UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS

“UTILIZAÇÃO DA ENGENHARIA
INTERFACIAL PARA A PREPARAÇÃO DE
SUPERFÍCIES NANO-ESTRUTURADAS DE
Au PELA APROXIMAÇÃO BOTTOM-UP”

Sonia Tomie Tanimoto

Tese apresentada ao Instituto
de Química de São Carlos, da
Universidade de São Paulo,
para a obtenção do título de
doutor em Ciências – Química
Analítica

Prof. Dr. Sérgio A. S. Machado

São Carlos
2006

Em momentos de crise, só a
imaginação é mais importante que o
conhecimento.

Albert Einstein

Não há nada que seja maior
evidência de insanidade do que fazer
a mesma coisa dia após dia e esperar
resultados diferentes.

Albert Einstein

A curiosidade é mais importante que o
conhecimento.

Albert Einstein

Agradeço aos meus pais e irmãos, por todo o incentivo para que este trabalho se tornasse possível.

A glória da amizade não é a mão estendida, nem o sorriso carinhoso, nem mesmo a delícia da companhia. É a inspiração espiritual que vem quando você descobre que alguém acredita e confia em você.

Ralph Waldo Emerson

Agradecimentos

Agradeço ao prof. Dr. Sérgio A. S. Machado, pela amizade e orientação.

Ao Prof. Dr. Luis Alberto Avaca e ao prof. Luiz Henrique Mazo.

Ao Dr. Marcelo Luis Calegaro e ao Sr. João Tiengo, por todo auxílio no desenvolver deste trabalho.

Ao Dr. Rubens Bernardes Filho e ao Dr. Paulo S. de P. Herrmann Jr, pesquisadores da Embrapa Instrumentação e Agropecuária, por todo auxílio no manuseio do Microscópio de Força Atômica.

Aos meus amigos do GMEME desde a galera antiga (Deborah, Marilza, Fernando, Lucia, Miwa, Barin, Huguinho, Angerson,), á galera nova (Josi, Andressinha, Milena, Murilo, Alexandra, Michele, Katlin, Djenaine, Rafael, Gustavo, Fabiano, Claudia Razzino, Claudia Breda, Maurão, Robson, Giancarlo, Eliana (Baiana), Kelly, ...) e claro não posso esquecer as amigas que estão longe (Inês e Renata) e o amigo Válber.

Aos aderentes (Paulinha, Thaís, Zetinha, Menino Álvaro, Douglas Dragunski, Hueder, Fabinho, Kathia, Ana Cláudia, Luciana,

As amizades que conquistei durante estes 6 anos em São Carlos (Oldair, Luci, Marcão, Carla, Zé, Celsão, Malu, Rogério, Paula, Rita, Juliana (Barb's), Daniel, Edu, Larissa, Escobar, Evandro, ...)

Aos velhos amigos (Jane, Rosiane, Ricardo, Rodrigo, Pri, Thaís, Li, Mi, Patrícia, Consolin, ...)

Agradeço a todos por toda a ajuda e principalmente, pela amizade, pois quem tem amigos tem tudo. Muito obrigada por tudo.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	i
ÍNDICE DE TABELAS.....	vii
LISTA DE ABREVIACÕES.....	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 NANOESTRUTURAS	3
1.2 OBTENÇÃO DE NANOESTRUTURAS	4
1.3. ÁCIDO ASCÓRBICO (AA)	7
1.2. DOPAMINA (DA)	11
1.3. MONOCAMADAS AUTO-ORGANIZADAS (SAM)	14
1.4. O ESTADO DA ARTE	18
1.4. OBJETIVOS	23
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
2.1. TEORIA DOS MÉTODOS	25
2.1.1. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS	25
2.1.2. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS	32
2.1.3. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS.....	34
2.2. TÉCNICAS EXPERIMENTAIS	42
2.2.1. INSTRUMENTAÇÃO	42
2.2.2. REAGENTES E SOLUÇÕES	42
2.2.3. CÉLULAS E ELETRODOS	43
2.2.4. METODOLOGIA.....	44
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46

3.1. OBTENÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE OURO	46
3.2. DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA NAS DIFERENTES SUPERFÍCIES EM ESTUDO.....	69
3.3. DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (AA) NAS DIFERENTES SUPERFÍCIES EM ESTUDO.....	77
3.4. MODIFICAÇÃO DO ELETRODO DE OURO CONVENCIONAL E NANOESTRUTURADO COM SAM	83
3.5. DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO E DOPAMINA UTILIZANDO ELETRODOS DE Au CONVENCIONAL E NANOESTRUTURADO MODIFICADOS COM SAM	87
4. CONCLUSÕES.....	95
5. TRABALHOS FUTUROS	97
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula molecular do ácido ascórbico.	7
Figura 2: Mecanismo de oxidação eletroquímica do Ácido Ascórbico ¹⁹ .	9
Figura 3: Fórmula molecular do cloridrato de dopamina.	11
Figura 4: Ilustração esquemática do método de Langmuir-Blodgett para a fabricação de filmes de ácidos graxos. a) orientação das moléculas de ácido graxo na subfase; transferência de monocamadas para um substrato hidrofílico sendo: b) retirada do substrato e deposição da 1ª monocamada e c) imersão do substrato e deposição da 2ª monocamada ⁴³ .	15
Figura 5: Esquema do emparelhamento entre os alcanotióis e o retículo do ouro numa camada auto-organizada. Átomos de enxofre representados em branco e átomos de ouro em cinza ⁴¹ .	16
Figura 6: Representação esquemática da programação de potenciais aplicada ao eletrodo de trabalho numa voltametria cíclica.	26
Figura 7: Voltamograma cíclico para um sistema reversível ⁶⁸ .	27
Figura 8: Diagrama esquemático do canhão de elétrons tipo triodo ⁷⁶ .	36
Figura 9: Esquema de funcionamento de um microscópio de força atômica (modo contato e não contato) ⁸¹ .	39
Figura 10: Forma de obtenção de imagens topográficas	40

- Figura 11: Representação esquemática da célula eletroquímica e eletrodos, sendo (1) o eletrodo de trabalho, (2) o eletrodo de referencia, (3) o eletrodo auxiliar, (4) entrada de N₂ e (5) saída de N₂. 44
- Figura 12: Voltamograma linear da deposição de Au sobre eletrodo de Carbono vítreo em solução de Au (III) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H₂SO₄ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 47
- Figura 13: Imagens topográficas do eletrodo de carbono vítreo com e sem depósito de Au. Os depósitos foram realizados por meio da voltametria de varredura linear em solução ácido tetracloroáurico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H₂SO₄ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 49
- Figura 14: Obtenção das medidas de altura e diâmetro dos eletrodepósitos de ouro, onde x e y referem-se à largura e comprimento e y a altura dos cristais. 51
- Figura 15 : Distribuição estatística da média das alturas das nanoestruturas presentes nos depósitos. 52
- Figura 16: Forma estrutural de cristais de Au, cujo formato, apresenta-se cristalográficamente como cubo de face centrada 53
- Figura 17: Forma estrutural dos depósitos de Au 55
- Figura 18: Imagem de MEV e EDX da superfície do eletrodo de carbono vítreo com nanoestruturas de Au, obtidas por meio de uma voltametria de varredura linear em solução de ácido tetracloroáurico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H₂SO₄ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 57

- Figura 19: Variação da velocidade de varredura para deposição de Au por meio de voltametria de varredura linear em solução de ácido tetracloroáurico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$. 59
- Figura 20: Imagens topográficas e mapeamento dos eletrodepósitos de Au (III) em solução de Au (III) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura. 60
- Figura 21: Variação da concentração de Au (III) presente em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por voltametria de varredura linear e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 61
- Figura 22: Imagens topográficas e mapeamento dos depósitos realizadas em meio de $\text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e diferentes concentrações de ácido tetracloroáurico utilizando voltametria de varredura linear e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 62
- Figura 23: Variação do eletrólito suporte utilizado para a eletrodeposição de Au, concentração Au (III) em solução de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} + \text{eletrólito } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de 100 mV s^{-1} . 63
- Figura 24: Imagens topográficas das nanoestruturas em diferentes eletrólitos (eletrólito $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, Au (III) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 64
- Figura 25: Voltamograma cíclico dos eletrodos de Au convencional e nanoestruturado em meio de ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 65
- Figura 26: Voltamograma cíclico de solução contendo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 67

- Figura 27: Perfil voltamétrico de DA com concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ + H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ sobre diferentes superfícies, velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. 70
- Figura 28: Variação de pH de uma solução contendo DA $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹, eletrodo de trabalho de Au. 71
- Figura 29: Valores de corrente e potencial, em uma variação de pH de uma solução contendo DA $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹, eletrodo de trabalho de Au. 71
- Figura 30: Efeito da variação da velocidade de varredura na superfície do eletrodo de Au em uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ + H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, eletrodo de trabalho de Au. 72
- Figura 31: Efeito da variação da velocidade de varredura na corrente de pico de uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ + HClO₄ 0,1 mol L⁻¹, eletrodo de trabalho de Au. 73
- Figura 32: Variação da concentração de DA em meio de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, velocidade de 100 mV s⁻¹ nas diferentes superfícies em estudo. 74
- Figura 33: Adição de AA em solução de DA $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ + H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, velocidade de 100 mV s⁻¹, velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹, nas diferentes superfícies em estudo. 76
- Figura 34: Perfil voltamétrico de Ácido Ascórbico $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em meio de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, sobre diferentes superfícies e velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. 77

- Figura 35: Variação da velocidade de varredura sobre eletrodo de ouro convencional em uma solução de AA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. 79
- Figura 36: Variação da concentração de ácido ascórbico em meio de ácido perclórico, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , sobre as diferentes superfícies em estudo. 81
- Figura 37: Perfil voltamétrico do eletrodo de Au convencional modificado com cistamina, medidas realizadas em meio de ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 84
- Figura 38: Voltamograma cíclico de solução contendo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, sobre eletrodo de Au convencional com e sem modificação. 85
- Figura 39: Perfil voltamétrico de AA, DA e AA+DA em meio de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo de Au convencional modificado com dihidroclorato de Cistamina com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 87
- Figura 40: Perfil voltamétrico de AA, DA e AA+DA em meio de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo de Au convencional modificado com ácido 3,3'-ditiopropionico com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . 88
- Figura 41: Variação na concentração de AA e DA utilizando eletrodo de nanoestrutura de ouro modificada com SAM e voltametria cíclica, velocidade de 100 mV s^{-1} , eletrólito ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. 90

Figura 42: Perfil voltamétrico de uma solução de AA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodos sem e com SAM de cistamina (eletrodo nanoestruturado de Au com e sem modificação, Au convencional com e sem modificação e carbono vítreo). 91

Figura 43: Perfil voltamétrico de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , sobre eletrodos sem e com SAM de cistamina (eletrodo nanoestruturado de Au com e sem modificação e Au convencional com e sem modificação). 93

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Diagnóstico para processos reversíveis á 25°C	29
Tabela 2 - Diagnóstico para processos irreversíveis á 25°C	29
Tabela 3 - Diagnóstico para processos <i>quasi</i> -reversíveis á 25°C	30

LISTA DE ABREVIACÕES

AFM – Microscopia de Força Atômica
TEM – Microscopia Eletrônica de Tunelamento
STM – Microscopia de Varredura e Tunelamento
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
MFE – Microscopia de Força Elétrica
SPM ou MVS – Microscopia de Varredura por Sonda
MOVCP – Microscopia Ótica de Varredura de Campo Próximo
 F_{vdw} – Força de Van der Waals
EDX – Espectroscopia de Dispersão de Raios-X
EPR – Ressonância Eletrônica Paramagnética
NMR – Ressonância Magnética Nuclear
EQCM – Eletrodo de Microbalança de Cristal de Quartzo
A – Área
Q – Carga
AA – Ácido Ascórbico
DA – Dopamina
SAM – Monocamada Auto-Montada (Self Assembly Monolayer)
LB – Langmuir Blodgett
Cist – 2,2'-dithiobisetanoamina (Cystamina)
DTH – 6,6'-dithiobishenoamina
DEDS – Dietil Dissulfeto
DOPAC – Ácido Acético Dihidroxifenol
E – Potencial
I – Corrente

RESUMO

Este trabalho tem como objetivo principal a utilização da técnica “bottom-up” para a construção de nanoestruturas de ouro por meio de técnicas voltamétricas sobre uma superfície de carbono vítreo. Estas estruturas foram caracterizadas por métodos de microscopia e voltamétricos. A dimensão crítica das nanoestruturas foi obtida por meio de uma curva Gausseana de distribuição de alturas e diâmetros, fornecendo um valor médio de 35 nm por 150 nm de diâmetro.

As nanoestruturas obtidas foram modificadas pela deposição de uma camada auto-organizada de cistamina (um tiol), resultando num substrato adequado para futuras aplicações como a imobilização de enzimas.

Os comportamentos eletroquímicos da dopamina e do ácido ascórbico, sobre eletrodos de ouro, carbono vítreo e nanoestruturado, foram avaliados para a caracterização das modificações dos eletrodos. A diferença dos potenciais de pico de oxidação do AA sobre eletrodos de carbono vítreo e de ouro, de cerca de 300 mV, possibilitou avaliar o recobrimento do carbono vítreo com nanoestruturas pela diminuição da corrente de pico em 43%.

Já a dopamina foi utilizada neste trabalho para determinar a presença da camada auto-organizada de cistamina sobre a superfície das nanoestruturas de ouro, uma vez que sua resposta voltamétrica mostra um deslocamento do potencial de pico quando realizada sobre Au e sobre Au modificado com a camada auto-organizada.

ABSTRACT

The subject of this work is focused in the utilization of a “bottom-up” approach to develop an Au nanostructured electrodeposits on the glassy carbon surface by a voltammetric procedure. These Au nanostructures have been characterized either by microscopic and voltammetric techniques. The critical dimensions of nanostructures has been evaluated by a Gausean normal data distribution curve and presented, as results a mean height of 35 nm and a mean diameter of 150 nm.

The Au nanostructures were further modified by the deposition of a cystamine (thiol) self-assembled monolayer, yielding a suitable substrate for enzyme immobilization, as a possible future application.

The electrochemical behaviour of dopamine and ascorbic acid on gold, Glassy Carbon and nanostructures was studied aiming to characterize the modified electrode. The 300 mV shift in the oxidation peak potential for ascorbic acid on gold in relation to Glassy Carbon allows to calculate the nanostructure coverage factor by the peak current inhibition as 43%.

Finally, dopamine was employed to detect the self assembled monolayer formation on the Au nanostructure through its voltammetric behaviour. The variation in the oxidation potential for DA on gold and self assembled monolayer was used as an indicator for such modification.

1. INTRODUÇÃO

A engenharia interfacial biomolecular é uma área multidisciplinar que utiliza conceitos originados na química, física, biologia e engenharia química. Ela cada vez mais aumenta a inter-relação entre diferentes domínios da ciência, incluindo a liberação controlada de medicamentos no organismo, ciência dos alimentos, engenharia de proteínas, bio-separação, biosensores e processamento de material biológico ¹. Na concepção da engenharia interfacial biomolecular, uma superfície nanoestruturada é aquela onde as características interfaciais apresentam dimensões menores que 100 nm. As biomoléculas nestas interfaces oferecem novos tipos de funcionalidade com propriedades singulares. As próprias biomoléculas podem ser organizadas em dimensões nanométricas nestas interfaces, formando produtos nanoestruturados. A comercialização de tais produtos ainda é incipiente e muita atividade de pesquisa é focada na intersecção das nano- e bio-ciências.

