Juliana Carlos Cancino

Eletrodos modificados com monocamadas auto-organizadas de alcanotióis:

Uma abordagem sobre a transferência eletrônica.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado

São Carlos
2008

Dedico,

Aos meus pais, José Neto e Maria Euride.

A minha irmã Joseane e ao Juliano.

E ao meu lindo Arthur.

“A vocês que compartilharam meus ideais e os alimentaram, incentivando-me a prosseguir na jornada, fossem quais fossem os obstáculos, lutando comigo... A vocês, a quem muitas vezes fui motivo de alegria, outras de tristeza, porém sempre alvo de atenção maior, dedico a minha conquista com a mais profunda admiração e respeito. A vida... dedico, a você mãe que me ensinou a vivê-la com dignidade. O futuro... a você pai, que se deu por inteiro e renunciou seus sonhos para realizar os meus. Sou o que sou hoje à custa dos seus sacrifícios. Sejam pois, estas palavras a expressão de minha gratidão e imenso amor.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pelas pessoas maravilhosas que colocou a minha volta para que eu pudesse crescer como pessoa e como profissional;

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado, pela orientação, confiança e profissionalismo que foram dispensados durantes esses dois anos, ensinando-me a procurar soluções inteligentes para os problemas enfrentados na realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Mazo, pelas conversas nos estágios e inúmeras dicas;

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Avaca, por abrir as portas de seu grupo para que eu pudesse realizar meu mestrado;

Ao Sr. João Tiengo pelo profissionalismo, paciência, respeito e a imensa dedicação ao longo do desenvolvimento desde trabalho;

Ao Marcelo Calegaro pelo apoio, otimismo, conversas e ajudas prestadas ao longo destes dois anos;

À Andressa Galli, grande amiga e parceira de pesquisa, que me ajudou e incentivou em todos os momentos, sejam felizes ou tristes sempre ali, pronta para escutar ou dizer alguma palavra;

As minhas amigas, não só do laboratório mais da vida real, que fui descobrindo ao longo do tempo e que vou levar para a vida toda, Cláudia Razzino, Djenaine, Eliana e Inês;

Aos amigos e colegas, os que já foram e os que ainda são do GMEME, Alexandra, Andréa, Cláudia Breda, Fabiano, Fernando, Giancarlo, Gustavo, Josiane,

Katlin, Kelly, Lívia, Michele, Milena, Murilo, Osmair, Raquel, Rafael, Robson, Solange, Sônia e Thiago;

As minhas amigas de todo sempre Jaqueline, Patrícia e Paula;

A todos os funcionários do IQSC que colaboraram de alguma forma para a realização deste estudo;

À CNPq pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

“É melhor tentar e falhar, que se preocupar

e ver a vida passar. É melhor tentar, ainda que em vão,

que se sentar fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar que, em dias tristes,

em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco,

que em conformidade viver.”

(Martin Luther King)

Resumo

A modificação de eletrodos por sistemas auto-organizados (SAM) é um dos temas mais discutidos em eletroquímica e eletroanalítica, principalmente por elevar a biocompatibilidade destas superfícies. O foco principal deste trabalho está na transferência eletrônica através das SAMs de moléculas de alcanotióis sobre a superfície de eletrodos de ouro. Com a finalidade de investigar o comportamento eletroquímico do par redox $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$, as superfícies de ouro foram modificadas com SAMs de alcanotióis com cadeias carbônicas de diferentes comprimentos e suas misturas. Desta forma, foi possível observar que as superfícies modificadas com monocamadas com 2, 3 ou 4 átomos de carbono em sua cadeia permitem que a transferência de elétrons ocorra através da SAM, produzindo perfis voltamétricos muito similares aos observados com a superfície de ouro sem a modificação. Com cadeias carbônicas longas (até 11 átomos de carbono), a transferência eletrônica é totalmente bloqueada e nenhum perfil voltamétrico foi observado. Com o objetivo de explorar o bloqueio total da superfície modificada de moléculas de alcanotióis de cadeias longas, os excessos superficiais foram calculados por meio da carga voltamétrica obtida da dessorção redutiva. Observaram-se valores de excesso superficial próximos a $9{,}0 \times 10^{-10}$ mol/cm^2, o que demonstra uma cobertura completa dos sítios ativos da superfície, justificando assim a ausência da resposta eletroquímica. A superfície modificada com as misturas de monocamadas de cadeias carbônicas longas e curtas promoveu respostas voltamétricas interessantes, desde que as moléculas de cadeias curtas contenham menos que 4 átomos de carbono. Neste caso, respostas voltamétricas sigmoidais similares às de ultramicroeletrodos (UMEs) foram obtidas. Este efeito foi associado com a formação de conjuntos de UMEs formados na superfície do eletrodo. O raio e a separação entre os UMEs nestas superfícies foram calculados como sendo 42 e 221 μm, respectivamente. Um total de 60 UMEs foi encontrado na superfície modificada. Estes UMEs foram formados por moléculas de cadeias menores totalmente emparedadas por cadeias maiores (moléculas de ácido 11-mercaptoundecanóico). Este comportamento reforça o propósito de que a transferência dos elétrons ocorra através das monocamadas de cadeia menor e que as moléculas de cadeia longa bloqueiam a superfície. Todos os experimentos

voltamétricos foram seguidos de análises de espectroscopia de impedância eletroquímica, os quais permitiram determinar a resistência de transferência de carga para cada modificação. Superfícies modificadas com alcanotióis de cadeia longa apresentaram elevados valores de transferência de carga, enquanto que as superfícies modificadas com alcanotióis de cadeia curta apresentam baixos valores de transferência eletrônica, em concordância com o comportamento voltamétrico observado. Finalmente, a organização de cada monocamada foi monitorada utilizando a microbalança eletroquímica de cristal de quartzo. Pela variação de massa com o tempo de imersão do eletrodo na solução contendo o alcanotiól de interesse foi possível observar etapas de adsorção/dessorção, com o aumento da organização da monocamada. Os valores teóricos de variação de massa calculados para a formação de uma monocamada completa na superfície eletroquímica apresentaram excelente concordância com os dados experimentais, obtidos pelo monitoramento do sistema ao longo dos experimentos (depois de aproximadamente 2 horas de imersão).

Abstract

The modification of electrode surfaces with self-assembled monolayer (SAM) is one of the top subjects in electrochemistry and electroanalysis, mainly due to its much enhanced biocompatibility. In this study, the focuses are centered in the electron transfer through SAMs of alkanothiols assembled onto gold electrode surfaces. In order to investigate the electrochemical behavior of the redox couple $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$, Au surfaces were modified with SAMs of long and short carbon chains alkanethiols, as well as with their mixtures. In this way, it was possible to observe that surfaces modified with monolayers of 2, 3 or 4 carbon atoms in the chain allowed electrons transfer to occur through the SAM, generating a voltammetric profile very similar to those observed on bare Au surfaces. With longer carbon chains (up to 11 carbon atoms), the electron transfer was totally blocked and none voltammetric profile was observed. Aiming to explain the total blockage of the surface with long chain alkanethiols modifications, the surface excess of molecules were measured by the voltammetric charge required for their reductive desorption. It was always observed surface excesses near to 9.0×10^{-10} mol/cm^2, which is related to a full coverage of the active sites on the surface, thus justifying the absence of electrochemical response. The surface modification with mixtures of long and short carbon chains monolayers promoted very interesting voltammetric responses, as long as the short chains contain less than 4 carbon atoms. In this case, sigmoidal voltammetric responses were obtained, very similar to those observed for ultramicroelectrodes (UMEs). Such effect was associated to the formation of UMEs arrays in the electrode surface. The radius and separation of each UME in this surface array was evaluated as 42 and 221 μm, respectively. A value of 60 UMEs were found for the entire surface. These UMEs were formed by the short chain molecules totally walled by the long chain ones (mercaptoundecanoic acid molecules). Such behavior reinforces the proposition of electron transference through the short chain alkanethiol layer and surface blockage by the long chain one. All the voltammetric experiments were followed by electrochemical impedance spectroscopic analysis which allowed were determined the charge transfer resistance for each modification. Very large values were determined for long carbon chains while for the short chains much smaller resistance values were found, as expected

by the voltammetric behavior. Finally, the assembling of each monolayer was followed by quartz crystal microbalance measurements. By the electrode mass variation with time of immersion in a solution containing the alkanethiol of interest it was possible to observe several steps of adsorption/desorption, as the organization of the monolayer increases. The theoretical values for mass variation for a full monolayer in the electrochemical surfaces were found to be in highly agreement with the experimental ones, measured in long time experiments (after approximately 2 hours of immersion).

LISTA DE FIGURAS

***Figura 1**: Estrutura de uma monocamada auto-organizada sobre substrato de ouro.....4*

***Figura 2**: A irregularidade da superfície do substrato de ouro sem pré-tratamento para a formação das monocamadas auto-organizadas de alcanotióis. 11*

***Figura 3**: Esquema da cinética de formação de SAM. As duas etapas de formação de uma monocamada descrita pelo modelo de Langmuir: (a) a etapa inicial é caracterizada pela rápida adsorção e crescimento da espessura do filme, seguida por um processo mais lento (b) de adsorção e organização, até a formação final (c) da monocamada auto-organizada.....18*

***Figura 4**: Representação da cela eletroquímica de compartimento único com três eletrodos utilizados nas medidas.....36*

***Figura 5**: Alcanotióis utilizados no estudo do comportamento de transferência eletrônica em SAMs.....42*

***Figura 6**: Modelo de circuito equivalente utilizado nos estudos dos espectros de impedância.....44*

***Figura 7**: Voltamogramas cíclicos de segunda varredura obtidos para o eletrodo de ouro recobertos com diferentes SAMs: (—) C_2OH, (—) C_4OH, (—) C_6OH, (—) 3-AMP, (—) 11-AMU até 600mV, (---) 11-AMU até 800mV e (—) ouro sem recobrimento. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}. 48*

***Figura 8**: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAMs: (—) C_2OH, (—) C_4OH, (—) C_6OH, (—) 3-AMP, (—) 11-AMU. Eletrólito composto por tampão BR 0,1 mol L^{-1} contendo 4 mmol L^{-1} de $Fe(CN)_6^{4-}$. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso. Potencial de 230mV. 51*

***Figura 9**: Voltamogramas de pulso diferencial (—) e cíclico (---) obtidos para a SAM do alcanotiól 11-AMU em solução de KOH 0,5 mol L^{-1}. Potencial de 0,1 a -1,3 V, velocidade de varredura 20 mV s^{-1} para as duas técnicas e amplitude de pulso de 25 mV para pulso diferencial.....54*

***Figura 10**: Voltamogramas de pulso diferencial da primeira varredura, obtido para as diferentes SAMs em solução de KOH 0,5 mol L^{-1}. Potencial de 0,1 a -1,3 V, velocidade de varredura 20 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 25 mV.....56*

***Figura 11**: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista, 11-AMU + C_2OH. Composição da solução de formação das SAM: (—) 11-AMU de concentração $1{,}0.10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (—) $6{,}9.10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $9{,}3.10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $1{,}2.10^{-4}$ mol L^{-1}, (—) $1{,}4.10^{-4}$*

mol L^{-1} e (—) 2,5.10^{-4} mol L^{-1} de C_2OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}. 61

***Figura 12**: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + C_2OH. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração 1,0x10^{-3} mol L^{-1}, com as adições de: (—) 6,9x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 9,3x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 1,2x10^{-4} mol L^{-1}, (—) 1,4x10^{-4} mol L^{-1} e (—)2,5x10^{-4} mol L^{-1} de C_2OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.* 63

***Figura 13**: Esquema do arranjo das "ilhas" formadas pelas moléculas de 11-AMU e C_2OH em uma SAM mista.* 65

***Figura 14**: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista, 11-AMU + 3-AMP. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração 1,0x10^{-3} mol L^{-1}, com as adições de: (—) 6,9x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 1,2x10^{-4} mol L^{-1}, (—) 1,9x10^{-4} mol L^{-1} e (—) 2,4x10^{-4} mol L^{-1} de 3-AMP. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura 100 mV s^{-1}.* 67

***Figura 15**: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + 3-AMP. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração 1,0x10^{-3} mol L^{-1}, com as adições de: (—) 6,9x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 1,2x10^{-4} mol L^{-1}, (—) 1,9x10^{-4} mol L^{-1} e (—) 2,4x10^{-4} mol L^{-1} de 3-AMP. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.* 70

***Figura 16**: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista, 11-AMU + C_4OH. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração 1,0x10^{-3} mol L^{-1}, com as adições de: (—) 1,2x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 1,5x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 2,8x10^{-4} mol L^{-1}, (—) 4,8x10^{-4} mol L^{-1} e (—) 5,8x10^{-4} mol L^{-1} de C_4OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura 100 mV s^{-1}.* 72

***Figura 17**: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + C_4OH. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração 1,0x10^{-3} mol L^{-1}, com as adições de: (—) 1,2x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 1,5x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 2,8x10^{-4} mol L^{-1}, (—) 4,8x10^{-4} mol L^{-1} e (—)5,8x10^{-4} mol L^{-1} de C_4OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.* 73

***Figura 18**: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista 11-AMU + C_6OH em solução (—) 11-AMU de concentração $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (—) $6,9x10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $3,7x10^{-4}$ mol L^{-1}, (—) $4,6x10^{-4}$ mol L^{-1} e (—) $6,5x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_6OH, em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, a 100 mV s^{-1}. 76*

***Figura 19**: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + C_6OH: (—) 11-AMU de concentração $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (—) $6,9x10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $3,7x10^{-4}$ mol L^{-1}, (—) $4,6x10^{-4}$ mol L^{-1} e (—) $6,5x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_6OH, em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso. 77*

***Figura 20**: Comparação dos valores de resistência de transferência de carga em função das diferentes concentrações (dos alcanotióis de cadeia menor) para os as misturas 11-AMU + C_2OH (■), 11-AMU + 3-AMP (○), 11-AMU + C_4OH (Δ) e 11-AMU + C_6OH (□). Eletrólito composto por tampão BR 0,1 mol L^{-1} contendo 4 mmol L^{-1} de $Fe(CN)_6^{4-}$. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso. 81*

***Figura 21**: Voltamograma cíclico do eletrodo de Au modificado com a SAM obtida pela mistura de $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1} de 11-AMU + $1,2x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, a 100 mV s^{-1}. Perfil semelhante ao perfil sigmóide característico de um ultramicroeletrodos de Φ = 25 μm, observado no inset da figura, nas mesmas condições. 82*

***Figura 22**: Variação do perfil voltamétrico em função da velocidade de varredura: (—)10 mV s^{-1}, (—)25 mV s^{-1}, (—) 50 mV s^{-1}, (—) 75 mV s^{-1}, (—) 100 mV s^{-1}, (—) 150 mV s^{-1} e (—) 200 mV s^{-1}, para a mistura $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1} de 11-AMU + $1,2x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH, em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. ..... 84*

***Figura 23**: Relação das correntes limites de difusão com a raiz da velocidade de varredura para os dados da Figura 22. ..... 85*

***Figura 24**: Z' em função de $\omega^{-1/2}$ e a regressão linear correspondente (linha vermelha) obtida para regiões da curva de baixas freqüências, para o eletrodo modificado com a SAM formada pela mistura de $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1} de 11-AMU + $1,2x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso. 87*

***Figura 25**: Relação entre Z" e $\omega^{-1/2}$ para o eletrodo da Figura 22. ..... 88*

***Figura 26**: Esquema da disposição entre as moléculas no UME-SAM com o valor do raio r_a e da distância r_b. 89*

***Figura 27**: Variação de massa em função do tempo de adsorção para o alcanotiól 3-AMP. 91*

***Figura 28**: Variação de massa em função do tempo de adsorção para o alcanotiól 11-AMU. 93*

LISTA DE TABELAS

***Tabela 1**: Concentrações utilizadas dos alcanotióis 3-AMP, C_2OH, C_4OH e C_6OH para a formação de misturas binárias com a solução 11-AMU 1 mmol L^{-1}* *42*

***Tabela 2**: Correntes de pico para os voltamogramas apresentados na Figura 7.* *49*

***Tabela 3**: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C, resistência do filme, R_{ct}, e o grau de recobrimento θ_{EIE} obtidas para as SAMs 11-AMU, C_2OH, C_4OH, C_6OH e 3AMP, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.* *52*

***Tabela 4**: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos para a primeira varredura redutivas, dos eletrodos de ouro modificados com as SAMs.* *58*

***Tabela 5**: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência do filme, R_{ct}, obtidas para os eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_2OH, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.* .. *64*

***Tabela 6**: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos para a primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_2OH.* *66*

***Tabela 7**: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência do filme, R_{ct}, obtidas para os eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + 3AMP, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.* .. *69*

***Tabela 8**: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos para a primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + 3AMP.* *71*

***Tabela 9**: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência do filme, R_{ct}, obtidas para os eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_4OH, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.* .. *74*

***Tabela 10**: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos para a primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_4OH.* *75*

***Tabela 11**: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência do filme, R_{ct}, obtidas para os eletrodos modificados com a mistura 11AMU + C_6OH, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.* ... *78*

***Tabela 12**: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos para a primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_6OH.* *79*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SAMs – Monocamadas auto-organizadas (do inglês: self-assembled monolayers)

UMEs – Ultramicroeletrodos

11-AMU – Ácido 11-mercaptoundecanóico

3-AMP – Ácido 3-mercaptopropiônico

C_2OH – 2-mercaptoetanol

C_4OH – 1-mercapto-4-butanol

C_6OH – 1-mercapto-6-hexanol

EQCM – Microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (do inglês: electrochemical quartz crystal microbalance)

EIE – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO *1*

1.1 Modificações de superfícies com monocamadas **1**

1.2 Contexto histórico das monocamadas auto-organizadas **4**

1.3 Preparação das Monocamadas Auto-Organizadas sobre superfícies de ouro **9**

1.3.1 Pré-tratamento da superfície de ouro 10

1.3.2 Moléculas adsorventes: alcanotióis 13

1.3.3 Interação adsorvente-solvente 15

1.3.4 Cinética de formação das SAMs 16

1.4 Química da interface alcanotiól/ouro **20**

1.4.1 As reações de Adsorção e Dessorção 20

1.4.2 Remoção das SAMs da superfície 22

1.5 SAMs como barreira no transporte de elétrons **23**

1.6 Bloqueio, Defeitos e Pinholes nas SAMs **24**

1.6.1 Caracterização das SAMs por técnicas eletroquímicas 26

1.7 Revisão Bibliográfica **28**

2. OBJETIVOS *34*

3. PARTE EXPERIMENTAL *35*

3.1 Reagentes e Soluções **35**

3.2 Materiais e Instrumentos **36**

3.2.1 Medidas Voltamétricas 36

3.2.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) 37

3.2.3 Microbalança de Cristal de Quartzo (QCM) 37

3.2.4 Instrumentação Geral 39

3.3 Procedimentos Experimentais **40**

3.3.1 Limpeza da superfície de ouro 40

3.3.2 Determinação da área eletroquímica do eletrodo de ouro 41

3.3.3 Preparação das Monocamadas Auto-Organizadas de alcanotióis 41

3.3.4 Medidas Eletroquímicas 43

3.3.5 Medidas de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica 43

3.3.6 Estudos de Microbalança de Cristal de Quartzo 44

4. *RESULTADOS E DISCUSSÃO* 46

4.1 Caracterização das SAMs 46

4.1.1 Caracterização das SAMs dos alcanotióis 11-AMU, C_2OH, C_4OH, C_6OH e 3-AMP 47

4.2 Misturas binárias dos alcanotióis 59

4.2.1 Mistura 11-AMU + C_2OH 60

4.2.2 Mistura 11-AMU + 3-AMP 66

4.2.3 Mistura 11-AMU + C_4OH 71

4.2.4 Mistura 11-AMU + C_6OH 76

4.2.5 Comparação dos valores de resistência de transferência de carga, R_{ct}, das diferentes misturas de alcanotióis 80

4.3 Perfil de Ultramicroeletrodo 81

4.4 Cinética de formação de monocamadas in situ por microbalança de cristal de quartzo 90

5. *CONCLUSÕES* 96

6. *PERSPECTIVAS FUTURAS* 98

7. *REFERÊNCIAS BIBILIOGRÁFICAS* 99

1. INTRODUÇÃO

1.1 Modificações de superfícies com monocamadas

As pesquisas sobre eletrodos quimicamente modificados (EQM) iniciaram-se na década de 70, por meio de grupos de pesquisa, como de Hubbard [1,2], Murray [3] e Millar [4]. O principal objetivo dessa modificação é pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo-solução como uma forma de alterar a reatividade e a seletividade do sensor base, tornando as suas propriedades muito mais atraentes, favorecendo assim, o desenvolvimento de eletrodos para vários fins e aplicações [5], desde a catálise de reações orgânicas e inorgânicas [6] até a transferência de elétrons para moléculas de interesse [7].

Dentre as funções básicas de um EQM estão as interações seletivas e pré-concentração de um analito na camada modificadora, eletrocatálise de reações redox com transferência eletrônica lenta sobre o eletrodo base, permesseletividade para inibir interferentes, incorporação de biomoléculas, particularmente no desenvolvimento de biossensores e imunossensores, assim como sensibilidade, seletividade, estabilidade, reprodutibilidade e aplicabilidade superiores àquelas de um eletrodo base sem modificação [5].

Um EQM consiste de duas partes, isto é, o eletrodo base e a camada do modificador químico, que depende das características analíticas desejadas do sensor. A escolha do material para o eletrodo base, cuja superfície sofrerá a modificação, deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e também ser adequado para o método de imobilização escolhido. Entre os materiais

convencionais podemos citar ouro, platina, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono, pasta de carbono [5,8] e outros.

De forma geral, os métodos mais importantes utilizados para a introdução de um agente modificador sobre o eletrodo base consistem em adsorção irreversível direta, onde o composto é incorporado de maneira simples e rápida na base do eletrodo [9]; ligação covalente a sítios específicos da superfície do eletrodo, isto é, por meio da manipulação da reatividade dos grupos funcionais existentes na superfície do eletrodo [10]; recobrimento com filmes poliméricos, imobilizando multicamadas da espécie ativa na superfície do eletrodo, ampliando a resposta eletroquímica [11] e/ou ainda a modificação com materiais compósitos como eletrodos à base de pasta de carbono, que possibilita a modificação interna do material eletródico [12].

Metodologias de modificações que vêm chamando a atenção, nos diversos campos de pesquisa, são as modificações de superfícies de eletrodos em nível atômico e molecular, que se tornaram populares com o desenvolvimento da eletroquímica em superfícies de monocristais [8], como por exemplo, nos estudos de deposição em regime de subtensão (UPD) [13] e nos estudos eletroquímicos pioneiros de Taniguchi *et al.* [14] sobre monocamadas auto-organizadas (SAMs, do inglês *self-assembled monolayer*) de dissulfetos e tióis sobre eletrodos de ouro [15]. Este tipo de modificação emprega monocamadas monomoleculares que exibem alta organização e que são formadas espontaneamente como conseqüência da imersão de uma superfície sólida em uma solução constituída de moléculas anfóteras [16].

Existem basicamente três abordagens por meio das quais as SAMs têm sido desenvolvidas e aplicadas em eletroquímica. Elas são classificadas de acordo com o mecanismo de fixação da monocamada sobre superfícies sólidas. A primeira técnica

de formação de SAM foi por meio da adsorção de moléculas de alquilclorossilanos e alquilaminossilanos sobre superfícies hidroxiladas de silício. A força motriz para a auto-organização é associada à formação de polissilanos, ligados aos grupos silanóis na superfície (-SiOH) via ligação Si-O-Si [16].

A segunda técnica de construção de monocamadas está relacionada com a técnica de Langmuir-Blodgett (LB), na qual um filme de espessura monomolecular denominado filme de Langmuir é formado sobre a superfície de uma subfase aquosa, e depois transferido para um substrato sólido, por meio da imersão e retirada do substrato, verticalmente, da subfase. A repetição dos processos de imersão e retirada permite a deposição de multicamadas, que podem ser altamente organizadas. Os materiais mais empregados na construção destes filmes são os ácidos graxos, álcoois, ésteres e fosfolipídios de cadeias longas, ou seja, moléculas com partes polares e apolares bem definidas, conhecidas como anfifílicos [17].

A terceira categoria, que receberá destaque neste trabalho, são as monocamadas auto-organizadas com moléculas funcionalizadas sobre superfícies metálicas. Esse tipo de formação envolve a adsorção irreversível de alcanotióis com grupos funcionais variados em superfícies metálicas. Os sistemas mais utilizados têm sido os tióis e alcanotióis sobre superfícies de ouro, devido à estabilidade da ligação Au-SR, resultando em uma estrutura ordenada e orientada [8,15,16], como aquela apresentada no esquema da Figura 1, a seguir:

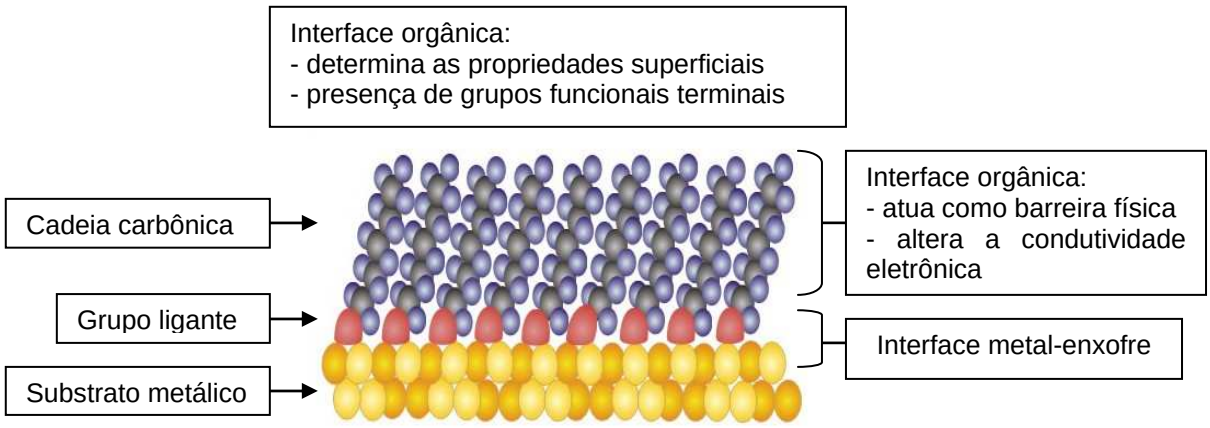

Figura 1: Estrutura de uma monocamada auto-organizada sobre substrato de ouro.

Além disso, o desenvolvimento de superfícies com propriedades e funções distintas é possível devido aos diferentes grupos funcionais da molécula dos alcanotióis, que viabilizam interações quase específicas entre a superfície eletródica com materiais biológicos, características tal que têm levado ao uso extensivo de eletrodos modificados com SAMs para a fabricação de imunossensores e biossensores enzimáticos [5,9,11].

1.2 Contexto histórico das monocamadas auto-organizadas

A idéia de formar monocamadas auto-organizadas sobre substratos não é nova, sendo conhecida desde a década de 40. Nesta época, a auto-organização de moléculas orgânicas já tinha sido estudada, utilizando interações ácido-base para a adsorção de monocamadas em substratos. Em 1946-47, Zisman *et al.* fizeram pela primeira vez estudos mais avançados de SAMs de cadeias longas de alcanos, dentre eles alquilálcoois, alquilaminas e ácidos alquilcarboxílicos adsorvidos em substratos de vidro, metais e óxidos metálicos [16,18,19]. Eles perceberam que estes sistemas eram capazes de formar espontaneamente monocamadas

orientadas, que possuíam propriedades interfaciais, como molhabilidade e adesão, características que podiam ser controladas pela mudança dos grupos funcionais terminais das moléculas orgânicas.

