INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

ALEX DA SILVA LIMA

Uso da microscopia eletroquímica no estudo da dinâmica de processos eletródicos em superfícies funcionalizadas

Versão corrigida da Dissertação conforme Resolução CoPGr 5890
O original se encontra disponível na Secretaria de Pós-Graduação do IQ-USP

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
02/05/2011

ALEX DA SILVA LIMA

Uso da microscopia eletroquímica no estudo da dinâmica de processos eletródicos em superfícies funcionalizadas

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo para obtenção do Título de Mestre em Ciências (Química)

Orientador: Prof. Dr. Mauro Bertotti

São Paulo
2011

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

"Uso da microscopia eletroquímica no estudo da dinâmica de processos eletródicos em superfícies funcionalizadas"

ALEX DA SILVA LIMA

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências - Programa: Química.

Aprovado (a) por:

Mauro Bertotti

Prof. Dr. Mauro Bertotti
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. Ivano Gebhardt Rolf Gutz
IQ-USP

Prof. Dr. Hugo Barbosa Suffredini
UFABC

SÃO PAULO
18 de maio de 2011

À minha mãe, Barbára

Aos meus irmãos, Tatiane e Felipe

Ao Prof. Mauro Bertotti

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Mauro Bertotti pela orientação, amizade e pela oportunidade.

Aos Prof. Dr. Ivano G. R. Gutz e Prof. Dr. Roberto M. Torresi pelos ensinamentos e por terem participado do meu exame de qualificação.

Ao Prof. Dr. Lúcio Angnes pelas conversas e pelos ensinamentos oferecidos durante o desenvolvimento desse trabalho.

Aos demais docentes da área de Química Analítica do IQ-USP, pela amizade e ensinamentos oferecidos.

A todos os docentes da Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Unesp - Campus de Presidente Prudente pela formação cientifica e pela amizade, pois sem o esforço deles meu ingresso na Pós-Graduação não seria possível.

Ao Prof. Dr. Marcos F. S. Teixeira pela oportunidade, amizade e ensinamentos durante meu estágio de iniciação cientifica.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Sensores Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos (LSEME), Aurea, Ana, Gabriel (Capeta), Juan, Luiza, Maiara, Pollyana e Roselyn.

Aos amigos ex-membros do LSEME Prof. Dr. Tiago L. Ferreira (Pé) e sua esposa Dr. Helena Junqueira, Prof. Dr. Thiago R. C. L. Paixão e sua esposa Prof. Dr. Juliana Naozuka.

A Maiara (novamente) e a Ligia por terem a paciência de ler esse trabalho.

As técnicas Cristina e Lúcia pelo auxilio, pelas conversas e momentos de descontração.

Aos membros do LAIA pela ajuda e pelos momentos de descontração.

A todos os amigos e colegas do IQ-USP.

Aos amigos da época de graduação da FCT-Unesp , em especial ao "*Grupão*"....

Aos meus amigos de Osasco pelo apoio.

A todos aqueles que eu me esqueci de enumerar aqui, pois escrever essas simples palavras é umas das partes mais difíceis da escrita de uma dissertação.

Em especial à minha família (tios e primos), pois sem apoio deles eu não teria conseguido realizar mais esse sonho.

À FAPESP, CNPq, CAPES e ao Instituto de Química pelo suporte financeiro e oportunidade.

Muito Obrigado!!

“Sometimes in our lives
we all have pain
we all have sorrow
but if we are wise
we know that there's always tomorrow”

(Bill Withers)

RESUMO

Lima, A. S. **Uso da microscopia eletroquímica no estudo da dinâmica de processos eletródicos em superfícies funcionalizadas**. 2011. 89 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências (Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

No presente trabalho, foi utilizada a microscopia eletroquímica de varredura (SECM) com o intuito de obter informações sobre a topografia, reatividade e possíveis intermediários formados em superfícies eletródicas. Foram estudados, em uma etapa inicial, modelos que proporcionaram a aprendizagem do manuseio e tratamento de dados utilizando a SECM. Em uma segunda etapa, a SECM foi aplicada no estudo da reatividade de substratos de cobre que passaram por um processo de ativação eletroquímica. A ativação foi realizada imergindo uma superfície de cobre em uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) e posterior aplicação de pulsos de potencial para oxidação de cobre (500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$) e subseqüente redução de íons Cu(II) (-250 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$). Esse procedimento confere um aumento na sensibilidade na determinação de nitrato e nitrito. Para o estudo foram obtidas curvas de aproximação as quais foram correlacionadas com o tempo empregado na ativação. Também foram obtidas informações sobre a geração de Cu(I), estabilizado na presença de íons cloreto, durante o processo de ativação e sua influência na determinação de nitrato e nitrito. Por fim, a SECM foi utilizada no estudo de um sistema biomimético de cobre que catalisa a redução de oxigênio. Foram obtidas imagens com informações sobre a reatividade da superfície, homogeneidade do recobrimento do substrato e o mecanismo da reação.

Palavras-chave: Microeletodo, SECM, Superfícies Funcionalizadas

ABSTRACT

Lima, A. S. **Scanning electrochemical microscopy studies on the kinetics of electrode processes at modified surfaces. 2011**. 89 p. Masters Thesis - Graduate Program in Chemistry. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Scanning electrochemical microscopy (SECM) was employed in order to obtain information on the topography, reactivity, and possible intermediates generated at electrodic surfaces. Standard chemical systems were firstly investigated as an attempt to understand the principles of the technique. Then, SECM was used to study the reactivity of copper substrates upon activation by an electrochemical protocol. The surface activation was achieved by immersing a copper surface in a solution of 0.1 mol L^{-1} Na_2SO_4 (pH = 2) for further anodic oxidation of copper (500 mV vs. Ag / $AgCl_{(sat.\ KCl)}$) and subsequent reduction of Cu (II) (-250 mV vs. Ag / $AgCl_{(sat.\ KCl)}$). An enhanced sensitivity was noticed for the determination of nitrate and nitrite at the modified copper surface and the approach curves were correlated with the activation time. Information on the generation of Cu (I), which was stabilized in the presence of chloride ions during the activation process, was also obtained, as well as the influence of this intermediate on the determination of nitrate and nitrite. Finally, SECM was used in the study of a copper biomimetic system which is able to catalyze the reduction of oxygen. Information on the reactivity of the surface, the homogeneity of the coated substrate and the reaction mechanism were obtained by analyzing the SECM results.

Keywords: Microelectrode, SECM, Modified surface

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática de diferentes geometrias de microeletrodos. (a) microdisco; (b) cônico; (c) cilíndrico; (d) arranjo de microeletrodos; (e) hemisférico e (f) banda. 15

Figura 2: Representação esquemática dos processos de difusão em: a) macroeletrodos; b) microeletrodos. 16

Figura 3: Representação esquemática do aparato instrumental da SECM 20

Figura 4: Representação esquemática dos processos envolvidos na aproximação de um microeletrodo a um substrato condutor (a) e isolante (b)..... 22

Figura 5: Fotografia de um microeletrodo de Pt confeccionado para aplicação em SECM... 29

Figura 6: Voltamograma cíclico obtido em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} utilizando um microeletrodo de platina. v = 50 mV s^{-1}. 30

Figura 7: Corrente limite em função da concentração de uma solução de ferricianeto de potássio em KCl 0,5 mol L^{-1}..... 31

Figura 8: Voltamogramas cíclicos obtidos em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. v = 50 mV s^{-1}. 32

Figura 9: Representação esquemática da superfície polida de um eletrodo com RG = 10..... 33

Figura 10: Curvas de aproximação teóricas de (A) *feedback* negativo; (B) *feedback* positivo. 34

Figura 11: Curvas de aproximação obtidas com microeletrodos com diferentes RG. Valores experimentais para (a) RG = 5, (c) RG >> 5 e calculado (b) RG = 5. Curvas obtidas em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}. 35

Figura 12: Representação esquemática do experimento realizado para a obtenção da curva de aproximação. 36

Figura 13: Monitoramento da corrente em função da aproximação do microeletrodo (r = 5 μm) sobre a superfície do substrato isolante em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}. 37

Figura 14: Curva de aproximação obtida para um substrato isolante em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}..... 38

Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes separações entre um microeletrodo de platina (r = 5 μm) e um substrato isolante. Solução de ferricianeto de potássio 10 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. v = 50 mV s^{-1}. 39

Figura 16: Voltamograma cíclico obtido para separação entre microeletodo e substrato igual a L = 1 (5 μm) utilizando um microeletrodo de platina (r = 5 μm) e substrato isolante. Solução de ferricianeto de potássio 10 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. *v* = 50 mV s^{-1}..... 40

Figura 17: Curvas de aproximação obtidas para um substrato isolante em solução de ferricianeto de potássio nas seguintes concentrações: A) 1; B) 5; C) 10; D) 15; E) 25 ; F) 50 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}. 41

Figura 18: Curva de aproximação obtida para um substrato condutor em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}..... 42

Figura 19: Curva de aproximação obtida para um substrato condutor em uma solução de ferricianeto de potássio 1 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. A) substrato não polarizado; B) substrato polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ Sat.)}$. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}. 44

Figura 20: Imagens obtidas em *feedback mode* em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} juntamente com a representação esquemática do substrato utilizado. A) representação em 3D; B) representação em 2D. Velocidade de aquisição da imagem 10 μm s^{-1}. 45

Figura 21: Imagem SECM obtida em *feedback mode* em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. A) Micrografia do substrato; B) Imagem SECM. Velocidade de aquisição da imagem 10 μm s^{-1}. 47

Figura 22: Imagem SECM obtida em *Feedback mode* de um substrato com regiões condutora em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. A) representação em 2D; B) representação em 3D. Velocidade de aquisição da imagem 10 μm s^{-1}..... 48

Figura 23: Imagem SECM obtida com o microeletrodo posicionado longe do substrato em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aquisição da imagem 10 μm s^{-1}. 49

Figura 24: Voltamogramas cíclicos obtidos com um microeletrodo de platina (r = 12,5 μm) em uma solução de metil viologênio 1μmol L^{-1} (a) na ausência e (b) na presença de oxigênio. *v* = 50 mV s^{-1}. 52

Figura 25: Voltamograma cíclico obtido com um microeletrodo de platina (r = 6 μm) em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 (pH=2). *v* = 20 mV s^{-1}. 53

Figura 26: Curvas de aproximação obtidas para um substrato de cobre em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 (pH=2) para diferentes tempos de programas de ativação: a) superfície polida; b) t = 20 s; c) t = 60 s; d) t = 120 s; d) t = 240 s. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}..... 54

Figura 27: Representação esquemática dos processos envolvidos nos experimentos SECM no modo *collection/generation* na oxidação do substrato de cobre na presença de íons cloreto.

Separação entre microeletrodo e substrato d = 30 µm. Microeletrodo polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. 55

Figura 28: Formação de Cu(I) durante o procedimento de ativação. A) programa de potencial aplicado a substratos de platina (a) e cobre (b e c); B) Resposta do microeletrodo de platina em uma solução de Na_2SO_4 0,1mol L^{-1} (pH = 2) na ausência (a e b) e na presença (c) de cloreto 5 mmol L^{-1}. Microeletrodo (r = 12,5 µm) polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. 57

Figura 29: Resposta do microeletrodo em uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} na presença de (a) 0,5; (b) 5 e (c) 50 mmol L^{-1} de íons cloreto. Microeletrodo (r = 10,0 µm) polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. 59

Figura 30: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de cobre em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na ausência (a) e na presença de íons nitrato 50 mmol L^{-1} (b e c). Eletrodo de cobre ativado no eletrólito suporte na ausência (b) e na presença (c) de cloreto 50 mmol L^{-1}. v = 10 mV s^{-1} 61

Figura 31: Curvas de aproximação obtidas para um substrato de cobre em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} para diferentes condições de ativação: (a) superfície polida; ativado por t = 60 na presença (b) e na ausência de íons cloreto 50 mmol L^{-1} (c). Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1} 63

Figura 32: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de cobre em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na ausência (a) e na presença de nitrato 50 mmol L^{-1} + Cl^- 50 mmol L^{-1} (b e c). Eletrodo ativado no eletrólito suporte na ausência (b) e na presença (c) de cloreto 50 mmol L^{-1}. v = 10 mV s^{-1}. 64

Figura 33: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de cobre em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na presença de nitrato 2,8 mmol L^{-1} e diferentes concentrações de íons cloreto: a) na ausência; (b) 0,5 mmol L^{-1}; (c) 5 mmol L^{-1} e (d) 50 mmol L^{-1}. Eletrodo ativado em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na ausência de cloreto. v = 10 mV s^{-1}. 65

Figura 34: Curva de aproximação obtida para um substrato de cobre em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} utilizando um microeletrodo de ouro (r = 12,5). Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1}. 66

Figura 35: Voltamogramas obtidos utilizando substrato de cobre em uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) para experimentos realizados na ausência (A) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (B). Microeletrodo polarizado em -1,2 V durante o registro dos voltamogramas no substrato. Separação microeletrodo – substrato = 20 µm. v = 1 mVs^{-1}. 68

Figura 36: Voltamogramas obtidos após os experimentos SECM no modo "*generator/collection*" em que se polarizou o substrato de cobre em soluções de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (b) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (c). O voltamograma (a) foi registrado sem polarização do substrato. E_{dep} *= -1,2 V, frequência = 70 Hz,* E_{step} *= 20 mV e* $E_{amplitude}$ *= 65 mV. Inset:* Voltamograma obtido com microeletrodo de ouro (r =12,5) em uma solução contendo íons cobre 50 µmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} e KCl 5 mmol L^{-1}. E_{dep} *= -1,2 V,* $t_{dep.}$ *= 120 s, frequência = 70 Hz,* E_{step} *= 20 mV e* $E_{amplitude}$ *= 65 mV.* 69

Figura 37: Voltamogramas obtidos utilizando substrato de cobre em uma solução contendo nitrato 50 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) juntamente com o sinal de corrente monitorada no microeletrodo para o procedimento realizado na ausência (A) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (B). Microeletrodo polarizado em -1,2 V durante o registro dos voltamogramas no substrato. Separação microeletrodo – substrato = 20 µm. *v* = 1 mVs^{-1}..... 71

Figura 38: Voltamogramas obtidos após os experimentos SECM no modo "*generator/collection*" em que se polarizou o substrato de cobre em soluções de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} + nitrato 50 mmol L^{-1} na ausência (b) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (c). O voltamograma (a) foi registrado sem polarização do substrato. *E_{dep} = -1,2 V, frequência = 70 Hz, E_{step} = 20 mV e $E_{amplitude}$ = 65 mV*..... 73

Figura 39: Representação esquemática dos processos envolvidos durante o experimento SECM..... 75

Figura 40: Imagens SECM obtidas do substrato (carbono vítreo) em circuito aberto (A) e polarizado em -300 mV (B), -400 mV (C) e -500 mV (D) *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}. Microeletrodo polarizado em -750 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. 76

Figura 41: Imagens SECM da superfície de carbono vítreo modificado com $[Cu_4(apyhist)_4]^{4+}$ (A) substrato não polarizado e (B) substrato polarizado em -500 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. Velocidade de aquisição da imagem 25 µm s^{-1}. Microeletrodo polarizado em -750 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. 78

Figura 42: Representação esquemática dos processos envolvidos no experimento para monitorar a produção de H_2O_2..... 80

Figura 43: Imagens SECM obtidas com o microeletrodo polarizado em 600 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ com o substrato em circuito aberto (A) e polarizado em 500 *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}. 81

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 13
1.1 Superfícies funcionalizadas 13
1.2 Microeletrodos 14
1.3 Microscopia eletroquímica de varredura (SECM) 18
1.3.1 Modos de operação da SECM 21
1.3.1.1 "Feedback mode" 21
1.3.1.2 "Generation/collection" e "collection/generation" 23
1.3.1.3 Obtenção de imagens utilizando SECM 23
2. OBJETIVOS 25
3. MATERIAIS E MÉTODOS 26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 29
4.1 Construção de microeletrodos para aplicação em SECM 29
4.2 Experimentos preliminares com SECM 36
4.2.1 Experimentos SECM utilizando substrato isolante 36
4.2.2 Experimentos SECM utilizando substrato condutor 42
4.2.3 Obtenção de imagens utilizando SECM 44
4.2.4 Avaliação da estabilidade dos microeletrodos na obtenção de imagens SECM 48
4.3 Experimentos com SECM em superfícies funcionalizadas 50
4.3.1 Substrato de cobre 50
4.3.1.1 Avaliação da reatividade da superfície de cobre utilizando SECM 50
4.3.1.2 Estudo da formação de espécies transientes no processo de ativação de substratos de cobre 55
4.3.1.3 Efeito da presença de íons cloreto no processo de ativação na determinação de íons nitrato 60
4.3.1.4 Monitoramento de espécies transientes durante a determinação de íons nitrato utilizando substrato de cobre 65
4.3.2 Sistema biomimético de cobre 74
5. CONCLUSÕES 82
6. ESTUDOS FUTUROS 83
6.1 Substratos de cobre 83
6.2 Bicamadas lipídicas 83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 84
SÚMULA CURRICULAR i

1. INTRODUÇÃO

1.1 Superfícies funcionalizadas

A busca de estratégias para aumentar o desempenho de eletrodos utilizados em aplicações eletroquímicas tem sido objeto de grande atenção nos últimos anos, proporcionando assim o desenvolvimento de dispositivos com resposta adequada para vários propósitos e aplicações. Muitas possibilidades são exploradas para conferir determinadas características a eletrodos como, por exemplo, os procedimentos de modificação e de ativação de sua superfície eletródica.

O uso de superfícies eletródicas funcionalizadas possui um grande potencial de aplicação em diversos campos de pesquisa, tais como eletrocatálise, síntese eletro-orgânica, eletrônica molecular e conversão de energia solar. As inúmeras possibilidades de modificação da superfície do eletrodo conferem significativas vantagens na eletroanálise e na fabricação de sensores químicos, devido à melhoria da sensibilidade e/ou seletividade das determinações.

As modificações normalmente são realizadas com o objetivo de controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução. O procedimento é executado adicionando-se espécies quimicamente ativas ao substrato (eletrodo), conferindo a ele as características do modificador (reatividade, seletividade, entre outras). O primeiro eletrodo quimicamente modificado (EM) foi proposto por Murray e colaboradores em 1975 (Moses, Wier *et al.*, 1975). Desde então, um número muito grande de EMs têm sido propostos na literatura (Cox, Tess *et al.*, 1996; Karyakin, 2001; Katz, Willner *et al.*, 2004; Campbell e Compton, 2010).

Alguns fatores devem ser considerados na construção e na avaliação da eficiência catalítica dos eletrodos modificados, tais como a interação do analito com o filme modificador, a disposição do filme sobre o eletrodo e a propagação da carga elétrica no filme (Lowinsohn e Bertotti, 2006). Muitas destas características podem ser estudadas por técnicas eletroquímicas, em que o transporte de massa é controlado por difusão empregando-se

métodos cronoamperométricos e/ou voltamétricos (Bard e Faulker, 2001). Outras alternativas são as técnicas eletroquímicas hidrodinâmicas, onde o transporte de massa pode ser controlado de maneira precisa, como no caso do emprego de eletrodos rotativos, e as técnicas de impedâncias eletroquímica (Bard e Faulker, 2001; Wang, 2001).

Em relação à disposição do filme modificador na superfície do eletrodo, o estudo pode ser realizado utilizando técnicas de microscopia, as quais possibilitam a visualização da morfologia e da homogeneidade do recobrimento. As técnicas de microscopia mais utilizadas são a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a microscopia de força atômica (AFM) (Stradiotto, Toghill *et al.*, 2009; Arguello, Magosso *et al.*, 2010; Casero, Vazquez *et al.*, 2010). Essas técnicas, apesar de possuírem uma elevada resolução lateral, deixam a desejar no que diz respeito a informações sobre a especificidade química.

Uma alternativa para preencher essa lacuna e obter informações *in-situ* no estudo da interação eletroquímica de uma determinada espécie com a superfície do sensor está na utilização da microscopia eletroquímica de varredura (SECM, *Scanning Electrochemical Microscopy*), onde é utilizado um microeletrodo posicionado próximo à superfície de um substrato imerso em uma solução (Kwak e Bard, 1989). Devido a grande importância do microeletrodo na SECM a próxima seção abordara uma breve discussão sobre suas principais características.

1.2 Microeletrodos

Microeletrodos, também conhecidos como ultramicroeletrodos, são dispositivos que possuem dimensões micrométricas ou sub-micrométricas (Pons e Fleischmann, 1987). Entretanto, não somente fatores como tamanho e a forma da superfície devem ser levados em consideração para a definição de um microeletrodo, mas também os parâmetros temporais da técnica eletroanalítica utilizada que governam a espessura da camada de difusão. Assim,

microeletrodos sob determinada condição experimental também podem responder como um macroeletrodo (Stulik, Amatore *et al.*, 2000; Paixão e Bertotti, 2009).

De maneira geral, microeletrodos são eletrodos que, em determinada condição experimental, possuem dimensão comparável ou menor do que a camada de difusão (Stulik, Amatore *et al.*, 2000). Essa característica confere ao microeletrodo um comportamento eletroquímico diferenciado em consequência da elevada taxa de transporte de massa em direção à superfície eletródica. A Figura 1 apresenta as geometrias de microeletrodos mais comumente utilizadas.

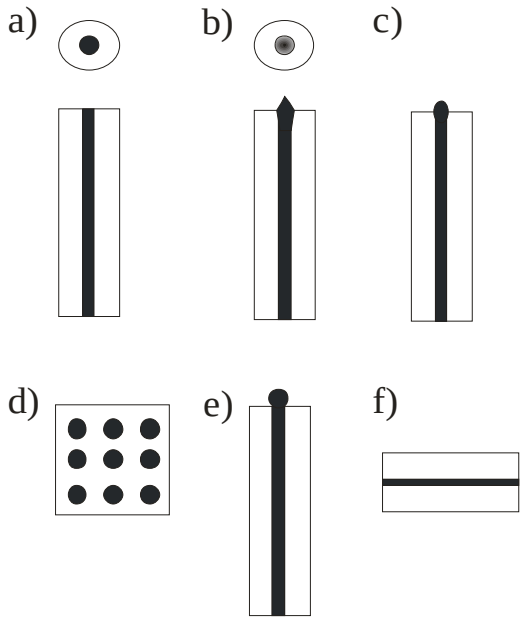


Figura 1: Representação esquemática de diferentes geometrias de microeletrodos. (a) microdisco; (b) cônico; (c) cilíndrico; (d) arranjo de microeletrodos; (e) hemisférico e (f) banda.

Apesar de existirem diversas possibilidades de geometrias para microeletrodos, no presente trabalho será abordada a de microdisco (Figura 1-a), mais amplamente explorada em SECM devido às facilidades de construção e de tratamento matemático.

Em microdiscos, o transporte de massa é governado por um processo de difusão radial, ou seja, quando o potencial do microeletrodo é alterado de uma condição onde não há reação para outra em que ocorre uma reação eletroquímica, origina-se um fluxo de corrente que rapidamente atinge o estado estacionário (Bard e Faulker, 2001). A Figura 2 apresenta uma representação esquemática dos processos de difusão para macroeletrodo e microeletrodo com geometria de disco.