As propriedades das interfaces nanoestruturadas são fortemente determinadas pelo processo de fabricação de maneira crítica, apesar desta ligação entre o método de fabricação e a arquitetura interfacial ainda não ser bem compreendida. Duas aproximações são possíveis para a fabricação de nanoestruturas, ou seja, a “top-down” e a “bottom-up”. A aproximação “top-down” envolve a fabricação a partir de materiais de dimensões maiores ou a confecção de materiais menores com a utilização de artefatos maiores (como por exemplo, a microscopia de força atômica, AFM). Processos de produção de circuitos eletrônicos usando litografia na indústria microeletrônica é um processo típico “top-down”. Outros exemplos destes processos incluem a dissolução de superfícies sólidas, gerando fendas ou poros, tratamento por plasma de superfícies mascaradas para biofuncionalização, etc. O processo inverso é conhecido como “bottom-up”, onde o arranjo de unidades muito pequenas (moléculas, ou mesmo átomos) leva à construção de estruturas maiores (os compostos nanoestruturados). A eletrodeposição de metais e a formação de camadas de moléculas auto-organizadas são exemplos desta aproximação.

Desta forma, um desafio atual para o desenvolvimento desta área de pesquisas, na interface entre as bio- e nano- ciências, é o entendimento da “estrutura-arquitetura-desempenho no processo de interesse” destas superfícies com características nanoestruturais.

1.1 NANOESTRUTURAS

Nos últimos tempos, matérias nanoestruturadas, consistindo de cristalitos metálicos com dimensões na faixa dos nanômetros interconectados pelos contornos de grãos, tem atraído uma atenção crescente da comunidade eletroquímica devido à sua reatividade aumentada numa grande variedade de processos eletroquímicos com aplicações importantes, incluindo a reação de redução de oxigênio ², a oxidação de metanol e de CO ^{3,4,5}.

Entretanto, a origem desta atividade aumentada (em relação à superfícies planas) e específica (relacionadas com a unidade de área real) das nanoestruturas metálicas ainda não está totalmente esclarecida. É razoável assumir que esta atividade está relacionada com a grande densidade de contornos de grãos, presente nestes materiais. Contornos de grão são defeitos extensos, apresentando densidades atômicas diminuídas, número de coordenação e distância interatômica alterados, o que exerce uma grande influência nas propriedades dos materiais ^{6,7}. As áreas onde os contornos de grãos se estendem à superfície metálica também apresentarão configurações e distâncias atômicas fora do equilíbrio. Assim, controlar a fase metálica nanoestruturada é uma maneira conveniente de se controlar sua estrutura superficial. Metais nanoestruturados (nanogranulados) podem ser utilizados como eletrodos modelo para a investigação das propriedades catalíticas de superfícies metálicas.

1.2 OBTENÇÃO DE NANOESTRUTURAS

A deposição eletroquímica de nanoestruturas sobre eletrodos de carbono tem sido o objetivo de diversos estudos. O principal foco destes estudos consiste no estágio inicial de deposição eletroquímica como uma tentativa de elucidar o mecanismo de nucleação e crescimento da fase metal sob o substrato ⁸.

Diferentes metais têm sido utilizados no estudo de nanoestruturas, um dos mais estudados atualmente é o ouro.

As nanoestruturas de ouro têm sido extensivamente estudadas em diferentes áreas como eletrocatalise, eletroanalítica, etc., pois exibem excelente compatibilidade com biomoléculas em adição às suas propriedades óticas singulares ⁹⁻¹². Suas propriedades inerentes têm sido exploradas em aplicações na química analítica como biossensores e imunoenaios ^{11,13}. Entretanto, a obtenção de nanoestruturas de ouro monodispersas com propriedades eletrônicas, óticas e químicas diferenciadas ainda é um objetivo em desenvolvimento para muitos grupos de pesquisas em todo o mundo. Muitas aproximações têm sido propostas para se atingir este objetivo:

- (i) preparação de nanoestruturas de Au com tamanho e formato controlados;
- (ii) modificação das estruturas superficiais das nanoestruturas com moléculas orgânicas ou biomoléculas;
- (iii) formação de compósitos nano-estruturados
- (iv) auto-montagens ou organizações de nanoestruturas de Au em arquiteturas 2-D ou 3-D .

Entre os diferentes métodos para a obtenção das nanoestruturas de ouro, se pode citar a obtenção a partir de colóides, ablação por laser, estabilização por polímeros ou macromoléculas ⁹, no entanto dentre todos os métodos a deposição eletroquímica é, sem dúvida, uma das mais simples.

Com a utilização de ácido tetracloroaurato ou seus derivados e diferentes moléculas “indutoras de forma”, como, por exemplo o brometo de tetraoctilamônio (BTCA) e um surfactante catiônico como o brometo de hexadeciltrimetilamônio, diferentes formas e tamanhos de nanoestruturas podem ser obtidos ⁹.

As nanoestruturas de ouro podem ser caracterizadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e por microscopia de tunelamento (STM) ou microscopia de força atômica (AFM) quanto à sua morfologia e distribuição na superfície do substrato. Com estas técnicas, uma média e desvio padrão de tamanhos de partículas podem ser facilmente calculadas para um grande número de nanoestruturas. Em muitas aplicações o menor valor possível do desvio padrão deve ser obtido. Além disto, técnicas voltamétricas têm sido constantemente empregadas para se avaliar a carga de eletrodeposição e, por meio desta, a quantidade de nanoestruturas formadas ¹⁴.

As nanoestruturas de ouro têm sido extensivamente estudadas, devido principalmente à possibilidade de servirem como substratos adequados para a construção de biossensores, pela adsorção (ou ligação química) de diferentes tipos de biomoléculas como, por exemplo, as moléculas de enzimas, uma das mais utilizadas atualmente. A superfície modificada resultante, conhecida como biossensor, tem encontrado um amplo campo de utilização na área da biocatálise. Uma das grandes vantagens apresentadas

pelas superfícies tridimensionais nanoestruturadas é a maior proximidade dos centros ativos das enzimas à superfície, permitindo assim medidas eletroquímicas com sinal aumentado, sem a necessidade de adição de um mediador para acelerar a velocidade da transferência dos elétrons. No entanto, o contato direto da molécula da proteína com a superfície do metal conduz a mudanças significativas em relação à estrutura e função da proteína, diminuindo significativamente a sua bioatividade ¹⁵.

A utilização de ouro coloidal imobilizado sobre eletrodos, produz um microambiente similar àquele de proteínas redox em sistemas nativos resultando em moléculas de proteínas mais livres em orientação e facilitando desta forma, a transferência direta de elétrons ¹⁵.

Monocamadas auto-organizadas sobre ouro podem servir para um projeto interfacial a nível molecular. O estudo tridimensional nos arranjos das monocamadas sobre um metal em tamanho nanométrico ou aglomerados de materiais semicondutores também tem sido objeto de estudos, devido à possibilidade de manipulação de ambos, da superfície do encapsulamento e do material do substrato central ¹⁶.

1.3. ÁCIDO ASCÓRBICO (AA)

Em 1932, o bioquímico Charles Glen King (1896 – 1988), concluiu suas pesquisas com a vitamina C, conseguindo, isolá-la, determinando sua estrutura. A substância é constituída de uma molécula de seis carbonos, muito semelhante à dos açúcares e recebeu o nome de ácido ascórbico, do grego, significando "sem escorbuto" ¹⁷.

Figura 1: Fórmula molecular do ácido ascórbico.

Sofre oxidação reversível no organismo a ácido desidroascórbico. Este último composto possui a atividade integral do Ácido Ascórbico. O Ácido Ascórbico atua como co-fator em diversas reações de hidroxilação e amilação pela transferência de elétrons para enzimas que fornecem equivalentes redutores. Em nível tecidual, uma importante função do Ácido Ascórbico está relacionada à síntese de colágenos, proteoglicanos e outros constituintes orgânicos da matriz intercelular em diversos tecidos, como dentes, ossos e endotélio capilar ¹⁸.

O Ácido Ascórbico é rapidamente absorvido pelo intestino, por meio de processos dependentes de energia, que é saturável e dose-dependente. A absorção do ascorbato da dieta é quase completa. Quando o Ácido

Ascórbico é administrado em uma única dose oral, a absorção diminui de 75% com 1g, para 20% com 5g¹⁸.

O comportamento eletroquímico do ácido ascórbico tem sido estudado a longo tempo, devido à sua importância como uma biomolécula. Assim, Karabinas e Jannakoudakis¹⁹ estudaram a oxidação eletroquímica de ácido L-ascórbico sobre eletrodo de platina em meio de ácido sulfúrico, chegando à conclusão de que a reação ocorre por meio do extenso mecanismo descrito na Figura 2, a partir de resultados obtidos com voltametria cíclica, eletrólise em potencial controlado e saltos de potenciais.

Figura 2: Mecanismo de oxidação eletroquímica do Ácido Ascórbico ¹⁹.

A primeira etapa é um equilíbrio químico favorecido pela formação das duplas ligações conjugadas com átomos de O, gerando o ânion ascorbato. A segunda etapa é a oxidação do ascorbato, formando o ânion radical, que foi inicialmente identificado por espectro de EPR ²⁰. As etapas 1 e 2 estão em equilíbrio rápido. A etapa 3 leva à formação do ácido dehidroascórbico, que se desorde na etapa determinante da velocidade da reação gerando a espécie livre, em solução, identificada por espectroscopia de ¹³C-NMR ^{21 - 32}.

1.2. DOPAMINA (DA)

A dopamina é um precursor natural da adrenalina e noradrenalina. Atua, também, como neurotransmissor do sistema nervoso central. No caso da doença de Parkinson, por exemplo, é devida a deficiência de dopamina em áreas cerebrais relacionadas com o movimento voluntário³³.

Figura 3: Fórmula molecular do cloridrato de dopamina.

A dopamina é um neurotransmissor sintetizado por certas células nervosas que age em regiões do cérebro promovendo, entre outros efeitos, o prazer e a motivação. Depois de sintetizada, a dopamina é armazenada dentro de vesículas sinápticas. Quando chega um impulso elétrico no terminal nervoso, as vesículas se direcionam para a membrana do neurônio e liberam o conteúdo da dopamina na fenda sináptica. A dopamina então atravessa essa fenda e se liga aos seus receptores específicos na membrana do próximo neurônio (neurônio pós-sináptico). Uma série de reações ocorre quando a dopamina ocupa receptores dopaminérgicos daquele neurônio: alguns íons entram e saem do neurônio e algumas enzimas são liberadas ou

inibidas. Após a dopamina ter se ligado ao receptor pós-sináptico ela é recaptada novamente por sítios transportadores de dopamina localizadas no primeiro neurônio (neurônio pré-sináptico) ³⁴.

Sua determinação por técnicas eletroquímicas tem despertado grande atenção da comunidade científica. Entretanto, o maior problema encontrado na sua determinação é a interferência do ácido ascórbico, o qual tem potencial de oxidação similar ao da dopamina, e está presente *in vivo* com concentrações 10^2 e 10^3 maior que a dopamina. Assim, o desenvolvimento de técnicas de monitoramento seletivo da dopamina tem sido o foco de muitas pesquisas.

Como por exemplo, por pré-tratamento eletroquímico, eletrodos modificados quimicamente, voltametria de pulso diferencial, voltametria de onda quadrada, etc, tem sido mencionadas na literatura como possíveis técnicas a serem utilizadas. A separação dos picos de corrente correspondente a oxidação da dopamina e do ácido ascórbico é usualmente menor que 200 mV. Obviamente, o emprego de técnicas de calibração multivariada podem ajudar na resolução deste problema ³⁵.

O comportamento voltamétrico da dopamina, em diferentes eletrodos, tem sido discutido por vários autores ^{36,37} e pode ser resumido, em meio ácido, de acordo com o seguinte mecanismo:

Onde (A) é a dopamina protonada e (B) é a dopaminoquinona. Em valores de pH maiores que 5,0, o grupo amino se encontra desprotonado e pode sofrer uma adição intramolecular de Michael, gerando a dopaminacromo. Entretanto, para meios ácidos, o grupo amino protonado apresenta uma atividade nucleofílica muito pequena e esta etapa é improvável³⁷.

Uma importante característica da dopamina é a sua sensibilidade à natureza da superfície do eletrodo. Já foi mostrado que o recobrimento da superfície do eletrodo de trabalho com diferentes agentes modificadores, como por exemplo camadas automontadas de tióis sobre eletrodos de ouro, provocam um grande deslocamento de pico dos processos eletródicos da dopamina^{38, 39, 40}. Assim, esta propriedade será utilizada, neste trabalho, visando a caracterização da modificação da superfície das nanopartículas de ouro pela camada auto-montada de cistamina.

1.3. MONOCAMADAS AUTO-ORGANIZADAS (SAM)

As monocamadas podem ser classificadas de acordo com o seu mecanismo de fixação ⁴¹.

As ligações pré-definidas dos grupos químicos têm sido geralmente aplicadas para ganhar controle da reatividade da superfície do eletrodo.

A primeira forma de fixação foi descrita por Maoz *et al* ⁴², demonstrando a possibilidade de construir filmes compostos por monocamadas adsorvidas quimicamente entre si, cuja metodologia empregada consistia na imersão de um substrato sólido modificado quimicamente numa solução contendo moléculas bifuncionais, como fosfonatos metálicos e organossilanos ⁴³, por um processo de silanização (alquiltriclorossilanos sobre superfícies polares) que formam monocamadas organizadas ligadas a superfície do eletrodo ⁴¹.

A segunda forma para a formação SAM é por meio da técnica de Langmuir-Blodgett (LB). Que utiliza moléculas como ácidos graxos dissolvidos em solvente orgânico volátil apropriado e dispersas sobre a superfície da água contida em uma cuba, denominada cuba de Langmuir, e com a compressão do filme formado, as moléculas tomam a conformação mais estável, ou seja, a porção hidrofílica interage com a superfície da água e sua parte hidrofóbica é projetada acima, as moléculas são pressionadas horizontalmente até a formação de uma camada, que apresenta uma espessura igual ao comprimento da molécula dispersa ⁴³.

Figura 4: Ilustração esquemática do método de Langmuir-Blodgett para a fabricação de filmes de ácidos graxos. a) orientação das moléculas de ácido graxo na subfase; transferência de monocamadas para um substrato hidrofílico sendo: b) retirada do substrato e deposição da 1ª monocamada e c) imersão do substrato e deposição da 2ª monocamada ⁴³.

A adsorção é geralmente fraca e a organização é geralmente por forças intermoleculares ⁴¹.

A terceira forma de fixação utiliza a adsorção irreversível de alcanos funcionalizados sobre superfícies metálicas ordenadas ⁴¹. Este método de auto-montagem tem se destacado devido a sua oportunidade ímpar de permitir estudos à nível molecular de mecanismos de adsorção e estabilidade de filmes ultrafinos ⁴³.

