

UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**ESTUDO DAS PROPRIEDADES DIELÉTRICAS E DE BLOQUEIO DAS
MONOCAMADAS AUTOMONTADAS**

TIAGO AZEVEDO BENITES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO 2013

TIAGO AZEVEDO BENITES

**Estudo Das Propriedades Dielétricas E De Bloqueio Das Monocamadas
Automontadas**

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Bueno

Co-orientador: Prof. Dr. Márcio Sousa Góes

Araraquara

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Benites, Tiago Azevedo

B467e Estudo das propriedades dielétricas e de bloqueio das
monocamadas automontadas / Tiago Azevedo Benites. –

Araraquara : [s.n], 2013

108 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Química

Orientador: Paulo Roberto Bueno

Coorientador: Márcio de Sousa Góes

1. Biotecnologia. 2. Monocamadas automontadas.
3. Constante cinética. 4. Impedância. 5. Capacitância. I. Título.

TIAGO AZEVEDO BENITES

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual Paulista,
como parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Biotecnologia.

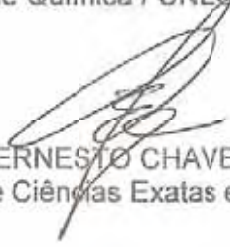
Araraquara, 16 de agosto de 2013.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. PAULO ROBERTO BUENO (Orientador)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara

Antônio Ap. Pupim Ferreira
Dr. ANTÔNIO APARECIDO PUPIM FERREIRA
Instituto de Química / UNESP / Araraquara



Prof. Dr. ERNESTO CHAVES PEREIRA DE SOUZA
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia / UFSCAR / São Carlos.

A Deus, pois sou cristão e creio que tudo devemos ao ser onipotente e onipresente criador de todas as coisas. Aos meus pais, Edna Maria Lima Azevedo e Francisco José Benites Enciso, à minha irmã, Thais Azevedo Benites, à minha Noiva, Brennda Valléria do R. Freire, aos meus amigos Flávio C. Bedatty, Denise C. Martins, Ismael Miranda, Anayza Bittencourt, Maricely U. Toro e, em especial, aos meus orientadores Prof. Dr. Paulo Roberto Bueno e Prof. Dr. Márcio de Sousa Góes, por em algum ou todos os momentos estarem presentes e participarem diretamente para que eu chegasse até esse ponto, dedico.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pois sou crente em sua existência e creio que tudo devemos aquele que tudo nos provê. Agradeço de todo coração aos meus pais, Edna Azevedo e Francisco Benites, pois esses foram os precursores de minha existência e manutenção de minha vida, proveram não somente meu sustento financeiro, mas o moral e ético; agradeço à minha irmã Thais, pois sempre me escutou e me apoiou, teve sempre confiança em mim; agradeço com muito carinho a minha noiva Brennda Freire, pois esteve comigo nos momentos fáceis e difíceis sempre foi parceira, me apoiou, acreditou em mim, não me deixou fraquejar, cuidou sempre de mim em todos os instantes dessa jornada, agradeço aos meus amigos incondicionais que fiz nessa cidade Ismael, Flávio, Denise que estiveram comigo desde o início, preocuparam-se comigo, me auxiliaram nos momentos que precisei foram e são grandes amigos, agradeço à Anayza, Maricelly, Vani, pois foram as pessoas que me ajudaram na minha chegada, foram extremamente generosas, acreditaram em mim e foram os pivôs de meu ingresso no programa agradeço ainda aos meus parentes e amigos que em algum ou todos os momentos participaram da minha vida e dessa jornada agradeço a CAPES, pois, somente graças a seu fomento financeiro que tive a capacidade de chegar até essa etapa agradeço ao programa de pós-graduação em biotecnologia e a UNESP, pois possibilitaram o meu desenvolvimento intelectual com sua estrutura e organização. Agradeço especialmente ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Roberto Bueno, pois acreditou em mim desde o início, me motivou sempre que precisei, soube esclarecer meus erros e valorizou meus acertos, teve muita paciência, foi humano, fez sempre o máximo para prover minhas necessidades com relação a esse trabalho, me direcionou e me orientou e sempre esteve presente nos momentos de alegria comemorando conosco, obrigado, por fim, agradeço principalmente ao meu co-orientador, meu mestre, um espelho para mim, Prof. Dr. Márcio de Sousa Góes, pois compreendeu perfeitamente toda minha situação desde o momento em que cheguei até o fim, me auxiliou em todos os momentos desse trabalho e dessa jornada, soube ser duro nos momentos em que fiz corpo mole, soube ser amigo nos momentos em que fraquejei, sempre me aplaudiu quando tive sucesso, me alertou e orientou quando me exaltei, teve MUITA paciência (muita mesmo) com minha ignorância e, por vezes, imaturidade e inexperiência, foi e sempre será um verdadeiro amigo e se pudesse resumir em uma palavra foi um pai,

Márcio não conseguirei nem em uma nem em muitas nem em todas as palavras expressar minha eterna gratidão a você, nunca esquecerei, obrigado.

*Quando ouvi o sábio astrônomo;
Quando as provas, as figuras, foram ajeitadas em colunas perante a mim;
Quando me mostraram os gráficos e diagramas, para somar, dividir e medi-los.
Quando eu, sentado, ouvi o astrônomo, onde ele dizia com muitos aplausos na sala
de palestras;
Tão cedo, inexplicavelmente, fiquei cheio e cansado;
Até me levantar e sair dali, eu vaguei sozinho, no ar místico e úmido da noite, e de
tempos em tempos, olhava para cima em completo silêncio, para as estrelas."*

Walt Whitman

Resumo

O estudo das propriedades dielétricas das monocamadas automontadas de alcanotóis sobre o ouro (SAMs) é importante no campo da biotecnologia, já que essas camadas proporcionam uma estrutura fundamental na construção dos eletrodos quimicamente modificados, com sua principal aplicação na confecção dos biossensores. A análise das propriedades de bloqueio pelas SAMs é frequentemente feita por meio de técnicas eletroquímicas e de resposta em frequência, pois são extremamente eficazes no entendimento das características físico-químicas interfaciais de modificação desses filmes, além de apresentarem praticidade e velocidade de realização. Uma forma bastante apropriada de analisar a capacidade dielétrica das SAMs é quantificando a velocidade de transferência eletrônica frente a uma espécie eletroativa. Nesse trabalho foram caracterizadas monocamadas de diferentes espessuras em um meio com espécie eletroativa em concentrações variadas, a partir do cálculo da constante de transferência heterogênea de elétrons, feitas pelas metodologias propostas por diferentes autores e por uma metodologia inédita que será detalhada no corpo do trabalho.

Palavras chave: Monocamadas automontadas. Constante heterogênea de transferência de elétrons. Espectroscopia de impedância e/ou de capacitância eletroquímica.

Abstract

The study of the dielectric properties of self-assembled monolayers of alkanethiols on gold (SAMs) is of paramount importance to biotechnology, as these layers provide a fundamental structure in the construction of chemically modified electrodes, with its main application in fabrication of biosensors. The analysis of the blocking properties of SAMs is often done by electroanalytical techniques and frequency response, as they are extremely effective in understanding the physico-chemical interfacial modification of these films, and offer convenience and speed of execution. A very appropriate manner of evaluating the blocking ability of SAMs is quantifying dielectric constant and the heterogeneous electron transfer rate across from one electroactive species in solution. In this study monolayers of different thicknesses were characterized in a medium with electroactive species in different concentrations to calculate of the heterogeneous electron transfer constant by classical methods which were compared with a new methodology detailed in the present work.

Key words: Self assembled monolayers. Heterogeneous electron transfer rate. Electrochemical impedance and/or capacitance spectroscopy.

Lista de Figuras

- | | | |
|----------|---|----|
| Figura 1 | Filme de Langmuir-Blodgett, deposição por fisissorção de moléculas anfifílicas sobre uma superfície sólida, a partir de uma superfície fluídica. | 26 |
| Figura 2 | Representação esquemática de SAMs em um ambiente eletroquímico. A) superfície de ouro sem funcionalização de tióis frente à uma solução eletrolítica de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. B) SAM sobre o Au. 2B1) representa uma única cadeia de tiol ligada ao átomo de Au e as subdivisões da molécula (S é o enxofre ligado à cadeia de metilenos (-CH ₂ -) finalizada pelo grupo terminal/funcional R, esse grupo pode ser de naturezas químicas distintas. | 27 |
| Figura 3 | Estrutura química do filme de tióis sobre uma superfície de Au. Os filmes de tióis são a união de várias moléculas unidas paralelamente entre si, que podem ser seccionadas individualmente em: Grupo funcional (X) - pode ser de qualquer natureza química (-COOH, OH, NH ₂ , etc.) ele é um grupo que pode ser selecionável de acordo com o interesse do experimento; Grupo cauda é representado pela cadeia carbônica que pode ser de tamanhos variados (p.e.: 4, 6 e 8 carbonos); Grupo cabeça é a união entre os átomos enxofre (S) adsorvidos sobre o ouro (Au), essa união permite as interações laterais que estabilizam a molécula. | 30 |
| Figura 4 | Voltamograma de uma análise de VC em um eletrodo de ouro (2 mm) em contato com solução eletrolítica de ferrocianeto de potássio e ferricianeto de potássio (ferri/ferro) com concentração 1 mmolL ⁻¹ . V _{pa} e V _{pc} , são os potenciais de pico anódico e catódico respectivamente, enquanto que ΔV _p é a diferença entre os potenciais de pico, que no exemplo valem: 0,2 V e 0,3 V em que a diferença equivale a 0,1 V. | 39 |
| Figura 5 | Dupla camada elétrica, na qual à superfície de ouro apresenta ânions adsorvidos com carga de polaridade oposta formando uma primeira camada dipolar denominada camada interna de Helmholtz ou camada de Stern; Além das camadas aderidas à superfície outros íons dispersos em solução também sofrem atração, esses, porém não estão diretamente ligados à superfície, assim acabam formando uma camada mais externa denominada camada difusa; O conjunto das camadas elétricas interna e externa, formadas sobre à superfície metálica, são denominadas de dupla-camada elétrica. | 43 |

- Figura 6 Um modelo de C.E.E. (topo) representando analogamente o modelo de resposta de impedância obtida pelo gráfico de Nyquist (baixo), no qual estão representados duas resistências, sendo a primeira a resistência da solução eletrolítica e a segunda a resistência da transferência de carga (R_e e R_{tc} respectivamente) associados em série à impedância de Warburg (Z_w) e em paralelo com a capacitância da dupla-camada (C_{dc}). 44
- Figura 7 Esquema de transformação de reagentes em produtos, formando o complexo ativado como intermediário; na qual os reagentes recebem as energias de ativação necessárias para a transformação até o complexo intermediário ativado, que são: $\Delta G^\ddagger_f$ dos reagentes para os produtos para finalmente formarem os produtos com um nível de energia menor, $\Delta G^\ddagger_b$ dos produtos para os reagentes. 51
- Figura 8 Perfil de energia de ativação para travessia da barreira energética de formação de produtos pelos reagentes, esse perfil foi definido por Marcus como uma nova maneira de interpretação para a teoria de complexo ativado. 54
- Figura 9 Voltamogramas para diferentes velocidades de varredura. No exemplo, apenas 3 velocidades foram mostradas, em ordem crescente, onde 1 representa a menor velocidade e 3 a maior, para demonstrar o afastamento dos potenciais de pico. 1 - $\Delta V_p = 158$ mV; 2 - $\Delta V_p = 241$ mV; 3 - $\Delta V_p = 288$ mV. A representação refere-se à funcionalização de uma superfície de ouro com o tiol de 6 carbonos (C6) em eletrólito redox de ferri/ferro na concentração de 1 mmolL⁻¹. Nesse caso o sistema em equilíbrio ideal apresenta um $\Delta V_p = 61$ mV, de outra forma, para o C6 mesmo em velocidades lentas (1) o sistema já está próximo do limite de equilíbrio (~200 mV) e para os aumentos da velocidade de varredura (2 e 3) o sistema, se torna irreversível e cada vez mais se distanciará do limite de equilíbrio pelo aumento das velocidades de varredura. 56
- Figura 10 Circuito equivalente, para descrição do efeito da interface eletroquímica. Na qual $RSOL$ representa a resistência da solução eletrolítica, CDC a capacitância da dupla camada elétrica, enquanto que CAD é a capacitância da camada adsorvida e RCT tem seu valor usual; esses elementos representam mutuamente o efeito elétrico apresentado na interface eletrificada. 60

Figura 11 Voltamograma de limpeza eletroquímica do eletrodo de ouro, realizadas em ácido sulfúrico na concentração de 0,1 mmol L⁻¹, à uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. As regiões em destaque são o pico da remoção de óxido e a zona da dupla camada capacitiva. No presente trabalho foi utilizado a constante (e.das) para o ouro de 400 μC.cm⁻². A figura recortada e inserida na parte inferior destaca a região de corrente capacitiva do sistema. 69

Figura 12 Representação esquemática do efeito da rugosidade da superfície do eletrodo de ouro na imobilização e cristalização da monocamada formada pela molécula de dodecanotiol e a sua correlação com a resposta de voltametria cíclica correspondente. O experimento foi realizado contra uma concentração de espécie eletroativa de ferri/ferro de 1 mmol L⁻¹ em temperatura ambiente. A situação da Figura 12A demonstra o efeito de um bom controle do fator de rugosidade na funcionalização das monocamadas, esse efeito está ligado a melhor organização dos tióis sobre a superfície de Au gerando um bloqueio mais efetivo demonstrado no voltamograma posicionado ao lado direito da figura; em contrapartida as Figuras 12B e 12C demonstram uma pobre organização das monocamadas de tióis, devido a uma superfície muito abalada, as interações laterais são prejudicadas e como consequência há uma maior passagem de carga medida pela VC, demonstradas nos voltamogramas como uma presença de comportamento redox nos gráficos em amarelo para o tiol de 12 carbonos (C12). 72

Figura 13 Voltametrias cíclicas do ouro limpo (Au) e da superfície modificada com o dodecanotiol (C12) para sistemas com fator de rugosidade superior a 2 (curvas a e b) e próximos da unidade (curvas c e d). Meio eletrolítico de ferri/ferro 1mmol.L⁻¹ em eletrólito de suporte KNO₃ 1mol.L⁻¹. (A) FR = 2,6, (B) FR = 2,4, (C) FR = 1,10 e (D) FR = 1,05. Esta figura mostra a influência do fator de rugosidade nos padrões voltamétricos. Pode-se observar que padrões voltamétricos são similares e com pouca dispersão do seu padrão quando são obtidos fatores de rugosidade próximos de 1 (ou melhor, quando são mais próximo do valor ideal, onde é esperada boa ordenação e melhor compactação das monocamadas). 73

Figura 14 Gráficos de Nyquist comparando os fatores de rugosidade do ouro limpo (Au) e da superfície modificada com o dodecanotiol (C12) os experimentos foram realizados em potencial de circuito aberto, em uma 74

amplitude de 10 mV, contra uma concentração de eletrólito redox de 1 mmol L⁻¹ em temperatura ambiente. As figuras 14A e 14B foram medidas em superfícies com fatores de rugosidade superiores a 2,0, o que representa um fator de rugosidade ruim, isso como demonstrado gera uma dispersão das respostas impossibilitando a reprodutibilidade dos experimentos; já em superfícies com o FR controlado próximo a unidade as respostas são bem mais próximas além de demonstrar um efeito de bloqueio muito maior, o que evidencia uma melhor orientação das monocamadas.

- Figura 15 Voltamogramas, para funcionalização de 3 diferentes tióis: C4 (Verde), C6 (Azul) e C8 (Preto) comparados contra Au (Amarelo). Medidas realizadas em concentrações distintas de eletrólito de espécie redox: 0,1, 0,25, 0,75, e 1 mmolL⁻¹. As figura 15A, 15B, 15C e 15D demonstram o efeito do bloqueio ocasionado pelas diferentes espessuras de tiol, que é proporcional ao número de metilenos da cadeia carbônica desses compostos. 76
- Figura 16 Gráfico de Nicholson para retirada de ψ a partir de ΔV_p . Os valores estão demonstrados por Nicholson em uma tabela que relaciona vários valores de ΔV_p com ψ . 79
- Figura 17 Análise de voltametria cíclica para eletrodo de ouro com imobilização de C6, a cocentração do eletrólito foi de 1 mmol L⁻¹. A Figura 3a mostra uma variação praticamente nula/linear do potencial em velocidades muito baixas (até 0,1 V s⁻¹). Os valores onde a corrente é máxima em cada velocidade aplicada tem um valor proporcional de potencial aplicado (no caso da parte anódica o potencial de pico anódico V_{pa} e o catódico V_{pc}) enquanto que a Figura 3b revela que em velocidades altas (maiores que 1 Vs⁻¹) há um grande deslocamento dos potenciais de pico e consequentemente o distanciamento de ΔV_p . Isso pode ser explicado pelo fato de que há um aumento da necessidade energética devido ao menor intervalo de tempo com que ela é oferecida para a realização da troca redox. 81
- Figura 18 Valores de potenciais de pico anódico e catódico, V_{pa} e V_{pc} (V) em função do logaritmo da velocidade de varredura (V s⁻¹). A inclinação da reta (Inc.) formada a partir das velocidades mais altas, nesse caso com valor de 0,091; v_a e v_c (pontos em vermelho que marcam a reta) são as velocidades limite de onde as inclinações tocam a linha base das 83

velocidades lentas que, nesse caso as duas são iguais e tem o valor de $1,67 \text{ V s}^{-1}$. O sistema em que foi realizado o exemplo da figura é a funcionalização de C4 na concentração de eletrólito ferri/ferro de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$.

- Figura 19 Gráficos de Nyquist para impedância dos tióis de 4, 6 e 8 carbonos (C4, C6 e C8); os experimentos foram realizados em potencial de circuito aberto, com amplitude de 10 mV , em temperatura ambiente. As figuras 19A, 19B, 19C e 19D demonstram o bloqueio ocasionado pelas diferentes espessuras de tiol, que são proporcionais ao tamanho da cadeia, nesse caso o maior bloqueio foi referente ao C8. Apesar do bloqueio revelar uma proporcionalidade da concentração de eletrólito em Au, C4 e C6, o mesmo não aconteceu em C8, no qual não apresentou a mesma proporcionalidade, isso se deve ao fato de que tióis de cadeias curtas atuam como ultramicro-eletrodos, enquanto que tióis de cadeias longas podem apresentar certa cristalinidade e uma permissividade muito mais baixa. 86
- Figura 20 Modelo de circuito equivalente realístico para funcionalização de alcanotióis. Estão descritos os modelos de Debye e Cole-Cole que representam uma adição de uma resistência (R_t) e uma capacitância (C_t) ou uma resistência variável (Q_t) e uma capacitância (C_t), esses termos estão associados ao efeito das SAMs na superfície e demonstram a alteração que essa causa aos componentes elétricos. O modelo é mais realístico, pois a resistência causada pelas monocamadas pode ser variável de acordo vários fatores, um deles é o tamanho da cadeia carbônica. 88
- Figura 21 Gráfico Nyquist de Capacitância imaginária em função da real; e gráficos de Bode da capacitância imaginária e real em função da frequência. A condição experimental foram a realização dos experimentos em potencial de circuito aberto, com amplitude de 10 mV , em temperatura ambiente, concentração de ferri/ferro 1 mmol L^{-1} medindo a funcionalização do C6. O gráfico revela as contribuições capacitivas do tiol de 6 carbonos que podem ser lidas através dos gráficos de Nyquist e Bode. 90
- Figura 22 Gráficos de Nyquist de capacitância imaginária em função da real nas condições experimentais de potencial de circuito aberto, com amplitude de 10 mV , em temperatura ambiente, concentração de ferri/ferro 1 mmol L^{-1} , 91

vários tióis foram testados: C4, C6 e C8. Foram comparados entre si e revelaram uma proporcionalidade de acúmulo de carga inversa ao tamanho das cadeias carbônicas, sendo o menor acúmulo o de C8, cerca de $1,3 \mu\text{C cm}^{-2}$.

Figura 23 Espectro de C''/C' em função da frequência representado por gráfico de C'' e o valor referente da frequência (onde toca a linha pontilhada) representa o valor de k_s . Os valores encontrados foram resultados experimentais que estão ilustrados de maneira qualitativa, para experimentos para ouro (Au), tiol de 4, 6 e 8 carbonos (C4, C6 e C8 respectivamente), os experimentos foram realizados em potencial de circuito aberto com amplitude de 10 mV, em temperatura ambiente, para todas as análises os valores de área real e fator de rugosidade foram controlados de acordo com os pontos anteriormente abordados, o número de pontos de frequência foi aumentado de 80 para 200 para maior precisão. Nas seções posteriores os valores obtidos serão descritos de maneira quantitativa. 94

Figura 24 Gráfico comparativo dos valores de k_s entre as metodologias de Nicholson e Laviron contra ECS. Foram comparados os valores de k_s obtidos para Au (círculo), C4 (triângulo) e C6 (quadrado) medidos contra as concentrações entre $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ e 1 mmol L^{-1} , os gráficos em vermelho representam as análises por ECS enquanto que os gráficos em amarelo as metodologias de Nicholson (Au) e Laviron (C4 e C6). O gráfico de C8 foi medido apenas por ECS devido ao fato de que nas análises voltamétricas não foi possível gerar picos redox para essa situação. Os resultados apresentaram um erro menor do que 5% para todas as análises de ECS. 98

Lista de Tabelas

Tabela 1	Siglas que serão utilizados no texto para os reagentes citados.	63
Tabela 2	Coeficientes de difusão medidos para um eletrodo de Ouro limpo sobre diferentes concentrações de espécie eletroativa (ferri-ferro).	80
Tabela 3	Valores de k_s para Au limpo nas concentrações experimentais de ferri-ferro.	80
Tabela 4	Valores dos coeficientes de transferência α e $1-\alpha$, para os tióis de 4 e 6 carbonos (C4 e C6).	84
Tabela 5	Valores das constantes k_s , obtidos pela metodologia de Laviron, para as funcionalizações C4 e C6.	84
Tabela 6	Valores da constante k_s pela técnica de ECS, calculados para Au, C4, C6 e C8.	97

Lista de Siglas

AAB	anticorpo anti-apoliproteína B.
ATF	4-aminotiofenol.
CA	Corrente alternada
C.E.E.	Circuito elétrico equivalente
CRP	<i>C-Reactive protein</i> , termo em inglês para proteína C-reativa
C ₄	Tiol de 4 carbonos, 4-Mercapto-1-Butanol
C ₆	Tiol de 6 carbonos: 6-mercapto-1-hexanol
C ₈	Tiol de 8 carbonos, 1-Octanotiol
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> , termo em inglês para lipoproteína de baixa densidade.
ECS	<i>Electrochemical capacitance Spectroscopy</i> , termo em inglês para: Espectroscopia de capacitância eletroquímica
EFRX	espectroscopia fotoeletrônica de raio-X
EIE	Espectroscopia de Impedância eletroquímica
EMCS	<i>Electroactive monolayers capacitance sepectroscopy</i> , termo em inglês para: Espectroscopia de capacitância aplicada à monocamadas redox-ativas.
EQM	Eletrodos Quimicamente Modificados .
FR	Fator de rugosiade, ou rugosidade superficial
f _{rev.}	Fator reversibilidade
<i>DXIR (GIXD)</i>	Difração de raios x de incidência rasante
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> , termo em inglês para lipoproteína de alta densidade.

Inc.	Inclinação
MCQ	Microbalança de Cristal de Quartz
MET	Microscopia eletrônica de tunelamento
MFA	Microscopia de força atômica
RPS	Ressonância de plasma de superfície
SAM ou SAMs	<i>Self Assembled Monolayer</i> , termo em inglês para monocamadas automontadas.
SAMCS ou SAMCS/ECS	Self Assembled monolayers Capacitance Spectroscopy, termo em inglês para: Espectroscopia de capacitância aplicada às monocamadas automontadas.
SERS	espectroscopia de superfície de Raman
STM	<i>Spectroscopy tunnelling microscopy</i> , termo em inglês para microscopia de tunelamento eletrônico.
TBEA	octadecanotiol e 2,2' tiobisetil acetoacetato.
V	Volt
VC	Voltametria cíclica
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i> , termo em inglês para lipoproteína de densidade muito baixa.