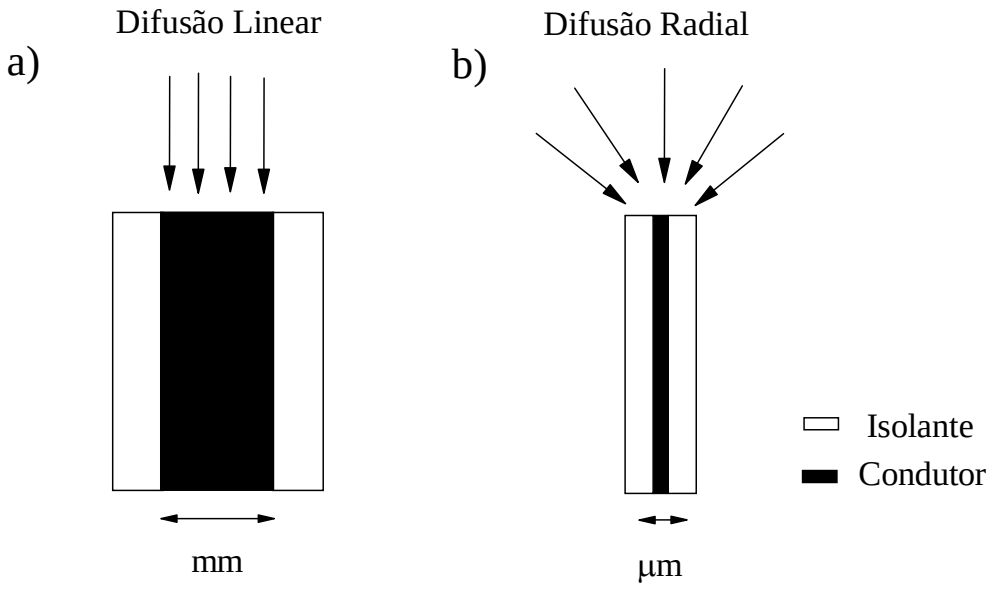


Figura 2: Representação esquemática dos processos de difusão em: a) macroeletrodos; b) microeletrodos.

No estado estacionário, a superfície do microeletrodo é envolvida por uma camada de difusão hemisférica e a resposta para a alteração de potencial em um microeletrodo de disco pode ser descrita pela seguinte equação:

$$j_L = \frac{nFD^{1/2}c}{\pi^{1/2}t^{1/2}} + \frac{4nFDc}{\pi r} \qquad (1)$$

onde, j_L é a densidade de corrente no estado estacionário, n número de elétrons, F constante de Faraday, D coeficiente de difusão da espécie eletroativa, c concentração da espécie eletroativa no seio da solução, t tempo após a alteração para o potencial onde o processo é governado por difusão e r é o raio do microeletrodo. O primeiro termo da equação é idêntico no caso de um degrau de potencial para eletrodos de tamanho convencional e é dominante para tempos curtos. Já o segundo termo da equação define a condição de estado estacionário e é o termo representativo para tempos longos. Entretanto, se r for muito pequeno (microeletrodos), o segundo termo se torna dominante. Considerando r na escala micrométrica a Eq. (1) pode ser rescrita como:

$$j_L = \frac{4nFDc}{\pi r} \tag{2}$$

e a corrente como:

$$I_L = 4nFDrc \tag{3}$$

onde I_L é a corrente no estado estacionário, também conhecida como corrente limite.

Os microeletrodos apresentam algumas propriedades únicas tais como: elevada razão corrente faradaica/corrente capacitiva, a queda ôhmica é desprezível (IR) por consequência dos baixos valores de correntes monitorados, obtenção da corrente do estado estacionário em frações de segundos e transporte de massa efetivo devido ao fato de a difusão ser radial. Estas características, em especial as duas últimas, permitem sua utilização como sonda na microscopia eletroquímica, pois devido ao transporte de massa eficiente o sistema sofre pouca influência dos efeitos hidrodinâmicos e o rápido alcance de uma corrente limite possibilita que as medidas sejam realizadas em condições de estado estacionário.

1.3 Microscopia eletroquímica de varredura (SECM)

O surgimento da microscopia eletroquímica de varredura pode ser atribuído a uma sequência de experimentos realizados, quase que simultaneamente, pelos pesquisadores Royce C. Engstrom e Allen J. Bard em meados dos anos 80 (Wittstock, Burchardt *et al.*, 2007). Engstrom e colaboradores realizaram o que pode ser considerado como o primeiro experimento de microscopia eletroquímica, em que microeletrodos foram utilizados para obter o perfil de concentração referente à camada de difusão formada sobre a interface de um macroeletrodo (Engstrom, Weber *et al.*, 1986). Poucos anos depois, Bard e colaboradores reportaram o termo "*Scanning Electrochemical Microscopy*" em um artigo que apresentava a descrição matemática da corrente limite de um microeletrodo em função da sua separação de um substrato (Kwak e Bard, 1989). Desde então, um número crescente de artigos vêm sendo publicados e neles se apresentam novas descrições matemáticas e aplicações da SECM (Roberts, Lonsdale *et al.*, 2007; Amemiya, Bard *et al.*, 2008; Niu, Yin *et al.*, 2009; Wang, Zhang *et al.*, 2009; Zhang e Girault, 2009; Bertoncello; Walsh, Lovelock *et al.*).

Alguns autores defendem que a SECM não é uma técnica e sim uma maneira diferente de utilizar os microeletrodos, pois quase todos os tipos de medidas eletroquímicas podem ser realizadas utilizando sua configuração (Mirkin e Horrocks, 2000). De maneira geral, a SECM consiste no monitoramento de corrente ou potencial com um microeletrodo posicionado próximo à superfície de um substrato imerso em uma solução. A extensão da perturbação provocada pelo substrato no microeletrodo pode fornecer informações localizadas sobre as propriedades químicas, eletroquímicas, cinéticas e topográficas das interfaces em estudo. Superfícies sólidas como ouro, platina, polímeros ou membranas biológicas podem ser empregadas como substrato, assim como alguns líquidos e óleos que formam duas fases (Bard e Mirkin, 2001).

Considerações sobre os fundamentos da SECM e sua utilização na caracterização de processos químicos e bioquímicos são largamente encontradas em trabalhos disponíveis na literatura (Kwak e Bard, 1989; Bard, Denuault *et al.*, 1990; Mirkin, 1996; Barker, Gonsalves *et al.*, 1999; Bard e Faulker, 2001). Devido às potencialidades da microscopia eletroquímica, especialmente no que diz respeito à obtenção de imagens com resolução micrométrica, estudos sobre interfaces líquido/líquido, corrosão, bioeletroquímica, dissolução de sólidos, membranas, modificação de superfícies eletródicas e litografia têm sido realizados e nestes casos a técnica pode ser usada como ferramenta de apoio para investigações de caráter fundamental ou aplicado.

O princípio de funcionamento do microscópio eletroquímico envolve o deslocamento controlado de um microleletrodo nas direções *x*, *y* e *z*, com velocidade constante na ordem de μm/s. Este é imerso em um eletrólito suporte e seu deslocamento é feito com relação a uma superfície que pode ser polarizada ou não, dependendo do tipo do substrato (isolante ou condutor) e da natureza do experimento. A corrente monitorada pelo microeletrodo, quando operado a potencial controlado, é resultante de processos faradaicos que ocorrem com espécies eletroativas deliberadamente adicionadas à solução ou provenientes do substrato, assim como da distância entre o sensor e a superfície do substrato (Mirkin, 1996; Barker, Gonsalves *et al.*, 1999; Bard e Mirkin, 2001).

O aparato instrumental do microscópio eletroquímico consiste basicamente de 4 partes: uma pequena célula eletroquímica, um equipamento para as medidas eletroquímicas (bipotenciostato ou potenciostato), um sistema de posicionamento de alta precisão e um computador (Figura 3).

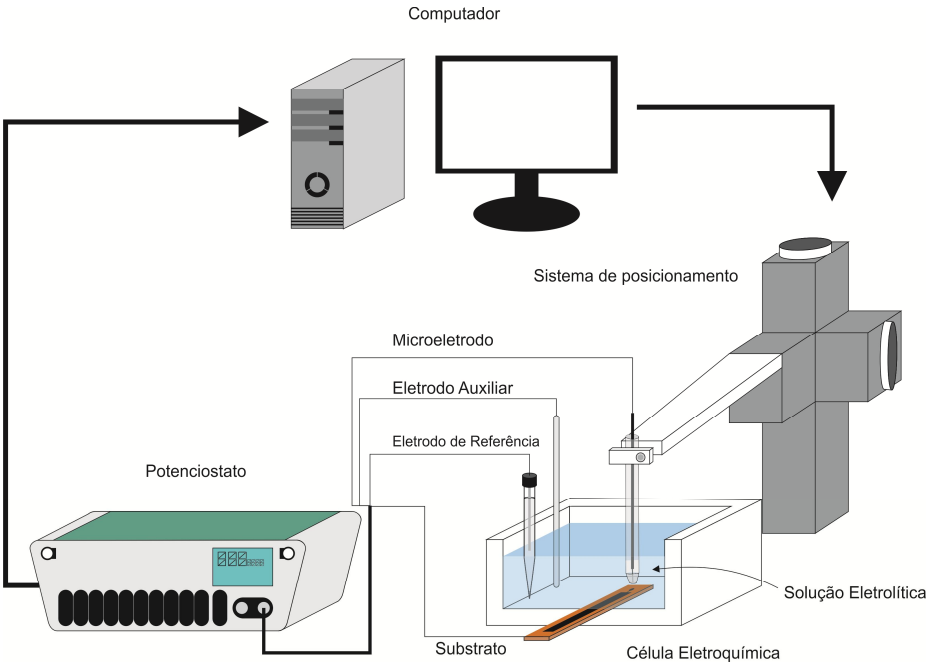


Figura 3: Representação esquemática do aparato instrumental da SECM

A célula eletroquímica possui um eletrodo de trabalho (microeletrodo e/ou substrato), um eletrodo de referência e um eletrodo auxiliar. O substrato geralmente é fixo na parte de baixo da célula. A outra parte é composta por um bipotenciostato capaz de monitorar corrente na ordem de pA e aplicar potenciais independentes no microeletrodo e no substrato. O sistema de posicionamento é responsável pelo deslocamento do microeletrodo com alta precisão e é composto por um motor de passo e uma cerâmica piezelétrica. O computador realiza a aquisição de dados e o controle do sistema de posicionamento. Dentre as partes apresentadas, as que são essenciais para um bom funcionamento nos experimentos com SECM são: o sistema de posicionamento e, na célula eletroquímica, o microeletrodo.

Devido à sua versatilidade, a SECM pode ser utilizada em estudos eletródicos em diferentes modos de operação além da aquisição de imagens relacionadas com reatividade e/ou topografia da superfície em estudo. Dentre eles pode-se citar o "*feedback mode*",

"*generation/collection*" e "*collection/generation*" (Kwak e Bard, 1989; Karnicka, Eckhard *et al.*, 2007; Lu, Wang *et al.*, 2007).

1.3.1 Modos de operação da SECM

1.3.1.1 "Feedback mode"

No "*feedback mode*", trabalha-se com um microeletrodo polarizado em um potencial adequado para que ocorra uma reação eletroquímica e este é posicionado próximo à superfície de um substrato (Kwak e Bard, 1989). As medidas e seu posicionamento são realizados utilizando um mediador redox, o qual é selecionado em função do tipo de informação pretendida e da natureza da superfície estudada.

Considerando como exemplo um mediador redox que passa por transformação reversível de sua forma oxidada (Oxi) para sua forma reduzida (Red), em função de alguns fenômenos que ocorrem durante a aproximação do microeletrodo em direção ao substrato a corrente monitorada se torna dependente da natureza da superfície estudada (condutor ou isolante).

Quando o microeletrodo está afastado do substrato, a corrente limite monitorada está relacionada com as espécies eletroativas que chegam até a superfície do microeletrodo via difusão radial e esta é independente da natureza da superfície em estudo. Ao aproximar o microeletrodo de um substrato condutor, o produto formado (Red) na superfície do microeletrodo difunde para a superfície do substrato, onde ocorre a reação reversa com regeneração de Oxi. O fenômeno proporciona uma retroalimentação devido aos inúmeros ciclos redox, gerando assim um aumento na corrente mensurada. Esse fenômeno é denominado *positive feedback* (Figura 4-A). Os valores de corrente durante esse processo podem ser medidos em função da posição do eletrodo na direção *z* com relação à superfície do substrato (*I* x d). Essa relação é denominada *curva de aproximação* e produz informações

sobre o perfil de concentração e/ou reatividade da superfície e sobre a distância da separação entre microeletrodo e substrato. As curvas podem ser utilizadas para avaliar a condutividade do substrato (Yogeswaran, Thiagarajan *et al.*, 2007; Pellissier, Zigah *et al.*, 2008; Santos, Ghilane *et al.*, 2008). Outro caso seria aproximar o microeletrodo à superfície de um substrato isolante. Nessa situação, a chegada de espécies eletroativas fica limitada, acarretando um decréscimo nos valores de corrente. Esse fenômeno é denominado de *negative feedback* (Figura 4-B) (Wipf e Bard, 1991).

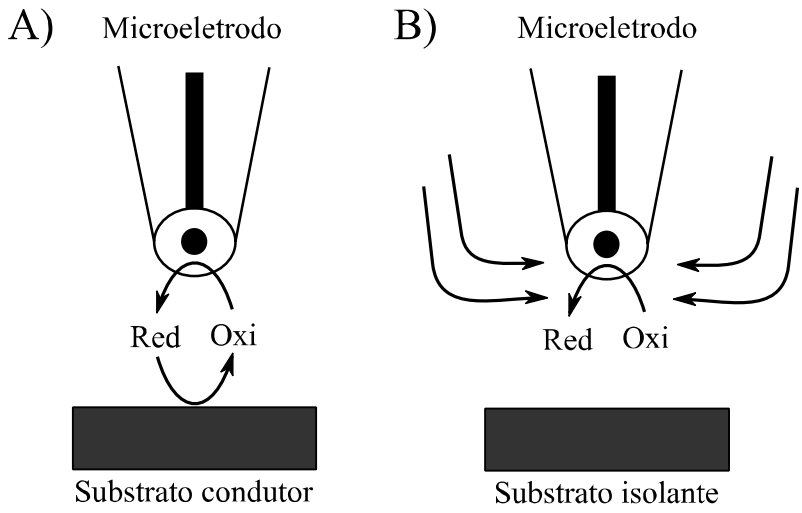


Figura 4: Representação esquemática dos processos envolvidos na aproximação de um microeletrodo a um substrato condutor (a) e isolante (b).

Investigações com SECM podem ser de fundamental importância para a compreensão de mecanismos eletródicos envolvendo eletrodos modificados. Para tanto, são realizados experimentos com a intenção de construir-se a curva de aproximação em diferentes valores de potencial aplicado no substrato condutor. Após um conveniente tratamento dos dados, conforme descrito na literatura, pode-se obter informações sobre parâmetros cinéticos (Turyan, Orel *et al.*, 2003; Li, Bertoncello *et al.*, 2008).

1.3.1.2 "Generation/collection" e "collection/generation"

Nos modos "*generation/collection*" e "*collection/generation*" a solução utilizada como eletrólito suporte não contem o mediador redox. Essa espécie é gerada no decorrer dos experimentos pelo substrato ou pelo microeletrodo (Lu, Wang *et al.*, 2007). Nos casos em que o microeletrodo é o "gerador", o substrato opera como "coletor" devido à grande diferença de área a eficiência de coleta é, via de regra, unitária desde que a espécie gerada seja estável. Nesse modo de operação podem ser obtidas informações sobre processos químicos acoplados a reações eletródicas, pois o fator de coleta vai depender da distância entre microeletrodo e substrato e da cinética da reação química (Demaille, Unwin *et al.*, 1996). Na alternativa contrária, "*collection/generation*", utiliza-se o microeletrodo como "coletor" e o substrato como "gerador" e nesse caso obtêm-se dados sobre o perfil de concentração de espécies geradas, consumidas ou que atravessam o substrato (por exemplo, por canais ou membranas) ou sobre as zonas reativas na superfície do substrato (mapeando-se o substrato com o microeletrodo nos eixos *x* e *y*) (Baltes e Heinze, 2009). Estes modos de operação são bem explorados em estudos cinéticos com eletrodos contendo filmes depositados, para a obtenção de informações sobre cinética de transferência eletrônica, em investigações sobre os mecanismos de reação, na determinação de coeficientes de difusão, entre outros (Bertoncello, Ciani *et al.*, 2006; Mckay e Lesuer, 2008; Rodriguez-Lopez, Alpuche-Aviles *et al.*, 2008; Tenent e Wipf, 2009).

1.3.1.3 Obtenção de imagens utilizando SECM

Outra aplicação da SECM está vinculada com a obtenção de imagens relacionadas à perturbação provocada pelo substrato no microeletrodo, a qual pode fornecer informações sobre a natureza e propriedades do substrato. O mapeamento da superfície é realizado mantendo-se fixa a posição do microeletrodo na direção *z* em região muito próxima à

superfície do substrato imerso em um eletrólito contendo um mediador redox previamente adicionado ou que seja liberado pela superfície em estudo. Alterando-se a posição do microeletrodo nas direções *x* e *y* e monitorando-se a corrente obtida, pode-se obter informação sobre o fluxo ou liberação de material através do substrato, sobre a topografia do substrato como consequência da variação da distância entre o substrato e o microeletrodo, ou ainda construir um mapa da reatividade da superfície com os dados coletados (Bard e Mirkin, 2001; Lu, Wang *et al.*, 2007; Baltes e Heinze, 2009; Okunola, Nagaiah *et al.*, 2009).

2. OBJETIVOS

- Empregar a microscopia eletroquímica como ferramenta para a obtenção de informações químicas e topográficas em superfícies eletródicas.

- Utilizar a SECM no estudo de espécies intermediárias no processo de ativação de eletrodos de cobre.

- Utilizar a SECM no estudo de espécies intermediárias formadas durante a determinação de nitrato utilizando eletrodos de cobre ativado eletroquimicamente.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes

Todas as soluções utilizadas para a realização dos experimentos foram preparadas a partir de reagentes de grau de pureza analítica dissolvidos em água desionizada (processada em sistema Nanopure Infinity, Barnstead).

3.2 Instrumentação

- *Microscópio eletroquímico de varredura*

Os experimentos SECM foram realizados com um microscópio eletroquímico (Sensolytics GmbH Bochum, Alemanha), empregando-se um sistema de 3 ou 4 eletrodos: eletrodo de trabalho (microeletrodo e/ou substrato), eletrodo de referência (Ag/AgCl) e auxiliar (fio de platina).

- *Potenciostato*

As medidas voltamétricas e amperométricas foram realizados utilizando um bipotenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT30 (Ecochemie, Holanda) empregando-se um sistema de 3 ou 4 eletrodos: eletrodo de trabalho (microeletrodo e/ou substrato), eletrodo de referência (Ag/AgCl) e auxiliar (fio de platina).

3.3 Construção dos eletrodos

- *Microeletrodos*

Os microeletrodos foram construídos com base na estratégia mais convencional, em que microfibras de platina ou ouro foram diretamente encapsuladas em capilares de vidro. As fibras foram encapsuladas utilizando o aparelho Flaming/Brown Micropipette Puller modelo

P-97 da Sutter Instrument Co.®. O polimento foi realizado utilizando lixa d'água 400 e feltro com alumina 1 μm para exposição da fibra. O bom funcionamento dos microeletrodos fabricados foi evidenciado registrando-se voltamogramas em soluções de ferricianeto de potássio em meio de KCl.

- *Eletrodos de referência e auxiliar*

Como eletrodo de referência foi utilizado um eletrodo Ag/AgCl saturado produzido pela eletrodeposição de AgCl em um fio de Ag. Este conjunto foi acondicionado em uma ponteira de micropipeta contendo solução saturada de KCl. O contato elétrico do eletrodo com a solução externa foi realizado usando-se um pedaço de separador de bateria (Pedrotti, Angnes *et al.*, 1996). O eletrodo auxiliar consistiu em um fio de platina imobilizado em tubo de vidro.

3.4 Superfícies utilizadas nos experimentos com SECM

3.4.1 Superfícies de policarbonato e ouro

As superfícies isolantes (policarbonato) e condutoras (ouro) tiveram pequenas regiões recobertas com uma camada de isolante (toner), conforme o procedimento descrito na literatura (Lowinsohn, Richter *et al.*, 2006).

3.4.2 Superfícies de cobre

As superfícies de cobre utilizadas passaram por um processo de ativação, aplicando-se pulsos de potencial para oxidar e subsequentemente reduzir os íons gerados na etapa inicial (Paixão, Cardoso *et al.*, 2007). Nesse trabalho, uma lâmina de cobre (A = 56 mm^2) imersa em uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH=2) foi polarizada em 0,50 V (dissolução de cobre) e, em seguida, em -0,25 V (redeposição de cobre).

3.4.3 Sistema biomimético de cobre

O complexo de cobre(II), $[Cu_4(apyhist)_4]^{4+}$, foi depositado conforme descrito na literatura (Matos, Ferreira *et al.*, 2010), em que 8 mg do complexo foram dissolvidos em água desionizada com pH = 9 e misturados com 200 µL de Nafion® 5 % (m/v). Uma alíquota de 4,5 µL da suspensão resultante foi depositada em uma superfície de carbono vítreo com auxilio de uma micropipeta e seca a temperatura ambiente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Construção de microeletrodos para aplicação em SECM

Diversas técnicas para a construção de microeletrodos estão descritas na literatura (Lee e Bard, 2002; Zoski, 2002; Paixão e Bertotti, 2009), mas nem todas podem ser utilizadas na SECM. Para essa aplicação se faz necessário que não apenas a resposta do mesmo seja característica de um microeletrodo, mas também a dimensão da ponta esteja na escala micrométrica. Visto que sua dimensão também limita a resolução lateral da técnica, é importante desenvolver e dominar estratégias para sua construção.

A construção dos microeletrodos utilizados no presente trabalho foi realizada encapsulando fibras micrométricas de platina em capilares de vidro e com o auxílio do equipamento Micropipette Puller o capilar foi selado. Este equipamento permite aplicação de um programa de aquecimento e o controle da força aplicada para esticar o capilar. O contato elétrico entre as microfibras e um fio de cobre ou de Ni/Cr foi realizado com fio de índio. A fotografia de um microeletrodo construído é apresentada na Figura 5.

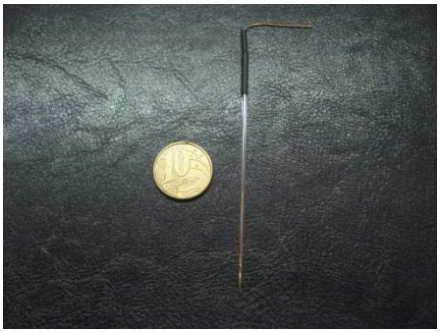


Figura 5: Fotografia de um microeletrodo de Pt confeccionado para aplicação em SECM.