Porém uma das alternativas que tem sido muito usada é a formação espontânea por consequência da imersão de uma superfície sólida em solução constituída de moléculas anfóteras. Enquanto que a adsorção deste

tipo de molécula é um resultado da afinidade de um grupo funcional do adsorvente que apresenta certa especificidade para interagir com a superfície do substrato ⁴¹.

Figura 5: Esquema do emparelhamento entre os alcanotióis e o retículo do ouro numa camada auto-organizada. Átomos de enxofre representados em branco e átomos de ouro em cinza ⁴¹.

A aplicação de auto-organizadas pode ser entendida pela adsorção de alquil-tióis sobre Au. Monocamadas auto-organizadas são encontradas em aplicações moleculares e biomoleculares, resistência litográfica, modificação de eletrodos, prevenção à corrosão e outras áreas que se adaptam as propriedades físicas químicas da interface. Modelos de SAM, em que componentes de auto-organizadas específicas têm deliberada distribuição espacial na superfície, são geralmente fabricações de arquiteturas sofisticadas em nanoescala e provêm de suportes bem caracterizados por processos físicos, químicos e bioquímicos. Estas estruturas não são formadas em equilíbrio, pode-se manipular a monocamada durante e após sua formação por medidas de processos térmicos, químicos e eletroquímicos, expondo-os a controles de irradiação de energia e microscopia de varredura por sonda ⁴⁴.

As camadas auto-organizadas podem ser caracterizadas por microscopia de força atômica, microscopia eletrônica de varredura, impedância eletroquímica e métodos voltamétricos. Após a montagem dos eletrodos modificados com as camadas auto-organizadas de tiol (com grupos funcionais catiônicos ou aniônicos), espera-se que estes apresentem um efeito catalítico superior ao de seu substrato, frente à reação de interesse, no caso deste trabalho, a oxidação da dopamina sobre o eletrodo de Au modificado com camadas auto-organizadas de cistamina.

1.4. O ESTADO DA ARTE

As nanoestruturas podem ser formadas por métodos químicos, eletroquímicos e físicos, dentre os mais comuns estão as reduções fotoquímicas por irradiação ultravioleta (UV), cuja instabilidade das nanoestruturas de ouro (Au) podem ser estabilizados por surfactantes, polímeros, alcanotóis e ácidos orgânicos⁹.

Embora a formação de nanoestruturas utilizando redução fotoquímicas sejam as mais comuns, as técnicas eletroquímicas tem se destacado devido a sua simplicidade, quanto á formação das nanoestruturas, alguns trabalhos destacam a possibilidade de formação de nanoestruturas utilizando voltametria para a formação das nanoestruturas.

Zhong *et al* focam em seu trabalho a necessidade de se controlar o tamanho, forma e composição das nanoestruturas devido às suas propriedades óticas e elétricas que dependem destes parâmetros⁹.

Liao *et al.* obtiveram as nanopartículas de Au pela redução de ácido cloroaurico por citrato de sódio e ácido tânico, podendo ser formada por dois mecanismos distintos possíveis. A primeira seria pela agregação linear devido a interação dipolo-dipolo na solução. A outra seria pela secagem da dispersão sobre a superfície do substrato. As formações destas nanopartículas foram estudadas utilizando UV-vis devido às suas propriedade *in situ*, sendo caracterizada por AFM e MET⁴⁵.

Para as reduções eletroquímicas das nanoestruturas de Au, as superfícies mais utilizadas são os eletrodos de carbono vítreo. O método eletroquímico tem sido focado em diversos estudos, principalmente devido ao estágio precoce da deposição eletroquímica como uma tentativa de

elucidar o mecanismo de nucleação e crescimento do metal sobre o substrato.

Finot *et al.* realizaram as deposições eletroquímicas por meio de voltametria cíclica onde constatou a presença de uma onda catódica em 0,8 V atribuída a redução de $[\text{AuCl}_4]^-$ adsorvida e um pico em 0,5 V, correspondente à redução de Au (III) e Au (0), o ouro depositado, não apresentou sinais de dissolução durante sua caracterização eletroquímica (1,5 á -0,4 V), após a deposição do ouro, os autores oxidaram a superfície por meio de um salto de potencial de 0,0 a 1,4 V por aproximadamente 5s, realizando em seguida uma voltametria de varredura linear para a redução deste óxido formado ¹⁴.

Uma vez formadas as nanoestruturas, estas podem ser caracterizadas utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de varredura com energia de dispersão de raios-X. E uma vez definida o método e construção e a formação estrutural podem ser utilizadas para diversos fins.

El-Deab *et al.* estudou a eletrodeposição de Au sobre Pt em diferentes tempos de deposição. Observando que, quanto maior o tempo de deposição, maior o recobrimento da Pt com as estruturas de Au. Verificou também que, ao realizar medidas do perfil voltamétrico de Au, Pt e Au/Pt a tendência destes depósitos assemelharem-se ao perfil voltamétrico do eletrodo de Au ⁴⁶.

Construído o eletrodo nanoestruturado El-Deab *et al.* realizaram medidas de redução de O_2 sobre as diferentes superfícies, observando o envolvimento de 4 elétrons e 2 passos de redução, passos estes não observados sobre o eletrodo de Pt e Au puro ⁴⁶.

Estudos realizados por Franceschetti *et al.* demonstraram que moléculas de oxigênio adsorvem sobre nanopartículas de Au carregadas negativamente, ele demonstrou que (i) moléculas de oxigênio quimisorvem sobre “clusters” de Au, com energias de ligação de 0,5-1,5 eV, a energia de ligação é maior para “clusters” carregados negativamente, (ii) a configuração mais estável, é dois átomos de oxigênio separados espacialmente de forma linear (O-Au-O). Os resultados de Franceschetti estabelecem a correlação entre a reatividade experimental do “cluster” de Au e a energia de ligação do oxigênio⁴⁷.

Em um segundo trabalho Finot *et al.* demonstraram que as nanoestruturas de Au formadas podem ser modificadas com monocamadas de n-alcanotiolatos, cujo efeito consistiu no bloqueio da oxidação eletroquímica de Au, observou também a influencia do tamanho da cadeia sobre a nanoestrutura⁴⁸.

Raj *et al.* utilizaram eletrodos de Au modificados com monocamadas automontadas catiônicas de 2,2’-ditiobisetanoamina (CYST) e 6,6’-ditiobishexanoamina (DTH), construídos para a determinação simultânea de dopamina (DA) e ácido ascórbico (AA)⁴⁹.

A interação da carga negativa de AA com a monocamada desloca o pico de oxidação de AA a potenciais menos positivos e aumenta o valor da corrente de pico. Ao contrário do que ocorre ao AA, DA é repelido da monocamada e sua oxidação desloca-se a potenciais mais positivos, quando comparados aos valores apresentados pelo eletrodo de Au liso⁴⁹.

A interação eletrostática da carga negativa de AA, com a densidade positiva de carga da SAM facilita a oxidação de AA. Esta interação é verificada na mistura de monocamadas. O potencial de pico de AA desloca-

se para valores mais positivos e a corrente de pico diminui com a fração de monocamadas de carga negativa como dietil dissulfeto (DEDS) ⁵⁰.

Assim como a DA, seus metabólitos como ácido acético dihidroxifenil (DOPAC), apresentam a mesma dificuldade de análise na presença de AA. Modificando-se eletrodo de Au com monocamadas de carga positiva, o sinal analítico apresenta uma grande melhora, diminuindo a interferência de AA sobre DOPAC.⁵¹

Observando o comportamento de DA sobre eletrodo de Au, Raj *et al.* modificaram a superfície de Au liso com nanopartículas de Au e, sobre esta superfície, imobilizaram SAM com terminação amina, usadas com êxito para a determinação seletiva de DA na presença de AA. Os picos voltamétricos foram bem separados, observando-se com clareza os picos voltamétricos relacionados aos processos eletródicos de DA e de AA ⁵².

As terminações funcionais de SAM são manipuladas para uma maior seletividade e sensibilidade do eletrodo ⁵³.

Além de DA outros compostos apresentam interferência de AA, e assim como DA, necessitam que os eletrodos sejam modificados com SAM.

Raj *et al.* realizaram também um estudo para a detecção de ácido úrico (UA) em presença de AA, modificando a superfície de Au com SAM heteroaromático ⁵⁴.

A literatura apresenta diversos trabalhos de determinação de DA e UA em presença de AA, em todos os casos vistos os autores realizaram modificação da superfície do eletrodo com SAM funcionalizado a fim de separar com clareza o potencial de oxidação de AA com DA e UA. Alguns modificantes aumentam a corrente de pico, outros apenas separam os picos

de oxidação, mas em todos os casos foi possível a análise de seus compostos individualmente^{55 - 60}.

Outro estudo, realizado por Lu *et al.*, consistiu na análise de norepinefrina com eletrodo de nanopartículas de Au modificados com DNA. Este eletrodo foi caracterizado por métodos microscópicos (microscopia de força atômica e microscopia eletrônica de varredura) e eletroquímicos (espectroscopia de impedância eletroquímica). Segundo estes estudos, este eletrodo apresentou uma determinação bastante seletiva de norepinefrina na presença de AA⁶¹.

Podem-se utilizar eletrodos modificados com SAM para a detecção de metais em solução, Freire *et al.* utilizaram eletrodos modificados com ácido 3-mercaptopropiônico, o que tornou o eletrodo mais sensível na determinação de cobre em solução caracterizado por ser um método simples e reprodutível⁶². Enquanto que Evans *et al.* modificaram eletrodos com SAM para a determinação de urânio em solução⁶³.

De acordo com todos os trabalhos vistos, o grande foco da maior parte deles é amenizar a interferência de AA em medidas voltamétricas de neurotransmissores dentre outros compostos. Eletrodos sem modificação apresentam sinal voltamétrico de AA sobreposto ao sinal analítico dos neurotransmissores, dificultando sua análise. Com a modificação os sinais analíticos apresentam-se bem separados, com potenciais individuais, possibilitando a utilização destas moléculas para a caracterização dos eletrodos modificados.

1.4. OBJETIVOS

Utilização da aproximação “Bottom-Up” para desenvolver e caracterizar uma superfície nanoestruturada de ouro, eletrodepositado sobre carbono vítreo, utilizando voltametria de varredura linear, sem a necessidade da utilização de indutores de forma.

Caracterizar estas nanoestruturas por métodos eletroquímicos (voltametria cíclica utilizando moléculas de AA e DA), métodos de microscopia (MEV, AFM) e espectroscópicos (EDX).

Modificar estas nanoestruturas com camadas auto-organizadas de cistamina, possibilitando a sua utilização como biossensor, quer pela imobilização de enzimas quer na utilização direta, como na detecção eletroquímica de neurotransmissores.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, será realizada uma breve revisão dos principais conceitos utilizados nas técnicas voltamétricas, espectroscópicas e microscópicas, visando situar a metodologia utilizada na execução dos experimentos, bem como descrever as técnicas experimentais, materiais e reagentes utilizados, e uma breve descrição da metodologia utilizada durante toda a parte experimental.

2.1. TEORIA DOS MÉTODOS

2.1.1. TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS

A voltametria é uma técnica ou processo eletroquímico que consiste na medida das correntes geradas em função de uma dada programação de potenciais imposta a um eletrodo imerso em um eletrólito ⁶⁴.

Estas informações são obtidas de um eletrodo indicador, ou eletrodo de trabalho, que, nas condições experimentais empregadas, se encontra polarizado. Existem vários tipos de eletrodos de trabalho, como por exemplo, o eletrodo de mercúrio (Hg), de ouro (Au), de platina (Pt), de grafite, etc.

Se o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho for deslocado para uma região na qual o eletrodo é capaz de reduzir ou oxidar algum componente do eletrólito, fluirá corrente ⁶⁵, cujo valor será proporcional à concentração da espécie eletroativa em solução.

As curvas corrente-potencial medidas em celas a um eletrodo de referência, conhecidas por voltamogramas, são obtidas pela mudança gradual de potencial aplicada a um sistema eletroquímico composto pelo eletrodo de trabalho, imerso em uma cela eletroquímica contendo a solução de interesse, normalmente deaerada para se evitar a interferência da reação de redução do oxigênio, um eletrodo de referência estável e um eletrodo auxiliar, cuja área superficial é, normalmente, maior que a do eletrodo de trabalho. A forma da perturbação do eletrodo, pela aplicação de diferentes programações de potenciais, define a natureza da técnica voltamétrica utilizada.

2.1.1.1. VOLTAMETRIA CÍCLICA

Nesta técnica, se utiliza um eletrodo imerso em uma solução sem agitação, que é excitado por uma programação de potenciais na forma de uma onda triangular, com uma dada velocidade de varredura (constante ou com valores diferentes para cada lado do triângulo). Esta programação de potenciais é exemplificada na Figura 6, abaixo ^{66,67}.

Figura 6: Representação esquemática da programação de potenciais aplicada ao eletrodo de trabalho numa voltametria cíclica.

Para uma solução de $K_3Fe(CN)_6$ $6,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em KNO_3 $1,00 \text{ mol L}^{-1}$, sobre o eletrodo de platina, a aplicação da programação de potenciais exemplificada na Figura 2, acima, com uma taxa de variação de potenciais, apresentando uma velocidade (v) de $100,00 \text{ mV s}^{-1}$, resultando em um voltamograma cíclico típico de um processo reversível (onde são visíveis os picos anódico e catódico), conforme apresentado na Figura 7 ⁶⁸. Esta curva pode ser decomposta nas seguintes regiões de potenciais associadas aos fenômenos descritos abaixo:

- 1) $E=0,80$ V: Um valor pequeno de corrente é observado devido a oxidação da água em oxigênio (ponto “a”). O valor de corrente é pequena para valores próximos de zero logo após iniciar-se a varredura.

Figura 7: Voltamograma cíclico para um sistema reversível ⁶⁸.

- 2) $E=0,70$ a $0,40$ V: Corrente próxima de zero, indica a ausência de espécies que possam ser reduzidas ou oxidadas.
- 3) $E<0,40$ V: Aparecimento de uma corrente catódica (ponto b) devido a redução do íon hexacianoferrato (III) a hexacianoferrito (II).

- 4) Região “b” até “d”: Rápido aumento de corrente, atingindo a corrente catódica de pico.
- 5) Região “d” até “e”: Redução do íon hexacianoferrato (III) restante nas proximidade do eletrodo para o íon hexacianoferrato (II). Decaimento de

corrente segundo a equação de Cottrell, ocasionada pelo esgotamento do reagente no plano de reação.

- 6) Região “f”: Inversão da varredura. A corrente continua sendo catódica mesmo a variação sendo para valores mais positivos, isto porque o potencial ainda é negativo o suficiente para causar a redução do íon hexacianoferrato (III).
- 7) Região “h”: Nesta região o valor de potencial já é positivo o bastante para cessar a redução do íon hexacianoferrato (III) e inicia-se a oxidação do íon hexacianoferrito (II).
- 8) Região “j”: Região onde se obtém a corrente anódica de pico.

