curso também foram derivados desse projeto:

Giseli Pereira dos A. da Silva. Estabilização do grafeno com quercetina, 2014.

Monique Belniowski dos Santos. Otimização do procedimento de esfoliação da grafite na presença de quercetina, 2015

Thiago Alves Moreira. Estudo sobre compósitos constituídos por oxido de grafeno e emulsão acrílica aplicados a tinta de demarcação viária, 2015.

André George Camaliente. Compósito de cimento e óxido de grafeno: avaliação das propriedades mecânicas, 2016 (a ser apresentada nesse semestre)

Grazielle Santos de Castro. Estudo eletroquímico dos flavonoides quercetina e naringenina, 2016 (a ser apresentada nesse semestre)

6. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA

6.1 COMUNICAÇÕES EM CONGRESSOS CIENTÍFICOS

6.1.1. VIRGENS, S.T.; FERASSO, G.S.; FERREIRA, D.N.; ROSSI, M.V.; ALEXIOU, A.D.P. Óxido de grafeno: síntese e redução com o flavonoide naringenina, 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Natal, RN, p.INO 125, 2014.

6.1.2. SANTOS, M.B.; RIBEIRO, H.B.; ROSSI, M.V.; PEDROTTI, J.J.; ALEXIOU, A.D.P. Exfoliation of graphite in methanol solution containing quercetin, 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, São Paulo, SP, p. INO153, 2015.

6.1.3. PAIVA, A.R.N.; ROSSI, M.V.; ALEXIOU, A.D.P. Estudo espectroscópico da Interação de grafeno com hidroxiflavonas, 38ª Reunião Anual da SBQ, 2015, Águas de Lindóia, SP., p. INO51, 2015.

6.1.4. CAMALIONTE, A. G., MAHFOUD, Y., PRISZKULNIK, S., ROSSI, M. V., ALEXIOU, A.D.P. Produção de óxido de grafeno de baixo custo para uso como aditivo em argamassa, X Encontro de Engenharia de Materiais da Universidade Mackenzie, 2015, SãoPaulo, SP.

6.1.5. CASTRO, G. S.; ROSA, M. R.; FERREIRA, E. A.; Pedrotti, J. J.; ALEXIOU, A.D.P. Reduced graphene oxide modified electrode for simultaneous determination of naringenin and quercetin, 39ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Goiânia, GO, INO006, 2016.

6.1.6. CAMALIONTE, A. G.; ROSSI, M. V. Otimização das propriedades do óxido de grafeno empregado como aditivo químico para materiais cimentícios. 68ª Reunião Anual da SBPC, Porto Seguro, BA, 2016.

6.1.7. PAIVA, A.R.N.; ALEXIOU, A.D.P. Obtenção do grafeno por esfoliação com solvente na presença de flavonoides. 68ª Reunião Anual da SBPC, Porto Seguro, BA, 2016.

6.1.8. PRADA, D.; ALEXIOU, A.D.P. Multi-layer graphene obtained by exfoliation of graphite in the presence of 3,7-dihydroxyflavone in dimethyl sulfoxide, XVIII Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry, São Pedro, SP, p. 82, 2016.

6.2 ARTIGOS

Manuscritos relativos aos trabalhos desenvolvidos nesse projeto estão sendo elaborados e devem ser submetidos em breve.