Apesar da potencialidade das SAMs formarem monocamadas, naquele momento não houve interesse pela comunidade científica em explorá-las [16]. Contudo, a idéia de auto-organização por meio de moléculas orgânicas foi acatada por alguns pesquisadores da época [20], que mais tarde, desenvolveram novas metodologias e técnicas para a formação das SAMs, tornando-se assim, alvo de muitas linhas de pesquisa.

Dentre os pesquisadores, Hubbard *et al.* estudaram a estrutura de uma variedade de moléculas adsorvidas sobre eletrodos, para melhor entender as interfaces com estruturas organizadas no vácuo e na interface sólido-líquido [21]. Durante anos, o substrato mais utilizado foi a platina, por causa da grande variedade de moléculas capazes de se adsorverem sobre esta superfície, mostrando evidências de uma organização espontânea de monocamadas orgânicas [16].

Em 1983, Nuzzo e Allara reportaram o uso de uma nova técnica na preparação de SAMs por meio de moléculas orgânicas de dissulfetos com uma variedade de grupos funcionais terminais adsorvidas quimicamente sobre substrato de ouro, formando uma ligação ouro-enxofre forte e específica [15,22]. Em contraste com os substratos de platina utilizados até então, a superfície de ouro foi bem aceita por ser um metal menos reativo na quimissorção de muitas moléculas orgânicas [15,22]. Essa característica, e também a inércia de grupos funcionais polares na superfície do ouro, é extremamente conveniente para a formação de SAMs com diferentes grupos funcionais. Esta utilização do ouro como substrato foi pioneira pois, antes desta época, as modificações envolvendo o substrato de ouro eram

feitas sempre por adsorção física reversível de moléculas orgânicas e inorgânicas, mas nunca por adsorção química [14,15].

A especificidade e estabilidade de compostos organossulfurosos quimicamente adsorvidos sobre superfícies de ouro foram essenciais para o estudo da formação de uma variedade de modelos de SAMs, assim como para suas caracterizações estruturais e de outras propriedades por meio de métodos químicos e físicos [23-25]. Essas técnicas caracterizam a formação da ligação ouro-enxofre, formando um novo tipo de SAMs, desencadeando diversos estudos nas ciências de superfície para um entendimento mais amplo destas estruturas, inclusive nos níveis atômicos [26].

Desde o primeiro relato por Nuzzo e Allara [15], muitos pesquisadores se interessaram pelas propriedades físico-químicas e características estruturais de SAMs baseados em alcanotióis sobre ouro, especialmente, Bain e Whitesides [23-25]. Eles focaram sua sistemática de estudo em desenvolver modelos de superfícies modificadas com uma variedade de SAMs baseados em alcanotióis de cadeia longa ω-substituídos, $X(CH_2)_nSH$ com diferentes grupos terminais X [23,25]. Estes alcanotióis adsorvem-se sobre ouro formando monocamadas orientadas e densamente empacotadas. Assim, eles puderam explorar a relação entre a estrutura microscópica da monocamada e a variedade de grupos funcionais, X, terminais da SAMs e suas propriedades macroscópicas. Estudaram também em detalhes a relação entre molhabilidade e a estrutura dessas monocamadas [25,27,28]. Posteriormente, outros modelos similares a esses foram estudados utilizando SAMs sobre prata e/ou cobre [29], os quais possuem outras variedades de fatores estruturais de interesse para o entendimento na influência da auto-organização das SAMs.

Há um consenso entre os diversos pesquisadores que utilizam várias técnicas para caracterizar essas monocamadas, de que as técnicas utilizadas para caracterizar as SAMs formadas basicamente por alcanotióis, proporcionam informações suficientes para considerá-las superfícies orgânicas estruturalmente bem definidas em nível molecular. Essas características pronunciadas em SAMs sobre substrato de ouro possibilita um ótimo entendimento no processo de auto-organização [16,20]. Dessa forma, o entendimento da cinética e da dinâmica do processo de formação das SAMs sobre ouro foi, e ainda é, de extrema importância. Experimentos de cinética de formação de SAMs sobre ouro em solução, foram realizados por Bain *et al.*, utilizando a técnica de Elipsometria Óptica, porém os dados obtidos não foram condizentes com o modelo que descreve a inclinação da cadeia carbônica formando um ângulo α variável em relação à superfície de ouro. Variações na estrutura e nos grupos terminais alterariam o ângulo de inclinação para valores maiores ou menores, afetando assim a cinética de formação das monocamadas. As razões destas discrepâncias ainda não foram totalmente elucidadas [25].

Mais tarde, diversos grupos de pesquisa estudaram a cinética de formação de SAMs de maneira quantitativa, por meio de técnicas espectroscópicas, para analisar a natureza das ligações químicas existentes entre o grupo mercapto e o substrato de ouro [26], como geração de segundo-harmônico (SHG, do inglês *second-harmonic generation*) [30], geração de soma de freqüência (SFG, do inglês *sum-frequency generation*) [31], microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (EQCM, do inglês *electrochemical quartz cristal microbalance*) que serve para avaliar a variação de freqüência associada à variações de massa do sistema, como adsorção e dessorção de monocamadas [32], ressonância de plásmon de superfície

(SPR, do inglês *surface plasmon resonance*) utilizada para obter informações sobre a velocidade e extensão da adsorção de moléculas possibilitando determinações de propriedades dielétricas, constantes cinéticas, como associações e dissociações, bem como as constantes de afinidades em interações específicas) [33], espectroscopia de reflexão especular de infravermelho com transformada de Fourier (FTIRRAS, do inglês *Fourier transform infrared reflection absorption spectroscopy*) usada para medidas de freqüência de vibração de ligações intramoleculares, tais como, ν(C-S), ν(C-C), ν(C-H) e ν(S-H)) [34], e principalmente por técnicas eletroquímicas de análise.

A reatividade química é um aspecto importante das SAMs, principalmente em suas aplicações. As SAMs consistem de três partes. A primeira é a interface SAM/substrato, onde existe o sítio reacional da ligação do composto organossulfuroso com a superfície de ouro, para a formação da ligação enxofre-ouro; a segunda é em volta da interface SAM/fase (aquosa ou gasosa), na qual uma variedade de reações é possível modificando-se a superfície da SAM com diversos grupos funcionais terminais. Essa interface pode ser usada para a adsorção de uma variedade de biomateriais. A terceira é a parte intermediária entre as duas interfaces, ou seja, a estrutura espacial do interior da monocamada [35], onde ocorre a transferência eletrônica que é amplamente estudada por meios eletroquímicos de análise, como será discutida com mais detalhes.

No que diz respeito à aplicações das SAMs, inúmeros temas têm sido abordados, e uma variedade de estudos interdisciplinares foram estabelecidos desde que estudos eletroquímicos foram feitos, incluindo as ciências de superfície, como, química de materiais e físico-química [16,20,33], bioquímica e biologia [36] e eletroquímica [16,37].

Nos últimos anos, as técnicas de formação de SAMs tiveram uma grande participação no entendimento e controle de sistemas eletrônicos moleculares [33], biossensores [8] e em biomateriais [38] e vêm contribuindo cada vez mais para o desenvolvimento das ciências. Assim, os cuidados na preparação das SAMs são de grande importância para se conseguir monocamadas com propriedades condizentes àquelas já conhecidas da literatura e dessa forma, este trabalho vêm contribuir com as principais informações para a formação de monocamadas e para ajudar no entendimento destes sistemas.

1.3 Preparação das Monocamadas Auto-Organizadas sobre superfícies de ouro

Uma variedade de substratos podem ser utilizados para a formação de SAMs de compostos organossulfurosos, como os metais prata, platina, paládio e cobre, os semicondutores e os óxidos como ITO (óxido de Estanho dopado com Índio) [39]. Porém o material mais utilizado no desenvolvimento de novas metodologias e técnicas de investigação de monocamadas de alcanotióis é o ouro, devido à estabilidade e à fácil obtenção das monocamadas formadas por meio da ligação Au-SH [8,16].

Apesar da facilidade de obtenção de monocamadas nestas superfícies, diversos fatores experimentais podem afetar a estrutura da monocamada resultante, sua taxa de formação e principalmente sua reprodutibilidade [40,41]. Muitas das aplicações das SAMs requerem a otimização de condições especiais a fim de minimizar a formação de defeitos estruturais como, por exemplo, em estudos de corrosão [40]. Por outro lado, algumas aplicações exigem o aparecimento de irregularidades (os quais podem facilitar a transferência eletrônica dependendo do

alcanotiól utilizado para a imobilização da biomolécula) na monocamada construída, como o caso de biossensores. Os fatores determinantes para a formação de monocamadas mais organizadas e homogêneas serão discutidos a seguir.

1.3.1 Pré-tratamento da superfície de ouro

É sabido da literatura que a resposta em termos de atividade, estabilidade e reprodutibilidade das SAMs têm grande dependência com as condições de superfície. Conseqüentemente o parâmetro limpeza da superfície do substrato é um dos requisitos mais importante na formação das SAMs com alta reprodutibilidade e com o mínimo de defeitos.

Superfícies contendo impurezas, principalmente os filmes finos de ouro sobre diferentes substratos, adquiridos por meio de técnicas como evaporação a vácuo, eletrodeposição e “sputtering”, inibem a adsorção dos alcanotióis pelo processo de troca, isto é, as impurezas presentes na superfície devem ser dessorvidas e trocadas pelas moléculas de alcanotióis, o que nem sempre ocorre com a velocidade desejada. Assim a limpeza da área ativa da superfície deve ser rigorosa para não afetar a cinética de formação das SAMs [8,40]. Um esquema da formação de monocamadas em superfícies irregulares é apresentado na Figura 2, onde se podem observar defeitos na monocamada provocados pela irregularidade e rugosidade da superfície do metal, tornando a monocamada menos homogênea e orientada.

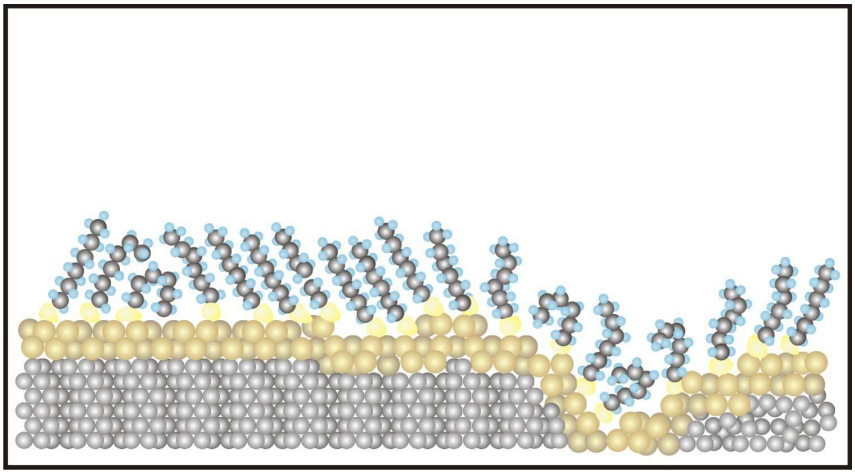

Figura 2: A irregularidade da superfície do substrato de ouro sem pré-tratamento para a formação das monocamadas auto-organizadas de alcanotióis.

Diversas metodologias de pré-tratamentos de superfícies de ouro para a formação das SAMs têm sido reportadas, incluindo-se, pré-tratamentos térmicos, mecânicos e eletroquímicos [40,42].

As técnicas de pré-tratamento mais utilizadas são os polimentos mecânicos com alumina [43]; a oxidação química por meio da radiação UV, plasma de O_2 [44] ou por solução fortemente oxidante como H_2SO_4/H_2O_2 (conhecida como solução “piranha”); limpeza eletroquímica realizada em solução 0,5 mol L^{-1} de H_2SO_4 pela ciclagem do potencial do eletrodo de ouro entre -1,5V e 1,8V (vs. Eletrodo de calomelano saturado - ECS) [45], redução química com etanol, muito utilizado após tratamento eletroquímico para certificar à limpeza da superfície e/ou a combinação de duas ou mais técnicas. Esta última metodologia é o caso da limpeza da superfície eletródica mais utilizado, e, freqüentemente, envolve a imersão da superfície do eletrodo, após polimento mecânico, por alguns minutos em solução fortemente oxidante recém preparada, consistindo de 1:3 H_2O_2 30% - H_2SO_4 concentrado, seguido pela limpeza eletroquímica durante vários ciclos [40]. Esses tratamentos

removem os materiais orgânicos contaminantes adsorvidos e formam uma camada de óxidos de ouro sobre a superfície do metal [46].

Uma nova exposição da superfície limpa às condições ambientes permite que novas impurezas adsorvam na superfície do eletrodo pré-tratado. Para que não ocorram novas adsorções indesejáveis, a formação da SAM deve ocorrer imediatamente após o pré-tratamento da superfície. O pré-tratamento do substrato por meio das técnicas acima descritas favorece a adsorção de moléculas de alcanotióis mais orientadas e organizadas devido à formação de uma superfície mais plana e orientada. Comparado às superfícies monocristalinas, o tratamento de superfícies policristalinas de ouro deve ser feito com maior atenção, pois estas estruturas apresentam maior rugosidade e defeitos devido às diferenças em suas redes cristalográficas [40].

Carvalhal *et al.* avaliaram três diferentes técnicas de limpeza para ouro policristalino, verificando diferenças significativas para a formação da SAM. Na limpeza mecânica observou-se que, apenas com o polimento mecânico, a rugosidade do ouro aumenta significativamente, porém esta pode ser diminuída com a adição da limpeza eletroquímica. Mesmo assim, a superfície não se torna livre de defeitos. A melhor combinação de técnicas de limpeza observada foi por meio da oxidação química com solução fortemente oxidante (por exemplo, uma solução 1:3 em volume de H_2O_2 30% e H_2SO_4 concentrado), para otimizar a limpeza e a ativação da superfície do ouro e a limpeza eletroquímica, em H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}, minimizando a rugosidade do ouro policristalino, obtendo uma maior reprodutibilidade da superfície exposta para a adsorção das moléculas de alcanotióis. Fica evidente que estratégias de pré-tratamento de superfícies para a formação de SAMs são de

extrema importância para a formação de estruturas mais orientadas e organizadas com o mínimo de defeitos possíveis.

1.3.2 Moléculas adsorventes: alcanotióis

Os tipos de compostos organossulfurosos que podem se adsorver sobre ouro devido à forte interação Au-SR, apresentam ampla diversidade. Muitos destes compostos podem ser agrupados em categorias baseadas em sua estrutura (alifáticos ou aromáticos), tipo de substituintes (pequeno, volumoso, eletroativo, etc.), e outras propriedades associadas (polimerização, reatividade, etc.) [39]. Uma característica importante que estes compostos devem ter é a inércia em relação ao substrato de ouro, isto é, que não ocorram interações entre o adsorvente e o substrato, a não ser a formação das ligações Au-SR, no caso de ouro e o alcanotiól, e também que os adsorventes não reajam entre si [42].

As SAMs são normalmente formadas sobre metais de transição como o ouro, a platina e o cobre, a partir de moléculas que possuam ao menos um grupo funcional rico em elétrons, como S, O e N. Isso é decorrente da afinidade entre a superfície e o grupo que é forte o suficiente para formar ligações covalentes que, em geral, possuem energias de ligação maiores que 41,8 kJ mol^{-1} e também interações laterais entre moléculas adjacentes (no caso dos alcanotióis, os grupo $-CH_2$) onde as energias de interações laterais devem ser menores que 41,8 kJ mol^{-1}, devido às forças de van der Waals, ou seja, insuficientes para promoverem a dessorção da monocamada, porém suficientes para manter o arranjo da SAM [33]. O conjunto dessas interações confere à monocamada uma estabilidade muito maior que a de unidades individuais adsorvidas. Assim, as moléculas de alcanotióis são as mais

utilizadas para a formação de SAM por terem o grupo R–SR', favorecendo a ligação Au-SR [47].

Há diversos métodos de preparação de SAMs, porém o protocolo mais utilizado para preparar SAMs sobre eletrodos metálicos é pela imersão do eletrodo limpo em uma solução recém-preparada do alcanotiól escolhido, por determinado período, à temperatura ambiente [25]. Os alcanotióis mais freqüentemente estudados são: n-alcanotióis: ($HS-(CH_2)_{n-1}-CH_3$); α, ω-alcanoditióis: ($HS-(CH_2)_n-SH$); ω-mercaptoalcanol: ($HS-(CH_2)_n-OH$); ácido ω-mercaptoalcano carboxílicos: ($HS-(CH_2)_{n-1}-COOH$) e ácidos amino ω-mercaptoalcano [42]. Alcanotióis com grupos terminais sensíveis à mudanças de pH como -COOH e $-NH_2$ permitem o controle da densidade de carga da superfície da SAM em função da solução onde são imersas. Estas superfícies carregadas têm sido usadas para a imobilização eletrostática de enzimas em biossensores [48], obtenção de capacitores, assim como estudos de equilíbrio ácido-base em diferentes superfícies [49].

As SAMs de tióis aromáticos também têm recebido destaque nos últimos anos em diversas aplicações. Estes compostos aromáticos são interessantes por uma variedade de razões: são moléculas altamente anisotrópicas, possuem fortes interações intermoleculares e alta condutividade elétrica devido à delocalização de elétrons do anel benzênico, favorecendo a transferência de elétrons em reações eletroquímicas [39,42].

A estabilidade da SAM é uma característica importante que depende da escolha do composto adsorvente. Normalmente, SAM de cadeias curtas são menos estáveis que as de cadeias longas, pois a formação da SAM sobre eletrodos sólidos está diretamente relacionada com a intensidade das interações intermoleculares

entre as cadeias laterais [50], no caso dos alcanotióis as interações dos grupos metileno ($-\overset{|}{C}H_2$).

A mudança de grupos funcionais da molécula adsorvente localizada na interface filme-ar é importante para a determinação e direcionamento das forças de interação de moléculas ou espécies químicas de interesse para aplicação. Esses grupos funcionais terminais podem ser modificados após a monocamada ser disposta sobre determinada superfície, sendo que a incorporação de grupos cromóforos, eletroativos ou outras moléculas possibilitam estudos nas áreas de desenvolvimento de sensores, transferência eletrônica, adesão de células e/ou adsorção de polímeros [47].

1.3.3 Interação adsorvente-solvente

O processo de formação das SAMs é determinado pela energia e cinética de adsorção da molécula sobre o substrato. Por isso, este processo é fortemente dependente da estrutura do composto organossulfuroso, da concentração da solução, da polaridade e estrutura do solvente utilizado [26]. Os solventes mais freqüentemente utilizados são as soluções alcoólicas, como o etanol, que possui características redutoras, sobre superfícies oxidadas de ouro, e por dissolver uma variedade de tiocompostos com diferentes polaridades e tamanhos das cadeias carbônicas, por ser pouco tóxico, de baixo custo e de pureza elevada. Mas as SAMs podem ser preparadas utilizando uma variedade de solventes, incluindo hexadecano, isoctano, tetracloreto de carbono, cicloctano, tolueno, tetrahidrofurano, acetonitrila e dimetilformamida [25,42].

Os efeitos da escolha do solvente na cinética de formação e mecanismo de organização são complexos e pouco estudados. Uma das relações que se deve observar é a da interação solvente-substrato e solvente-adsorbato, pois se as moléculas do adsorbato possuírem maior interação com o solvente do que com a superfície metálica, a taxa de formação da SAM será afetada. Assim como se o solvente possuir maior afinidade pelo substrato, poderá ocorrer um impedimento da troca das moléculas do solvente pelas do adsorbato, dificultando a formação de uma monocamada organizada e orientada [42,51].

De acordo com os poucos estudos realizados sobre a influência do solvente na adsorção do adsorbato sugere-se que a taxa de formação da SAM por meio de alcanotióis é mais rápida em certos solventes apolares de cadeias carbônicas como heptano e hexano, do que em etanol [52], porém nenhum estudo mais efetivo mostrou qualquer influência ou interações mais fortes do solvente-adsorbato para que esta escolha fosse acatada. Medidas eletroquímicas e de ângulo de contato com SAMs formadas com adsorventes em solventes orgânicos não polares mostraram que estas são menos organizadas que aquelas formadas em etanol [25].

Apesar das evidências de que a escolha do solvente influencia na taxa de formação de monocamadas de maior qualidade, há uma falta de estudos efetivos para a maior compreensão desde processo durante a formação das SAMs.

1.3.4 Cinética de formação das SAMs

A energia e o mecanismo de formação das SAMs sobre a superfície de ouro é fortemente dependente das estruturas e propriedades dos compostos organossulfurosos utilizados, além do método de deposição, seja em solução ou em

fase gasosa. Particularmente, na formação da SAM por meio da imersão da superfície do eletrodo em solução é necessária a escolha de condições otimizadas para que a monocamada seja formada, tais como, solvente, como discutido anteriormente, concentração dos componentes da solução, temperatura de adsorção e principalmente tempo de imersão [16,39].

Whitesides *et al.* compararam a taxa de formação de SAMs em solução de tióis e ditióis [53], deixando evidente que a velocidade de formação de alcanotióis é 50 vezes mais rápida que a do outro composto. Segundo Whitesides, a oxidação da ligação S-S antes da adsorção no substrato de ouro para a formação da ligação Au-SH é uma etapa adicional, tornando a adsorção lenta comparado à adsorção do alcanotiól [16].

Além da influência do composto na cinética de formação da SAM, o tempo de formação é uma etapa fundamental nesta compreensão. A técnica de imobilização de SAM sobre a superfície do eletrodo por meio da imersão em solução é freqüentemente feita em um período de 24 horas, mas esse período de formação é uma das características mais discutidas na preparação das SAMs [33,42]. Pesquisas sobre a formação dessas monocamadas mostram que durante o processo de imersão a cinética de adsorção da SAM sobre a superfície do eletrodo pode ser descrita em duas etapas seguindo o modelo de Langmuir, no qual há uma quimissorção caótica inicial, seguida de uma etapa de organização dependente do tempo [54]. De maneira geral, inicialmente há um crescimento muito rápido na espessura do filme, cerca de 80% a 90% do valor final, em poucos minutos, seguida por um processo lento, onde adsorção e organização se aproximam de um valor de equilíbrio em aproximadamente 10 a 20 horas [42,55]. Desse período em diante é necessário que o eletrodo fique por um período de tempo mais longo (≥24 horas)

para assegurar uma alta qualidade na SAM formada, isto é, com a maior cobertura da área superficial possível, porém este período depende da molécula adsorvente usada [42]. Um esquema da cinética de formação de monocamadas ao longo do tempo pode ser observado na Figura 3.

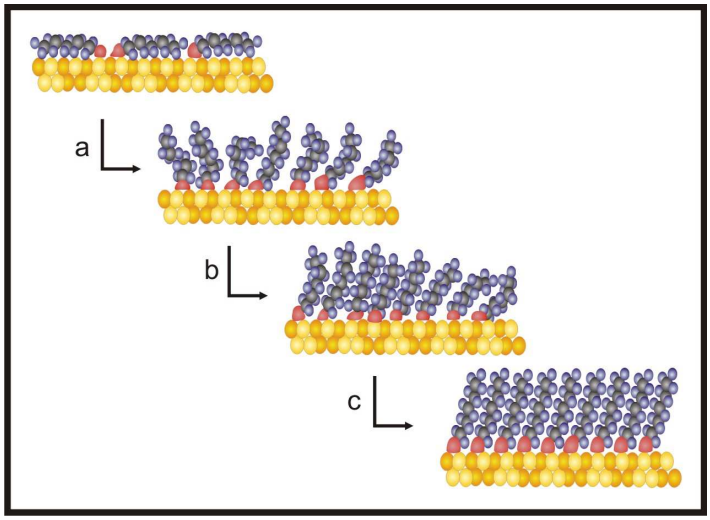

Figura 3: Esquema da cinética de formação de SAM. As duas etapas de formação de uma monocamada descrita pelo modelo de Langmuir: (a) a etapa inicial é caracterizada pela rápida adsorção e crescimento da espessura do filme, seguida por um processo mais lento (b) de adsorção e organização, até a formação final (c) da monocamada auto-organizada.

Outros estudos mostram que um método direto de formação da SAM, mais efetivo e rápido, livre de defeitos e bem empacotado pode ser conseguido gotejando uma quantidade conhecida de solução do alcanotiól sobre a superfície limpa do eletrodo, deixando secar à temperatura ambiente por 20 minutos. Esta técnica foi avaliada, obtendo uma monocamada estável de SAM e com características similares àquelas formadas pelo método de imersão, porém em um tempo menor [56].

Devido às divergências existentes a respeito das constantes de formação das SAMs, várias técnicas e métodos de análise são descritos na literatura. Estudos da cinética de formação, baseados na capacitância interfacial da superfície modificada,

calculada por meio da espectroscopia de impedância eletroquímica, foram realizados por Subramanian e Lakshminarayanan [41]. Kubota *et al.* utilizaram a ressonância de plásmons de superfície (SPR) para estudar a cinética de adsorção de SAM de alcanotióis em discos de ouro acompanhando a variação da constante dielétrica do filme, mediante um acompanhamento da reflectividade da luz incidente ou do ângulo de ressonância pelo tempo [57].

Uma outra técnica para o estudo da cinética da adsorção de alcanotióis sobre ouro é o da microbalança a cristal de quartzo (QCM), empregada, para este estudo, por Karpovich e Blanchard que estimaram a taxa de formação de monocamadas de n-alcanotióis de cadeia longa sobre ouro policristalino em tempo real, utilizando gravimetria em QCM. Neste estudo, observou-se a adsorção de 0,3 mmol L^{-1} de octanodecanotiól em hexano sobre eletrodos de ouro policristalinos de forma rápida, dentro de 3 a 4 segundos, seguindo uma isoterma simples de Langmuir [58].

Ulman *et al.* [39] demonstrou grande interesse pela técnica, estudando a cinética de adsorção de alcanotióis em ouro por meio da QCM. As técnicas experimentais deste estudo foram baseadas em dois fatores. O primeiro foi de que as medidas de mudança de massa associada com a adsorção são determinadas pela formação inicial da monocamada. Em outras palavras, a adsorção do alcanotiól sobre a superfície de ouro é determinada pela formação da ligação Au-SR, processo que é detectado pela QCM. A segunda razão é que a técnica pode ser usada em medidas *in situ,* o que facilita a descrição detalhada do processo de formação da SAM. Por isso, a QCM foi uma das técnicas de caracterização do processo cinético de formação da SAM utilizada neste trabalho.

1.4 Química da interface alcanotiól/ouro

1.4.1 As reações de Adsorção e Dessorção

Para a formação de uma SAM, são necessárias três etapas: a quebra da ligação SH, a formação da ligação AuS e o destino do $H^{\bullet}$ remanescente. A reação de adsorção inicial pode proceder tanto pela dissociação iônica do alcanotiól quanto pela formação do $H^{\bullet}$,

$$RSH + Au \rightarrow RSAu^{-} + H^{+} \qquad \text{(i)}$$

$$RSH + Au \rightarrow RSAu + H^{\bullet} \qquad \text{(ii)}$$

Baseado em evidências eletroquímicas, a reação (ii) é favorecida em relação à reação (i), pois a formação de H_2 é termodinamicamente favorável [39]. O efeito hidrofóbico da monocamada pode contribuir para a formação de SAM na superfície sólida, principalmente em relação ao equilíbrio termodinâmico de todo processo, pois a variação de entropia de adsorção e formação de uma SAM implica em uma redução de entropia em relação ao soluto em solução aquosa [58]. Em outras palavras, há um aumento significante na ordem do sistema devido à limpeza, a solvatação da superfície do metal e o arranjo bidimensional da organização dos alcanotióis para a formação da monocamada [39].