Parâmetros importantes obtidos de um experimento de voltametria cíclica:

E_{pc} : Potencial catódico de pico

I_{pc} : Corrente catódica de pico

E_{pa} : Potencial anódico de pico

I_{pa} : Corrente anódica de pico

Para reações reversíveis no eletrodo temos as seguintes condições ⁶⁹:

- 1) I_{pa} e I_{pc} são aproximadamente iguais
- 2) A diferença dos valores E_{pc} e E_{pa} é igual a $59,20/n$ mV

Uma maneira de se diagnosticar o tipo de processo envolvido na voltametria cíclica (reversível, irreversível ou quase-reversível), assim como determinar o número de elétrons envolvidos na reação é relacionado com o seguinte critério de diagnóstico, obtido das equações matemáticas que representam o processo ⁶⁹:

Tabela 1 - Diagnóstico para processos reversíveis á 25°C

-
1. $\Delta E = E_{pa} - E_{pc} = \frac{59}{n} mV$
 2. $|E_p - E_{p/2}| = \frac{59}{n} mV$
 3. $\left| \frac{I_{pa}}{I_{pc}} \right| = 1$
 4. $I_p \propto \nu^{1/2}$
 5. E_p é independente de ν
 6. a potenciais além de E_p , $I \propto t^{-1/2}$
-

Tabela 2 - Diagnóstico para processos irreversíveis á 25°C

-
1. sem pico reverso
 2. $I_{pc} \propto \nu^{1/2}$
 3. E_{pc} varia de $\frac{-30}{\alpha_c n} mV$ para cada década de aumento em ν
 4. $|E_p - E_{p/2}| = \frac{48}{\alpha_c n} mV$
-

Tabela 3 - Diagnóstico para processos *quasi*-reversíveis á 25°C

1.	$ I_p $ aumenta com $v^{1/2}$ mas não é proporcional
2.	$\left \frac{I_{pa}}{I_{pc}} \right = 1$ desde que $\alpha_C = \alpha_A = 0,5$
3.	ΔE_p é maior que $\frac{59}{n} mV$ e aumenta com aumento de v
4.	E_{pc} desloca negativamente com o aumento de v

Uma limitação no emprego da voltametria cíclica para a determinação da concentração de espécies poluentes, como os pesticidas, está relacionado com a dificuldade na separação do componente não faradaico da corrente de pico. Ao se promover à programação de potenciais sobre o eletrodo, uma parte da corrente que flui a um dado potencial, é devida à carga da dupla-camada elétrica. Estas correntes, conhecidas como capacitiva, não é proporcional à concentração do analito e, portanto, prejudica a precisão da análise. Para minimizar o seu efeito, foram desenvolvidas as técnicas voltamétricas de pulso como, por exemplo, a voltametria de onda quadrada.^{65,70}

2.1.1.2. VOLTAMETRIA DE VARREDURA LINEAR

A voltametria cíclica consiste de uma técnica eletroquímica caracterizada pela imposição de uma varredura linear de potencial ao eletrodo de trabalho, os potenciais característicos da voltametria cíclica

consistem em potencial inicial (E_i), potencial de inversão (E_{inv}) e potencial final (E_f), quando não é imposto um potencial de inversão, a voltametria passa a ser determinada como voltametria de varredura linear ⁷¹.

2.1.2. TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

A espectroscopia é um ramo da Física e da Química que estuda a interação da luz ou qualquer radiação eletromagnética, como as ondas de rádio, com a matéria. Ondas diferentes transportam diferentes quantidades de energia e levam a interações diferentes. A espectroscopia é uma ferramenta muito poderosa para a detecção e análise das moléculas por vários motivos ⁷².

- É sensível e exige normalmente quantidades mínimas de uma substância para ser capaz de identificá-la.
- Pode ser utilizada em amostras muito distantes; por isso é utilizada na astronomia.
- É um método não-destrutivo de análise de substâncias.
- Pode produzir informações espaciais e temporais detalhadas.

2.1.2.1. ESPECTROMETRIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE raios X (EDS ou EDX)

O EDS (energy dispersive x-ray detector, EDX ou EDS) é um acessório essencial no estudo de caracterização microscópica de materiais. Quando o feixe de elétrons incide sobre um mineral, os elétrons mais externos dos átomos e os íons constituintes são excitados, mudando de níveis energéticos. Ao retornarem para sua posição inicial, liberam a energia adquirida a qual é emitida em comprimento de onda no espectro de raios-x. Um detector instalado na câmara de vácuo do MEV mede a energia

associada a esse elétron. Como os elétrons de um determinado átomo possuem energias distintas, é possível, no ponto de incidência do feixe, determinar quais os elementos químicos estão presentes naquele local e assim identificar em instantes que mineral está sendo observado. O diâmetro reduzido do feixe permite a determinação da composição mineral em amostras de tamanhos muito reduzidos ($< 5 \mu\text{m}$), permitindo uma análise quase que pontual⁷³.

2.1.3. TÉCNICAS MICROSCÓPICAS

Desde a invenção do microscópio óptico no século 17, diversas técnicas têm sido desenvolvidas pra observar pequenos objetos em uma superfície, em 1926 Bush investiga a trajetória dos elétrons em campos magnéticos, constatando a partir deste experimento que os sistemas eletrônicos obedeciam às leis da ótica, iniciando a partir daí uma nova ciência eletrônica. O microscópio eletrônico surgiu em 1931 e 1933 após a construção de lentes com propriedades electromagnéticas ⁷⁴, nos anos 80 surgiu uma tecnologia revolucionária para a visualização de matérias em escala nanométrica, o microscópio de tunelamento. Esta tecnologia de ampla aplicação na indústria foi diversificada em equipamentos capazes de esquadrihar as propriedades dos átomos e das moléculas ⁷⁵.

Em 1981, o físico alemão Gerd Binnig e o físico suíço Heinrich Rohrer, observaram o surgimento de uma corrente elétrica entre uma ponta finíssima de tungstênio e a superfície de uma amostra de platina, denominada corrente de tunelamento, ao acrescentar um sistema que permite deslocar a amostra estudada, surge o microscópio de tunelamento por varredura ⁷⁵. Com o surgimento desta técnica, a área microscópica passa então por uma revolução, passando a escala nanométrica, surgindo desta forma, várias novas técnicas microscópicas como, por exemplo: a microscopia de força atômica (AFM), microscopia optica de varredura de campo próximo (MOVCP), microscopia de força magnética (MFM), microscopia de força elétrica (MFE), dentre outras.

2.1.3.1. MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA (MEV)

Na microscopia eletrônica de varredura (MEV) os sinais de maior interesse para a formação da imagem são os elétrons secundários e os retroespalhados. A medida que o feixe de elétrons primários vai varrendo a amostra estes sinais vão sofrendo modificações de acordo com as variações da superfície. Os elétrons secundários fornecem imagem de topografia da superfície da amostra e são os responsáveis pela obtenção das imagens de alta resolução, já os retroespalhados fornecem imagens características de variações de composição ⁷⁶.

O aumento máximo conseguido pelo MEV fica entre o microscópio ótico (MO) e o microscópio eletrônico de transmissão (MET). A grande vantagem do MEV em relação ao microscópio ótico é a sua resolução, na ordem de 2 a 5 nm ($20 - 50 \text{ \AA}$), enquanto que o ótico apresenta resolução de $0,5 \mu\text{m}$ ⁷⁶.

Uma das vantagens apresentadas pelo MEV é a possibilidade de combinação de análise microestrutural com microanálise química, fatores estes que contribuem para o amplo uso desta técnica ⁷⁶.

O MEV consiste basicamente da coluna otico-eletrônica (que consiste em um canhão de elétrons que gera os elétrons primários, lentes condensadoras, que colimam o feixe de elétrons primários, as bobinas, que promovem a deflexão do feixe de elétrons primários no sentido horizontal e vertical e bobinas que fazem as correções de astigmatismo), da unidade de varredura, da câmara de amostra, do sistema de detectores e do sistema de visualização da imagem ⁷⁶.

Figura 8: Diagrama esquemático do canhão de elétrons tipo triodo ⁷⁶.

O canhão de elétrons é usado para a produção do feixe de elétrons com energia e quantidade suficiente para ser captado pelos detectores, este feixe é então demagnificado por várias lentes eletromagnéticas, cuja finalidade é produzir um feixe de elétrons focado com um pequeno diâmetro numa determinada região da amostra ⁷⁶.

2.1.3.2. MICROSCOPIA DE VARREDURA POR SONDA (MVS)

A invenção da microscopia de varredura por sonda (Scanning Probe Microscope), SPM ou MVS, proporcionou um grande impulso na ciência, na tecnologia e em várias áreas do conhecimento humano. E suas principais modalidades estão à microscopia de tunelamento e a microscopia de força atômica ⁷⁷.

O conjunto básico de um sistema de varredura é constituído por cerâmicas piezoelétricas com incrementos de deslocamentos da ordem de sub-angstroms, que movem uma ponteira em relação a uma superfície. Estes deslocamentos são controlados pelas variações dos potenciais elétricos aplicados, devidamente calibrados e linearizados por software específico ⁷⁸.

2.1.3.3. MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA (AFM)

A microscopia de força atômica foi desenvolvida em 1985, conquistando rapidamente a atenção da comunidade química ambiental, como uma técnica de amplo uso para a obtenção de imagens de superfícies minerais expostas ao ar ou imersas em soluções ^{79,80}.

A invenção do microscópio de força atômica vem dando uma contribuição significativa para a nanotecnologia e recebeu o prêmio Nobel em 1986. Sua operação é baseada em leis elementares da Física e conta com a moderna tecnologia de semicondutores ⁸¹.

Nos últimos anos a utilização de AFM pelos membros da comunidade química tem sido ampla. As aplicações desta técnica incluem a determinação da estrutura molecular para a escala atômica de superfícies minerais ^{79,82}, explorar as forças presentes na interface mineral-água ⁷⁹⁻⁸⁵, medir diretamente a cinética de desenvolvimento, dissolução, nucleação heterogênea e processos redox ⁷⁹⁻⁸⁸.

O desenvolvimento desta técnica tornou possível obter imagens tridimensionais de superfícies sólidas em escala nanométrica, possibilitando a observação em meio aquoso da transformação da superfície in situ em escala de tempo real ⁸⁹.

No campo eletroquímico, os métodos microscópicos tem sido muito utilizados, não somente para a caracterização na escala atômica, mas também para modificações da superfície local e estruturalmente em limites de sub-micrometros e nanômetros ⁹⁰.

O princípio de funcionamento de um microscópio de força atômica é na verdade muito simples e pode ser visualizado através da figura abaixo ⁸¹.

A ponta de prova é montada numa haste que pode girar livremente. Na parte superior da haste é colocado um espelho que reflete a luz de um feixe de laser. Após a reflexão, a luz do laser passa por uma lente e incide sobre um fotodetetor. A incidência do feixe de laser no fotodetetor provoca o aparecimento de uma diferença de potencial (ddp) em suas extremidades. Esta ddp depende da área iluminada pelo feixe de laser que por sua vez depende da altura da ponta de prova. A posição da ponta de prova varia conforme o relevo da superfície em estudo e com isso a ddp gerada pelo fotodetetor traduz os deslocamentos da ponta durante a varredura. Estes deslocamentos são medidos com a amplificação da ddp gerada no fotodetetor ⁸¹.

A microscopia de força atômica (AFM) produz varreduras em amostra não condutoras, podendo ser dividida em dois modos, contato e não-contato.

Figura 9: Esquema de funcionamento de um microscópio de força atômica (modo contato e não contato)⁸¹.

A microscopia de força atômica de contato apresenta como forma de obtenção de imagem o contato físico entre a sonda e a superfície da

amostra, percorrendo um plano de varredura x,y paralela à superfície e adquirindo pontos a componente topográfica z. A existência de variações topográficas em uma amostra causa deflexões na sonda o que gera a imagem topográfica⁹¹.

Figura 10: Forma de obtenção de imagens topográficas

As sondas em geral apresentam formato piramidal, extremamente pontiagudo e diâmetros menores que 50 nm na extremidade, o que permite uma melhor convolução sobre a superfície de uma amostra⁹¹.

Já a microscopia de força atômica de não contato e contato intermitente utiliza as forças de Van der Waals (F_{vdW}) nas interações entre sonda e amostra, tais interações apresentam-se dominante entre corpos eletricamente neutros e não magnéticos. Estas forças resultam de interações de moléculas que contenham múltiplos permanentes, assim como das interações entre moléculas polares e neutras com polaridade induzida ⁷⁸.

A microscopia de força atômica pode fornecer além da imagem topográfica a obtenção da adesividade e a dureza da superfície de uma amostra, esta informação é obtida por meio de análise da força de interação entre a sonda e a superfície da amostra em função da distância entre elas ^{78,92}.

Tal informação é obtida de acordo com a variação da força resultantes da deflexão da armação da sonda, o que provoca uma variação no sinal do laser refletido e o sinal de leitura do fotodetector ^{78,92}.

2.2. PARTE EXPERIMENTAL

2.2.1. INSTRUMENTAÇÃO

Os equipamentos utilizados neste trabalho consistem em:

- Microscópio de força atômica (AFM) Topometrix, modelo Explorer
- Potenciostato EG&G PARC, modelo 283
- Microscópio eletrônico de Varredura (MEV)
- Espectrometro de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), modelo Vista RX, Varian.

Para a análise dos dados obtidos foram utilizados os programas computacionais:

- Origin 6.0
- Topometrix SPMLab
- ECHEM M270

2.2.2. REAGENTES E SOLUÇÕES

- Solução de Ácido Sulfúrico 0,5 mol L⁻¹, Merck
- Solução de Ácido Sulfúrico 0,1 mol L⁻¹, Merck
- Solução de Ácido Perclórico 0,1 mol L⁻¹, Synth
- Solução de Ácido Clorídrico 0,1 mol L⁻¹, Synth
- Solução de Ácido Fosfórico 0,1 mol L⁻¹, Synth

-Solução de ácido tetracloroáurico (H_2AuCl_4) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, obtida em laboratório

-Solução de Ácido Ascórbico Aldrich

-Solução de Dopamina, 98% Fluka

-Solução de SAM - Ácido 3,3-ditiodipropionico, 99% Aldrich

- Dihidrocloreto de Cistamina, 98% Aldrich

Todas as soluções ácidas utilizadas neste trabalho foram preparadas utilizando água purificada no sistema Milli-Q (Millipore Inc., Massachussets). As soluções de tiol foram preparadas utilizando etanol P.A., Synth. As amostras (AA e DA) foram inicialmente preparadas com água purificada no sistema Milli-Q.

2.2.3. CÉLULAS E ELETRODOS

Os experimentos foram realizados em uma célula eletroquímica de compartimento único construído em vidro Pyrex[®], os eletrodos utilizados foram: eletrodos de referência de Ag/AgCl KCl 3 mol L^{-1} , auxiliar de fio de Pt e eletrodos de trabalho de Au ($0,0177 \text{ cm}^2$ e $0,196 \text{ cm}^2$) e carbono vítreo ($0,159 \text{ cm}^2$).

Figura 11: Representação esquemática da célula eletroquímica e eletrodos, sendo (1) o eletrodo de trabalho, (2) o eletrodo de referencia, (3) o eletrodo auxiliar, (4) entrada de N₂ e (5) saída de N₂.