REFERÊNCIAS

- ABDOLAHAD, M.; JANMALEKI, M.; MOHAJERZADEH, S.; AKHAVAN, O.; ABBASI, S. Polyphenols attached graphene nanosheets for high efficiency NIR mediated photodestruction of cancer cells. *Materials Science and Engineering C*, v. 33, p. 1498-1505, 2013.
- AKHAVAN, O.; KALAEI, M.; ALAVI, Z. S.; GHIASI, S. M. A.; ESFANDIAR, A. Increasing the antioxidant activity of green tea polyphenols in the presence of iron for the reduction of graphene oxide. *Carbon*, v.50, p. 3015-3025, 2012.
- ALMEIDA, S. N.; FERREIRA, M. J. P.; ROMOFF, P.; ALEXIOU, A. D. P.; A comparative study of photoreactivity of quercetin and its complex with chromium (III). *Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry*, Angra dos Reis, RJ, 2010.
- ANDERSEN, Ø. M.; MARKHAM, K. R. (ed.) *Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications*, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2006.
- BERGER, C.; SONG, Z.; LI, T.; LI, X.; OGBAZGHI, A. Y.; FENG, R.; DAI, Z.; MARCHENKOV, A. N.; CONRAD, E. H.; FIRST, P. N.; DE HEER, W. A. Ultrathin epitaxial graphite: 2D electron gas properties and a route toward graphene-based nanoelectronics. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 108, p.19912–19916, 2004.
- CHEN, L.; TANG, Y.; WANG, K.; LIU, C.; LUO, S. Direct electrodeposition of reduced graphene oxide on glassy carbon electrode and its electrochemical application. *Electrochemistry Communications*, v. 13, p. 133–137, 2011.
- CHEN, J.; ZHANG, X.; ZHENG, X.; LIU, C.; CUI, X.; ZHENG, W. Size distribution-controlled preparation of graphene oxide nanosheets with different C/O ratios. *Materials Chemistry Physics*, v. 139, p. 8-11, 2013.
- COLEMAN, J.N. Liquid Exfoliation of Defect-Free Graphene. *Accounts of Chemical Research*, v. 46, p. 14–22, 2013.
- DANGLETERRE, L.; CORNARD, J.P.; LAPOUGE, C. Spectroscopic and theoretical investigation of the solvent effects on Al(III)-hydroxyflavone complexes. *Polyhedron*, v. 27, p. 1581-1590, 2008.
- DIMIEV, A.; KOSYNKIN, D. V.; ALEMANY, L. B.; CHAGUINE, P.; TOUR, J. M. Pristine Graphite Oxide. *Journal of the American Chemical Society*, v. 134, p. 2815–2822, 2012.
- DIMIEV, A. M.; TOUR, J.M. Mechanism of Graphene Oxide Formation, *ACS Nano*, v. 8, p. 3060–3068, 2014.

DREYER, D. R.; PARK, S.; BIELAWSKI, C. W.; RUOFF, R. S. The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*, v. 39, p. 228-240, 2010.

EIGLER, S.; DOTZER, C.; HOF, F.; BAUER, W.; HIRSCH, A. Sulfur Species in Graphene Oxide. *Chemistry - A European Journal*, v. 19, p. 9490-9496, 2013.

GUO, H.-L.; WANG, X.-F.; QIAN, Q.-Y.; WANG, F.-B.; XIA, X.-H. A Green Approach to the Synthesis of Graphene Nanosheets. *ACS Nano*, v. 3, n.9, p. 2653-2659, 2009.

HUMMERS, W. S.; OFFEMAN, R. E. Preparation of graphitic oxide. *Journal of the American Chemical Society*, v. 80, p. 1339, 1958.

ITO, T.; SUZUKI, O.; SUZUKI, T.; MURATA, A. Spectrofluorimetric Determination of Hafnium and Zirconium with 3,7-Dihydroxyflavone. *Analyst*, v. 111, p. 423-427, 1986.

KAR, T.; SCHEINER, S.; ADHIKARI, U.; ROY, A. K. Site Preferences of Carboxyl Groups on the Periphery of Graphene and Their Characteristic IR Spectra. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 117, p. 18206-18215, 2013.

KHAN, U.; O'NEILL, A.; LOTYA, M.; DE, S.; COLEMAN, J. N. High-Concentration Solvent Exfoliation of Graphene. *Small*, v.6, p.864–871, 2010.

KHAN, U.; PORWAL, H.; O'NEILL, A.; NAWAZ, K.; MAY, P.; COLEMAN, J. N. Solvent-Exfoliated Graphene at Extremely High Concentration. *Langmuir*, v. 27, p. 9077–9082, 2011.

KHAN, U.; O'NEILL, A.; PORWAL, H.; MAY, P.; NAWAZ, K.; COLEMAN, J. N. Size selection of dispersed, exfoliated graphene flakes by controlled centrifugation. *Carbon*, v. 50, p. 470–475, 2012.

KOSANOVIĆ. M. M.; ŠERUGA. M.; JAKOBEK. L.; NOVAK. I.; Electrochemical and Antioxidant Properties of (+)-Catechin, Quercetin and Rutin. *Croatica Chemica Acta*, v.83, p.197–207, 2010.

KRISHNAMOORTHY, K.; VEERAPANDIAN, M.; YUN, K.; KIM, S.-J. The chemical and structural analysis of graphene oxide with different degrees of oxidation. *Carbon*, v. 53, p 38-40, 2013.

KUILA, T.; BOSE, S.; MISHRA, A. K.; KHANRA, P.; KIM, N. H.; LEE, J. H. Chemical functionalization of graphene and its applications. *Progress in Materials Science*, v. 57, p. 1061–1105, 2012.