Dessa forma, o processo físico-químico de adsorção e dessorção eletroquímica podem ser representados pelas seguintes reações:

$$RSH_{(sol)} + Au_{(s)} \rightarrow RSAu_{(s)} + \tfrac{1}{2} H_{2(sol)} \qquad \text{(iii)}$$

$$RSAu_{(s)} + \tfrac{1}{2} H_{2(sol)} \rightarrow RSH_{(sol)} + Au_{(s)} \qquad \text{(iv)}$$

Estudos envolvendo as contribuições de entalpia de formação e dinâmica das monocamadas tem sido foco de diversos estudos, sendo que, estudos do fenômeno de dessorção eletroquímica são comumente utilizados para caracterizar SAMs [39,47].

A dessorção eletroquímica de alcanotióis da superfície de um metal utilizando solução aquosa alcalina foi reportada pela primeira vez como método de caracterização por Porter *et al.,* onde varreduras voltamétricas a baixas velocidades mostraram alguns detalhes do equilíbrio das SAMs, tais como, interações intermoleculares e a energia de adsorção de Gibbs [59]. Widrig *et al.* estudaram a adsorção e a dessorção de uma série de alcanotióis sobre ouro e prata, sugerindo pela primeira vez, cálculos do excesso superficial das SAMs, a partir dos picos de redução dessortiva das monocamadas, obtendo valores de recobrimento na ordem de 10^{-10} mol/cm^2 moléculas de alcanotióis, tanto sobre ouro, quanto sobre prata [60].

Segundo a literatura, a dessorção de monocamadas inicia-se a partir dos monômeros localizados nas regiões de defeito e imperfeições das monocamadas. A redução eletroquímica é um processo reversível e acredita-se que após essa redução há uma etapa de formação de estruturas micelares e aglomerados com os tióis dessorvidos, onde partes dessas estruturas se difundem, enquanto parte pode ser readsorvido se o potencial aplicado retornar a potenciais positivos [60]. O potencial de dessorção depende do tamanho da cadeia carbônica do alcanotiól, da cristalinidade da superfície e de grupos terminais funcionais, enquanto que a área do pico de dessorção independe desses fatores. O aparecimento de dois picos voltamétricos pode ser atribuído a dois diferentes locais de adsorção ou a diferentes tipos de adsorção, isto é, quimiadsortivo ou fisioadsortivo [59]. A reprodutibilidade depende da cristalinidade do ouro e de como esta superfície foi pré-tratada [61].

Para que ocorra a dessorção eletroquímica, a superfície com a SAM é imersa em soluções aquosas ou etanólicas, contendo eletrólitos suporte em pH básico ou neutro [62].

1.4.2 Remoção das SAMs da superfície

Diferentes técnicas para remover as SAMs de superfícies como o ouro são descritas na literatura. Técnicas como a dessorção térmica em monocristais utilizando ultra alto vácuo (UHV), o polimento mecânico e o tratamento com oxidantes ou redutores químicos fortes, como a solução “piranha” (H_2O_2:H_2SO_4) são procedimentos efetivos na remoção superficial de monocamadas [51].

Para as monocamadas de alcanotióis, três metodologias vêm sendo empregadas para a dessorção: a dessorção eletroquímica, o deslocamento por troca e a foto-oxidação.

A dessorção eletroquímica é a mais empregada, pois os alcanotióis sofrem dessorção redutiva quando potenciais mais negativos são aplicados em eletrodos metálicos, de acordo com o mecanismo de dessorção descrito anteriormente. Um potencial típico de dessorção para alcanotióis encontrado na literatura é de -1,0 V (vs. Ag/AgCl/KCl saturado), mas este valor pode variar em torno de ± 0,25 V conforme se altera a estrutura da cadeia carbônica [51,62].

O deslocamento por troca ocorre quando as moléculas que constituem uma SAM são expostas a soluções contendo outras espécies de alcanotióis ou dissulfetos, que trocam de posições gradualmente. Porém esta reação de troca não produz uma monocamada homogênea ou uniforme, assim como não retorna a

superfície ao seu estado de limpeza inicial. Mas é uma rota alternativa para gerar uma nova superfície modificada em um substrato já recoberto com uma SAM [63].

A metodologia de remoção que emprega a foto-oxidação baseia-se na oxidação das SAMs da superfície de ouro quando expostas à irradiação ultravioleta (UV). Os grupos alcanotióis se convertem em sulfatos e a SAM oxidada é facilmente removido da superfície usando solventes polares como o etanol ou a água. Apesar deste mecanismo ainda não ser completamente entendido, sabe-se que a taxa de oxidação diminui com o aumento da cadeia carbônica do alcanotiól que forma a SAM [64].

1.5 SAMs como barreira no transporte de elétrons

O entendimento dos processos de transferência eletrônica em escalas nanométricas é uma das vantagens associadas ao uso das SAMs. Outras vantagens estão relacionadas ao caráter dielétrico das monocamadas, à formação rápida e reprodutível de monocamadas com poucos defeitos, dependendo da molécula adsorvente, às estruturas altamente ordenadas e à difícil dessorção dessas monocamadas em soluções [65,66].

SAMs de alcanotióis com cadeias longas (dez carbonos ou mais) criam monocamadas com constantes dielétricas baixas entre o metal e a solução eletrolítica. A capacitância da interface eletrodo/SAM/eletrólito é reduzida em várias ordens de grandeza comparada à capacitância da interface eletrodo/eletrólito independente do potencial aplicado ou da composição do eletrólito. Conseqüentemente, há uma diminuição nas constantes de tempo e os efeitos da dupla camada elétrica da cela eletroquímica. Devido à separação das moléculas

redox da superfície do eletrodo por distâncias da ordem de nanômetros, a velocidade de transferência eletrônica diminui por ordens de magnitude comparadas à superfície desbloqueada [67].

Dessa forma, o estudo do comportamento da transferência eletrônica entre as monocamadas é um dos processos mais intrigantes na compreensão das suas características.

1.6 Bloqueio, Defeitos e Pinholes nas SAMs

As causas de defeitos ou imperfeições na formação das SAMs são de origens intrínsecas ou extrínsecas: fatores externos, como a limpeza e os métodos de preparação do substrato, assim como a pureza das soluções dos alcanotióis podem causar defeitos, como discutido anteriormente. Mas, certas imperfeições existem pelo simples fato de que sistemas auto-organizados são sistemas dinâmicos com complexos comportamentos de fase [51].

A formação perfeita de uma SAM previne que solventes e íons aproximem-se da superfície do substrato para que ocorram reações químicas. Assim, reações faradaicas envolvendo solventes, fluxo de íons ou moléculas redox sobre a superfície do eletrodo são fortemente inibidas [67].

Em uma monocamada com o mínimo de defeitos, a transferência de elétrons entre a superfície do eletrodo e a espécie redox requer que os elétrons tunelem entre as cadeias dos alcanotióis que formam a monocamada. Quando a corrente é controlada pela cinética de tunelamento e a velocidade de tunelamento é uniforme sobre toda a área do eletrodo, a corrente eleva-se exponencialmente com o potencial [68,69]. Na prática, as correntes do eletrodo que estão bloqueados pela

SAM, freqüentemente mostram picos ou platôs em potenciais diferentes daqueles potenciais formais das espécies redox. As correntes ou platôs são indicativos de que a transferência de elétrons é limitada pelo transporte de massa da espécie redox para o eletrodo [70,71]. Essas correntes são interpretadas como a transferência de elétrons entre os defeitos ou pinholes das SAMs [72,73].

Um defeito é uma região da SAM onde há espaços entre as moléculas do alcanotiól no qual a espécie redox pode penetrar até a superfície do eletrodo. Os pinholes são sítios expostos da superfície do eletrodo entre as moléculas do adsorbato. As técnicas mais empregadas para avaliar a presença de defeitos e pinholes nas SAMs são as técnicas eletroquímicas como a voltametria, devido ao fato de que a transferência de massa da molécula redox passa a ser não linear por esses defeitos ou pinholes, aumentando o fluxo de corrente [67,69,73], como acontece com os ultramicroeletrodos.

Miller *et al.* definiram critérios de caracterização de pinholes e defeitos por meio de experimentos eletroquímicos. Um dos critérios definidos é que o gráfico corrente-potencial é reprodutível de uma SAM para outra; correntes a potenciais constantes decrescem por um fator de 2 ou 3 quando a cadeia carbônica do alcanotiól aumenta; as correntes são insensíveis à mudanças que afetam o coeficiente de difusão como a viscosidade, bem como aos processos de preenchimento dos pinholes e defeitos, como a adição de surfactantes na solução de alcanotiól [74,75].

Devido a esses critérios, modelos qualitativos de pinholes e defeitos podem ser empregados, como é o caso dos arranjos de ultramicroeletrodos, porém uma determinação quantitativa da densidade e tamanho destes pinholes é muito difícil. O estudo pioneiro de Amatore *et al.* descreve um modelo de transferência de carga em

superfícies parcialmente bloqueadas [76]. Neste modelo, o efeito da difusão não-linear induzida pelo bloqueio parcial da superfície do eletrodo na direção da transferência eletrônica é analisado como um grande número de sítios ativos e inativos microscópicos, isto é, um arranjo de ultramicroeletrodos. Neste caso, o tamanho médio dos sítios ativos e a distância entre eles são menores que a camada de difusão total. Como resultado, a difusão não-linear é confinada a uma fina camada adjacente à superfície do eletrodo, sendo esta camada muito fina comparada à camada de difusão total. Segundo o modelo descrito, a resolução do problema de difusão pode ser simplificada conduzindo a descrição da polarização como função de dois parâmetros dimensionais experimentais, como: fração da área bloqueada, distância entre os sítios ativos, constante da velocidade padrão da transferência eletrônica e o tempo de resposta. De acordo com esses parâmetros são obtidas curvas de polarização quasi-reversíveis e curvas cinéticas, além da estimativa do tamanho e da distância entre os sítios ativos [76].

Este modelo é um dos mais utilizados para a descrição de sistemas complexos como o arranjo de ultramicroeletrodos em monocamadas de alcanotióis, adequando as equações deste modelo em sistemas reais.

1.6.1 Caracterização das SAMs por técnicas eletroquímicas

A combinação de SAM com técnicas eletroquímicas é um dos mais refinados sistemas de análise de filmes finos, principalmente pela possibilidade de controlar a reatividade da interface SAM/solução.

Modificações químicas em eletrodos para o uso em eletroquímica criam condições favoráveis para gerar monocamadas que previnam a livre difusão de espécies redox na superfície do eletrodo e na imobilização de espécies eletroativas.

As SAMs são mais utilizadas para as modificações de eletrodos para aplicações eletroquímicas do que filmes LB, pois apresentam vantagens como a formação espontânea, facilidade de remoção por processos mecânicos, relativa estabilidade em soluções para eletrólises, além de não sofrerem dessorção com facilidade, comparados aos filmes LB [77].

Há duas metodologias frequentemente empregadas em eletroquímica para o estudo do processo de transferência eletrônica com eletrodos modificados com SAM. Modificações com SAMs de cadeias hidrofóbicas são utilizadas para bloquear espécies redox, como $Fe(CN)_6^{4-/3-}$ e $Ru(NH_3)_6^{3+/2+}$, da difusão na superfície do eletrodo. A outra abordagem é a imobilização de moléculas eletroativas nos grupos funcionais terminal da SAM, no qual os efeitos difusionais são minimizados, comprovados por medidas da resposta de corrente [63,78].

Muitos dos fenômenos envolvendo a transferência eletrônica em eletrodos modificados por SAM incluem: parâmetros que afetam a transferência eletrônica por meio das cadeias alifáticas, tais como distância da superfície, eletrólito, temperatura e o metal; reações acopladas; efeito da solvatação das espécies eletroativas em um meio hidrofóbico; efeito do movimento de contra-íons nas velocidades de transferência eletrônica e efeitos da orientação e conformação da espécie eletroativa imobilizada na velocidade de transferência eletrônica entre SAMs, um fator importante no desenvolvimento de biossensores para detecção da atividade enzimática [51,77].

1.7 Revisão Bibliográfica

Frente a todas as perspectivas que as monocamadas auto-organizadas (em particular, em superfícies de ouro) oferecem, diversos trabalhos vêm sendo desenvolvidos tendo-as como foco principal. Esta revisão apresenta uma visão geral dos trabalhos desenvolvidos com SAMs por meio da investigação de características fundamentais, como a transferência eletrônica.

Campiña *et al.* [79] realizaram estudos sobre o bloqueio da superfície de ouro policristalino pela formação de uma monocamada de 11-amino-1-undecanotiól (AUT) em solução etanólica. As SAMs foram caracterizadas por técnicas como a voltametria cíclica (VC), espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), microscopia de força atômica (AFM) e microbalança a cristal de quartzo (QCM). Os resultados experimentais mostraram a formação de monocamadas compactas sobre a superfície do eletrodo, resultando em correntes de baixas densidades, na ordem de nA/cm^2, e capacitâncias de 2 $\mu F/cm^2$. Os estudos cinéticos do processo de adsorção foram monitorados *in situ* pela QCM evidenciando duas etapas na formação das SAMs, já descritas na literatura: uma adsorção rápida, etapa de Langmuir, com velocidade de formação k_1 = 0,1047 min^{-1}, seguida por uma etapa mais lenta da organização, com k_2 = 0,0020 min^{-1}. Os efeitos da transferência eletrônica entre as SAMs de AUT foram avaliados utilizando duas espécies redox, $Fe(CN)_6^{3-}$ e $Ru(NH_3)_6^{3+}$. Os resultados das técnicas de VC e EIE foram utilizados no modelo de transferência eletrônica proposto por Amatore *et al.*, no qual o mecanismo de difusão das espécies eletroativas entre as moléculas que constituem a SAM é controlado pela natureza das interações eletrostáticas estabelecidas pela interface SAM/solução. A comparação dos valores de recobrimento na superfície

bloqueada e livre para a transferência eletrônica do $Fe(CN)_6^{3-}$ e $Ru(NH_3)_6^{3+}$ em KCl foram de θ = 0,80 e θ = 0,99, respectivamente.

Blanchard *et al.* [80] investigaram as mudanças da resposta de experimentos de espectroscopia de impedância eletroquímica acoplados com microbalança a cristal de quartzo durante a deposição de monocamadas de alcanotióis com diferentes tamanhos. Este estudo visou as propriedades das SAMs que poderiam variar com o tamanho da cadeia alifática e o tempo de formação, assim como na evolução das interações entre a monocamada do alcanotiól-ouro e a camada líquida do solvente em função do tempo, após a deposição inicial. A avaliação da posição e do formato do espectro de impedância com a formação da SAM foi estabelecida por um modelo de circuito equivalente. Os resultados demonstraram que a organização das SAMs de alcanotióis ocorrem aproximadamente na mesma velocidade das cadeias alifáticas longas entre C_9-C_{16}, desde que o alcanotiól fosse solúvel no sistema solvente. Porém, em cadeias com mais de C_{18} a formação da SAM é dificultada pela solubilidade da molécula no solvente proposto para o estudo.

Lennox *et al.* [81] estudaram a dessorção redutiva das SAMs formadas por tetradecanotiól (C_{14}S-Au) utilizando técnicas voltamétricas e moléculas de ferrocenildodecanotiól ($FcC_{12}SH$) para preencher os defeitos existentes na monocamada. Uma imersão rápida (10s) da SAM-C_{14}S-Au em uma solução 2 mM de $FcC_{12}SH$ evidenciou a pré-existência de defeitos na monocamada pelo preenchimento destes pelas moléculas de $FcC_{12}SH$. Além dos defeitos de formação já existentes, novos defeitos físicos foram criados por voltametria cíclica em potenciais de redução. As mudanças do potencial e do tempo de dessorção foram investigadas pelo monitoramento da variação dos dois picos característicos do FcC_{12}S-Au antes e após os defeitos físicos. As variações nos potenciais dos dois

picos foram associadas à molécula de $FcC_{12}S$-Au dentro dos defeitos, pico I em 260mV, e nos pinholes, pico II em 380mV, formados na adsorção da monocamada e na dessorção via voltametria cíclica. Este estudo de dessorção com a mistura ($FcC_{12}SH$-$C_{14}S$-Au)/SAM demonstrou as diferenças existentes na formação de defeitos e pinholes nas monocamadas pela diferença nos potenciais de dessorção.

Lin *et al.* [82] estudaram as interações existentes entre sistemas biológicos e superfícies modificadas quimicamente por misturas de alcanotióis de cadeias longas, tais como, $HS(CH_2)_{11}NH_2$ e $HS(CH_2)_{10}COOH$. A adição de trietilamina na solução do alcanotiól durante o processo de formação da SAM e a imersão dos eletrodos em uma solução de SAM com 10% CH_3COOH ou 1% HCl em solução etanólica foram duas variáveis de preparação utilizadas. Os ângulos de contato, isto é, a medida da interação entre uma superfície e um determinado líquido em relação às suas características hidrofílicas e/ou hidrofóbicas, da mistura das SAMs com terminações $-NH_2$ e -COOH apresentaram valores intermediários comparados aos valores das SAMs formadas individualmente, indicando que não há diferenças na hidrofílicidade da superfície modificada. Análises de espectroscopia de foto elétrons excitados por raio-X (XPS), mostraram que as misturas eram mais ricas em grupos $–NH_2$, fato associado à adsorção preferencial da molécula com grupos terminais $–NH_2$ na competição adsortiva. Porém a adsorção de mais moléculas com grupo funcional $–NH_2$ provocou uma menor adesão do material biológico, implicando na incompatibilidade entre os materiais.

Bertotti *et al.* [83] prepararam e caracterizaram SAM formadas pela adsorção de cistina (cys-SAM) sobre superfícies de ouro. O efeito da transferência eletrônica no eletrodo modificado foi avaliado utilizando $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ como espécie redox em diferentes valores de pH, com auxílio de técnicas como a voltametria cíclica e a

espectroscopia de impedância eletroquímica. As respostas obtidas no voltamograma reversível da superfície com cys-SAM, indicaram que a transferência eletrônica não foi afetada pelo bloqueio da superfície. As medidas de impedância mostraram que há uma dependência entre a transferência eletrônica e a protonação dos grupos ácidos e básicos da molécula de alcanotiól. Um aumento na resistividade de 600 para 1700 Ω cm^2 em soluções com valores de pH entre 4,9 a 8,0, foi observado, e este comportamento foi associado à repulsão entre os grupos negativamente carregados. Com as medidas de microbalança de cristal de quartzo foi possível calcular a área recoberta pela adsorção de $1x10^{-3}$ mol L^{-1} da solução de cistina na superfície do cristal, obtendo uma massa de 58 ng cm^{-2} correspondendo a $1,4x10^{14}$ moléculas/cm^2.

Zhao *et al.* [84] mostraram que estudos de potencial em regime de subtensão (UPD) de cobre em substratos de ouro modificados com monocamadas de decanotiól ($C_{10}SH$) são possíveis para a determinação da área do eletrodo de ouro. A deposição e dissolução da subcamada de Cu mostrou-se reversível e estável sobre o eletrodo de ouro modificado com SAM. A cinética de crescimento da monocamada sobre o ouro foi investigado via Cu UPD e por medidas com microbalança de cristal de quartzo (QCM). As diferenças entre a cinética de organização determinada por UPD e por medidas na QCM revelaram diferenças na configuração da organização das moléculas do arranjo desordenado durante o processo de auto-organização. Os resultados mostraram que o processo de organização das SAMs via UPD é mais rápida do que em QCM, fato atribuído ao aumento da área ativa do eletrodo para a adsorção das moléculas.

Yi *et al.* [85] estudaram a cinética de adsorção interfacial de íons metálicos em misturas binárias de SAMs. A mistura dos alcanotióis 1,6-hexanotiól (HDT) e

ácido 11-mercaptoundecanóico (11-AMU) sobre superfície de ouro foram monitorados *in situ* por medidas de ressonância de plasmón de superfície (SPR). A diferença no sinal do SPR mostrou um aumento na cinética de adsorção de Pt^{2+} sobre a mistura de SAM. As análises cinéticas das misturas de SAMs mostraram que a velocidade de adsorção da Pt^{2+} aumentou significativamente, e este aumento é fortemente dependente da fração de 11-AMU presente. As medidas de SPR sugeriram que a velocidade de adsorção dos íons metálicos pode ser manipulada pela aplicação de misturas de SAMs sobre a superfície metálica.

Cecchet *et al.* [86] estudaram quantitativamente por técnicas voltamétricas (VC), espectroscópicas (EIE) e simulações digitais, o mecanismo de transferência eletrônica de monocamadas formadas por ácido 11-mercaptoundecanóico (11-AMU) e pela modificação do 11-AMU pela adsorção física da enzima glicose oxidase (GOx). A presença do mediador de elétrons ferrocenilmetanol (FcMeOH) acelerou a cinética de transferência eletrônica dos dois sistemas. As medidas revelaram que a transferência eletrônica do par redox $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ é controlada por difusão, e a conversão eletroquímica enzimática da glicose em glucolactona foi efetivada pela molécula de FcMeOH. As análises das correntes catalíticas geradas pelo eletrodo SAM/GOx na presença de glicose e FcMeOH mostraram um recobrimento amplo da superfície pela proteína, confirmada por medidas de espectroscopia de foto elétrons excitados por raio-x (XPS).

A revisão bibliográfica ilustra as diversas técnicas e metodologias empregadas para o estudo do comportamento da transferência eletrônica nas monocamadas auto-organizadas de alcanotióis. Muitos destes sistemas aplicam o modelo de transferência eletrônica controlado por difusão proposto por Amatore *et al.* de um arranjo de ultramicroeletrodos composto pelas moléculas de alcanotióis

que formam a monocamada. Diante da procura de novas explicações para entender o mecanismo de transferência eletrônica que as SAMs possuem, faz-se necessário o desenvolvimento de novas metodologias para este estudo, como a aplicação de espécies redox na transferência eletrônica em misturas de alcanotióis de cadeia carbônica longos e curtos.

2. OBJETIVOS

O principal objetivo deste trabalho é preparar, caracterizar e utilizar eletrodos modificados com monocamadas auto-organizadas de alcanotióis com cadeias carbônicas de diferentes comprimentos, e suas misturas, para o estudo da reação de transferência eletrônica para o par redox $[Fe(CN)_6]^{3+}/[Fe(CN)_6]^{4-}$.

Estes estudos serão conduzidos com diferentes técnicas experimentais, como a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, espectroscopia de impedância eletroquímica e microbalança de cristal de quartzo.

Neste caso, a reação eletroquímica reversível bem conhecida ferro/ferri cianeto de potássio será utilizada como ponta de prova para a discussão do mecanismo de transferência eletrônica através da monocamada auto-organizada.

Inicialmente esta transferência será analisada sobre monocamadas com um só componente (alcanotiól) e, a seguir, com a mistura de um alcanotiól de cadeia carbônica longa (11-AMU) com outro de cadeia pequena (3-AMP, C_2OH, C_4OH e C_6OH). Os resultados obtidos serão associados à natureza da camada auto-organizada sobre a superfície do eletrodo de ouro.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e Soluções

O ácido 3-mercaptopropiônico, ácido 11-mercaptoundecanóico, 2-mercaptoetanol, 1-mercapto-4-butanol e 1-mercapto-6-hexanol foram obtidos da Sigma-Aldrich. O hexano, hexacianoferrato (II) de potássio trihidratado ($K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$) e hidróxido de potássio são da Merck. O ácido sulfúrico 98,0% e o ácido nítrico 65,0% têm procedência Mallinckrodt e Qhemis, respectivamente. O peróxido de hidrogênio 30% (m/v) foi obtido pelo Tec-Lab e o álcool etílico absoluto anidro (etanol) 99,9% da J. T. Baker. Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico.

A solução tampão Britton-Robinson (BR) de concentração 0,1 mol L^{-1} utilizado como eletrólito suporte foi obtido pela mistura das soluções 0,1 mol L^{-1} de $NaClO_4$, 0,04 mol L^{-1} de H_3BO_3, 0,04 mol L^{-1} de H_3PO_4 e 0,04 mol L^{-1} de CH_3COOH, e ajustada no pH=3,0 com a adição de NaCl 0,1 mol L^{-1}. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (18 MΩ cm) de um sistema de purificação Milli-Q da Millipore Inc.

Os materiais passaram por um procedimento de limpeza adotado para assegurar a ausência de quaisquer resíduos orgânicos ou metálicos, que pudessem interferir nas análises. Para isso, uma solução sulfonítrica [H_2SO_4 + HNO_3 3:1 (v/v)] foi utilizada na limpeza de todo o material de vidro. O material de Teflon® foi limpo por imersão em uma solução etanólica preparada pela mistura de KOH (17g dissolvidos em 10 mL de água) em 500 mL de etanol. Os materiais de vidro e de

Teflon® eram imersos nas respectivas soluções por 30 minutos e, a seguir, vigorosamente enxaguadas com água purificada.

3.2 Materiais e Instrumentos

3.2.1 Medidas Voltamétricas

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato/galvanostato PGSTAT da Autolab®. Para tais medidas, utilizou-se uma cela eletroquímica convencional de vidro de borossilicato, representada na Figura 4, com compartimento único de 25 mL, com tampa de Teflon® contendo orifícios de encaixe para três eletrodos: um eletrodo de ouro, com 0,2 cm^2 de área geométrica, (eletrodo de trabalho), um contra-eletrodo de platina e um eletrodo de Ag/AgCl/KCl saturado como referência, além dos orifícios para a entrada e saída de N_2 para desaeração.

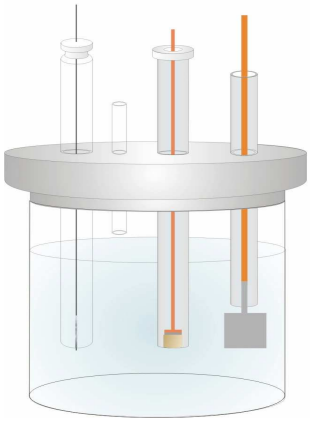

Figura 4: Representação da cela eletroquímica de compartimento único com três eletrodos utilizados nas medidas.

As medidas foram realizadas à temperatura ambiente. Antes de cada análise, as soluções foram desaeradas por borbulhamento de $N_{2(g)}$ da AGA por cerca de 5 minutos.

3.2.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)

Os experimentos utilizando a técnica de EIE foram realizados em um Potenciostato/PGZ 402 da Voltalab®, acoplado a um microcomputador. Os espectros de impedância foram tratados com o auxílio do software Electrochemistry-ZView2. Para tais experimentos, utilizou-se uma cela eletroquímica convencional de compartimento único, como o mesmo esquema da Figura 4, contendo orifícios de encaixe para três eletrodos, um para o eletrodo de ouro, com 0,02 cm^2 de área geométrica, como o eletrodo de trabalho, um contra-eletrodo de platina e um eletrodo de Ag/AgCl/KCl saturado como referência. As medidas foram realizadas à temperatura ambiente após as soluções terem sido desaeradas por 5 minutos, pelo borbulhamento de N_2.

3.2.3 Microbalança de Cristal de Quartzo (QCM)

As medidas de variação de freqüência em função da massa foram realizadas em um equipamento Maxtek, Inc® acoplado a um Potenciostato/galvanostato PGSTAT da Autolab®.

Na técnica de QCM ocorre uma diminuição na freqüência de vibração do cristal de quartzo, devido ao acréscimo de massa nesse cristal, que é detectado por

um freqüêncímetro e convertido em unidades de massa incorporada ao eletrodo. Um monitoramento eletroquímico pode ser acoplado a este sistema para determinar o transporte de massa associado ao eletrodo. Dessa forma, torna-se possível o monitoramento de diversos processos, como a adsorção de ânions.