Os eletrodos de ouro utilizados neste trabalho consistiram em, um eletrodo cilíndrico de ouro embutido em resina, e eletrodo de ouro utilizado em microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (EQCM). O eletrodo de trabalho utilizado como substrato para os eletrodepósitos consistiu de um eletrodo cilíndrico embutido em teflon.

2.2.4. METODOLOGIA

A solução de ouro utilizada neste trabalho foi obtida por meio da dissolução de ouro metálico em solução de ácido nítrico e clorídrico em uma proporção 1:1, seguida de aquecimento até a retirada de NO₂ da solução. Esta solução foi caracterizada por meio de espectrometria de emissão ótica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), obtendo uma concentração de Au de $340 \times 10^{-4} \pm 3,66 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ($6691 \pm 72 \text{ mg}$

L⁻¹). Esta técnica apresenta um limite de detecção para ouro de $0,0189 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ (0,372 mg L⁻¹).

Para a formação das nanoestruturas de ouro sobre o eletrodo de carbono vítreo foi utilizada voltametria de varredura linear, com velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹ em meio de ácido tetracloreáurico (H₂AuCl₄) $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ + ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,1 mol L⁻¹, as caracterizações das nanoestruturas foram por meio de microscopia eletrônica de varredura, microscopia de força atômica, EDX e Mapeamento.

As modificações dos eletrodos de Au e nanoestruturas foram realizadas por meio da imersão dos eletrodos em solução de tiol (preparada por meio da solubilização do tiol em estudo em etanol) em concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, por tempo pré-determinado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão abordados todos os resultados obtidos, desde a construção das nanoestruturas utilizando a voltametria de varredura linear bem como a caracterização das nanoestruturas por meio da microscopia de força atômica, microscopia eletrônica de varredura e EDX, além da voltametria cíclica do AA e DA sobre as diferentes superfícies, serão abordadas também as modificações dos eletrodos de ouro e nanoestruturas de ouro com camadas auto-organizadas monitoradas pela reação de oxidação de AA e DA.

3.1. OBTENÇÃO DAS NANOESTRUTURAS DE OURO

As nanoestruturas foram formadas sobre a superfície de um eletrodo de trabalho de carbono vítreo, previamente tratado (lixado e polido

mecanicamente), por meio da redução eletroquímica de Au(III) para Au (0). Para tal foi utilizado uma solução de AuCl_4^- , com cada um de vários ácidos (HClO_4 , H_2SO_4 , H_3PO_4 e HCl) na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e voltametria de varredura linear, com velocidade de 100 mV s^{-1} , num intervalo de potencial de 1,40 a 0,00 V.

Visualizando o voltamograma, Figura 12, observa-se um pico de redução em potencial de aproximadamente 0,33V, correspondente à redução de Au (III) para Au (0) ¹⁴. Esta redução foi realizada em solução de Au (III) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 12: Voltamograma linear da deposição de Au sobre eletrodo de Carbono vítreo em solução de Au (III) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

O pico de redução do Au(III) para Au (0) apresenta uma carga de deposição (calculada pela área da curva entre os potenciais de 0,60 e 0,00 V dividida pela velocidade de varredura (em V/s) de $5399 \mu\text{C cm}^{-2}$. Esta carga corresponde à deposição de aproximadamente 10 camadas de ouro sobre o substrato, considerando-se que a carga para a deposição de uma camada de Au sobre Au envolve aproximadamente $193 \mu\text{C cm}^{-2}$ por elétron transferido⁹³. Como, no presente caso, a redução envolveu três elétrons, o número de camadas formadas seria $5.399,00 \mu\text{C cm}^{-2} / 193 \times 3 \mu\text{C cm}^{-2} = 10$. Este cálculo exige a formação de camadas completas sobre a superfície do substrato, crescendo de maneira regular. Entretanto, pode-se mostrar, a seguir, que este não é o caso desta deposição.

Para isto, foi necessário caracterizar esta superfície utilizando outros métodos. Uma forma de se caracterizar a constituição destes cristais formados é utilizando um EDX acoplado a um microscópio eletrônico de varredura, bem como o microscópio de força atômica, para a visualização da formação dos depósitos.

Para caracterizar a morfologia dos depósitos sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo, foram realizadas medidas de microscopia de força atômica. Observa-se, na Figura 13, que a topografia do carbono vítreo sem nanoestruturas apresenta uma superfície irregular, porém homogênea. Já, para a superfície modificada, com os nanodepósitos, a superfície irregular se mostra repleta de pequenas estruturas de formato aparentemente cônico (nanoestruturas).

Figura 13: Imagens topográficas do eletrodo de carbono vítreo com e sem depósito de Au. Os depósitos foram realizados por meio da voltametria de varredura linear em solução ácido tetracloreáurico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Embora ambas as superfícies apresentem grande irregularidade, os depósitos de Au sobrepõem-se, apresentando formato distinto e bem definido, semelhante a “agulhas”.

A microscopia de força atômica pode fornecer ainda, as dimensões tridimensionais destes depósitos, tais dimensões foram obtidas por meio do software fornecido pelo equipamento utilizado. A Figura 14 apresenta o valor obtido com relação ao diâmetro e a altura de uma nanoestrutura escolhida aleatoriamente.

Como as dimensões das nanoestruturas apresentam uma grande variação em seus valores tridimensionais, podemos, por meio de um tratamento estatístico, estabelecer um valor médio da altura apresentada por estas estruturas. Para a realização deste tratamento, foram medidas as alturas de 80 cristais presentes em uma área de aproximadamente $50 \times 50 \mu\text{m}^2$, cujos resultados podem ser observados na Figura 15.

Figura 14: Obtenção das medidas de altura e diâmetro dos eletrodépósitos de ouro, onde x e y referem-se á largura e comprimento e y a altura dos cristais.

Figura 15 : Distribuição estatística da média das alturas das nanoestruturas presentes nos depósitos.

Considerando que a altura dos cristalitos varie de uma maneira aleatória ao redor do seu valor médio, a representação da Figura 15 mostra a forma Gausseana esperada. Desta representação, o máximo pode ser considerado como o valor médio de altura, equivalente a aproximadamente 35 nm. O mesmo procedimento foi empregado para o cálculo do diâmetro médio, resultando em um diâmetro médio aproximado de 150 nm.

Os cálculos a seguir foram executados com o intuito de se discutir se a carga voltamétrica obtida na Figura 12 é suficiente para justificar a formação das estruturas cristalinas mostradas na Figura 13. Como foi obtido uma carga equivalente a 10 monocamadas de Au, é necessário se avaliar se esta carga pode justificar a formação das nanoestruturas com altura média de 35 nm e de diâmetro médio aproximado de 150 nm.

Os eletrodepósitos de Au, quando obtidos na forma cristalina, apresentam um retículo cristalino no formato cúbico de face centrada, como apresentado na Figura 16A. Neste cristal, cada átomo de Au pode ser considerado como uma bola de bilhar, com um diâmetro de 0,4 nm. Assim, a distância entre cada átomo pode ser calculada por triângulos retângulos, como mostrado na Figura 16B.

Figura 16: Forma estrutural de cristais de Au, cujo formato, apresenta-se cristalográficamente como cubo de face centrada

Com as informações obtidas na Figura 16, é possível calcular a altura de cada cubo, considerando a parte superior e inferior dos átomos de ouro pode ser calculada como:

$$\begin{aligned} \text{hipotenusa}^2 &= \text{catetoposto}^2 + \text{catetoadjacente}^2 \\ \text{catetoposto} &= \text{catetoadjacente} \\ (0,8)^2 &= 2\text{cateto}^2 \\ 0,64 &= 2\text{cateto}^2 \\ 0,32 &= \text{cateto}^2 \\ \text{cateto} &= 0,56 \end{aligned}$$

De acordo com a Figura 16, a altura total do cubo de face centrada será a distância entre os dois centros atômicos (0,56 nm) mais dois raios atômicos (0,40 nm) para se considerar as distâncias entre os centros atômicos e a parte inferior e superior do cubo. Assim, a altura total de cada cubo será de 0,96 nm, que arredondaremos para 1 nm.

Partindo-se do tamanho da célula unitária do Au e supondo que a camada de Au depositada consiste numa coleção destas células empilhadas de maneira uniforme, seriam necessárias 35 camadas de Au para justificar a altura média obtida nos experimentos com AFM. Estas 35 camadas representariam uma carga voltamétrica de $20.265 \mu\text{C cm}^{-2}$ para sua formação, claramente superior aos $5.399 \mu\text{C cm}^{-2}$ encontrados no voltamograma apresentado na Figura 12.

Porém, existem outros fatores a serem considerados. Como será visto mais adiante, a deposição de Au não recobre totalmente a superfície do eletrodo de carbono vítreo, de acordo com as medidas realizadas com a oxidação eletroquímica do ácido ascórbico (AA). Por meio da relação entre

as correntes de pico de oxidação para o AA sobre o eletrodo de carbono vítreo liso e recoberto com as nanoestruturas, estima-se, o recobrimento máximo com nanoestruturas, de aproximadamente 43%. Este cálculo foi levado a efeito considerando-se que o AA não se oxida sobre Au, na mesma região de potenciais observada para sua oxidação sobre carbono vítreo, conforme será discutido em um item adiante.

Desta forma, a carga voltamétrica necessária para a obtenção de 35 nm de eletrodepósito sobre 43% da superfície será de $20.265 \mu\text{C cm}^{-2} \times 0,43$, ou seja, de $8.713,95 \mu\text{C cm}^{-2}$, ainda maior que o obtido voltametricamente.

Além disto, de acordo com as observações da microscopia de força atômica, apresentada na Figura 14, o formato geométrico apresentado pelos cristalitos assemelha-se a um formato piramidal, sendo assim é necessário realizar uma correção da razão das áreas, de acordo com a Figura 17 abaixo.

Figura 17: Forma estrutural dos depósitos de Au

A Figura 17, esquematiza a forma de deposição apresentada pelos nanodepósitos e mostrada na microscopia de força atômica, ou seja, um formato piramidal, cuja área geométrica apresenta-se 2 vezes menor do que aquela relacionada com um cubo da mesma altura, formato este que não acontece nestas nanoestruturas, como pode ser observado. Assim, ainda é necessário a divisão da carga obtida por 2, chegando-se, finalmente ao valor de $4.356,98 \mu\text{C cm}^{-2}$, menor que a obtida por voltametria. Agora, o excesso de carga voltamétrica pode ser atribuído à formação de estruturas maiores que a das nanoestruturas analisadas aqui, que se encontram dispersas, em muito menor número, na superfície do eletrodo.

Assim, a microscopia de força atômica forneceu as bases para uma interpretação quantitativa dos nanodepósitos de ouro formados sobre carbono vítreo. Para investigar a possível contaminação com outros elementos, que não ouro, como por exemplo, do ânion do eletrólito de suporte, a composição destes depósitos foi determinada por medidas de EDX acoplado a um MEV. O resultado é apresentado na Figura 18.

Figura 18: Imagem de MEV e EDX da superfície do eletrodo de carbono vítreo com nanoestruturas de Au, obtidas por meio de uma voltametria de varredura linear em solução de ácido tetracloreáurico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

O mapeamento da superfície por EDX mostra, na forma de pontos brancos, cristalitos de diferentes tamanhos. Uma pequena parte destes cristalitos revela um tamanho muito maior que a maioria. Esta parte nucleou e cresceu sobre sítios superficiais energeticamente mais favoráveis, adquirindo, no mesmo tempo do experimento, um tamanho significativamente maior.

Como o EDX possui, como limitação, a capacidade de penetrar até uma determinada espessura da amostra, os nanocristais de tamanho médio de 35 nm de altura não são detectados. Assim, a composição foi determinada sobre um dos “macrocrístais” de onde foi possível obter os dados mostrados na Figura 18, acima.

O resultado obtido indica a existência de Au, O, Al e C. Sendo que o Au é proveniente dos depósitos realizados, o C do substrato, o O provavelmente proveniente da formação de óxido sobre a superfície do Au e Al proveniente de resíduos de alumina proveniente do polimento realizado no eletrodo de trabalho antes das eletrodeposições.

Os eletrodepósitos apresentados anteriormente foram realizados utilizando voltametria de varredura linear, com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} e eletrólito suporte de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, nestas condições, foi possível formar as nanoestruturas, bem como comprovar sua composição. No entanto faz-se necessário a otimização das condições ideais para a deposição da maior quantidade possível de nanoestruturas de Au, de menor tamanho possível, sobre o eletrodo de Carbono vítreo.

Assim, inicialmente foi feita a análise da influência da velocidade de varredura de potenciais na quantidade e morfologia dos depósitos. As velocidades foram variadas em 50, 100 e 200 mV s^{-1} , em solução contendo Au (III) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

De acordo com os voltamogramas apresentados na Figura 19, observa-se que, ao aumentarmos a velocidade de varredura, a corrente de pico aumenta proporcionalmente, porém a carga de deposição diminui consideravelmente.

Figura 19: Variação da velocidade de varredura para deposição de Au por meio de voltametria de varredura linear em solução de ácido tetracloroáurico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4 0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Esta diminuição da carga de deposição com o aumento da velocidade de varredura (menor tempo de deposição) pode ser atribuída a problemas cinéticos na deposição. Assim, uma menor quantidade de nanoestruturas deve ser formada em velocidades menores. Este comportamento é corroborado pelas micrografias apresentadas na Figura 20, onde observa-se a topografia das superfícies do carbono vítreo modificadas após o experimento voltamétrico em cada velocidade de varredura, bem como o mapeamento de Au, realizado para cada velocidade. O aumento na quantidade de nanoestruturas é bastante significativo e proporcional à carga de eletrodeposição mostrada na Figura 19.

Figura 20: Imagens topográficas e mapeamento dos eletrodepósitos de Au (III) em solução de Au (III) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes velocidades de varredura.

Embora a velocidade de 50 mV s^{-1} apresente maior quantidade de nanoestruturas, optou-se trabalhar na velocidade de 100 mV s^{-1} devido à maior homogeneidade das nano-estruturas obtidas nesta velocidade e também para evitar a saturação da superfície com nanoestruturas e sua conseqüente sobreposição. Desta forma, definida a velocidade de varredura,

realizou-se uma variação da concentração de Au (III) em solução, a fim de verificar a influência desta variável, uma vez que a maior parte dos trabalhos encontrados em literatura trabalha com solução de Au (III) em torno de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 21: Variação da concentração de Au (III) presente em solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ por voltametria de varredura linear e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

De acordo com os voltamogramas da Figura 21, observa-se um grande aumento nas correntes, bem como nas cargas de deposição, com o aumento da concentração de íons tetracloroaurato em solução. No entanto, a melhor concentração de trabalho para se obter nanoestruturas de tamanho mais homogêneo foi a de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, pois a concentração inferior proporciona um baixo recobrimento superficial enquanto a concentração superior proporciona o aparecimento de um número muito grande de estruturas com tamanho fora da escala de nanômetros, conforme corroborado pelas medidas de mapeamento de EDX.

Desta forma optou-se trabalhar com solução de Au (III) $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹, por ser nesta concentração que se forma a maior quantidade de nanoestruturas de dimensões tridimensionais apropriadas para os propósitos deste trabalho.