Com o intuito de calcular o raio e confirmar o bom funcionamento dos microeletrodos de platina construídos, foi necessário registrar um voltamograma cíclico em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. O ciclo voltamétrico obtido é apresentado na Figura 6.

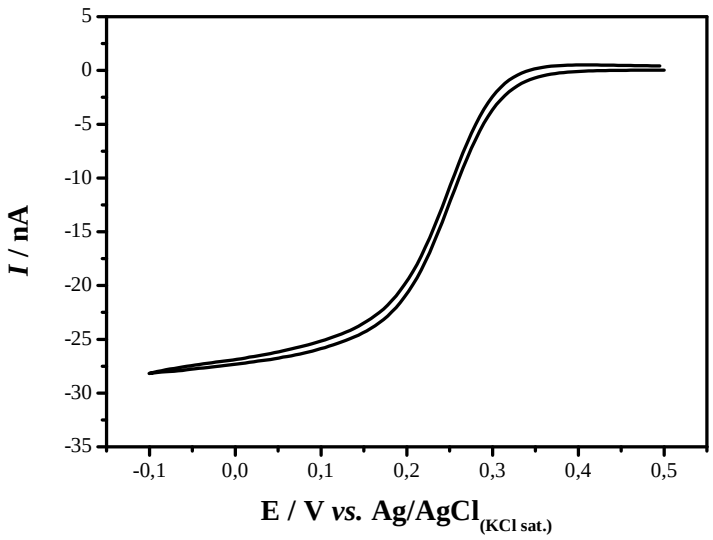


Figura 6: Voltamograma cíclico obtido em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} utilizando um microeletrodo de platina. v = 50 mV s^{-1}.

Como pode ser visualizado o voltamograma apresenta um perfil sigmoidal com baixa histerese e patamares de corrente característicos do estado estacionário. O valor do raio do microeletrodo construído foi obtido relacionando o valor de corrente limite com diferentes concentrações de ferricianeto de potássio. A Figura 7 apresenta o gráfico obtido.

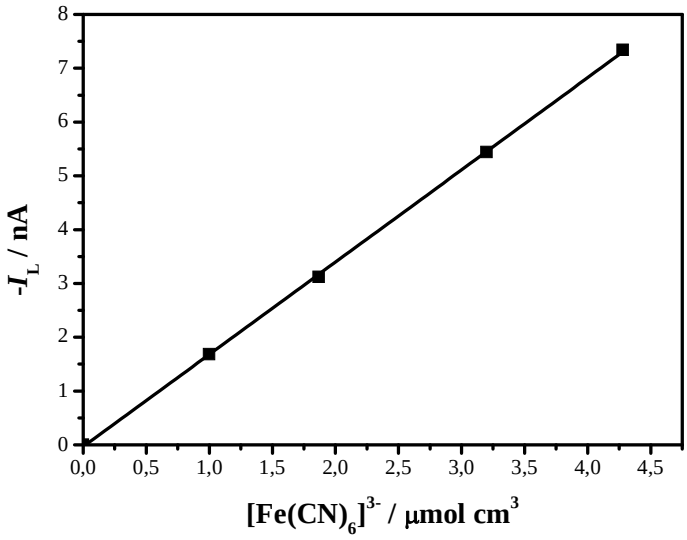


Figura 7: Corrente limite em função da concentração de uma solução de ferricianeto de potássio em KCl 0,5 mol L^{-1}.

Utilizando a Eq. 3 pode se obter o valor do raio através do coeficiente angular da reta. O valor encontrado foi igual a 6,0 μm. O mesmo procedimento foi realizado para os demais microeletrodos construídos.

$$I_L = 4nFDcr \qquad \text{(Eq. 3)}$$

Onde: $n = 1$
$F = 96{,}485$ sA mol^{-1}
$D = 7{,}6 \times 10^{-6}$ cm^2 s^{-1}
c = concentração em mol cm^3
I_L = corrente limite
T = 25 °C
Eletrólito suporte = KCl 0,5 mol L^{-1}

A Figura 8 apresenta voltamogramas cíclicos obtidos em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} para microeletrodos de platina construídos com diferentes dimensões.

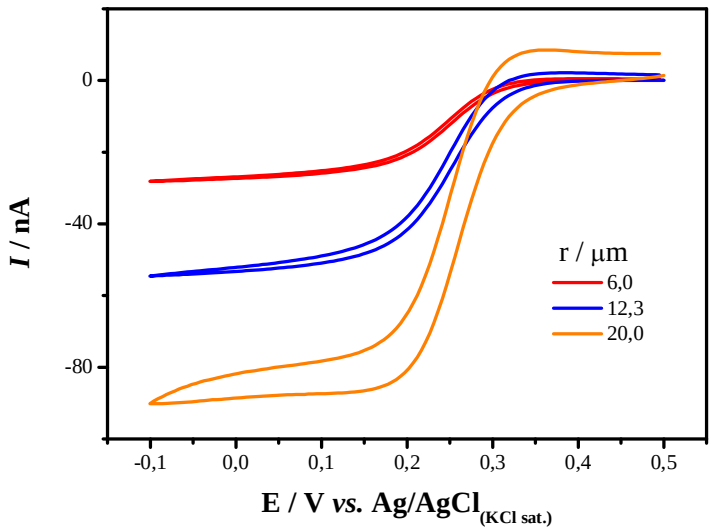


Figura 8: Voltamogramas cíclicos obtidos em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. v = 50 mV s^{-1}.

Rotineiramente, na construção ocorre uma discrepância entre as dimensões das microfibras fornecidas pelo fabricante e o valor calculado após serem inseridas dentro do capilar. Essa diferença tem como principal causa o programa de aquecimento aplicado pelo equipamento e pelo processo de polimento. No programa de aquecimento as fibras são submetidas a altas temperaturas, o que pode provocar uma alteração de sua dimensão e o polimento pode promover a exposição de maneira irregular da fibra.

Outro parâmetro que deve ser verificado nos microeletrodos fabricados é o RG, que é a relação entre o raio da parte isolante (r_{vidro}) e o raio da fibra utilizada (r_{micro}) (Figura 9).

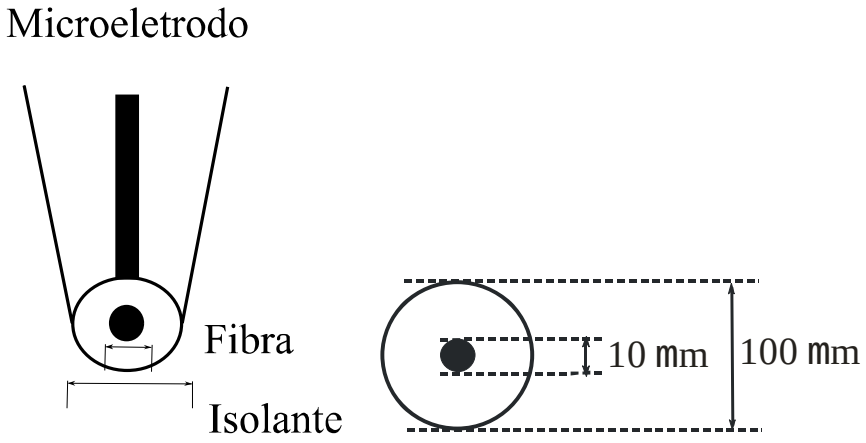


Figura 9: Representação esquemática da superfície polida de um eletrodo com RG = 10.

Encontra-se na literatura algumas aproximações matemáticas que possibilitam a simulação de curvas para *positive* e *negative feedback*. Essas expressões descrevem a curva de corrente em função da separação entre microeletrodo/substrato e são válidas apenas para substratos totalmente isolantes ou para condutores com grande coeficiente de transferência eletrônica (Bard e Mirkin, 2001). Outras limitações são a geometria do microeletrodo, só válidas para microdisco, os coeficientes de difusão das espécies Red e Oxi devem ser iguais e o substrato deve ser muito maior que o microeletrodo.

A primeira descrição foi reportada na literatura por Kwak e Bard (Kwak e Bard, 1989) e posteriormente Ampheltt e Denuault realizaram melhorias no trabalho anteriormente publicado (Amphlett e Denuault, 1998). As expressões para *positive feedback* e *negative feedback* são mostradas a seguir:

- *Positive feedback*

$$I_T[L] = k'_1 + \frac{k'_2}{L} + k'_3 exp\left(\frac{k'_4}{L}\right) \qquad \text{(Eq. 4)}$$

- *Negative feedback*

$$I_T[L] = \frac{1}{k_1 + \frac{k_2}{L} + k_3 exp\left(\frac{k_4}{L}\right)} \quad \text{(Eq. 5)}$$

onde k'_1, k'_2, k'_3, k'_4 e k_1, k_2, k_3, k_4 são constantes condicionais (depende do valor de RG).

A Figura 10 apresenta curvas de aproximação simuladas com dados descritos na referência (Amphlett e Denuault, 1998).

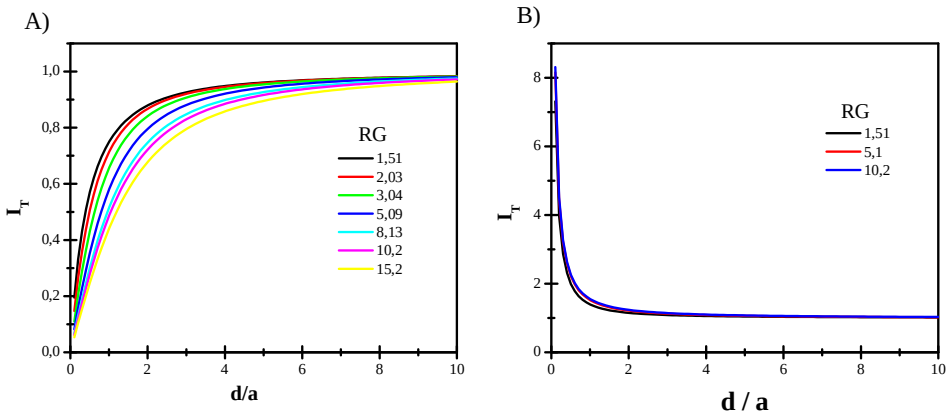


Figura 10: Curvas de aproximação teóricas de (A) *negative feedback*; (B) *positive feedback*.

Como pode ser visualizado, as curvas de aproximação para *negative feedback* são amplamente influenciadas pelo RG do microeletrodo, pois quanto maior o RG, mais dificultada é a chegada de material na superfície (Bard e Mirkin, 2001). O mesmo efeito não é observado para curvas de aproximação para *positive feedback*, pois o aumento de corrente não é dependente da chegada de mais material à superfície, e sim do efeito de retroalimentação.

A estimativa dos RG dos microeletrodos foi realizada por meio de comparação entre as curvas de aproximação experimental e a teórica para *negative feedback* utilizando curvas

teóricas geradas a partir das Eq. 4 e 5. A Figura 11 apresenta curvas de aproximações experimentais e simulada.

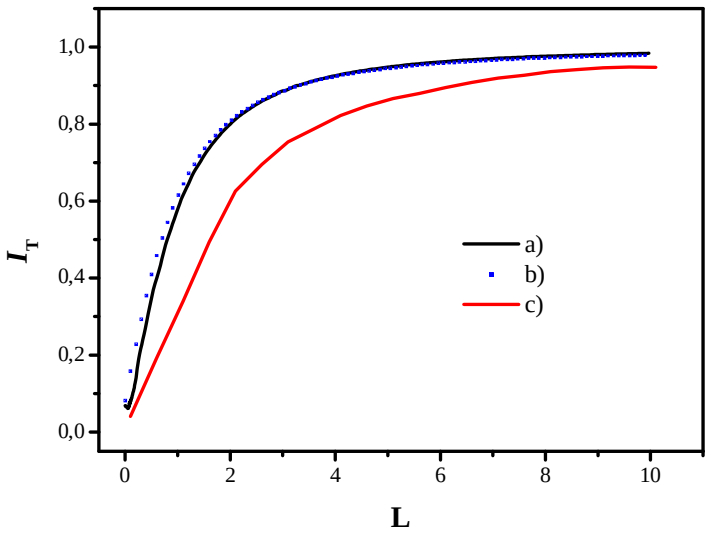


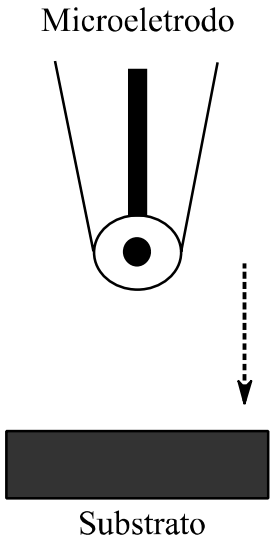
Figura 11: Curvas de aproximação obtidas com microeletrodos com diferentes RG. Valores experimentais para (a) RG = 5, (c) RG >> 5 e calculado (b) RG = 5. Curvas obtidas em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1}.

Os microeletrodos construídos passaram por um processo de polimento para diminuir a dimensão da parte isolante (vidro) que recobre a parte condutora (microfibra). O efeito desse procedimento pode ser observado nas curvas de um microeletrodo antes do polimento (linha vermelha) e após o polimento (linha preta) na Figura 11. Este procedimento foi realizado com intuito de reduzir o RG do microeletrodo para valores próximos de 10. Microeletrodos construídos com esta configuração são comumente utilizados nos experimentos SECM, pois esse valor é amplamente explorado nas simulações e os dispositivos não ficam muito frágeis (Bard e Mirkin, 2001).

4.2 Experimentos preliminares com SECM

4.2.1 Experimentos SECM utilizando substrato isolante

Com o intuito de avaliar o funcionamento do equipamento foram realizados diversos experimentos com placas de policarbonato. Primeiramente, foi avaliada a possibilidade de obtenção de curvas de aproximação. Para tanto, o microeletrodo utilizado como sonda foi polarizado em um potencial apropriado para que ocorresse a reação de redução do mediador redox e lentamente este foi movido em direção a uma superfície isolante (policarbonato). A representação esquemática do experimento é mostrada abaixo:



Potencial do microeletrodo: -100 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ Sat.)}$

Reação microeletrodo: $[Fe(CN)_6]^{3-} + e^- \rightleftharpoons [Fe(CN)_6]^{4-}$

Figura 12: Representação esquemática do experimento realizado para a obtenção da curva de aproximação.

Este procedimento foi realizado em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} e teve como objetivo a obtenção de um gráfico que relacionasse a corrente monitorada pelo microeletrodo com a separação entre microeletrodo e substrato (Figura 13).

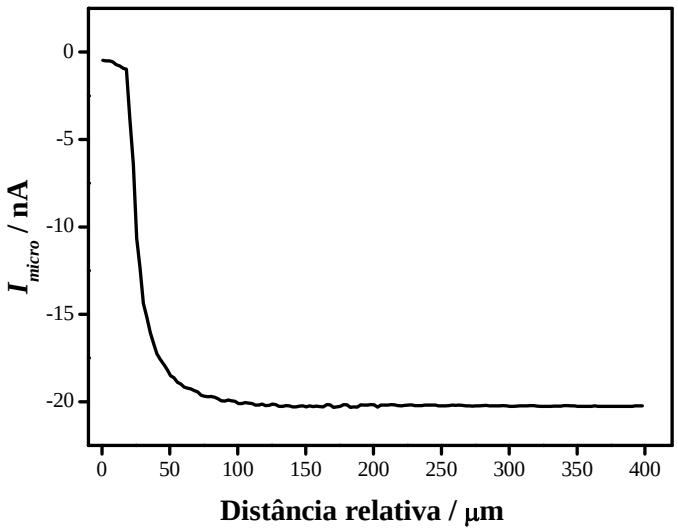


Figura 13: Monitoramento da corrente em função da aproximação do microeletrodo (r = 5 μm) sobre a superfície do substrato isolante em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}.

À medida que a separação entre microeletrodo e substrato diminui, a corrente monitorada a partir de um determinado ponto começa a diminuir. Este fenômeno é provocado pelo "bloqueio" da superfície da sonda à medida que a separação microeletrodo/substrato diminui. Desta maneira, ocorre diminuição da quantidade de material eletroativo que chega à superfície do microeletrodo e, consequentemente, uma queda no sinal de corrente. Nota-se também que em um determinado ponto, próximo de 0 μm, a curva sofre uma mudança no seu perfil, o que indica que o microeletrodo está encostado na superfície do substrato. Todavia, ainda observa-se um sinal de corrente, provavelmente devido ao posicionamento do microeletrodo, que pode não estar totalmente paralelo à superfície do substrato. O comportamento obtido está de acordo com o descrito na literatura e o termo usualmente empregado para o fenômeno é *negative feedback* (Bard e Mirkin, 2001).

Curvas de aproximação são geralmente apresentadas normalizando os valores de corrente e de distância, conforme mostra a Figura 14. Este procedimento é realizado para possibilitar a comparação de curvas obtidas em diferentes condições experimentais sem nenhuma influência da concentração ou do coeficiente de difusão do mediador utilizado. A normalização é realizada da seguinte maneira:

$$I_T = I_{micro} / I_{solução} \; vs. \; L = d / r$$

onde: I_{micro} = corrente monitorada pelo microeletrodo

$I_{solução}$ = corrente monitorada no seio da solução

d = distância relativa

r = raio do microeletrodo

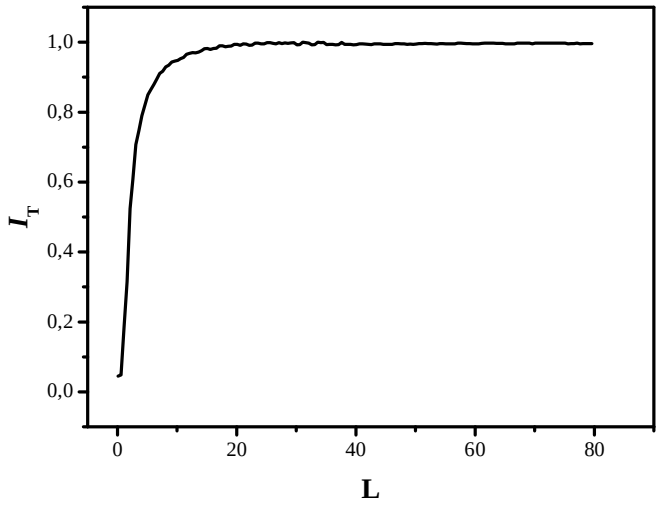


Figura 14: Curva de aproximação obtida para um substrato isolante em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1}.

A Figura 15 apresenta voltamogramas obtidos em função da separação entre o microeletrodo e o substrato (L).

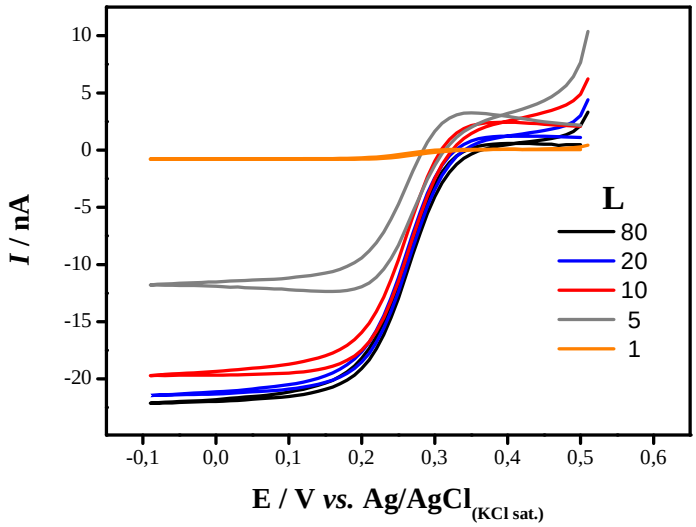


Figura 15: Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes separações entre um microeletrodo de platina (r = 5 µm) e um substrato isolante. Solução de ferricianeto de potássio 10 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. v = 50 mV s^{-1}.

Como pode ser observado, ocorre uma significativa diminuição dos valores de corrente limite à medida que a separação substrato/microeletrodo diminui, sendo esta queda mais expressiva a partir da separação de L = 10 (d = 50 µm). Esse comportamento é similar ao observado na curva de aproximação mostrada na Figura 14. Em L = 5, há um aumento na histerese do voltamograma registrado e essa distorção pode ter sido provocada pelo confinamento da espécie gerada entre o microeletodo e o substrato, dificultando assim sua difusão para o seio da solução e alterando o perfil do voltamograma. Essa alteração também ocorreu para a separação L = 1 (d = 5 µm), mas pela grande diferença da escala ela não é visualizada na Figura 14. O voltamograma para L = 1 está exposto na Figura 16.

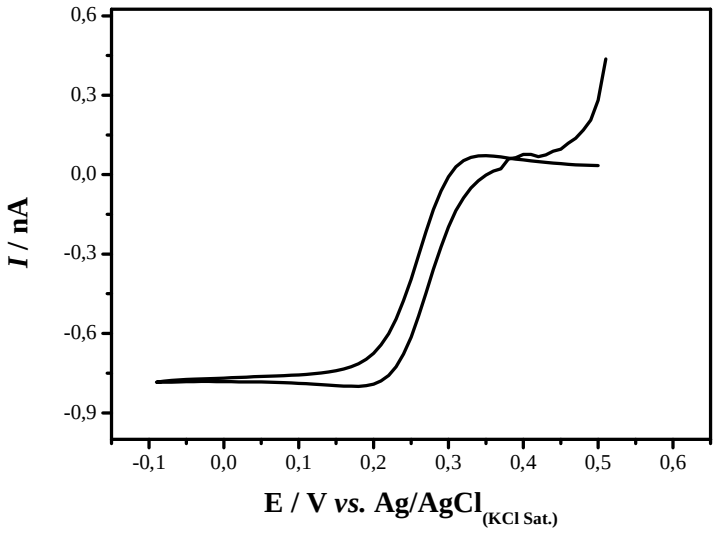


Figura 16: Voltamograma cíclico obtido para separação entre microeletodo e substrato igual a L = 1 (5 μm) utilizando um microeletrodo de platina (r = 5 μm) e substrato isolante. Solução de ferricianeto de potássio 10 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. v = 50 mV s^{-1}.

O efeito da concentração do mediador redox na obtenção de curvas de aproximação foi avaliado realizando experimentos em soluções com diferentes concentrações de ferricianeto de potássio (Figura 17).