Lista de Símbolos

A	Fator frequência ou frequência de colisões
A_r	Área real ou superficial ativa
A_g	Área Geométrica
a	Constante de Nicholson cujo valor é igual a $\frac{nFv}{RT}$
α	Coeficiente de transferência de elétrons
β	Coeficiente de transferência
C	Coulombs
C_{AD}	Capacitância da camada adsorvida
C_{dc}	Capacitância da dupla-camada elétrica
$C_0(0, t)$	Concentração dos oxidantes à distância 0 da superfície em um tempo t.
$C_R(0, t)$	Concentração dos redutores à distância 0 da superfície em um tempo t.
C_{SAM}	Capacitância da SAM
C^*	Capacitância complexa total
C''	Capacitância imaginária
C'	Capacitância real
D	Coeficiente de difusão
d	Espessura das monocamdas
d_{as}	Densidade atômica superficial
$\Delta G_f^\ddagger$	Energia livre de Gibbs dos reagentes
$\Delta G_b^\ddagger$	Energia livre de Gibbs dos produtos

$-\Delta G^\ddagger$	Diferença entre as energias livres de Gibbs dos reagentes e dos produtos
$\Delta G_f^\ddagger$	Energia necessária para formação de produtos
ΔG ou ΔG_0	Energia livre de Gibbs
ΔV_p	Diferença de potenciais de pico anódico e catódico
e	Carga elementar
E_A	Energia de ativação
ε_m	Permissividade das monocamadas
ε_0	Permissividade no vácuo
f	F/RT
f	frequência
F	Constante de Faraday
f_k	$\frac{nF}{RT}$
h	Constante de Planck
γ	Gama
H_{AB}	Nível de acoplamento eletrônico
I	Iodo
I ou i	Corrente elétrica (Amperes)
J	Joules
j	Componente imaginária cujo valor é $\sqrt{-1}$
κ	Coeficiente de transmissão
k	eR/F

k_B	Constante de Boltzman
k_0	Taxa cinética de transferência
k_s	Constante heterogênea de transferência de elétrons
λ	Energia de reorganização
n	Número de elétrons
n_a	Número de mol de gás adsorvido
N_A	Número de Avogadro
$\varnothing$	Diâmetro da circunferência
ω	Frequência angular cujo valor é $2\pi f$
Ψ	Coeficiente de Nicholson que associa a diferença de potencial elétrico
Q_{dc}	Carga da dupla camada elétrica
Q_m	Carga da monocamada de óxido aderida
R	Grupamento carbônico, cadeia de tamanho variável
R	Constante ideal dos gases
$R \xrightleftharpoons{k_s} P$	Formação de produtos pelos reagentes à uma dada cinética de de transferência eletrônica
R_e ou R_{sol}	Resistência da solução ou resistência eletrolítica
R_{tc}	Resistência à transferência de carga
s	Valor relacionado à frequência no cálculo de Heavside; também designa o tempo em segundos (s)
T	Temperatura em Kelvin
t	tempo

t_i	Tempo inicial
t_f	Tempo final
V	Potencial elétrico ou unidade de potencial elétrico (Voltz)
v	Velocidade de varredura
V_{pa}	Potencial de pico anódico
V_{pc}	Potencial de pico catódico
vs	Versus, contra.
X	Grupo terminal das SAMs, o “X” remete-se a termo selecionável
Y^*	Admitância complexa total
Y''	Admitância imaginária
Y'	Admitância real
Z	Impedância
Z_w	Impedância de Warburg
Z^*	Impedância complexa total
Z'	Impedância real
Z''	Impedância imaginária

Sumário

1	INTRODUÇÃO	24
2	TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS E FORMAS DE ANÁLISE	37
2.1	Voltametria Cíclica	37
2.2	Espectroscopia de impedância eletroquímica	40
2.3	Espectroscopia de capacitância eletroquímica	45
2.4	Formas de análise	49
2.4.1	Constante heterogênea da transferência de elétrons	49
2.4.2	Conceito teórico e historicidade: Butler-Volmer	50
2.4.3	Conceito teórico e historicidade: Teoria de Marcus	52
2.4.4	Metodologias Experimentais para o cálculo de <i>ks</i>	55
3	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	63
3.1	Reagentes	63
3.2	Procedimentos	63
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	66
4.1	Efeito da rugosidade na funcionalização/orientação das monocamadas automontadas	66
4.2	Resultados: Voltametria Cíclica	75
4.3	Nicholson	77
4.4	Laviron	81
4.5	Impedância	85
4.6	Espectroscopia de Capacitância Eletroquímica	88
5	CONCLUSÃO	100
	REFERÊNCIAS	101

1 INTRODUÇÃO

Funcionalizar ou modificar superfícies de eletrodos (EQM, eletrodos quimicamente modificados) com filmes orgânicos é uma das formas mais comuns, nos dias atuais, para estudos eletroquímicos em áreas como a biotecnologia, medicina, engenharia, química etc. (MURRAY, 1980; ULMAN, 1996; SCHREIBER, 2000). Uma das aplicações desses filmes se dá na transdução de sinais derivados de moléculas orgânicas/inorgânicas através da construção de (bio)sensores, isso é útil, por exemplo, no diagnóstico de doenças ou detecção dos mais diversos compostos químicos. (ZHOU, HUANG E LI, 2001)

A formação espontânea de filmes estruturalmente organizados sobre superfícies sólidas foi primeiramente relatada há pouco mais de 70 anos. A primeira descoberta foi feita por Zisman *et al.* em 1946, com a formação de filmes automontados por álcoois em superfícies de platina (Bigelow, Pickett e Zisman, 1946). A descoberta ocorreu de maneira casual, uma vez que eles adicionaram uma solução de álcool eicosil em um frasco de erlemeyer e perceberam que a superfície interna do frasco “não” ficava molhada. O experimento se repetiu de forma a eliminar quaisquer interferentes, isto é, foi realizada a purificação de todos os componentes, mesmo assim, obteve-se a resposta final semelhante, levando a observação de que o álcool formava filmes nas paredes do frasco. Por conseguinte, outras superfícies receptoras, tais como platina, pírrex, alumínio, cromo, ouro, molibdênio e tântalo, e espécies formadoras (hexadecano, octadecilamina e ácido nonadecanóico) dos filmes foram testadas. Em todos os casos Zisman observou características similares de recobrimento, isto é, uma formação espontânea de filmes monomoleculares sobre superfície sólidas, porém, notou a maior estabilidade nos casos de adsorção de substâncias oleofóbicas sobre a superfície metálica de platina.

Apesar disso, somente após a formação de filmes automontados por silanização em superfícies hidroxiladas na década de 80, realizadas por Sagiv (Sagiv, 1980), é que houve um interesse da comunidade científica e acadêmica sobre a modificação de eletrodos por compostos orgânicos. O processo descrito por Sagiv baseava-se na funcionalização de uma superfície de vidro por hidroxilas, as quais eram expostas em seguida a moléculas silano, assim, ocorria adsorção dos átomos de silício sobre a superfície hidroxilada, formando uma ligação covalente: Si-

O-Si. Além disso, as moléculas de silano organizavam-se espontaneamente sobre a superfície, de maneira que sua cadeia molecular apresentava atrações eletrostáticas laterais entre si, orientando as moléculas perpendicularmente com a superfície e paralelamente entre elas. O resultado dessas interações e orientações espontâneas foi a formação de uma espécie de filme molecular auto-organizado. Sagiv concluiu que esse comportamento era possível, pois as moléculas apresentavam empacotamento compacto (grande proximidade entre as moléculas), o que beneficiava uma interação entre suas cadeias, gerando uma orientação/organização espontânea. Foi a partir desse trabalho que o termo SAM (do inglês, *Self Assembled Monolayer*) passou a ser referido na comunidade científica.

Atualmente, há outras maneiras de funcionalização de superfícies, sendo três formas ou metodologias mais conhecidas de formação das monocamadas. A primeira é a silanização em superfícies hidroxiladas, feitas por Sagiv et. al. (Sagiv, 1980), conforme salientado acima. Já a segunda trata-se das camadas de Langmuir-Blodgett, que envolvem a formação de camadas anfifílicas sobre uma superfície líquida/aquosa polar (água): moléculas orgânicas anfifílicas são depositadas sobre uma superfície aquosa na qual a parte hidrofílica, um grupo cabeça (extremidade hidrofílica) do filme orgânico, fica em contato com a parte inferior (a água), enquanto que a outra parte da camada, apolar, fica exposta opostamente a superfície. Tais moléculas apresentam vínculo entre elas formando assim, um filme que, por fim, é transferido para uma superfície sólida (eletrodo) (Figura 1) – isso pode ser feito repetidas vezes no mesmo eletrodo até o recobrimento completo da superfície. A formação desses filmes sobre a água se dá, já que as interações eletrostáticas entre superfície do eletrodo e do filme não são fortes. Assim, é necessário formá-los sobre a água, pois favorece a atração entre suas moléculas e, conseqüentemente, a formação do filme (Blodgett, 1935; Schreiber, 2000). Apesar de ser uma das principais técnicas de funcionalização de superfícies, a técnica de Langmuir-Blodgett requer uma série de cuidados que dificultam a reprodução experimental na confecção dos filmes. (Chaki *et al.*, 2001; Chaki e Vijayamohan, 2002).

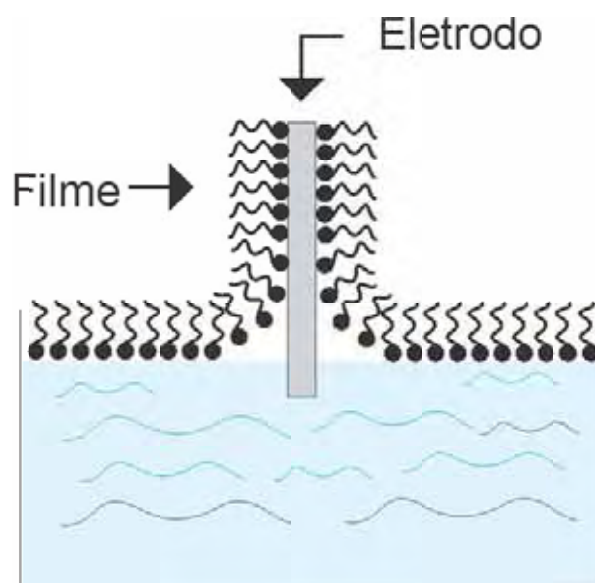


Figura 1. Filme de Langmuir-Blodgett, deposição por fisissorção de moléculas anfifílicas sobre uma superfície sólida, a partir de uma superfície fluídica.

Por fim a terceira metodologia, e a mais popular, de formação de EQM é a adsorção irreversível de alcanos sobre superfícies metálicas. (Ulman, 1996) Tal modificação incorre, nos dias atuais, em várias maneiras de procedência experimental, isto é, existem várias opções de substratos (superfícies receptoras) e de espécies alceno filme-formadoras. (Schreiber, 2000; Schwartz, 2001) Por outro lado, nessa classe, o EQM de maior destaque é, sem dúvida, o filme formado pelas camadas de tióis sobre o ouro, descobertas, em 1983, por Nuzzo e Allara (Nuzzo e Allara, 1983). O que esses pesquisadores descobriram foi uma forte atração de ditióis sobre superfícies limpas de ouro; os ditióis (HS-R-SH), quando em contato por várias horas com uma superfície tratada de ouro, hidrolisavam as ligações entre os enxofres da sua molécula e formavam novas ligações, extremamente fortes e irreversíveis com a superfície de ouro. O vínculo entre o metal e a molécula organosulfurada foi denominado pelos autores como uma quimissorção (adsorção química). Além disso, as moléculas formavam uma orientação similar aos filmes de silano, reportada por Sagiv. Em outras palavras, os tióis formavam um filme, visto que suas cadeias moleculares também se orientavam de maneira organizada espontaneamente sobre a superfície do eletrodo de ouro (Figura 2).

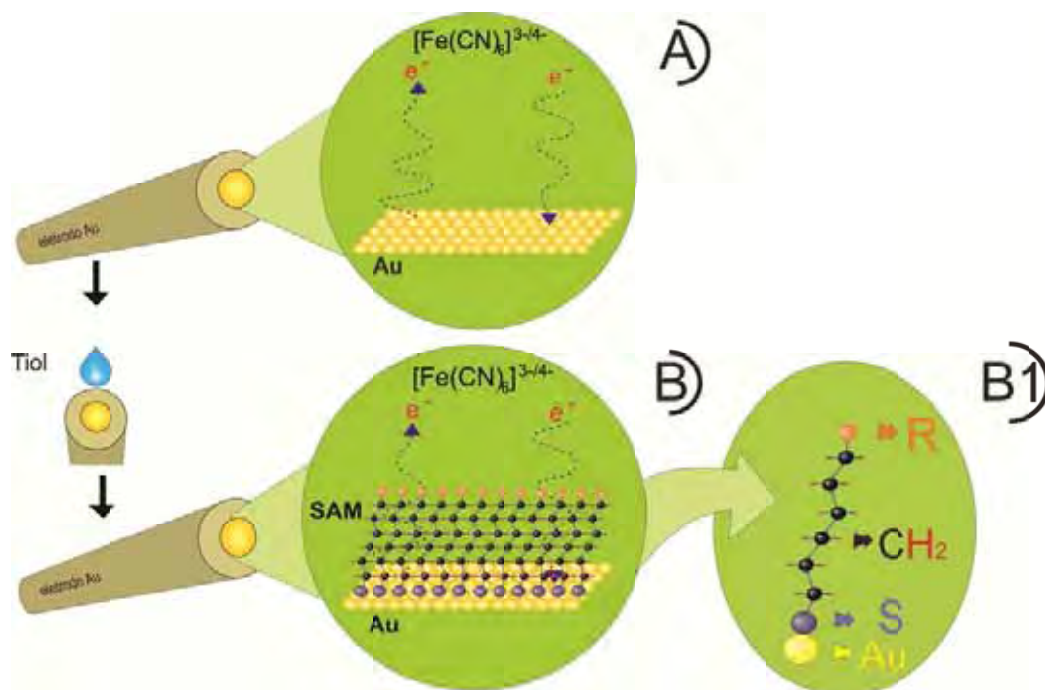


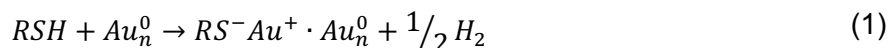
Figura 2. Representação esquemática de SAMs em um ambiente eletroquímico. A) superfície de ouro sem funcionalização de tióis frente a uma solução eletrolítica de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$. B) SAM sobre o Au. 2B1) representa uma única cadeia de tiol ligada ao átomo de Au e as subdivisões da molécula (S é o enxofre ligado à cadeia de metilenos ($-CH_2-$) finalizada pelo grupo terminal/funcional R, esse grupo pode ser de naturezas químicas distintas.

As monocamadas auto-organizadas de tiol sobre o ouro, atualmente, são uma das formas mais comuns e vantajosas de modificação de superfícies. (Ulman, 1996; Chaki e Vijayamohanan, 2002) O fato de que o ouro é um excelente condutor, estável a grande maioria dos fatores externos (p.e., oxidação), de fácil acesso (apesar do custo) e apresenta informações sobre suas características físico-químicas consolidadas na literatura, caracteriza-o como excelente plataforma de modificação e, conseqüentemente, aplicação em biossensores. (Love *et al.*, 2005) Aliado a isso os tióis formam uma ligação extremamente forte com a superfície do ouro metálico, ou seja, uma grande estabilidade para se realizar diversos experimentos (eletro)químicos. Adicionalmente os tióis podem ter grupos funcionais em sua extremidade que proporcionam uma intermediação entre moléculas orgânicas e Au, o que permite estudar diversos compostos seletivamente. (Ulman, 1996)

Mesmo com as facilidades de montagem e o grande interesse da comunidade científica pela área, ainda hoje, o processo exato de formação das SAMs é um assunto em debate. (Boubour, 2000) Fatores como o tipo de ligação formada entre

os átomos (tanto entre enxofre e ouro, quanto entre as cadeias laterais), o tempo de contato entre a solução e o substrato, a perfeição/imperfeição da superfície e sua influência na organização das monocamadas, são assuntos dos quais ainda existem divergências e talvez ainda estejam longe de se chegar a consenso comum. (Subramanian e Lakshminarayanan, 2000)

O primeiro ponto a ser destacado é que a interação entre o átomo do enxofre com o substrato de ouro é frequentemente conhecida como quimissorção (adsorção química), essa expressão carece de especificações, já que uma interação desse tipo pode ser de qualquer natureza química. Apesar disso, comumente se aceita que essa natureza tenha um caráter fortemente covalente. Em contrapartida há ainda quem defenda que possam existir outros tipos de contribuições atuando mutuamente, nesse caso interações intermoleculares (p.e. dipolo-dipolo) e covalentes (Sellers *et al.*, 1993; Gottschalck e Hammer, 2002). Essa adsorção se dá devido que a atração entre os átomos de S e Au gera uma união espontânea e exotérmica. A ligação formada promove, conseqüentemente, uma adsorção irreversível extremamente forte (127 kJ/mol ou 28 kcal/mol) do tiol com o ouro. Esse processo pode ser quimicamente descrito a partir da equação global provável da formação da ligação *AuS* (Sellers *et al.*, 1993):



Na qual, *R* representa a cadeia carbônica, *SH* o enxofre que antes da ligação com o ouro, *Au_n⁰*, elimina o hidrogênio, $\frac{1}{2} H_2$ para formar o complexo *RS⁻Au⁺ · Au_n⁰*.

De maneira detalhada, a formação dos filmes é possível, pois os átomos de enxofre ficam próximos uns dos outros quando se ligam ao ouro, com um espaçamento de ~ 5,0 Å (Sellers *et al.*, 1993). Isso permite que as interações entre os carbonos e hidrogênios formadores da cauda da molécula (Figura 3) interajam entre si por ligações relativamente fracas, isto é, aproximadamente de 4,2 kJ/mol ou 1,0 kcal/mol. Em decorrência disso, as moléculas apresentam uma rede de interações laterais capazes de estabilizar, orientar e dar uma conformação uniforme a essas moléculas (Ulman, 1996). A natureza dessas interações, normalmente é dita como sendo forças de van der Waals, porém também podem ser descritas como ligações de hidrogênio e/ou do tipo *London* (Sellers *et al.*, 1993; Mandler e Turyan,

1996). A estrutura molecular formada é um padrão hexagonal condizente com um arranjo epitaxial ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$)R30° comprovado por MTE (microscopia de tunelamento de elétrons) (Mandler e Turyan, 1996; Ulman, 1996).

Em síntese, esses fatos evidenciam um caráter anfifuncional às SAMs, ou seja, parte da molécula tem grande afinidade pela superfície metálica e outra parte tem pouca ou nenhuma afinidade. No caso aqui relatado, as moléculas de tiol ligam-se fortemente ao ouro, via enxofre, e se arranjam bem próximas entre si, apresentando uma alta densidade de empacotamento, orientação e conformação com uma relativa uniformidade molecular, o que implica na formação final de um filme de espessura monomolecular espontaneamente organizado, com um grupamento químico terminal livre (Sellers *et al.*, 1993).

Essas características fazem com que haja um padrão estrutural bem claro, no qual, podem ser seccionadas em três partes distintas (Figura 3): 1 – O grupo cabeça, que representa os átomos de enxofre e ouro; 2 – O grupo cauda que representa a cadeia carbônica ligada ao enxofre e; 3 – O grupo funcional/terminal que está presente na extremidade oposta ao enxofre, esse grupo pode ser de muitas naturezas e, além disso, é selecionável, assim pode-se escolher o tipo de grupo terminal para ligar diferentes alvos (biomoléculas), caráter primordial para seu uso em biossensores (Sellers *et al.*, 1993; Chaki e Vijayamohanan, 2002).

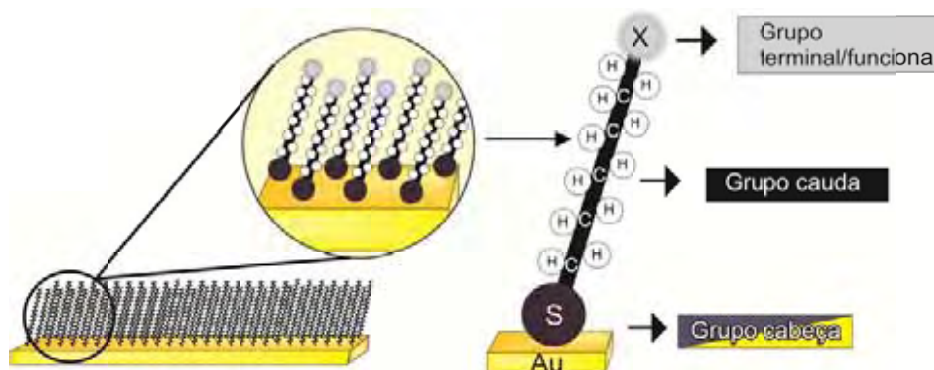


Figura 3. Estrutura química do filme de tióis sobre uma superfície de Au. Os filmes de tióis são a união de várias moléculas unidas paralelamente entre si, que podem ser seccionadas individualmente em: Grupo funcional (X) - pode ser de qualquer natureza química (-COOH, OH, NH₂, etc.) ele é um grupo que pode ser selecionável de acordo com o interesse do experimento; Grupo cauda é representado pela cadeia carbônica que pode ser de tamanhos variados (p.e.: 4, 6 e 8 carbonos); Grupo cabeça é a união entre os átomos enxofre (S) adsorvidos sobre o ouro (Au), essa união permite as interações laterais que estabilizam a molécula.

Toda a formação das monocamadas ocorre por meio da exposição/contato de uma solução de tióis (líquida ou gasosa) com uma superfície limpa e tratada (receptiva^a) de ouro por um dado intervalo de tempo (relativamente longo) (Ulman, 1996). Um tópico de bastante interesse da literatura é sem dúvida, quanto ao tempo de formação das SAMs. Sobre isso, de fato não há uma consonância entre as informações encontradas. O que há de comum é, que a formação das SAMs ocorre em dois estágios distintos: um primeiro cerca de 80 a 90% da formação se completa quase que instantaneamente, seguido de um segundo instante muito lento de reorientação até a conformação/orientação final, que pode levar até várias horas (Bain *et al.*, 1989; Subramanian e Lakshminarayanan, 2000).

O problema é que alguns trabalhos divergem exatamente quanto ao tempo de cada etapa de formação. Análises por eletroquímica, microbalança de cristal de quartzo, etc. revelaram tempos de formação distintos, mas sempre com o mesmo comportamento, isto é, um instante rápido e um muito lento. Em 1989, Bain *et al.* mediram por elipsometria uma cobertura entre 80 e 90% do valor total para os 5 primeiros minutos e só após 16 horas a formação total foi observada (Bain *et al.*, 1989). Já Shimazu *et al.* (1992), estudaram a formação das SAMs por microbalança de cristal de quartzo e concluíram que a formação atingia estabilidade logo nos primeiros 800 segundos (cerca de 13 minutos) (Shimazu *et al.*, 1992), enquanto

^a Uma superfície que é pré-tratada com etapas de pré-limpeza, como polimento com alumina, limpeza eletroquímica, etc. Esses parâmetros estão definidos em metodologia experimental.

Subramanian e Lakshminarayanan (2000) por meio da capacitância eletroquímica, mediram o tempo da adsorção de vários tióis sobre superfícies de ouro, definiram um tempo inicial de 5 segundos para uma cobertura de 80 a 85% do valor total enquanto que o tempo final da formação não passou de 30 minutos (Subramanian e Lakshminarayanan, 2000).

O tempo de concepção dos filmes é uma informação bastante inconstante, pois a formação das SAMs envolve muitos aspectos, um deles, por exemplo, é a rugosidade superficial metálica (Schwartz, 2001). De fato uma superfície com um alto nível de imperfeição pode prejudicar a formação das monocamadas e consequentemente a resposta final do eletrodo. Tal fato pode ser uma explicação para entender algumas divergências encontradas, como as citadas anteriormente, já que vários fatores podem influenciar na resposta final das SAMs, e eles estão intimamente ligados com sua formação, orientação e resposta analítica final (Hoogvliet *et al.*, 2000; Rodriguez, Melian e Pena, 2000; Tkac e Davis, 2008). Em outras palavras, somente análises muito bem detalhadas, levando em conta a homogeneidade superficial, poderiam levar a respostas finais mais próximas resolvendo de vez grande parte das informações destoantes encontradas na literatura (Mandler e Turyan, 1996; Ulman, 1996).

Em suma, apesar da conexão entre tióis e superfície ser relativamente simples, necessitando apenas do contato entre superfície do eletrodo e molécula orgânica para originar uma modificação superficial, não é tão simples garantir uma distribuição/formação homogênea do filme e, consequentemente, uma garantia de respostas analíticas confiáveis e replicáveis, já que isso envolve uma série de fatores extrínsecos (temperatura, tempo de imobilização, etc.) e intrínsecos (rugosidade superficial, contaminantes adsorvidos, etc.) (Hoogvliet *et al.*, 2000; Rodriguez, Melian e Pena, 2000; Tkac e Davis, 2008).

Outros tópicos de interesse que podem ser citados com respeito à formação das SAMs são relacionados aos efeitos da espessura da cadeia alquila. Os efeitos provocados pela estrutura das SAMs para tióis com mais de 8 carbonos são um empacotamento melhor devido a maior proximidade das moléculas e, consequentemente, uma orientação/organização mais favorável entre elas, o que para alguns trabalhos acaba culminando em uma relativa cristalinidade das cadeias mais longas (Bain *et al.*, 1989; Voets *et al.*, 1998).

Esse ponto retrata o que alguns autores chamam de melhor organização dos tióis de cadeias maiores, em comparação aos de cadeias menores que exibem um menor nível de orientação/empacotamento. A modificação com tióis de cadeias curtas é rotineiramente descrita como tendo um comportamento similar a ultra-microeletrodos, pois eles não apresentam o mesmo poder isolante elétrico quanto os tióis com cadeias carbônicas mais longas, uma vez que essas apresentam melhor eficácia no bloqueio de corrente elétrica (Bain *et al.*, 1989).