A variação de freqüência em função da massa é relacionada pela equação de Sauerbrey [87]:

$$\Delta f = -K\,\Delta m \qquad \textit{(equação 1)}$$

onde Δf é a variação de freqüência de ressonância em Hz; K é o coeficiente de sensibilidade da microbalança e Δm é a variação de massa por unidade de área.

Na equação de Sauerbrey supõe-se que o cristal tenha um diâmetro infinito, e a sensibilidade integral tem um valor médio, que só deverá ser utilizado quando as variações de massa forem homogêneas em toda a superfície ativa do eletrodo. A amplitude de oscilação mecânica depende das variações de massa sobre o eletrodo. Essa magnitude é máxima no centro e zero nas bordas da área ativa. Devido a este efeito, a determinação do coeficiente de sensibilidade é de extrema relevância, uma vez que, a sensibilidade integral da QCM é um fator intrínseco de cada microbalança [88].

O coeficiente de sensibilidade, 0,060 Hz/ng cm^{-2}, para a microbalança utilizada nos experimentos deste trabalho, foi calculado pelo método da eletrodeposição de Ag, em um cristal de quartzo de corte AT otimizado para 25℃ com freqüência de 5 MHz [89].

3.2.4 Instrumentação Geral

As pesagens foram feitas em uma balança analítica Mettler Toledo da Micronal S/A modelo AL 204.

As soluções tiveram seus valores de pH ajustados em um pH-metro Qualxtron modelo 8010.

Foram utilizadas micropipetas de volume variável Eppendorf Research®.

Para uma das etapas de limpeza dos eletrodos de ouro foram utilizados o equipamento de Ultrasom MaxiClean 1450 da Unique, freqüência de 25 KHz.

3.3 Procedimentos Experimentais

3.3.1 Limpeza da superfície de ouro

O pré-tratamento da superfície de ouro é uma das etapas mais importantes na formação de monocamadas auto-organizadas de alta qualidade. Dessa forma a limpeza utilizada neste trabalho consistiu-se de três etapas: um procedimento químico, o polimento mecânico, seguido de uma etapa eletroquímica.

Inicialmente as superfícies dos eletrodos de ouro sofreram um tratamento químico, pela imersão dos eletrodos em uma solução “piranha” (1:3 H_2O_2-H_2SO_4 conc.) extremamente exotérmica, por 5 minutos. Posteriormente, os eletrodos foram enxaguados com água ultrapura. Após o tratamento químico, as superfícies de ouro passaram por uma limpeza mecânica consistindo de polimento em lixa d’água com granulometria 2000, seguida de um polimento em politriz, utilizando apenas água, até que suas superfícies apresentassem um aspecto espelhado e, então, os eletrodos foram enxaguados e sonicados em etanol por 5 minutos para remoção de partículas residuais. Finalmente, após lavagem com água, os eletrodos de ouro foram limpos eletroquimicamente em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}, variando o potencial entre -0,1 a 1,7 V (vs. Ag/AgCl/KCl saturado) durante 100 ciclos a 500 mV s^{-1}, seguido de mais 100 ciclos a 100 mV s^{-1}. Os voltamogramas cíclicos, obtidos em meio de H_2SO_4 0,1 mol L^{-1}, após cada limpeza eram comparados aos voltamogramas obtidos após a primeira limpeza de cada eletrodo, para assegurar a eficiência da limpeza superficial e constância da área eletroativa do eletrodo.

3.3.2 Determinação da área eletroquímica do eletrodo de ouro

A determinação da área eletroativa do eletrodo de ouro, tanto do eletrodo de trabalho das medidas eletroquímicas quanto do cristal de quartzo, foi realizada pela integração do pico de redução do voltamograma cíclico do eletrodo de ouro, entre 1,8 e 0,0 V, obtido à velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}, em solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}. A carga necessária para a redução de uma camada de óxido quimioadsorvido sobre a superfície do ouro policristalino foi considerada como sendo 390 μC cm^{-2} para os cálculos da área eletroativa do eletrodo [90].

3.3.3 Preparação das Monocamadas Auto-Organizadas de alcanotióis

A adsorção dos alcanotióis nas superfícies eletródicas devidamente limpas, foi realizada por imersão dos eletrodos de ouro na solução etanólica do respectivo alcanotiól, na concentração de 1,0 mmol L^{-1}, durante 2 horas. Em seguida, foram removidos da solução do alcanotiól, enxaguados com etanol, para retirar as moléculas fisicamente adsorvidas, e com água ultrapura antes de serem utilizados nos experimentos.

Os seguintes alcanotióis foram utilizados neste estudo: ácido 3-mercaptopropiônico (3-AMP), ácido 11-mercaptoundecanóico (11-AMU), 2-mercaptoetanol (C_2OH), 1-mercapto-4-butanol (C_4OH) e 1-mercapto-6-hexanol (C_6OH), como mostra a Figura 5.

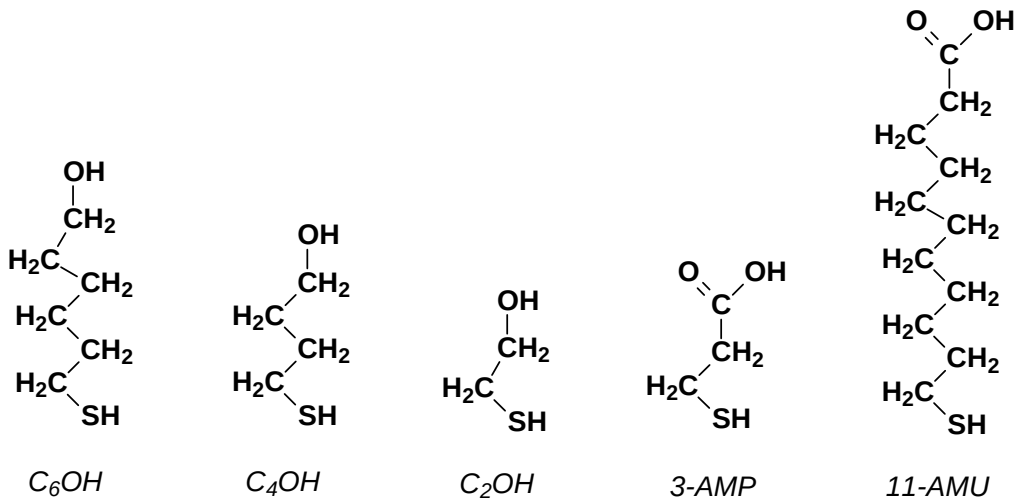

Figura 5: Alcanotióis utilizados no estudo do comportamento de transferência eletrônica em SAMs.

Para o estudo da transferência eletrônica por meio das misturas dos alcanotióis, foram estabelecidas quatro combinações binárias entre alcanotióis de cadeias carbônicas longas (11-AMU) e cadeias curtas (3-AMP, C_2OH, C_4OH e C_6OH), separadamente. Para todas as misturas a concentração de 11-AMU foi fixada em 1,0 mmol L^{-1}, para que as concentrações com os demais alcanotióis fossem variadas. Na Tabela 1, estão relacionadas as concentrações utilizadas nas misturas binárias 11-AMU + 3-AMP, 11-AMU + C_2OH, 11-AMU + C_4OH e 11-AMU + C_6OH, de cada alcanotiól.

Tabela 1: Concentrações dos alcanotióis 3-AMP, C_2OH, C_4OH e C_6OH utilizadas para a formação de misturas binárias com a solução 11-AMU 1 mmol L^{-1}.

Alcanotióis	Concentrações em mol L^{-1}				
3-AMP	$6,9x10^{-5}$	$1,2x10^{-4}$	$1,9x10^{-4}$	$2,4x10^{-4}$	
C_2OH	$6,9x10^{-5}$	$9,3x10^{-5}$	$1,2x10^{-4}$	$1,4x10^{-4}$	$2,5x10^{-4}$
C_4OH	$1,2x10^{-5}$	$1,5x10^{-5}$	$2,8x10^{-4}$	$4,8x10^{-4}$	$5,8x10^{-4}$
C_6OH	$6,9x10^{-5}$	$3,7x10^{-4}$	$4,6x10^{-4}$	$6,5x10^{-4}$	

3.3.4 Medidas Eletroquímicas

Para a caracterização das monocamadas auto-organizadas dos alcanotióis e das misturas binárias, foram realizadas voltametrias cíclicas entre os potenciais -100 e 600 mV, em solução tampão BR 0,1 mol L^{-1} de pH=3,0, a 100mV s^{-1}, contendo 1 mmol L^{-1} ou 4 mmol L^{-1} de $K_4[Fe(CN)_6]$.

A redução eletroquímica de alcanotióis foi uma das técnicas utilizadas para a caracterização da quantidade de moléculas adsorvidas sobre a superfície do eletrodo de ouro. As dessorções redutivas das SAMs foram realizadas por meio de voltametria de pulso diferencial, em meio básico, utilizando KOH 0,5 mol L^{-1} como eletrólito suporte, variando o potencial de 0,1 a -1,3 V, a uma velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 25 mV [62]. As soluções foram desaeradas antes de cada medida por 10 minutos.

3.3.5 Medidas de Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

Para os estudos de impedância eletroquímica foi aplicado ao eletrodo de trabalho uma onda senoidal com 10 mV de amplitude a um potencial de 220 mV (vs Ag/AgCl/KCl saturado) em uma faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz em solução de $K_4[Fe(CN)_6]$ 4 mmol L^{-1} em tampão BR 0,1 mol L^{-1}. O modelo de circuito equivalente utilizado neste trabalho foi o circuito de Randles $R_s(C[R_{ct}W])$ como mostra a Figura 6:

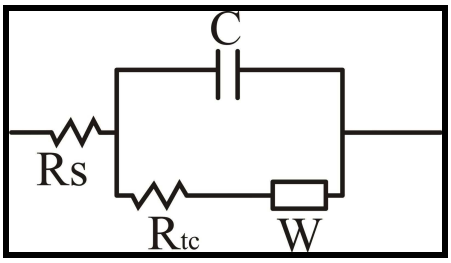

Figura 6: Modelo de circuito equivalente utilizado nos estudos dos espectros de impedância.

Onde R_s é a resistência da solução, R_{ct} é a resistência de transferência de carga, W é a impedância de Warburg e C é a capacitância da dupla camada. Os espectros de impedância foram tratados com o auxílio do software Electrochemistry-ZView2.

3.3.6 Estudos de Microbalança de Cristal de Quartzo

Os estudos cinéticos de adsorção/organização das monocamadas auto-organizadas de alcanotióis foram monitorados por meio da técnica de microbalança de cristal de quartzo (QCM), medindo-se a variação de freqüência em função do tempo, em circuito aberto. As medidas de QCM foram realizadas em meio de hexano, ao invés do meio etanólico ou aquoso, devido a estudos de propriedades viscoelásticas da QCM em diferentes solventes realizados por Ulman *et al*. [39]. De acordo com esses estudos o etanol, apesar de ser o solvente mais utilizado na preparação das soluções dos alcanotióis, causa grandes flutuações na resposta de freqüência da QCM, fato atribuído à complexa resposta dielétrica do etanol. A água também apresenta restrições ao seu uso em medidas de QCM. Segundo Ulman *et al.* [39] o uso de solventes polares como a água, propicia variações de freqüência muito grandes no cristal de ouro comparado ao cristal de ouro com a SAM. Este fato é atribuído às propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas da água na superfície

modificada. Além disso, alguns alcanotióis apresentam baixa solubilidade neste solvente [39].

Dessa forma, nas medidas de QCM para o estudo da cinética de adsorção/organização das SAM foi utilizado como solvente 10 mL de hexano. Após a estabilização da variação de freqüência associado ao solvente, adicionou-se, com auxílio de uma micropipeta, uma alíquota de 1 mL da solução estoque, $1{,}0 \times 10^{-2}$ mol L^{-1} do alcanotiól escolhido. A solução estoque era suficientemente concentrada para que a alíquota introduzida no sistema provocasse o mínimo de distorção mecânica, porém distorções pequenas ainda foram observadas nos experimentos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das SAMs

A caracterização das monocamadas auto-organizadas por diferentes técnicas, tais como, eletroquímicas e espectroscópicas, é uma etapa muito importante na modificação de eletrodos, pois, por meio delas, é possível adquirir informações sobre a transferência eletrônica de espécies redox, o grau de recobrimento, o excesso superficial, as irregularidades superficiais após sua formação, a formação de defeitos e “pinholes” na monocamada, e outras propriedades como resistência de transferência de carga e capacitância dos filmes.

A estrutura e as propriedades eletroquímicas de monocamadas auto-organizadas constituídas por uma ou mais espécies dos alcanotióis 11-AMU, C_2OH, C_4OH, C_6OH e 3-AMP sobre eletrodo de ouro foram investigadas por meio da voltametria cíclica e impedância eletroquímica em eletrólito contendo uma espécie redox, e por voltametria de varredura linear em KOH 0,5 mol L^{-1}, para avaliar a dessorção redutiva das monocamadas. A seleção dos alcanotióis ocorreu, considerando-se os tamanhos distintos das cadeias carbônicas bem como suas diferenças estruturais, em relação ao alcanotiól 11-AMU, com 10 grupos metileno ($-\overset{|}{C}H_2$), a fim de avaliar a transferência eletrônica da espécie redox por meio das misturas das monocamadas curtas e longas.

O etanol foi utilizado como solvente na formação das SAMs pelo fato de dissolver com eficiência os alcanotióis, independente do tamanho da cadeia carbônica. Optou-se por utilizar um tempo de formação de 2 horas, de acordo com procedimentos descritos na literatura [51]. Uma discussão da cinética de formação

das SAMs utilizando a microbalança de cristal de quartzo com alcanotióis de cadeias longas e curtas será realizado posteriormente.

4.1.1 Caracterização das SAMs dos alcanotióis 11-AMU, C_2OH, C_4OH, C_6OH e 3-AMP.

Com o objetivo de se obter informações sobre a estrutura e as propriedades das monocamadas formadas sobre a superfície de ouro policristalino, observou-se o comportamento das diferentes SAMs frente a uma espécie redox. O grau de interação de uma determinada molécula redox com a superfície modificada do eletrodo é controlado por propriedades químicas e físicas desta espécie e pelas características relacionadas à organização e presença de irregularidades na SAM [91,92]. Considerando que, em meio ácido, a espécie $K_4[Fe(CN)_6]$ apresenta-se carregada negativamente, ao entrar em contato com uma SAM composta por moléculas que contenham grupos carboxílicos e hidroxilas protonados, o seu processo de difusão não sofrerá interferências devido às repulsões entre as cargas das duas espécies, mesmo se as SAMs forem densas e bem empacotadas. Dessa forma, optou-se em trabalhar com a espécie redox $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em pH 3 para assegurar que as interações eletrostáticas não venham a interferir no entendimento da transferência eletrônica das moléculas na monocamada.

Foram realizados voltamogramas cíclicos do eletrodo de ouro sem a monocamada e após ser recoberto pelas SAMs em solução tampão BR pH 3,0 contendo 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$, a 100 mV s^{-1}. Os resultados estão apresentados na Figura 7.

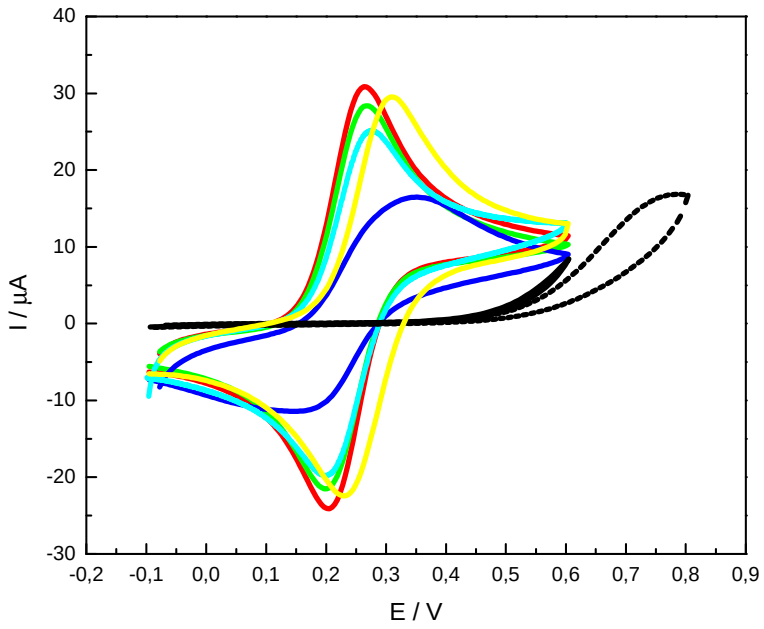

Figura 7: Voltamogramas cíclicos de segunda varredura obtidos para o eletrodo de ouro recobertos com diferentes SAMs: (—) C_2OH, (—) C_4OH, (—) C_6OH, (—) 3-AMP, (—) 11-AMU até 600mV, (---) 11-AMU até 800mV e (—) ouro sem recobrimento. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}.

Na Figura 7, observa-se que não há diferenças significativas nos valores de corrente para as SAMs de C_2OH, C_4OH e 3-AMP comparados ao eletrodo de ouro. Normalmente, a explicação mais óbvia encontrada na literatura é de que as monocamadas formadas por estes alcanotióis possuem muitos “pinholes” e defeitos em sua superfície e assim os elétrons passam por meio destes. Porém é sabido que os “pinholes” se comportam como um arranjo de ultramicroeletrodos, sendo assim, o perfil voltamétrico deveria ser semelhante ou próximo a um arranjo deste tipo, ou seja, sigmóide. Entretanto, observa-se na Figura 7 que as monocamadas formadas pelos alcanotióis de cadeia curta não apresentam este comportamento voltamétrico, porém o comportamento gaussiano comum. Assim não podemos dizer que há “pinholes” em sua estrutura para que os elétrons tunelem por meio destes, mas podemos dizer, de acordo com os dados dos voltamogramas obtidos nas condições

acima descritos, que há evidências de que os elétrons passam através das monocamadas de 2, 3 e 4 carbonos mas não pela monocamada de 11 carbonos, como aquela do alcanotiól 11-AMU, onde observamos um bloqueio total nos processos redox da espécie.

As afirmações acima são reforçadas por uma análise das magnitudes das correntes de pico anódicas e catódicas dos voltamogramas apresentados, que foram coletados na Tabela 2, abaixo.

Tabela 2. Correntes de pico para os voltamogramas apresentados na Figura 7.

Superfície	$I_{p,a}$ (μA)	$I_{p,c}$ (μA)
Au liso	29,5	-22,5
Au/C_2OH	30,7	-24,0
Au/C_4OH	28,3	-21,5
Au/3-AMP	24,9	-19,8
Au/C_6OH	16,5	-11,2
Au/11-AMU	0,0	0,0

Para um processo reversível, como o do par ferro/ferri cianeto de potássio, a corrente de pico do voltamograma pode ser descrita por [93]:

$$I_p = nFAC_o^* D_o^{1/2} v^{1/2} \qquad \textit{(equação 2)}$$

Assim, mantendo-se os parâmetros C_o* (concentração do analito em solução), v (velocidade de varredura), D_o (coeficiente de difusão da espécie eletroativa) e n

(número de elétrons transferidos) constantes, a corrente de pico passa a ser proporcional à área do eletrodo:

$$I_p = f(A) \qquad \text{(equação 3)}$$

Desta forma, para os valores reportados na Tabela 2, torna-se aparente que os 3 primeiros valores se referem às mesmas áreas superficiais, eliminando-se a possibilidade dos elétrons se transferirem por meio de “pinholes”. Já para a SAM composta por 4 e 6 carbonos observa-se uma diminuição na corrente de pico dos voltamogramas e uma variação dos perfis voltamétricos, sugerindo um novo mecanismo de transferência eletrônica.

Analisando particularmente o voltamograma referente à SAM C_6OH observa-se uma diferença no comportamento voltamétrico em relação aos alcanotióis discutidos anteriormente. Neste caso o voltamograma apresenta uma tendência em adotar um perfil sigmóide típico de um arranjo de ultramicroeletrodo. Assim, particularmente nesta monocamada, a transferência eletrônica pode ocorrer por meio dos “pinholes” existentes como descrito por Amatore *et al.* [76] e Finklea *et al*. [77], pois seu perfil voltamétrico se assemelha à um perfil de ultramicroeletrodo, que o difere dos outros alcanotióis.

Na Figura 7 observa-se que a monocamada formada pelo alcanotiól 11-AMU apresenta propriedades isolantes comparado aos demais alcanotióis estudados. Quando esta monocamada é submetida a potenciais mais positivos, observa-se uma pequena resposta, que pode estar ligada à oxidação da monocamada. Este comportamento será observado nas misturas binárias de alguns alcanotióis, discutido posteriormente.

A fim de se confirmar os resultados obtidos pelos voltamogramas cíclicos, foram realizados estudos de espectroscopia de impedância eletroquímica com os eletrodos acima. Os resultados encontrados estão apresentados na Figura 8.

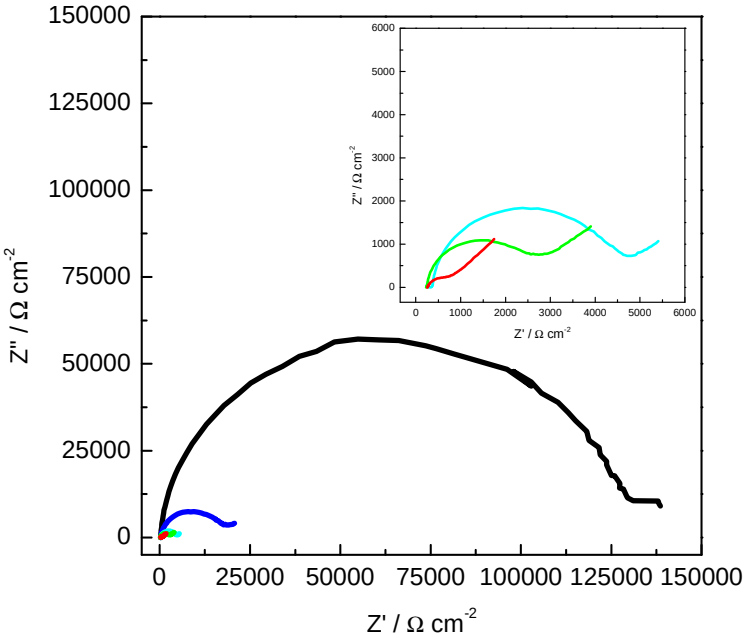

Figura 8: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAMs: (—) C_2OH, (—) C_4OH, (—) C_6OH, (—) 3-AMP, (—) 11-AMU. Eletrólito composto por tampão BR 0,1 mol L^{-1} contendo 4 mmol L^{-1} de $Fe(CN)_6^{4-}$. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso. Potencial de 230mV.

A Figura 8 apresenta os diagramas de Nyquist obtidos para os eletrodos de ouro modificados com as SAMs. Como discutido anteriormente, observa-se que a resistência para transferência eletrônica para a monocamada de 11-AMU é muito maior que a das outras modificações. Na inserção estão evidenciados os diagramas de Nyquist para as modificações com menor resistência, 3-AMP, C_4OH e C_2OH.

Os parâmetros obtidos da interpretação destes resultados, pela simulação com o circuito de Randles, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C, resistência de transferência de carga, R_{ct}, obtidas para as SAMs 11-AMU, C_2OH, C_4OH, C_6OH e 3AMP, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.

Alcanotiól	R_s / Ω cm^2	C / F cm^{-2}	R_{ct} / Ω cm^2
11-AMU	265	$1,59x10^{-7}$	130229
C_6OH	276	$2,30x10^{-7}$	12088
3-AMP	271	$2,89x10^{-7}$	3405
C_4OH	279	$4,77x10^{-7}$	2166
C_2OH	268	$1,30x10^{-7}$	428
Au*	265	$6,88x10^{-6}$	766

* para o eletrodo de ouro limpo.

Nesta Tabela 3, verifica-se que o valor da resistência de transferência eletrônica do eletrodo modificado com 11-AMU é o mais elevado, fato relacionado ao bloqueio total da superfície do eletrodo de ouro, confirmando o resultado obtido pela técnica de voltametria cíclica descrito na Figura 7. Os valores obtidos por meio da impedância eletroquímica para a SAM de 11-AMU, mostram claramente que o transporte de íons por meio desta monocamada não ocorre na escala de tempo do experimento, conseqüentemente, a SAM de 11-AMU apresenta características de um isolante iônico [94]. O valor de capacitância de $1,59x10^{-7}$ F/cm^{-2} para a monocamada de 11-AMU sugere que a superfície do eletrodo modificado com 11-AMU aproxima-se de um capacitor ideal, quando comparado com o valor de capacitância do eletrodo de ouro sem a monocamada.

No caso do eletrodo modificado com a SAM de C_6OH tem-se um valor de resistência de transferência eletrônica alto quando comparado às modificações com 3-AMP, C_4OH e C_2OH, também de acordo com os dados da voltametria da Figura 7,

onde se observa uma maior inibição dos picos do processo redox da espécie $[Fe(CN)_6]^{4-}$, sugerindo uma maior resistência à transferência eletrônica através da monocamada.

Já para as SAMs obtidas com o 3-AMP, C_4OH e C_2OH, apesar dos valores de resistência de transferência eletrônica variarem em relação ao ouro liso, eles não são tão elevados. Assim, considerando-se a simplicidade do circuito equivalente empregado para as simulações, pode-se supor que estas variações não são significativas a ponto de indicar uma inibição da transferência eletrônica através da camada. Um estudo muito mais detalhado deste item deverá ser conduzido para se chegar a uma conclusão com melhor grau de precisão.

A partir dos valores das resistências de transferência de carga para o eletrodo liso (Au) e modificado com as camadas isolantes (11-AMU e C_6OH), é possível calcular o grau de recobrimento, com a equação 4:

$$\theta_{eie}{}^{R} = 1 - \left(\frac{R_{ct}{}^{Au}}{R_{ct}{}^{SAM}} \right) \qquad (\textit{equação 4})$$

Para os casos da modificação com os alcanotióis 11-AMU e C_6OH, os valores calculados de $\theta_{eie}{}^{R}$ foram de 0,9941 e 0,9366, respectivamente, indicando o recobrimento total da superfície com a camada isolante.

Este procedimento não pode ser aplicado à modificação com os outros alcanotióis, pois, suas características condutoras não se enquadram nas condições de contorno da equação 4.

Com a finalidade de dar continuidade à caracterização das diferentes monocamadas auto-organizadas formadas sobre eletrodos de ouro, foram

registrados voltamogramas de pulso diferencial e voltamogramas cíclicos para se determinar a quantidade de moléculas de alcanotióis dessorvidas da superfície de ouro. A dessorção eletroquímica foi realizada em solução de KOH 0,5 mol L^{-1}, variando o potencial de 0,1 a -1,3 V, com velocidade de varredura de 20 mV s^{-1} para as duas técnicas, e uma amplitude de pulso de 25 mV para a voltametria de pulso diferencial. Os voltamogramas obtidos para a monocamada auto-organizada de 11-AMU estão representados na Figura 9.