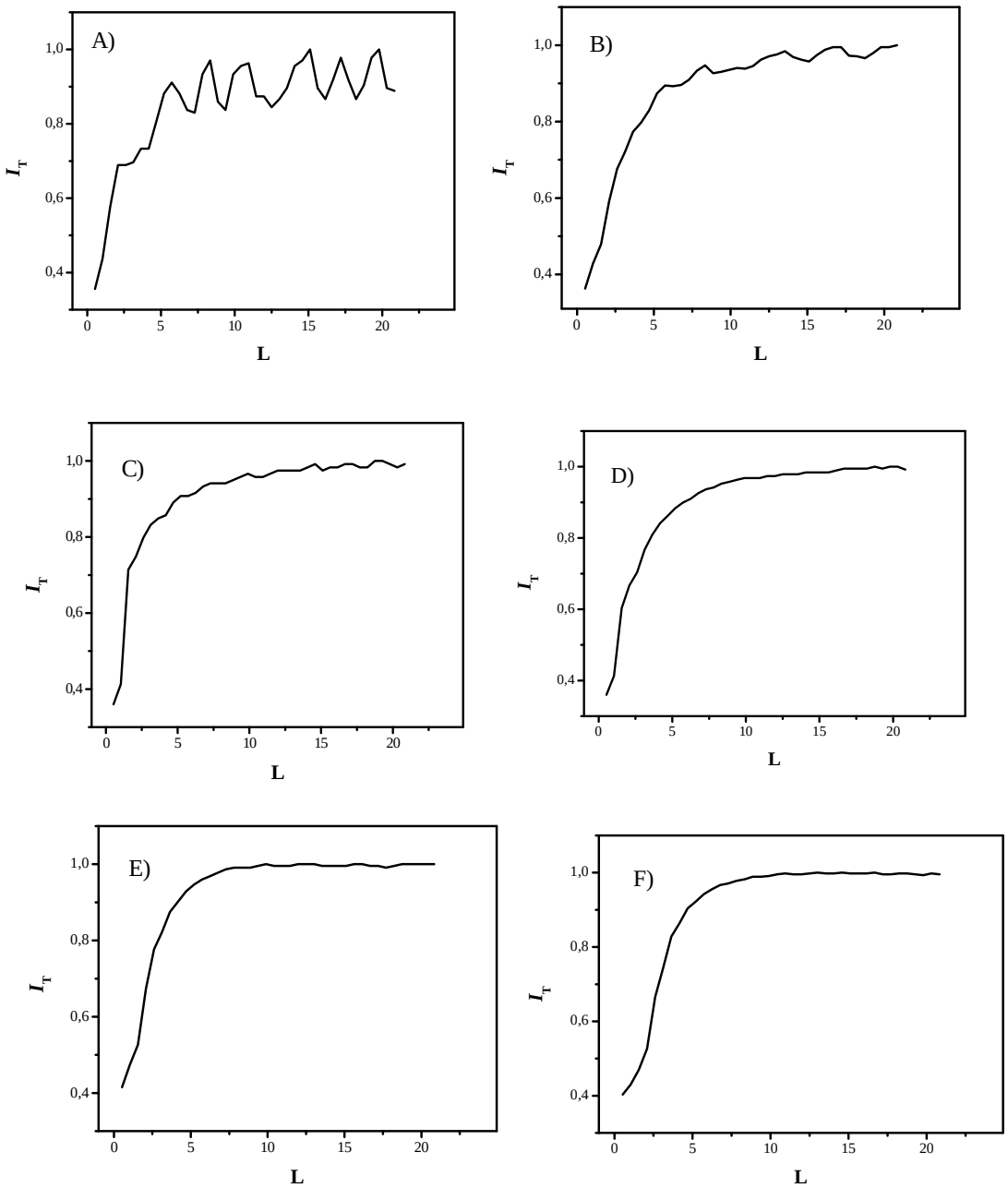


Figura 17: Curvas de aproximação obtidas para um substrato isolante em solução de ferricianeto de potássio nas seguintes concentrações: A) 1; B) 5; C) 10; D) 15; E) 25 ; F) 50 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}.

Independentemente da concentração de ferricianeto, percebe-se a clara manutenção do perfil esperado para situações em que ocorre o *negative feedback*, com diminuição da corrente ao se aproximar o microeletrodo do substrato isolante. Entretanto, para baixas concentrações o sinal apresenta muito ruído, o qual pode ser eliminado pela utilização de uma gaiola de Faraday.

4.2.2 Experimentos SECM utilizando substrato condutor

O substrato condutor utilizado foi uma banda de ouro obtida com CD de ouro. Primeiramente, os experimentos foram realizados em *feedback mode*, onde apenas o microeletrodo é polarizado. A curva de aproximação obtida para o substrato condutor não polarizado é mostrada na Figura 18.

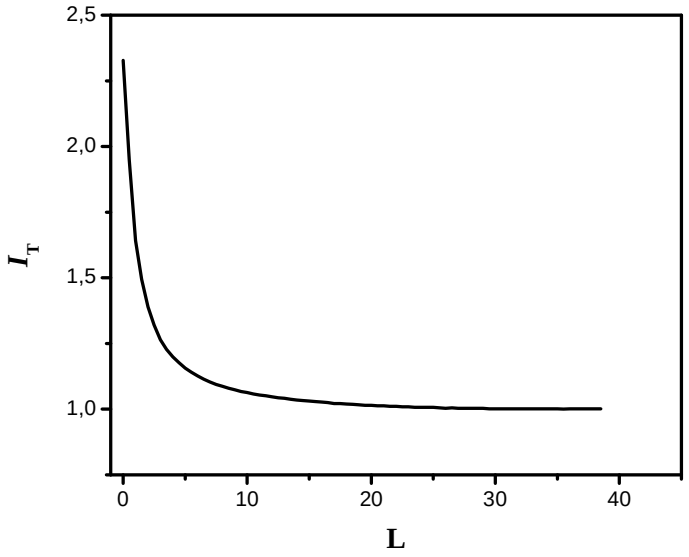


Figura 18: Curva de aproximação obtida para um substrato condutor em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1}.

Como pode ser visualizado, houve um aumento na razão entre as correntes medida a uma certa separação e a corrente no seio da solução (I_T). Este aumento de corrente está relacionado com a concentração das espécies na interface do substrato. Como ambas as

espécies ferricianeto/ferrocianeto estão presentes, o sistema comporta-se como uma pilha de concentração, obedecendo à equação de Nernst. Isto faz com que a superfície do condutor assuma um potencial maior do que o potencial do par redox ferricianeto/ferrocianeto, ocasionando o processo de regeneração do ferricianeto (Wipf e Bard, 1991). Este fenômeno é denominado *positive feedback* e ocorre apenas quando o mediador redox sofre uma reação eletroquímica reversível em um substrato condutor.

Na avaliação do efeito da concentração do mediador redox nas curvas de aproximação para o substrato condutor não polarizado, o sistema apresentou um comportamento semelhante ao encontrado para o substrato isolante, diferenciando-se apenas nos valores de corrente medida, a qual sofreu um aumento ocasionado pelo efeito de *positive feedback*.

Foram realizados experimentos similares com diferentes concentrações, mas com o substrato polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ Sat.)}$ para que o mesmo promovesse a regeneração da espécie formada no microeletrodo:

$$\text{Microeletrodo:} \quad [Fe(CN)_6]^{3-} + e^- \rightleftharpoons [Fe(CN)_6]^{4-} \qquad \text{(Eq. 6)}$$

$$\text{Substrato:} \quad [Fe(CN)_6]^{4-} \rightleftharpoons [Fe(CN)_6]^{3-} + e^- \qquad \text{(Eq. 7)}$$

Os resultados obtidos foram similares aos encontrados com o substrato em circuito aberto, mas para baixas concentrações o ruído foi reduzido e para as concentrações maiores não se observou diferença. A Figura 19 apresenta as curvas de aproximação obtidas em uma solução de ferricianeto de potássio 1 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} para um substrato condutor em circuito aberto e para o substrato polarizado.

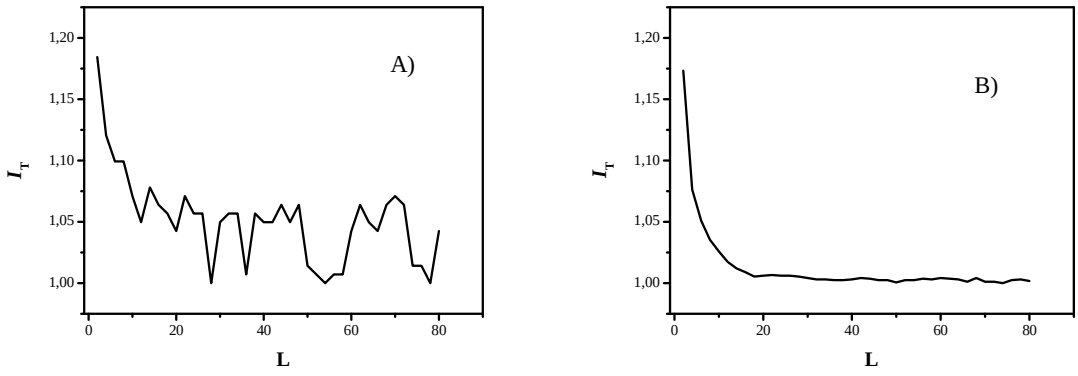


Figura 19: Curva de aproximação obtida para um substrato condutor em uma solução de ferricianeto de potássio 1 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. A) substrato não polarizado; B) substrato polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ Sat.)}$. Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1}.

Visto o bom comportamento das curvas de aproximação quando se utilizou ferricianeto de potássio como mediador redox em uma concentração de 15 mmol L^{-1}, a mesma foi escolhida para a realização dos demais experimentos preliminares.

4.2.3 Obtenção de imagens utilizando SECM

A resolução lateral do SECM, assim como em todas as técnicas de *Scanning Probe Microscopy* (AFM e STM), tem como um de seus limitantes a dimensão da ponta de prova utilizada. De maneira geral, para que regiões da superfície sejam distinguidas com boa resolução por SECM a sonda tem que ter dimensões muito pequenas. O diâmetro dos microeletrodos utilizados nesta técnica está na ordem de 10 µm, logo substratos que possuam em sua superfície conjunto de estruturas ou de regiões que apresentem atividade química/eletroquímica com dimensões inferiores a 10 µm e estejam muito próximas, serão observadas como uma unidade. Como o microeletrodo utilizado nesses experimentos possuía um raio de aproximadamente 5 µm, a corrente foi monitorada a cada 10 µm durante a aquisição de dados nas direções *x* e *y*.

Nos experimentos preliminares, foi avaliada a possibilidade de obtenção de imagens da topografia de substratos confeccionados no laboratório. Os substratos utilizados foram placas de policarbonato com uma máscara de toner depositada na superfície. A aquisição das imagens foi realizada posicionando o microeletrodo polarizado em -100 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ Sat.)}$ a uma altura de 10 µm da região onde o toner foi depositado para evitar a quebra da sonda. Esta distância foi mantida fixa no decorrer do experimento. A aquisição da imagem foi realizada movendo o microeletrodo sobre o substrato nas direções *x* e *y* e monitorando a corrente. A Figura 20 apresenta as imagens obtidas em *feedback mode* em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} e a representação esquemática do substrato utilizado.

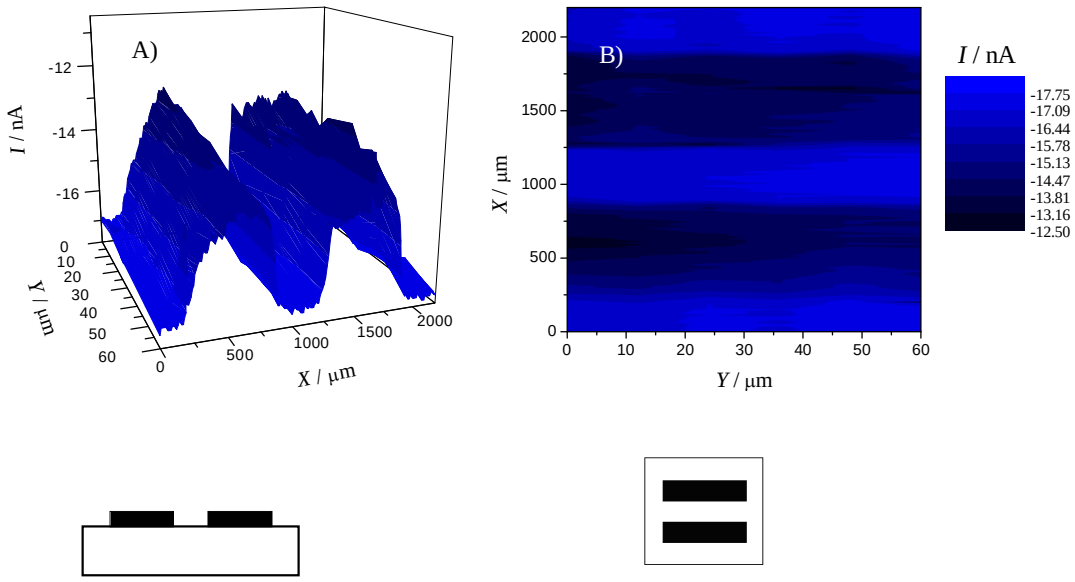


Figura 20: Imagens obtidas em *feedback mode* em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} juntamente com a representação esquemática do substrato utilizado. A) representação em 3D; B) representação em 2D. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}.

Nas figuras apresentadas a escala de cor está relacionada com a corrente medida pelo microeletrodo, em que regiões com cores mais escuras representam correntes menores e as mais claras, correntes maiores. É possível visualizar, em ambas as representações, que quando o microeletrodo se encontra sobre as máscaras de toner ocorre um decréscimo da corrente como consequência da diminuição da separação entre sonda/substrato, ou seja, existe um bloqueio da superfície do microeletrodo que dificulta a chegada de material eletroativo. Quando o microeletrodo passa por locais sem a camada de toner a corrente aumenta, pois a separação sonda/substrato aumenta e tal fato proporciona a chegada de uma maior quantidade de material eletroativo ao microeletrodo. Não foi possível estimar a espessura da camada de toner depositada, pois esse procedimento requer o uso de experimentos de calibração e de cálculos teóricos (Wei e Bard, 1995; Bard e Mirkin, 2001).

Outro substrato utilizado para avaliar a possibilidade de aquisição de imagens SECM foi uma placa de acrílico que continha um furo com diâmetro na ordem de micrometros (Figura 21 – A). A imagem SECM foi obtida em *feedback mode* em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1} (Figura 20 – B).

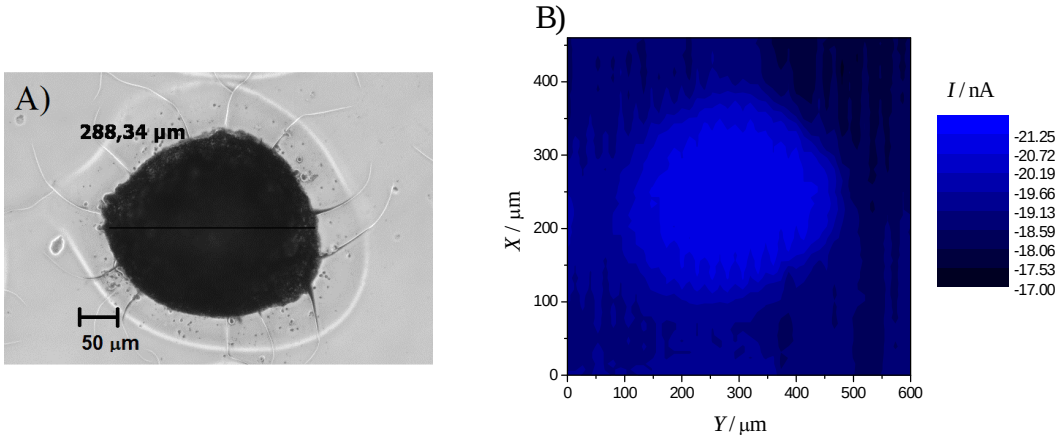


Figura 21: Imagem SECM obtida em *feedback mode* em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. A) Micrografia do substrato; B) Imagem SECM. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}.

De maneira similar, o microeletrodo foi posicionado a uma altura de 10 µm, a qual foi mantida fixa. Em seguida, foi realizada a movimentação da sonda nas direções *x* e *y* e o monitoramento da corrente. A mesma relação entre corrente medida e intensidade de cor foi mantida. Pode ser visualizado um aumento nos valores de corrente quando o microeletrodo está posicionado sobre a cavidade e que existe boa concordância com a imagem apresentada na fotografia.

Com o objetivo de verificar a possibilidade de diferenciar regiões condutoras e isolantes em um substrato, empregou-se policarbonato (isolante) recoberto com uma banda de ouro (condutor). Para a aquisição da imagem o conjunto microeletrodo/substrato foi imerso em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. A ponta de prova foi posicionada e polarizada em -100 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ Sat.)}$. A separação entre microeletrodo e substrato foi mantida constante (10 µm) no decorrer do experimento. A Figura 22 apresenta a imagem obtida.

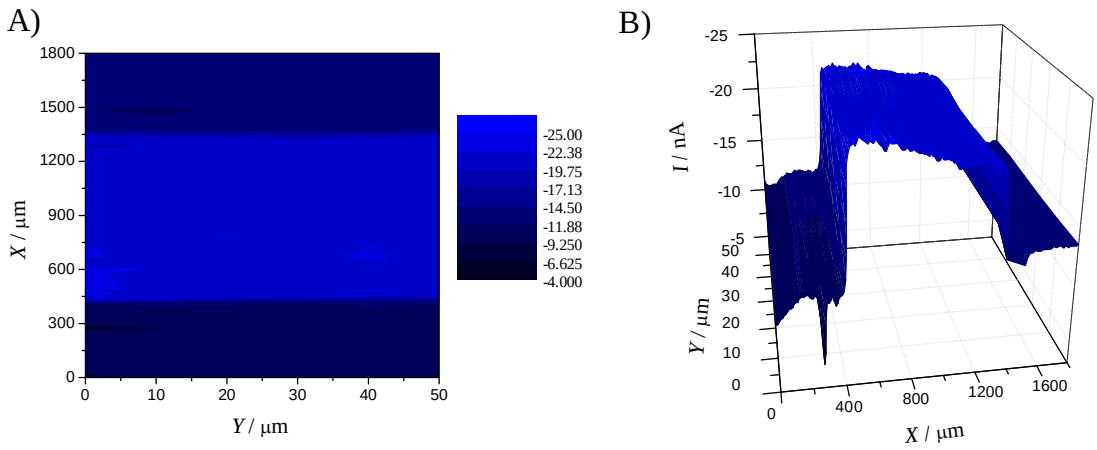


Figura 22: Imagem SECM obtida em *Feedback mode* de um substrato com regiões condutora em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. A) representação em 2D; B) representação em 3D. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}.

Como pode ser visualizado, foi possível realizar a distinção entre regiões isolantes e condutoras, pois à medida que o microeletrodo varria regiões isolantes a corrente apresentava baixos valores em consequência da diminuição de chegada de material eletroativo à superfície do microeletrodo. Regiões com colorações mais escuras na imagem representam as partes isolantes. Quando o microeletrodo varria regiões que continham ouro, a corrente sofria um aumento provocado pelo fenômeno de *positive feedback* e por uma diminuição na separação do microeletrodo/substrato, intensificando o processo de retroalimentação. As colorações mais claras na figura representam regiões do substrato recobertas com ouro. A Figura 22-B teve seu eixo *z* invertido para melhor visualização, pois a corrente aumentava negativamente.

4.2.4 Avaliação da estabilidade dos microeletrodos na obtenção de imagens SECM

As medidas foram realizadas em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Primeiramente, o microeletrodo foi aproximado do substrato isolante e em seguida posicionado na direção *z* em uma região em que não há influência em sua

resposta, ou seja, afastado do substrato. Em seguida, foi realizada uma movimentação do microeletrodo nas direções *x* e *y* por 1h e 15 min, monitorando-se a corrente correspondente à redução dos íons ferricianeto (Figura 23).

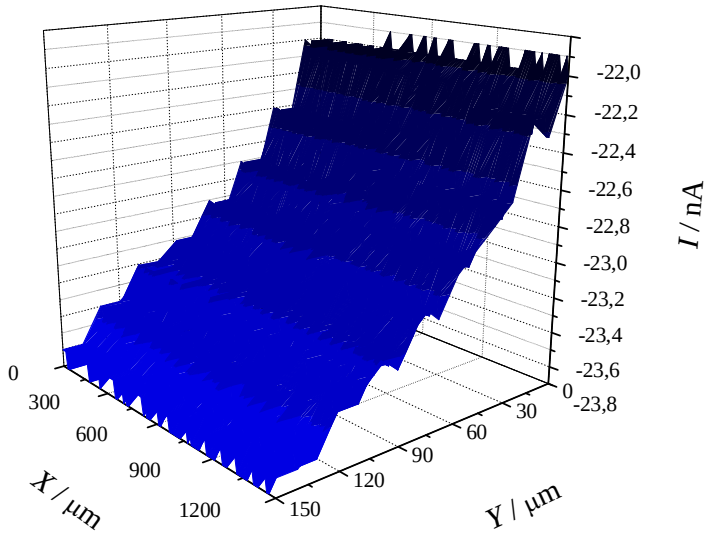


Figura 23: Imagem SECM obtida com o microeletrodo posicionado longe do substrato em uma solução de ferricianeto de potássio 15 mmol L^{-1} em KCl 0,5 mol L^{-1}. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}.

O eixo *z* da imagem, o qual está relacionado com a corrente medida ao longo do experimento, encontra-se em uma escala expandida para melhor visualização. Pode ser observado um ganho de sinal com o passar do tempo de 6,9 % para as medidas realizadas com ferricianeto de potássio como mediador redox.

Os resultados mostraram que para medidas que demandam um logo tempo de duração, se faz necessária uma avaliação prévia do sistema utilizado. De maneira geral, é bom conhecer as características do mediador e a estabilidade do microeletrodo, uma vez que para

determinados experimentos o erro encontrado, apesar de ser pequeno, pode induzir conclusões errôneas.

4.3 Experimentos com SECM em superfícies funcionalizadas

4.3.1 Substrato de cobre

A busca de estratégias para aumentar a sensibilidade em determinações de algumas espécies utilizando eletrodos de cobre vem impulsionando o desenvolvimento de alternativas para a ativação da superfície eletródica (Carpenter e Pletcher, 1995; Davis, Moorcroft et al., 2000; Paixão, Cardoso et al., 2007; Gamboa, Pena et al., 2009; Gamboa, Pena et al., 2010). Dentre as estratégias propostas, uma que desperta grande interesse é a reportada por Paixão *et al*. (Paixão, Cardoso et al., 2007), em que uma superfície de cobre é imersa em uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) e submetida a pulsos de potencial para provocar a oxidação (500 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$) e subsequente redução de íons Cu(II) gerados na etapa inicial (-250 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$). Esse procedimento confere um aumento na sensibilidade na determinação eletroanalítica de nitrato e nitrito, conforme reportado na literatura. Neste sentido, a SECM foi utilizada para obter informações sobre a reatividade da superfície de cobre e sobre a eventual formação de intermediários durante o processo de ativação e determinação de nitrato.

4.3.1.1 Avaliação da reatividade da superfície de cobre utilizando SECM

Uma etapa inicial no estudo de superfícies condutoras por SECM envolve a escolha de mediador redox apropriado. A seleção do mediador é dependente de diversos parâmetros, tais como o material constituinte do substrato, sua reatividade, entre outros. De maneira geral, o mediador é escolhido em função do tipo de informação que se pretende obter. Para a realização dos experimentos com substrato de cobre a escolha do mediador é crucial porque o

potencial de redução do cobre permite a oxidação do metal por várias substâncias químicas (Tabela I).