O entendimento das características citadas nos parágrafos anteriores envolve o estudo da capacidade dielétrica e de bloqueio dos tióis, já que o número de metilenos das cadeias de tióis tem influência direta no grau de isolamento elétrico. Isso se deve em grande parte pela alteração da permeabilidade iônica em função do tamanho da cadeia (menor ou maior quantidade de metilenos) (Protsailo e Fawcett, 2000). Mesmo sendo um tema já bastante investigado, explicar ou entender o efeito exato que provocam os alcanotióis adsorvidos sobre o ouro é uma tarefa que ainda demanda interesse, pois esses fatores podem - somados a exigência de um completo controle de todos os fatores envolvidos no processo de preparo - influenciar nas eventuais aplicações das SAMs.

O grande interesse de se entender a formação das monocamadas e controlá-las devidamente é a utilização dessa modificação de eletrodos para devidas aplicações em diversas áreas, a principal delas é o sensoriamento de espécies químicas diversas. A primeira aplicabilidade relatada das SAMs, foi a confecção de um sensor inorgânico, como íon-seletivo, descrito por Rubinstein *et al.*, em 1988 (Rubinstein *et al.*, 1988). O dispositivo sensor eletroquímico foi feito de uma mistura de tióis, octadecanotiol e 2,2' tiobisetil acetoacetato (TBEA), em superfícies limpas de Au. Sua função era reconhecer seletivamente o Cu^{2+} (íon cobre) na presença do íon Fe^{3+} (íon ferro), quando o biossensor entrava em contato com uma solução que apresentava ambos os íons, exibia resposta redox apenas para o cobre.

Um aspecto de importância no trabalho de Rubinstein *et al.* foi que os autores perceberam que certa desordem na formação se estabelecia quando uma única molécula recobria a superfície, nesse caso o TBEA, esse comportamento era ocasionado graças ao grupo funcional dessa molécula que é relativamente grande e, por isso, dificultava as interações laterais estabilizadoras, aumentando a permissividade e a desordem das monocamadas, já que geravam buracos (*pin-holes*) na interface Au/Monocamada/eletrolito. Esses buracos especificamente são a

vacância de sítios no metal que acabam prejudicando a resposta seletiva do íon cobre. Desta forma, em um segundo trabalho, os autores corrigiram essa deficiência adicionando uma camada inerte (octadecanotiol), para garantir que os sítios livres fossem preenchidos, prevenindo o contato de espécies indesejadas na interface, refinando o sinal recebido do íon metálico (Rubinstein *et al.*, 1988; Mandler e Turyan, 1996).

As várias mudanças físico-químicas provocadas na superfície, em função da adsorção das SAMs, permitem explorar cada uma das novas propriedades introduzidas por essa alteração, de tal modo que, uma aplicação bastante explorada com a utilização das monocamadas é sua capacidade de proteger/isolar as superfícies metálicas. Um exemplo que pode ser citado é o trabalho de Jennings *et al.* os quais demonstraram que o recobrimento de superfícies metálicas de cobre por monocamadas densamente empacotadas inibiam a corrosão/oxidação do metal. Eles utilizaram tióis de cadeias longas (18 e 22 carbonos) e expuseram a superfície modificada a situações experimentais com altos níveis de oxidação, provando em comparação com superfícies não revestidas, que a barreira formada pelas SAMs promovia uma proteção contra a oxidação, em um ambiente com saturação de oxigênio, por cerca de uma semana a mais do que o padrão (Jennings *et al.*, 1998).

Além de sensores inorgânicos e proteção contra corrosão outra forma de uso das SAMs é sua capacidade de agir como elementos primários fundamentais (alicerces) para a fabricação dos biossensores (Chaki e Vijayamohan, 2002). A dupla interação, com a superfície e com uma molécula orgânica de interesse, dá o caráter transdutor/intermediário desses filmes e as possibilidades para exploração de biomoléculas (Ulman, 1996; Boubour e Lennox, 2000). A característica selecionável do grupo terminal é a principal vantagem das SAMs para sua aplicação em biossensores, isso permite imobilizar uma variedade de moléculas alvo à superfície, com a garantia da seletividade (Carrara *et al.*, 2009).

Em razão disso, as SAMs oferecem um potencial ilimitado para geração de dispositivos de biossensoriamento, muitos utilizam, por exemplo, uma dupla camada orgânica, na qual a primeira camada é de um anticorpo e a segunda de seus respectivos antígenos. Esse é o caso do imunossensor (baseados em biossensores de células imunológicas, nesse caso um anticorpo) para detecção do “mau colesterol” ou a LDL (do inglês, *Low Density Lipoprotein*). Esse biodispositivo se baseia na funcionalização de uma superfície de ouro pelo tiol 4-aminotiofenol (ATF)

e sobre esse último, o anticorpo anti-apolipoproteína B (AAB), formando uma sequência: Au/ATF/AAB que representa a face bioreceptora para LDL (Matharu *et al.*, 2009). Os estudos foram realizados por microbalança de cristal de quartzo para várias concentrações do alvo, em temperatura ambiente e temperatura corpórea ($\sim 35^\circ \text{C}$), em meio às moléculas interferentes de HDL (do inglês, *High Density Lipoprotein*) e VLDL (do inglês, *Very Low Density Lipoprotein*), para validação da seletividade. As respostas do imunossensor mostraram especificidade para o LDL e um nível de detecção de 252 nmol L^{-1} (84 mg.dl^{-1} ; os níveis sanguíneos ideais são $>100 \text{ mg.dl}^{-1}$).

De fato, as aplicações (bios)sensoriais oferecidas pelas SAMs são de grande interesse na área de diagnósticos clínicos de doenças, quantificar o nível de colesterol sanguíneo já é uma demonstração disso. Além disso, muitos outros diagnósticos têm sido realizados com a contribuição das SAMs, um exemplo prático é a capacidade das monocamadas gerarem biossensores à base de material genético (DNA) como uma forma de investigar/detectar antecipadamente doenças ligadas a mutações genéticas, por exemplo: câncer, síndromes diversas, doenças congênitas etc. No trabalho Zhou, Huang e Li (Zhou, Huang e Li, 2001), os autores utilizaram um eletrodo de ouro em um cristal de quartzo, para imobilizar um fragmento de DNA modificado com biotina sobre a superfície funcionalizada com avidina (avidina e biotina formam uma coenzima). Essas camadas sofreram modificação eletrostática também por um polieletrólito gerando uma espécie de “DNA probe-redox” que foi posteriormente ancorado a partir do átomo de enxofre presente na superfície de ouro. Os resultados mostraram seletividade e poder de detecção para a β -talassemia uma biomolécula relacionada com a doença talassemia que é uma mutação/anomalia genética que afeta o sangue.

Todas essas aplicações podem ser potencializadas com estudo de propriedades fundamentais, por isso, outro tema de habitual interesse é o da capacidade de emprego das SAMs na investigação de fenômenos fundamentais, tais como os relacionados com a transferência de elétrons. Isso porque, qualquer sinal biológico, (eletro)químico, orgânico ou inorgânico está diretamente relacionado com a transferência de carga elétrica na interface eletrodo/SAM/eletrolito. De fato, entender tais fenômenos representa um potencial em aplicações (bio)tecnológicas, por exemplo, como na catálise enzimática, corrosão, na conversão ou armazenamento de energia e muitos outros (Ly *et al.*, 2011).

Por esse motivo, estudar os fatores que podem influenciar/controlar essa transferência eletrônica são importantes para a melhor utilização das SAM na bioeletrônica. O papel das monocamadas na investigação desses fenômenos fundamentais promove uma maneira de controlar cada característica envolvida no processo de transferência eletrônica, como a variação de energia livre de Gibbs (ΔG), nível de acoplamento eletrônico (H_{AB}), energia de reorganização (λ) etc. (Eckermann *et al.*, 2010).

Alguns trabalhos na literatura têm focado seus esforços em entender os fatores que podem influenciar/controlar essa transferência eletrônica. O uso das SAMs tem possibilitado essas investigações como no estudo da dependência da distância para a transferência de elétrons, feitas por Becka e Miller que averiguaram por eletroquímica a variação da capacitância interfacial de duas moléculas de tióis distintas, dodecanotiol e 14-hidroxytetradecano-1-tiol, sobre superfícies limpas de ouro frente a uma alteração da concentração de uma espécie eletroquimicamente ativa de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (Becka e Miller, 1993). Os autores concluíram – por meio dos experimentos de voltametria cíclica e dos cálculos para estimativa da capacitância da dupla-camada elétrica baseados na teoria de Gouy-Chapman – que a capacitância da dupla-camada elétrica é independente da concentração da espécie eletroativa, quando se normaliza a mesma pelo potencial dessa dupla-camada, isto é, a capacitância é dependente apenas da espessura das monocamadas sendo inversamente proporcionais ao aumento da espessura das cadeias, por fim, o resultado ainda foi ratificado por meio da taxa heterogênea de transferência de elétrons (k_s).

As SAMs oferecem possibilidades de investigação com as mais diversificadas técnicas, como por exemplo, com microbalança de cristal de quartzo (MCQ), ressonância de plasma de superfície (RPS), microscopia de força atômica (MFA), microscopia de tunelamento eletrônico (MTE), difração de raios x de incidência rasante (*GIXD*), espectroscopia fotoeletrônica de raio-X (EFRX), espectroscopia de superfície de Raman (SERS) etc. (Schreiber, 2000). Apesar dessa grande diversidade de investigações, a melhor e mais popular forma de investigar as monocamadas é por meio das técnicas eletroanalíticas (Chaki e Vijayamohan, 2002; Eckermann *et al.*, 2010).

Duas das análises mais comuns, para caracterização elétrica das SAMs, são a voltametria cíclica (VC) e a espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE), a

principal vantagem atrelada a elas é que são formas de análise de excelente custo-benefício, fácil manuseio, isto é, o procedimento experimental é estável para as condições ambientais naturais e, além disso, são capazes de fornecer inúmeras informações sobre as características físico-químicas da superfície como a cinética de formação das SAMs, a transferência eletrônica através de uma superfície modificada e muitas outras (Chaki *et al.*, 2001; Eckermann *et al.*, 2010).

2 TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS E FORMAS DE ANÁLISE

O objetivo nessa seção não é discutir completamente a teoria envolvida nas técnicas eletroanalíticas e suas formas de análise, mas sim introduzir alguns aspectos que julgamos importantes na contextualização desse trabalho.

2.1 Voltametria Cíclica

A VC é uma das principais ferramentas de análise em estudos de diversos sistemas por rotas eletroquímicas. Historicamente a técnica de VC se remete a Heyrovsky em 1922, e a descoberta da polarografia (Heyrovsky, 1923). Ele gravou uma primeira curva de corrente/potencial (polarograma) de uma solução de hidróxido de sódio com o uso de um eletrodo gotejante de mercúrio como eletrodo de trabalho, em que aplicou um potencial de -1,9 a -2,0 V em relação a um eletrodo de calomelano saturado de referência e realizou a eletroredução/deposição dos íons sódio sobre o mercúrio, essa descoberta o levou a faturar o Nobel em 1959 (Heyrovsky, 1923; Butler e Zuman, 1967).

Nos dias atuais, a VC é uma técnica normalmente realizada como ferramenta de medição de corrente que flui entre uma solução iônica (fluídica) e um eletrodo sólido condutor ou semicondutor. Isso é realizado em uma célula eletroquímica (recipiente de vidro) em que se adiciona a solução fluídica de interesse e três eletrodos, que são: um eletrodo de trabalho, um contra eletrodo (ou auxiliar) e um eletrodo de referência, existem variadas opções de tipos de material desses eletrodos e podem ser escolhidas de acordo com cada necessidade. Após o sistema eletroquímico ser montado aplica-se um potencial elétrico entre os eletrodos de trabalho e o auxiliar tendo como base o valor do potencial do eletrodo de referência. Por fim monitora-se a corrente elétrica resultante e plota-se a resposta de corrente contra o potencial aplicado (voltamograma) para análise de dados.

Essa técnica é a mais utilizada em análises eletroanalíticas e isso se deve, basicamente, a grande facilidade de realização dos experimentos, sendo necessária uma instrumentação relativamente simples e de baixo custo, um conhecimento básico de informática e de eletroquímica, para se realizar com os experimentos com relativo sucesso (Eckermann *et al.*, 2010). Evidentemente, uma análise mais

profunda dos dados obtidos requer conhecimentos mais específicos das referidas áreas.

A aplicação da VC permite investigar diversos fenômenos interfaciais eletrodo/meio. No caso de um experimento eletroquímico realizado por VC, pretende-se medir respostas elétricas, como a corrente elétrica, e associá-las a fatores intrínsecos do material de interesse em contato com uma superfície condutora, por exemplo, o ouro. A aplicação de uma varredura linear de potencial elétrico mede uma resposta em corrente contínua, de tal modo, é possível associar a magnitude da corrente medida às propriedades redox de um dado analito, como no caso de uma solução iônica eletroativa (Bard e Faulkner, 1982).

As reações eletródicas são governadas pela energia potencial aplicada, a polaridade imposta pelo potencial ao eletrodo (negativa ou positiva) atrai as espécies opostamente carregadas, de maneira que a natureza das reações, que ocorrem nesse meio, é de transporte de massa e de transferência de carga entre os íons e a superfície (Bard e Faulkner, 1982). O transporte de massa na célula eletroquímica ocorre predominantemente por difusão e a corrente monitorada é uma soma de duas correntes distintas, as correntes faradaicas relativas à oxidação e redução das espécies em solução e as correntes não-faradaicas ou capacitivas referentes ao carregamento da dupla camada elétrica existente na interface (Bard e Faulkner, 1982).

A resposta de corrente elétrica é o resultado da somatória das reações eletroquímicas globais entre duas espécies heterogêneas (solução iônica e superfície sólida). Assim, a transferência eletrônica, a quantidade de analito são parâmetros que podem ser facilmente resolvidos por voltametria cíclica, por exemplo, a partir de gráficos de corrente em função do potencial aplicado, os voltamogramas (Fig. 4).

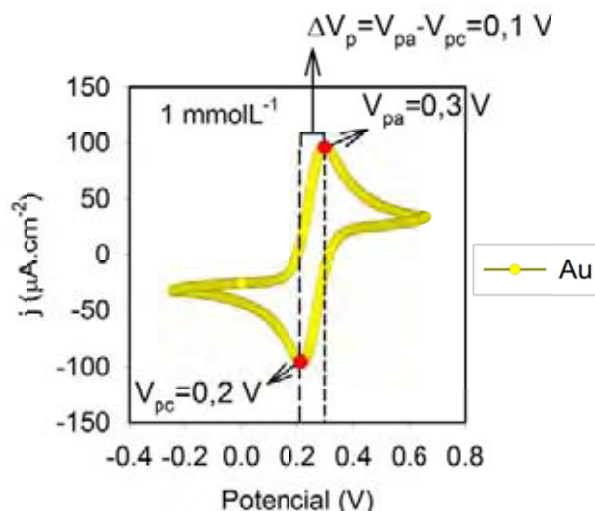


Figura 4. Voltamograma de uma análise de VC em um eletrodo de ouro (2 mm) em contato com solução eletrolítica de ferrocianeto de potássio e ferricianeto de potássio (ferri/ferro) com concentração 1 mmol L^{-1} . V_{pa} e V_{pc} são os potenciais de pico anódico e catódico respectivamente, enquanto que ΔV_p é a diferença entre os potenciais de pico, que no exemplo valem: 0,2 V e 0,3 V em que a diferença equivale a 0,1 V.

Diversos estudos têm sido realizados por meio da VC, como a caracterização de biomoléculas (Song *et al.*, 1993), a detecção em quantidades traço de íons (Rubinstein *et al.*, 1988), a detecção de compostos orgânicos (Bollo *et al.*, 2007), as reações fundamentais de transferência de elétrons (Amatore, Saveant e Tessier, 1983) e outras aplicações têm sido protagonizadas por essa técnica.

A VC também é eficaz para o fornecimento de informações experimentais relacionadas ao estado físico-químico em uma interface eletrodo/meio. Alguns exemplos típicos dessas informações são úteis para a caracterização superficial do efeito das SAMs como no caso da estipulação do grau de cobertura das superfícies modificadas. A realização prática disso foi realizada por Campuzano *et al.*, em que graus de cobertura de três distintas modificações de um eletrodo de ouro foram calculados para duas espécies diferentes de tióis, sendo elas as modificações individuais e mistas desses tióis. Os experimentos foram realizados por VC e a cobertura foi calculada por meio dos picos de formação/remoção de óxido gerados pelo processo de oxidação/redução de três tipos diferentes de espécie redox, os resultados obtidos revelaram um recobrimento para um tiol de cadeia curta de $\theta \cong 0,4$ em contraste ao tiol de cadeia longa de $\theta \cong 0,8$ contra uma última de $\theta \cong 0,9$ de cobertura da mistura de ambos (Campuzano *et al.*, 2006).

Outro ponto de bastante interesse é a viabilidade de se estipular, por VC, a área real ou eletroquimicamente ativa (A_r) de uma superfície. A A_r é um parâmetro importante para a normalização dos valores de corrente elétrica que atravessam a interface. Em uma etapa do desenvolvimento desse trabalho será mostrado a influência dos valores de fator de rugosidade (f_r) da área real na formação das SAMs. Em resumo, a f_r elevada prejudica a orientação das monocamadas, pois sítios no ouro que deveriam estar preenchidos com uma molécula de tiol ficam vagos, isso é diretamente proporcional ao fator de rugosidade, ou seja, quanto maior for o f_r pior será a condição de organização das SAMs, de maneira que alguns pinholes provocam exposição direta da superfície com o meio favorecendo a passagem de carga e alterando a resposta final do bloqueio provocado pelos tióis (Hoogvliet *et al.*, 2000; Rodriguez, Melian e Pena, 2000; Tkac e Davis, 2008).

Frequentemente, a VC também é utilizada como uma forma qualitativa de observar a capacidade isolante das monocamadas como em uma comparação entre tióis de diferentes espessuras. Uma das maneiras de se caracterizar o efeito passivador provocado pelas SAMs é avaliando a velocidade da reação redox entre a superfície e o meio, tendo em vista que as SAMs podem alterar a resistência à transferência de carga e, além disso, alterar o tempo e a velocidade com que essa transferência ocorre, sendo assim, é possível estipular o efeito dielétrico provocado pelas monocamadas calculando a constante cinética heterogênea de transferência eletrônica (k_s).

A k_s é um termo de bastante interesse na literatura científica, e será explorada em mais detalhes nas seções posteriores. Importante agora é salientar que a partir de experimentos realizados por VC foi possível quantificar experimentalmente k_s . O trabalho pioneiro de quantificação experimental da k_s foi feito por Nicholson, em 1965, baseado nas teorias experimentais de Marcus e Butler-Volmer (Nicholson, 1965).

2.2 Espectroscopia de impedância eletroquímica

A EIE é uma técnica de caracterização elétrica que fornece uma informação plena e minuciosa das características eletroquímicas de uma interface eletrodo/meio quando muitos elementos estão envolvidos em diferentes velocidades (CARVALHO,

ANDRADE e BUENO, 2006). A EIE tem importância em muitas áreas como no estudo do fenômeno da corrosão (JENNINGS et al., 1998), detecção de compostos orgânicos, inorgânicos e sinais biológicos, células fotovoltaicas (GOES, et al., 2012b) etc. De maneira geral, a EIE é uma técnica de estado estacionário, isto é, quando o sistema eletroquímico não se altera com o tempo. A EIE é uma técnica amplamente difundida, de grande interesse e utilidade na área da eletroquímica e tem grande sensibilidade para medição dos eventos elétricos complexos de uma interface eletrodo/solução (CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006; LISDAT E SCHAEFER, 2008).

Em termos experimentais a impedância é feita pela aplicação de um potencial elétrico CA (*corrente alternada*) de pequena amplitude (10 mV) em uma faixa ampla de frequências para a captação da resposta em CA (BARD e FAULKNER, 1982). Isso permite diferenciar contribuições elétricas complexas distintas que ocorrem em intervalos de tempo diferentes, o que define que a EIE é uma técnica muito mais sensível à heterogeneidade cinética, possibilitando a distinção da contribuição de cada componente elétrico (CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006).

O início da impedância data do século XIX, quando Oliver Heavside, levou em conta equações integrais/diferenciais para descrever a influência de uma corrente elétrica através de um circuito quando componentes elétricos estavam presentes simultaneamente (resistores, capacitores e indutores). Ele determinou a equação para se calcular a impedância de um sistema qualquer (MacDONALD, 2006):

$$Z(s) = \frac{V(s)}{I(s)} \quad (2)$$

Na qual Z é a impedância, V a tensão ou potencial elétrico e I a corrente elétrica. Heavside determinou dois operadores para o valor de (s) , para $s = \frac{d}{dt} e \frac{1}{s} = \int dt$ relacionando o termo (s) com a frequência de Laplace, isto é, para cada valor específico de aplicação de potencial há uma resposta específica de corrente e consequentemente uma resposta final de impedância, que variam com o tempo, nesse caso com a frequência.

Heavside transportou essa ideia transformando o sistema laplaciano para a transformada de Fourier e assim associou as frequências como $s = (j\omega)$ em que j é

a componente imaginária $\sqrt{-1}$ e ω é a frequência angular $2\pi f$, assim então, a impedância pode ser descrita por fim, na esfera de Fourier por (MacDONALD, 2006):

$$Z(j\omega) = Z' + jZ'' \quad (3)$$

Heavside encontrou essa forma para representar a impedância em função da frequência, em que Z' é a impedância real associada aos valores de resistência à transferência de carga, enquanto que jZ'' é a impedância imaginária correlacionada a capacitância da dupla camada elétrica (Figura 5).

O trabalho de Heavside foi revolucionário porque percebeu que tratar os valores dos sinais de resposta elétrica complexa em função do tempo é uma tarefa bastante complicada (até os dias atuais), por isso, ele limitou os valores de impedância à frequência (Fourier). Nesse caso, limitou-a a um pequeno intervalo de frequência; por fim, simulando o fluxo de corrente elétrica, agregou cada valor de frequência a resposta final de impedância que está associada aos valores real e imaginário (CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006; MacDONALD, 2006).

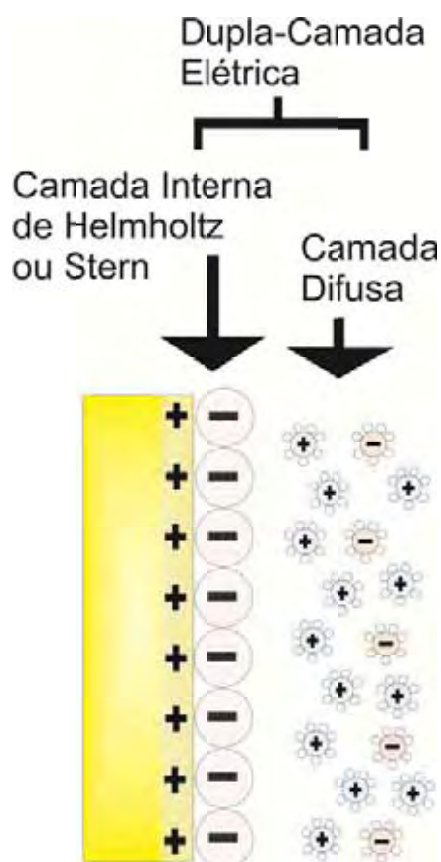


Figura 5. Dupla camada elétrica, na qual a superfície de ouro apresenta ânions adsorvidos com carga de polaridade oposta formando uma primeira camada dipolar denominada camada interna de Helmholtz ou camada de Stern; Além das camadas aderidas à superfície outros íons dispersos em solução também sofrem atração, esses, porém não estão diretamente ligados à superfície, assim acabam formando uma camada mais externa denominada camada difusa; O conjunto das camadas elétricas interna e externa, formadas sobre a superfície metálica, são denominadas de dupla-camada elétrica.

As reações eletroquímicas na interface são dependentes de uma série de elementos que tem o poder de influenciar na velocidade das reações redox, como, a natureza da interface, os aspectos termodinâmicos, a cinética das reações interfaciais, os efeitos de transporte de massa (ex.: difusão), a área de contato, o potencial elétrico aplicado, entre outros (BARD e FAULKNER, 1982; CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006). A corrente elétrica é um indicativo da velocidade da reação que pode ser alterada pela aplicação do potencial elétrico, assim sendo, a corrente medida de um processo redox nada mais é do que a informação da condutividade da superfície e da espécie iônica em contato (BARD e FAULKNER, 1982; CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006). O que incorre dizer que a impedância da interface eletrodo/meio controla a resposta do sistema, sendo essa dependente da resistência à passagem de carga ou da velocidade de transferência

eletrônica da capacitância interfacial e da limitação difusional de massa (CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006).

Esses aspectos interfaciais podem ser representados pelo tratamento descrito por Heavside (forma matemática de interpretação da impedância), como descrito nas equações, apesar disso, esse é um tratamento ainda bastante complexo. Por esse fato, frequentemente os valores de EIE são tratados a partir de circuitos elétricos equivalentes (capacitores, indutores e resistores) que são associados aos processos eletroquímicos, simulando, a partir desse circuito, o efeito que demonstre a resposta de corrente obtida (CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006; MacDONALD, 2006).

Normalmente, um circuito elétrico equivalente (C.E.E.) muito utilizado é o do tipo Randles, que é um modelo bastante conhecido para representar as equações cinéticas que levam as funções de impedância (CARVALHO, ANDRADE e BUENO, 2006). Um C.E.E. engloba alguns termos como R_{tc} , R_e , C_{dc} e Z_w (resistência de transferência de carga, resistência da solução eletrolítica, capacitância da dupla camada e impedância de Warburg) que servem para descrever o efeito de cada componente elétrico distinguível pela impedância (Figura 6).