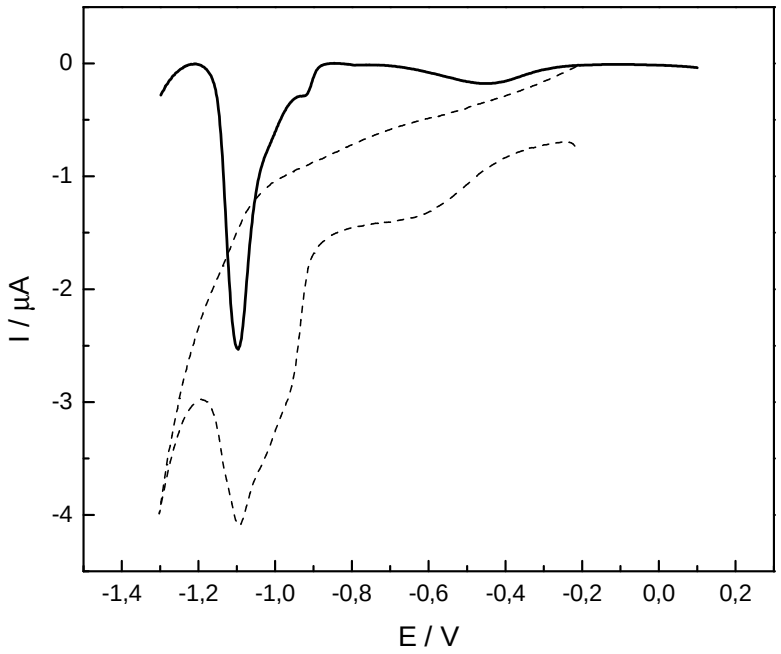

Figura 9: Voltamogramas de pulso diferencial (—) e cíclico (---) obtidos para a SAM do alcanotiól 11-AMU em solução de KOH 0,5 mol L^{-1}. Potencial de 0,1 a -1,3 V, velocidade de varredura 20 mV s^{-1} para as duas técnicas e amplitude de pulso de 25 mV para pulso diferencial.

Os picos de redução observados são relacionados com a redução do alcanotiól adsorvido, segundo a equação 5 [60]:

$$Au\text{-}S\text{-}R + 1e^- \longrightarrow Au\ (0) + RS^- \qquad (\textit{equação 5})$$

Assim, as cargas obtidas dos voltamogramas mostrados na Figura 9 estão relacionadas com a quantidade de alcanotiól dessorvido. Para uma monocamada completa de AuO, a carga voltamétrica de redução:

$$AuO + H^+ + 2e^- \longrightarrow Au + H_2O \qquad (\textit{equação 6})$$

fornece 390 $\mu C\ cm^{-2}$ [90]. Para a reação monoeletrônica mostrada na equação 5, a carga para uma monocamada completa deve ser de 195 $\mu C\ cm^{-2}$.

A partir das cargas calculadas nos picos de redução dos voltamogramas da Figura 9 (11,7 e 11,4 μC) e levando-se em conta o valor da área eletroativa estimada para o ouro (0,12 cm^2), pode-se concluir que os valores de carga obtidos correspondem a dessorção de uma monocamada de 11-AMU.

Os valores de carga estimados pelos voltamogramas da Figura 9 permitem concluir também que a quantidade de moléculas do alcanotiól 11-AMU dessorvidas da superfície de ouro calculadas pelas duas técnicas são equivalentes. Porém, os estudos de dessorção das monocamadas auto-organizadas de alcanotióis foram realizados utilizando a voltametria de pulso diferencial devido à melhor definição dos picos de redução. Na Figura 10 estão apresentados os voltamogramas de pulso diferencial para os demais alcanotióis.

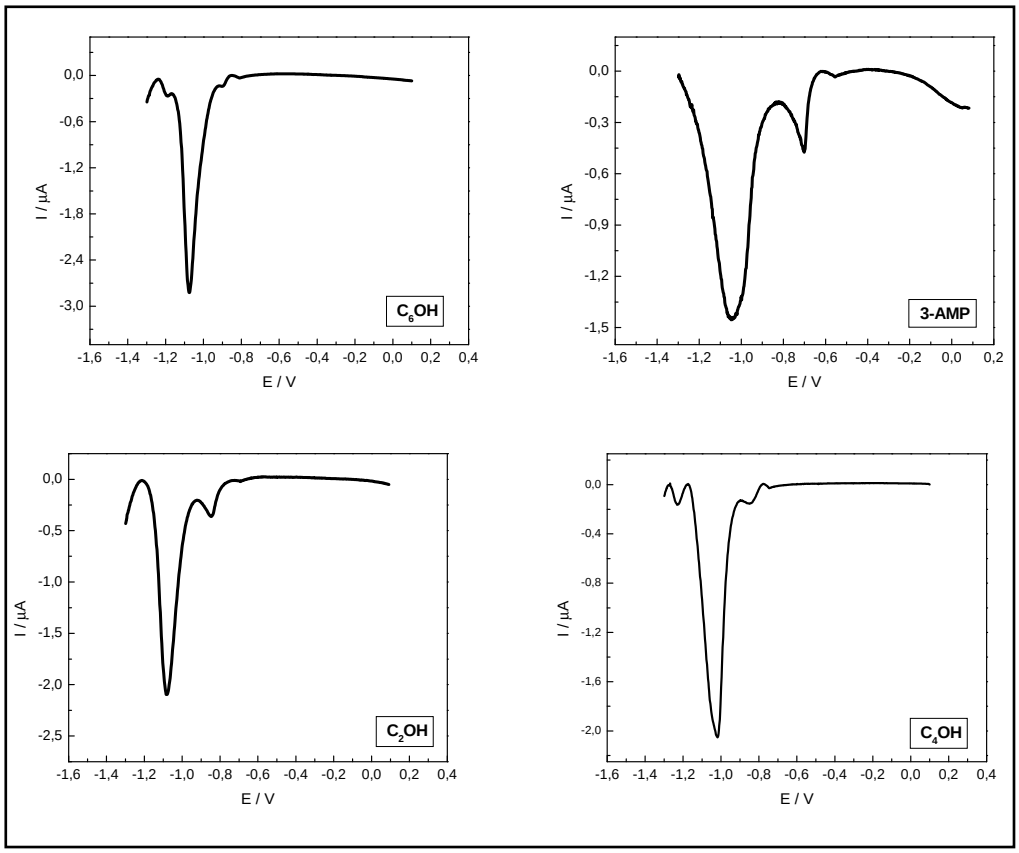

Figura 10: Voltamogramas de pulso diferencial da primeira varredura, obtido para as diferentes SAMs em solução de KOH 0,5 mol L^{-1}. Potencial de 0,1 a -1,3 V, velocidade de varredura 20 mV s^{-1} e amplitude de pulso de 25 mV.

A Figura 10 mostra os voltamogramas de pulso diferencial correspondentes à primeira varredura para a dessorção redutiva dos alcanotióis estudados, sobre a superfície de ouro policristalino. Já é conhecido na literatura que a dessorção redutiva de alcanotióis da superfície de ouro ocorre aplicando-se potenciais suficientemente negativos. O potencial de dessorção depende do tamanho da cadeia carbônica do alcanotiól, da cristalinidade da superfície e dos seus grupos funcionais terminais. A reprodutibilidade dos resultados é influenciada também pela cristalinidade da superfície metálica e pelas condições de pré-tratamento da superfície [62].

Quando se observa as Figuras 9 e 10, percebe-se que todas as SAMs de alcanotióis apresentam mais de um pico de redução. A presença desses picos de dessorção ainda não é bem compreendida, uma vez que, segundo a teoria da redução dessortiva, este fenômeno é realizado via um processo monoeletrônico, o que não explica o aparecimento de mais de um pico de redução [60]. O surgimento de outros picos pode ser atribuído tanto aos diferentes domínios cristalinos na superfície do ouro policristalino, quanto à presença de moléculas de alcanotióis fracamente ligadas à superfície eletródica, presentes nas regiões de irregularidades das SAMs [61]. O comportamento do pico localizado em potenciais mais anódicos é uma forte evidência do rompimento da ligação RS-Au, e pode ser utilizado para o cálculo do excesso superficial da molécula de alcanotiól na superfície do ouro, por ser o pico mais estável [62].

Baseado nisso, a localização e a intensidades dos picos de dessorção podem ser utilizados na caracterização das monocamadas, com relação ao excesso superficial e estabilidade, a partir dos voltamogramas de pulso diferencial das Figuras 9 e 10 e utilizando a equação (7) descrita a seguir [62]:

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \qquad \textit{(equação 7)}$$

sendo, Γ o excesso superficial (mol cm^{-2}), Q a carga (obtida pela integração da área do pico de dessorção, multiplicado pelo inverso da velocidade de varredura), n o número de elétrons, F a constante de Faraday e A é a área eletroativa do eletrodo (0,12 cm^2). Os resultados obtidos para a primeira varredura de cada alcanotiól são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos a partir da primeira varredura redutivas, dos eletrodos de ouro modificados com as SAMs.

Alcanotiól	$\Gamma_{máx}$ / mol cm^{-2}
11-AMU	11,7x10^{-10}
3-AMP	10,8x10^{-10}
C_2OH	10,3x10^{-10}
C_4OH	11,4x10^{-10}
C_6OH	11,5x10^{-10}

Antes de analisar estes dados é importante recordar a definição de excesso superficial. O excesso superficial é o número de moles, em excesso, na superfície do eletrodo, se comparado com uma referência (o seio da solução, por exemplo). Assim:

$$\eta_i^{\sigma} = \eta_i^{S} - \eta_i^{R} \qquad \text{(\textit{equação 8})}$$

Onde η_i^{σ} é a quantidade em excesso e η_i^{S} e η_i^{R} são os números de moles da espécie na superfície (S) e no sistema de referência (R).

Para a superfície do eletrodo, podemos definir o excesso superficial como Γ [93]:

$$\Gamma_i = \frac{\eta_i^{\sigma}}{A} \qquad \text{(\textit{equação 9})}$$

Obviamente, este valor de Γ está diretamente relacionado com a forma com que a espécie adsorvida interage com a superfície do eletrodo. Assim, se uma

molécula se adsorve sobre um sítio ativo da superfície, seu excesso superficial será maior que aquela que se adsorve em 2 ou mais. Este comportamento foi analisado por Stolberg *et al*. [95] para a adsorção de piridina sobre Au policristalino. Para a adsorção horizontal da molécula, um valor máximo de $\Gamma_{máx}$ = 3x10^{-10} mol cm^{-2} foi encontrado, enquanto que, para a adsorção vertical $\Gamma_{máx}$ aumentou para 7x10^{-10} mol cm^{-2}.

Widrig *et al*. [60] estudaram a adsorção de alcanotióis sobre o eletrodo de ouro e verificaram que a dessorção redutiva de monocamadas de alcanotióis é muito semelhante à adsorção da piridina, e que valores próximos a 9,3x10^{-10} mol cm^{-2} devem ser esperados para $\Gamma_{máx}$ de alcanotióis sobre ouro policristalino.

Na Tabela 4, observa-se que a partir dos dados de carga de dessorção das camadas auto-organizadas dos diferentes alcanotióis, os valores totais de $\Gamma_{máx}$ são semelhantes e próximos de 9,3x10^{-10} mol cm^{-2}, como esperado. Isto significa que, para todos os alcanotióis estudados, o recobrimento total da superfície é muito próximo de 1, garantindo um número relativamente pequeno de “pinholes” ou defeitos na cobertura da superfície de ouro.

4.2 Misturas binárias dos alcanotióis

Após as caracterizações e interpretações obtidas para as monocamadas formadas pelos alcanotióis puros, foram realizados estudos de formação de monocamadas com misturas entre alcanotióis de cadeias longas, neste caso 11-AMU, com alcanotióis de cadeias curtas como, C_2OH, C_4OH, C_6OH e 3-AMP, para avaliar o comportamento da transferência eletrônica da espécie redox $[Fe(CN)_6]^{4-}$ entre as moléculas da monocamada.

Mudanças na composição de monocamadas pela adição de mais de um alcanotiól permitem transições graduais nas propriedades superficiais [96]. A combinação de alcanotióis de cadeias carbônicas longas e curtas possibilitam aumentar a condutividade das SAMs mistas pela formação de “ilhas” de alcanotióis de cadeias menores, que atuam como um arranjo de ultramicroeletrodos (UMEs) na superfície isolante formada por paredes de 11-AMU.

Dessa forma, quatro misturas 11-AMU + C_2OH, 11-AMU + C_4OH, 11-AMU + C_6OH e 11-AMU + 3-AMP, foram objetos de estudos realizados pelas técnicas voltamétricas e por espectroscopia de impedância eletroquímica.

Para as quatro misturas (em determinadas concentrações), se observou um comportamento sigmóide, típico de um arranjo de ultramicroeletrodos, indicando que a mistura do alcanotiól 11-AMU com os de cadeia curta promovem a formação de “ilhas” de alcanotióis de cadeia curta totalmente cercadas pelo 11-AMU, formando uma estrutura análoga a um arranjo de UMEs.

4.2.1 Mistura 11-AMU + C_2OH

Monocamadas formadas pela mistura dos alcanotióis 11-AMU + C_2OH foram caracterizadas inicialmente por voltametria cíclica. Foram obtidos voltamogramas cíclicos do eletrodo de ouro sem a monocamada e após o mesmo ser recoberto pelas SAMs da mistura binária, em solução tampão BR pH 3,0 contendo 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$, a 100 mV s^{-1}. Os resultados estão apresentados na Figura 11, para diferentes concentrações de C_2OH na solução de formação da monocamada.

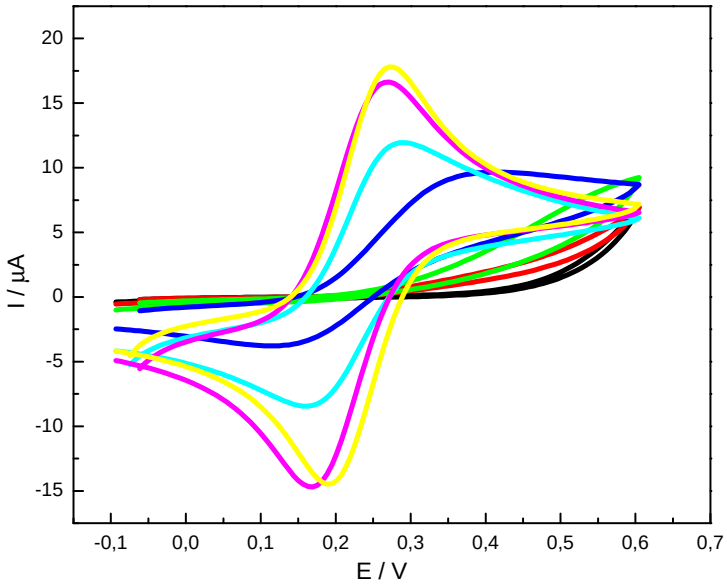

Figura 11: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista, 11-AMU + C_2OH. Composição da solução de formação das SAM: (—) 11-AMU de concentração $1{,}0.10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (—) $6{,}9.10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $9{,}3.10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $1{,}2.10^{-4}$ mol L^{-1}, (—) $1{,}4.10^{-4}$ mol L^{-1} e (—) $2{,}5.10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1}.

Na Figura 11, observa-se que as monocamadas formadas pela mistura de 11-AMU + C_2OH apresentam o mesmo comportamento isolante que o alcanotiól 11-AMU quando as concentrações de C_2OH estão na ordem de 10^{-5} mol L^{-1}. Este comportamento sugere que nesta proporção de concentrações a adsorção de 11-AMU sobre a superfície de ouro é predominante, isto é, sua adsorção é mais rápida em comparação às moléculas de C_2OH e assim um bloqueio total dos processos redox da espécie é observado.

Quando a concentração de C_2OH torna-se 14% da concentração de 11-AMU, ou seja, em uma concentração $1{,}2x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH, observa-se que as propriedades isolantes da monocamada de 11-AMU já não são as mesmas e uma tendência do voltamograma adotar um perfil sigmóide típico de um ultramicroeletrodo é observado. Neste caso, a única explicação para o

comportamento dos voltamogramas obtidos é de que ocorram a formação de “ilhas” de moléculas de C_2OH envoltas por uma camada isolante de 11-AMU, isto é, sugere-se aqui a formação de uma monocamada composta por moléculas de C_2OH e por moléculas de 11-AMU. A formação de uma monocamada binária com estas características facilita a transferência eletrônica através das moléculas de C_2OH, seguindo o novo mecanismo de transferência eletrônica, discutido anteriormente.

Ao adicionar concentrações maiores de C_2OH observa-se que o processo redox responde com um perfil voltamétrico na forma gaussiana, típico de um eletrodo convencional, indicando que, um número maior de moléculas do alcanotiól C_2OH esteja adsorvido na superfície do eletrodo descaracterizando a formação das ilhas de C_2OH. Quando a concentração de C_2OH é de 25% do valor de 11-AMU, tem-se uma definição completa dos picos do processo redox da espécie $[Fe(CN)_6]^{4-}$, semelhante ao eletrodo de ouro, indicando que nesta concentração a adsorção do C_2OH é mais rápida do que para 11-AMU, e assim, a formação de uma monocamada completa de C_2OH é mais favorecida.

Foram realizados estudos de espectroscopia de impedância eletroquímica, para confirmar os resultados obtidos pelos voltamogramas cíclicos. A Figura 12 mostra os diagramas de Nyquist para a monocamada binária de 11-AMU + C_2OH.

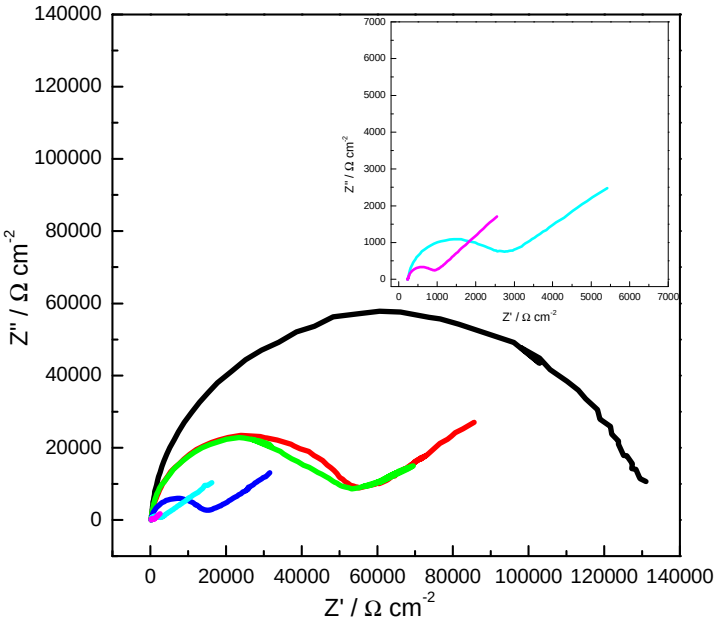

Figura 12: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + C_2OH. Composição da solução de formação das SAMs: (▬) 11-AMU de concentração $1{,}0x10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (▬) $6{,}9x10^{-5}$ mol L^{-1}, (▬) $9{,}3x10^{-5}$ mol L^{-1}, (▬) $1{,}2x10^{-4}$ mol L^{-1}, (▬) $1{,}4x10^{-4}$ mol L^{-1} e (▬) $2{,}5x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.

Observando a Figura 12, pode-se avaliar a diferença entre as resistências de transferência eletrônica dos filmes binários à medida que se aumenta a concentração de C_2OH em uma solução de 11-AMU. Para as concentrações $6{,}9x10^{-5}$ e $9{,}3x10^{-5}$ mol L^{-1} de C_2OH nota-se uma semelhança muito grande das resistências dos filmes, fato observado também pelos voltamogramas cíclicos da Figura 11. Porém quando as concentrações estão na ordem de 10^{-4} mol L^{-1} estas resistências diminuem muito, como se observa na inserção da Figura 12.

Os resultados encontrados pela técnica de impedância eletroquímica estão apresentados na Tabela 5. Os valores de resistência de transferência de carga (R_{ct}) e capacitância (C) foram obtidos com uma solução 4 mmol L^{-1} da espécie redox $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR pH 3, usando os eletrodos modificados com as SAMs.

Utilizou-se o circuito de Randles para a análise dos resultados, por ser amplamente utilizado em estudos e discussões sobre monocamadas de alcanotióis [86].

Tabela 5: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência de transferência de carga, R_{ct}, obtidas para os eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_2OH, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.

C_{C2OH} (mol L^{-1})	R_s / Ω cm^2	C / F cm^{-2}	R_{ct} / Ω cm^2
0	265	$1,59x10^{-7}$	130229
$6,9x10^{-5}$	255	$3,43x10^{-7}$	57144
$9,3x10^{-5}$	253	$3,67x10^{-7}$	53314
$1,2x10^{-4}$	260	$3,98x10^{-7}$	15638
$1,4x10^{-4}$	252	$4,06x10^{-7}$	2825
$2,5x10^{-4}$	254	$4,87x10^{-7}$	1048

A interpretação dos valores das resistências de transferência eletrônica coletados na Tabela 5 revela algumas características interessantes, observadas na superfície do eletrodo modificado e relacionadas com o comportamento eletroquímico do par redox $[Fe(CN)_6]^{4-}/[Fe(CN)_6]^{3-}$.

Inicialmente, valores altos de resistência, por exemplo, acima de 50000 Ω, estão relacionados com filmes isolantes, compostos basicamente por 11-AMU.

Já valores muito baixos, menores que 10000 Ω podem ser relacionados com a superfície completamente desbloqueada, como a do ouro liso. Este tipo de superfície gera uma resposta voltamétrica na forma gaussiana, típica de eletrodos convencionais.

Finalmente, valores intermediários de R_{ct}, abaixo de 50000 e acima de 10000 Ω, geram o comportamento voltamétrico sigmoidal, característico dos UMEs.

Estes valores de resistência, maiores que aqueles associados à superfície lisa, reflete, em grande parte, as dificuldades difusionais das espécies eletroativas de alcançar a superfície condutora dos UMEs, muito abaixo da superfície exposta à solução, definida pelas moléculas de 11-AMU. Esta distribuição está apresentada no esquema mostrado na Figura 13.

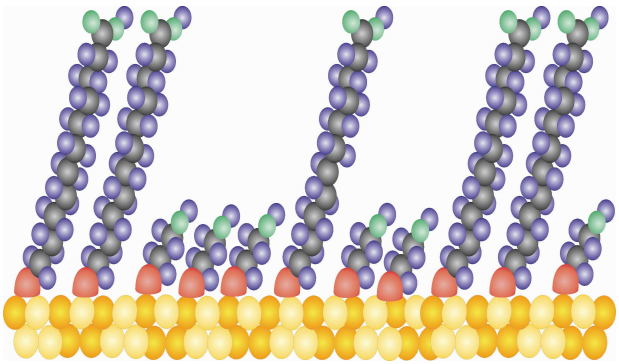

Figura 13. Esquema do arranjo das “ilhas” formadas pelas moléculas de 11-AMU e C_2OH em uma SAM mista.

Como uma das caracterizações realizadas nos alcanotióis puros, a dessorção redutiva eletroquímica foi uma das metodologias adotadas para calcular o excesso superficial das monocamadas formadas pela mistura de 11-AMU + C_2OH. Os valores de carga calculados para a primeira varredura em meio de KOH 0,5 mol L^{-1}, de maneira análoga à anterior e utilizando a equação 7, seguido dos valores de excesso superficial são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos a partir da primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_2OH.

C_{C2OH} (mol L^{-1})*	$\Gamma_{máx}$ / mol cm^{-2}
0	$11,7x10^{-10}$
$6,9x10^{-5}$	$11,5x10^{-10}$
$9,3x10^{-5}$	$11,2x10^{-10}$
$1,2x10^{-4}$	$10,3x10^{-10}$
$1,4x10^{-4}$	$7,02x10^{-10}$
$2,5x10^{-4}$	$5,93x10^{-10}$

* concentração de 11-AMU de $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1}, eletrólito: KOH 0,5 mol L^{-1}.

Na Tabela 6, observa-se que a partir dos dados de carga de dessorção das camadas auto-organizadas das diferentes misturas entre os alcanotióis, os valores totais de $\Gamma_{máx}$ são muito semelhantes e próximos de $9,3x10^{-10}$ mol cm^{-2}, como descrito anteriormente para a formação de uma monocamada de alcanotiól descrita por Widrig *et al.* [60]. Isto significa que, para todos os alcanotióis estudados, o recobrimento total da superfície é muito próximo de 1, garantindo um número relativamente pequeno de pinholes ou defeitos na cobertura da superfície de ouro, principalmente nas misturas com concentrações de $1,2x10^{-4}$ mol L^{-1} e $1,4x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH.

4.2.2 Mistura 11-AMU + 3-AMP

A fim de caracterizar o comportamento das monocamadas auto-organizadas frente à transferência eletrônica de uma espécie redox, também foram realizados

estudos do comportamento da mistura 11-AMU + 3-AMP, por meio da voltametria cíclica e impedância eletroquímica utilizando como molécula redox $[Fe(CN)_6]^{4-}$ e voltametria de varredura linear em KOH 0,5 mol L^{-1} para o cálculo do excesso superficial das monocamadas.

A Figura 14 mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para esta mistura. Nota-se que os voltamogramas foram realizados até o potencial 800 mV, região onde ocorre uma pequena oxidação das moléculas do alcanotiól. Optou-se em trabalhar até este potencial porque à medida que eram adicionadas concentrações de 3-AMP na solução de 11-AMU, observou-se um deslocamento dos picos do processo redox.

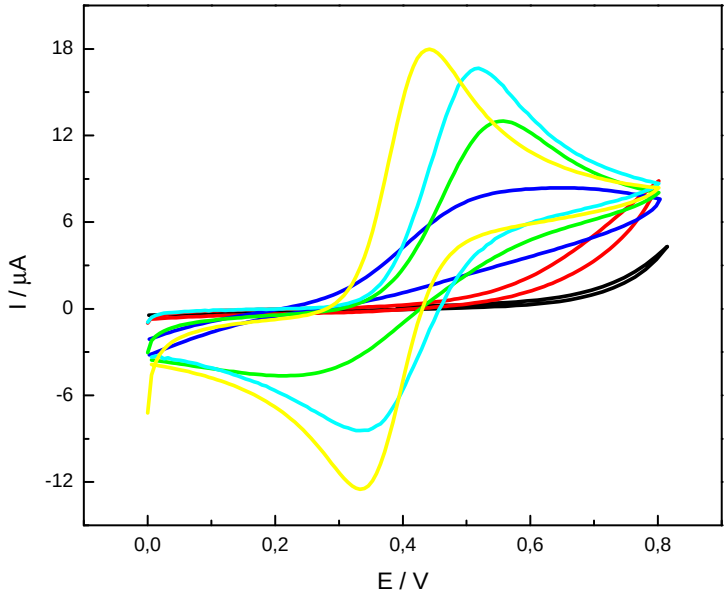

Figura 14: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista, 11-AMU + 3-AMP. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração $1{,}0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (—) $6{,}9 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $1{,}2 \times 10^{-4}$ mol L^{-1}, (—) $1{,}9 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} e (—) $2{,}4 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de 3-AMP. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura 100 mV s^{-1}.

Analisando os voltamogramas da mistura 11-AMU + 3-AMP, verifica-se uma semelhança grande com os voltamogramas da mistura 11-AMU + C_2OH da Figura 11.

Os voltamogramas caracterizam um bloqueio nos processos redox da espécie quando a concentração de 3-AMP está na ordem de 10^{-5} mol L^{-1}, este comportamento sugere que nesta concentração a adsorção de 11-AMU sobre a superfície de ouro prevalece, isto é, sua adsorção é mais rápida em relação às moléculas de 3-AMP, assim como observado na mistura de 11-AMU + C_2OH na mesma grandeza. Porém, quando a concentração de 3-AMP encontra-se entre $1{,}2x10^{-4}$ mol L^{-1} e $1{,}9x10^{-4}$ mol L^{-1} de 3-AMP, observa-se uma tendência do voltamograma adotar um perfil sigmóide típico de um ultramicroeletrodo. Neste caso, podemos dizer novamente que o perfil dos voltamogramas (e a grandeza das correntes de pico) da Figura 14 é devido à transferência eletrônica através da camada auto-organizada de 3 carbonos mas não pela de 11 carbonos.