$0,20 \times 10^{-3}$ mol
L⁻¹

$1,0 \times 10^{-3}$ mol
L⁻¹

$1,5 \times 10^{-3}$ mol
L⁻¹

Figura 22: Imagens topográficas e mapeamento dos depósitos realizadas em meio de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹ e diferentes concentrações de ácido tetracloroáurico utilizando voltametria de varredura linear e velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.

Todas as medidas foram realizadas em meio de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Sabe-se, no entanto, que alguns eletrólitos podem influenciar na natureza dos eletrodepósitos. Devido a isto, foram realizadas eletrodeposições em diferentes eletrólitos suporte. Os meios utilizados neste estudo foram ácido clorídrico (HCl), ácido sulfúrico (H_2SO_4), ácido perclórico (HClO_4) e ácido fosfórico (H_3PO_4), todos na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Figura 23: Variação do eletrólito suporte utilizado para a eletrodeposição de Au, concentração Au (III) em solução de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + eletrólito $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de 100 mV s^{-1} .

Por meio dos voltamogramas apresentados na Figura 23, a maior carga de deposição foi obtida com o H_2SO_4 como eletrólito suporte. Esta característica sugeriu a utilização deste eletrólito para a obtenção das nanoestruturas. A natureza mais adequada para a região de nanômetros é evidenciada nas imagens topográficas exibidas na Figura 24. Os

eletrodepósitos obtidos nos outros eletrólitos, na mesma concentração, são maiores, correspondendo a estruturas em maior dimensão, mais dispersas na superfície do eletrodo, evidenciando um menor recobrimento.

Figura 24: Imagens topográficas das nanoestruturas em diferentes eletrólitos (eletrólito $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{Au (III)} 1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$), velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

É provável que este comportamento de dispersão ou aglomeração tenha relação com o eletrólito utilizado, que de alguma forma interfere na eletrodeposição de Au na superfície, ou sofra uma interação maior com os íons de Au presente em solução.

Sendo assim, determinou-se que o melhor eletrólito para a eletrodeposição de Au como sendo o ácido sulfúrico.

Até o momento, foi possível determinar que as nanoestruturas formadas apresentam dimensões na escala nanométrica, são compostas de

nanocristais de Au, porém ainda é necessário determinar o comportamento voltamétrico destas nanoestruturas em meio de H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, e verificar se o perfil assemelha-se o perfil voltamétrico apresentado por um eletrodo de Au convencional, ou seja se no intervalo de potencial de 0,00 a 1,75 V vs eletrodo de referencia de Ag/AgCl 3 mol L^{-1} , o surgimento do pico de formação redução do oxido de Au.

Figura 25: Voltamograma cíclico dos eletrodos de Au convencional e nanoestruturado em meio de ácido sulfúrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Os voltamogramas da Figura 25, normalizados pela área exposta de Au de cada superfície, demonstram que, embora ambos eletrodos apresentem as variações de corrente relativas à formação e redução do óxido de ouro, nas nanoestruturas este processo está extremamente inibido.

Este comportamento deve ser atribuído à falta de uma fase maciça de ouro, pois as nanoestruturas não apresentam um volume de fase de ouro suficiente para justificar um comportamento semelhante ao eletrodo convencional de Au.

Portanto, partindo deste conjunto de informações sobre a eletrodeposição de Au sobre carbono vítreo, a construção dos eletrodos nanoestruturados utilizados durante este trabalho, foi realizada em meio de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, concentração de Au (III) de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, voltametria de varredura linear com velocidade de 100 mV s^{-1} .

Realizaram-se também medidas voltamétricas com o par redox $\text{Fe(CN)}_6^{4-}/\text{Fe(CN)}_6^{3-}$ $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, utilizando as três diferentes superfícies eletródicas em estudo (Au convencional, nanoestrutura de Au e Carbono vítreo). Os resultados encontrados são apresentados na Figura 26, normalizada pelas respectivas áreas geométricas.

Figura 26: Voltamograma cíclico de solução contendo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

A Figura 26 demonstra a pouca dependência das reações de oxidação e redução do par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ com a natureza da superfície eletródica. Mesmo as nanoestruturas de ouro, que deveriam apresentar propriedades distintas, quando comparadas ao perfil apresentado pelo seu substrato, ou até mesmo, do ouro convencional, não o fazem. Isto deve ser atribuído à grande proporção de carbono vítreo exposto na superfície do eletrodo nanoestruturado, o que torna sua resposta muito próxima à do eletrodo de carbono vítreo puro.

Determinadas as condições de eletrodeposição, foram realizadas medidas voltamétricas de AA e DA, cujo intuito foi a caracterização das diferentes superfícies. A DA foi utilizada para caracterizar a modificação da superfície de carbono vítreo com nanoestrutura e nanoestrutura modificada com SAM. Já AA foi utilizada para observar o recobrimento do eletrodo

com as nanoestruturas, uma vez que a resposta voltamétrica do AA mostra um grande deslocamento de potencial de pico, para valores mais positivos, sobre ouro, em relação ao carbono vítreo. Assim, a resposta obtida sobre o eletrodo nanoestruturado pode ser atribuída exclusivamente à contribuição da superfície de carbono vítreo ainda exposta.

3.2. DETERMINAÇÃO DE DOPAMINA NAS DIFERENTES SUPERFÍCIES EM ESTUDO

Embora a literatura apresente diversos estudos envolvendo dopamina (DA) e ácido ascórbico (AA), ambos foram escolhidos como moléculas modelo, devido ao seu comportamento voltamétrico sobre os eletrodos envolvidos. A maior parte dos estudos existentes utiliza, como eletrólito suporte, soluções tampão fosfato com pH próximo de 7,0, condição esta aproximada àquelas presentes em meios biológicos. O objetivo deste trabalho não está relacionado com as condições biológicas e sim na resposta analítica dos compostos.

Antes de iniciar o estudo voltamétrico de DA, realizou-se medidas de voltametria cíclica sobre as 3 superfícies, para se estabelecer o intervalo de varredura deste composto, assim como o perfil voltamétrico apresentado por DA sobre as diferentes superfícies.

Figura 27: Perfil voltamétrico de DA com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre diferentes superfícies, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

De acordo com as medidas realizadas, observou-se que o comportamento eletroanalítico de DA sobre eletrodo composto de nanoestruturas de Au, sobrepõe ao perfil apresentado pelo eletrodo de Au convencional, demonstrando que embora as nanoestruturas apresentem tamanho nanométrico (altura em torno de 35 nm), ainda assim, apresenta o perfil voltamétrico característico de Au.

Determinado o perfil voltamétrico e o intervalo de varredura, realizou-se um estudo utilizando eletrodo de Au convencional, buscando as melhores condições de trabalho para DA.

Variando-se o pH da solução num intervalo de 1,45 a 7,00, pôde-se notar que em pH equivalente a 1,45, uma melhor corrente de pico é observada, bem como um perfil voltamétrico bem definido quanto á

oxidação e redução de DA. Sendo assim, optou-se trabalhar com solução de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 1,45), devido ao fato desta apresentar melhor corrente e melhor perfil voltamétrico, para DA.

Figura 28: Variação de pH de uma solução contendo DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , eletrodo de trabalho de Au.

Figura 29: Valores de corrente e potencial, em uma variação de pH de uma solução contendo DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , eletrodo de trabalho de Au.

Determinado o pH ótimo, realizou-se uma variação na velocidade de varredura para detecção de DA em meio ácido. É possível observar que à medida que se aumenta a velocidade de varredura, a corrente de pico aumenta gradativamente, sem apresentar grandes deformações no seu perfil voltamétrico.

Figura 30: Efeito da variação da velocidade de varredura na superfície do eletrodo de Au em uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, eletrodo de trabalho de Au.

Figura 31: Efeito da variação da velocidade de varredura na corrente de pico de uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + HClO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, eletrodo de trabalho de Au.

O comportamento voltamétrico da corrente de pico com a velocidade de varredura implica em um processo eletródico controlado pela transferência de carga, com pouca influência do transporte de massa. Esta condição está de acordo com o mecanismo sugerido para a oxidação da DA e exposto na Introdução deste trabalho.

Determinado o pH e a velocidade de varredura, realizou-se uma variação na concentração de DA, variação esta realizada sobre as diferentes superfícies em estudos, cujos comportamentos voltamétricos são apresentados a seguir.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Determinação de dopamina nas diferentes superfícies em estudo

Figura 32: Variação da concentração de DA em meio de H₂SO₄ 0,1 mol L⁻¹, velocidade de 100 mV s⁻¹ nas diferentes superfícies em estudo.

A variação de concentração de DA promoveu respostas bastante similares nos diferentes eletrodos sob estudo. A diferença mais significativa observada foram os interceptos diferentes de zero. Isto se deve, provavelmente, à dificuldade de se estabelecer linhas de base bem definidas para o cálculo das correntes de pico. Como os eletrodos de carbono vítreo e de nanoestruturas sobre carbono vítreo possuem resistências internas bastante elevadas, a inclinação dos perfis voltamétricos dificulta, em muito, a definição da linha de base. Assim, aquele que mais se aproxima de um perfil bem definido é o eletrodo de ouro, cujo intercepto é bastante próximo de zero. Assim, para uma utilização prática destas superfícies para a detecção de dopamina, mais esforços devem ser empregados para melhorar a resposta voltamétrica destes eletrodos.

As respostas voltamétricas mostradas na Figura 33 foram obtidos para misturas de AA com DA em meio ácido. Aqui, a concentração de AA foi variada em uma solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de 100 mV s^{-1} . Observa-se, conforme amplamente comentado na literatura, que os picos de oxidação de ambos se misturam, originando apenas um máximo anódico de corrente. Este comportamento foi observado para todas as três superfícies estudadas, sugerindo que as nanoestruturas não foram suficientes para aumentar a seletividade do eletrodo e, assim, separar ambos os processos eletródicos. Este comportamento é relativamente inusitado para o caso das nanoestruturas, já que vários artigos relatam um aumento na seletividade de um nanoeletrodo. Entretanto, pode-se associar esta baixa sensibilidade com o baixo recobrimento da superfície do carbono vítreo e à oxidação preferencial do AA sobre Carbono vítreo, que ocorre em potenciais menos positivos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Determinação de dopamina nas diferentes superfícies em estudo

Figura 33: Adição de AA em solução de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} + \text{H}_2\text{SO}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, velocidade de 100 mV s^{-1} , velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , nas diferentes superfícies em estudo.

3.3. DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (AA) NAS DIFERENTES SUPERFÍCIES EM ESTUDO

Em princípio, estudou-se o comportamento eletroquímico de AA sobre as diferentes superfícies, a fim de se evidenciar possíveis diferenças nos respectivos perfis voltamétricos, como aqueles apresentados na Figura 34 mostrada abaixo.

Figura 34: Perfil voltamétrico de Ácido Ascórbico $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre diferentes superfícies e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

É possível observar que independente da presença de nanoestrutura na superfície do substrato, o perfil voltamétrico de AA sobre eletrodos de Carbono vítreo liso ou modificado com as nanoestruturas são muito

semelhantes. Entretanto, também é evidente que, a corrente de pico do eletrodo constituído por nanoestruturas tem um valor inferior àquela apresentado pelo eletrodo de Carbono vítreo. Isto pode ser devido ao fato do AA responder preferencialmente sobre o substrato de Carbono vítreo, apresentando uma diferença de até 300 mV entre os valores de potenciais de pico sobre Carbono e sobre ouro. Assim, é possível empregar esta característica para se calcular o recobrimento da superfície do eletrodo de Carbono vítreo com nanopartículas de ouro, por meio da relação entre as correntes de pico observadas nos dois eletrodos.

Observe que, a diferença voltamétrica apresentada pelo eletrodo de carbono vítreo (substrato) e o eletrodo modificado (nanoestrutura) é caracterizada apenas pela diferença na intensidade de corrente de aproximadamente 110 μ A. Esta diferença de corrente, corresponde a um bloqueio da superfície de aproximadamente 43%. Ou seja, a superfície do substrato exposta corresponde a 57%. Estes cálculos foram utilizados anteriormente para se discutir a carga necessária para a formação das nanoestruturas observadas no AFM.

A oxidação de AA apresenta-se como um bom modelo para análise do recobrimento da superfície do substrato de carbono vítreo, devido a sua afinidade maior com esta superfície.

Embora, este trabalho não tenha como objetivo principal à análise eletroanalítica de AA, foram realizadas algumas otimizações de parâmetros para uma melhor resposta eletroanalítica.

Uma destas otimizações refere-se à variação da velocidade de varredura, apresentada na Figura 35.

Figura 35: Variação da velocidade de varredura sobre eletrodo de ouro convencional em uma solução de AA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ + H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

A velocidade de varredura exerceu um papel interessante na resposta do AA sobre eletrodos de Au. Até a velocidade de 70 mV/s , a corrente de oxidação cresceu linearmente como a velocidade. Entretanto, em 100 mV/s houve um deslocamento de potencial de pico para valores mais positivos e uma diminuição na taxa de aumento da corrente de pico. Isto, provavelmente, está associado com problemas cinéticos inerentes ao complexo mecanismo de oxidação do AA, conforme detalhado Introdução deste trabalho.

A seguir foi observada a influência da concentração de AA nos perfis voltamétricos sobre as superfícies em estudo. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 36, Pode-se observar que os perfis voltamétricos

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Determinação de ácido ascórbico nas diferentes superfícies em estudo

obtidos sobre os eletrodos de carbono vítreo, liso e recoberto com as nanoestrutura, apresentam-se muito mais semelhantes que aquele obtido sobre o eletrodo de ouro.

Figura 36: Variação da concentração de ácido ascórbico em meio de ácido perclórico, velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹, sobre as diferentes superfícies em estudo.

Novamente pode-se observar o afastamento do intercepto do valor esperado, ou seja, zero. Isto, novamente, pode ser associado com a resistência interna do eletrodo que, no caso do carbono vítreo, é bastante superior àquela observada no ouro. Esta resistência distorce o voltamograma dificultando, em muito, a definição da linha de base.

Neste ponto, deve-se comentar que nenhum dos eletrodos examinados aqui, mesmo aquele recoberto com nanoestruturas, é eficiente para a determinação de DA ou de AA em meio ácido, como mostrado nestes experimentos. Entretanto, pode-se considerar que este não foi o objetivo deste trabalho e a oxidação de DA e de AA foi utilizada apenas como ferramentas para a determinação do recobrimento da superfície de Carbono vítreo com nanoestruturas (já discutido anteriormente) e de formação do recobrimento destas nanoestruturas com a camada auto-

montada de tiol (a ser analisado no próximo item). Para estes papéis, as reações de oxidação funcionaram muito bem, ajudando a caracterizar o eletrodo nanoestruturado desenvolvido neste trabalho.

3.4. MODIFICAÇÃO DO ELETRODO DE OURO CONVENCIONAL E NANOESTRUTURADO COM SAM

Sabe-se que as monocamadas automontadas compostas de tióis, formam-se espontaneamente, por meio da ligação enxofre (S) – Ouro (Au), por imersão do eletrodo em uma solução de tiol. A formação de camadas automontadas ocorre por uma série de etapas. Inicialmente, as moléculas do tiol se adsorvem de maneira desorganizada, recobrindo apenas parcialmente a superfície do eletrodo de ouro. Com o aumento de recobrimento, as interações entre as moléculas adsorvidas (repulsões) forçam-nas a se estabilizar em uma posição vertical, em relação à superfície. Com isto, o recobrimento aumenta muito, chegando a ocultar, completamente, a superfície do eletrodo. Este processo demanda um longo tempo para sua efetivação. Assim, a imersão do eletrodo na solução por tempos variados é comum.