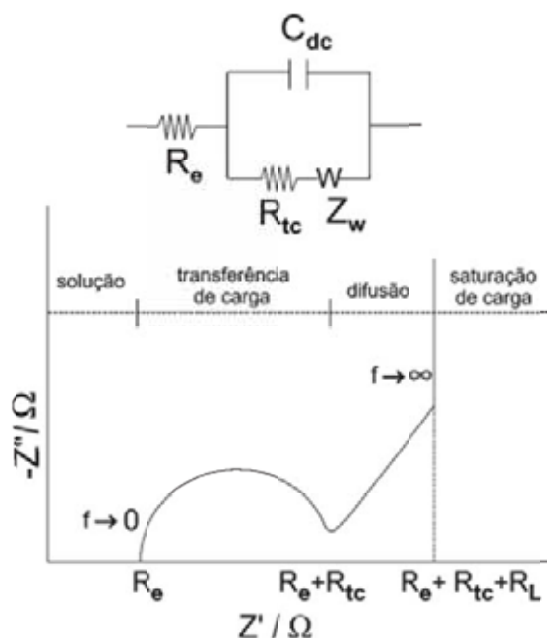


Figura 6. Um modelo de C.E.E. (topo) representando analogamente o modelo de resposta de impedância obtida pelo gráfico de Nyquist (baixo), no qual estão representados duas resistências, sendo a primeira a resistência da solução eletrolítica e a segunda a resistência da

transferência de carga (R_e e R_{tc} respectivamente) associados em série à impedância de Warburg (Z_w) e em paralelo com a capacitância da dupla-camada (C_{dc}).^b

Dessa maneira se pode relacionar cada componente com as propriedades físicas e químicas que melhor representam a resposta do sistema eletroquímico em questão e atribuir valores a cada um desses componentes. Além desse tipo de representação, as respostas de impedância podem ser interpretadas por meio de gráficos conhecidos como Bode e Nyquist (Figura 6), que são maneiras de representar as respostas de impedância em função da frequência aplicada ou da impedância imaginária em função da impedância real, respectivamente.

A impedância tem ampla utilidade nas mais diversas áreas de pesquisa, em termos de aplicações práticas, somando as já citadas no primeiro parágrafo desta seção, ela ainda possibilita a investigação de biomoléculas como o DNA viabilizando o entendimento de suas características de permeabilidade e condutividade (LI et al., 2011). Outro ponto de bastante interesse e frequente investigação é o estudo do efeito de bloqueio proporcionado pelas monocamadas automontadas, que pode ser feito por tióis com efeitos passivadores em meio a soluções eletroativas (CUI et al., 1999; PROTSILO e FAWCETT, 2000; CAMPUZANO et al., 2006; GANESH et al., 2006; GOES, et al., 2012a). Estudar tal efeito de bloqueio pode ser feito de forma ainda mais aprofundada investigando, por exemplo, a constante dielétrica das SAMs, a partir dos valores de capacitância obtidos pelos de valores de EIE (GOES, et al., 2012a).

Um último ponto que é de grande utilidade para investigar as SAMs é a sua aplicabilidade na quantificação de k_s , sobre isso, vale ressaltar o trabalho publicado por Creagere Wooster que demonstra uma fórmula matemática de encontrar o valor de k_s a partir de dados de EIE, utilizando valores de resistência e capacitância, esse assunto será abordado nas seções posteriores (CREAGER e WOOSTER, 1998).

2.3 Espectroscopia de capacitância eletroquímica

A espectroscopia de capacitância eletroquímica (ECS do inglês *electrochemical capacitance spectroscopy*) é uma técnica/metodologia que se

^b Adaptado de CARVALHO, L. A.; ANDRADE, A. R.; BUENO, P. R. Electrochemical impedance spectroscopy applied in the study of heterogeneous reactions at dimensionally stable anodes. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 796-804, Jul-Aug 2006.

baseia completamente na conversão dos valores obtidos, experimentalmente, por EIE para valores de capacitância. Esse procedimento é realizado por meio de expressões matemáticas, gerando assim um segundo espectro que demonstra o efeito de acúmulo de carga do sistema eletroquímico em detrimento a resistência à passagem de carga. Essa forma de análise foi realizada pelo grupo, liderado pelo Prof. Bueno (IQ-UNESP, Araraquara/SP). Basicamente, representa uma nova maneira de abordar os fenômenos interfaciais provocados pela adsorção das SAMs em superfícies metálicas de ouro - que são tidos normalmente de maneira pouco específica na literatura - por outro lado, também permite resolver as questões de queda de resistência ôhmica, relacionados à modificação por monocamadas redox-ativas, baseado em uma forma experimental muito mais fácil (BUENO et al., 2010; BUENO, MIZZON E DAVIS, 2012; GOES, et al., 2012a; Fernandes et al., in press 2013).

Em uma visão simples, antes de tudo, é idealizado que os dados de impedância/capacitância obtidos experimentalmente para uma determinada interface eletrodo/eletrólito podem ser analisados através de um modelo físico-químico que prevê a impedância/capacitância teórica, ou por um circuito equivalente relativamente empírico aos processos físicos e químicos reais. A interface da superfície carregada e a solução eletrolítica podem ser representadas (ou aproximadas) por resistores e capacitores. A carga da superfície é equilibrada por uma região de íons carregada opostamente (contra-íons) conhecida como dupla camada elétrica (Figura 5). A camada mais próxima da superfície, composta dos contra íons ligados à superfície e dipolos de água é chamada de camada de Stern ou camada de Helmholtz. Já a segunda camada consiste em uma atmosfera difusa de contra íons hidratados, cuja característica de comprimento corresponde ao comprimento de Debye e é conhecido como camada de Gouy-Chapman (BARD e FAULKNER, 1982).

Fundamentalmente, se a superfície de um eletrodo metálico é funcionalizada, qualquer molécula carregada capturada na interface com o eletrólito, produz uma mudança tanto na capacitância estrutural, quanto no comportamento elétrico, interfacial. Nos últimos meses, nosso grupo, liderado pelo Prof. Bueno, propôs modelos físico-químicos que possibilitam estabelecer um meio de acessar uma biblioteca inteira de funções potencialmente sensoriais para qualquer determinada interface, mas que ainda carecem de aprofundamentos (em fase de execução). De

qualquer maneira, considera-se que esses modelos proporcionaram – logicamente com suas especificidades experimentais – a análise da resposta dielétrica de EQM com SAMs (GOES, et al., 2012a). Evidentemente, a modificação ocasionada na interface Au/eletrólito, pela adsorção espontânea dos tióis, altera profundamente as propriedades dielétricas da superfície, de modo que a capacitância interfacial pode ser reduzida em ordens de magnitude pela adsorção dos filmes na superfície.

Tal modelo está diretamente vinculado ao efeito capacitivo na interface eletrodo/SAM/eletrólito, o que o torna ideal para ser monitorado pela metodologia (ECS) que está baseada na obtenção dos valores de capacitância eletroquímica e na capacidade em detectar os eventos redox, envolvidos com a alteração das propriedades dielétricas das superfícies, pela funcionalização com alcanotióis de diferentes espessuras. Em termos práticos a técnica ECS mede os efeitos de acúmulo interfaciais, que são controlados pela presença das SAMs na superfície. No sentido eletroquímico, existem duas possibilidades de funcionalização de superfícies metálicas por tióis que apresentam efeitos distintos nas respostas elétricas finais: o primeiro é a funcionalização de superfícies por tióis que apresentam uma espécie redox ativa ancorada em sua cadeia, para essa situação o efeito capacitivo não sofre influências difusionais e exibe um comportamento único. Nesse caso definimos como ECS (EMCS do inglês: *electroactive monolayer capacitance spectroscopy*) para investigar os parâmetros eletroquímicos das SAMs redox-ativas tem o nome de espectroscopia de capacitância para monocamadas eletroativas (BUENO, MIZZON e DAVIS, 2012); Já para a segunda possibilidade, a funcionalização dos tióis apresenta um perfil passivador, isto é, age apenas como isolantes sem interação redox com a superfície, nesse caso a capacitância interfacial apresenta uma nova maneira de ser tratada que foi designada como espectroscopia de capacitância para monocamadas automontadas (SAMCS do inglês: *Self Assembled Monolayer Capacitance Spectroscopy*) (GOES, et al., 2012a).

Em uma interface passivada, o sistema eletroquímico onde as SAMs estão inseridas é um ambiente complexo, a nova figura da dupla-camada elétrica tem um dipolo carregado positivamente na parte que se refere ao grupo funcional em comparação à parte oposta (cabeça), que tem a polaridade negativa, com os dipolos apontando em direção à superfície. Apesar das monocamadas não alterarem sua magnitude dipolar pela aplicação de perturbações de baixa amplitude de potencial, sua orientação pode ser sensível a essas perturbações em uma escala de tempo

dependente da viscosidade do meio. Esse processo está inserido dentro da dinâmica de fluxo de espécie eletroativa dentro e fora do filme movido pela aplicação do potencial (JONSCHER, 1990; GOES, et al., 2012a).

Essas características, as quais foram descritas por Debye e Cole-Cole. (JONSCHER, 1990), são conhecidas como fenômeno de relaxação, que conceitualmente significa um atraso na resposta de um dado estímulo. Dois fenômenos de relaxação estão presentes no ambiente eletroquímico onde a interface está inserida, o iônico e o polar. Porém o assunto é normalmente tratado de maneira pouco específica, como, por exemplo, um termo geral conhecido como resistência não compensada, apesar de tal conteúdo ter, muitas vezes, o potencial de distorcer os resultados finais das análises elétricas. Por esse fato, é importante conhecer todos os motivos envolvidos de forma mais específica, isto é, distinguir claramente quais são as contribuições características que contribuem mutuamente para resposta final.

A relaxação iônica compreende a condutividade iônica e interfacial e o processo de relaxação de transferência de carga no espaço, características predominantes em baixas frequências as quais contribuem para a queda de resistência elétrica em ordens de magnitude maiores do que a resposta devido às variações de polarização. Tais fatores estão relacionados diretamente com os valores de frequência, mais especificamente $\omega C/2\pi$, por isso, a partir de ECS se podem resolver tais termos inespecíficos em respostas mais realísticas do efeito de relaxação de forma bem mais simples e clara. Com isso é possível discernir o termo resistência não compensada em termos de relaxação polar e iônica além de resistência à transferência de carga (GOES, et al., 2012a).

Apesar de a ECS ser uma abordagem nova, ela trata de termos que já são bem aceitos e conhecidos na literatura, isto é, a capacitância. Essa vem sendo ao longo dos anos uma das formas de avaliar os efeitos provocados pelas SAMs na modificação de eletrodos (BERGGREN, BJARNASON e JOHANSSON, 2001). As aplicações da capacitância como forma de detecção/sensoriamento são inúmeras, com grandes vantagens na área de diagnósticos clínicos, por exemplo, QUERSHI, et al. projetou um biossensor para a detecção da CRP, uma proteína que em altas concentrações sanguíneas está associada a doenças cardiovasculares, tal biodispositivo se baseia em medir mudanças dielétricas/capacitivas pela interação

específica da CRP com uma superfície funcionalizada pelos seus respectivos antígenos imobilizados sobre tióis (QUERSHI et al., 2009).

As pesquisas com capacitância datam da década de 80 são relativamente novas, por isso, ainda há muito que se entender a cerca do assunto. A área de biodispositivos sensores ainda está em desenvolvimento e a compreensão de todos os efeitos fundamentais ainda carece de um maior aprofundamento teórico e (co)relacionado (BERGGREN, BJARNASON e JOHANSSON, 2001). A ECS é, em nosso entender, uma metodologia para a elucidação dos fenômenos interfaciais eletroquímicos em que as SAMs se enquadram na condição de fornecer informações de forma mais simples e rápida para as mais diversas áreas, principalmente a de biossensoriamento.

2.4 Formas de análise

2.4.1 Constante heterogênea da transferência de elétrons

A constante heterogênea da transferência de elétrons representa a velocidade de uma reação química e é um indicativo da facilidade com que cada reação ocorre, de modo que quanto maior é a constante k_s maior é a velocidade de formação de produtos (P) pelos reagentes (R) em uma reação global (reversível). (BARD e FAULKNER, 1982)



Uma reação química pode ser de natureza homogênea (espécies no mesmo estado físico) ou heterogênea (espécies em diferentes estados físicos). A velocidade dessas reações pode variar infinitamente e ser tão rápida quanto uma explosão que ocorre em fração de segundos, ou tão lenta que pode levar até anos, como o enferrujamento de metais. Essas velocidades dependem de vários fatores, tais como, a temperatura, a concentração dos reagentes, a energia de ativação etc. O conjunto desses elementos limitantes/determinantes são os que compõem o valor final da constante k_s .

A idéia de medir e de controlar a cinética das reações químicas é extremamente interessante, tanto do ponto de vista industrial, por exemplo, gerando produtos de forma cada vez mais rápida ou controlando uma etapa de produção que precisa ser lenta; quanto do ponto de vista clínico, como no caso do controle de liberação de fármacos no organismo humano que necessitam ter sua liberação dirigida para que os níveis de medicamento não sejam tão altos a ponto de alcançarem níveis tóxicos ou tão baixos que os tornem ineficientes.

2.4.2 Conceito teórico e historicidade: Butler-Volmer

Apesar da história da eletroquímica e do estudo da cinética das reações químicas datar de épocas anteriores, somente depois da contribuição do químico sueco Svante August Arrhenius, a partir do desenvolvimento da equação de Arrhenius, que o maior progresso no entendimento da velocidade dos processos químicos aconteceu. Arrhenius notou, brilhantemente, a dependência da velocidade das reações químicas com a temperatura equacionando isso como descrito abaixo:

$$k = Ae^{-E_A/RT} \quad (5)$$

Em que k representa a taxa de velocidade da reação, A é um termo relacionado com a frequência de colisões dos átomos (teoria das colisões), E_A é a energia de ativação e RT são a constante ideal dos gases e a temperatura em Kelvin, respectivamente. O trabalho de Arrhenius relacionou os elementos fundamentais que governam a velocidade da ocorrência de um processo químico.

Apesar de muitas teorias terem surgido na época para tentar quantificar tais elementos citados no parágrafo anterior, somente o conceito de complexo ativado se tornou o mais aceito e utilizado até hoje. Essa idéia foi criada por Henry Eyring e Jhon C. Polanyi os quais definiram uma teoria em que a condição para a ocorrência da transição dos reagentes para os produtos, era de que os reagentes deveriam receber uma alta quantidade de energia potencial (energia de ativação) e, em um dado instante, esses compostos formariam um novo elemento intermediário (complexo ativado) (Fig. 7).

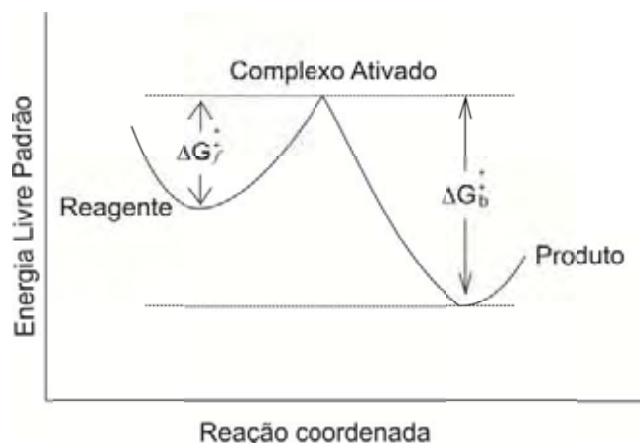


Figura 7 Esquema de transformação de reagentes em produtos, formando o complexo ativado como intermediário; na qual os reagentes recebem as energias de ativação necessárias para a transformação até o complexo intermediário ativado, que são: $\Delta G_f^\ddagger$ dos reagentes para os produtos para finalmente formarem os produtos com um nível de energia menor, $\Delta G_b^\ddagger$ dos produtos para os reagentes.^c

Essa idéia foi crucial para o entendimento e desenvolvimento de novas formas de se calcular a constante cinética, principalmente porque foi possível prever os valores de energia de ativação e do fator frequência. Como ficou bem descrito ao transformar a equação de Arrhenius em uma nova equação:

$$k_s = \kappa \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger / RT} \quad (6)$$

Envolvendo a energia livre de Gibbs ($-\Delta G^\ddagger$), como aquela que representa a energia de ativação necessária para a transformação dos reagentes em complexo ativado e o fator frequência se define pela relação entre o coeficiente de transmissão κ , a constante de Boltzman k_B , a temperatura T e a constante de Planck h (BARD e FAULKNER, 1982). A partir de então, a grande questão da época era: saber exatamente como medir tais fatores, como mensurar experimentalmente cada variável envolvida. Por isso, que, adequadamente, transportou-se tal idéia para ser associada a um sistema eletroquímico, pois, nesse sistema, é possível controlar a energia potencial oferecida aos reagentes e, conseqüentemente, tudo que decorre da reação química subsequente. A aplicação de um potencial afeta a cinética das

^c Adaptado de BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. 1982. 808 p.

reações interfaciais, ou seja, controlando a tensão elétrica aplicada é possível controlar as taxas cinéticas de transferência heterogênea de elétrons.

Uma das principais relações existentes para a quantificação das variáveis envolvendo k_s se devem a Butler e Volmer, que desenvolveram a equação de Butler-Volmer, a qual, entre outras coisas, se resume em fundamentar a dependência da corrente elétrica em função da tensão elétrica aplicada e da cinética com a concentração dos compostos. Essa equação baseia-se nas equações de Tafel e Nernst e se resume a:

$$i = F A k_0 [C_O(0, t) e^{-\alpha f / (V - V^0')} - C_R(0, t) e^{(1-\alpha) f / (V - V^0')}] \quad (7)$$

No qual i como a corrente, F como a constante de Faraday, A_r é a área superficial ativa, k_0 representa a taxa cinética de transferência, $C_O(0, t)$ e $C_R(0, t)$ a concentração dos reagentes, na distância 0 da superfície e no instante t e $f = F/RT$. Assim, tal relação foi de extrema importância para o desenvolvimento de outras, que quantificaram o valor final de k_s , como se basearam, por exemplo, Laviron, Nicholson e outros mais, que serão discutidos nas seções posteriores (NICHOLSON, 1965; LAVIRON, 1979; BARD e FAULKNER, 1982).

Apesar da grande utilidade experimental associada pela equação de Butler-Volmer, outra teoria, também desenvolvida para a fundamentação da constante k_s , é definida como a teoria microscópica de transferência de elétrons, que foi criada pelo canadense, Rudolph Arthur Marcus em 1964 (MARCUS, 1964).

2.4.3 Conceito teórico e historicidade: Teoria de Marcus

A teoria final de Butler-Volmer fundamenta-se em explicar a taxa de transferência eletrônica, k_s , relacionando-a com os fatores ambientais macroscópicos, como a temperatura, concentração, tensão elétrica, etc. Por outro lado, a teoria de Marcus se fundamenta nas interações cinéticas microscópicas, ou melhor, atômicas, como é o caso da natureza do material, a estrutura e natureza das espécies reagentes (BARD e FAULKNER, 1982).

A teoria se objetiva em calcular o valor da taxa de transferência eletrônica das reações químicas entre doadores (reagentes) e receptores (produtos). Dessa forma, é importante distinguir, antes, a natureza dessas reações. Devido a isso, a teoria de

Marcus foi estendida por alguns autores como Hush, Levich, Jortner e outros para descrever a mesma informação para outras naturezas das reações químicas. Nesse contexto, a teoria original (de Marcus) fundamentou-se em calcular a taxa de transferência para as reações superficiais denominadas reações de esfera externa, mas depois foi estendida, por Hush, para ser aplicada nas reações de esfera interna (HUSH, 1958; MARCUS, 1964; BARD e FAULKNER, 1982).

A principal diferença da natureza dessas reações é que as reações de esfera externa ocorrem entre complexos ou compostos de coordenação, os quais não estão diretamente adsorvidos à superfície. Assim, realizam-se trocas eletrônicas por tunelamento ou saltos da espécie reagente para a superfície ou entre as espécies reagentes, ao contrário, as reações de esfera interna estão ligadas por pontes às superfícies e realizam as trocas eletrônicas diretamente (BARD e FAULKNER, 1982). Em outras palavras, as reações de esfera externa não interagem diretamente com o eletrodo, por outro lado as reações de esfera interna estão adsorvidas e reagem em contato com o eletrodo. Apesar de que ambas as naturezas de reações sejam de grande importância no estudo da cinética das reações químicas, as reações de esfera externa são muito mais simples de serem tratadas, pois dependem menos da estrutura e da natureza dos elementos envolvidos (MARCUS, 1964; BARD e FAULKNER, 1982).

Sendo assim, o desenvolvimento da teoria se faz a partir de duas considerações principais. A primeira decorre de que as transferências eletrônicas não recebem contribuições de energia derivada de radiação, o que significa dizer que o elétron é transferido para elementos em um mesmo nível de energia, isto é, uma transferência isoenergética. O segundo ponto de consideração é baseado no princípio de Frank-Condon, que afirma: durante a transferência eletrônica os reagentes não mudam suas configurações ao se transformarem em produtos, isto é, reagentes e produtos partilham da mesma conformação nuclear (MARCUS, 1964; BARD e FAULKNER, 1982).

A consequência de todo esse raciocínio é que a energia livre padrão dos átomos depende da orientação e posição em que eles estão arranjados. Isso, inicialmente, pode ser tomado como visão simples de apenas dois átomos trocando elétrons dependentes a certa distância em uma orientação comum. Porém, um sistema complexo com milhares de complexos moleculares, com variadas posições e orientações entre si é bem mais difícil de prever. Por essa razão, é que essa ideia

inclui o conceito de energia de reorientação e de frequência de colisões (Equação 8) (MARCUS, 1964):

$$\Delta G_f^\ddagger = \frac{\lambda}{4} \left(1 + \frac{\Delta G_0}{\lambda} \right)^2 \quad (8)$$

O termo $\Delta G_f^\ddagger$ representa a energia de ativação necessária para formação dos produtos a partir da energia livre padrão ΔG_0 , enquanto que o termo λ representa a energia de reorientação das espécies, que é a energia necessária para transformar as configurações nucleares dos reagentes e do solvente nas configurações dos produtos. Essa relação é uma das grandes contribuições feitas por Marcus, pois relacionou a energia de ativação, presente nas equações de Arrhenius e Butler-Volmer a fatores microscópicos/atômicos, que são os que regem as leis desse minúsculo mundo. Os elementos estão relacionados a partir da Figura 9 (MARCUS, 1964).

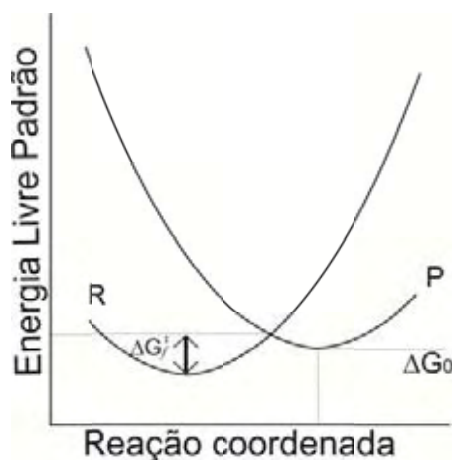


Figura 8 Perfil de energia de ativação para travessia da barreira energética de formação de produtos pelos reagentes, esse perfil foi definido por Marcus como uma nova maneira de interpretação para a teoria de complexo ativado.^d

A partir de então, as equações seguem os modelos baseados na teoria de Arrhenius, como na equação 5 mostrada anteriormente. Aqui os valores da Figura 8 são os mesmos representados para a Figura 7.

A teoria de Marcus foi seguida por muitos pesquisadores e aplicada também a diversas áreas da pesquisa, por exemplo, Bhatti, *et al.* investigou as taxas da

^d Adaptado de MARCUS, R. A. CHEMICAL and ELECTROCHEMICAL ELECTRON-TRANSFER THEORY. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 15, p. 155

transferência heterogênea de elétrons de um composto denominado viologênio e suas variações sobre superfícies de eletrodos de platina, esse elemento está ligado às diversas aplicações industriais, entre elas, a utilização mais comum é seu uso como um potente herbicida, mas também pode ser útil nas indústrias de papel como corantes, ou nas pesquisas fundamentadas em células fotoquímicas. (BHATTI et al., 2006) O trabalho de Bhatti, *et al.* baseou-se em encontrar valores experimentais das constantes cinéticas a partir das informações como frequência nuclear, barreiras energéticas e outros. O método se fundamentou completamente nas equações de Marcus.

O estudo da cinética química de transferência é um dos quesitos mais fundamentais em eletroquímica. Nesse sentido, não seria forçoso dizer que estudar novas aplicações se faz útil para o desenvolvimento da área. A teoria de Marcus é uma forma fundamental bastante específica e precisa para o cálculo das constantes, sua fundamentação teórica é adequada, porém a análise não é trivial.

2.4.4 Metodologias Experimentais para o cálculo de k_s

As teorias citadas anteriormente geraram frutos. A primeira etapa deste processo de quantificação foi analisar o comportamento da superfície objetivando o cálculo da constante de transferência eletrônica heterogênea (k_s) via inicialmente, VC. A constante k_s representa um conjunto das características interfaciais, nesse caso, produto dos aspectos físico-químicos de uma interface eletrodo/eletrólito que contribuem para a cinética da transferência de elétrons em uma determinada interface (BARD E FAULKNER, 1982). Para seu cálculo utilizam-se em sua grande maioria os métodos propostos por Nicholson (1965) e Laviron (1979) ambos têm a técnica de VC como ferramenta primária.