Para confirmar os resultados obtidos por voltametria cíclica, foram realizados estudos de impedância eletroquímica. Os resultados estão apresentados na Tabela 7. Para isso, foram obtidos os valores de resistência de transferência de carga (R_{ct}) e capacitância (C), para 4 mmol L^{-1} da espécie redox $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR pH 3, usando os eletrodos modificados com as SAMs.

Tabela 7: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência da transferência de carga, R_{ct}, obtidas para os eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + 3AMP, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.

$C_{3\text{-}AMP}$ ($molL^{-1}$)	R_s / Ω cm^2	C / F cm^{-2}	R_{ct} / Ω cm^2
0	265	$1,59x10^{-7}$	130229
$6,9x10^{-5}$	268	$3,11x10^{-7}$	77750
$1,2x10^{-4}$	279	$3,65x10^{-7}$	53500
$1,9x10^{-4}$	276	$3,78x10^{-7}$	40250
$2,4x10^{-4}$	271	$3,89x10^{-7}$	14833

Analisando os dados da Tabela 7, verifica-se que as resistências de transferência de carga diminuem com o aumento da concentração de 3-AMP, característica observada nos voltamogramas da mistura. Os resultados indicam uma pequena variação nos valores de resistência de solução (R_s), como esperado, uma vez que a solução possui as mesmas características em todas as medidas. Os valores de capacitância (C) e resistência de transferência de carga (R_{ct}) mostraram-se dependentes da concentração de 3-AMP na mistura. Quanto maior a concentração de 3-AMP, menor a resistência eletrônica e maior a sua capacitância, em similaridade com os resultados obtidos para o C_2OH, discutidos anteriormente.

A Figura 15 mostra os diagramas de Nyquist para a mistura de 11-AMU + 3-AMP em diferentes concentrações. O diâmetro menor do semi-círculo, correspondente às altas freqüências no diagrama de Nyquist, indica que a cinética de transferência de carga da espécie $[Fe(CN)_6]^{4-}$ é mais rápida quando se aumenta a concentração de moléculas do alcanotiól 3-AMP na solução de 11-AMU. Esse diâmetro indica a magnitude dos valores de R_{ct} apresentados na Tabela 7.

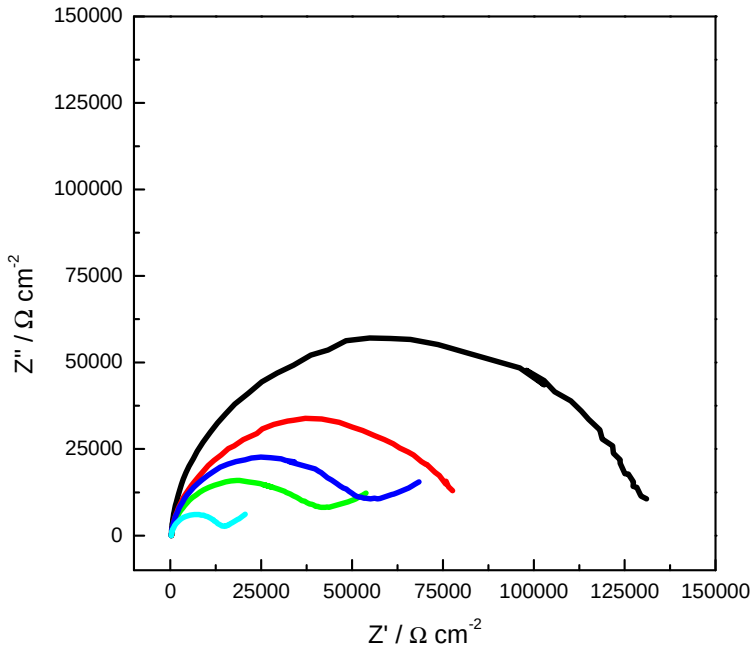

Figura 15: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + 3-AMP. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração 1,0x10^{-3} mol L^{-1}, com as adições de: (—) 6,9x10^{-5} mol L^{-1}, (—) 1,2x10^{-4} mol L^{-1}, (—) 1,9x10^{-4} mol L^{-1} e (—) 2,4x10^{-4} mol L^{-1} de 3-AMP. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.

A fim de determinar a quantidade de moléculas adsorvidas na monocamada binária, foram realizados cálculos do excesso superficial por meio da dessorção eletroquímica em solução de KOH 0,5 mol L^{-1}, idêntica à discutida anteriormente. Os resultados do excesso superficial das monocamadas formadas pelas misturas entre 11-AMU + 3-AMP estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos a partir da primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + 3AMP.

$C_{3\text{-}AMP}$ ($molL^{-1}$)*	$\Gamma_{máx}$ / mol cm^{-2}
0	$11{,}7x10^{-10}$
$6{,}9x10^{-5}$	$11{,}4x10^{-10}$
$1{,}2x10^{-4}$	$10{,}5x10^{-10}$
$1{,}9x10^{-4}$	$10{,}2x10^{-10}$
$2{,}4x10^{-4}$	$9{,}41x10^{-10}$

* concentração de 11-AMU de $1{,}0x10^{-3}$ mol L^{-1}, eletrólito: KOH 0,5 mol L^{-1}.

Assim como nos cálculos de dessorção obtidos para a mistura entre 11-AMU + C_2OH, observa-se que os valores totais de $\Gamma_{máx}$ são muito próximos de $9{,}3x10^{-10}$ mol cm^{-2}, como descrito anteriormente por Widrig *et al.* [60]. Isto significa que, para as concentrações destas misturas estudas, o recobrimento total da superfície é muito próximo de 1.

4.2.3 Mistura 11-AMU + C_4OH

Seguindo o princípio de que aumentando o número de carbonos da cadeia do alcanotiól a transferência eletrônica através desta seria dificultada, foram realizados estudos do comportamento da mistura 11-AMU + C_4OH, segundo a metodologia já executada nos itens anteriores.

A Figura 16 mostra os voltamogramas cíclicos para esta mistura, em solução tampão BR pH 3,0 contendo 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$, a 100 mV s^{-1}.

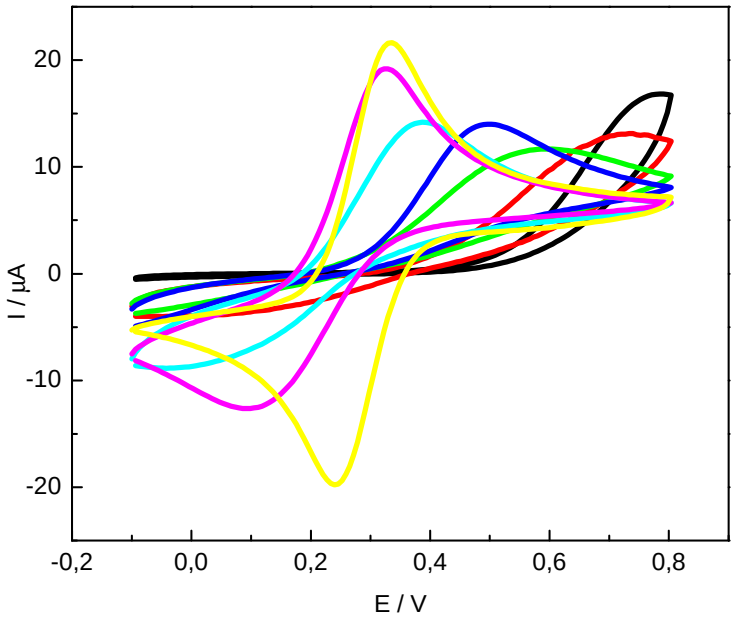

Figura 16: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista, 11-AMU + C_4OH. Composição da solução de formação das SAMs: (—) 11-AMU de concentração $1{,}0x10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (—) $1{,}2x10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $1{,}5x10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $2{,}8x10^{-4}$ mol L^{-1}, (—) $4{,}8x10^{-4}$ mol L^{-1} e (—) $5{,}8x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_4OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, e velocidade de varredura 100 mV s^{-1}.

Observando a Figura 16 verifica-se que, quando se adiciona concentrações de C_4OH na ordem de 10^{-5} mol L^{-1} na solução de 11-AMU, ocorre uma tendência do voltamograma adotar um perfil sigmóide, porém esse perfil não se torna mais bem definido à medida que se aumentam as concentrações na ordem de 10^{-4} mol L^{-1}, como observado na mistura 11-AMU + C_2OH. Neste caso, observa-se que o processo redox é cada vez mais distorcido, provocado pela maior resistência que o eletrodo modificado apresenta. Na concentração de $5{,}8x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_4OH, isto é, 42% menor que a concentração de 11-AMU, o processo redox ainda é afetado, pois os picos voltamétricos não se mostram bem definidos, principalmente o pico da redução, quando comparado ao ouro sem recobrimento. Assim, de acordo com os dados voltamétricos observados, pode-se dizer que uma mistura formada entre um

alcanotiól de cadeia carbônica longa com um de cadeia acima de 4 carbonos, afeta o processo de transferência eletrônica, diferente do comportamento observado nas duas primeiras misturas.

Para obter mais informações sobre este comportamento, foram realizados estudos de impedância eletroquímica nas mesmas condições anteriores. A Figura 17 mostra os diagramas de Nyquist para esta mistura.

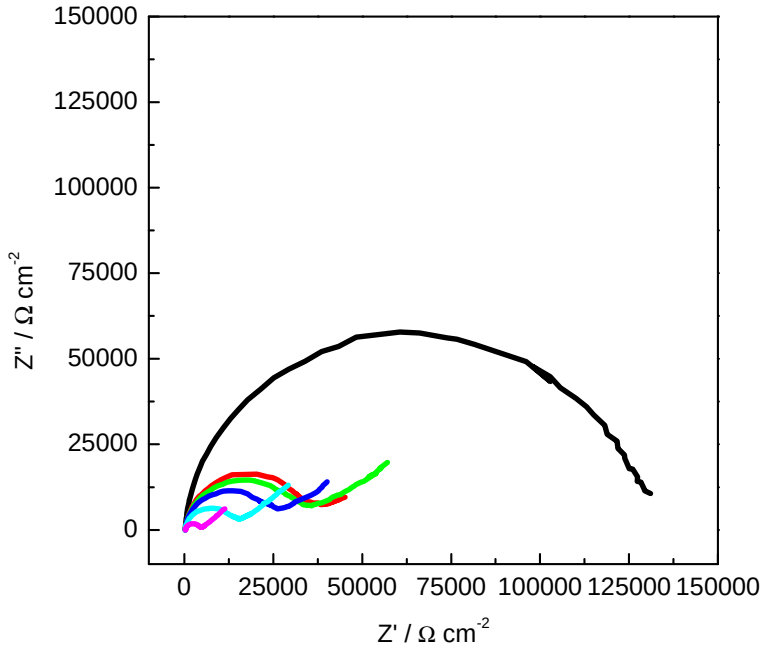

Figura 17: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + C_4OH. Composição da solução de formação das SAMs: (▬) 11-AMU de concentração $1{,}0x10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (▬) $1{,}2x10^{-5}$ mol L^{-1}, (▬) $1{,}5x10^{-5}$ mol L^{-1}, (▬) $2{,}8x10^{-4}$ mol L^{-1}, (▬) $4{,}8x10^{-4}$ mol L^{-1} e (▬) $5{,}8x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_4OH. Eletrólito composto por 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.

A Figura 17 mostra os diagramas de Nyquist das monocamadas binárias em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$. Para o espectro da SAM de 11-AMU observa-se uma resistência muito alta, indicando que a transferência eletrônica nesta monocamada é extremamente dificultada. Nas SAM mistas observa-se que a

resistência à transferência eletrônica diminui com o aumento da concentração de C_4OH, porém os valores de R_{ct} são mais altos quando comparados aos valores das misturas anteriores, sugerindo que o único meio dos elétrons chegarem até a superfície do eletrodo seja realmente pela molécula do alcanotiól C_4OH.

Na Tabela 9 estão apresentados os valores de resistência de transferência de carga (R_{ct}) e as capacitâncias (C). De maneira similar ao que vem sendo observado, quando se formam as ilhas de UMEs, a resistência de transferência de carga adquire valores menores que 50000 Ω cm^{-2}. Neste caso, para $1,5x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_4OH. Aqui, entretanto a pseudo-capacidade da dupla camada também diminui em relação às das tabelas anteriores pelo afastamento do plano de reação dentro do UME, devido ao maior comprimento da cadeia carbônica. Assim, o perfil de UME se torna um pouco mais distorcido que o do 3-AMP.

Tabela 9: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência de transferência de carga, R_{ct}, obtidos para os eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_4OH, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.

C_{C4OH} ($molL^{-1}$)	R_s / Ω cm^2	C / F cm^{-2}	R_{ct} / Ω cm^2
0	265	$1,59x10^{-7}$	130299
$1,2x10^{-5}$	276	$2,08x10^{-7}$	37429
$1,5x10^{-5}$	272	$2,94x10^{-7}$	34910
$2,8x10^{-4}$	284	$3,29x10^{-7}$	27019
$4,8x10^{-4}$	281	$4,64x10^{-7}$	15771
$5,8x10^{-4}$	274	$4,91x10^{-7}$	5362

Da mesma maneira que anteriormente, para as camadas auto-organizadas originadas das misturas de C_4OH com 11-AMU também foram realizados

voltamogramas de varredura linear, para valores negativos de potenciais em KOH 0,5 mol L^{-1}, visando-se obter a carga de dessorção da monocamada e, por meio dela, o excesso superficial Γ. Estes valores estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos a partir da primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_4OH.

C_{C4OH} ($molL^{-1}$)*	Γ_1 / mol cm^{-2}
0	$11,7x10^{-10}$
$1,2x10^{-5}$	$11,6x10^{-10}$
$1,5x10^{-5}$	$11,2x10^{-10}$
$2,8x10^{-4}$	$10,8x10^{-10}$
$4,8x10^{-4}$	$10,7x10^{-10}$
$5,8x10^{-4}$	$10,3x10^{-10}$

* concentração de 11-AMU de $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1}, eletrólito: KOH 0,5 mol L^{-1}.

Observa-se, numa comparação com os valores de Γ anteriores, para as misturas de C_2OH e 3-AMP, que o excesso superficial aumenta com o tamanho da cadeia. Conforme já discutido na literatura [16,42], cadeias mais longas formam monocamadas melhor organizadas. Assim, isto talvez justifique o fato do excesso superficial do 11-AMU ser o maior de todos ($11,7x10^{-10}$ mol.cm^{-2}). Se este fato for considerado, com o aumento da cadeia do segundo alcanotiól, C_2OH, 3-AMP, C_4OH, o recobrimento com 11-AMU aumenta e, portanto, a organização da cadeia melhora e o excesso superficial total tende àquele do 11-AMU.

4.2.4 Mistura 11-AMU + C_6OH

A última mistura a ser estudada foi aquela formada entre os alcanotióis 11-AMU + C_6OH. Nesta mistura o alcanotiól de cadeia curta escolhido possui uma estrutura carbônica muito maior que as dos outros alcanotióis de cadeia curta das primeiras misturas. Essa característica estrutural favorece a formação de uma monocamada mais densa e, conseqüentemente, suas características são mais isolantes, como observado no estudo dos alcanotióis puros na seção 4.1.1.

A Figura 18 mostra os voltamogramas cíclicos para a mistura 11-AMU + C_6OH em diferentes concentrações, obtidos em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, a 100 mV s^{-1}.

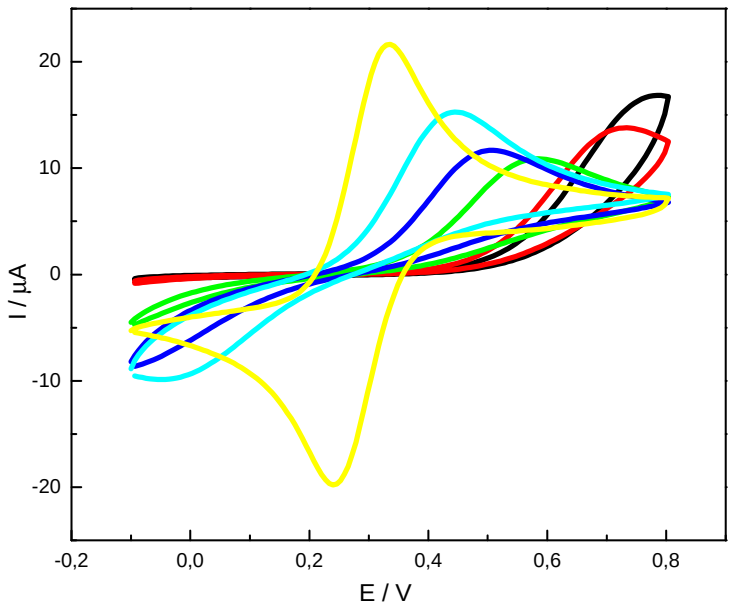

Figura 18: Voltamogramas cíclicos obtidos para o eletrodo de ouro (—) sem recobrimento e recoberto com a SAM mista 11-AMU + C_6OH em solução (—) 11-AMU de concentração $1{,}0x10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (—) $6{,}9x10^{-5}$ mol L^{-1}, (—) $3{,}7x10^{-4}$ mol L^{-1}, (—) $4{,}6x10^{-4}$ mol L^{-1} e (—) $6{,}5x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_6OH, em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, a 100 mV s^{-1}.

Observa-se que a transferência eletrônica foi afetada para todas as camadas obtidas com as várias concentrações de C_6OH na solução de 11-AMU. A grande inibição que ocorre no processo redox da espécie, principalmente em relação ao processo de redução onde os picos não são definidos, sugere que o processo redox torna-se irreversível na presença de eletrodos modificados com essa mistura. Este comportamento revela um grande aumento na resistência de transferência eletrônica do filme, deslocando os picos voltamétricos para maiores sobrepotenciais e deformando a resposta do eletrodo.

A Figura 19 mostra os diagramas de Nyquist obtidos para as monocamadas binárias. As medidas de impedância eletroquímica foram realizadas em soluções de composição similar às das demais misturas.

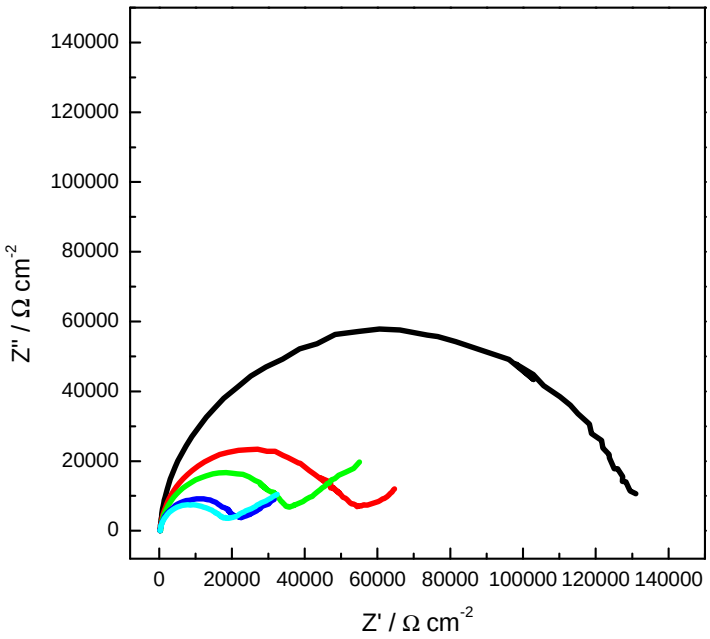

Figura 19: Diagramas de Nyquist obtidos para o eletrodo de ouro modificado com as SAM mista 11-AMU + C_6OH: (▬) 11-AMU de concentração $1{,}0x10^{-3}$ mol L^{-1}, com as adições de: (▬) $6{,}9x10^{-5}$ mol L^{-1}, (▬) $3{,}7x10^{-4}$ mol L^{-1}, (▬) $4{,}6x10^{-4}$ mol L^{-1} e (▬) $6{,}5x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_6OH, em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.

Nesta Figura verifica-se que a resistência de transferência eletrônica para as SAMs obtidas com a mistura 11-AMU + C_6OH segue o mesmo comportamento observado nos casos anteriores, isto é, à medida que se aumenta a concentração do alcanotiól de cadeia carbônica menor, ocorre uma diminuição na resistência de transferência eletrônica.

A Tabela 11 mostra que para as misturas 11-AMU + C_6OH os valores de resistência de transferência de carga desta modificação são mais elevados que nos casos anteriores, confirmando as características isolantes desta mistura, onde a transferência eletrônica é dificultada mesmo onde ocorre a formação de uma monocamada binária.

Tabela 11: Valores de resistência de solução, R_s, capacitância, C e resistência de transferência de carga, R_{ct}, obtidas para os eletrodos modificados com a mistura 11AMU + C_6OH, usando EIE. Faixa de freqüência: 100kHz a 10MHz.

C_{C6OH} ($molL^{-1}$)	R_s / Ω cm^2	C / F cm^{-2}	R_{ct} / Ω cm^2
0	265	$1,59x10^{-7}$	130299
$6,9x10^{-5}$	278	$1,92x10^{-7}$	55282
$3,7x10^{-4}$	284	$2,61x10^{-7}$	35893
$4,6x10^{-4}$	276	$2,74x10^{-7}$	22032
$6,5x10^{-4}$	288	$2,81x10^{-7}$	18235

Nota-se um aumento nos valores de capacitância desta mistura, assim como nos valores tabelados para as primeiras misturas. Porém, esses valores ainda são maiores, sugerindo que, apesar da resistência de transferência de carga diminuir com o aumento da concentração de C_6OH na mistura, ainda há uma dificuldade na

difusão das espécies devido a maior distância entre a espécie redox e a superfície do eletrodo.

Para esta mistura também foram calculados os valores do excesso superficial das moléculas de alcanotióis na superfície do eletrodo de ouro. Os valores do excesso superficial da primeira varredura de dessorção eletroquímica estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Valores dos excessos superficiais, Γ, obtidos a partir da primeira varredura redutiva, dos eletrodos modificados com a mistura 11-AMU + C_6OH.

C_{C6OH} (mol L^{-1})*	$\Gamma_{máx}$ / mol cm^{-2}
0	$11,7x10^{-10}$
$6,9x10^{-5}$	$11,5x10^{-10}$
$3,7x10^{-4}$	$11,3x10^{-10}$
$4,6x10^{-4}$	$11,3x10^{-10}$
$6,5x10^{-4}$	$11,2x10^{-10}$

* concentração de 11-AMU de $1,0x10^{-3}$ mol L^{-1}, eletrólito: KOH 0,5 mol L^{-1}.

Observa-se que, a partir dos dados de carga de dessorção das camadas auto-organizadas das diferentes misturas acima descritas, os valores totais de $\Gamma_{máx}$ são próximos àquelas descritos por Widrig *et al.* [60], de $9,3x10^{-10}$ mol cm^{-2}, como descrito anteriormente. Isto significa que, para todos as misturas aqui estudadas, o recobrimento total da superfície é muito próximo de 1, garantindo um número relativamente pequeno de “pinholes” ou defeitos na cobertura da superfície de ouro, os quais, teoricamente, deveriam facilitar a transferência eletrônica. Estes valores confirmam o fato de haver uma maior dificuldade da espécie redox se difundir pela

monocamada da mistura, isto é, há uma maior quantidade de moléculas adsorvidas na superfície eletródica, as quais proporcionam características isolantes ao filme, dificultando assim a transferência eletrônica como proposto pelo mecanismo de transferência discutido ao longo deste estudo.

4.2.5 Comparação dos valores de resistência de transferência de carga, R_{ct}, das diferentes misturas de alcanotióis

Com o objetivo de melhor interpretar os valores de resistências de transferência de carga obtidos para os eletrodos modificados pelas camadas auto-organizadas formadas pelas misturas binárias de alcanotióis de cadeia carbônica longa e cadeia curta, relacionou-se em um único gráfico os valores de resistência de transferência de carga, R_{ct}, obtidos em função das diferentes composições estudadas e para todas as concentrações de cada mistura. Os resultados estão apresentados na Figura 20.

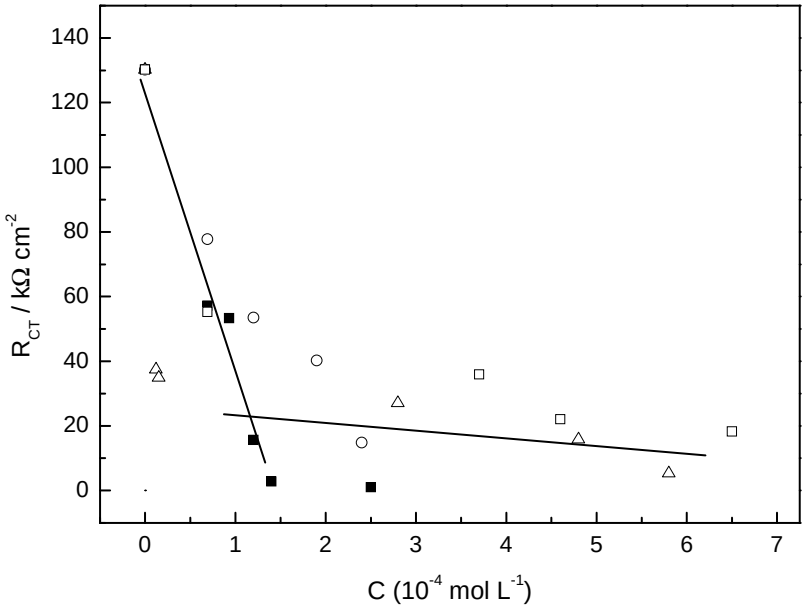

Figura 20: Comparação dos valores de resistência de transferência de carga em função das diferentes concentrações (dos alcanotióis de cadeia menor) para os as misturas 11-AMU + C_2OH (■), 11-AMU + 3-AMP (○), 11-AMU + C_4OH (Δ) e 11-AMU + C_6OH (□). Eletrólito composto por tampão BR 0,1 mol L^{-1} contendo 4 mmol L^{-1} de $Fe(CN)_6^{4-}$. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.

Observa-se que os valores de resistência diminuem até um valor próximo a 20 kΩ cm^{-2} e a partir deste valor há uma tendência dos valores permanecerem constantes. Este comportamento é observado para valores de concentração próximos a 1,2x10^{-4} mol L^{-1}, região onde ocorre a formação de uma monocamada com o comportamento semelhante ao de um arranjo de ultramicroeletrodos. Assim, sugere-se que a partir desta concentração ocorra a formação de monocamadas mais bem definidas e estáveis, as quais facilitam a transferência eletrônica através das moléculas dos alcanotióis de cada mistura estudada.

4.3 Perfil de Ultramicroeletrodo

Analisando os resultados dos estudos da transferência eletrônica de uma espécie redox, com um eletrodo modificado pela camada auto-organizada obtida a partir das misturas binárias de alcanotióis de cadeia carbônica longa e cadeia curta, verificou-se que os voltamogramas cíclicos tinham a tendência de formar um perfil sigmóide, resposta eletroquímica típica do comportamento de um ultramicroeletrodo. Neste estudo, consideramos o uso do termo ultramicroeletrodo (UME) para designar eletrodos com dimensões inferiores a 100 μm de diâmetro, utilizando a mesma definição proposta por Bond *et al*. que considera que o diâmetro de UMEs está entre 0,1 μm e 100 μm de diâmetro [98].

Dentre as misturas estudadas neste trabalho, a mistura entre $1{,}0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de 11-AMU + $1{,}2 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} C_2OH, apresentou o perfil mais próximo a de um arranjo de ultramicroeletrodos, como mostra a Figura 21.