A camada de tiol foi formada pela inserção do eletrodo de ouro e nanoestruturado em solução de tiol $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ dissolvido em etanol PA por aproximadamente 30 horas.

Sobre eletrodos de ouro liso, a formação de camadas automontadas pode ser diagnosticada pelo seu comportamento voltamétrico em meio ácido. Conforme a superfície vai sendo recoberta, os picos e platôs associados à formação e redução dos óxidos superficiais vão diminuindo, até encontrarem-se totalmente inibidos, quando a formação da automontada é completa. Entretanto, conforme já analisado na Figura 25, as nanoestruturas não apresentam os picos típicos de formação e redução dos

óxidos de ouro. Assim, é necessário um outro critério de diagnóstico para detectar a formação da camada automontada.

Este critério pode ser estipulado analisando o comportamento voltamétrico da dopamina sobre os eletrodos de ouro liso e com a camada automontada.

Os perfis voltamétricos do eletrodo de Au com e sem modificação (para as diferentes soluções de cistamina) são apresentados na Figura 37 abaixo.

Figura 37: Perfil voltamétrico do eletrodo de Au convencional modificado com cistamina, medidas realizadas em meio de ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹ e velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.

Nota-se que os picos referentes à oxidação e redução do óxido de ouro foram inibidos quando o eletrodo foi modificado com SAM, caracterizando desta forma, o bloqueio da superfície eletroativa do eletrodo com as camadas auto-organizadas.

Figura 38: Voltamograma cíclico de solução contendo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, sobre eletrodo de Au convencional com e sem modificação.

Medidas utilizando solução contendo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ em H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ como demonstrado na Figura 38 também demonstram a modificação da superfície do eletrodo. O comportamento do par redox apresenta-se reversível, com picos de oxidação e redução definidos e apresentando uma diferença de potencial entre os picos de oxidação e redução de aproximadamente 75 mV. Já sobre o eletrodo modificado com

SAM, o perfil voltamétrico obtido demonstra uma grande inibição nas correntes e um formato sigmoidal, característico de ultramicroeletrodos.

Isto provavelmente ocorre devido ao fato da camada não recobrir totalmente o eletrodo, surgindo desta forma, lacunas sem ligação com a camada, fazendo com que o eletrodo convencional comporte-se como um arranjo de ultramicroeletrodos.

As duas medidas anteriores foram realizadas sobre eletrodos imersos em solução de SAM por aproximadamente 36 horas. Foi observado que, tempos inferiores a este os efeitos do recobrimento são menores, evidenciando um menor grau de recobrimento com a camada automontada.

3.5. DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO E DOPAMINA UTILIZANDO ELETRODOS DE Au CONVENCIONAL E NANOESTRUTURADO MODIFICADOS COM SAM

Foram realizadas medidas voltamétricas para a determinação de ácido ascórbico e dopamina, individualmente e simultaneamente, utilizando eletrodos de ouro liso e modificado com camadas automontadas de Cistamina e de ácido 3,3' – ditiopropionico, otimizando, desta forma as melhores condições para a determinação de DA em presença de AA, tal comportamento é observado na Figura 39.

Figura 39: Perfil voltamétrico de AA, DA e AA+DA em meio de ácido perclórico 0,1 mol L⁻¹, sobre eletrodo de Au convencional modificado com dihidrocloreto de Cistamina com velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹.

Observa-se que, de acordo com o perfil voltamétrico obtido neste meio fortemente ácido, a mistura de DA e AA apresenta dois picos de corrente no eletrodo modificado com cistamina (Figura 38), que de acordo com as sobreposições, devem corresponder às respostas voltamétricas de ácido ascórbico e dopamina. Por outro lado, sobre o eletrodo modificado com ácido ditiopropionico não ocorre a separação do sinal analítico de AA e DA, conforme observado na Figura 40.

Figura 40: Perfil voltamétrico de AA, DA e AA+DA em meio de ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodo de Au convencional modificado com ácido 3,3'-ditiopropionico com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

A falta de resposta da camada automontada de ácido 3,3'-ditiopropiônico está, provavelmente, associada à protonação das espécies

envolvidas, neste meio fortemente ácido. Nestas condições experimentais, a camada automontada de cistamina se apresentou com mais seletividade para estas determinações.

Assim, foram realizadas medidas eletroanalíticas de DA e AA sobre eletrodo de nanoestruturas de ouro modificadas com SAM composta de cistamina, isoladamente, cujos resultados podem ser observados na Figura 41.

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Determinação de ácido ascórbico e dopamina utilizando eletrodos de Au convencional e nanoestruturado com SAM

Figura 41: Variação na concentração de AA e DA utilizando eletrodo de nanoestrutura de ouro modificada com SAM e voltametria cíclica, velocidade de 100 mV s⁻¹, eletrólito ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹.

As variações de concentração demonstram que a determinação eletroanalítica de AA e DA, utilizando eletrodos de nanoestruturas de ouro modificadas com SAM apresentam boa linearidade, embora ainda apresentem valores de intercepto muito diferentes de zero, demonstrando os efeitos, já discutidos de resistência interna.

Entretanto, seguindo os objetivos específicos deste trabalho, os comportamentos eletroquímicos de ácido ascórbico e dopamina, foram avaliados utilizando os eletrodos de ouro convencional e de nanoestruturas de cistamina. As medidas realizadas com estes eletrodos foram comparadas àquelas realizadas anteriormente com eletrodos sem camadas auto-organizadas.

Figura 42: Perfil voltamétrico de uma solução de AA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, sobre eletrodos sem e com SAM de cistamina (eletrodo nanoestruturado de Au com e sem modificação, Au convencional com e sem modificação e carbono vítreo).

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Determinação de ácido ascórbico e dopamina
utilizando eletrodos de Au convencional e
nanoestruturado com SAM

Observou-se que, para o ácido ascórbico, o eletrodo formado de nanoestruturas de ouro apresenta potencial de oxidação semelhante ao apresentado pelo substrato (carbono vítreo), ao se modificar este eletrodo com camadas auto-arranjadas, passa a apresentar um potencial de oxidação intermediário, ou seja, um potencial entre o apresentado pelo eletrodo de ouro convencional modificado com SAM e carbono vítreo.

Isto demonstra que a oxidação de ácido ascórbico ocorre sobre as duas superfícies. O ácido ascórbico demonstrou-se, nestas condições experimentais, como sendo um ótimo analito para a comprovação do recobrimento superficial na modificação do eletrodo de Carbono vítreo com nanoestruturas de ouro, mas uma péssima escolha para comprovar a formação das camadas automontadas sobre as nanoestruturas.

Figura 43: Perfil voltamétrico de DA $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em meio de ácido sulfúrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} , sobre eletrodos sem e com SAM de cistamina (eletrodo nanoestruturado de Au com e sem modificação e Au convencional com e sem modificação).

Já a variação do comportamento voltamétrico de DA sobre os eletrodos de Au e de nanoestruturas de Au, lisos ou modificados com a camada automontada de cistamina foi determinante como critério de diagnóstico para a formação desta camada automontada. De fato, os resultados apresentados na Figura 43 acima, constituem-se numa das mais importantes colaborações deste trabalho.

Nesta Figura 43, observa-se que os potenciais dos picos de oxidação para a dopamina, nestas condições experimentais, dividiram-se em dois conjuntos bem definidos. Sem a camada automontada, os picos de oxidação da dopamina apresentam-se em $0,8 \text{ V}$, para ambas as superfícies. Já para os

RESULTADOS E DISCUSSÃO – Determinação de ácido ascórbico e dopamina
utilizando eletrodos de Au convencional e
nanoestruturado com SAM

eletrodos modificados com a SAM, estes picos se deslocaram para 0,6 V. Este deslocamento se constitui, assim, num excelente critério de diagnóstico para a formação da camada automontada sobre as nanoestruturas, substituindo o perfil voltamétrico do eletrodo convencional em meio ácido.

4. CONCLUSÕES

Este trabalho demonstra a possibilidade de se formar nanoestruturas de ouro por intermédio da voltametria de varredura linear, de forma que estas apresentem dimensões nanométricas.

Demonstra também a possibilidade de se modificar nanoestruturas de ouro com camadas auto-organizadas (SAM), de forma que estas apresentem respostas voltamétricas semelhantes às apresentadas por eletrodos de ouro convencional.

Além disto, este trabalho apresentou um critério de caracterização eletroquímica para as superfícies de carbono vítreo modificadas com as nanoestruturas de Au e também para a modificação destas nanoestruturas com as camadas auto-organizadas. Pela oxidação eletroquímica do ácido ascórbico, bastante seletivo quanto à superfície, o recobrimento com nanoestruturas pôde ser avaliado, possibilitando uma discussão quantitativa das cargas de deposição.

Por outro lado, a oxidação eletroquímica da dopamina mostrou-se bastante seletiva quanto à presença da camada auto-organizada, constituindo-se em um excelente critério a ser utilizado, quando as características superficiais do substrato não estiverem disponíveis.

Assim, aplicando-se esta metodologia tipo “bottom-up” para a deposição eletroquímica, foi possível desenvolver e caracterizar uma superfície nanoestruturada de ouro, modificada com camadas automontadas de cistamina, pronta para receber a imobilização de enzimas ou outros agentes biológicos e converter-se em nanobiossensores, com suas diferentes aplicações.

5. TRABALHOS FUTUROS

A continuação lógica deste trabalho envolve a imobilização de espécies na superfície das nanoestruturas modificadas com camadas automontadas, tornando-as diferentes nanobiossensores e aplicá-los na determinação de espécies de interesse.

Assim, as próximas etapas deste trabalho deverão deixar a engenharia interfacial e se tornar muito mais analíticas.

As espécies a serem imobilizadas nestas superfícies podem ser as mais diversas possíveis e, neste momento, no Grupo de Materiais Eletroquímicos e Métodos Eletroanalíticos, existem trabalhos sendo conduzidos para a imobilização da enzima acetilcolinesterase sobre estas superfícies.

5. REFERÊNCIAS

- 1 L. He, A. F. Dexter, A. P.J. Middelberg, “Biomolecular engineering at interfaces”, *Chemical Engineering Science*, **61** (2006), p. 989-1003
- 2 A. Kucernak, J. Jiang, “Mesoporous platinum as a catalyst for oxygen electroreduction and methanol electrooxidation”, *Chemical Engineering Journal*, **93** (2003), p. 81-90.
- 3 W. Chen, S. G. Sun, Z.Y. Zhou, S. P. Chen, “IR optical properties of Pt nanoparticles and their agglomerates investigated by in situ FTIRS using CO as the probe molecule”, *Journal of Physical Chemistry B*, **107** (2003), p. 9808-9812.

- 4 J. Jiang, A. Kucernak, "Electrooxidation of small organic molecules on mesoporous precious metal catalysts II: CO and methanol on platinum-ruthenium alloy", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **543** (2003), p. 187-199.

- 5 O. V. Cherstiouk, P. A. Simonov, A. L. Chuvilin, E. R. Savinova, "Model approach to evaluate particle size effects in electrocatalysis: preparation and properties of Pt nanoparticles supported on GC and HOPG", *Electrochimica Acta*, **48** (2003), p. 3851-3860.

- 6 R. Birringer, H. Gleiter, in: H. Haberland (Ed.), Clusters of Atoms and Molecules II, *Springer Series in Chemical Physics*, **56** (1994), p. 384.

- 7 H. Gleiter, "Materials with Unique Microstructures: Retrospectives and Perspectives", *Nanostructured Materials*: **1** (1992) p. 1-.

- 8 Y. Y. Yu, S. S. Chang, C. L. Lee, C. R. C. Wang, "Gold nanorods: Electrochemical synthesis and optical properties", *Journal of Physical Chemistry B*, **101** (1997), p. 6661-6664.

- 9 Z. Zhong, K. B. Male, J. H. T. Luong, "More Recent Progress in the preparation of Au nanostructure, properties, and applications", *Analytical Letters*, **36** (2003), p. 3097-3118.

- 10 R. M. Bright, D. G. Walter, M. D. Musick, M. A. Jackson, K. J. Allison, M. J. Natan, “Chemical and electrochemical Ag deposition onto preformed Au colloid monolayers: Approaches to uniformly-sized surface features with Ag-like optical properties”, *Langmuir*, **12** (1996), p. 810-817.

- 11 S. Q. Hu, J. W. Xie, Q. H. Xu, K. T. Rong, G. L. Shen, R. Q. Yu, “A label-free electrochemical immunosensor based on gold nanoparticles for detection of paraoxon”, *Talanta*, **61** (2003), p. 769-777.

- 12 R. Elghanian, J. J. Storhoff, R. C. Mucic, R. L. Letsinger, C. A. Mirkin, “Selective colorimetric detection of polynucleotides based on the distance-dependent optical properties of gold nanoparticles”, *Science*, **277** (1977), p. 1078-1081.

- 13 T. A. Taton, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, “Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes”, *Science*, **289** (2000), p. 1757-1760.

- 14 M. O. Finot, G. D. Braybrook, M. T. McDermott, “Characterization of electrochemically deposited gold nanocrystals on glassy carbon electrodes”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **466** (1999), p. 234-241.

- 15 S. Liu, D. Leech, H. Ju, “Application of colloidal gold in protein immobilization, electron transfer, an biosensing”, *Analytical Letters*, **36** (2003), p. 1-19.
- 16 C. J. Zhong, W. X. Zheng, F. L. Leibowitz, “Electrode nanomaterials self-assembled from thiolate-encapsulated gold nanocrystals”, *Electrochemistry communications*, **1** (1999), p. 72-77.
- 17 Site
<http://www.rossetti.eti.br/dicuser/detalhe.asp?vini=1&vfim=1&offset=24>, visitado dia 07/02/2005.
- 18 Site
http://www.lafepe.pe.gov.br/medicamentos/medicamentos/vitaminas/vitamina_c.php, visitado dia 07/02/2005.
- 19 P. Karabinas, D. Jannakoudakis, “Kinetic parameters and mechanism of the electrochemical oxidation of L-Ascorbic Acid on platinum electrodes in acid solutions”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **160** (1984), p. 159-167.
- 20 A. Aldaz, A. M. Alquie, “Production of a radical in electrochemical oxidation of L-Ascorbic-acid on different electrodes”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **47** (1973), p. 532-534.

- 21 K. Takamura, M. Sakamoto, "Catalytic effects of metal-ions on the anodic-oxidation of ascorbic-acid at a platinum-electrode", *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 27 (1979), p. 254-257.

- 22 C. Acerete, I. Garrigos, L. Guilleme, E. Diez, A. Aldaz, "Application of c-13 nmr-spectroscopy to the elucidation of the electrochemical oxidation mechanism of the l-ascorbic and d-araboascorbic acids", *Electrochimica Acta*, **26** (1981), p. 1041-1045.