Em um eletrodo modificado pela SAMs, o equilíbrio (eletro)químico na interface pode ser alterado pela passivação provocada pela adsorção (irreversível) do filme na superfície (BARD e FAULKNER, 1982; UCAR et al., 2010). A passivação pelas SAMs é caracterizada em VC pelo aumento da diferença de potencial dos picos redox (ΔV_p). Outra maneira de provocar, ou melhor, alterar a reversibilidade do sistema é aumentar as velocidades de varredura que, por sua vez, promovem uma maior passagem de corrente e proporcionam um aumento na resistência à transferência de elétrons, o que força os picos máximos de corrente (i_p) a deslocarem-se para potenciais mais elevados (o aumento na resistência com a

passivação pelas SAMs também desloca os ΔV_p), aumentando assim ΔV_p , isto é, o sistema é forçado à irreversibilidade (Figura 9).

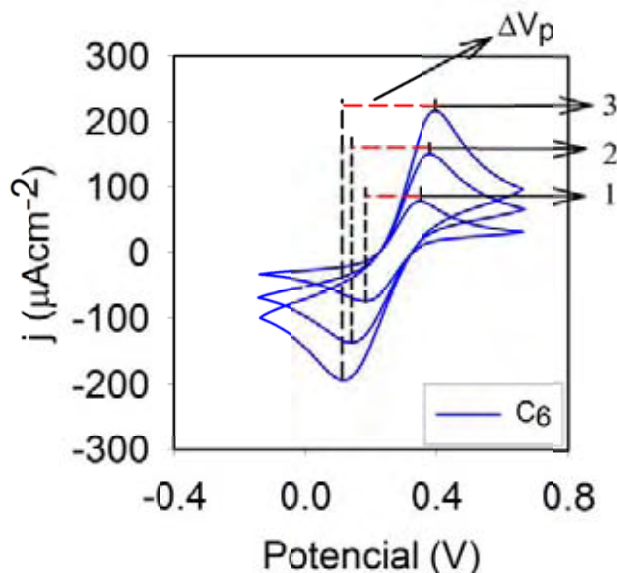


Figura 9. Voltamogramas para diferentes velocidades de varredura. No exemplo, apenas 3 velocidades foram mostradas, em ordem crescente, onde 1 representa a menor velocidade e 3 a maior, para demonstrar o afastamento dos potenciais de pico. 1 - $\Delta V_p = 158$ mV; 2 - $\Delta V_p = 241$ mV; 3 - $\Delta V_p = 288$ mV. A representação refere-se à funcionalização de uma superfície de ouro com o tiol de 6 carbonos (C_6) em eletrólito redox de ferri/ferro na concentração de 1 mmol L^{-1} . Nesse caso o sistema em equilíbrio ideal apresenta um $\Delta V_p = 61 \text{ mV}$, de outra forma, para o C_6 mesmo em velocidades lentas (1) o sistema já está próximo do limite de equilíbrio (~ 200 mV) e para os aumentos da velocidade de varredura (2 e 3) o sistema, se torna irreversível e cada vez mais se distanciará do limite de equilíbrio pelo aumento das velocidades de varredura.

Esse deslocamento de ΔV_p está relacionado com o aumento da resistência que por sua vez tem relação direta com a difusão dos íons em solução. Tanto a passivação quanto o aumento da velocidade causam uma redução ou uma dificuldade de transporte de íons até a superfície, isto é, há uma limitação da difusão, que no caso das SAMs é ocasionado pela baixa permissividade iônica e no caso do aumento da velocidade pela eliminação das correntes geradas pelo transporte de massa (BARD e FAULKNER, 1982). Essas características ou modificações são, basicamente, a ideia central usada por Nicholson e Laviron em seus trabalhos, para calcular a constante k_s .

2.4.4.1 Metodologia de Nicholson

De acordo com Nicholson, sistemas reversíveis, quando submetidos a uma variação da velocidade de varredura, apresentam um comportamento cinético nos

valores mais elevados dessas varreduras. Assim, a taxa padrão constante para transferência de elétrons, o valor de k_s , pode ser determinado levando em conta o aumento de ΔV_p , a velocidade de varredura aplicada e o coeficiente de difusão do meio (NICHOLSON, 1965).

A metodologia proposta por Nicholson está normalmente relacionada a medição da constante em sistemas onde a velocidade da reação química é maior, por isso, situações de impedimento ou alta resistência a transferência eletrônica prejudicam a quantificação de k_s por tal metodologia. Isso decorre do fato, de que cálculo de Nicholson, para a quantificação de k_s , é fortemente dependente do coeficiente de difusão do meio, sendo assim, o método é favorecido em situações sem funcionalização por tióis e concentrações eletroativas relativamente elevadas.

Essa metodologia já foi reproduzida e utilizada por alguns autores que se valeram do cálculo da constante heterogênea de transferência de elétrons para caracterizar compostos químicos, por exemplo, Uçar, *et. al.* usou da metodologia para investigar o comportamento eletroquímico dos derivados do composto 2'-halogenato-4-metoxiazobenzene (corantes de azo $\rightarrow R - N = N - R$), esses compostos estão envolvidos em praticamente 35% de toda produção mundial de corantes, são compostos tóxicos e até mesmo carcinogênicos. Os autores estudaram três derivados distintos: derivados de cloro, de bromo e iodo, além disso, variaram o pH do meio para verificar a influência desse na taxa da reação. O trabalho conclui que as taxas de transferência tiveram seus valores proporcionais ao aumento de pH e ao aumento do tamanho molecular ($I > Br > Cl$) (UCAR et al., 2010).

Outros trabalhos reportam o uso da metodologia que tem sido útil para investigar o comportamento eletroquímico de espécies inorgânicas, como, o Európio(III), Samário (III) e Cério (III) (RAO et al., 2010). Ou mesmo para investigação de compostos orgânicos como no caso de um trabalho publicado por Squella et. al. que investigaram a constante k_s por meio da metodologia de Nicholson para a formação de superóxido sobre eletrodos de carbono vítreo (ORTIZ, NUNEZ-VERGARA e SQUELLA, 2003). Outra metodologia bastante citada foi desenvolvida anos mais tarde por Laviron.

2.4.4.2 Metodologia de Laviron

A metodologia de quantificação do valor da taxa constante de transferência de elétrons, que foi proposta no fim da década de 70 por Laviron, se baseia, na irreversibilidade do sistema, utilizando apenas os valores experimentais das ΔV_p obtidos por VC (LAVIRON, 1979). Tal metodologia consiste na investigação da cinética eletroquímica, através de espécies adsorvidas na superfície (LAVIRON, 1979; UCAR et al., 2010). Nesse caso, o controle pela difusão não é dominante, pois somente o fenômeno de adsorção é usado para o cálculo da constante (LAVIRON, 1979; ECKERMANN et al., 2010; UCAR et al., 2010). Para isso, Laviron notou a necessidade de eliminar qualquer contribuição de corrente pelo transporte de massa do sistema, isto é, eliminar os traços de corrente difusional, o que, pode ser realizado pelo aumento das velocidades de varredura. Dessa maneira, o que Laviron defende é que o aumento das velocidades de varredura começa a limitar a ocorrência de troca redox apenas às camadas mais próximas à superfície de modo que essa limitação chegue a um ponto em que a transferência se realize somente entre as camadas imediatamente aderidas à superfície, garantindo que apenas a *transferência heterogênea de carga* ocorra, e que a velocidade aplicada se compare à velocidade de transferência eletrônica (LAVIRON, 1979).

De tal modo, a metodologia de Laviron fica limitada a situações experimentais onde as velocidades da reação eletroquímica são mais lentas ou tem sua velocidade diminuída, como no caso da funcionalização por alcanotóis sobre superfícies metálicas de ouro e em concentrações eletrolíticas pouco saturadas. Mesmo assim, esse método de quantificação da constante é o mais reconhecido, tendo diversos trabalhos que reproduzem a mesma ferramenta de caracterização eletroquímica de moléculas orgânicas e inorgânicas através de k_s (HORIE, SAKANO E OSAKADA, 2006; ECKERMANN et al., 2010).

A difusão é o principal fator limitante dessa metodologia, assim, quando ocasiões experimentais favorecem o controle por adsorção, favorecem a metodologia de Laviron, mas, o contrário favorece a metodologia de Nicholson. Por essa razão, muitas vezes comparar essas duas técnicas para a mesma situação experimental não é uma boa estratégia de cálculo da constante k_s . Isso foi notado por Uçar et. al. que comparou vários métodos de quantificação da constante em

situações experimentais idênticas, porém obteve resultados destoantes uns dos outros (UCAR et al., 2010).

O ponto abordado anteriormente é a condição primordial para investigar novas metodologias de quantificação da constante, vislumbrando assim uma forma mais rápida, simples e sensível de quantificar k_s .

2.4.4.3 Novas metodologias para quantificação de k_s

Calcular o valor da constante k_s experimentalmente, como visto, é de extrema importância para uma infinidade de aspectos, por isso, alguns trabalhos vêm demonstrando interesse no desenvolvimento de novas metodologias para quantificação da constante com intuito de facilitar e aumentar a velocidade dessas quantificações ou simplesmente adequá-las as técnicas de estudo utilizadas.

2.4.4.3.1 *Metologia de Kingler e Kochi*

Outra das mais conhecidas metodologias para determinar o valor de k_s foi desenvolvida na década de 80, por Kingler e Kochi, que também se basearam na VC para chegar a tal objetivo (KLINGLER e KOCHI, 1981). A metodologia é similar aquela proposta por Nicholson fundamentando-se também na aplicação de diversas velocidades de varredura e no fenômeno de difusão. Apesar disso, há diferenças consideráveis entre os métodos, principalmente porque o método de Kingler e Kochi foi desenvolvido tendo em vista medir a constante k_s através do comportamento de irreversibilidade da eletroredução de compostos metálicos. O trabalho se resume em aplicar a equação 9 para determinação do valor da constante.

$$k_s = (D\beta f_k v)^{1/2} \exp[-\beta^2 f_k (\Delta V_p)] \quad (9)$$

Em que D é o coeficiente de difusão, β é o coeficiente de transferência, $f_k = \frac{nF}{RT}$ já é conhecido e ΔV_p é a diferença entre os potenciais de pico anódico e catódico. Esse método ainda utiliza o fator reversibilidade ($f_{rev.}$) para determinar o erro analítico que pode ser substituído na equação final. Em geral, essa metodologia é bastante útil para a quantificação da constante, porém ainda apresenta as mesmas limitações que as anteriores.

2.4.4.3.2 Impedância (EIE), Creager e Wooster

Um novo método de quantificar k_s desenvolvido no ano de 1998, por Creager e Wooster (CREAGER e WOOSTER, 1998), baseou-se fundamentalmente na técnica EIE para a investigação de monocamadas redox-ativas (quando os elementos redox estão adsorvidos/ancorados à superfície através da molécula de tiol) funcionalizadas sobre eletrodos de ouro imersos em solução eletrolítica de perclorato (HClO_4). O método se baseou em obter os valores experimentais da resistência à transferência (R_{CT}) de carga e a pseudocapacitância interfacial (C_{ad}), associando-os a circuitos equivalentes (Figura 10).

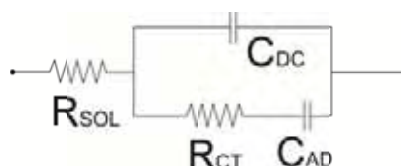


Figura 10 Circuito equivalente, para descrição do efeito da interface eletroquímica. Na qual R_{SOL} representa a resistência da solução eletrolítica, C_{DC} a capacitância da dupla camada elétrica, enquanto que C_{AD} é a capacitância da camada adsorvida e R_{CT} tem seu valor usual; esses elementos representam mutuamente o efeito elétrico apresentado na interface eletrificada.^e

Assim, pelos valores associados aos gráficos de Nyquist, obtidos experimentalmente, se pode estipular o valor de cada variável e utilizar a Equação 10a, para se obter o valor da constante (CREAGER E WOOSTER, 1998; ECKERMANN et al., 2010).

$$k_s = \frac{1}{(2R_{CT}C_{AD})} \quad (10a)$$

Por fim, os valores obtidos através dos gráficos de Nyquist, para o cálculo da constante por Creager e Wooster, necessitam de ajustes (*fittings*) para que possam ser analisados através dos circuitos equivalentes, demonstrados na Figura 10. Esse tipo de tratamento é, conhecidamente, trabalhoso, moroso e dificultam um rápido rastreo da constante k_s . Apesar disso, essa metodologia é bastante eficiente para o cálculo da constante principalmente porque a análise por EIE é extremamente

^e Adaptado de CREAGER, S. E.; WOOSTER, T. T. A new way of using ac voltammetry to study redox kinetics in electroactive monolayers. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 20, p. 4257-4263

sensível e é baseada em valores de frequência, o que leva a uma maior faixa de detecção, não sendo limitada por valores de difusão ou altos limites de velocidades de varredura aplicadas, em outras palavras, a EIE é mais eficiente que a VC para calcular a constante em condições de alta condutividade ou resistência (CREAGER e WOOSTER, 1998; ECKERMANN et al., 2010).

Apesar da equação proposta por Creager e Wooster ser eficiente para detecção da constante cinética k_s , ela é válida apenas para sistemas nos quais o grupo redox está ancorado à superfície por intermediação da molécula de tiol, não é igualmente aplicável a situações em que a espécie redox está dispersa em solução controlada pela difusão. Para o mesmo caso específico de quantificação de k_s para monocamadas redox-ativas, também existe um método muito atual e eficaz para a detecção da constante, esse método foi proposto pelo Prof. Dr. Paulo Roberto Bueno et al. no trabalho “Capacitance spectroscopy: a versatile approach to resolving the redox density of states and kinetics in redox-active self-assembled monolayers” (BUENO, MIZZON e DAVIS, 2012). Mais especificamente, essa técnica é conhecida como *Electroactive Monolayer Capacitance Spectroscopy* (EMCS).

2.4.4.3.3 *Electroactive Monolayers Capacitance Spectroscopy*

No trabalho de Bueno et al. um eletrodo de ouro é funcionalizado com uma camada eletroativa de azurin-hexanotiol. A forma de estipulação de k_s por EMCS consiste, primeiramente, na transformação dos dados de EIE em dados de ECS, as equações para esse procedimento serão descritas posteriormente em resultados e discussão. Após essa etapa Bueno et al. correlacionam as teorias de Marcus-Gerischer com os valores de capacitância através da equação 10b abaixo:

$$C_r = \frac{Ae^2\Gamma}{k_B T} f(1 - f) \quad (10b)$$

Na qual, C_r é a capacitância redox associada às monocamadas redox-ativas e Γ é a densidade superficial molar, f é a frequência e os outros termos já são conhecidos. A partir de então, o trabalho indica que a constante cinética tem associação com a capacitância imaginária e pode ser obtida diretamente pela plotagem de gráficos de Bode e Nyquist das capacitâncias complexas real e

imaginária. Importante é destacar que o trabalho de Bueno et al. demonstra algumas vantagens experimentais com relação ao método de Creager e Wooster, pois na análise de EIE, por exemplo, situações de alta resistência à transferência de carga ficam prejudicadas dificultando a retirada dos valores de resistência necessários para a aquisição da constante, além do mais, as análises de Creager e Wooster dependem de ajustes das curvas para a retirada dos valores das componentes elétricas. Em contrapartida, a técnica de EMCS é bem mais rápida e a aquisição dos valores de k_s é independente de ajustes ou das taxas de resistência do sistema.

Apesar disso, até aqui as técnicas baseadas em EIE não foram aplicáveis a monocamadas com característica passivadoras, imersas em solução em que as espécies eletroativas estão dispersas no meio. Tendo em vista a grande utilização desse tipo de monocamadas, é de vital interesse e igualmente aplicável a detecção da constante k_s para essa funcionalização. Nesse projeto, a mesma ideia de utilização de EMCS foi aplicada, porém de forma inédita para o cálculo da constante k_s em monocamadas passivadoras, logicamente isso requer um outro enfoque, por isso uma nova abordagem de tratamento que será exibida com detalhes na parte de resultados e discussão.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes

Os reagentes são provenientes da *Sigma Aldrich*[®]. Além dos reagentes sumarizados na Tabela 1, utilizou-se durante as análises etanol absoluto, hidróxido de sódio (NaOH) 0,5 mmol L⁻¹, Ácido Sulfúrico (H₂SO₄) 0,1 mmol L⁻¹ e nitrato de potássio (KNO₃) 1 mol L⁻¹.

Tabela 1. Siglas que serão utilizados no texto para os reagentes citados.

Reagentes	Sigla
4-Mercapto-1-Butanol 97%,	C ₄
6-Mercapto-1-Hexanol 97%	C ₆
1-Octanotiol	C ₈
Ferricianeto/Ferrocianeto de potássio	Ferri/ferro

3.2 Procedimentos

Eletrodos de ouro (tarugo de disco rotativo, $\varnothing = 2$ mm, METROHM) foram polidos mecanicamente sobre um pano de polimento embebido em pasta de alumina de granulometria de 0,3 e depois 0,05 μm até atingir o grau de rugosidade desejado.^f

Após o polimento mecânico, uma etapa denominada de dessorção redutiva foi aplicada aos eletrodos de Au que receberam um pré-tratamento eletroquímico para remover completamente traços de impurezas (p.e., tióis previamente estudados) presentes na superfície, pois elas podem diminuir a adsorção dos tióis (MADUEÑO et al., 2001). Para isso, realizou-se a VC com varredura de potencial de -0,5 a -1,5 V vs Ag/AgCl|KCl 3,0 mol L⁻¹ (eletrodo referência) em velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹ (400 ciclos)^g em solução aquosa de NaOH 0,5 mol L⁻¹ (TKAC e DAVIS, 2008).

^f Dependendo do grau de imperfeição da superfície, pode-se prolongar o tempo de polimento por meio de pastas de alumina com partículas de diferentes granulometrias (sempre do maior para o menor tamanho de partículas) até o espelhamento desejado da superfície do eletrodo.

^g Antes e durante todas as medidas eletroquímicas, o gás Ar (argônio) foi borbulhado para remoção de O₂ dissolvido no meio eletrolítico.

Trabalhos reportados na literatura recomendam, para o processo de limpeza da superfície de metais, o uso de solução piranha (solução composta de $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$, na relação 3:1 (v:v), respectivamente). No entanto, pelo fato dessa solução ser tóxica e corrosiva optou-se por não utilizá-la neste trabalho.

Após a etapa de dessorção redutiva o eletrodo foi lavado e, em seguida, sonificado em água Milli-Q por 10 min. Em seguida, o eletrodo foi seco com gás N_2 seguido do processo de limpeza eletroquímica. Esse processo consiste de uma varredura de potencial linear entre potenciais de -0,2 V a 1,5 V vs Ag/AgCl (25 ciclos), seguido por uma varredura de potencial entre 0,2 V a 0,75 V vs Ag/AgCl (10 ciclos), ambos a uma velocidade de 100 mV s^{-1} em solução aquosa de H_2SO_4 $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. A imersão do eletrodo em etanol absoluto após essas etapas é recomendada para a redução química do óxido de ouro na superfície, sendo que deve ser realizada em temperatura ambiente e em condições sem agitação durante 15 a 20 min.

A área eletroquimicamente ativa foi calculada por meio da integração da área do pico anódico de remoção de óxido do último ciclo (25 ciclos) dos voltamogramas obtidos na limpeza eletroquímica, sendo que a corrente capacitiva foi subtraída durante o cálculo. O valor obtido da integração é dividido pela constante de condutividade do ouro ($400 \mu\text{C cm}^{-2}$), ou seja, a determinação da área real do eletrodo se dá pela razão do valor de integração do pico anódico pela constante de condutividade de Au (HOOGVLIET et al., 2000; RODRIGUEZ, MELIAN e PENA, 2000).

A caracterização elétrica foi realizada para o ouro limpo e para imobilização individual de cada uma das moléculas de tióis: C_4 , C_6 e C_8 (ver Tabela 1), todos na concentração de 20 mmol L^{-1} . O tempo de imobilização do eletrodo em solução de tiol variou entre 12-18 h. A caracterização pelas técnicas eletroquímicas foi realizada em meio aquoso (água Milli-Q) de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ e $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ferri/ferro), ambos em concentrações de 0,1, 0,25, 0,75 e $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ com eletrólito de suporte de KNO_3 (1 mol L^{-1}) o pH medido para a mistura eletrolítica foi de $\sim 6,7$. A voltametria cíclica foi obtida com varredura de potencial linear de -0,2 V a 0,6 V (10 ciclos). Os métodos de Laviron (1979) e Nicholson (1965) foram usados para calcular o valor de k_s , exceto para C_8 , pela impossibilidade de obtenção de picos redox, necessários para a determinação da constante cinética. Desta maneira, as velocidades de

varredura foram variadas desde 0,01 até 30 V s^{-1} totalizando 32 velocidades diferentes. Os passos foram variados de acordo com a velocidade de varredura.

As medidas de VC e de EIE foram realizadas no potenciostato/galvanostato da AUTOLAB (PGSTAT302N, METROHM). Especificamente, as medidas de EIE foram realizadas em potencial de circuito aberto ($\sim 0,26 \text{ V}$) vs Ag/AgCl, na faixa de frequência de 1 MHz a 10 mHz e potencial de oscilação com amplitude de 10 r.m.s. O número de ciclos escolhido foi de 200 e o tempo de integração foi de 1 s. Vale ressaltar que todas as medidas foram obtidas em triplicata para eletrodo de ouro puro (Au) e para eletrodo de ouro imobilizado com os tióis (C_4 , C_6 e C_8).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir desse tópico serão tratados os resultados obtidos para cumprimento do objetivo do trabalho, que se resumem em estudar o efeito dielétrico e de bloqueio das monocamadas automontadas através das técnicas eletroanalíticas de VC e EIE, tendo como referência a quantificação dos valores da constante heterogênea de transferência eletrônica (k_s). Um dos frutos desse projeto foi colhido durante as tentativas de funcionalização das monocamadas automontadas sobre as superfícies de ouro. Durante essa etapa, foi realizado um pré-tratamento no eletrodo do qual culminava em uma rugosidade não ideal, tendo como consequência um arranjo/orientação inadequado das SAMs, confirmados por falta de reprodutibilidade das análises eletroquímicas. Assim, a etapa de pré-tratamento foi otimizada, de forma que o controle da superfície alcançou níveis de rugosidade baixos, próximos aos da superfície perfeitamente plana, tendo como resultados uma orientação adequada das monocamadas sobre o ouro. Esses resultados e os passos de obtenção de uma superfície ideal serão demonstrados na seção a seguir e espera-se que seja uma orientação aos iniciantes nessa linha de trabalho.

4.1 Efeito da rugosidade na funcionalização/orientação das monocamadas automontadas.

Inicialmente, um dos primeiros entraves no estudo e análise da resposta elétrica dos eletrodos de ouro modificados pelas SAMs (tióis) se deu pela baixa repetitividade e reprodutibilidade do sistema. Fato esse que limita qualquer tipo de análise ou aplicação de tal plataforma como possível biossensor. Após uma série de medidas e análises sistemáticas da resposta elétrica observou-se variabilidade no fator de rugosidade na superfície do eletrodo de ouro, o qual estava sendo determinante para essa baixa repetitividade e reprodutibilidade. Desta forma, foi investigado todo processo de preparo do eletrodo que envolveu polimento mecânico e eletroquímico.

A VC é uma técnica *in-situ* cuja metodologia de utilização é simples e pela qual se pode avaliar o processo de adsorção do oxigênio sobre o ouro e, a partir daí, calcular a área superfície real. O método envolve a quimissorção de oxigênio na

superfície de ouro em uma varredura de potencial anódico. A cobertura de óxido é dependente da orientação cristalográfica, limite de potencial anódico e tempo anodização, mas essas variáveis são, geralmente, assumidas como reprodutíveis se o mesmo procedimento é utilizado sob as mesmas condições experimentais (HOOGVLIET et al., 2000). A quantidade de óxido formada na superfície pode ser medida por meio da integração do pico de redução do ouro (região quadriculada na Figura 11). A grande precisão da técnica na mensuração da área superficial real se deve justamente ao fato de que a quantidade de entidades que se adsorvem na superfície do metal pode ser medida e, além disso, essas entidades (no caso, o oxigênio) são de dimensões atômicas, o que aumenta a precisão de forma a ter-se praticamente o que é denominado de área real absoluta.

A Figura 11 abaixo mostra a curva de VC do processo de limpeza eletroquímica do eletrodo de *Au*. No voltamograma da Figura 11, pode ser observado que o gás O_2 absorvido na solução do ácido forma um filme de óxido monomolecular sobre a superfície do ouro quando é aplicada uma diferença de potencial superior a 1,0 V (TRASATTI e PETRII, 1991), como é observado pela presença de picos anódicos pouco definidos ao redor de 1,2 V.

A remoção das espécies de oxigênio adsorvidas na superfície do eletrodo de ouro é realizada pela varredura de potencial em direção a potenciais mais redutores. Dessa forma, o cálculo da área da superfície real - expresso pelo fator de rugosidade - é baseado no pressuposto de que uma monocamada de oxigênio adsorvida sobre o ouro possui uma razão de 1:1. Assim, o mínimo de corrente no pico de oxidação de ouro no voltamograma é considerado como uma indicação de que uma cobertura monomolecular é atingida (TRASATTI e PETRII, 1991).