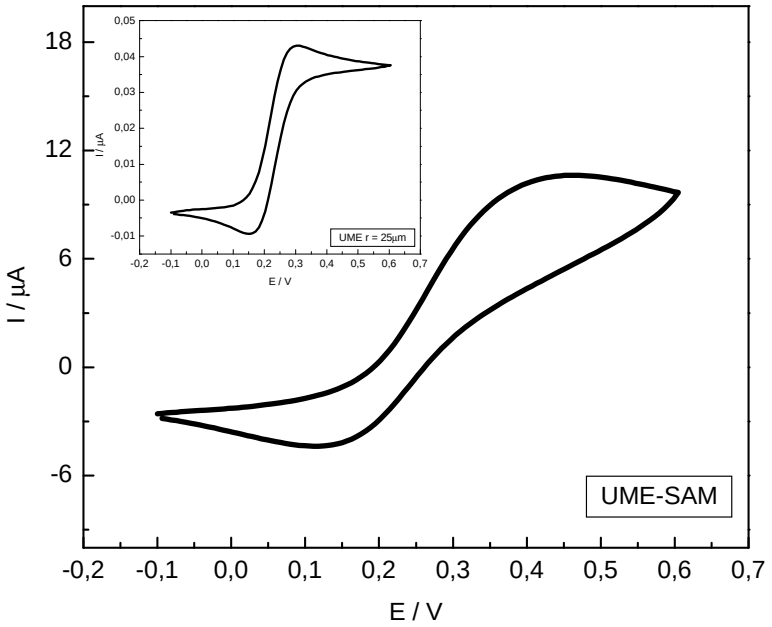

Figura 21: Voltamograma cíclico do eletrodo de Au modificado com a SAM obtida pela mistura de $1{,}0 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} de 11-AMU + $1{,}2 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3, a 100 mV s^{-1}. Perfil semelhante ao perfil sigmóide característico de um ultramicroeletrodos de Φ = 25 μm, observado no inset da figura, nas mesmas condições.

Devido a esta característica, foram realizados alguns estudos adicionais tratando a mistura entre os alcanotióis 11-AMU + C_2OH como um arranjo de ultramicroeletrodos, denominado por UME-SAM. Primeiramente foram estimados os efeitos de transporte de massa por difusão e, em seguida, os raios dos UMEs formados pela misturas dos alcanotióis segundo o modelo proposto por Amatore *et al*. [76] e Finklea *et al*. [77], que será discutido posteriormente.

Neste estudo sugere-se que o transporte de massa das espécies ocorra por difusão linear semi-infinita, onde as espécies difundem do seio da solução para a superfície do UME-SAM, que se encontra embutido em túneis formados pelas moléculas de 11-AMU, anulando assim os efeitos de borda característicos dos UMEs e distorcendo a resposta eletroquímica observada.

Em processos em que a transferência de massa é controlada pela difusão das espécies, a corrente varia com a raiz quadrada da velocidade de varredura. Sabendo que em UMEs o processo predominante de transporte de massa é a difusão, este comportamento também foi analisado no caso UME-SAM. A Figura 22 apresenta os voltamogramas resultantes da variação da velocidade de varredura para o UME-SAM.

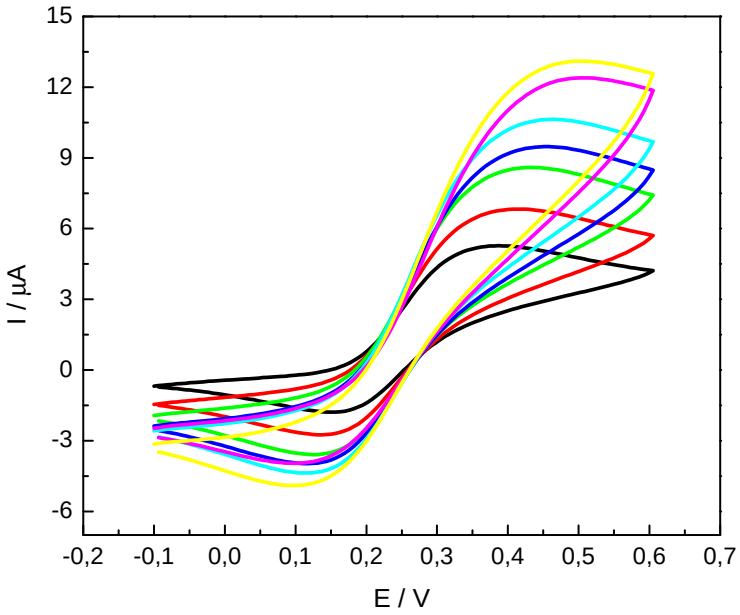

Figura 22: Variação do perfil voltamétrico em função da velocidade de varredura: (▬) 10 mV s^{-1}, (▬) 25 mV s^{-1}, (▬) 50 mV s^{-1}, (▬) 75 mV s^{-1}, (▬) 100 mV s^{-1}, (▬) 150 mV s^{-1} e (▬) 200 mV s^{-1}, para a mistura $1{,}0x10^{-3}$ mol L^{-1} de 11-AMU + $1{,}2x10^{-4}$ mol L^{-1} de C_2OH, em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3.

A Figura 23 apresenta a relação das correntes limites de difusão com a raiz quadrada da velocidade de varredura, onde se observa que para velocidades até 150 mV s^{-1} o aumento da corrente é linear, acima deste valor a corrente sofre uma pequena diferença devido ao deslocamento dos picos.

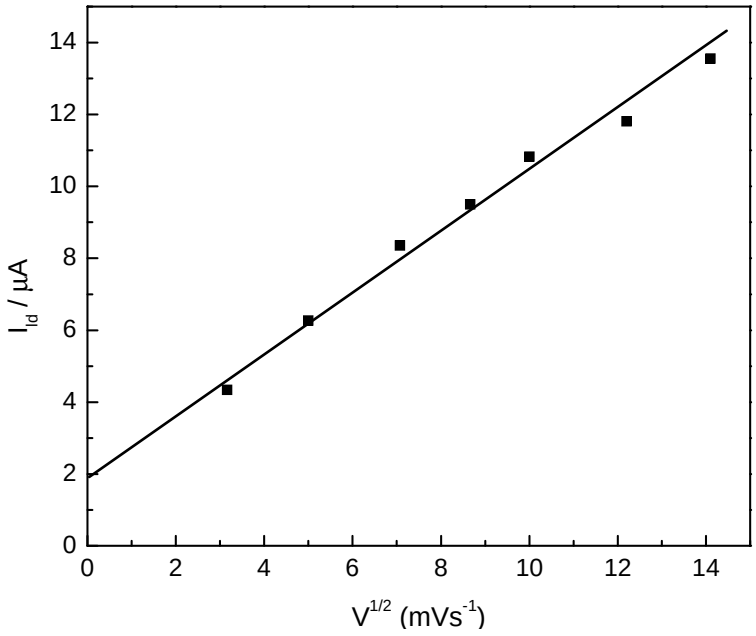

Figura 23: Relação das correntes limites de difusão com a raiz da velocidade de varredura para os dados da Figura 22.

Observa-se claramente que a corrente limite de difusão para o UME-SAM é diretamente proporcional à raiz quadrada da velocidade de varredura, comprovando o controle por difusão (modo de transporte de massa predominante nos UMEs).

A relação linear não apresenta um coeficiente linear próximo de zero, como era de se esperar para UMEs. A diferença do coeficiente linear do valor esperado, 0, deve ser atribuída às dificuldades encontradas com o traçado da linha de base das correntes limites de difusão.

Seguindo a interpretação do comportamento da SAM binária como ultramicroeletrodos (UME-SAM) foram calculados os valores dos raios dos UMEs por meio dos dados de impedância eletroquímica.

A magnitude da resistência de transferência de carga pode ser relacionada com o recobrimento do eletrodo pela monocamada assumindo que as reações de transferência eletrônica ocorram somente na superfície do eletrodo limpo onde não há moléculas de alcanotiól adsorvidas, assim a difusão nestes “pinholes” é planar.

Se esta condição for satisfeita, a equação 10 (99) pode ser utilizada para calcular o grau de recobrimento:

$$\theta_{eie}{}^{R} = 1 - \left(\frac{R_{ct}{}^{Au}}{R_{ct}{}^{SAM}} \right) \qquad (\textit{equação 10})$$

onde, R_{ct}^{Au} é a resistência de transferência eletrônica para o ouro limpo e R_{ct}^{SAM} a resistência de transferência eletrônica no eletrodo modificado, medidos nas mesmas condições. De acordo com os valores obtidos pelo diagrama de Nyquist para a monocamada binária, o grau de recobrimento calculado foi de θ_{eie}^{R} = 0,9379. No entanto, de acordo com o modelo proposto por Amatore *et al*. [76], θ não pode ser calculado pela equação 10, quando esse valor for próximo a unidade, isto é, para θ > 0,9. Neste caso, o grau de recobrimento deve ser estimado utilizando um modelo baseado no tamanho dos “pinholes”, como descrito pela equação 11 [99]:

$$\theta_{eie}{}^{P} = 1 - \left(\frac{\sigma_W}{m - \sigma_W} \right) \qquad (\textit{equação 11})$$

onde, σ_W é o coeficiente de Warburg calculado pela caracterização do ouro limpo, e *m,* a inclinação do intervalo linear observado na região de altas freqüências da relação entre *Z’* vs $\omega^{-1/2}$, sendo ω a freqüência, obtido para o eletrodo modificado, como se observa na Figura 24:

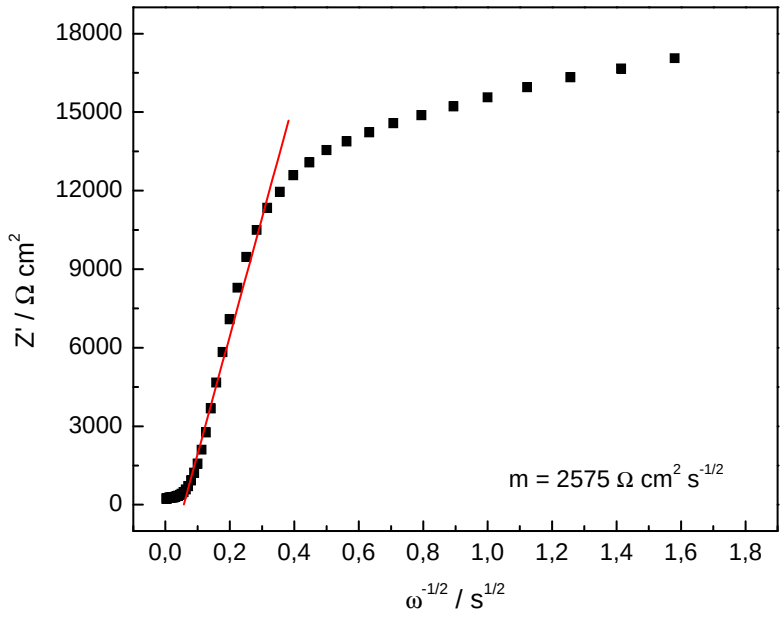

Figura 24: Z' em função de $\omega^{-1/2}$ e a regressão linear correspondente (linha vermelha) obtida para regiões da curva de baixas freqüências, para o eletrodo modificado com a SAM formada pela mistura de 1,0x10^{-3} mol L^{-1} de 11-AMU + 1,2x10^{-4} mol L^{-1} de C_2OH em solução 4 mmol L^{-1} de $[Fe(CN)_6]^{4-}$ em tampão BR 0,1 mol L^{-1} pH 3. Faixa de freqüência de 100 kHz a 10 MHz, 10 mV de amplitude de pulso.

O valor de θ_{eie}^{P} = 0,9639 foi encontrado como o grau de recobrimento para a mistura 1,0x10^{-3} mol L^{-1} de 11-AMU + 1,2x10^{-4} mol L^{-1} de C_2OH. O raio dos "pinholes" da monocamada e a distância entre eles foram estimados usando o modelo proposto por Amatore *et al*. [76]. De acordo com esse modelo, pode-se assumir que os "pinholes" são regiões ativas na forma de discos com raios uniformes e distribuídos em partes iguais pela monocamada. A fração da área dos "pinholes", (1 - θ_{eie}^{P}), pode ser relacionada com o seu tamanho e a distância entre eles, por meio da equação 12 [99]:

$$1-\theta_{eie}^{P} = \frac{r_a^{2}}{r_b^{2}} \qquad \textit{(equação 12)}$$

onde, r_a é o raio dos “pinholes” e r_b o raio dos domínios inativos vizinhos ao UME. O raio dos “pinholes”, r_a, pode ser calculado pelas equações 13 e 14 [99]:

$$q = \frac{D}{0.36 r_a^{\ 2}} \qquad \textit{(equação 13)}$$

$$\omega = \frac{q}{2} \qquad \textit{(equação 14)}$$

onde *q* é a freqüência de transição radial, calculada pelo valor de freqüência máxima, $\omega_{máx}$, obtida por Z” vs $\omega^{-1/2}$, como observa-se na Figura 25.

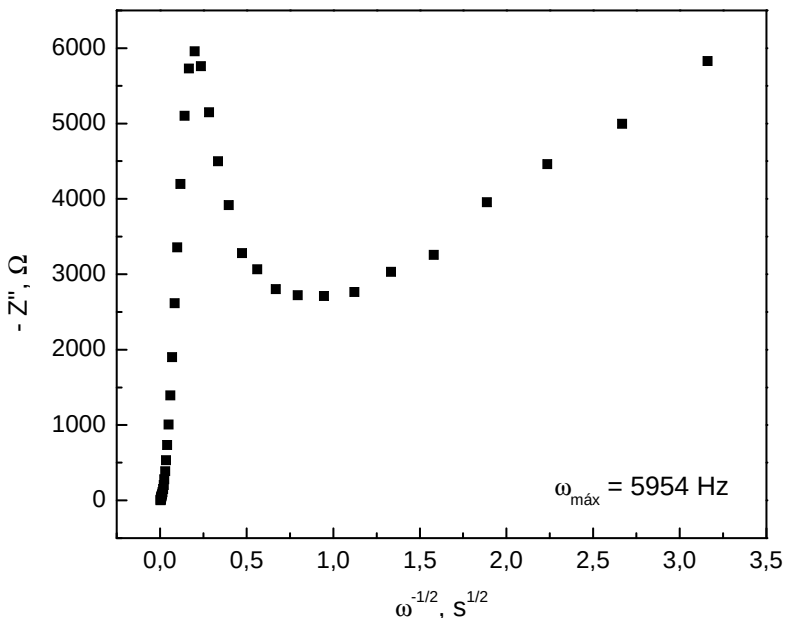

Figura 25: Relação entre Z” e $\omega^{-1/2}$ para o eletrodo da Figura 22.

Observa-se na Figura 25, que para a mistura binária $\omega_{máx}$ = 5954 Hz, e assim o raio dos “pinholes”, r_a, pode ser calculado pela equação 13 [99], assumindo que o valor do coeficiente de difusão para da espécie redox $[Fe(CN)_6]^{4-}$ é Do = Dr = 7,6x10^{-6} cm^2 s^{-1} [100]:

$$1-\theta_{eie}{}^{P}=\left(\frac{\sigma_W}{m-\sigma_W}\right)=\frac{r_a{}^2}{r_b{}^2} \qquad \textit{(equação 15)}$$

De acordo com a equação 15, o raio dos “pinholes” calculado para esta mistura é de r_a = 42μm e a distância entre eles de r_b = 221 μm. O raio r_a e a distância r_b estão ilustrados na Figura 26.

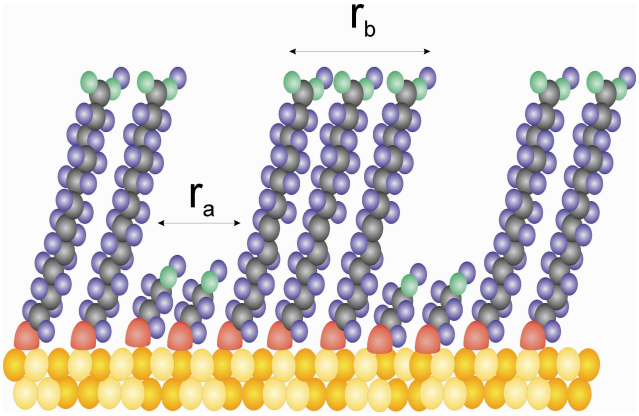

Figura 26: Esquema da disposição entre as moléculas no UME-SAM com o valor do raio r_a e da distância r_b.

Assumindo um UME de r = 42 μm seu I_{ld} teórico pode ser calculado pela equação 16 [93]:

$$I_{ld}=4\pi nFD_oC_o{}^{*}r_o \qquad \textit{(equação 16)}$$

onde os termos à direita da equação apresentam seus significados usuais.

Substituindo-se os valores correspondentes na equação 16, obtêm-se um valor de $1{,}5\times10^{-6}$ A para I_{ld}.

Uma vez que o valor experimental de corrente obtido para a UME-SAM (Figura 19) foi de $9,6x10^{-6}$ A, uma razão igual a 60 é calculada entre as correntes, sendo esse valor atribuído a um arranjo de 60 ultramicroeletrodos formados pela SAM binária que respondem com uma corrente total.

4.4 Cinética de formação de monocamadas in situ por microbalança de cristal de quartzo

A cinética de formação de monocamadas auto-organizadas é um dos temas que mais geram discussões sobre o entendimento destes sistemas. Dentre as técnicas mais utilizadas para avaliar este mecanismo, a microbalança eletroquímica a cristal de quartzo tem se mostrado uma ferramenta poderosa e extremamente atraente para examinar os processos de adsorção/dessorção das monocamadas devido à sua capacidade de detectar diferenças de massa na ordem de nanogramas (101-103).

Assim, está técnica foi utilizada para monitorar a cinética de formação dos alcanotióis de cadeia carbônica longa e cadeia curta, a fim de avaliar o tempo necessário para a formação de uma monocamada completa de cada alcanotiól. Para estes estudos, o cristal de quartzo revestido com ouro foi exposto em uma solução de $1,0x10^{-2}$ mol L^{-1} do alcanotiól em solução de hexano. A Figura 27 mostra a variação de freqüência em função do tempo para a formação de uma monocamada de 3-AMP.

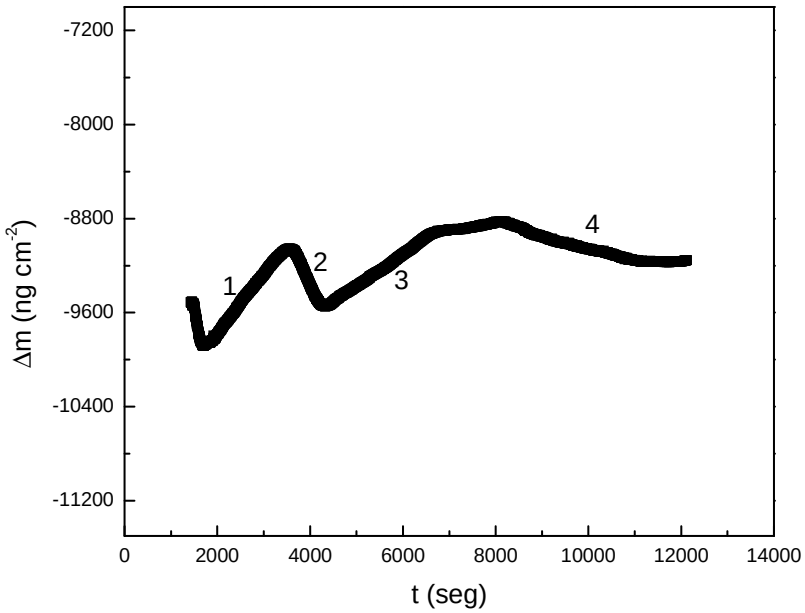

Figura 27: Variação de massa em função do tempo de adsorção para o alcanotiól 3-AMP.

Assumindo que uma monocamada constitui um filme rígido, a equação de Sauerbrey pode ser utilizada para converter a variação de freqüência em variação de massa, onde o coeficiente de sensibilidade para a microbalança utilizada é de 0,060 Hz/ng cm^{-2} [101]. Na Figura 27 observa-se que o processo de formação da monocamada de 3-AMP é dividido em 4 etapas distintas.

Inicialmente, deve-se considerar que os eletrodos de ouro da microbalança eletroquímica de cristal de quartzo apresentam uma área eletroquímica de 1,7 cm^2 (calculada pela mesma metodologia utilizada anteriormente) exposta à solução. Nesta área, levando em consideração a distribuição das faces cristalográficas do ouro policristalino, existem $2{,}10 \times 10^{-9}$ moles de átomos de ouro por cm^2, onde cada átomo corresponde a um sítio de adsorção, que será recoberto com uma molécula do alcanotiól. Assim, como cada molécula de 3-AMP tem uma massa molecular de 106,14 g mol^{-1}, a massa total da monocamada completa será de 222,9 ng cm^{-2}. De maneira análoga, para o 11-AMU (massa molecular 218,4 g mol^{-1}) a massa teórica

de uma monocamada completa será de 458,6 ng cm^{-2}. Como o eletrodo tem 1,7 cm^2, estes valores se tornam 378,9 e 779,6 ng, respectivamente.

Sabendo as condições adotadas para os cálculos dos valores de variação de massa, os processos de formação da monocamada 3-AMP podem ser devidamente analisados. No processo 1, ocorre um aumento rápido de massa, que corresponde a 479 ng de 3-AMP. Segundo a razão entre o valor teórico e o experimental, nesta primeira etapa da formação da SAM, pode-se calcular um recobrimento de θ = 1,2 camadas do alcanotiól sobre a superfície de ouro nos primeiros 58 minutos de experimento, o qual ocorre de maneira totalmente desordenada.

Na etapa 2, observa-se uma perda de massa de 296 ng, a qual pode ser atribuída à dessorção de moléculas de 3-AMP fracamente adsorvidas na superfície do ouro e sobre outras moléculas de 3-AMP. Porém, um novo processo de adsorção pode ser observado na etapa 3. Esse processo deve ocorrer, provavelmente, nas regiões de dessorção da segunda etapa. Um valor de massa de 429 ng é observado nesta etapa, que deve ser adicionado ao valor de 183 ng, massa de 3-AMP presente na superfície do ouro desde a primeira adsorção. Portanto, na etapa 3 há uma quantidade de 612 ng do alcanotiól 3-AMP adsorvido sobre o ouro, o que é suficiente para formar 1,6 camadas, segundo a razão entre o valor teórico e o experimental. Na quarta e última etapa ocorre uma nova dessorção, provavelmente uma etapa de organização das moléculas de 3-AMP, onde as moléculas fracamente adsorvidas são dessorvidas da superfície. Ao fim de 3,5 horas, observa-se na etapa 4 uma variação de massa de 417 ng, que corresponde à formação de 1,1 camadas de 3-AMP adsorvidas sobre a superfície do ouro. Durante o período de monitoramento observaram-se etapas sucessivas de adsorção e dessorção das moléculas e este comportamento sugere que ocorra uma etapa de adsorção seguida

pela organização das moléculas para a formação das monocamadas de SAM, como proposto pelo modelo de adsorção de Langmuir (54). Observa-se também que a formação de aproximadamente uma monocamada de alcanotióis leva cerca de 3,5 horas.

Para comparar a cinética de formação de monocamadas entre o alcanotiól de cadeia carbônica longa e os de cadeia curta, foi monitorada a formação de uma monocamada do alcanotiól 11-AMU neste intervalo de tempo, a fim de avaliar o grau de adsorção envolvido neste processo, e assim compreender melhor a cinética de formação de monocamadas binárias como discutido na seção 4.2.

A Figura 28 mostra as variações de massa em função do tempo para a formação de uma monocamada de 11-AMU. Observa-se que o processo de formação da monocamada de 11-AMU é dividido em apenas 3 etapas. Este comportamento sugere que a cinética de adsorção das duas moléculas possuem etapas distintas, o que difere seu comportamento quando estão em misturas binárias como discutido anteriormente.

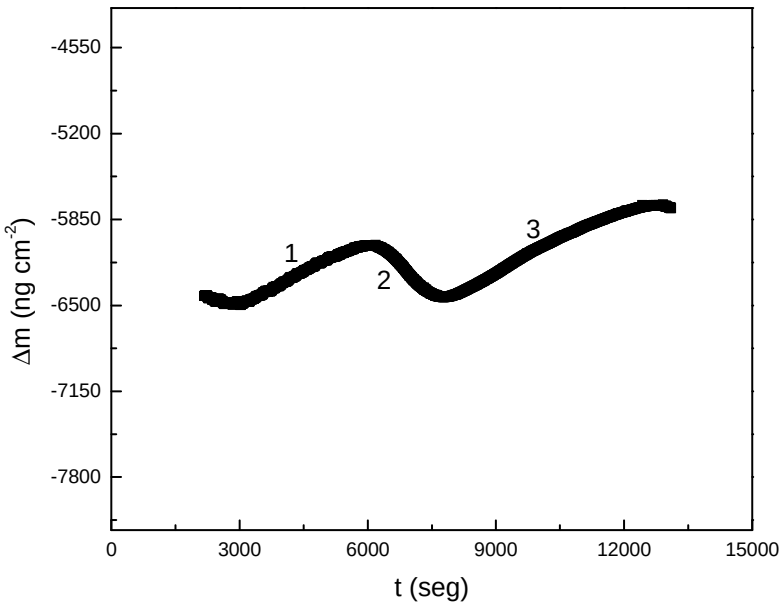

Figura 28: Variação de massa em função do tempo de adsorção para o alcanotiól 11-AMU.

No processo 1, observa-se um aumento de massa o qual é mais lento se comparado ao processo 1 da adsorção do alcanotiól 3-AMP (Figura 27). A massa correspondente para este processo é de 242 ng de 11-AMU. Segundo a razão entre o valor teórico (779,6 ng) e o experimental, nesta primeira etapa da formação da SAM, pode-se calcular um recobrimento de θ = 0,3 camadas do alcanotiól sobre a superfície de ouro nos primeiros minutos de experimento. Nesta primeira etapa, o grau de adsorção do alcanotiól 11-AMU foi inferior ao do 3-AMP, sugerindo que a adsorção do alcanotiól 3-AMP, cujo cadeia carbônica é relativamente curta, é mais rápida que a de um alcanotiól de molécula maior, como no caso do 11-AMU.

Na etapa 2, ocorre uma perda de massa de 234 ng cm^{-2} que pode ser atribuída à dessorção de moléculas de 11-AMU fracamente adsorvidas na superfície do ouro, sendo este valor muito próximo ao observado na primeira etapa. Porém, uma nova adsorção pode ser observada na etapa 3. Um valor de massa de 421 ng é observado nesta etapa, porém uma quantidade já adsorvida de 9 ng está presente na superfície do ouro, referente à primeira etapa. Portanto, nesta terceira etapa há uma quantidade de 430 ng do alcanotiól 11-AMU adsorvidos sobre o ouro. Esta quantidade não é suficiente para a formação de uma monocamada completa, mas suficiente para formar 0,6 camadas, segundo a razão entre o valor teórico e o experimental.

Estes valores de massa observados para a formação das monocamadas são aproximados, tendo em vista que os experimentos foram realizados em solução de hexano, diferentemente dos experimentos anteriores, onde uma solução etanólica foi utilizada. De acordo com estudos realizados por Ulman *et al.* [39] o etanol, apesar de ser o solvente mais utilizado na preparação das soluções dos alcanotióis, causa grandes flutuações na resposta de freqüência da QCM, fato atribuído à complexa

resposta dielétrica do etanol. Segundo Ulman *et al.* [39] este fato é atribuído às propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas na superfície modificada em solução.

Assim, as medidas da formação de monocamadas observadas utilizando a técnica de microbalança a cristal de quartzo, sugerem que quando há uma competição de adsorção entre alcanotióis de cadeia longa com os de cadeia curta, a adsorção é favorecida cineticamente ao alcanotiól de cadeia curta confirmando os resultados voltamétricos e espectroscópicos discutidos anteriormente.

5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi pesquisado o mecanismo de transferência de elétrons através de camadas auto-organizadas de alcanotióis.