Tabela I – Potenciais padrão de redução em solução aquosa 25 °C *vs.* Eletrodo padrão de hidrogênio.

Reação	**Potencial / V**	**Ref.**
$Cu^{2+} + 2e^{-} \leftrightarrow \mathrm{Cu}$	0,340	(Bard e Faulker, 2001)
$Fe(CN)_6^{3-} + e^{-} \leftrightarrow Fe(CN)_6^{4-}$	0,3610	(Bard e Faulker, 2001)
$Ru(NH)_6^{3+} + e^{-} \leftrightarrow Ru(NH)_6^{2+}$	0,10	(Bard e Faulker, 2001)
$MV^{2+} + \mathrm{e}^{-} \leftrightarrow MV^{+\bullet}$	-0,45	(Sheffer e Mandler, 2008)

Uma alternativa foi a utilização do metil viologênio (MV), o qual possui um potencial de redução mais negativo que o do cobre metálico e, portanto, não provoca sua oxidação. Esta característica é utilizada para obtenção de informações sobre a reatividade do substrato sem haver contribuição química na resposta final (Sheffer e Mandler, 2008).

Os experimentos SECM para aquisição das curvas de aproximação foram realizados em *feedback mode* utilizando uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1}. Esta concentração foi escolhida para que não ocorresse interferência do oxigênio dissolvido, que no potencial utilizado também sofre redução (Salles, Battistel *et al.*, 2011). A Figura 24 apresenta os voltamogramas de uma solução de MV na presença e na ausência de oxigênio.

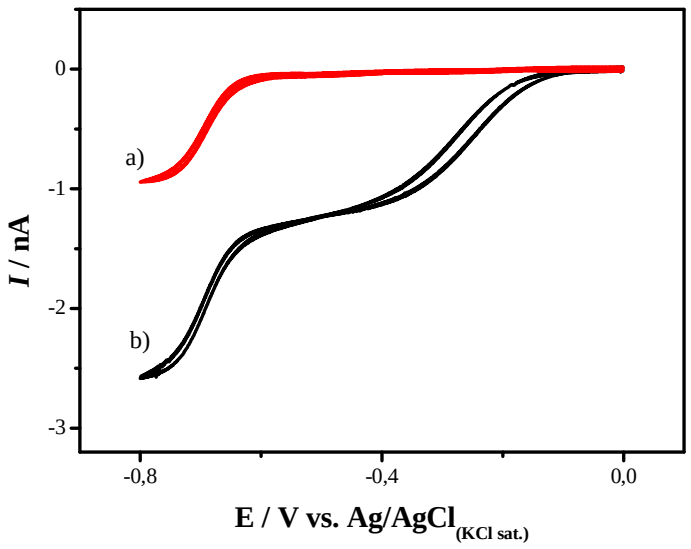


Figura 24: Voltamogramas cíclicos obtidos com um microeletrodo de platina (r = 12,5 µm) em uma solução de metil viologênio 1µmol L^{-1} (a) na ausência e (b) na presença de oxigênio. v = 50 mV s^{-1}.

Como pode ser visualizado, o voltamograma obtido para a redução de MV em baixas concentrações na ausência de O_2 apresenta apenas um processo, relativo à redução do MV. Entretanto, quando foi registrado o voltamograma na presença de O_2 ocorreu o aparecimento de dois processos, os quais estão relacionados com a redução do oxigênio dissolvido em solução e do MV.

A Figura 25 apresenta o voltamograma cíclico de uma solução de MV 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 utilizando um microeletrodo de platina (r = 6 µm).

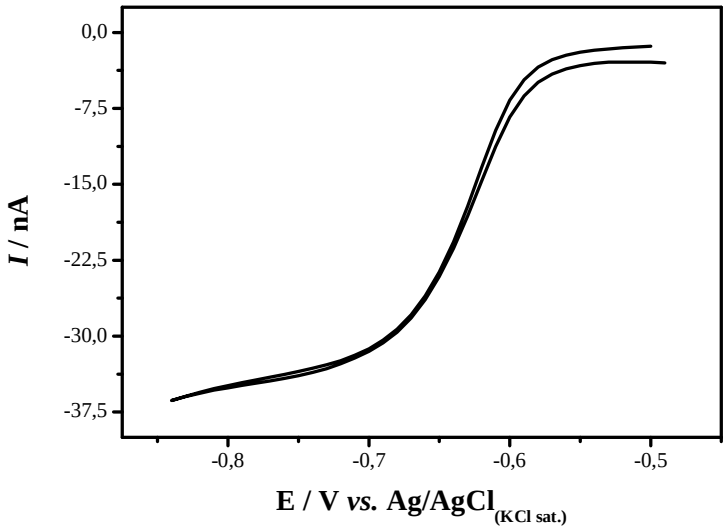


Figura 25: Voltamograma cíclico obtido com um microeletrodo de platina (r = 6 μm) em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 (pH=2). *v* = 20 mV s^{-1}.

Nota-se que o voltamograma obtido apresenta apenas um processo e o patamar de corrente característico do estado estacionário, com potencial de meia onda igual a $E_{1/2}$ = -630 mV *vs.* Ag/ $AgCl_{(KCl\ sat.)}$. O sinal obtido no voltamograma está relacionado com a redução do MV ao íon radical $MV^{+\bullet}$ conforme descrito na literatura (Sheffer e Mandler, 2008). Em função desses resultados o potencial de -800 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ foi selecionado para a realização dos experimentos SECM com MV.

As curvas de aproximação foram obtidas com o objetivo de avaliar a influência do processo de ativação da superfície de cobre sobre a reatividade. As curvas foram obtidas em diferentes tempos (t) em que o substrato era submetido ao potencial para oxidar (t_{oxi}) e subsequentemente reduzir (t_{red}) os íons gerados na etapa inicial ($t = t_{oxi} + t_{red}$; sendo: $t_{oxi} = t_{red}$) (Figura 26).

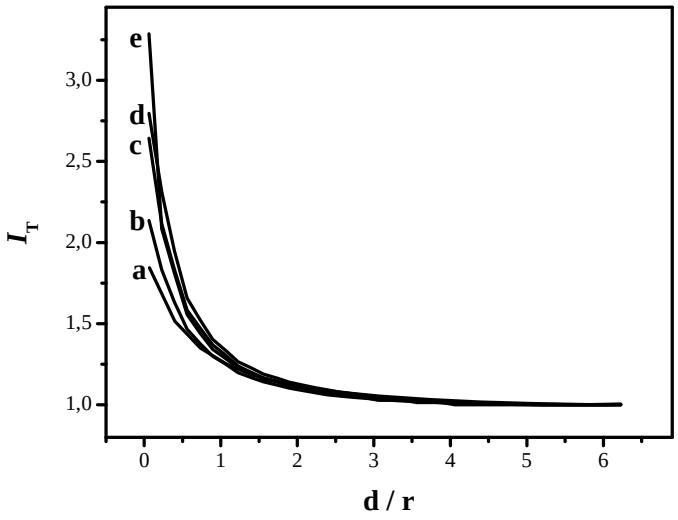


Figura 26: Curvas de aproximação obtidas para um substrato de cobre em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 (pH=2) para diferentes tempos de programas de ativação: a) superfície polida; b) t = 20 s; c) t = 60 s; d) t = 120 s; d) t = 240 s. Velocidade de aproximação 2,5 μm s^{-1}.

Os resultados mostram que à medida que a separação microeletrodo/substrato é reduzida, ocorre aumento de corrente conforme previsto para um sistema com *positive feedback*, ou seja, o íon radical ($MV^{+\bullet}$) gerado no microeletrodo é oxidado pelo substrato e regenera a espécie inicial. Além disso, quanto maior o tempo de ativação (t), maior é o aumento na relação de corrente (I_T). Este fenômeno está relacionado com o aumento da reatividade da superfície com um possível aumento da área ativa, ocasionada pelo processo de ativação. Esses resultados foram correlacionados com a reatividade do substrato frente à reação de redução de nitrito, obtendo-se boa concordância (Gamboa, Pena *et al.*, 2010).

4.3.1.2 Estudo da formação de espécies transientes no processo de ativação de substratos de cobre

Neste caso, a SECM foi utilizada no modo *collection/generation*, ou seja, o microeletrodo foi utilizado como coletor e o substrato como gerador. O objetivo dessa parte do trabalho foi acompanhar a eventual formação de intermediários durante os pulsos de potenciais aplicados para realizar a ativação do substrato de cobre, em especial a formação de Cu(I) na presença de íons cloreto. A representação esquemática dos processos envolvidos no experimento é mostrada na Figura 27.

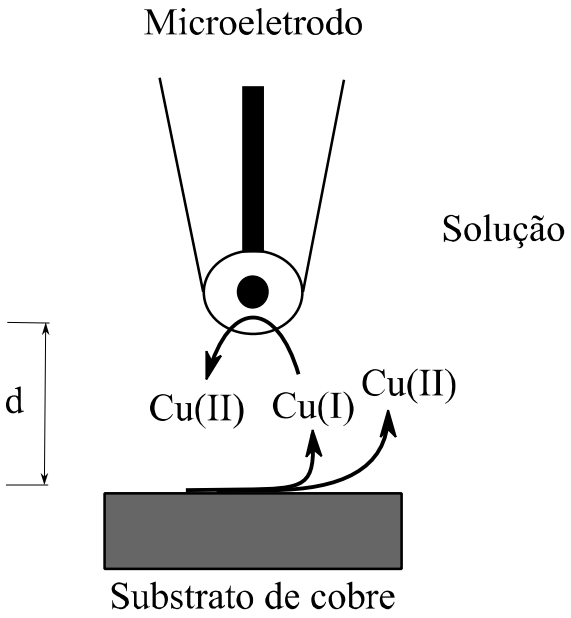


Figura 27: Representação esquemática dos processos envolvidos nos experimentos SECM no modo *collection/generation* na oxidação do substrato de cobre na presença de íons cloreto. Separação entre microeletrodo e substrato d = 30 μm. Microeletrodo polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$.

Os experimentos foram realizados posicionando o microeletrodo próximo ao substrato a uma distância de aproximadamente 30 µm e, para tanto, utilizou-se MV como mediador redox. Posteriormente, a célula eletroquímica foi limpa, adicionou-se uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) e aplicou-se um potencial de 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ ao microeletrodo durante a aplicação dos pulsos de potencial no substrato. Com o intuito de evitar a contaminação da solução com íons cloreto provenientes do eletrodo de referência, o mesmo foi isolado pela adaptação a um compartimento que continha Na_2SO_4 e o contato elétrolítico foi mantido por meio de uma membrana porosa. A Figura 28-A apresenta o programa de potencial aplicado ao substrato e a Figura 28-B apresenta a corrente em função do tempo monitorada pelo microeletrodo.

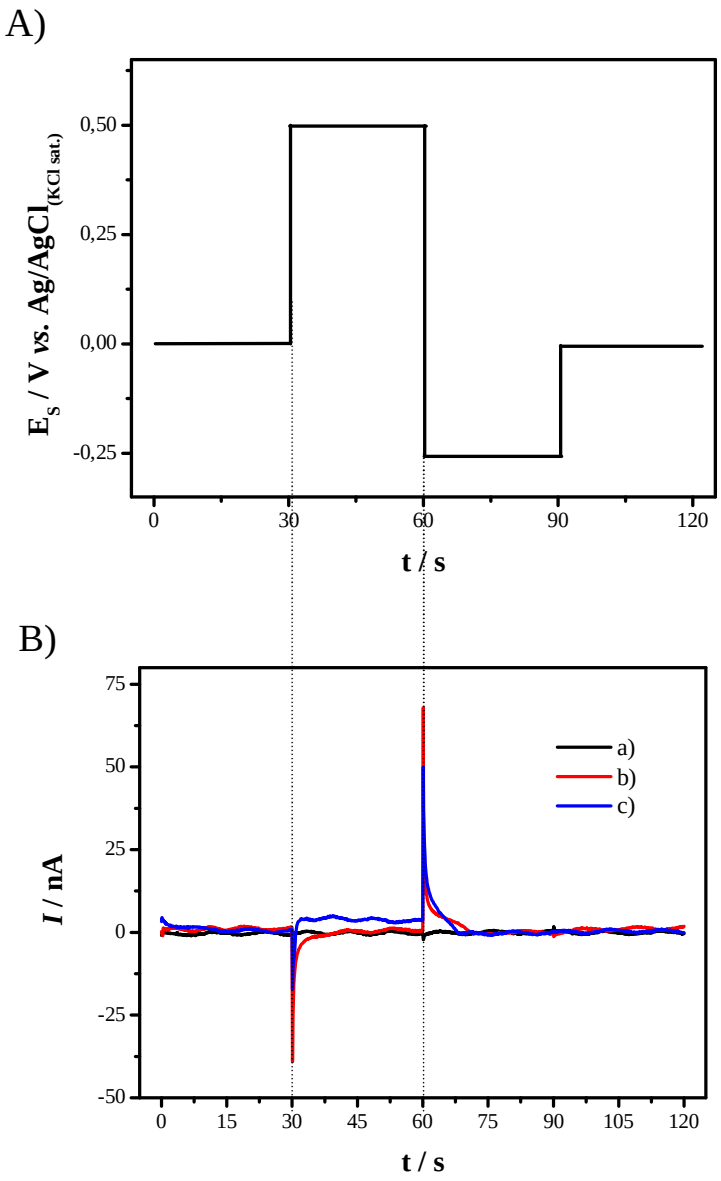


Figura 28: Formação de Cu(I) durante o procedimento de ativação. A) programa de potencial aplicado a substratos de platina (a) e cobre (b e c); B) Resposta do microeletrodo de platina em uma solução de Na_2SO_4 0,1mol L^{-1} (pH = 2) na ausência (a e b) e na presença (c) de cloreto 5 mmol L^{-1}. Microeletrodo (r = 12,5 µm) polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$.

Nota-se pela análise do gráfico que durante o primeiro pulso de potencial (500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$) não flui corrente no microeletrodo na ausência de cloreto (linha vermelha), ou seja, a oxidação de cobre em meio de sulfato ocorre diretamente de Cu^0 para Cu(II).

Todavia, um comportamento diferente foi observado quando o experimento foi repetido na presença de íons cloreto (linha azul). Ao se aplicar o potencial para a oxidação anódica do substrato de cobre foi detectado o aparecimento de corrente anódica no microeletrodo. Este aumento está relacionado com a oxidação de alguma espécie gerada nessa etapa. Na ausência de qualquer outra espécie em solução que possa ser oxidada em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$, pode-se atribuir o sinal registrado no microeletrodo à oxidação de Cu(I), estabilizado pela presença de cloreto, a Cu(II).

Um experimento controle foi realizado utilizando um substrato de platina nas mesmas condições daquele realizado com substrato de cobre (linha preta). O objetivo foi confirmar que os processos monitorados não eram decorrentes de interferências eletrônicas provocadas pela proximidade entre o microeletrodo e o substrato. Os resultados revelaram a ausência de sinal no microeletrodo durante a aplicação de potencial ao substrato de platina, confirmando assim que o aparecimento de corrente anódica no microeletrodo ao se trabalhar com a superfície de cobre foi decorrente da formação de intermediário estável de Cu(I) e posterior oxidação eletroquímica.

Logo após a segunda etapa do processo de ativação, em que se aplica o segundo pulso de potencial (-250 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$), a corrente medida no microeletrodo retorna a zero tanto na ausência quanto na presença de íons cloreto 5 mmol L^{-1} (linhas azul e vermelha, respectivamente).

O efeito da concentração de íons cloreto no processo de estabilização do Cu(I) também foi avaliado. Os experimentos foram realizados de maneira similar ao anterior, mas em soluções de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) com diferentes concentrações de cloreto. A Figura 29 apresenta a corrente medida no microeletrodo durante o processo de ativação em função do tempo para diferentes concentrações de cloreto.

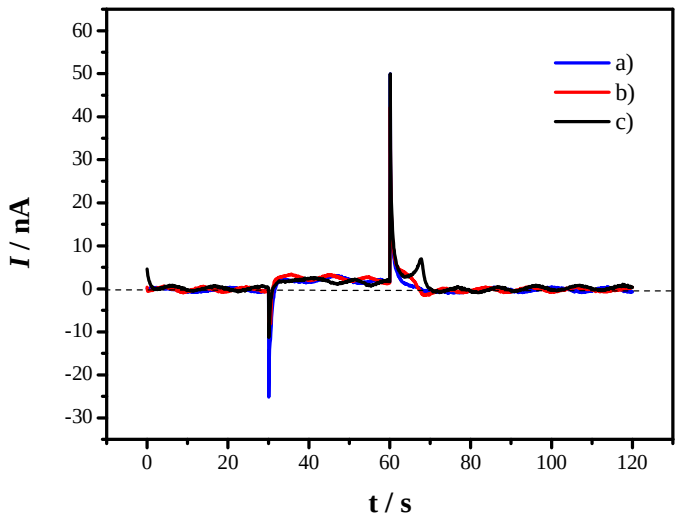


Figura 29: Resposta do microeletrodo em uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} na presença de (a) 0,5; (b) 5 e (c) 50 mmol L^{-1} de íons cloreto. Microeletrodo (r = 10,0 µm) polarizado em 500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$.

Como pode ser observado, para o primeiro pulso de potencial aplicado ao substrato de cobre (oxidação), o aumento da concentração de cloreto não provocou nenhuma variação perceptível no sinal monitorado no microeletrodo (oxidação de Cu(I)). Entretanto, durante o segundo pulso de potencial (redução) ocorre um aumento na corrente no microeletrodo ao se trabalhar em solução contendo elevada concentração de cloreto. Esse sinal aparece discretamente em 5 mmol L^{-1} (curva b), mas se torna evidente para a concentração de íons cloreto igual a 50 mmol L^{-1} (curva c).

Conforme reportado na literatura, a redução dos íons Cu(II) formados na presença de íons cloreto passa pela formação de Cu(I) e esta espécie é adsorvida na superfície na forma de $CuCl_{(s)}$ (Soares, Wasle *et al.*, 2002; Gabrielli, Mocoteguy *et al.*, 2006; O'mullane, Neufeld *et al.*, 2008). Em excesso de íons cloreto, o $CuCl_{(s.)}$ é solubilizado gerando $CuCl_2^-{}_{(aq)}$ e a

formação desta espécie solúvel pode justificar o sinal anódico monitorado pelo microeletrodo durante o segundo pulso de potencial.

4.3.1.3 Efeito da presença de íons cloreto no processo de ativação na determinação de íons nitrato

O objetivo dessa seção do trabalho foi relacionar o efeito da presença de íons cloreto, e consequentemente, a presença do intermediário de Cu(I), no processo de ativação de eletrodos de cobre e posterior uso para a determinação de nitrato. O efeito da presença de íons cloreto no processo de ativação foi avaliado por voltametria de pulso diferencial utilizando um eletrodo de tamanho convencional de cobre (r = 3 mm). Os experimentos foram realizados em diferentes condições experimentais: numa etapa inicial, o eletrodo foi submetido ao processo de ativação na presença e na ausência de íons cloreto e em seguida foram obtidos dados em uma solução contendo apenas Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} e nitrato 50 mmol L^{-1} (pH = 2) (Figura 30).

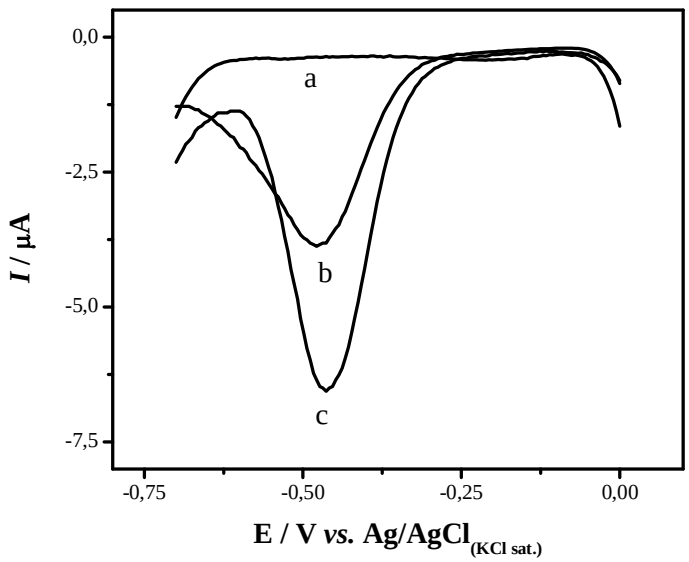


Figura 30: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de cobre em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na ausência (a) e na presença de íons nitrato 50 mmol L^{-1} (b e c). Eletrodo de cobre ativado no eletrólito suporte na ausência (b) e na presença (c) de cloreto 50 mmol L^{-1}. v = 10 mV s^{-1}.

Os voltamogramas obtidos mostram que a presença de íons cloreto durante o processo de ativação do eletrodo de cobre causa influência significativa na resposta do sensor a íons nitrato. Este comportamento pode estar relacionado com a mudança na morfologia da superfície do eletrodo durante a ativação na presença do haleto. Tantavichet e co-autores estudaram as mudanças morfológicas provocadas pela adição de cloreto no processo de eletrodeposição de cobre utilizando a técnica de AFM, e relataram um aumento na porosidade da superfície (Tantavichet, Damronglerd *et al.*, 2009). Esse aumento na porosidade da superfície pode conduzir a um aumento na quantidade de sítios ativos disponíveis para promover a redução catódica do nitrato.

Com intuito de averiguar a reatividade da superfície após a ativação em solução contendo íons cloreto, foram obtidas curvas de aproximação utilizando um microeletrodo de

platina (r = 12,5 μm) e MV como mediador redox (Figura 31). Entretanto, os resultados obtidos por SECM não indicam uma clara distinção entre as curvas de aproximação obtidas com superfícies de cobre ativadas na ausência e na presença de cloreto, diferentemente do que foi observado ao se trabalhar em soluções sem cloreto, mas com diferentes tempos de ativação (Figura 26) (Gamboa, Pena *et al.*, 2010). Como pode ser observado na Figura 30, a relação de corrente (I_T) é maior para a superfície ativada na ausência de íons cloreto do que na presença de cloreto. Essa conclusão é contrária à obtida analisando-se os voltamogramas obtidos em solução de nitrato (Figura 30), em que o sinal de corrente catódico foi maior quando o eletrodo de cobre foi ativado em solução contendo cloreto. Assim, o processo de transferência eletrônica do MV em eletrodos de cobre fica prejudicado se a ativação é conduzida na presença de cloreto, situação na qual deve ser formado um filme de $CuCl_{(s)}$ adsorvido na superfície do eletrodo de cobre (Soares, Wasle *et al.*, 2002; Gabrielli, Mocoteguy *et al.*, 2006).