O valor exato da carga requerida para a redução da presente monocamada de óxido depende da composição dos planos cristalinos expostos do ouro. Como consequência, o pico da corrente catódica representa a remoção de uma monocamada de oxigênio da superfície do eletrodo e, com isso, a área superficial pode ser calculada (ou estimada) a partir da seguinte equação (RODRIGUEZ, MELIAN e PENA, 2000):

$$A_r = \frac{n_a \cdot N_A}{d_{as}} \quad (11)$$

Para A_r a área ativa real, n_a o número de mols de gás adsorvido, N_A a constante de Avogadro ($6,0221415 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$) e d_{as} é a densidade atômica superficial do ouro. O valor de n_a representa a quantidade de gás adsorvido na superfície do metal e está diretamente relacionado com a quantidade de carga, o que nos leva a afirmar que $n_a = Q_m/F$, no qual Q_m representa a quantidade de carga calculada a partir da integração do pico da corrente catódica (pico de redução) (Figura 11) e F é a constante de Faraday ($96485,34 \text{ C mol}^{-1}$). A relação N_A/F está relacionada com o processo de transferência de elétrons e podemos substituí-la pela componente carga elementar (e) na Eq. 11. Desta forma, obtém-se:

$$A_r = \frac{(Q_m \cdot N_A)}{F \cdot d_{as}} = \frac{Q_m}{e \cdot d_{as}} \quad (12)$$

Normalmente, a literatura trata o denominador $e \cdot d_{as}$ como uma “constante experimental” que está compreendida entre 390 a 480 $\mu\text{C cm}^{-2}$ para o ouro, esse valor pode oscilar devido à característica superficial do ouro (OESCH e JANATA, 1983; TRASATTI e PETRII, 1991). Sendo assim, o próximo passo é calcular a carga Q_m , via a relação entre a corrente e o tempo.

$$Q = \int_{t_i}^{t_f} I dt \quad (13)$$

Em que t_i e t_f expressam, respectivamente, o tempo onde se inicia e cessa a remoção do oxigênio na superfície do ouro, como mostrado na Figura 11, na região destacada (quadriculada). O potencial em um dado momento é expresso pelo potencial inicial (E_0) menos (no caso de uma varredura para valores mais negativos) o produto entre o tempo e a velocidade de varredura ($v = dE/dt$):

$$V = V_0 - vt \quad (14)$$

Ao isolar a variável tempo t em tempo inicial t_i e tempo final t_f têm-se as seguintes relações:

$$t_i = (V_0 - V_i)/v \quad (15a)$$

e

$$t_f = (V_0 - V_f)/v \quad (15b)$$

Utilizando a notação de diferencial:

$$dt = dV/v \quad (16)$$

Substituindo o diferencial dt na Equação 13 e considerando a velocidade de varredura constante, tem-se:

$$Q = \frac{1}{v} \int_{t_i}^{t_f} Idv \quad (17)$$

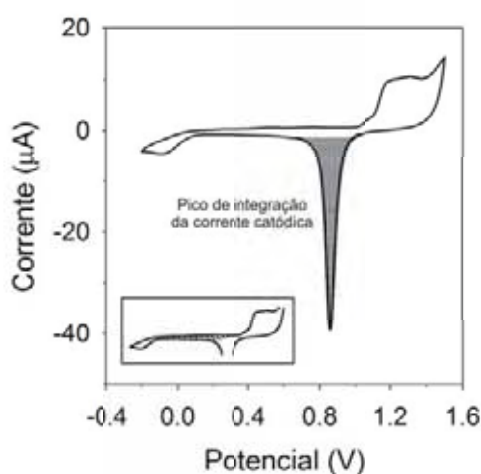


Figura 11. Voltamograma de limpeza eletroquímica do eletrodo de ouro, realizadas em ácido sulfúrico na concentração de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$, à uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} . As regiões em destaque são o pico da remoção de óxido e a zona da dupla camada capacitiva. No presente trabalho foi utilizado a constante ($e.d_{as}$) para o ouro de $400 \text{ } \mu\text{C.cm}^{-2}$. A figura recortada e inserida na parte inferior destaca a região de corrente capacitiva do sistema.

A contribuição capacitiva da corrente pode gerar erro no cálculo da área real, devido a uma pequena região de acúmulo de carga interfacial (zona da dupla camada capacitiva) relacionada à adsorção de hidrogênio ou outros contaminantes (RODRIGUEZ, MELIAN e PENA, 2000). Desta forma, deve-se integrar a região de

corrente correspondente à resposta de dupla camada capacitiva e subtraí-la da Equação 17, obtendo-se finalmente:

$$Q_m = \left(\frac{1}{v} \int_{t_i}^{t_f} IdV \right) - Q_{dc} \quad (18)$$

Na qual Q_{dc} é o valor para a carga da dupla camada capacitiva. Essa região da dupla camada capacitiva está destacada no quadro em destaque inserido na parte inferior da Figura 11. Levando-se em consideração a região do pico da corrente catódica (Figura 11) tem-se, ao integrá-la, um valor de área que é proporcional a Q_m , conforme salientado acima. No caso experimental utilizado (Figura 11) esse valor foi de $Q_m = 35 \mu\text{C}$. Tal valor representa a quantidade total de carga e ao substituir esse valor de Q_m na Equação 12 e dividir pela constante de $400 \mu\text{C cm}^{-2}$ chega-se ao valor de área real ativa, que nesse caso foi de $0,075 \text{ cm}^2$. O fator de rugosidade (f_r) se dá pela relação entre área real ativa (A_r) e a área geométrica (A_g), isto é, $f_r = A_r/A_g$. Sendo assim, como $A_r = 0,075 \text{ cm}^2$ e $A_g = 0,03142 \text{ cm}^2$ (πR^2 em que o raio vale $0,1 \text{ cm}$) tem-se que $f_r = 2,4$, o qual é considerado um valor elevado de rugosidade.

Uma característica chave em eletrodos quimicamente modificados – caso de monocamadas automontadas sobre uma superfície metálica – é sua resposta de transferência de carga na interface eletrodo/eletrólito, em função de um potencial elétrico aplicado ao sistema. O entendimento dessas características é fundamental na construção e/ou utilização como componente nanoeletrônico de funcionalização em biossensores. A resposta que pode ser observada em um processo de reconhecimento interfacial (zona de contato) pode estar, entre outros fatores, diretamente relacionada aos fenômenos de oxidação e redução (picos no voltamograma) e bloqueio à transferência de carga. O último caso é determinado pela característica da monocamada de tiol sobre a superfície de ouro. Essa particularidade pode ser acompanhada pela variação da intensidade dos picos de corrente de oxidação/redução de uma espécie eletroativa (que diminuem com o aumento do bloqueio) em um voltamograma cíclico.

A Figura 12 mostra a VC de eletrodos quimicamente modificados para diferentes fatores de rugosidade. Pode-se observar (Figura 12) que a imobilização

do dodecanotiol (C_{12}) provoca a diminuição das correntes de pico nos três voltamogramas, mostrando, portanto, que há uma diminuição no processo de transferência de carga na interface eletrodo/eletrólito devido ao bloqueio da superfície. Em uma primeira análise é possível dizer que a imobilização foi efetiva sobre a superfície do ouro. Contudo, se observa respostas de transferência de carga diferentes de acordo com a variação da área ativa do eletrodo de ouro em cada voltamograma cíclico, uma vez que a diminuição nos picos de oxidação e redução não são similares para os três eletrodos analisados.

Outro ponto a ser destacado é que essa diminuição na corrente é maior para baixos valores no fator de rugosidade. Assim, tem-se que quanto menor o fator de rugosidade, maior é o bloqueio da superfície, o que fortemente sugere que o menor fator de rugosidade permite maior compactação da monocamada formada. Na literatura os valores aceitáveis e reportados para fator de rugosidade podem ser entre $f_r = 1,5 - 1,8$ (UNTEREKE e BRUCKENS 1974; RODRIGUEZ, MELIAN e PENA, 2000) e um trabalho relata um valor ainda menor ($f_r \sim 1,2$) (HOOGVLIET et al., 2000). Uma vez que foram utilizadas as mesmas condições experimentais no presente trabalho, assume-se que as diferentes respostas eletroquímicas estão relacionadas à rugosidade da superfície do eletrodo de ouro, visto que é o único parâmetro modificado no sistema.

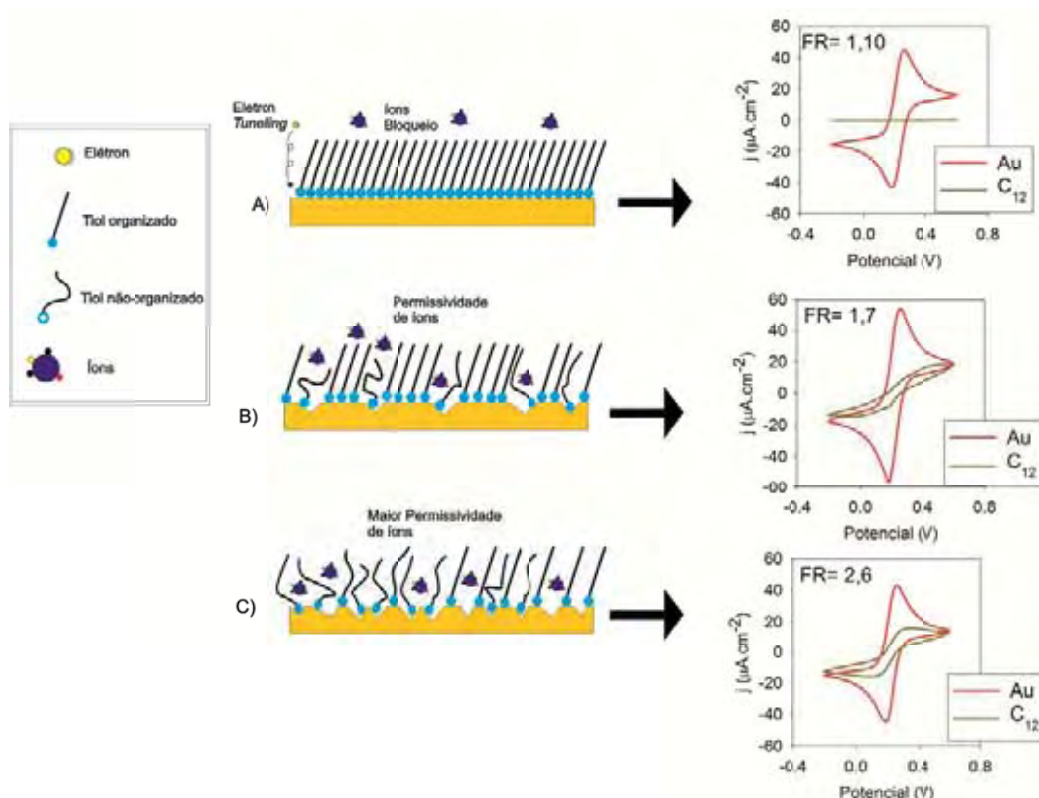


Figura 12. Representação esquemática do efeito da rugosidade da superfície do eletrodo de ouro na imobilização e cristalização da monocamada formada pela molécula de dodecanotiol e a sua correlação com a resposta de voltametria cíclica correspondente. O experimento foi realizado contra uma concentração de espécie eletroativa de ferro/ferro de 1 mmol L⁻¹ em temperatura ambiente. A situação da Figura 12A demonstra o efeito de um bom controle do fator de rugosidade na funcionalização das monocamadas, esse efeito está ligado a melhor organização dos tióis sobre a superfície de Au gerando um bloqueio mais efetivo demonstrado no voltamograma posicionado ao lado direito da figura; em contrapartida as Figuras 12B e 12C demonstram uma pobre organização das monocamadas de tióis, devido a uma superfície muito abalada, as interações laterais são prejudicadas e como consequência há uma maior passagem de carga medida pela VC, demonstradas nos voltamogramas como uma presença de comportamento redox nos gráficos em amarelo para o tiol de 12 carbonos (C₁₂).

Além da resposta eletroquímica ser distinta para diferentes rugosidades superficiais, a reprodutibilidade do experimento diminui, pois é mais difícil de obter a mesma organização da monocamada do dodecanotiol com o aumento da rugosidade superficial. Pode-se observar na Figura 13 que para fatores de rugosidade mais elevados a resposta do sistema não é a mesma. Para fatores de rugosidade superiores a 2,0 (Figura 13A e Figura 13B) a reprodutibilidade é dificultada de acordo com os experimentos realizados. No entanto, para fatores de rugosidade mais próximos da unidade (Figura 13C e Figura 13D) observa-se um padrão voltamétrico similar e a dispersão com relação aos padrões voltamétricos é menor.

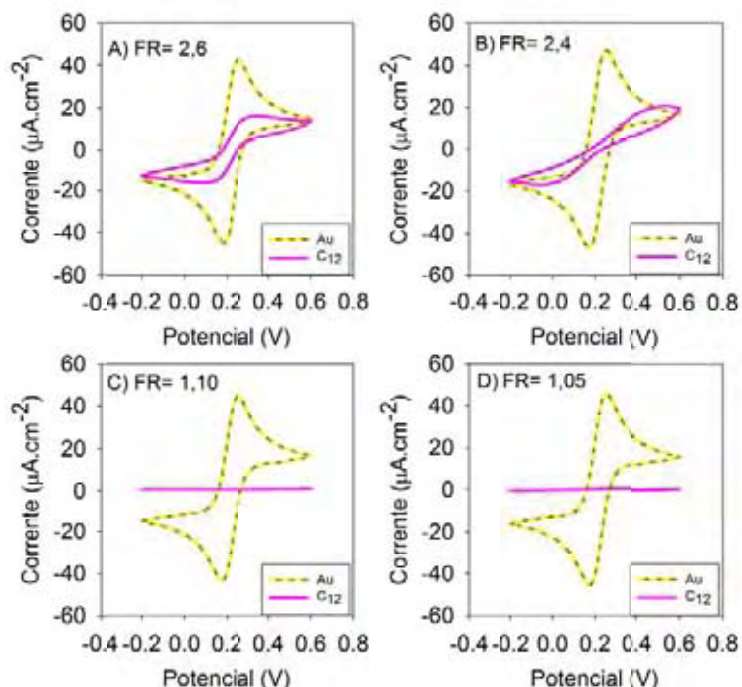


Figura 13 Voltametrias cíclicas do ouro limpo (Au) e da superfície modificada com o dodecanotiol (C_{12}) para sistemas com fator de rugosidade superior a 2 (curvas a e b) e próximos da unidade (curvas c e d). Meio eletrolítico de ferro/ferro 1mmol.L^{-1} em eletrólito de suporte KNO_3 1mol.L^{-1} . (A) $\text{FR} = 2,6$, (B) $\text{FR} = 2,4$, (C) $\text{FR} = 1,10$ e (D) $\text{FR} = 1,05$. Esta figura mostra a influência do fator de rugosidade nos padrões voltamétricos. Pode-se observar que padrões voltamétricos são similares e com pouca dispersão do seu padrão quando são obtidos fatores de rugosidade próximos de 1 (ou melhor, quando são mais próximo do valor ideal, onde é esperada boa ordenação e melhor compactação das monocamadas).

A técnica de VC é uma ferramenta bastante útil quando se quer observar qualitativamente se houve uma redução (bloqueio) no processo de transferência de carga na interface do eletrodo. Por outro lado, com o uso de outras técnicas, tal como a EIE, é possível estimar a resistência de transferência de carga do sistema. Ainda que o foco nesta etapa do trabalho não seja uma análise quantitativa, o que implicaria em ajustar as curvas obtidas com funções que descrevem a impedância de um circuito elétrico equivalente, os gráficos de espectroscopia de impedância para ouro limpo (Au) e da superfície modificada com o dodecanotiol foram analisados e os padrões estão apresentados na Figura 14. O intuito dessa análise foi comparar se o valor de resistência à transferência de carga era reprodutível para os eletrodos com alto (Figura 14A e Figura 14B) e baixo (Figura 14C e Figura 14D) fatores de rugosidade.

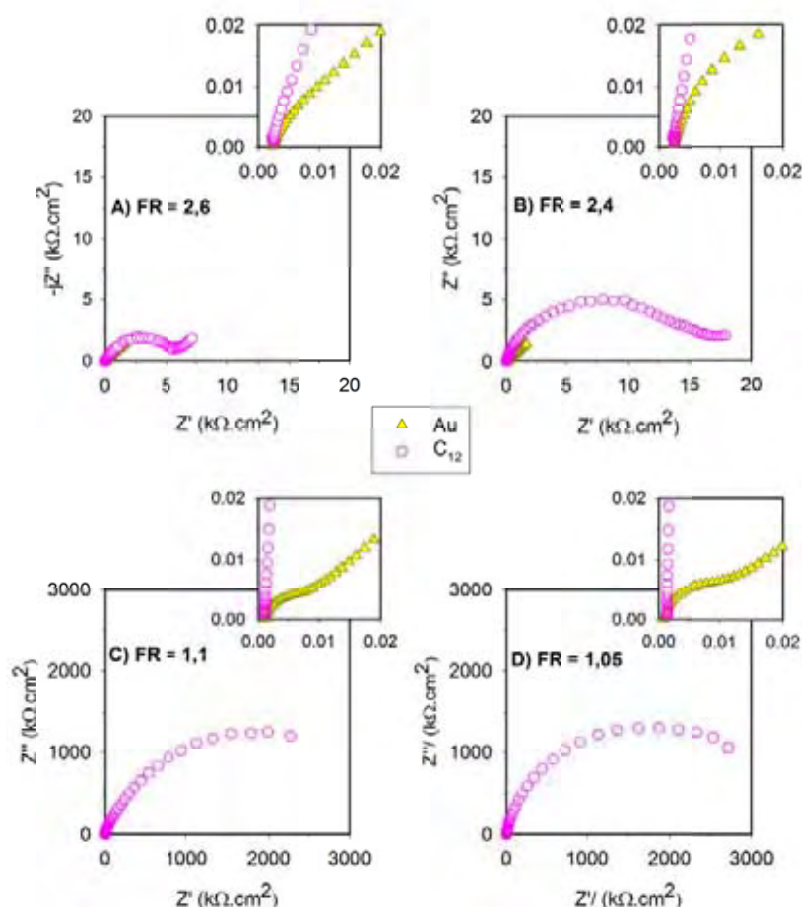


Figura 14 Gráficos de Nyquist comparando os fatores de rugosidade do ouro limpo (Au) e da superfície modificada com o dodecanotiol (C_{12}) os experimentos foram realizados em potencial de circuito aberto, em uma amplitude de 10 mV, contra uma concentração de eletrólito redox de 1 mmol L^{-1} em temperatura ambiente. As figuras 14A e 14B foram medidas em superfícies com fatores de rugosidade superiores a 2,0, o que representa um fator de rugosidade ruim, isso como demonstrado gera uma dispersão das respostas impossibilitando a reprodutibilidade dos experimentos; já em superfícies com o FR controlado próximo a unidade as respostas são bem mais próximas além de demonstrar um efeito de bloqueio muito maior, o que evidencia uma melhor orientação das monocamadas.

Em uma análise qualitativa dos resultados apresentados na Figura 14 há dois pontos principais a considerar. O primeiro é que para $FR \cong 1$, o processo de transferência de carga apresenta uma resistência muito maior do que para os sistemas no qual o $FR \geq 2$. No caso da resposta da impedância para o eletrodo imobilizado com C_{12} , por exemplo, observa-se que para um $FR = 2,6$, uma resistência de transferência de carga (R_{tc}) de $5,0 \text{ k}\Omega.\text{cm}^2$ é obtida (Figura 14A), enquanto no caso do $FR = 1,05$ a R_{tc} é igual a $2000 \text{ k}\Omega.\text{cm}^2$ (Figura 14D). Essa diferença é na ordem 400x na resposta de R_{tc} do eletrodo mostrando que o FR

interfere significativamente no sinal elétrico do eletrodo. Um segundo ponto a considerar é que para fatores de rugosidades distante da unidade, a reprodutibilidade da resposta eletroquímica é comprometida. Comparando a R_{tc} do eletrodo nas Figura 14A e Figura 14B pode-se observar uma diferença acentuada, tanto para o eletrodo limpo, quanto para a situação após a modificação com a monocamada C_{12} . Por outro lado, em uma situação em que fatores de rugosidades estão próximos da unidade a resposta eletroquímica é praticamente equivalente, pois apresentam uma R_{tc} muito próxima em ambos os eletrodos. Esse fato pode ser observado para resposta eletroquímica do ouro limpo mostrado nas Figura 14C e Figura 14D, nas quais observa-se um valor de R_{ct} equivalente em torno de $12,5 \Omega \text{ cm}^2$. Esses resultados mostram claramente que a área ativa (consequentemente, o FR) do eletrodo está diretamente vinculada a uma resposta eletroquímica coerente ou não, fato que pode comprometer a utilização das SAMs (no caso os alcanotióis) como suporte em outros tipos de estudos como EQM.

4.2 Resultados: Voltametria Cíclica

Os resultados obtidos por VC permitiram avaliar o grau de atividade redox do meio eletrolítico frente à superfície de ouro limpa e modificada. Nesse caso, o eletrólito ferri-ferro teve sua concentração variada sendo proporcional aos picos de oxidação e redução dos voltamogramas. Da mesma maneira, os tióis adsorvidos sobre o ouro influenciam no livre fluxo de carga entre o meio e a superfície criando uma nova resistência à transferência eletrônica. A Figura 15 a seguir demonstra os resultados obtidos experimentalmente para as situações expressas.

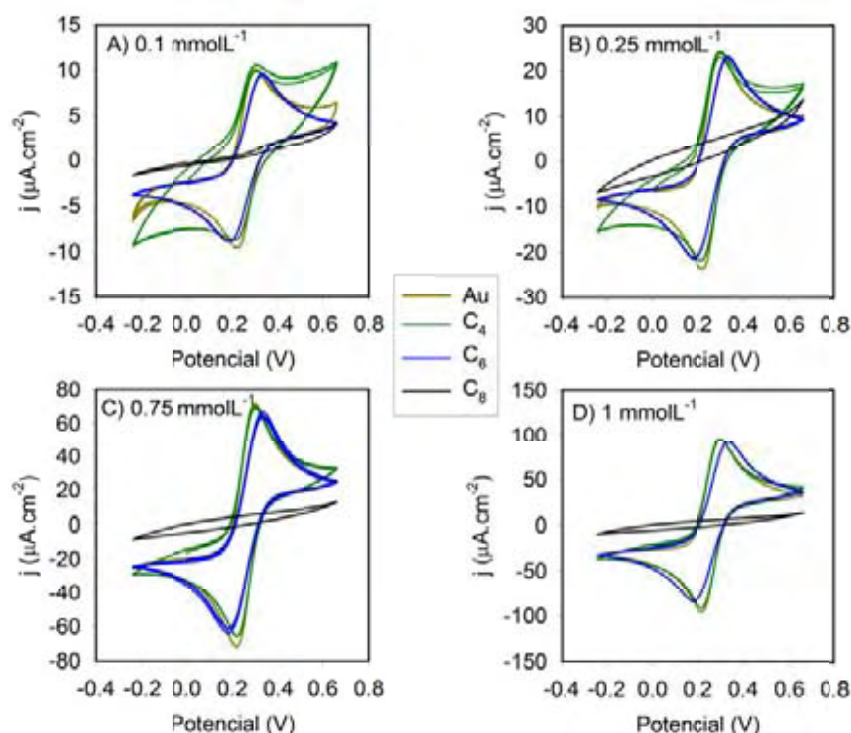


Figura 15. Voltamogramas, para funcionalização de 3 diferentes tióis: C_4 (Verde), C_6 (Azul) e C_8 (Preto) comparados contra Au (Amarelo). Medidas realizadas em concentrações distintas de eletrólito de espécie redox: 0,1, 0,25, 0,75, e 1 mmol L⁻¹. As figura 15A, 15B, 15C e 15D demonstram o efeito do bloqueio ocasionado pelas diferentes espessuras de tiol, que é proporcional ao número de metilenos da cadeia carbônica desses compostos.

Os voltamogramas demonstram o comportamento redox similar em Au, C_4 e C_6 , isto é, os picos redox praticamente não se deslocam, ou mesmo diminuem, havendo pouca variação visual da resposta de bloqueio desses tióis. De outro modo para C_8 ocorre um bloqueio bem mais visível. Isso é condizente com os resultados encontrados na literatura, que são explicados pelo fato de que os tióis de cadeias curtas apresentam uma menor densidade de empacotamento, em outras palavras, o número de ligações entre as cadeias laterais é menor, pelo fato de haver uma menor quantidade de átomos interagindo entre si na cadeia curta, provocando uma menor estabilidade do filme, o que indica uma maior permissividade elétrica, permitindo um maior fluxo de elétrons Au/Meio (BOUBOUR e LENNOX, 2000; PROTSAILLO e FAWCETT, 2000). Já em tióis de cadeias mais longas, as interações laterais estão presentes em maior número, o que aumenta a estabilidade do filme (muitos autores até citam uma espécie de cristalinidade nos filmes mais longos), diminuindo a permissividade e consequentemente aumentando o poder de bloqueio (BOUBOUR e LENNOX, 2000; PROTSAILLO e FAWCETT, 2000). Além disso, o poder de

isolamento é inversamente proporcional ao aumento da concentração de espécie eletroativa, já que com um maior número de portadores ocorre um aumento na probabilidade de ocorrência da transferência eletrônica.