LEE, S.; LEE, K.; ZHONG, Z. H. Wafer scale homogeneous bilayer graphene films by chemical vapor deposition. *Nano Letters*, v.10, p. 4702–4707, 2010.

LIAO, R.; TANG, Z.; LEI, Y.; GUO, B. Polyphenol-Reduced Graphene Oxide: Mechanism and Derivatization. *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 115, p. 20740–20746, 2011a.

LIAO, K.-H.; LIN, Y.-S.; MACOSKO, C. W.; HAYNES, C. L. Cytotoxicity of Graphene Oxide and Graphene in Human Erythrocytes and Skin Fibroblasts. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v.3, p. 2607-2615, 2011b.

LOTYA, M.; HERNANDEZ, Y.; KING, P. J.; SMITH, R. J.; NICOLSI, V.; KARLSSON, L. S.; BLIGHE, F. M.; DE, S.; WANG, Z.; MCGOVERN, I. T.; DUESBERG, G. S.; COLEMAN, J. N. Liquid phase production of graphene by exfoliation of graphite in surfactant/water solutions. *Journal of the American Chemical Society*, v. 131, p. 3611–3620, 2009.

MALARD, L. M.; PIMENTA, M.A.; DRESSELHAUS, G.; DRESSELHAUS, M.S.; Raman spectroscopy in graphene, *Physics Reports*, v. 473, p. 51-87, 2009.

MARGANO, D. C.; KOSYNKIN, D. V.; BERLIN, J. M.; SINITSKII, A.; SUN, Z.; SLESAREV, A.; ALEMANY, L. B.; LU, W.; TOUR, J. M. Improved Synthesis of Graphene Oxide. *ACS Nano*, v. 4, p. 4806-4814, 2010.

MATTEVI, C.; EDA, G.; AGNOLI, S.; MILLER, S.; MKHOYAN, K. A.; CELIK, O.; MASTROGIOVANNI, D.; GRANOZZI, G.; GARFUNKEL, E.; CHHOWALLA, M. Evolution of Electrical, Chemical, and Structural Properties of Transparent and Conducting Chemically Derived Graphene Thin Films. *Advanced Functional Materials*, v.19, p. 2577-2583, 2009.

NOBELPRIZE (ORG) *The Nobel Prize in Physics 2010*, disponível em: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/2010/advanced-physicsprize2010.pdf acessado em 16/08/2016.

NOVOSELOV, K. S.; GEIM, A. K.; MOROZOV, S. V.; JIANG, D.; ZHANG, Y.; DUBONOS, S. V.; GRIGORIEVA, I. V.; FIRSOV, A. A. Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*, v. 306, p. 666–669, 2004.

PATON K. R. *et al.* Scalable production of large quantities of defect-free few-layer graphene by shear exfoliation in liquids. *Nature Materials*, v.13, p. 624-630, 2014.

PEREIRA, R. M. S.; ANDRADES, N. E. D.; PAULINO, N.; SAWAYA, A. C. H. F.; EBERLIN, M. N.; MARCUCCI, M. C.; FAVERO, G. M; NOVAK, E. M.; BYDLOWSKI, S. P. Synthesis and Characterization of a Metal Complex Containing Naringin and Cu, and its Antioxidant, Antimicrobial, Antiinflammatory and Tumor Cell Cytotoxicity. *Molecules*, v. 12, p. 1352-1366, 2007.