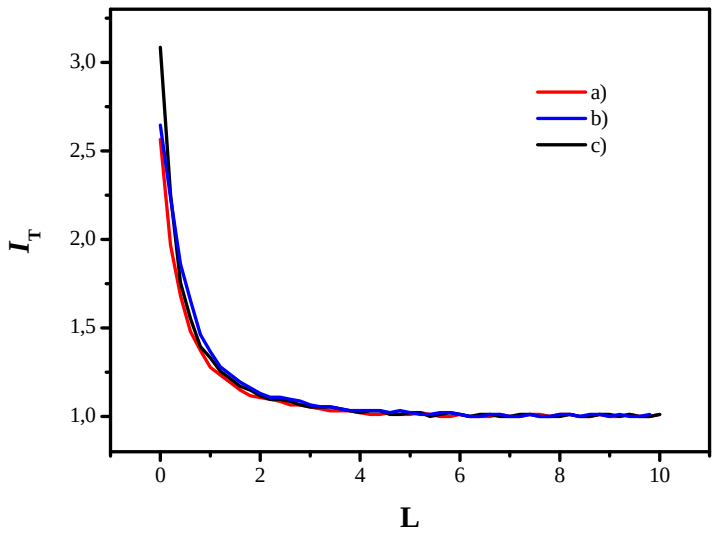


Figura 31: Curvas de aproximação obtidas para um substrato de cobre em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} para diferentes condições de ativação: (a) superfície polida; ativado por t = 60 na presença (b) e na ausência de íons cloreto 50 mmol L^{-1} (c). Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1}.

A influência de cloreto também foi avaliada durante o processo de redução catódica de nitrato em superfícies de cobre ativadas na ausência e na presença de cloreto. A Figura 32 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos em solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} contendo íons cloreto 50 mmol L^{-1} e nitrato 50 mmol L^{-1}. Nota-se um expressivo pico de corrente para o experimento realizado com o eletrodo ativado na ausência de cloreto (curva b). Todavia, ao se registrar o voltamograma com o eletrodo ativado em meio que contém cloreto o sinal relativo à redução de nitrato praticamente desaparece (curva c). Assim como nos experimentos realizados com MV (Figura 31), parece que a formação e dissolução do filme de $CuCl_{(s)}$, por consequência da alta concentração de cloreto, dificulta o processo de transferência eletrônica envolvendo o nitrato.

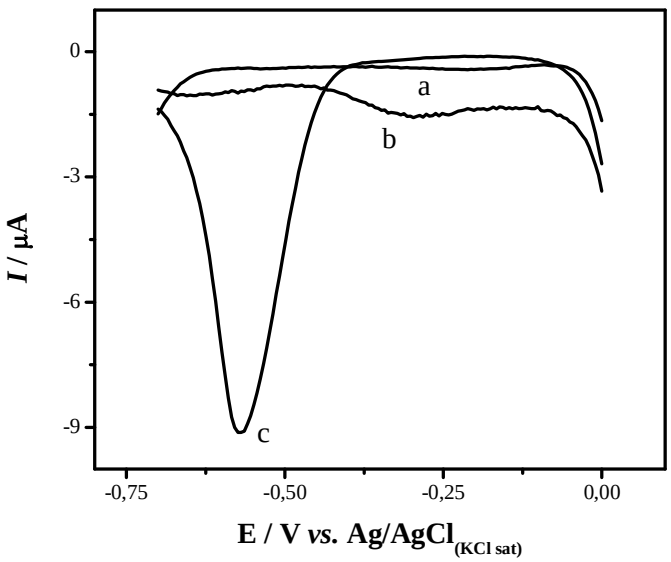


Figura 32: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de cobre em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na ausência (a) e na presença de nitrato 50 mmol L^{-1} + Cl^- 50 mmol L^{-1} (b e c). Eletrodo ativado no eletrólito suporte na ausência (b) e na presença (c) de cloreto 50 mmol L^{-1}. v = 10 mV s^{-1}.

Foi avaliado o efeito da concentração de íons cloreto na determinação de nitrato com eletrodo de cobre ativado em solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} na ausência de cloreto. A Figura 33 apresenta os voltamogramas de pulso diferencial obtidos para uma concentração de nitrato fixa de 2,8 mmol L^{-1} em diferentes concentrações de íons cloreto. Pela análise da Figura 33, nota-se um aumento na corrente de redução do nitrato e deslocamento do potencial de pico com o aumento da concentração de íons cloreto

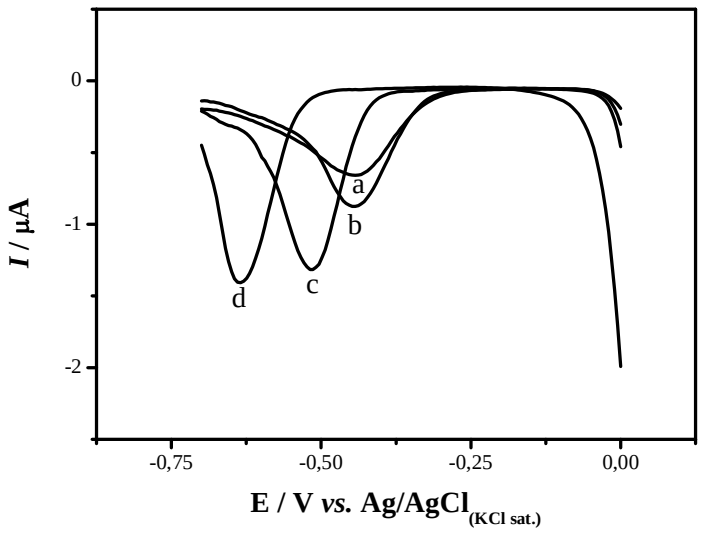


Figura 33: Voltamogramas de pulso diferencial obtidos com eletrodo de cobre em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na presença de nitrato 2,8 mmol L^{-1} e diferentes concentrações de íons cloreto: a) na ausência; (b) 0,5 mmol L^{-1}; (c) 5 mmol L^{-1} e (d) 50 mmol L^{-1}. Eletrodo ativado em uma solução de Na_2SO_4 (pH = 2) na ausência de cloreto. v = 10 mV s^{-1}.

4.3.1.4 Monitoramento de espécies transientes durante a determinação de íons nitrato utilizando substrato de cobre

Nesta etapa do trabalho foi realizado o monitoramento de espécies transientes durante a redução catódica de nitrato em substrato de cobre em meio de sulfato (pH =2) na ausência e presença de cloreto. Os experimentos foram realizados utilizando uma configuração similar à do monitoramento de Cu(I) relatado na seção anterior, diferenciando-se no programa de potencial aplicado ao substrato, no microeletro utilizado e no potencial de polarização. No substrato foi realizada uma varredura de potencial de 0 a -700 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$, janela utilizada nas determinações de nitrato. O microeletrodo utilizado foi de ouro (r =12,5), o qual foi mantido polarizado em um potencial de -1,2 V *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ no decorrer do experimento. O potencial aplicado ao microeletrodo e o seu material constituinte foram

selecionados com o intuito de coletar espécies geradas durante a determinação de nitrato, como por exemplo, íons cobre (De Souza, Lima *et al.*).

Primeiramente, um microeletro de ouro foi posicionado a uma distância de 20 µm do substrato utilizando MV como mediador redox. A Figura 34 apresenta a curva de aproximação obtida. A curva obtida foi característica de um substrato condutor (*positive feedback*) e está de acordo com as reportadas na literatura (Bard e Mirkin, 2001).

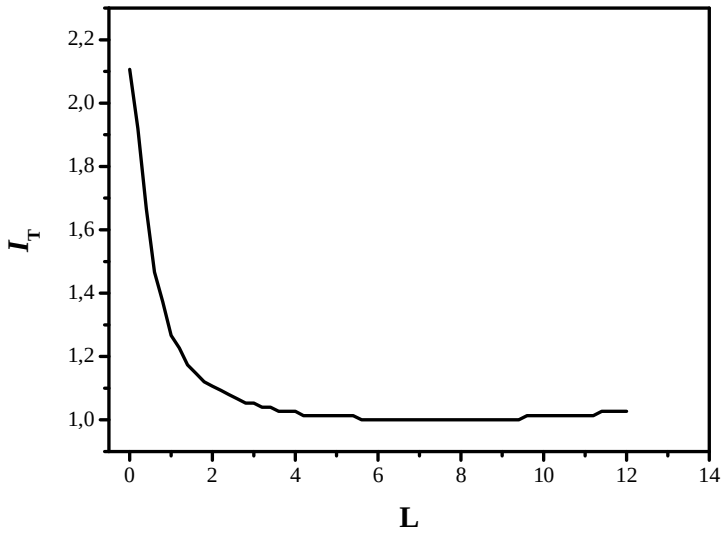


Figura 34: Curva de aproximação obtida para um substrato de cobre em uma solução de metil viologênio 20 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} utilizando um microeletrodo de ouro (r = 12,5). Velocidade de aproximação 2,5 µm s^{-1}.

Após o posicionamento do microeletrodo, a célula eletroquímica foi lavada com água destilada e posteriormente adicionou-se uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) e realizou-se a ativação do substrato, conforme o procedimento descrito na seção anterior. Em seguida, a célula eletroquímica foi lavada novamente com água destilada e foi adicionada uma nova solução de sulfato isenta de Cu(II) oriundos do processo de ativação. Em uma segunda etapa foi realizada uma varredura de potenciais no substrato, mantendo o microeletrodo

polarizado em -1,2 V *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ no decorrer do experimento. Esse procedimento foi realizado na ausência e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1}. A Figura 35 apresenta o voltamograma obtido no substrato, simultaneamente com o sinal de corrente monitorado no microeletrodo, para os experimentos realizados na ausência (Figura 35-A) e na presença de cloreto (Figura 35-B).

Na ausência de cloreto (Figura 35-A), nota-se um pequeno aumento da corrente catódica no microeletrodo no inicio da varredura de potenciais do substrato (-50 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$), a qual por volta de -100 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ começa a cair até a varredura chegar próximo de -250 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$, onde inicia-se uma tendência à manutenção de um valor constante. Com a aplicação de potenciais mais negativos ao substrato, a corrente continua a diminuir. Resultados similares são obtidos em meio contendo cloreto (Figura 35-B), mas nesse caso evidencia-se uma melhor distinção das regiões onde ocorre o aumento e a diminuição da corrente medida no microeletrodo. O aumento de corrente catódica no microeletrodo está relacionado com a difusão de alguma espécie gerada durante a polarização do substrato. No caso da queda da corrente, ocorre o fenômeno contrário, ou seja, consumo das espécies transportadas para o microeletrodo.

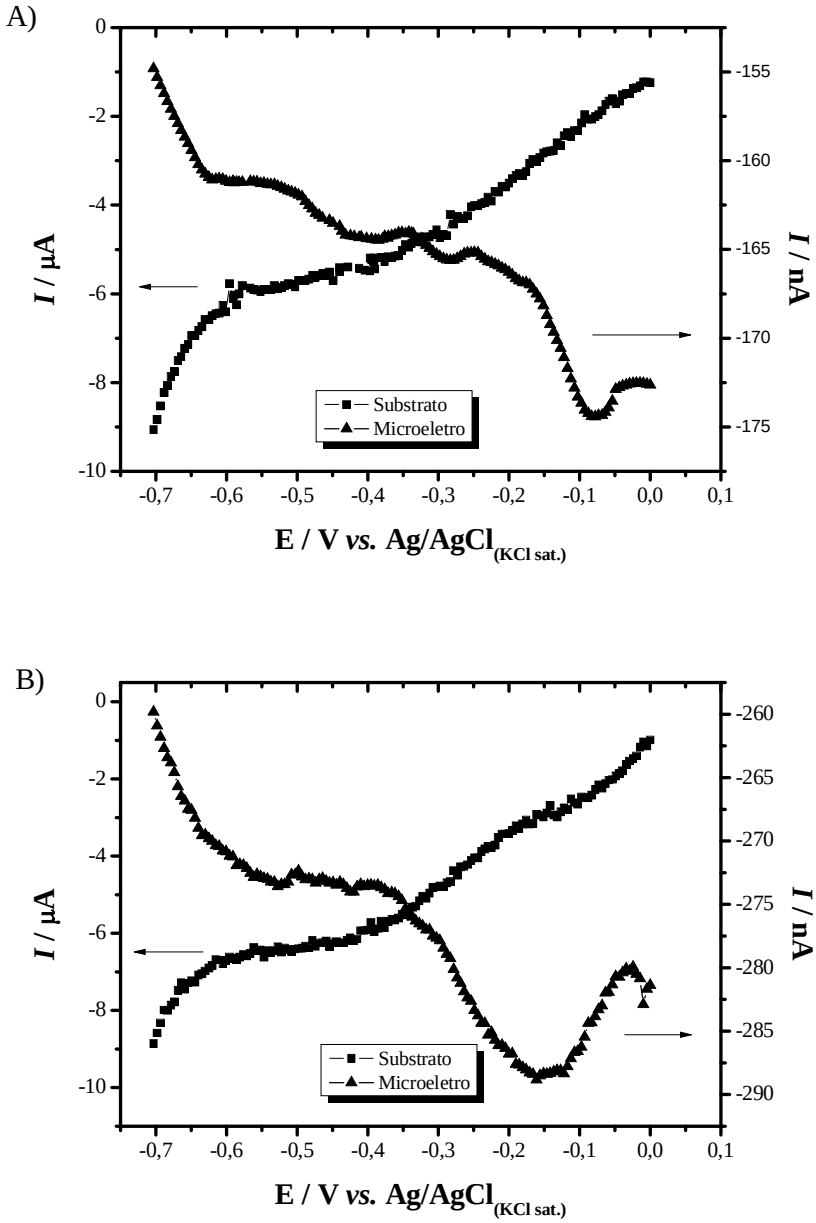


Figura 35: Voltamogramas obtidos utilizando substrato de cobre em uma solução de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) para experimentos realizados na ausência (A) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (B). Microeletrodo polarizado em -1,2 V durante o registro dos voltamogramas no substrato. Separação microeletrodo – substrato = 20 µm. v = 1 mVs^{-1}.

Devido à suspeita de que as espécies responsáveis pela variação da corrente no microeletrodo fossem originadas da dissolução do cobre durante a polarização do substrato

(eletrodo de cobre), foi realizado após cada varredura um experimento de "*stripping*" com o microeletrodo de ouro. A Figura 36 apresenta os voltamogramas obtidos.

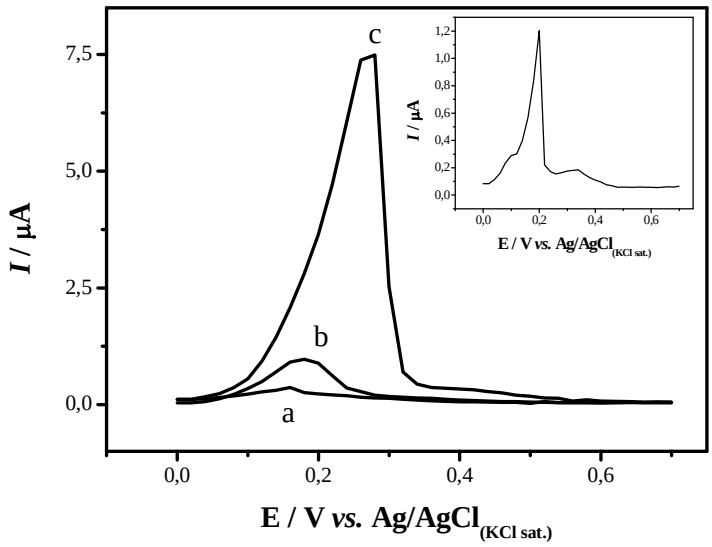


Figura 36: Voltamogramas obtidos após os experimentos SECM no modo "*generator/collection*" em que se polarizou o substrato de cobre em soluções de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (b) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (c). O voltamograma (a) foi registrado sem polarização do substrato. E_{dep} *= -1,2 V, frequência = 70 Hz,* E_{step} *= 20 mV e* $E_{amplitude}$ *= 65 mV. Inset:* Voltamograma obtido com microeletrodo de ouro (r =12,5) em uma solução contendo íons cobre 50 µmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} e KCl 5 mmol L^{-1}. E_{dep} *= -1,2 V,* $t_{dep.}$ *= 120 s, frequência = 70 Hz,* E_{step} *= 20 mV e* $E_{amplitude}$ *= 65 mV.*

O *inset* da Figura 36 apresenta um voltamograma obtido com um microeletrodo de ouro após a aplicação de -1,2 V *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ durante 120 s em uma solução contendo íons cobre 50 µmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} e KCl 5 mmol L^{-1}. O pico de corrente obtido na região de 0,2 V corresponde à oxidação anódica do cobre previamente depositado. Nesse mesmo potencial observa-se o pico obtido nos voltamogramas registrados após a polarização

do substrato (curvas b e c). Assim, os voltamogramas demonstram que durante a polarização do substrato houve formação de cátions de cobre, posteriormente removidos do microeletrodo nos experimentos de "*stripping*". O mesmo não ocorreu no experimento controle (curva a), em que não se polarizou o substrato. Pode-se também concluir pela análise da Figura 36 que, na presença de cloreto, a dissolução do substrato de cobre é facilitada.

Esses resultados possibilitam atribuir o aumento da corrente monitorada pelo microeletrodo durante a varredura de potencial nos experimentos SECM à eletrodeposição de cobre na superfície do microeletrodo (Figura 35). Na região próxima a -0,1 e -0,2 V ocorre diminuição da corrente catódica, fato atribuído a uma competição entre o microeletrodo e o substrato (que adquire potenciais cada vez mais negativos) pela deposição dos íons cobre presentes na interfase substrato-microeletrodo. A segunda diminuição da corrente deve estar relacionada com o consumo de íons H^+ presentes na solução pelo substrato.

O mesmo procedimento foi realizado em experimentos com uma solução contendo nitrato 50 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2). A Figura 37 apresenta o voltamograma obtido do substrato, juntamente com o sinal de corrente monitorada no microeletrodo, para o procedimento realizado na ausência (Figura 37-A) e na presença de cloreto (Figura 37-B).

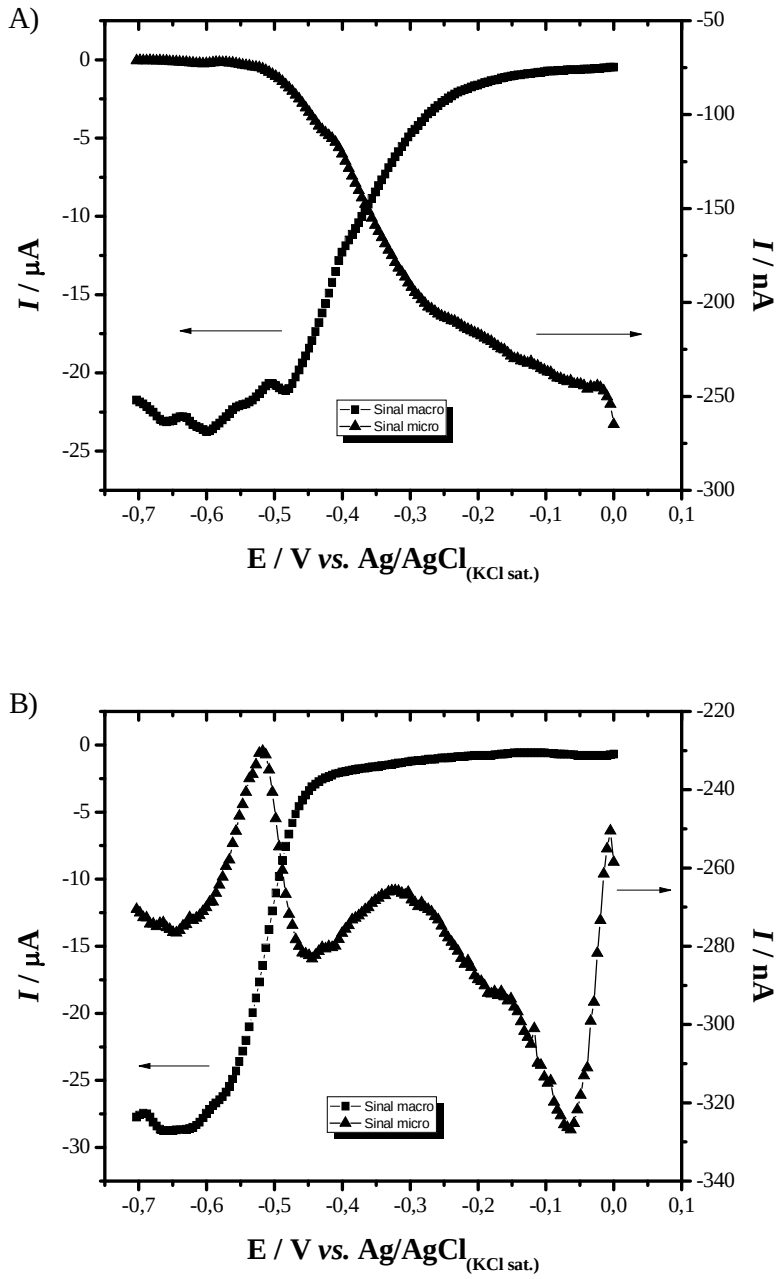


Figura 37: Voltamogramas obtidos utilizando substrato de cobre em uma solução contendo nitrato 50 mmol L^{-1} em Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} (pH = 2) juntamente com o sinal de corrente monitorada no microeletrodo para o procedimento realizado na ausência (A) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (B). Microeletrodo polarizado em -1,2 V durante o registro dos voltamogramas no substrato. Separação microeletrodo – substrato = 20 µm. v = 1 mVs^{-1}.

Analisando as curvas apresentadas na Figura 37-A observa-se claramente a redução do nitrato no substrato de cobre a partir de -0,2 V. Neste mesmo potencial ocorre diminuição da corrente no microeletrodo, como resultado do consumo de prótons durante a redução do nitrato. Comparando com a Figura 36-A, nota-se uma mudança no perfil da corrente registrada no microeletrodo. Dados similares foram obtidos por Carpenter e Pletcher em experimentos utilizando eletrodo de disco rotativo, que demonstraram a influência da concentração de íons H^+ na redução catódica de nitrato em superfícies modificadas com cobre (Carpenter e Pletcher, 1995).

$$NO_3 + 9H^+ + 8e^- \rightarrow NH_4^+ + H_2O \qquad \text{Eq. (8)}$$

Na presença de nitrato e cloreto em solução (Figura 37-B), observam-se mudanças na curva registrada com o microeletrodo em relação àquela obtida na ausência de cloreto (Figura 37-A) e explicações possíveis envolvem a estabilização de Cu(I). Após o término dos experimentos SECM, também foi realizada a análise de produtos coletados no microeletrodo por meio de redissolução anódica ("*stripping*").