Os efeitos de bloqueio apresentados pelos voltamogramas são uma forma qualitativa de visualizar os resultados da funcionalização de tióis. Por isso, é possível por VC, quantificar o efeito dielétrico provocado utilizando-a para calcular a constante heterogênea de transferência eletrônica. Nesse projeto, as duas metodologias realizadas para o rastreamento de k_s através de VC basearam-se nas metodologias de Nicholson e de Laviron. As próximas seções constarão dos cálculos, procedimentos e resultados utilizados para a reprodução das metodologias e, consequentemente, o cálculo dessa constante.

4.3 Nicholson

O cálculo da metodologia de Nicholson, como descrito anteriormente, é fortemente associado ao coeficiente de difusão iônico do meio e a velocidade de perturbação aplicada, o que pode ser associado a um ponto de destaque da metodologia, pois ela é normalmente utilizada para o cálculo da constante em sistemas eletroquímicos com alta velocidade de transferência, isto é, onde a difusão é mais facilitada e o equilíbrio químico é pouco afetado. Por isso, nesse trabalho a metodologia foi reproduzida para avaliar a constante cinética apenas na situação sem funcionalização por alcanotióis, ou seja, por Nicholson foram medidas as constantes cinéticas do ouro (Au) sem funcionalização.

De modo que, o cálculo descrito por Nicholson para quantificar k_s em cm.s^{-1} se baseia em uma pequena variação cinética provocada pela aproximação “forçada” do sistema ao limite do equilíbrio, tal quantificação é dada pela Equação 19 à frente (NICHOLSON, 1965):

$$k_s = \frac{\Psi\sqrt{\pi a D}}{\gamma^\alpha} \quad (19)$$

Sendo que a constante de difusão, D , nesse caso, poderá ser tanto anódica quanto catódica (já que para um sistema em equilíbrio a difusão anódica, D_a e a

catódica, D_c , são iguais, isto é, $D_a/D_c \cong 1$). O coeficiente de difusão assim como a própria constante de transferência de elétrons, pode ser calculado de muitas formas e, dependendo do meio utilizado às metodologias podem apresentar valores variáveis (UCAR et al., 2010). Uma das maneiras comuns de se calcular o valor de D é pela equação de Randles-Sevick. Nessa equação o valor de D se dá, relacionando os valores de corrente de pico (i_p anódico ou catódico) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$), e pode ser estimado pela Equação 20 que segue.

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A_r D^{1/2} C v^{1/2} \quad (20)$$

Na qual n é o número de elétrons transferidos, e é o valor da carga elementar, v a velocidade de varredura aplicada e A_r representa a área real e C a concentração utilizada.

Os valores de Ψ tratados na Equação 19 são dependentes do termo γ^α que é um valor próximo a 1, e que por sua vez é dependente do equilíbrio e dos coeficientes de difusão (anódico e catódico). Basicamente, a condição para o cálculo de Nicholson é a manutenção do sistema dentro do equilíbrio, assim, quando o sistema ultrapassa os limites de reversibilidade a difusão começa a ser afetada, desse modo ΔV_p precisa ser mantido em uma faixa intermediária de valores (63 e 212 mV). A não manutenção dessa condição implica na invalidação da Equação 19, pois os valores de Ψ apresentarão erro analítico em virtude da variação da relação γ^α . Em suma, o fator Ψ está correlacionado com os valores de ΔV_p e a cinética do sistema, que estão embutidos na Equação 19 (Figura 16).

Por fim, o último termo da Equação 19, o valor α , é uma constante que correlaciona os limites de frequência, nesse caso a velocidade de varredura aplicada para cada ΔV_p . O seu valor pode ser obtido pela Equação 21 a partir de:

$$\alpha = \frac{nFv}{RT} \quad (21)$$

R é a constante ideal dos gases, T é a temperatura (em Kelvin), v é a velocidade de varredura aplicada e os outros valores têm seus significados usuais.

O método de Nicholson requer que o sistema esteja em equilíbrio contínuo, por isso velocidades de varredura muito elevadas não são consideradas (UCAR et al., 2010). Nicholson ainda afirma que valores de Ψ maiores que 7 e menores que

0,5 podem gerar um erro de até 20% nas aproximações, por esse motivo a faixa de intervalo das ΔV_p tem seus valores assegurados com menor probabilidade de grande erro analítico entre 63 e 105 mV.

A obtenção de k_s pelo método de Nicholson é, portanto, fortemente atrelada ao controle difusional e, desta forma, não é exata quando este controle é afetado, o que pode limitar a metodologia. Por exemplo, quando a concentração dos portadores é baixa, ou a superfície apresenta algum nível de bloqueio igual ou superior aos aqui apresentados para as mesmas situações experimentais.

Os passos a seguir resumem a reprodução do tratamento dos dados de VC, que se definem pela retirada dos potenciais de pico dos voltamogramas de cada velocidade aplicada, para a situação experimental já citada. A partir de então, a diferença de potenciais de pico ΔV_p é utilizada para encontrar os valores de ψ a partir do gráfico apresentado por Nicholson (1965) (Figura 16).

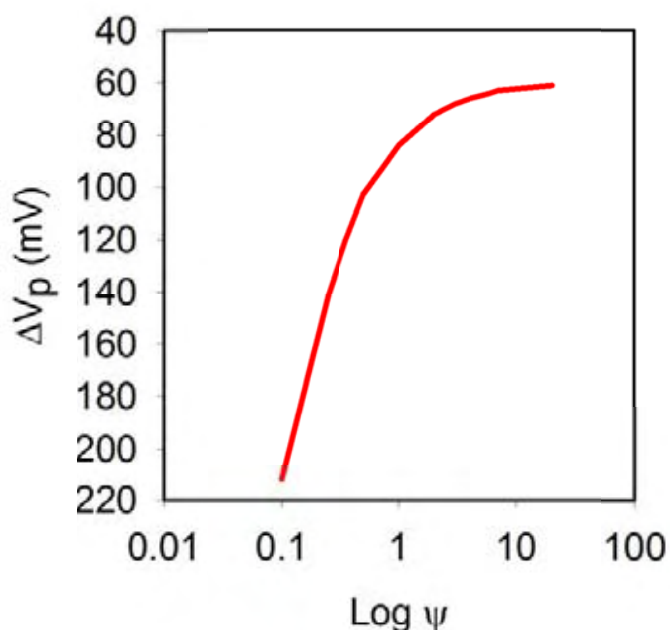


Figura 16 Gráfico de Nicholson para retirada de ψ a partir de ΔV_p . Os valores estão demonstrados por Nicholson em uma tabela que relaciona vários valores de ΔV_p com ψ .

A replicação do método de Nicholson, gerou os resultados dos valores da difusão e do valor da constante cinética na superfície de Au limpa contra as 4 concentrações de eletrólito de par redox estão dispostos na Tabela 2 e 3.

Tabela 2. Coeficientes de difusão medidos para um eletrodo de Ouro limpo sobre diferentes concentrações de espécie eletroativa (ferri-ferro).

Concentração mmolL ⁻¹	Coeficiente de Difusão (D) (x 10 ⁻⁵) cm ² s ⁻¹
0,1	2,4
0,25	1,8
0,75	1,15
1	1

Por fim, o cálculo dos valores de α pela Equação 21 foram realizados para as velocidades entre 0,01 a 2 V s⁻¹ e variaram entre os valores 1,5 a 77,8. Como resultado do cálculo (Eq. 19) os valores da constante obtidos por metodologia de Nicholson estão presentes na Tabela 3.

Tabela 3. Valores de k_s para Au limpo nas concentrações experimentais de ferri-ferro.

Au	
Conc. (mmolL ⁻¹)	k_s (s ⁻¹)
0,1	101,5
0,25	218,7
0,75	445,6
1	464,9

No caso apresentado aqui, os valores da constante pelo método de Nicholson estão apresentados como s⁻¹, pois o cálculo da constante foi normalizado pelo resultado da razão entre a concentração (mol.cm⁻³) e o grau de cobertura da superfície (~10 x 10⁻¹² mol.cm⁻²), a metodologia foi realizada de acordo com os trabalhos de Song *et al.* e Campuzano *et al.* (SONG *et al.*, 1993; CAMPUZANO *et al.*, 2006).

Assim os valores encontrados para a constante cinética seguiram a tendência esperada, já que foram proporcionais à concentração de portadores de carga e inversamente proporcionais ao tamanho do bloqueio. Em outras palavras, a constante heterogênea de transferência de elétrons é proporcional ao aumento da concentração da espécie redox, uma vez que esse fator contribui com o aumento do número de colisões (fator frequência) sendo necessária assim uma menor quantidade de energia de ativação para alcançar a barreira energética. Fato esse

que está de acordo com o que prevê as equações de Arrhenius, Butler-Volmer e Marcus.

4.4 Laviron

Pelo fato da metodologia de Laviron basear-se no fenômeno da adsorção, é necessário que a difusão iônica seja limitada, isso pode ser realizado experimentalmente, como afirmado por Laviron, elevando as velocidades de varredura a um limite tal que alcancem a própria velocidade heterogênea, por isso, a metodologia de Laviron foi reproduzida utilizando uma faixa de aplicação de diversas velocidades de varredura (uma para cada voltamograma) que vão de velocidades muito lentas até mais rápidas ($\leq 0,01 \text{ Vs}^{-1}$ e $\geq 60 \text{ Vs}^{-1}$).

Assim, a partir dessas velocidades são gerados voltamogramas, os quais apresentam nas velocidades de varredura lentas (até 1 V s^{-1}) um comportamento comum, o que decorre que a difusão ainda segue operante, de forma que os ΔV_p apresentam pouca diferença entre um e outro voltamograma (Figura 17a). Por outro lado, desde velocidades mais elevadas (acima de 1 V s^{-1}) as diferenças de ΔV_p começam a aumentar de forma mais pronunciada entre cada gráfico (Figura 17b). Esses comportamentos geram duas regiões a primeira relacionada ao processo de transferência em condições lentas e outra relacionada a velocidades altas (Figura 17).

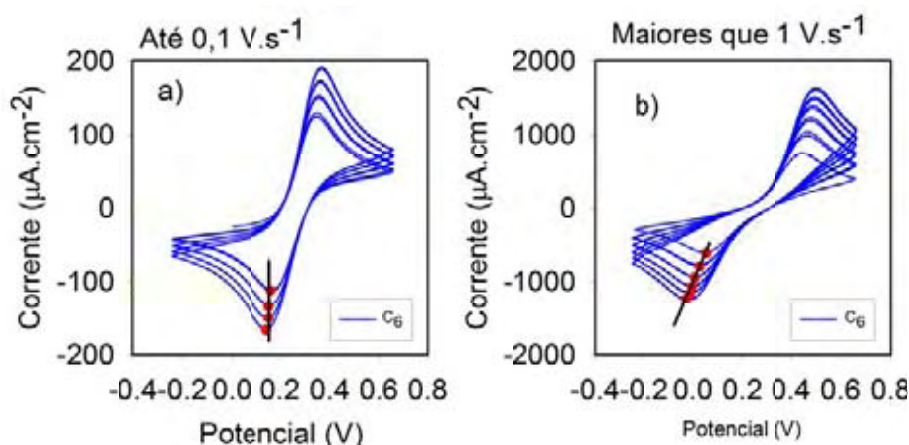


Figura 17. Análise de voltametria cíclica para eletrodo de ouro com imobilização de C_6 , a concentração do eletrólito foi de 1 mmol L^{-1} . A Figura 3a mostra uma variação praticamente nula/linear do potencial em velocidades muito baixas (até $0,1 \text{ V s}^{-1}$). Os valores onde a corrente é máxima em cada velocidade aplicada tem um valor proporcional de potencial aplicado (no caso da parte anódica o potencial de pico anódico V_{pa} e o catódico V_{pc}) enquanto que a Figura

3b revela que em velocidades altas (maiores que 1 Vs^{-1}) há um grande deslocamento dos potenciais de pico e consequentemente o distanciamento de ΔV_p . Isso pode ser explicado pelo fato de que há um aumento da necessidade energética devido ao menor intervalo de tempo com que ela é oferecida para a realização da troca redox.

A tendência da inclinação indica que as correntes resultantes estão se limitando ao processo de transferência heterogênea entre o par redox, imediatamente adsorvido, e o eletrodo. O valor da inclinação obtido em velocidades muito elevadas (acima de 1 V s^{-1}) é necessário para determinar o parâmetro relacionado ao coeficiente da transferência de elétrons (α), o qual está relacionado com a energia de barreira do sistema eletroquímico e, é essencial para o cálculo final da constante k_s (LAVIRON, 1979; ECKERMANN et al., 2010). De acordo com Laviron α e $1 - \alpha$ podem ser calculados a partir de:

$$\text{Inclinação catódica} = \frac{-2,3kT}{(1 - \alpha)ne} \quad \text{ou} \quad \text{Inclinação anódica} = \frac{2,3kT}{\alpha ne} \quad (22)$$

sendo $k/e = R/F$ uma constante que relaciona a constante ideal dos gases e a constante de Faraday, T a temperatura em Kelvin e n o número de elétrons transferidos.

O coeficiente de transferência (α) é a medida da simetria da barreira de energia da reação redox. Em sistemas ideais seu valor é 0,5, em qualquer sobrepotencial, e que em sua grande maioria, não é obtido, uma vez que os sistemas estão, em sua grande maioria, fora da idealidade. Essa é uma das limitações do método proposto por Laviron, que para o seu uso isso deve ser levado em consideração. Porém, o cálculo de k_s pode ser considerado se os valores de α estiver entre $0,3 \leq \alpha \leq 0,7$, pois de acordo com Laviron o erro ainda pode ser considerado relativamente aceitável (cerca de 6%) (LAVIRON, 1979).

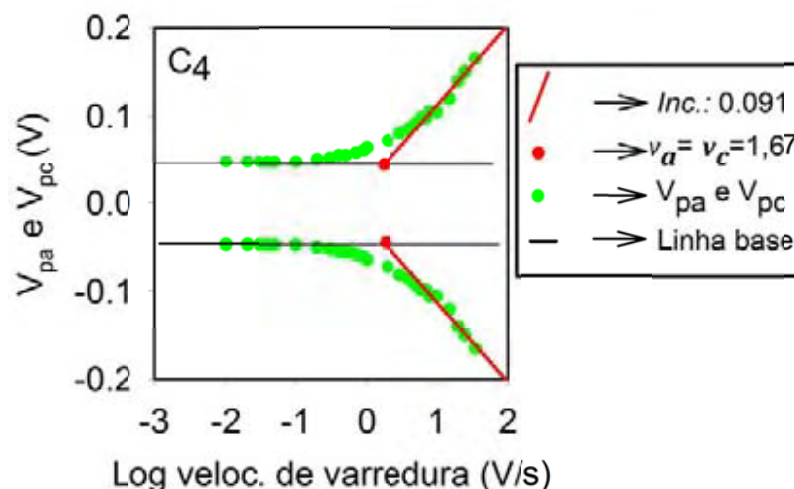


Figura 18. Valores de potenciais de pico anódico e catódico, V_{pa} e V_{pc} (V) em função do logaritmo da velocidade de varredura ($V s^{-1}$). A inclinação da reta (Inc.) formada a partir das velocidades mais altas, nesse caso com valor de 0,091; v_a e v_c (pontos em vermelho que marcam a reta) são as velocidades limite de onde as inclinações tocam a linha base das velocidades lentas que, nesse caso as duas são iguais e tem o valor de $1,67 V s^{-1}$. O sistema em que foi realizado o exemplo da figura é a funcionalização de C_4 na concentração de eletrólito ferri/ferro de $0,1 mmol L^{-1}$.

Os valores de α podem ser estipulados, a partir das variações de ΔV_p experimentais, graficamente representadas em função do logaritmo da velocidade de varredura (Figura 18).

Os valores de v_a e v_c são obtidos (como apresentado na Figura 18) pelo ponto onde as Inc. tocam a reta base horizontal, aqui demonstrados como: $1,67 V s^{-1}$. A partir dessas informações é possível calcular k_s pela Equação 23:

$$k_s = \frac{(1-\alpha)nev_c}{kT} \text{ ou } k_s = \frac{\alpha nev_a}{kT} \quad (23)$$

A metodologia de Laviron foi realizada para as ocasiões de funcionalização dos alcanotióis C_4 e C_6 , nesse caso, não foi possível realizar o cálculo de C_8 , pois para tal metodologia é necessário a formação de picos redox, o que não foi possível nos voltamogramas de C_8 como demonstrado na Figura 15. Nessa análise o cálculo de k_s foi realizado apenas pela metodologia SAMCS/ECS que será abordada nas seções posteriores.

O objetivo de se realizar a plotagem dos potenciais de pico pela velocidade de varredura é para calcular os valores de $1 - \alpha$ e α e captar os das velocidades limite (v_a e v_c). Assim, através das Equações 22 e 23 encontrar os valores dos coeficientes

de transferência α e $1 - \alpha$ e finalmente calcular k_s . Os Valores dos coeficientes de transferência estão descritos na Tabela 4 abaixo.

Tabela 4. Valores dos coeficientes de transferência α e $1-\alpha$, para os tióis de 4 e 6 carbonos (C_4 e C_6).

Conc. Mmol L^{-1}	α e $1 - \alpha$ (C_4)	α e $1 - \alpha$ (C_6)
0,1	0,5	0,6
0,25	0,5	0,6
0,75	0,5	0,7
1	0,3	0,7

Por fim o cálculo realizado por meio da Equação 23 tem como resultado final os valores de k_s que estão dispostos na tabela a seguir.

Tabela 5. Valores das constantes k_s , obtidos pela metodologia de Laviron, para as funcionalizações C_4 e C_6 .

Conc. (mmol L^{-1})	$C_4 - k_s$ (s^{-1})	$C_6 - k_s$ (s^{-1})
0,1	35,18	0,71
0,25	43,78	0,78
0,5	84,56	1,20
1	101,36	2,13

A Tabela 5 mostra a tendência esperada, seguindo os maiores valores da constante para as situações de menor grau de bloqueio, isto é, maior velocidade da reação química.

De fato, os métodos de Nicholson e Laviron apresentam limitações, como qualquer outra forma de análise, sendo que nesses dois casos é preciso levar em consideração uma série de condições (p.e.: velocidade de varredura e concentração) e/ou aproximações. Especificamente, o método de Nicholson requer uma condição de equilíbrio contínuo sobre a superfície do eletrodo e não é adequado para as taxas de velocidade muito altas e/ou muito baixas. Já o método de Laviron deve ser considerado, principalmente, em condições experimentais de baixa concentração (p.e.: o fenômeno de adsorção está presente). Fatores que levam a erros na determinação dos parâmetros cinéticos envolvidos no processo eletroquímico. Além disso, o uso de ambas as técnicas requer condições de

medidas bastante custosas no que se refere ao tempo de medida (com seus vários passos) e o tratamento dos dados.

Por essa razão é importante investigar novas metodologias de quantificação da constante heterogênea de transferência eletrônica, tendo em vista uma maior sensibilidade, velocidade e praticidade.

4.5 Impedância

A técnica de EIE tem grande sensibilidade para analisar os eventos interfaciais elétricos de uma interface eletroquímica, os valores de resistência à transferência de carga e capacitância interfacial podem ser encontrados e representados por gráficos de Nyquist e Bode. Aqui as análises realizadas mostraram claramente o efeito das espessuras das cadeias de tiol, demonstrando um bloqueio proporcional ao seu aumento, bem como visto na Figura 19.

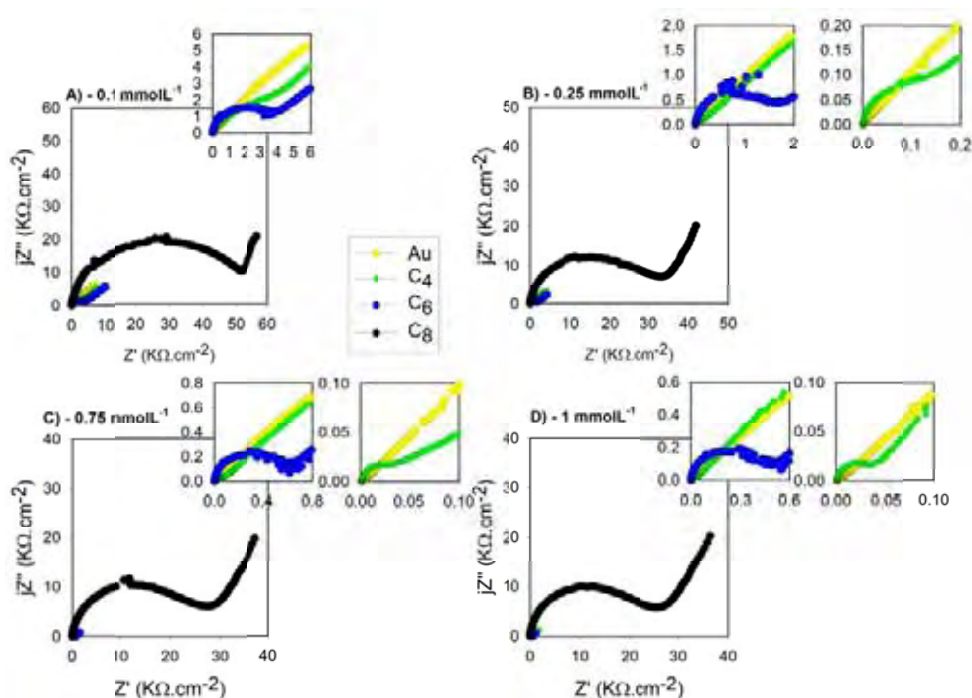


Figura 19. Gráficos de Nyquist para impedância dos tióis de 4, 6 e 8 carbonos (C₄, C₆ e C₈); os experimentos foram realizados em potencial de circuito aberto, com amplitude de 10 mV, em temperatura ambiente. As figuras 19A, 19B, 19C e 19D demonstram o bloqueio ocasionado pelas diferentes espessuras de tiol, que são proporcionais ao tamanho da cadeia, nesse caso o maior bloqueio foi referente ao C₈. Apesar do bloqueio revelar uma proporcionalidade da concentração de eletrólito em Au, C₄ e C₆, o mesmo não aconteceu em C₈, no qual não apresentou a mesma proporcionalidade, isso se deve ao fato de que tióis de cadeias curtas atuam como ultramicro-eletrodos, enquanto que tióis de cadeias longas podem apresentar certa cristalinidade e uma permissividade muito mais baixa.

Na Figura 19 acima é possível se ter um perfil do bloqueio ocasionado pela adsorção de diferentes espessuras de tióis sobre a superfície de ouro, além disso, visualmente ocorre um decréscimo da resistência inversamente proporcional ao aumento da concentração de espécie eletroativa, já que, a velocidade da reação aumenta proporcionalmente à concentração, diminuindo também a resistência, devido ao aumento do número de espécies redox. Somado a isso, o efeito da espessura das cadeias é mostrado claramente a partir da impedância em que as variações de espessura podem ser distinguíveis visualmente, com um bloqueio proporcional ao aumento do semicírculo. A formação dessa semicircunferência representa uma curva de relaxação. O que indica um atraso na resposta do sistema ao estímulo do potencial aplicado, em outras palavras um impedimento ao livre fluxo de carga, assim, quanto maior o semicírculo maior a resistência à livre passagem de carga.

Os gráficos de Nyquist de impedância revelam algumas informações a cerca do comportamento da interface eletrificada, especificamente a impedância pode ser subdividida em 3 contribuições distintas: a de capacitância interfacial, resistência e indutância, sendo assim essa ultima contribuição (indutância) é propositalmente subtraída pelo acréscimo de eletrólito inerte. Desta forma, apenas os valores de resistência e capacitância interfacial podem ser retirados por meio de ajustes a circuitos equivalentes do tipo circuito de Randles, como nos exemplos anteriores da Figura 6 e Figura 10.

O eixo da impedância real (eixo X) está ligado à resistência à passagem de corrente, enquanto que o eixo da impedância imaginária liga-se com os processos não-faradaicos de acúmulo. Esses elementos elétricos variam também de acordo com efeito das monocamadas e frequentemente são expressos como um modelo de circuito equivalente pouco específico para os reais efeitos provocados pelas SAMs, em outros termos esses circuitos frequentemente usados para representar o bloqueio das SAMs apresentam apenas uma visão geral da real resposta elétrica interfacial, por outro lado, um modelo mais inovador foi proposto como uma nova forma de tratar esse real efeito causado pela alteração superficial provocada pelas SAMs (GOES, et al., 2012a).

Esse novo modelo envolve, resumidamente, a inclusão de um novo componente elétrico que estima o ponto de relaxação como elementos elétricos dinâmicos que podem variar entre capacitores e resistores. A mesma situação se apresenta para tais resultados apresentados aqui, em que os gráficos de Nyquist da Figura 19 acima estão relacionados com cada componente elétrico do circuito. Esse modelo de circuito equivalente representa a adição de um novo componente elétrico como exemplificado (Figura 20).