Foi demonstrado, pela primeira vez ao nosso conhecimento, que a transferência eletrônica ocorre através da camada de alcanotiól, com cadeias de até 4 carbonos e acima disto verifica-se um bloqueio total da superfície do eletrodo. Não foi constatada a transferência eletrônica via “pinholes” ou defeitos, conforme freqüentemente sugerido na literatura.

A modificação da superfície eletródica com misturas de ácido 11-mercaptoundecanóico e alcanotióis com cadeias menores (2 ou 3 carbonos) proporcionou respostas eletroquímicas compatíveis com aquelas esperadas para ultramicroeletrodos. Assim, foi proposto um modelo de camada auto-organizada contendo “ilhas” de moléculas de 2 ou 3 carbonos reunidos, por onde os elétrons podem se transferir, cercados por paredes isolantes de moléculas de 11 átomos de carbono. Foi possível estimar experimentalmente o número de UMEs neste arranjo, fortalecendo a teoria da passagem eletrônica através das cadeias de 2 ou 3 carbonos.

Além deste comportamento, uma relação importante foi observada nos estudos de dessorção redutiva das monocamadas por meio dos valores do excesso superficial obtidos, onde foi possível comprovar a existência de uma monocamada inteira para os alcanotióis estudados.

O estudo da formação das camadas auto-organizadas utilizando a variação de massa observada sobre a superfície eletródica com o auxílio de uma microbalança de cristal de quartzo permitiu observar algumas etapas de adsorção e

dessorção dos alcanotióis, até se atingir a variação de massa correspondente à formação de uma monocamada completa.

A estratégia de estudar a transferência eletrônica de monocamadas de alcanotióis através de suas misturas conduziu a resultados muito interessantes ainda não observados na literatura. Assim os objetivos propostos neste trabalho foram alcançados e uma contribuição significativa à comunidade científica para o entendimento destes sistemas pode ser aqui encontrada.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

As perspectivas futuras para continuação deste trabalho se concentram em explorar sua aplicação analítica. Pelo fato da condutividade das SAMs mistas aumentarem, essa característica será explorada na construção de biossensores que utilizam alcanotióis como transdutores. Essa aplicação já vem sendo desenvolvida com biossensores de glicose no nosso grupo de pesquisa. Aplicações futuras para o monitoramento de óxido nítrico (NO) em cultura de células utilizando estes sistemas também serão desenvolvidas em um projeto de doutoramento.

7. REFERÊNCIAS BIBILIOGRÁFICAS

1.LANE, R.F.; HUBBARD, A.T. Electrochemistry of chemisorbed molecules. 1. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents. **Journal of Physical Chemistry**, v. 77, n. 11, p. 1401-1410, 1973.

2.LANE, R. F.; HUBBARD, A. T. Electrochemistry of chemisorbed molecules. 2. The influence of charged chemisorbed molecules on the electrode reactions of platinum complexes. **Journal of Physical Chemistry**, v. 77, n. 11, p. 1411-1421, 1973.

3.MOSES, P. R.; WIER, L.; MURRAY, R. W. Chemically modified tin oxide electrode. **Analytical Chemistry**, v. 41, n. 12, p. 1882-1886, 1975.

4.WATKINS, B. F.; BEHLING, J. R.; KARIV, E.; MILLER, L. L. A chiral electrodes. **Journal of the American Chemical Society***,* v. 97, n. 12, p. 3549-3550, 1975.

5.PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanaliticas. **Química Nova**, v. 25, n. 61, p. 1012-1021, 2002.

6.LÖTZBEYER, T.; SCHUHMANN, W.; SCHMIDT, H-L. Electron transfer principles in amperometric biosensors: Direct electron transfer between enzymes and electrode surface. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 33, n. 1-3, p. 50-54, 1996.

7.PERSSON, B. Chemically modified graphite electrode for electrocatalytic oxidation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide based on a phenothiazine derivative, 3-β-naphthoyl-toluidine blue O. **Journal of Electroanalytical Chemistry and interfacial electrochemistry**, v. 287, n. 1, p. 61-80, 1990.

8.CHAKI, N. K.; VIJAYAMOHANAN, K. Self-assembled monolayers as a tunable platform for biosensor applications. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 17, n. 1-2, p. 1-12, **2002**.

9.ALBAREDA-SIRVENT, M.; MERKOCI, A.; ALEGRET, S. Configurations used in the design of screen-printed enzymatic biosensors. A review. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 69, n. 1, p. 153-163, 2002.

10.DOWNARD, A. J. Electrochemically assisted covalent modification of carbon electrodes. **Electroanalysis**, v. 12, n. 14, p. 1085-1096, 2000.

11.GARCIA, C. A. B.; OLIVEIRA NETO, G.; KUBOTA, L. T. New fructose biosensors utilizing a polypyrrole film and D-fructose 5-dehydrogenase immobilized by different process. **Analytica Chimica Acta**, v. 374, n. 2-3, p. 201-208, 1998.

12.CÉSPEDES, F.; MARTINEZ-FÁBREGAS, E.; ALEGRET, S. Amperometric glucose biosensor base on an electrocatalytically bulk-modified epoxy-graphite biocomposite. **Analytica Chimica Acta**, v. 284, n. 1, p. 21-26, 1993.

13.GERISCHER, H.; KOLB, D. M.; SASS, J. K. Study of solid surfaces by electrochemical methods. **Advances in Physics**, v. 27, n. 3, p. 437-498, 1978.

14.TANIGUCHI, I.; TOYOSAWA, K.; YAMAGUCHI, H.; YASUKOUCHI, K. Reversible electrochemical reduction and oxidation of cytochrome c at a bis(4-pyridyl) disulphide-modified gold electrode. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, v. 18, p. 1032-1033, 1982.

15.NUZZO, R. G.; ALLARA, D. L. Adsorption of bifunctional organic disulfides on gold surfaces. **Journal of the American Chemical Society**, v. 13, n. 105, p. 4481-4483, 1983.

16.ULMAN, A. Formation and structure of self-assembled monolayers. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 4, p. 1533-1554, 1996.

17.FERREIRA, M.; CAETANO, W.; ITRI, R.; TABAK, M.; OLIVEIRA JUNIOR., O. N. Characterization techniques to investigate molecular-level interactions in Langmuir and Langmuir-Blodgett. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p.502-510*,* 2005.

18.LAIBINIS, P. E.; PALMER, B. J.; LEE, S. W. The synthesis of organothiols and their assembly into monolayers on gold. In: ULMAN, A. (Ed.). **Thin films**. San Diego: Academic Press, 1998. v. 24, p. 2-36.

19.BIGELOW, W. C.; PICKETT, D. L.; ZISMAN, W. A. Oleophonic monolayer. I. Films adsorbed from solution in non polar liquids. **Journal of Colloid Science**, v. 1, n. 6, p. 513-538, 1946.

20.ZISMAN, W. A. Relation of equilibrium contact angle to liquid and solid constitution. **Advance Chemistry Service**, v. 43, p. 1-51, 1964.

21.HUBBARD, A. T. Electrochemistry of well-defined surfaces. **Accounts of Chemical Research**, v. 13, n. 6, p. 177-184, 1980.

22.NUZZO, R. G.; DUBOIS, L. H.; ALLARA, D. L. Fundamental studies of microscopic wetting on organic surfaces. I. Formation and structural characterization of a self-consistent series of polyfunctional organic monolayers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 112, n. 2, p. 558-569, 1990.

23.BAIN, C. D.; WHITESIDES, G. M. Molecular-level control over surface order in self-assembled monolayer films of thiols on gold. **Science**, v. 240, n. 4848, p. 62-63, 1988.

24.PORTER, M. D.; BRIGHT, T. B.; ALLARA, D. L.; CHIDSEY, C. E. D. Spontaneously organized molecular assemblies. IV. Structural characterization of n-alkyl thiol monolayers on gold by optical ellipsometry, infrared spectroscopy, and electrochemistry. **Journal of the American Chemical Society**, v. 109, n. 12, p. 3559-3568, 1987.

25.BAIN, C. D.; TROUGHTON, E. B.; TAO, Y-T.; EVALL, J.; WHITESIDES, G. M.; NUZZO, R. G. Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold. **Journal of the American Chemical Society**, v. 11, n. 1, p. 321-335, 1989.

26.SCHREIBER, F. Structure and growth of self-assembling monolayers. **Progress in Surface Science**, v. 65, n. 5-8, p. 151-256, 2000.

27.FOLKERS, J. P.; LAIBINIS, P. E.; WHITESIDES, G. M. Self-assembled monolayers of alkanethiols on gold: comparisons of monolayers containing mixtures of short- and long-chain constituents with methyl and hydroxymethyl terminal groups. **Langmuir**, v. 8, n. 5, p. 1330-1341, 1992.

28.BAIN, C. D.; BIEBUYCK, H. A.; WHITESIDES, G. M. Comparison of self-assembled monolayers on gold: coadsorption of thiols and disulfides. **Langmuir**, v. 5, n. 3, p. 723-727, 1989.

29.BIEBUYCK, H. A.; BAIN, C. D.; WHITESIDES, G. M. Comparison of organic monolayers on polycrystalline gold spontaneously assembled from solutions containing dialkyl disulfides or alkanethils. **Langmuir**, v. 10, n. 6, p. 1825-1831, 1994.

30.DANNENBERGER, O.; BUCK, M.; GRUNZE, M. Self-assembly of n-alkanethiols: a kinetic study by second harmonic generation. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 12, p. 2202-2213, 1999.

31.ONG, T. H.; DAVIES, P. B.; BAIN, C. D. Sum-frequency spectroscopy of monolayers of alkoxy-terminated alkanethiols in contact with liquids. **Langmuir**, v. 9, n. 7, p. 1836-1845, 1993.

32.SHIMAZU, K.; YAGI, I.; SATO, Y. In situ and dynamic monitoring of the self-assembling and redox processes of a ferrocenylundecanethiol monolayer by electrochemical quartz crystal microbalance. **Langmuir**, v. 8, n. 5, p. 1385-1387, 1992.

33.SMITH, R. K.; LEWIS, P. A.; WEISS, P. S. Patterning self-assembled monolayer. **Progress in Surface Science**, v. 75, n. 1-2, p. 1-68, 2004.

34.TRUONG, K. D.; ROWNTREE, P. A. Kinetics of the formation of butanethiol monolayers on gold substrates, as studied by infrared spectroscopy. **Progress in Surface Science**, v. 50, n. 1-4, p. 207-216, 1995.

35.BATCHELDER, D. N.; EVANS, S. D.; FREEMAN, T. L. Self-assembled monolayers containing polydiacetylenes. **Journal of the American Chemical Society**, v. 116, n. 3, p.1050-1053, 1994.

36.MRKSICH, M. A surface chemistry approach to studying cell adhesion. **Chemical Society Review**, v. 29, p. 267-273, 2000.

37.MIRSKY, V. M. New electroanalytical applications of self-assembled monolayers. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 6-7, p. 439-450, 2002.

38.KANE, R. S.; DESCHATELETS, P.; WHITESIDES, G. M. Kosmotropes form the basis of protein-resistant surfaces. **Langmuir**, v. 19, n. 6, p. 2388-2391, 2003.

39.KARPOVICH, D. S.; SCHESSLER, H. M.; BLANCHARD, G. J.; The kinetics and thermodynamics of monolayer formation: In situ measurement of alkanethiol adsorption onto gold. In: ULMAN, A. (Ed.). **Thin films**. San Diego: Academic Press, 1998. v. 24, p. 44-77.

40.CARVALHAL, R. F.; FREIRE, R. S.; KUBOTA, L. T. Polycrystalline gold electrodes: A comparative study of pretreatment procedures used for cleaning and thiol self-assembly monolayer formation. **Electroanalysis**, v. 17, n. 14, p. 1251-1259, 2005.

41.SUBRAMANIAN, R.; LAKSHMINARAYANAN, Y. Study of kinetics of adsorption of alkanethiols on gold using electrochemical impedance spectroscopy. **Electrochimica Acta,** v. 45, n. 27, p. 4501-4509, 2000.

42.CHEN, D.; LI, J. Interfacial design and functionization on metal electrodes through self-assembled monolayer. **Surface Science Reports**, v. 61, n. 11, p. 445-463, 2006.

43.CREAGER, S. E.; OLSEN, K. G. Self-assembled monolayers and enzyme electrodes: progress, problems and prospects. **Analytica Chimica Acta**, v. 307, n. 2-3, p. 277-289, 1995.

44.BURGESS, J. D.; HAWKRIDGE, F. M. Octadecyl mercaptan sub-monolayers on silver electrodeposited on gold quartz crystal microbalance electrodes. **Langmuir**, v. 13, n. 14, p. 3781-3786, 1997.

45.WANG, J.; ZENG, B.; FANG, C.; ZHOU, X. Electrochemical characteristic of 2-mercaptobenzothiazole self-assembled monolayer on gold. **Analytical Science**, v. 16, n. 5, p. 457-461, 2000.

46.RON, H.; RUBINSTEIN, I. Alkanethiol monolayers on preoxidised gold. Encapsulation of gold oxide under an organic monolayer. **Langmuir**, v. 10, n. 12, p. 4566-4573, 1994.

47.CARVALHAL, R. F. **Desenvolvimento de sensor biomimético empregando monocamadas auto-organizadas de tióis sobre eletrodos de ouro**. 2005. 99 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

48.CAMPUZANO, S.; SERRA, B.; PEDRERO, M.; VILLENA, F. J. M.; PINGARRÓN, J. M. Amperometric flow-injection determination of phenolic compounds at self-assembled monolayer-based tyrosinase biosensors. **Analytica Chimica Acta**, v. 494, n. 1-2, p. 187-197, 2003.

49.BAIN, C. D.; WHITESIDES, G. M. A study by contact angle of the acid-base behavior of monolayers containing ω-mercaptocarboxylic acids adsorbed on gold: An example of reactive spreading. **Langmuir**, v. 5, n. 6, p. 1370-1378, 1989.

50.WEEISHAAR, D. E.; WALCZAK, M. M.; PORTER, M. D. Electrochemically induced transformations of monolayers formed by self-assembly of mercaptoethanol at gold. **Langmuir**, v. 9, n. 1, p. 323-329, 1993.

51.LOVE, J. C.; ESTROFF, L. A.; KRIEBEL, J. K.; NUZZO, R. G.; WHITESIDES, G. M. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 4, p. 1103-1169, 2005.

52.DANNENBERGER, O.; WOLFF, J. J.; BUCK, M. Solvent dependence of the self-assembly process of an endgroup-modified alkanethiol. **Langmuir**, v. 14, n. 17, p. 4679-4682, 1998.

53.BIEBUYCK, H. A.; BAIN, C. D.; WHITESIDES, G. M. Comparison of organic monolayer on polycrystalline gold spontaneously assembled from solutions containing dialkyl disulfides or alkanethiols. **Langmuir,** v. 10, n. 6, p. 1825-1831, 1994.

54.KAWASAKI, M.; SATO, T.; TANAKA, T.; TAKAO, K. Rapid self-assembly of alkanethiol monolayers on sputter-grown Au (111). **Langmuir**, v. 16, n. 4, p. 1719-1728, 2000.

55.GOODING, J. J.; HALL, E. A. H.; HIBBERT, D. B. From thick films to monolayer recognition layers in amperometric enzyme electrodes. **Electroanalysis**, v. 10, n. 16, p. 1130-1136, 1998.

56.DING, S. J.; CHANG, B. W.; WU, C. C.; LAI, M. F.; CHANG, H. C. Impedance spectral studies of self-assembly of alkanethiols with different chain lengths using different immobilization strategies on Au electrodes. **Analytica Chimica Acta**, v. 554, n. 1-2, p. 43-51, 2005.

57.DAMOS, F. S.; LUZ, R. C. S.; KUBOTA, L. T. Determination of thickness, dielectric constant of thiol films, and kinetics of adsorption using surface plasmon resonance. **Langmuir**, v. 21, n. 2, p. 602-609, 2005.

58.KARPOVICH, D. S.; BLANCHARD, G. J., Direct measurement of the adsorption kinetics of alkanethiolate self-assembled monolayers on a microcrystalline gold surface. **Langmuir**, v. 10, n. 9, p. 3315-3322, 1994.

59.KAKIUCHI, T.; USUI, H.; HOBARA, D.; YAMAMOTO, M. Voltammetric properties of the reductive desorption of alkanethiol self-assembled monolayers from a metal surface. **Langmuir**, v. 18, n. 13, p. 5231-5238, 2002.

60.WIDRIG, C. A.; CHUNG, C.; PORTER, M. D. The electrochemical desorption of n-alkanethiol monolayers from polycrystalline Au and Ag electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 310, n. 1-2, p. 335-359, 1991.

61.STRUTWOLF, J.; O'SULLIVAN, C. K. Microstructures by selective desorption of self-assembled monolayer from polycrystalline gold electrodes. **Electroanalysis**, v. 19, n. 14, p. 1467-1475, 2007.

62.IMABAYASHI, S.; IIDA, M.; HOBARA, D.; FENG, Z. Q.; NIKI, K.; KAKIUCHI, T. Reductive desorption of carboxylic-acid-terminates alkanethiol monolayers from Au (111) surfaces. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 428, n. 1-2, p. 33-38, 1997.

63.CHIDSEY, C. E. D.; BERTOZZI, C. R.; PUTVINSKI, T. M.; MUJSCE, A. M. Coadsorption of ferrocene-terminated and unsubstituted alkanethiols on gold: electroactive self-assembled monolayers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 112, n. 11, p. 4301-4306, 1990.

64.HUANG, J. Y.; HEMMINGER, J. C. Photooxidation of thiols in self-assembled monolayers on gold. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 8, p. 3342-3343, 1993.

65.SALOMON, A.; COHEN, D.; LINDSAY, S.; TOMFOHR, J.; ENGELKES, V. B.; FRISBIE, C. D. Comparison of electronic transport measurements on organic molecules. **Advanced Materials**, v. 15, n. 22, p. 1881-1890, 2003.

66.BEEBE, J. M.; ENGELKES, V. B.; MILLER, L. L.; FRISBIE, C. D. Contact resistance in metal-molecule-metal junctions based on aliphatic SAMs: effects of surface linker and metal work function. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 38, p. 11268-11269, 2002.

67.FUJIHIRA, M.; RUBINSTEIN I.; RUSLING, J. F. Electron transfer. In: BARD, A. J.; STRATMANN, M. (Eds.). **Encyclopedia of Electrochemistry**. New York: Wiley-VCH, 2007. v.10.

68.SABATINI, E.; RUBINSTEIN, I. Organized self-assembling monolayers on electrodes. II. Monolayer-based ultramicroelectrodes for the study of very rapid electrode kinetics. **Journal of Physical Chemistry**, v. 91, n. 27, p. 6663-6669, 1987.

69.FINKLEA, H. O.; SNIDER, D. A.; FEDYK, J.; SABATINI, E.; GAFNI, Y.; RUBINSTEIN, I. Characterization of octadecanethiol-coated gold electrodes as microarray electrodes by cyclic voltammetry and ac impedance spectroscopy**.** **Langmuir**, v. 9, n. 12, p. 3660-3667, 1993.

70.FINKLEA, H. O.; SNIDER, D. A.; FEDYK, J. Passivation of pinholes in octadecanethiol monolayers on gold electrodes by electrochemical polymerization of phenol. **Langmuir**, v. 6, n. 2, p. 371-376, 1990.

71.CUI, X.; JIANG, D.; DIAO, P.; LI, J.; TONG, R.; WANG, X. Assessing the apparent effective thickness of alkanethiol self-assembled monolayers in different concentrations of Fe(CN)63-/Fe(CN)64- by ac impedance spectroscopy. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 470, n. 1, p. 9-13, 1999.

72.SUN, L.; CROOKS, R. M. Imaging of defects contained within n-alkylthiol monolayers by combination of underpotential deposition and scanning tunneling microscopy: kinetics of self-assembly. **Journal of Electrochemical Society**, v. 138, n. 8, p. L23-L25, 1991.

73.ZAMBORINI, F. P.; CROOKS, R. M. *In-Situ* electrochemical scanning tunneling microscopy (ECSTM) study of cyanide-induced corrosion of naked and hexadecyl mercaptan-passivated Au (111). **Langmuir**, v. 13, n. 2, p. 122-126, 1997.

74.MILLER, C.; GRATZEL, M. Electrochemistry at omega-hydroxythiol coated electrodes. II. Measurement of the density of electronic states distributions for several outer-sphere redox couples. **Journal of Physical Chemistry**, v. 95, n. 13, p. 5225-5233, 1991.

75.BECKA, A. M.; MILLER, C. J. Electrochemistry at omega-hydroxy thiol coated electrodes. III. Voltage independence of the electron tunneling barrier and measurement of redox kinetics at large overpotentials. **Journal of Physical Chemistry**, v. 96, n. 6, p. 2657-2668, 1992.

76.AMATORE, C.; SAVÉANT, J. M.; TESSIER, D. Charge transfer at partially blocked surfaces: a model for the case of microscopic active and inactive sites. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 147, n. 1-2, p. 39-51, 1983.

77.FINKLEA, H. O. Electrochemistry of organized monolayers of thiols and related molecules on electrodes. In: BARD, A. J.; RUBINSTEIN, I. (Eds.). **Electroanalytical Chemistry**. New York: Marcel Dekker, 1996. p. 109-335.

78.PORTER, M. D.; BRIGHT, T. B.; ALLARA, D. L.; CHIDSEY, C. E. D. Spontaneously organized molecular assemblies. 4. Structural characterization of n-alkyl thiol monolayers on gold by optical ellipsometry, infrared spectroscopy, and electrochemistry. **Journal of American Chemical Society**. v. 109, n.12, p. 3559-3568, 1987.

79.CAMPIÑA, J. M.; MARTINS, A.; SILVA, F. Selective permeation of a liquidlike self-assembled monolayer of 11-amino-1-undecanethiol on polycrystalline gold by highly charged electroactive probes. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 14, p. 5351-5362, 2007.

80.NEWMAN, J. D. S.; BLANCHARD, G. J. Investigation of the interactions between alkanethiol self-assembled monolayers and a liquid overlayer using impedance spectroscopy. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 9, p. 6141-6149, 2007.

81.LEE, L. Y. S.; LENNOX, R. B. Electrochemical desorption of n-alkylthiol SAMs on polycrystalline gold: studies using a ferrocenylalkylthiol probe. **Langmuir**, v. 23, n. 1, p. 292-296, 2007.

82.CHUANG, W.; LIN, J. Surface characterization and platelet adhesion studies for the mixed self-assembled monolayers with amine and carboxylic acid terminated functionalities. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 82A, n. 4, p. 820-830, 2007.

83.PEDROSA, V. A.; PAIXÃO, T. R. L. C.; FREIRE, R. S.; BERTOTTI, M. Studies on the electrochemical behavior of a cystine self-assembled monolayer modified electrode using ferrocyanide as a probe. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 602, n. 2, p. 149-155, 2007.

84.HAN, D.; XU, X.; HOU, P.; YANG, G.; NIU, L.; ZHAO, J. Self-assembling process of alkanethiol monolayers on gold surface via underpotential deposition. **Chemical Research Chinese U**, v. 22, n. 6, p. 783-786, 2006.

85.MOON, J.; KANG, T.; OH, S.; CHOI, J.; HONG, S.; YI, J. Interfacial kinetic enhancement of metal ion adsorption on binary mixed self-assembled monolayers. **Applied Surface Science**, v. 253, n. 18, p. 7554-7558, 2007.

86.CECCHET, F.; MARCACCIO, M.; MARGOTTI, M.; PAOLUCCI, F.; RAPINO, S.; RUDOLF, P. Redox mediation at 11-mercaptoundecanoic acid self-assembled monolayers on gold. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 5, p. 2241-2248, 2006.

87.BRUCKENSTEIN, S.; SWATHIRAJAN, S. Potential dependence of lead and silver underpotential coverages in acetonitrile using a piezoelectric crystal oscillator method. **Electrochimica Acta**, v. 30, n. 7, p. 851-855, 1985.

88.VARELA, H.; MALTA, M.; TORRESI, R. M. Técnica *in situ* de baixo custo em eletroquímica: a microbalança a cristal de quartzo. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 664-679, 2000.

89.VATANKHAH, G.; LESSARD, J.; JERKIEWICZ, G.; ZOLFAGHARI, A.; CONWAY, B. E. Dependence of the reliability of electrochemistry quartz-crystal nanobalance mass responses on the calibration constant, C_f: analysis of three procedures for its determination. **Electrochimica Acta**, v. 48, n. 11, p. 1613-1622, 2003.

90.TRASATTI, S.; PETRII, O. A. Real surface area measurements in electrochemistry. **Pure & Applied Chemistry**, v. 63, n. 5, p. 711-734, 1991.

91.MOLINERO, V.; CALVO, E. J. Electrostatic interactions at self assembled molecular films of charged thiols on gold. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 445, n. 1-2, p. 17-25, 1998.

92.JUN, Y. Y.; BENG, K. S. Electrochemical study of monolayers of heterocyclic thiols self-assembled on polycrystalline gold electrode: the effect of solution pH on redox kinetics. **Electrochemical Communication**, v. 6, n. 1, p. 87-90, 2004.

93.BARD, A. J. Basic potential step methods. In: BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. (Eds.). **Electrochemical methods:** fundamentals and applications. New York: John Wiley, 2001. p. 174-243.

94.JANEK, R. P.; FAWCETT, W. R.; ULMAN, A. Impedance spectroscopy of self-assembled monolayers on Au (111): sodium ferrocyanide charge transfer at modified electrodes. **Langmuir**, v. 14, n. 11, p. 3011-3018, 1998.

95.STOLBERG, L.; RICHER, J.; LIPKOWSKI, J.; IRISH, D. E. Adsorption of pyridine at the polycrystalline gold-solution interface. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 207, p. 213-234, 1986.

96.CAMPUZANO, S.; GÁLVEZ, R.; PEDRERO, M.; MANUEL DE VILLENA, F. J.; PINGARRÓN, J. M. Preparation, characterization and application of alkanethiol self-assembled monolayers modified with tetrathiafulvalene and glucose oxidase at a gold disk electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 526, n. 1-2, p. 92-100, 2002.

97.MUNAKATA, H.; KUWABATA, S.; OHKO, Y.; YONEYAMA, H. J. Spatial distribution of domains in binary self-assembled monolayers of thiols having different lengths. **Electroanalytical Chemistry**, v. 496, n. 1-2, p. 29-36, 2001.

98.BOND, A. M. Past, present and future contributions of microelectrodes to analytical studies employing voltammetric detection. **Analyst**, v. 119, p. R1-R21, 1994.

99.CAMPUZANO, S.; PEDRERO, M.; MONTEMAYOR, C.; FATÁS, E.; PINGARRÓN, J. M. Characterization of alkanethiol-self-assembled monolayers-modified gold electrodes by electrochemical impedance spectroscopy. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 586, p. 112-121, 2006.

100.GOODING, J. J.; PRAIG, V. G.; HALL, E. A. H. Platinum-catalyzed enzyme electrodes immobilized on gold using self-assembles layers. **Analytical Chemistry**, v. 70, p. 2396-2402, 1998.

101.DEAKIN, M. R.; BUTTRY, D. A. Electrochemical application of the quartz crystal microbalance. **Analytical Chemistry**, v. 61, n. 20, p. 1147A-1154A, 1989.

102.THOMPSON, M.; KIPLING, A. L.; DUNCAN-HEWITT, W. C. Thickness-shear-mode acoustic wave sensors in the liquid phase. A review. **Analyst**, v. 116, n. 9, p. 881-890, 1991.

103.BUTTRY, D. A.; WARD, M. D. Measurement of interfacial processes at electrode surfaces with the electrochemical quartz crystal microbalance. **Chemical Review**, v. 92, n. 6, p. 1355-1379, 1992.