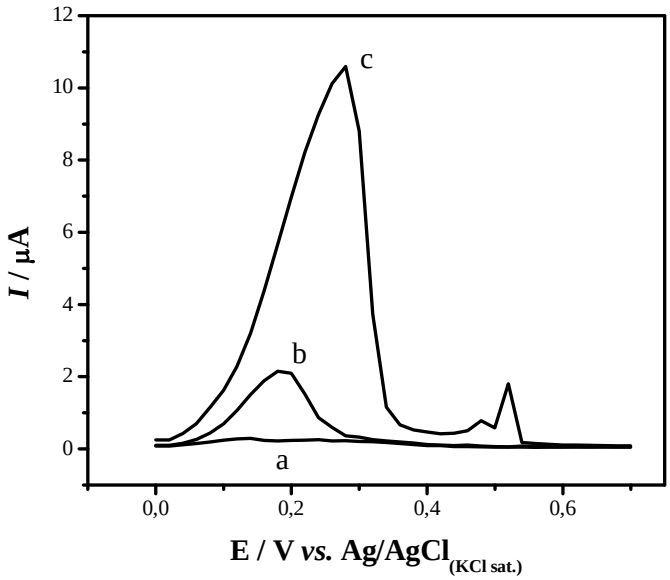


Figura 38: Voltamogramas obtidos após os experimentos SECM no modo "*generator/collection*" em que se polarizou o substrato de cobre em soluções de Na_2SO_4 0,1 mol L^{-1} + nitrato 50 mmol L^{-1} na ausência (b) e na presença de cloreto 5 mmol L^{-1} (c). O voltamograma (a) foi registrado sem polarização do substrato. E_{dep} *= -1,2 V, frequência = 70 Hz,* E_{step} *= 20 mV e* $E_{amplitude}$ *= 65 mV.*

Assim como nos voltamogramas apresentados na Figura 36, os da Figura 38 sugerem que cobre é depositado na superfície do microeletrodo de ouro em razão da difusão de espécies solúveis oriundas do substrato. Na presença de cloreto, este processo é largamente acentuado. Sendo assim, pode-se concluir que na redução catódica de nitrato utilizando eletrodo de cobre, ativado por pulsos de potencial em meio de sulfato (pH =2), ocorre uma dissolução de cobre na janela de potencial utilizada, a qual é mais acentuada na presença de cloreto. Esse processo pode explicar o aumento da corrente referente à redução catódica do nitrato em meio de cloreto (Figura 33), pois além da ativação preliminar do eletrodo, a dissolução e redeposição do cobre no decorrer do experimento voltamétrico podem promover uma ativação adicional da superfície eletródica. Nestas condições, ocorre um aumento do

número de sítios ativos e a redução do nitrato fica ainda mais facilitada. O deslocamento do potencial na redução catódica de nitrato com o aumento da concentração de cloreto (Figura 33) pode estar relacionado com uma competição entre a deposição de íons cobre presentes na interface substrato/solução e a redução do nitrato, ou seja, primeiramente o cobre é redepositado e posteriormente ocorre a redução catódica do ânion oxigenado.

4.3.2 Sistema biomimético de cobre

Uma aplicação da SECM que desperta grande interesse é a obtenção de imagens que contenham informações sobre a atividade eletroquímica de um determinado material e, para tanto, foi utilizado um sistema biomimético de cobre que catalisa a redução de O_2, suja a função é mimetizar a função da enzima da classe oxidase. Os experimentos tiveram como objetivo obter perfis de consumo de O_2 decorrente da redução catalítica em uma superfície de carbono vítreo modificada com o complexo de cobre(II), $[Cu_4(apyhist)_4]^{4+}$, derivado do ligante (4-imidazolil)etileno-2-amino-1-etilpiridina (apyhist), imobilizado em membrana de Nafion® (Matos, Ferreira *et al.*, 2010).

Os experimentos foram realizados utilizando um microeletrodo de Pt (r = 5 µm) como ponta de prova. As imagens foram obtidas deslocando-se o microeletrodo no eixo *xy* e mantendo-se sua posição no eixo *z* a uma altura fixa de 50 µm em relação ao substrato. A aquisição da imagem foi realizada em uma solução tampão fosfato (pH = 9) saturada de oxigênio. A Figura 39 apresenta uma representação esquemática dos processos envolvidos durante o experimento, onde o microeletrodo e o substrato foram polarizados em potencial adequado para promover a redução do O_2 em ambos os eletrodos. A corrente monitorada no decorrer do experimento foi decorrente da redução do oxigênio a água na superfície do microeletrodo, o qual foi polarizado em um potencial de -750 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$.

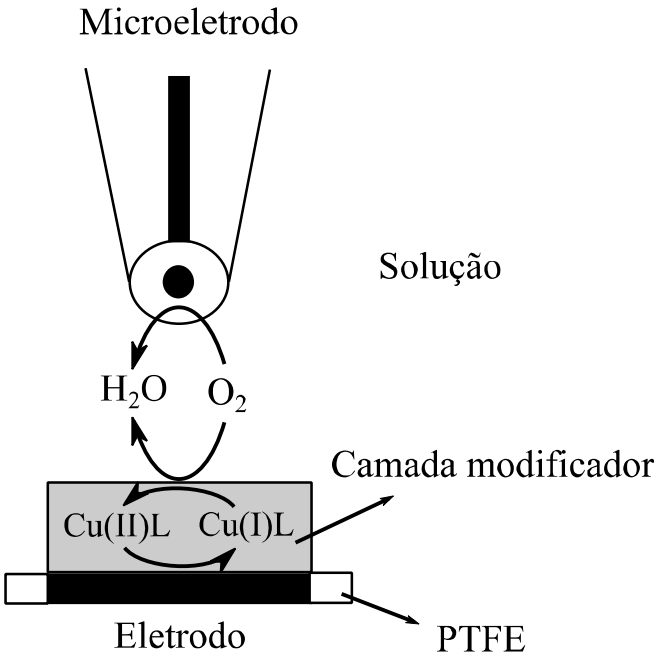


Figura 39: Representação esquemática dos processos envolvidos durante o experimento SECM.

Avaliou-se primeiramente o efeito do potencial aplicado ao substrato modificado com o sistema biomimético nas imagens relacionadas com a atividade catalítica na redução de oxigênio. A Figura 40 apresenta as imagens obtidas de uma mesma região para diferentes valores de potencial aplicados ao substrato.

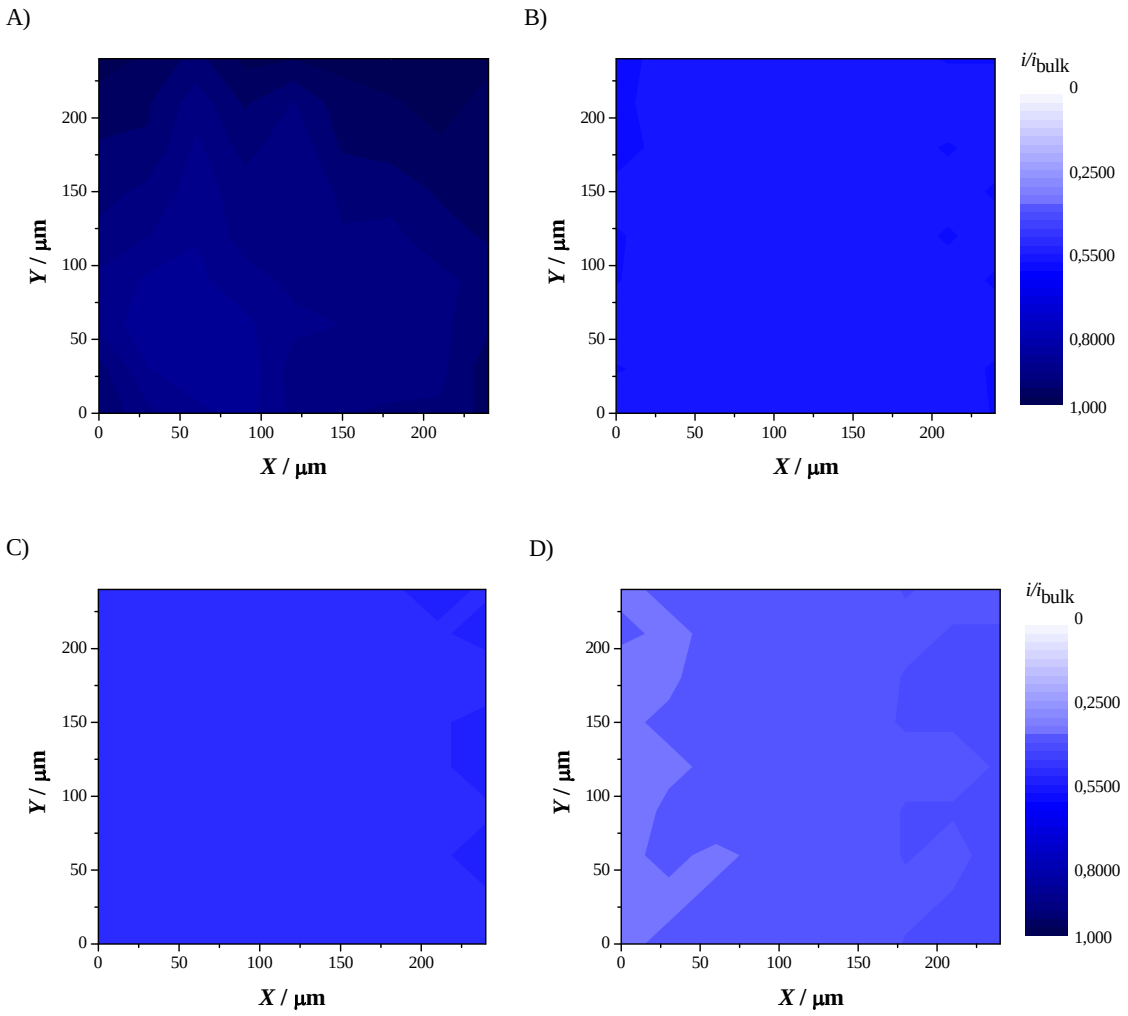


Figura 40: Imagens SECM obtidas do substrato (carbono vítreo) em circuito aberto (A) e polarizado em -300 mV (B), -400 mV (C) e -500 mV (D) *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}. Microeletrodo polarizado em -750 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$.

A coloração das imagens está relacionada com a presença de oxigênio em solução: colorações mais escuras representam maior corrente de redução (maior concentração de O_2) e as mais claras indicam menor corrente de redução (menor concentração de O_2). As imagens foram normalizadas com o intuito de facilitar a comparação e minimizar erros provocados por mudanças na concentração de oxigênio dissolvido.

Analisando as imagens obtidas, nota-se que quando o substrato está em circuito aberto há pouca variação na relação entre a corrente medida com a corrente no seio da solução. Ao

se aplicar potenciais mais negativos ao substrato modificado ocorre um aparecimento de regiões mais claras em relação à imagem do substrato em circuito aberto e estas têm relação com o consumo de oxigênio pelo substrato. O potencial aplicado ao substrato selecionado foi de -500 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$, visto que para potenciais mais negativos as imagens não sofreram nenhuma alteração.

A Figura 41 apresenta imagens que foram obtidas com a intenção de avaliar a homogeneidade da deposição do modificador. Os resultados do experimento SECM foram obtidos em duas condições experimentais diferentes. Na primeira delas, o substrato não foi polarizado (Figura 41 -A) e a corrente monitorada pelo microeletrodo (referente à redução do oxigênio dissolvido na solução) é praticamente a mesma independentemente da posição do sensor. Na Figura 41-B mostram-se resultados de experimentos realizados durante polarização do substrato em -500 mV, monitorando-se a corrente com o microeletrodo na mesma região estudada anteriormente.

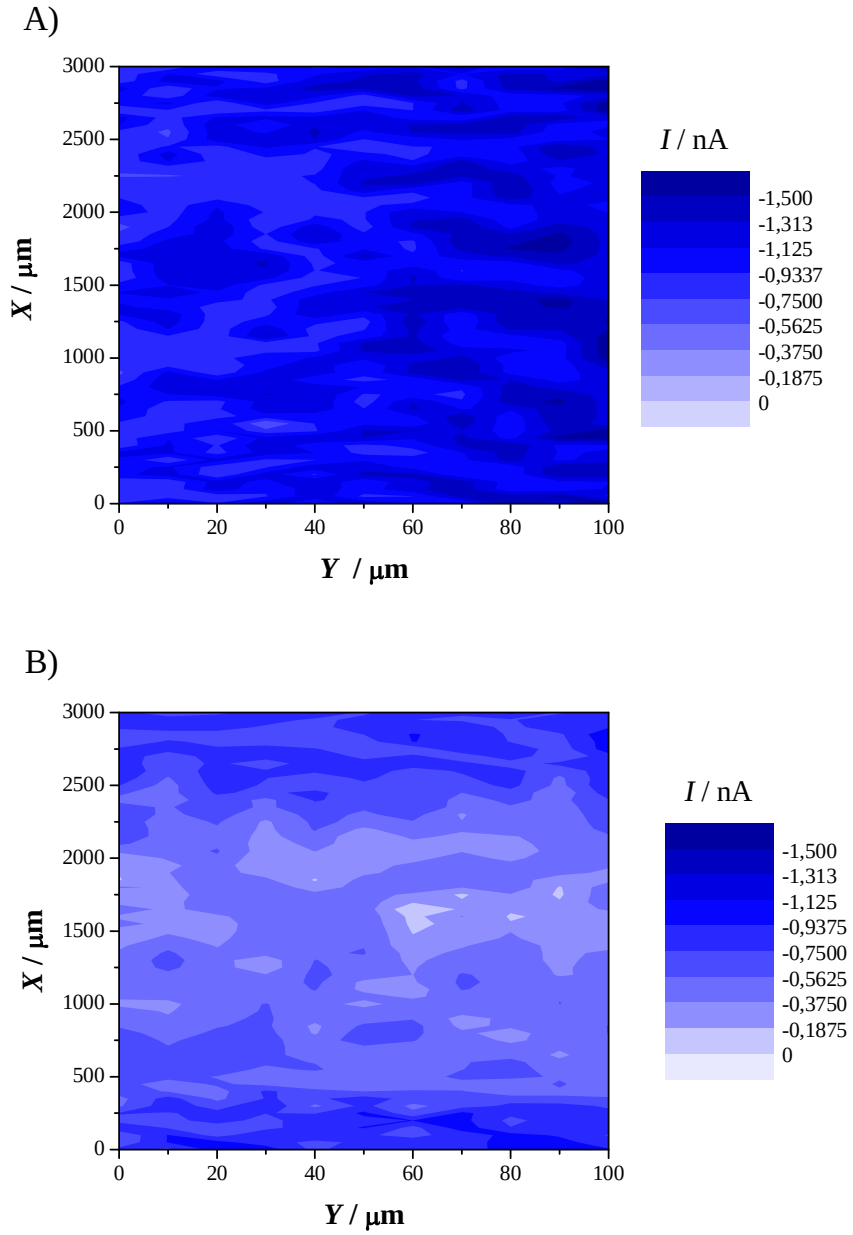


Figura 41: Imagens SECM da superfície de carbono vítreo modificado com $[Cu_4(apyhist)_4]^{4+}$ (A) substrato não polarizado e (B) substrato polarizado em -500 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. Velocidade de aquisição da imagem 25 µm s^{-1}. Microeletrodo polarizado em -750 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$.

Nota-se uma significativa variação na imagem obtida quando o experimento foi realizado em condições de polarização do substrato, com diminuição dos valores de corrente

medida no microeletrodo na região central em razão do consumo de oxigênio pelo filme imobilizado no substrato. Os experimentos mostraram que os sítios cataliticamente ativos de Cu(I) estão localizados na região central da imagem, ou seja, a distribuição na superfície do eletrodo não é homogênea (Matos, Ferreira *et al.*, 2010).

O mecanismo da reação também pode ser estudado utilizando a técnica SECM, pois caso a redução do O_2 ocorresse por mecanismo envolvendo 2 elétrons o produto formado seria H_2O_2. Assim, foi selecionada uma região do substrato e realizada a aquisição das imagens, uma em circuito aberto e outra com o substrato polarizado em -500 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. Diferentemente do procedimento utilizado para a obtenção das imagens apresentadas na Fig. 41, nesse experimento o microeletrodo foi polarizado em 600 mV vs. $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$, potencial no qual ocorre a oxidação do H_2O_2 em platina (Okunola, Nagaiah *et al.*, 2009). A Figura 42 apresenta um esquema do experimento e a Figura 43 as imagens SECM obtidas. A comparação das imagens apresentadas na Figura 43 (A e B) indica que não ocorreu variação representativa nos valores de corrente medida no microeletrodo, confirmando assim que o sistema biomimético utilizado catalisa a redução eletroquímica de O_2 via 4 elétrons, ou seja, o produto formado é H_2O, conforme reportado na literatura (Matos, Ferreira *et al.*, 2010).

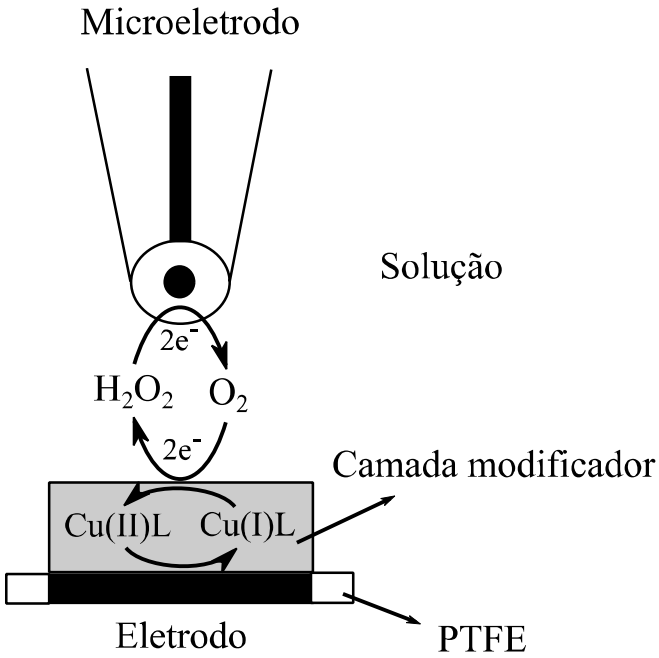


Figura 42: Representação esquemática dos processos envolvidos no experimento para monitorar a produção de H_2O_2.

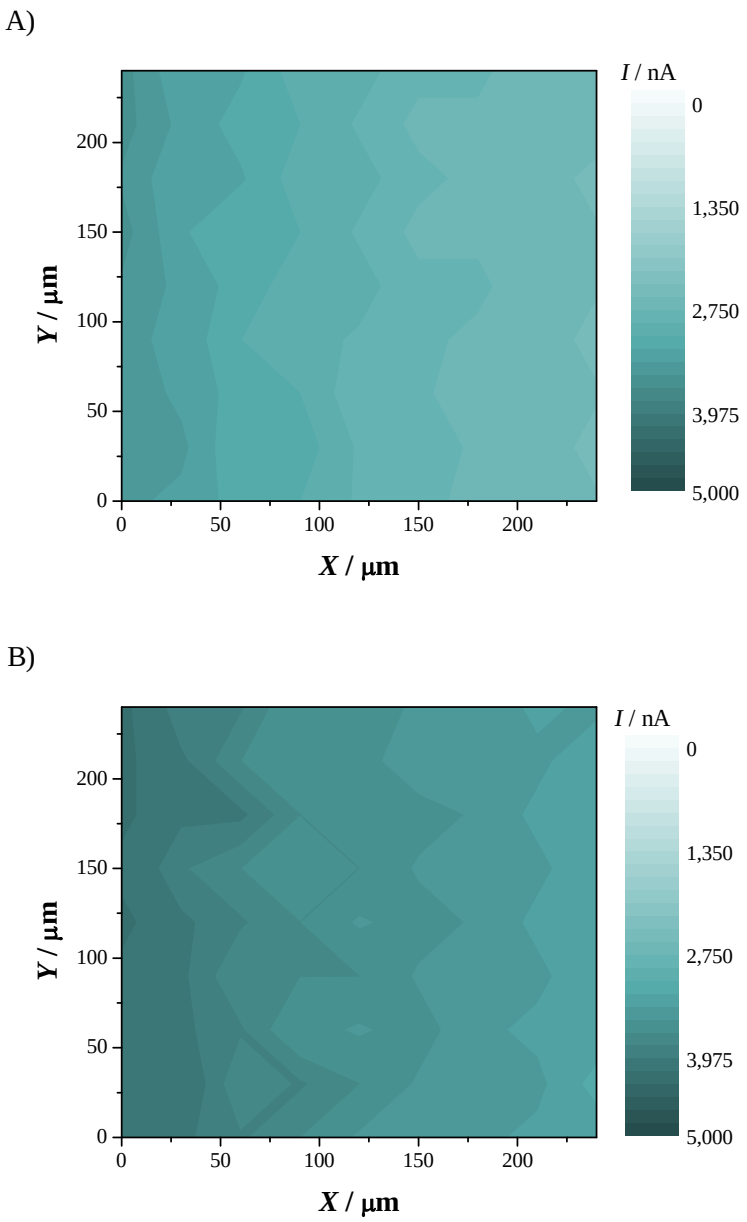


Figura 43: Imagens SECM obtidas com o microeletrodo polarizado em 600 mV *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$ com o substrato em circuito aberto (A) e polarizado em 500 *vs.* $Ag/AgCl_{(KCl\ sat.)}$. Velocidade de aquisição da imagem 10 µm s^{-1}.

5. CONCLUSÕES

Os experimentos preliminares proporcionaram a familiarização com o equipamento e o aprendizado no tratamento dos dados obtidos. Ainda foi possível avaliar algumas das diversas possibilidades de utilização da SECM para a obtenção de informações sobre a topografia, condutividade e reatividade de superfícies.

No estudo do substrato de cobre a SECM possibilitou obter informações sobre a superfície e o monitoramento de espécies transientes formadas durante diferentes condições no processo de ativação. Os dados foram correlacionados com a resposta frente a diferentes analitos (nitrato e nitrito) e obteve-se boa concordância entre a análise da reatividade da superfície após o processo de ativação e o sinal voltamétrico. Desta forma, propõe-se uma ferramenta adicional para investigações mais aprofundadas sobre a otimização das condições experimentais para a determinação de nitrato e nitrito nas superfícies ativadas de cobre.

Na utilização da SECM para a obtenção de imagens relacionadas com a reatividade de superfícies funcionalizadas, foi possível obter informações sobre o potencial aplicado ao eletrodo para a ocorrência da redução catalítica de oxigênio em sistema biomimético de cobre, a homogeneidade do processo de deposição do filme na superfície do substrato e o mecanismo da reação.

De maneira geral, a microscopia eletroquímica de varredura (SECM) mostrou ser uma poderosa ferramenta para o estudo de fenômenos que ocorrem na interface eletrodo/solução. A SECM pode ser utilizada para a obtenção de informações sobre a topografia de uma superfície, mas sua aplicação mais atraente está na obtenção de informações sobre a reatividade de superfícies.

6. ESTUDOS FUTUROS

6.1 Substratos de cobre

O processo de ativação por polarização de eletrodos de cobre é realizado aplicando-se pulsos de potencial para oxidar e subsequentemente reduzir os íons gerados na etapa inicial. Esse procedimento é realizado em uma solução de Na_2SO_4 em meio ácido (pH=2,0) e há dúvidas sobre a eventual redução simultânea de prótons durante a deposição de cobre. Neste sentido, pretende-se monitorar o consumo de íons H^+ na interface eletrodo/solução na etapa de redução dos íons gerados. O monitoramento da variação do pH será realizado utilizando microeletrodos modificados com filmes de óxidos metálicos, por exemplo, o óxido de chumbo (Razmi, Heidari *et al.*, 2008). O substrato de cobre também poderá ser estudado em diferentes meios e/ou tratamentos eletroquímicos.