- RAHMANIAN, N.; HAMISHEHKARC, H.; DOLATABADID, J. E. N.; ARSALANI, N. Nano graphene oxide: A novel carrier for oral delivery of flavonoids. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 123, p. 331–338, 2014.
- SI, Y.; SAMULSKI, E. T. Synthesis of Water Soluble Graphene. *Nano Letters*, v. 8, n. 6, p. 1679-1682, 2008.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T.C. Spectrometric Identification of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., 5a edição, 1991.
- SKALTSAS, T.; KAROUSIS, N.; YAN, H.-J.; WANG, C.-R.; PISPAS, S.; TAGMATARCHIS, N. Graphene exfoliation in organic solvents and switching solubility in aqueous media with the aid of amphiphilic block copolymers. *Journal of Materials Chemistry*, v.22, p. 21507-21512, 2012.
- SOUZA, R. F. V.; SUSSUCHI, E. M.; De GIOVANI W. F. Synthesis, electrochemical, spectral, and antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, v. 33, n. 7, p. 1125–1144, 2003.
- STANKOVICH, S.; DIKIN, D. A.; PINER, R. D.; KOHLHAAS, K. A.; KLEINHAMMES, A.; JIA, Y.; WU, Y.; NGUYEN, S. T.; RUOFF, R. S. Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. *Carbon*, v. 45, p. 1558-1565, 2007.
- SUBRAHMANYAM, K. S.; PANCHAKARLA, L. S.; GOVINDARAJ, A.; RAO, C. N. R. Simple method of preparing graphene flakes by an arc-discharge method. *Journal of Physical Chemistry C*, v. 113, p. 4257–4259, 2009.
- SU, C.-Y., XU, Y., ZHANG, W., ZHAO, J., TANG, X., TSAI, C.-H., LI, L.-J., Electrical and Spectroscopic Characterizations of Ultra-Large Reduced Graphene Oxide Monolayers. *Chemistry of Materials*, v. 21, p.5674-5680, 2009.
- SUN, Z.; YAN, Z.; YAO, J.; BEITLER, E.; ZHU, Y.; TOUR, J. M. Growth of graphene from solid carbon sources. *Nature*, v. 468, p. 549-552, 2010.
- SUN, S.; ZHANG, M.; Li, Y.; * and HE, X. A Molecularly Imprinted Polymer with Incorporated Graphene Oxide for Electrochemical Determination of Quercetin. *Sensors*, v. 13, p. 5493-5506, 2013.
- TIMBOLA. A. K.; SOUZA. C. D.; GIACOMELLI. C.; SPINELLI. A. Electrochemical Oxidation of Quercetin in Hydro-Alcoholic Solution. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.17, p.139-148, 2006.

TOH, S. Y.; LOH, K. S.; KAMARUDIN, S. K.; DAUD, W. R. W. Graphene production via electrochemical reduction of graphene oxide: Synthesis and characterization. *Chemical Engineering Journal*, v. 251, p. 422–434, 2014.

WANG, J.; YANG, S.; GUO, D.; YU, P.; LI, D.; YE, J.; MAO, L. Comparative studies on electrochemical activity of graphene nanosheets and carbon nanotubes. *Electrochemistry Communications*, v. 11, p. 1892–1895, 2009.

WANG, Yan; SHI, ZiXing; YIN, Jie. Facile Synthesis of Soluble Graphene via a Green Reduction of Graphene Oxide in Tea Solution and Its Biocomposites. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 3, p. 1127-1133, 2011.

WU, C.; CHENG, Q.; WU, K.; WU, G.; LI, Q. Graphene prepared by one-pot solvent exfoliation as a highly sensitive platform for electrochemical sensing. *Analytica Chimica Acta*, v. 825, p. 26–33, 2014.

YANG, Y.; MU, S.; Antioxidant activities and radical scavenging activities of flavonoids studied by the electrochemical methods and ESR technique based on the novel paramagnetic properties of poly(aniline-co-5-aminosalicylic acid). *Electrochimica Acta*, v. 109, p. 663– 670, 2013.

XU, G.-R.; IN, M. Y.; YUAN, Y.; LEE, J.-J.; KIM, S. In situ Spectroelectrochemical Study of Quercetin Oxidation and Complexation with Metal Ions in Acidic Solutions. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, v. 28, p. 889-892, 2007.

ZHANG, D.; CHU, L.; LIU, Y.; WANG, A.; JI, B.; WU, W.; ZHOU, F.; WEI, Y.; CHENG, Q.; CAI, S.; XIE, L.; JIA, G. Analysis of the Antioxidant Capacities of Flavonoids under Different Spectrophotometric Assays Using Cyclic Voltammetry and Density Functional Theory. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 59, p. 10277–10285, 2011.

ZHANG, H.; GRÜNER, G.; ZHAO, Y. Recent advancements of graphene in biomedicine. *Journal of Materials Chemistry B*, v. 1, p. 2542–2567, 2013.

ZHOU, J.; WANG, L-F; WANG, J.-Y; TANG, N.; Synthesis, characterization, antioxidative and antitumor activities of solid quercetin rare earth (III)complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.83, p.41-48, 2001.

ZHU, C.; GUO, S.; FANG, Y.; DONG, S. Reducing Sugar: New Functional Molecules for the Green Synthesis of Graphene Nanosheets. *ACS Nano*, v. 4, p. 2429–2437, 2010.