- 23 P. Karabinas, J. Heitbaum, "Anodic-oxidation of hydrazine derivatives on platinum in acid electrolytes .1. phenylhydrazine ", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **65** (1975), p. 689-702.

- 24 H. Gerischer, W. Vielstich, in: P. Karabinas, D. Jannakoudakis, "Kinetic parameters and mechanism of the electrochemical oxidation of L-Ascorbic Acid on platinum electrodes in acid solutions", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **160** (1984), p. 159-167.

- 25 I. M. Kolthoff, J. J. Lungane, *Polagraphy*, 2nd edn, Interscience, New York, 1952, Vol. II, p. 729.

- 26 W. G. Levich, in: P. Karabinas, D. Jannakoudakis, "Kinetic parameters and mechanism of the electrochemical oxidation of L-Ascorbic Acid on platinum electrodes in acid solutions", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **160** (1984), p. 159-167.

- 27 D. P. Gregory, A. C. Riddiford, *Journal of the Chemical Society*, (1959), p. 3756 in: P. Karabinas, J. Heitbaum, "Anodic-oxidation of hydrazine derivatives on platinum in acid electrolytes .1. phenylhydrazine ", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **65** (1975), p. 689-702 .

- 28 R. S. Nicholson, I. Shain, "Theory of stationary electrode polarography - single scan + cyclic methods applied to reversible irreversible + kinetic systems", *Analytical Chemistry*, **36** (1964), p. 706-&.

- 29 A. Aldaz, A. M. Alque, "Production of a radical in electrochemical oxidation of l-ascorbic-acid on different electrodes", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **47** (1973), p. 532-534.

- 30 I. Yamazaki, H. S. Mason, L. H. Piette, "Identification, by electron paramagnetic resonance spectroscopy, of free radicals generated from substrates by peroxidase", *Journal of Biological Chemistry*, **235** (1960), p. 2444-2449.

- 31 G. P. Laroff, R. W. Fessenden, R. H. Schuler, "Electron spin resonance spectra of radical intermediates in the oxidation of ascorbic acid and related substances", *Journal of the American Chemical Society*, **94** (1972), p. 9062-9073.

- 32 S. Berger, "Vitamin-c - c-13 magnetic-resonance study", *Tetrahedron*, **33** (1977), p. 1587-1589.

REFERÊNCIAS

- 33 Site: <http://uvnt.universidadevirtual.br/vet/circcorfarm2.html>, visitado dia 07/02/2005.
- 34 Site: <http://www.cerebromente.org.br/n08/doencas/drugs/animrecap.htm>, visualizada dia 07/02/2005.
- 35 R. C. Matos, L. Angnes, “Determinação simultânea de ácido ascórbico e dopamina usando eletrodo de ouro, calibração multivariada e voltametria de pulso diferencial”, trabalho apresentado na 23^a Reunião Anual da SBQ.
- 36 E. Winter, L. Codognoto, S. Rath, “Electrochemical Behavior of Dopamine in the Presence of Citrate: Reaction Mechanism”, *Electrochimica Acta*, **51** (2006) p.1282-1288.
- 37 S. Shahrokhian, S. Bozorgzadeh, “Electrochemical Oxidation of Dopamine in the Presence of Sulfhydryl Compounds: Application to the Square Wave Voltammetric Detection of Penicillamine and Cysteine”, *Electrochimica Acta*, **51** (2006) p.4271-4276.
- 38 A. Dalmia, C. C. Liu, R. F. Savinell, “Electrochemical Behavior of Gold Electrode Modified With Self-Assembled Monolayers with an Acidic End Group for Selective Detection of Dopamine”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **430** (1997) p.205-214.

- 39 Q. Wang, N. Jiang, N. Li, “Electrocatalytic Response of Dopamine at a Thiolactic Acid Self-Assembled Gold Electrode”, *Microchemical Journal* **68** (2001) p.77-85.
- 40 R. K. Shervedani, M. Bagherzadeh, S. A. Mozaffari, “Determination of Dopamine in the Presence of High Concentration of Ascorbic Acid by Using Gold Cysteamine Self-Assembled Monolayers as a Nanosensor”, *Sensors and Actuators B*, **115** (2006) p.614-621.
- 41 R. S. Freire, C. A. Pessoa, L. T. Kubota, “Emprego de monocamadas auto-organizadas no desenvolvimento de sensores eletroquímicos”, *Química Nova*, **26** (2003), p. 381-389.
- 42 R. Maoz, L. Netzer, J. Gun, J. Sagiv, in: L. G. Paterno, L. H. C. Mattoso, O. N. de Oliveira Jr., “Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: Preparação, propriedades e aplicações”, *Química Nova*, **24** (2001), p. 228-235.
- 43 L. G. Paterno, L. H. C. Mattoso, O. N. de Oliveira Jr., “Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: Preparação, propriedades e aplicações”, *Química Nova*, **24** (2001), p. 228-235.
- 44 R. K. Smith, P. A. Lewis, P. S. Weiss, “Review: Patterning self-assembled monolayers”, *Progress in Surface Science*, **75** (2004), p. 1-68.

- 45 J. Liao, Y. Zhang, W. Yu, L. Xu, C. Ge, J. Liu, N. Gu, “Linear aggregation of gold nanoparticles in ethanol”, *Colloids and Surface A: Physicochemical Engineering Aspects*, **223**, (2003), p. 177-183.

- 46 M. S. El-Deab, T. Ohsaka, “Electrocatalysis by nanoparticles: oxygen reduction on gold nanoparticles-electrodeposited platinum electrodes”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **553** (2003), p. 107-115.

- 47 A. Franceschetti, S. J. Pennycook, S. T. Pantelides, “Oxygen chemisorption on Au nanoparticles”, *Chemical Physics Letters*, **374**, (2003), p. 471-475.

- 48 M. O. Finot, M. T. McDermott, “Characterization of n-alkanethiolate monolayers adsorbed to electrochemically deposited gold nanocrystals on glassy carbon electrodes”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **488** (2000), p. 125-132.

- 49 C. R. Raj, K. Tokuda, T. Ohsaka, “Electroanalytical applications of cationic self-assembled monolayers: square-wave voltammetric determination of dopamine and ascorbate”, *Bioelectrochemistry*, **53** (2001), p. 183-191.

- 50 C. R. Raj, T. Ohsaka, “Electroanalysis of ascorbate and dopamine at a gold electrode modified with a positively charged self-assembled monolayer”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **496** (2001), p. 44-49.
- 51 C. R. Raj e T. Ohsaka, “Analytical applications of functionalized self-assembled monolayers on gold electrode: voltammetric sensing of DOPAC at the physiological level”, *Electroanalysis*, **14** (2002), p. 679-684.
- 52 C. R. Raj, T. Okajima, T. Ohsaka, “Gold nanoparticle arrays for the voltammetric sensing of dopamine”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **543** (2003), p. 127-133.
- 53 T. M. Vergheese, S. Berchmans, “ Bio-inspired of dopamine versus ascorbic acid”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **570** (2004), p. 35-46.
- 54 C. R. Raj, T. Ohsaka, “Voltammetric detection of uric acid in the presence of ascorbic acid at a gold electrode modified with a self-assembled monolayer of heteroaromatic thiol”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **540** (2003), p. 69-77.

- 55 T. Hinoue, N. Kuwamoto, I. Watanabe, "Voltammetry using an electrode surface continuously renewed by laser ablation and its demonstration on electro-oxidation of L-ascorbic acid", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **466** (1999), p. 31-37.

- 56 A. Dalmia, C. C. Liu, R. F. Savinell, "Electrochemical behavior of gold electrodes modified with self-assembled monolayers with an acidic end group for selective detection of dopamine", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **430** (1997), p. 205-214.

- 57 Z. Gao, K. S. Siow, A. Ng, Y. Zhang, "Determination of ascorbic acid in a mixture of ascorbic acid and uric acid at a chemically modified electrode", *Analytica Chimica Acta*, **343** (1997), p. 49-57.

- 58 M. I. Manzanares, V. Solís, R. H. de Rossi, "Effect of cyclodextrins on the electrochemical behavior of ascorbic acid on gold electrodes", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **407** (1996), p. 141-147.

- 59 X. L. Wen, Y. H. Jia, Z. L. Liu, "Micellar effects on the electrochemistry of dopamine and its selective detection in the presence of ascorbic acid", *Talanta*, **50** (1999), p. 1027-1033.

- 60 M. Zhang, K. Gong, H. Zhang, L. Mao, "Layer-by-layer assembled carbon nanotubes for selective determination of dopamine in the presence of ascorbic acid", *Biosensor and Bioelectronics*, **20** (2005), p. 1270-1276.

- 61 L. O. Lu, S. Q. Wang, X. Q. Lin, “Fabrication of layer-by-layer deposited multilayer films containing DNA and gold nanoparticles for norepinephrine biosensor”, *Analytica Chimica Acta*, **519** (2004), p. 161-166.
- 62 R. S. Freire, L. T. Kubota, “Application of self-assembled monolayer-based electrode for voltammetric determination of copper”, *Electrochimica Acta*, **49**, (2004), p. 3795-36800.
- 63 C. J. Evans, G. P. Nicholson, “A self-assembled electrochemical sensor for uranium”, *Sensors and Actuators B*, **105**, (2005), p. 204-207.
- 64 C. M. P. Vaz, “Metodologia Eletroanalítica para Medida de Atrazina em Águas e Solução de Solos”, Piracicaba, 1994. 97p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo.
- 65 M. R. da C. Massaropi. “Aplicação da Voltametria de Onda Quadrada no Estudo do Comportamento Eletroanalítico do Herbicida Picloram”, São Carlos, 1999. 67p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- 66 E. A. Ticianelli, E. R. Gonzalez, “**Eletroquímica**: princípios e aplicações”, São Paulo, EDUSP, 1998. 220p.

- 67 S. T. Tanimoto. “Comportamento eletroquímico e eletroanalítico do O,O-Dimetil O-(3-Metil-4-Nitrofenol) Fosforotionato (Fenitrothion)”, São Carlos 2002. 91p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- 68 W. R. Heineman, P. T. Kissinger, “Cyclic Voltammetry: Electrochemical equivalent of spectroscopy”, **American Laboratory**, v.11, p.29-38, 1982.
- 69 R. Greef, R. Peat, L. M. Peter, D. Pletcher, J. Robinson, “**Instrumental Methods in Electrochemistry**”, Southampton Electrochemistry Group, Ellis Horwood Ltd., Chichester, Inglaterra, p.179-228, 1985.
- 70 R. T. S. de Oliveira Jr. “Determinação dos Inseticidas Diclorvos e Triclorfon por meio de Voltametria de Onda Quadrada”, São Carlos 2000. 91p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- 71 A. Manzoli, “Análise eletrogravimétrica da deposição e da dissolução da liga Cu:Ni”, São Carlos, 2003.145p. Tese (Doutorado), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos.
- 72 “The Discovery of Fullerenes”, site:
<http://www.seed.slb.com/pt/watch/fullerenes/spectro.htm>, visitado dia 21/04/2005.

REFERÊNCIAS

73 “Microscópio eletrônico de varredura”, site:

<http://www.degeo.ufop.br/laboratorios/microlab/mev.htm>, visitado dia 15/02/2005.

74 “Centro de Microscopia eletrônica”, site:

<http://www.fc.ul.pt/centros/microscopia/>, visitado dia 18/03/2005.

75 S. I. Zanette, A. O. Caride, “As novas imagens da matéria”, *Ciência hoje*, **27**, (2000), p. 32-38.

76 A. M. Maliska, “Microscopia eletrônica de varredura”, Laboratório de Materiais – LBMAT e Laboratório de caracterização microestrutural e análise de imagens – LCMAI, Departamento de Engenharia de Mecânica – EMC, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, obtido no site: www.materiais.ufsc.br/lcm/web-mev/mev_index.htm, visitado dia 21/03/2005.

77 C. A. Rodrigues, “Aplicações de processamento e análise avançada de imagens para a caracterização de imagens de microscopia de força atômica”, São Carlos, 2003, 139 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo.

- 78 C. A. R. Costa, “Estudos de nanorrugosidades em superfícies de eletrodos sólidos, utilizando microscopia de varredura por sonda”, São Carlos, 2000, 133 p. Dissertação (Mestrado) – Interunidade e Ciência e Engenharia de Materiais da EESC, IFSC e IQSC – Universidade de São Paulo.
- 79 P. A. Maurice, “Applications of atomic-force microscopy in environmental colloid and surface chemistry”, *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects*, **107** (1996), p.57-75.
- 80 G. Binnig, C. F. Quate and Ch. Gerber, “ Atomic Force Microscopy”, *Physical Review Letters*, **56** (1986), p. 930-933.
- 81 Site: http://www.fis.puc-rio.br/fis_intr/microscopia/AFM.html, visitado dia 25/02/2005.
- 82 F. Ohnesorge and G. Binning, “ True Atomic-resolution by atomic force microscopy through repulsive and attractive forces”, *Science*, **260** (1993), p. 1451-1456.
- 83 W. A. Ducker, T. J. Senden and R. M. Pashley, “Direct measurement of colloidal forces using an atomic force microscope”, *Nature* **353** (1991), p.239-241.

- 84 W. A. Ducker, T. J. Senden and R. M. Pashley, “Measurement of forces in liquids using a force microscope”, *Langmuir* **8** (1992), p. 1831-1836.

- 85 A. L. Weisenhorn, P. Maivald, H. J. Butt and P. K. Hansma, “Measuring adhesion, attraction, and repulsion between surfaces in liquids with an atomic force microscope”, *Physical Review B*, **45** (1992), p. 11226-11232.

- 86 P. E. Hillner, A. J. Gratz, S. Manne and P. K. Hansma, “Atomic-scale imaging of calcite growth and dissolution in real time”, *Geology* **20** (1992), p. 359-362.

- 87 P. E. Hillner, S. Manne, A. J. Gratz and P. K. Hansma, “AFM images of dissolution and growth on a calcite crystal”, *Ultramicroscopy* **42-44** (1992), p.1387-1393.

- 88 P. M. Dove and M. F. Hochella Jr., “Calcite precipitation mechanism and inhibition by orthophosphate – in situ observations by scanning force microscopy”, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **57** (1993), p.705-714.

- 89 A. A. Bukharaev, N. I. Nurgazizov, A. A. Mozhanova and D. V. Ovchinnikov, “AFM investigation of selective etching mechanism of nanostructured silica”, *Surface Science* **482** (2001), p. 1319-1324.

- 90 H. Bloess, G. Staikov and J. W. Schultze, “AFM induced formation of SiO₂ structures in the electrochemical nanocell”, *Electrochimica Acta* **47** (2001), p. 335-344.
- 91 Topometrix Visualizing the micro world Explorer Instrument Operation Manual.
- 92 G. Ceotto Filho, “Medidas do perfil da permissividade elétrica em interfaces sólido-líquido, usando microscopia de força atômica”, Campinas, 2001, 125p., Tese (Doutorado) – Instituto de Física “Gleb Wataghin” – Universidade Estadual de Campinas.
- 93 R. Woods, “Hydrogen and Oxygen on Noble Metals and Their Alloys”, in A. J. Bard (Ed.) *Electroanalytical Chemistry*, **Vol. 9**, Marcel Dekker, Nova Iorque, 1976.