6.2 Bicamadas lipídicas

Em estudos futuros, será avaliada a possibilidade de realizar o acompanhamento do transporte de materiais através de modelos de membranas semipermeáveis (celofane) e bicamadas lipídicas. Íons H^+, azul de metileno e seus derivados serão utilizados para avaliar a permeabilidade das bicamadas lipídicas. Este trabalho será realizado em colaboração com o professor Tiago L. Ferreira (UNIFESP) e com o Prof. Dr. Joaquim Procópio de Araújo Filho, docente do Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amemiya, S., Bard, A. J., *et al.* Scanning Electrochemical Microscopy. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v.1, p.95-131. 2008.

Amphlett, J. L. e Denuault, G. Scanning electrochemical microscopy (SECM): An investigation of the effects of tip geometry on amperometric tip response. **Journal of Physical Chemistry B**, v.102, n.49, p.9946-9951. 1998.

Arguello, J., Magosso, H. A., *et al.* Synthesis, characterization and electroanalytical application of a new SiO2/SnO2 carbon ceramic electrode. **Electrochimica Acta**, v.56, n.1, p.340-345. 2010.

Baltes, N. e Heinze, J. Imaging local proton fluxes through a polycarbonate membrane by using scanning electrochemical microscopy and functionalized alkanethiols. **Chemphyschem**, v.10, n.1, p.174-179. 2009.

Bard, A. J., Denuault, G., *et al.* Scanning electrochemical microscopy - a new technique for the characterization and modification of surfaces **Accounts of Chemical Research**, v.23, n.11, p.357-363. 1990.

Bard, A. J. e Faulker, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and aplications**. New York: John Wiley & Sons. 2001

Bard, A. J. e Mirkin, M. V. **Scanning Electrochemical Microscopy**. New York: John Wiley & Sons 2001

Barker, A. L., Gonsalves, M., *et al.* Scanning electrochemical microscopy: beyond the solid/liquid interface. **Analytica Chimica Acta**, v.385, n.1-3, p.223-240. 1999.

Bertoncello, P. Advances on scanning electrochemical microscopy (SECM) for energy. **Energy & Environmental Science**, v.3, n.11, p.1620-1633. 2010.

Bertoncello, P., Ciani, I., *et al.* Measurement of apparent diffusion coefficients within ultrathin Nafion Langmuir-Schaefer films: Comparison of a novel scanning electrochemical microscopy approach with cyclic voltammetry. **Langmuir**, v.22, n.25, p.10380-10388. 2006.

Campbell, F. W. e Compton, R. G. The use of nanoparticles in electroanalysis: an updated review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.396, n.1, p.241-259. 2010.

Carpenter, N. G. e Pletcher, D. Amperometric method for the determination of nitrate in water. **Analytica Chimica Acta**, v.317, n.1-3, Dec, p.287-293. 1995.

Casero, E., Vazquez, L., *et al.* AFM, SECM and QCM as useful analytical tools in the characterization of enzyme-based bioanalytical platforms. **Analyst**, v.135, n.8, p.1878-1903. 2010.

Cox, J. A., Tess, M. E., *et al.* Electroanalytical methods based on modified electrodes: A review of recent advances. **Reviews in Analytical Chemistry**, v.15, n.3, p.173-223. 1996.

Davis, J., Moorcroft, M. J., *et al.* Electrochemical detection of nitrate at a copper modified electrode under the influence of ultrasound. **Electroanalysis**, v.12, n.17, p.1363-1367. 2000.

De Souza, A. P. R., Lima, A. S., *et al.* The use of a gold disc microelectrode for the determination of copper in human sweat. **Talanta**, v.83, n.1, Nov, p.167-170.

Demaille, C., Unwin, P. R., *et al.* Scanning electrochemical microscopy .33. Application to the study of ECE/DISP reactions. **Journal of Physical Chemistry**, v.100, n.33, p.14137-14143. 1996.

Engstrom, R. C., Weber, M., *et al.* Measurements within the diffusion layer using a microelectrode probe. **Analytical Chemistry**, v.58, n.4, p.844-848. 1986.

Gabrielli, C., Mocoteguy, P., *et al.* A model for copper deposition in the damascene process. **Electrochimica Acta**, v.51, n.8-9, p.1462-1472. 2006.

Gamboa, J. C. M., Pena, R. C., *et al.* A renewable copper electrode as an amperometric flow detector for nitrate determination in mineral water and soft drink samples. **Talanta**, v.80, n.2, p.581-585. 2009.

_____. Activated Copper Cathodes as Sensors for Nitrite Analysis. **Electroanalysis**, v.22, n.22, p.2627-2632. 2010.

Karnicka, K., Eckhard, K., *et al.* Visualisation of the local bio-electrocatalytic activity in biofuel cell cathodes by means of redox competition scanning electrochemical microscopy (RC-SECM). **Electrochemistry Communications**, v.9, n.8, p.1998-2002. 2007.

Karyakin, A. A. Prussian Blue and its analogues: Electrochemistry and analytical applications. **Electroanalysis**, v.13, n.10, p.813-819. 2001.

Katz, E., Willner, I., *et al.* Electroanalytical and bioelectroanalytical systems based on metal and semiconductor nanoparticles. **Electroanalysis**, v.16, n.1-2, p.19-44. 2004.

Kwak, J. e Bard, A. J. Scanning electrochemical microscopy - Theory of the feedback mode. **Analytical Chemistry**, v.61, n.11, p.1221-1227. 1989.

Lee, Y. e Bard, A. J. Fabrication and characterization of probes for combined scanning electrochemical/optical microscopy experiments. **Analytical Chemistry**, v.74, n.15, p.3626-3633. 2002.

Li, F., Bertoncello, P., *et al.* Incorporation of functionalized palladium nanoparticles within ultrathin Nafion films: A nanostructured composite for electrolytic and redox-mediated hydrogen evolution. **Advanced Functional Materials**, v.18, n.11, p.1685-1693. 2008.

Lowinsohn, D. e Bertotti, M. Electrochemical sensors: Fundamentals and applications in microenvironments. **Quimica Nova**, v.29, n.6, p.1318-1325. 2006.

Lowinsohn, D., Richter, E. M., *et al.* Disposable gold electrodes with reproducible area using recordable CDs and toner masks. **Electroanalysis**, v.18, n.1, p.89-94. 2006.

Lu, X., Wang, Q., *et al.* Review: Recent applications of scanning electrochemical microscopy to the study of charge transfer kinetics. **Analytica Chimica Acta**, v.601, n.1, p.10-25. 2007.

Matos, I. O., Ferreira, T. L., *et al.* Approaches for multicopper oxidases in the design of electrochemical sensors for analytical applications
Electrochimica Acta
v.55, n.18, p.5223-5229 2010.

Mckay, L. e Lesuer, R. J. A mechanistic investigation of di-tert-butyl nitroxide using scanning electrochemical microscopy (SECM). **Electrochimica Acta**, v.53, n.28, p.8305-8309. 2008.

Mirkin, M. V. Recent advances in scanning electrochemical microscopy. **Analytical Chemistry**, v.68, n.5, p.A177-A182. 1996.

Mirkin, M. V. e Horrocks, B. R. Electroanalytical measurements using the scanning electrochemical microscope. **Analytica Chimica Acta**, v.406, n.2, p.119-146. 2000.

Moses, P. R., Wier, L., *et al.* Chemically modifies tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v.47, n.12, p.1882-1886. 1975.

Niu, L., Yin, Y. H., *et al.* Application of scanning electrochemical microscope in the study of corrosion of metals. **Journal of Materials Science**, v.44, n.17, p.4511-4521. 2009.

O'mullane, A. P., Neufeld, A. K., *et al.* Monitoring cuprous ion transport by scanning electrochemical microscopy during the course of copper electrodeposition. **Journal of the Electrochemical Society**, v.155, n.8, p.D538-D541. 2008.

Okunola, A. O., Nagaiah, T. C., *et al.* Visualization of local electrocatalytic activity of metalloporphyrins towards oxygen reduction by means of redox competition scanning

electrochemical microscopy (RC-SECM). **Electrochimica Acta**, v.54, n.22, p.4971-4978. 2009.

Paixão, T. e Bertotti, M. Methods for fabrication of microelectrodes towards is detection in mocroenvironments. **Quimica Nova**, v.32, n.5, p.1306-1314. 2009.

Paixão, T. R. L. C., Cardoso, J. L., *et al.* Determination of nitrate in mineral water and sausage samples by using a renewable in situ copper modified electrode. **Talanta**, v.71, n.1, p.186-191. 2007.

Pedrotti, J. J., Angnes, L., *et al.* Miniaturized reference electrodes with microporous polymer junctions. **Electroanalysis**, v.8, n.7, p.673-675. 1996.

Pellissier, M., Zigah, D., *et al.* Optimized preparation and scanning electrochemical microscopy analysis in feedback mode of glucose oxidase layers grafted onto conducting carbon surfaces. **Langmuir**, v.24, n.16, p.9089-9095. 2008.

Pons, S. e Fleischmann, M. The behavior of microelectrodes. **Analytical Chemistry**, v.59, n.24, p.A1391-A1399. 1987.

Razmi, H., Heidari, H., *et al.* pH-sensing properties of PbO2 thin film electrodeposited on carbon ceramic electrode. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v.12, n.12, p.1579-1587. 2008.

Roberts, W. S., Lonsdale, D. J., *et al.* Advances in the application of scanning electrochemical microscopy to bioanalytical systems. **Biosensors & Bioelectronics**, v.23, p.301-318. 2007.

Rodriguez-Lopez, J., Alpuche-Aviles, M. A., *et al.* Selective insulation with poly(tetrafluoroethylene) of substrate electrodes for electrochemical background. reduction in scanning electrochemical microscopy. **Analytical Chemistry**, v.80, n.5, p.1813-1818. 2008.

Salles, M. O., Battistel, D., *et al.* Ex situ scanning electrochemical microscopy (SECM) investigation of bismuth- and bismuth/lead alloy film-modified gold electrodes in alkaline medium. **Electroanalysis**, v.23, n.3, p.595-603. 2011.

Santos, L. M., Ghilane, J., *et al.* Electrografting polyaniline on carbon through the electroreduction of diazonium salts and the electrochemical polymerization of aniline. **Journal of Physical Chemistry C**, v.112, n.41, p.16103-16109. 2008.

Sheffer, M. e Mandler, D. Why is copper locally etched by scanning electrochemical microscopy? **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.622, n.1, p.115-120. 2008.

Soares, D. M., Wasle, S., *et al.* Copper ion reduction catalyzed by chloride ions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.532, n.1-2, p.353-358. 2002.

Stradiotto, N. R., Toghill, K. E., *et al.* The fabrication and characterization of a nickel nanoparticle modified boron doped diamond electrode for electrocatalysis of primary alcohol oxidation. **Electroanalysis**, v.21, n.24, p.2627-2633. 2009.

Stulik, K., Amatore, C., *et al.* Microelectrodes. Definitions, characterization, and applications (Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v.72, n.8, p.1483-1492. 2000.

Tantavichet, N., Damronglerd, S., *et al.* Influence of the interaction between chloride and thiourea on copper electrodeposition. **Electrochimica Acta**, v.55, n.1, p.240-249. 2009.

Tenent, R. C. e Wipf, D. O. Local electron transfer rate measurements on modified and unmodified glassy carbon electrodes. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v.13, n.4, p.583-590. 2009.

Turyan, I., Orel, B., *et al.* Studying electron transfer at electrochromic tungsten oxide sol-gel films with scanning electrochemical microscopy (SECM). **Physical Chemistry Chemical Physics**, v.5, n.15, p.3212-3219. 2003.

Walsh, D. A., Lovelock, K. R. J., *et al.* Ultramicroelectrode voltammetry and scanning electrochemical microscopy in room-temperature ionic liquid electrolytes. **Chemical Society Reviews**, v.39, n.11, p.4185-4194. 2010.

Wang, J. **Analytical Electrochemistry**. New York Jonh Wiley & Sons 2001

Wang, W., Zhang, S. H., *et al.* Monitoring of vesicular exocytosis from single cells using micrometer and nanometer-sized electrochemical sensors. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.394, n.1, p.17-32. 2009.

Wei, C. e Bard, A. J. Scanning electrochemical microscopy .31. In-situ monitoring of thickness changes of thin-films on electrodes. **Journal of the Electrochemical Society**, v.142, n.8, p.2523-2527. 1995.

Wipf, D. O. e Bard, A. J. Scanning electrochemical microscopy .10.High-resolution imaging of active-sites on an electrode surface. **Journal of the Electrochemical Society**, v.138, n.5, p.L4-L6. 1991.

Wittstock, G., Burchardt, M., *et al.* Scanning electrochemical microscopy for direct imaging of reaction rates. **Angewandte Chemie-International Edition**, v.46, n.10, p.1584-1617. 2007.

Yogeswaran, U., Thiagarajan, S., *et al.* Nanocomposite of functional multiwall carbon nanotubes with nafion, nano platinum, and nano biosensing film for simultaneous

determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid. **Analytical Biochemistry**, v.365, n.1, p.122-131. 2007.

Zhang, M. e Girault, H. H. SECM for imaging and detection of latent fingerprints. **Analyst**, v.134, n.1, p.25-30. 2009.

Zoski, C. G. Ultramicroelectrodes: Design, fabrication, and characterization. **Electroanalysis**, v.14, n.15-16, p.1041-1051. 2002.

SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Alex da Silva Lima

Local e data de nascimento: Osasco, 17 de abril de 1984

EDUCAÇÃO

- E.E. Prof. Ernesto Thenn de Barros, Osasco, 2001.

- Faculdade de Ciências e Tecnologia – Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente, 2008.

Química (Licenciatura plena)

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

- Nanomateriais e Nanotecnologia, Instituto de Química – Universidade de São Paulo, 2008.

- Metal-Based Drugs, Universidade Federal de São Carlos, 2007.

- Separation Science on Pharmaceutical R&D, Universidade Federal de São Carlos, 2007.

OCUPAÇÃO

Bolsista de Mestrado, CNPq, 01/04/2009 a 31/07/2009.

Bolsista de Mestrado, FAPESP, 01/08/2009 a 31/03/2011.

PUBLICAÇÕES

❖ ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS

SALLES, M. O. ; BATTISTEL, D. ; LIMA, A. S. ; BERTOTTI, M. ; DANIELE, S. . Ex-situ Scanning Electrochemical Microscopy (SECM) investigation of bismuth- and bismuth/lead alloy film-modified gold electrodes in alkaline medium. *Electroanalysis* (New York), 2011.

CASTRO, P. S. ; LIMA, A. S. ; FERREIRA, T. L.; BERTOTTI, M. . Scanning Electrochemical Microscopy as a tool for the characterization of dental erosion. Submetido para *International Journal of Electrochemistry*, 2011.

SOUZA, A. P. R. ; LIMA, A. S. ; SALLES, M. O. ; NASCIMENTO, A. N. ; BERTOTTI, M. . The use of a gold disc microelectrode for the determination of copper in human sweat. *Talanta* (Oxford), v. 83, p. 167-170, 2010.

MATOS, I. O. ; FERREIRA, T. L. ; PAIXAO, T. R. L. C. ; LIMA, A. S. ; BERTOTTI, M. ; ALVES, W. A. . Approaches for multicopper oxidases in the design of electrochemical sensors for analytical applications. *Electrochimica Acta*, v. 55, p. 5223-5229, 2010.

GAMBOA, J. C. M. ; PEÑA, R. C. ; PAIXÃO, T. R. L. C. ; LIMA, A. S. ; BERTOTTI, M. . Activated Copper Cathodes as Sensors for Nitrite Analysis. *Electroanalysis* (New York), v. 22, p. 2627-2632, 2010.

MARTINEZ, M. T. ; LIMA, A. S. ; BOCCHI, Nerilso ; TEIXEIRA, M. F. S. . Voltammetric performance and application of a sensor for sodium ions constructed with layered birnessite-type manganese oxide. *Talanta* (Oxford), v. 80, p. 519-525, 2009.

LIMA, A. S. ; BOCCHI, N. ; GOMES, H. M. ; TEIXEIRA, M. F. S. . An Electrochemical Sensor Based on Nanostructured Hollandite-type Manganese Oxide for Detection of Potassium Ions. *Sensors* (Basel), v. 9, p. 6613-6625, 2009.

❖ TRABALHOS COMPLETOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSO

TEIXEIRA, M. F. S. ; LIMA, A. S. ; SILVA, E. R. ; SILVA, M. R. ; ANGELO, A. C. D., Avaliação de Nanoparticulas Metalicas Suportadas em Carbono como Modificadores na Construção de Sensores Eletroquímicos. XVII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2009, Fortaleza - CE.

MARTINEZ, M. T. ; LIMA, A. S. ; PALACIO, G. ; TEIXEIRA, M. F. S. . Desenvolvimento de um Sensor Eletroquímico para Íons Sódio Elaborado com Óxido de Manganês Tipo Hausmannita. XVII Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2009, Fortaleza - CE.

TEIXEIRA, M. F. S. ; LIMA, A. S. ; SERAPHIM, P. M. ; BOCCHI, N., Development of an Amperometric sensor for Potassium Ions. BIOSTEC 2008 - International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies, 2008, Funchal – Portugal . Proceedings of the BIOSTEC 2008 - Section Biodevices, 2008. p. 198-201

LIMA, A. S. ; TEIXEIRA, M. F. S. ; MARTINEZ, M. T., Utilização de Sensor Construído com Óxido de Manganês(IV) Tipo Hollandita para Detecção de Íons Potássio. XIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2007, Presidente Prudente - SP.

❖ RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSO

LIMA, A. S.; SALLES, M. O.; CASTRO, P. S.; PAIXÃO, T. R. L. C.; FERREIRA, T. L.; BERTOTTI, M. . SECM Characterization of CU(I) Formation During the Dissolution of Copper in Acidic Medium. Pittsburgh Conference, 2011, Atlanta – EUA.

LIMA, A. S. ; MATOS, I. O. ; ALVES, W. A. ; PAIXAO, T. R. L. C. ; FERREIRA, T. L. ; BERTOTTI, M. . Uso da Microscopia Eletroquímica de Varredura (SECM) no Estudo da Atividade Eletroquímica de Sistema Biomimético. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia - SP.

SOUZA, A. P. R. ; LIMA, A. S. ; SALLES, M. O. ; BERTOTTI, M. . Uso de Microeletrodos de Au na Determinação de Cobre em Gostas de Suor por "Stripping". 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia - SP.

CASTRO, P. S. ; LIMA, A. S. ; NISHIDA, A. C. ; FRANCCI, C. E. ; BERTOTTI, M. . Uso da Microscopia Eletroquímica de Varredura (SECM) no Monitoramento do Consumo de Íons H^+ em Dentes. 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2010, Águas de Lindóia - SP.

LIMA, A. S. ; SALLES, M. O. ; FERREIRA, T. L. ; PAIXAO, T. R. L. C. ; BERTOTTI, M. . Utilização da Microscopia Eletroquímica (SECM) no Estudo da Deposição de Bismuto em Superfícies de Ouro. 15° Encontro Nacional de Química Analítica / 3° Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2009, Salvador - BA.

LIMA, A. S. ; MARTINEZ, M. T. ; BOCCHI, N. ; TEIXEIRA, M. F. S., Construção de um Sensor Amperométrico para Detecção de Íons Potássio. 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia - SP.

MARTINEZ, M. T. ; LIMA, A. S. ; BOCCHI, N. ; TEIXEIRA, M. F. S., Avaliação do Desenpenho de um Sensor para Íons Sódio Construído com Óxido de Manganês(IV) tipo Birnessita. 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia – SP

CARDOSO, C. X. ; TEIXEIRA, M. F. S. ; MARTINS, T. A. ; LIMA, A. S., Electrochemical Sensor of Composite Graphite/PVDF. 16th International Conference on Defects in Insulating Material, 2008, Aracaju - SE.

MARTINEZ, M. T. ; LIMA, A. S. ; CARDOSO, C. X. ; TEIXEIRA, M. F. S., Voltammetric Study of the Composite Electrode Elaborated with PVDF, Graphite Powder and Hausmannite-type Manganese Oxide. VII Encontro da SBPMat, 2008, Guarujá - SP.

LIMA, A. S. ; MARTINEZ, M. T. ; CARDOSO, C. X. ; TEIXEIRA, M. F. S., Chonoamperometric method to estimate the active area of the PVDF-Graphite composite electrode. VII Encontro da SBPMat, 2008, Guarujá SP

LIMA, A. S. ; MARTINEZ, M. T. ; BOCCHI, N. ; TEIXEIRA, M. F. S., Avaliação Eletoquímica de um Eletrodo com Óxido de Manganês(IV) Tipo Hollandita. 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia – SP

MARTINEZ, M. T. ; LIMA, A. S. ; BERGAMINI, M. F. ; BOCCHI, N. ; TEIXEIRA, M. F. S., Estudo Eletroanalítico de Um Eletrodo Modificado com Óxido de Manganês(IV) Tipo Birnessita. 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas de Lindóia – SP.

MARTINEZ, M. T. ; TEIXEIRA, M. F. S. ; LIMA, A. S., Analise Voltamétrica do Mecanismo de Resposta de um Sensor Construído com Óxido de Manganês(IV) Tipo Birnessita para Íons Sódio. XIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2007, Presidente Prudente – SP.

CARDOSO, C. X. ; MARTINS, T. A. ; LIMA, A. S. ; TEIXEIRA, M. F. S., Study Electrochemical of Composite Graphite/PVDF. 6th Brazilian MRS Meeting, 2007, Natal. VI Encontro SBPMat, 2007.

FREITAS, B. H. ; LIMA, A. S. ; BOCCHI, N. ; TEIXEIRA, M. F. S., Estudo da resposta potenciométrica do óxido $Li_{1.05}A_{l0.02}Mn_{1.98}O_4$ no desenvolvimento de um sensor para íons lítio. XV Encontro de Química da Região Sul, 2007, Ponta Grossa – PR.

GOLINELLI, D. L. C. ; PALACIO, G. ; LIMA, A. S. ; BOCCHI, N. ; TEIXEIRA, M. F. S., Avaliação Eletroquímica de um Eletrodo Modificado com Óxido de Manganês(IV) para Peróxido de Hidrogênio. XV Encontro de Química da Região Sul, 2007, Ponta Grossa - PR.

MARTINS, T. A. ; LIMA, A. S. ; CARDOSO, C. X. ; TEIXEIRA, M. F. S., Comportamento eletroquímico do compósito de PVDF/Grafite utilizado como eletrodo em voltametria cíclica. XIX Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2007, Presidente Prudente – SP

LIMA, A. S. ; LANFREDI, S. ; NOBRE, M. A. L., Caracterização Estrutural do Niobato de Potássio e Estrôncio com Estrutura Tipo Tetragonal Tungstênio Bronze (TTB). XVII Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2005, Presidente Prudente – SP.