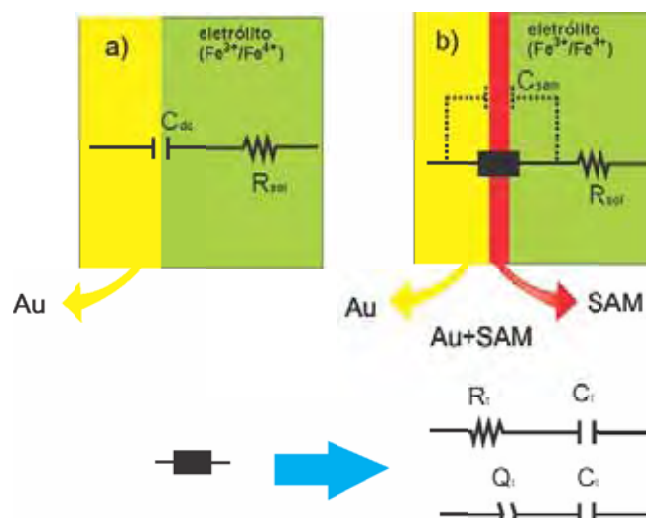


Figura 20 Modelo de circuito equivalente realístico para funcionalização de alcanotíóis. Estão descritos os modelos de Debye e Cole-Cole que representam uma adição de uma resistência (R_t) e uma capacitância (C_t) ou uma resistência variável (Q_t) e uma capacitância (C_t), esses termos estão associados ao efeito das SAMs na superfície e demonstram a alteração que essa causa aos componentes elétricos. O modelo é mais realístico, pois a resistência causada pelas monocamadas pode ser variável de acordo vários fatores, um deles é o tamanho da cadeia carbônica.

O modelo demonstrado baseia-se nos modelos: ideal de Debye ou não ideal de Cole-cole, nos quais o processo de relaxação está atrelado à dinâmica dipolar e pode apresentar contribuições variáveis dos componentes capacitivo e resistivo (caixa preta), ou mesmo, no caso não ideal, pela ideia inserida pelo termo Q_t , que é associado em série com uma capacitância, mas representa uma resistência variável dependente do fator tempo de relaxação. Esse modelo tem grande coerência com o efeito elétrico inserido pela adsorção dos tíóis sobre a superfície do ouro, que pode variar segundo vários parâmetros físico-químicos que estão contemplados no modelo de circuito equivalente.

4.6 Espectroscopia de Capacitância Eletroquímica

Os valores obtidos por EIE nem sempre descrevem com precisão o completo mapa interfacial elétrico de um sistema eletroquímico. Por exemplo, em altas frequências o comportamento difusional é conhecido como resistência não compensada, o que na verdade está relacionado com os processos não faradaicos da interface eletrificada, o mesmo pode ser observado para comportamentos em

baixas frequências no qual o termo de desígnio de uma nova impedância acrescentada ao sistema é a impedância de Warburg, relacionada com gastos de transporte e difusão iônicos e de massa, porém esses termos são bastante gerais e pouco específicos para descrever o real efeito dessa região de frequências. (CHANG e PARK, 2010)

Além disso, em situações de alta resistência, como no caso da utilização de meios pouco eletroativos os valores de impedância apresentam respostas de difícil interpretação, pois as respostas de relaxação são visíveis apenas em frequências extremamente altas. Por isso, ter outras formas mais sensíveis de analisar os efeitos dielétricos interfaciais é de grande utilidade. Especificamente, as contribuições capacitivas permitem complementar e implementar uma nova e mais sensível abordagem de investigação desses sistemas eletroquímicos.

Os valores de capacitância permitem entender o comportamento da interface em termos de relaxação e reorientação iônica e dipolar e resolvem termos de resistência não compensada a partir de ideias mais realísticas dos efeitos elétricos da interface (GOES, et al., 2012a).

Sendo assim, a ECS é uma técnica que permite analisar diretamente as mudanças da capacitância interfacial, pois permite a criação de um espectro de capacitâncias e a partir de então uma melhor visualização da dinâmica interfacial elétrica que está associada aos fenômenos de relaxação. Esses fatores estão ligados aos fenômenos de reorientação iônica e dipolar e a resistência da camada molecular introduzida pela presença das SAMs. De tal modo, a obtenção do espectro de capacitância se dá através da associação dos termos de impedância complexa, e conseqüentemente, os termos capacitivos também se apresentam como variáveis complexas, como se segue no raciocínio abaixo:

$$Z^* = (\omega)Z' + jZ'' \quad (24)$$

Para $\omega = 2\pi f$ e $j = ((-1)^{1/2})$ e os termos de impedância já são conhecidos, por conseguinte, relaciona-se os termos de EIE com o fator admitância através de:

$$Y^*(\omega) = \frac{1}{(\omega)Z^*} \quad (25)$$

Sendo que a admitância total ($Y^*(\omega)$) é o inverso da impedância total, aquela pode ser relacionada com a capacitância, a partir de:

$$C^*(\omega) = \frac{Y^*(\omega)}{j\omega} \quad (26)$$

Se a capacitância total ($C^*(\omega)$) associa-se com a admitância a partir da equação acima substituindo os termos devidamente, a equação final é:

$$C^*(\omega) = \frac{Y''}{\omega} - \frac{jY'}{\omega} = C' + jC'' \quad (27)$$

Em que a diferença entre as admitâncias imaginária e real ($\frac{Y''}{\omega} - \frac{jY'}{\omega}$) é igual à soma das capacitâncias real e imaginária ($C' + jC''$). Assim, a capacitância complexa destaca as características do armazenamento da interface em detrimento à resistência interfacial, que são as informações fornecidas por EIE. Desse modo a capacitância complexa pode ser representada graficamente de maneira similar a EIE, as duas formas mais usuais são por Nyquist e Bode plot (Figura 21).

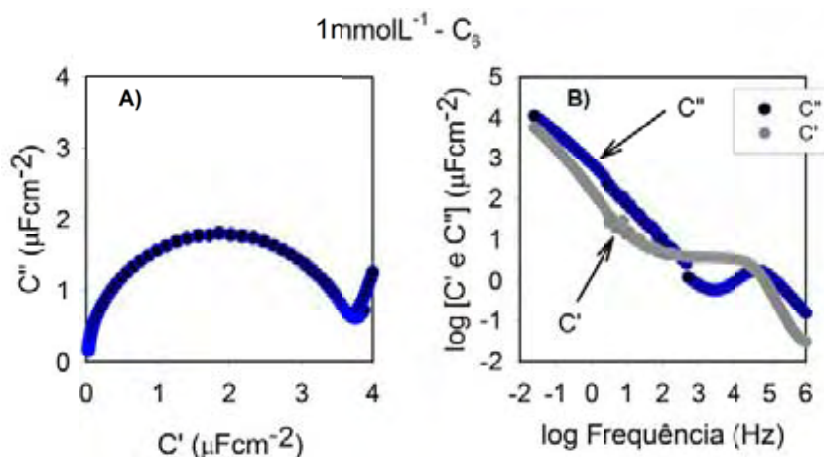


Figura 21 Gráfico Nyquist de Capacitância imaginária em função da real; e gráficos de Bode da capacitância imaginária e real em função da frequência. A condição experimental foram a realização dos experimentos em potencial de circuito aberto, com amplitude de 10mV, em temperatura ambiente, concentração de ferri/ferro 1 mmol L⁻¹ medindo a funcionalização do C₆. O gráfico revela as contribuições capacitivas do tiol de 6 carbonos que podem ser lidas através dos gráficos de Nyquist e Bode.

A capacitância real mede o inverso da impedância imaginária, nesse caso, dizem respeito ao fenômeno de polarização e acúmulo de cargas nas extremidades

da interface, enquanto que a parte imaginária da capacitância é definida como o inverso da impedância real, isto é, o inverso da resistência à passagem de carga, em outras palavras a condutividade do sistema.

Nesse projeto as análises de capacitância foram feitas através de gráficos de Bode e Nyquist para as situações propostas na parte experimental. A Figura 22 a seguir demonstra os resultados obtidos.

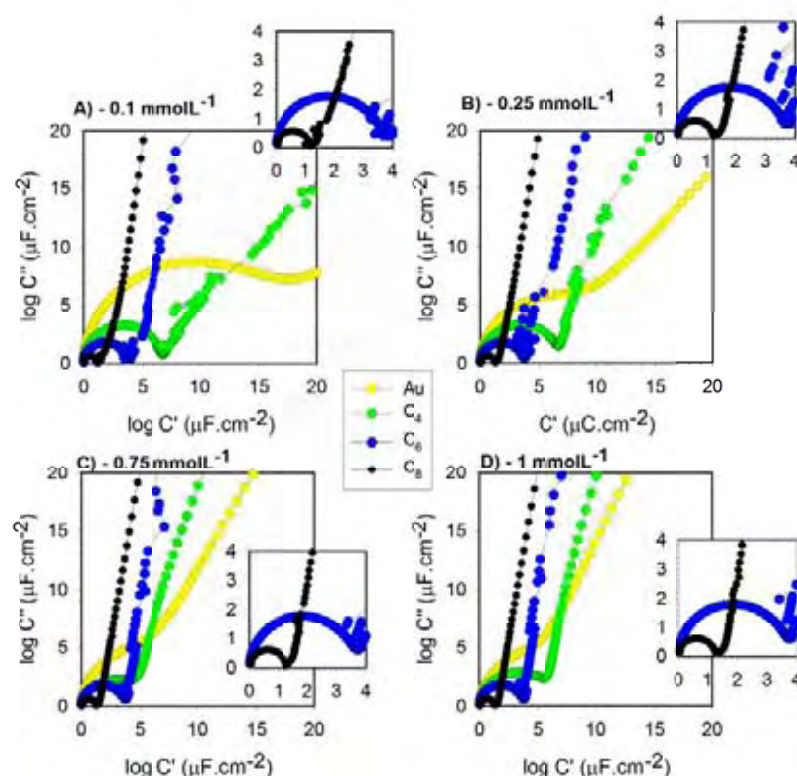


Figura 22. Gráficos de Nyquist de capacitância imaginária em função da real nas condições experimentais de potencial de circuito aberto, com amplitude de 10mV, em temperatura ambiente, concentração de ferri/ferro 1 mmol L⁻¹, vários tióis foram testados: C₄, C₆ e C₈. Foram comparados entre si e revelaram uma proporcionalidade de acúmulo de carga inversa ao tamanho das cadeias carbônicas, sendo o menor acúmulo o de C₈, cerca de 1,3 μC cm⁻².

Nas análises ilustradas, o comportamento capacitivo, claramente segue a tendência inversa a da espessura da monocamada adsorvida. Isso é demonstrado pela curva de relaxação que revela os valores de capacitância real do sistema. Na situação da Figura 22-A em Au, especificamente, ocorre um processo de relaxação acentuado que vai se dissipando ao longo do aumento da concentração (Figura 22-B, C e D) da espécie eletroativa, esse comportamento se deve pela baixa concentração de espécies redox que gera uma menor condutividade do sistema e favorece, consequentemente, os processos não faradaicos. Porém, esse

comportamento não é seguido pelas SAMs, já que, como se vê, a capacitância formada é independente da concentração da espécie redox, sendo dependente apenas da dieletricidade e permissividade das monocamadas e da área do eletrodo, como na Equação 28 a seguir. (GOES, et al., 2012a)

$$C^* = \frac{\varepsilon_m \varepsilon_0 A_r}{d} \quad (28)$$

Para $\varepsilon_m \varepsilon_0$ o produto das permissividades das monocamadas e da permissividade no vácuo, A_r para área real e d como a constante dielétrica das SAMs. O que demonstra que quanto maior a área ou a permissividade das SAMs que estão diretamente ligados à espessura, maior a capacitância, sendo o inverso também verdadeiro. Isso foi observado nos resultados obtidos onde os tióis de cadeias mais longas tiveram as menores curvas de relaxação e não variaram com a concentração da espécie eletroativa. Essa é uma forma ideal para se avaliar a capacidade dielétrica das SAMs, já que depende apenas da natureza e estrutura do filme, além de ser de extrema sensibilidade. Os valores de capacitância estão diretamente vinculados com a dieletricidade e poder de bloqueio elétrico das monocamadas e podem ser usados como parâmetro de quantificação desses elementos, assim como na Equação 28 acima a capacitância pode ser usada para a quantificação da permissividade das SAMs.

O bloqueio provocado pelas SAMs é caracterizado a partir da ECS, além disso, é possível associar tal efeito ao cálculo da constante heterogênea de transferência eletrônica. Essa informação tem relação com a velocidade de transferência de elétrons que é variável com os parâmetros de bloqueio.

Por isso, nesse projeto a técnica/metodologia *Self Assembled Monolayer Capacitance Spectroscopy* (SAMCS) baseada na *Electrochemical Capacitance Spectroscopy* (ECS) (BUENO et al., 2010; GOES, et al., 2012a), será usada de maneira inédita como uma ferramenta capaz de calcular o valor da constante heterogênea de transferência de elétrons, k_s .

O que se sabe é que em eletrodos metálicos, a taxa de transferência de elétrons a partir de qualquer superfície com centros redox, confinados ou em

solução, é sensivelmente dependente da espessura e da composição de qualquer monocamada montada na interface.

De tal modo, a reação de energia livre para um único passo do processo de transferência de elétrons se dá por:

$$\Delta G = e(V - V^0) = E_F - E_r \quad (29)$$

Na qual e é a carga elementar, V é o potencial do eléctrodo e V^0 o potencial formal ou redox do local redox, E_F é a energia de Fermi do eletrodo e E_r é o potencial formal do estado redox. Quando $E_F = E_r$, o potencial do eléctrodo é V^0 ($\Delta G = 0$) de tal modo que as taxas de formação de produtos, k_p , e de formação de reagentes, k_r , têm o mesmo valor $k_p = k_r = k_s$, da taxa padrão da reação de transferência elétrons, k_s . Embora, como citado ao longo deste trabalho, existam vários métodos para a determinação experimental da k_s , nenhum é tão rápido ou tão simples, além disso, muitos exigem a aquisição de vários dados ou ajustes para a obtenção dos valores finais da constante. Por isso, um dos objetivos aqui, é apresentar um novo protocolo com uma simples e única etapa para o cálculo da k_s , igualmente aplicável aos processos fortemente acoplados ou difusão controlada.

Para realizar tal objetivo é necessário obter antes o espectro de capacitâncias que formam a ECS. Isso consiste, primeiramente, em captar os valores de EIE e transformá-los para o espectro de ECS, a partir dos cálculos demonstrados nas Equações 24-27. Assim, obtêm-se valores de capacitância imaginária e real, dos quais a razão entre esses valores (C''/C') pode ser plotada em função da frequência.

Essa relação representa, finalmente, a função da perda de energia durante o processo de taxa de transferência de elétrons em que a frequência correspondente, caso essa seja maximizada informa diretamente a taxa de transferência de elétrons. Em outras palavras, a razão C''/C' em função da frequência representa um balanço energético entre condutividade e acúmulo de carga, em que no ponto máximo dessa variação a barreira energética é ultrapassada (troca heterogênea). Assim, no valor de frequência em que a razão entre a capacitância imaginária e real atinge o ponto máximo demonstra exatamente o valor correspondente da constante heterogênea de transferência eletrônica k_s . Isso é visualmente representado como um gráfico de Bode em que o valor da constante k_s é dado pelo correspondente na frequência (Figura 23).

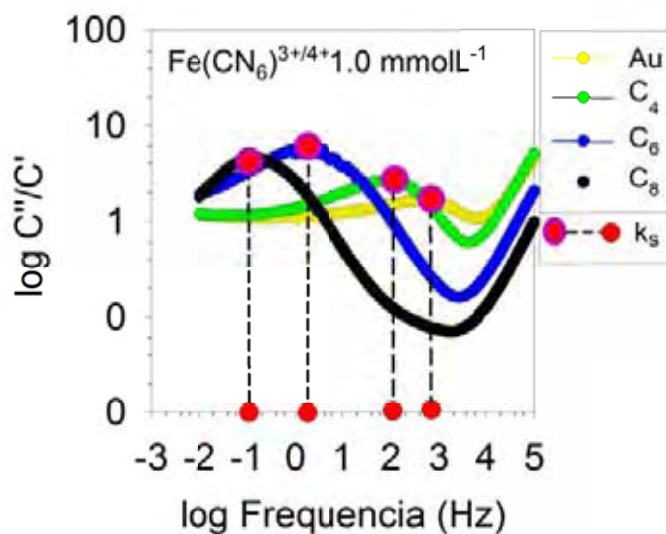


Figura 23. Espectro de C''/C' em função da frequência representado por gráfico de Bode, os pontos vermelhos, são os valores máximos de C''/C' e o valor referente da frequência (onde toca a linha pontilhada) representa o valor de k_s . Os valores encontrados foram resultados experimentais que estão ilustrados de maneira qualitativa, para experimentos para ouro (Au), tiol de 4, 6 e 8 carbonos (C_4 , C_6 e C_8 respectivamente), os experimentos foram realizados em potencial de circuito aberto com amplitude de 10 mV, em temperatura ambiente, para todas as análises os valores de área real e fator de rugosidade foram controlados de acordo com os pontos anteriormente abordados, o número de pontos de frequência foi aumentado de 80 para 200 para maior precisão. Nas seções posteriores os valores obtidos serão descritos de maneira quantitativa.

Basicamente o motivo pelo qual a frequência de pico máxima da relação C''/C' representa a constante cinética heterogênea, é o fato de que essa razão é um gráfico do balanço energético relacionado com a perda de energia para a fase em solução, ou equivalentemente, a perda de energia relacionada com R_{ct} , em um campo elétrico variável, que pode ser quantificada pelo modo como a relação C''/C' entra em ressonância com a taxa de transferência de elétrons e então no mesmo momento que essa perda é maximizada a transferência é máxima e pode ser quantificada.

Em outras palavras, se assumirmos que a perturbação oscilatória imposta pelo potencial eletroquímico à interface eletroquímica, descrita por $E = \Delta E e^{i\omega t}$ onde $i = (\sqrt{-1})$, ω é a frequência de oscilação e ΔE representa a amplitude de perturbação, então a resposta da densidade de corrente eletroquímica para a perturbação oscilatória (definido de acordo com as equações de Maxwell) pode ser dividida em carga (j_c) e perda ou deslocamento (j_d) das densidades de corrente como:

$$j_c + j_d = \sigma E + i\omega C^* \quad (30)$$

Lembrando que todas as variáveis das equações são dadas por unidade de área onde $j_c = \sigma E$ e $j_d = i\omega C^*$. Em que C^* é a capacitância complexa (obtido na abordagem aqui proposta como ECS pelas equações 24 a 27) e podem ser solúveis em um componente real e imaginária como descrita na equação 27. Assim a equação 30 pode ser reescrita como:

$$j_c + j_d = \sigma E + i\omega(C' + iC'') = (\sigma + \omega C'' + j\omega C')E = (\sigma' + j\omega C')E \quad (31)$$

Na qual, pode ser notado que $\sigma' = \sigma + \omega C''$, $j_c = \sigma' E$, $j_d = j\omega C' E$. σ' isso denota a condutividade relacionada com os componentes eletroquímicos carregáveis, capazes de serem acumulados na interface como energia eletroquímica, representado por σ , além da própria contribuição de transferência de elétrons, descrita como $\omega C''$, ou a energia eletroquímica perdida durante o processo redox.

Então, a relação C''/C' representa a tangente de perda ($\tan\delta$) do processo eletroquímico e pode ser definido como a relação (ou ângulo, δ , no plano de capacitância complexa) da perda de energia elétrica ($\sigma + \omega C''$) durante o processo de transferência de elétrons de uma perturbação oscilatória E e o termo energético sem perdas ($\omega C'$).

$$\tan\delta = \frac{\sigma + \omega C''}{\omega C'} = \frac{C''}{C'} \quad (32)$$

Assumindo que nenhuma corrente, tanto faradaicas quanto de carregamento, se acumule, ou seja, toda a corrente eletroquímica não é cumulativa (esse é o caso de superfícies – funcionalizadas por tióis passivadores ou não – onde as espécies eletroquímicas redox estão dispersas em solução) é o equivalente a assumir que σ é nulo. Em outras palavras, sendo as correntes de acúmulo nulas, então o único processo que gera alguma resistência à troca eletrônica entre a superfície e as espécies redox em solução é a própria resistência de transferência de elétrons.

Sendo assim, considerando o tempo para a transferência de elétrons do processo redox, τ_r , a máxima perda de energia eletroquímica ocorre para a

frequência igual à taxa heterogênea de transferência eletrônica k_s , isto é, $\frac{1}{\tau_r}$ (o inverso da escala de tempo do processo redox) está correlacionado com a tangente de perda por:

$$\tan\delta = \frac{C''}{C'} = \frac{1}{\omega\tau_r} \quad (33)$$

Consequentemente, a ressonância no valor máxima da razão C''/C' , ocorre para frequências onde $k_s = \frac{1}{\tau_r}$. Assim as perdas para uma reação redox ou transferência de elétrons dos sítios do eletrodo para as espécies eletroativas livres em solução e vice-versa é diretamente relacionada com a taxa heterogênea de transferência eletrônica ou à resistência de transferência de carga (ou sua recíproca, condutância). Tal condutância é dada pelo aumento das correntes eletroquímicas, em um campo AC que está em fase com o potencial aplicado e, portanto, causa as perdas eletroquímicas que são independentes de qualquer outro mecanismo (tais como processos não-faradaicos).

Assim, a Figura 23 foi um resultado obtido para as análises de Au, C₄, C₆ e C₈ em meio a uma concentração de 1 mmol L⁻¹ de ferri-ferro, que responderam inversamente proporcionais ao bloqueio medido, isto é, a constante cinética foi maior para o Au e menor para C₆, do mesmo modo como nas análises de VC, EIE e ECS. Acredita-se que tais respostas, decorrem do fato de que a velocidade de transferência eletrônica é reduzida ao passo que a espessura da cadeia carbônica de tiol adsorvido aumenta. Isso é um indicativo de que a constante k_s é uma excelente forma de interpretar o bloqueio proporcionado pelas monocamadas. Isso é possível, pois a formação do filme sobre a superfície diminui o contato do eletrólito redox com a superfície enquanto que a permissividade das monocamadas reduz o fluxo de carga entre os mesmos, o que por fim gera uma diminuição na velocidade de transferência pelo aumento da barreira energética necessária para gerar a troca redox.

Em síntese, o filme automontado diminui a condutividade da superfície metálica, pois insere uma camada inerte e isolante que é proporcional ao número de metilas presente em sua cadeia. Em termos experimentais, essa análise tem um grande impacto no que diz respeito à praticidade e velocidade de obtenção da constante, levando em consideração que os cálculos de transformação do espectro

de EIE podem ser facilmente programados em um computador para gerar diretamente os gráficos de ECS, então é possível obter os valores da constante no instante da medição de forma instantânea.

Além disso, os resultados de k_s , obtidos por ECS, são completamente condizentes com os mesmos encontrados pelas metodologias padrão isso ainda somado ao fato de que ECS apresenta maior sensibilidade e um erro experimental menor. As afirmações anteriores podem ser ratificadas de acordo com os valores de k_s para ECS demonstrados na Tabela 7 a seguir.

Tabela 6. Valores da constante k_s pela técnica de ECS, calculados para Au, C₄, C₆ e C₈.

Conc. mmol L ⁻¹	k_s (s ⁻¹) – Au	k_s (s ⁻¹) – C ₄	k_s (s ⁻¹) – C ₆	k_s (s ⁻¹) – C ₈
0,1	115,02	31,44	0,64	0,06
0,25	219,63	41,50	0,78	0,10
0,75	419,87	95,48	1,23	0,12
1	460,91	104,74	2,35	0,13

A técnica ECS, a partir dos valores encontrados, provou grande eficiência, além de apresentar extrema simplicidade, praticidade e rapidez na mensuração dos valores da constante k_s . Um fator de grande importância é que a técnica mostrou uma forma de resolver as diferentes contribuições capacitivas, até então inadequadamente tratados pela literatura, somado a isso, com um único passo experimental foi possível quantificar o que só era possível, com a análise de uma grande quantidade de dados.

O método proposto para cálculo de k_s pode ser facilmente realizado e requer um mínimo aparato para todas as análises realizadas, isto é, podem ser utilizados os equipamentos amplamente disponíveis comercialmente. Além disso, a ECS é igualmente aplicável a qualquer tipo de cinética de eletrodo redox não importando se é ou não controlada por difusão, isto é, o método é baseado no balanço de energia do processo, e não sobre os componentes resistivos ou capacitivos separadamente.

Sendo assim, a comparação entre os resultados obtidos pelas técnicas padrão de VC servirão como forma de validação da ECS e como ratificação da relação de k_s com o efeito de bloqueio provocado pelas SAMs, a seguir são apresentadas a comparação feita entre as metodologias de quantificação de k_s .

A partir deste ponto será exibida uma comparação entre as repostas obtidas pelas análises padrão de quantificação de k_s contra a metodologia ECS, de tal modo que serão expostos os resultados obtidos pelas três técnicas comparativamente, para comprovação da validade da técnica de ECS proposta nesse projeto. Vale ressaltar que os valores de k_s para a funcionalização com a monocamada descrita como C_8 não foram possíveis pelas técnicas baseadas na VC, já que a formação de picos redox não é visível para tal situação, o que impediu a quantificação pelas metodologias citadas, de tal maneira os resultados ilustrados a seguir para C_8 demonstram os resultados apenas da metodologia ECS. A Figura 24 a seguir resume todos os resultados de k_s obtidos para todas as metodologias comparativamente.

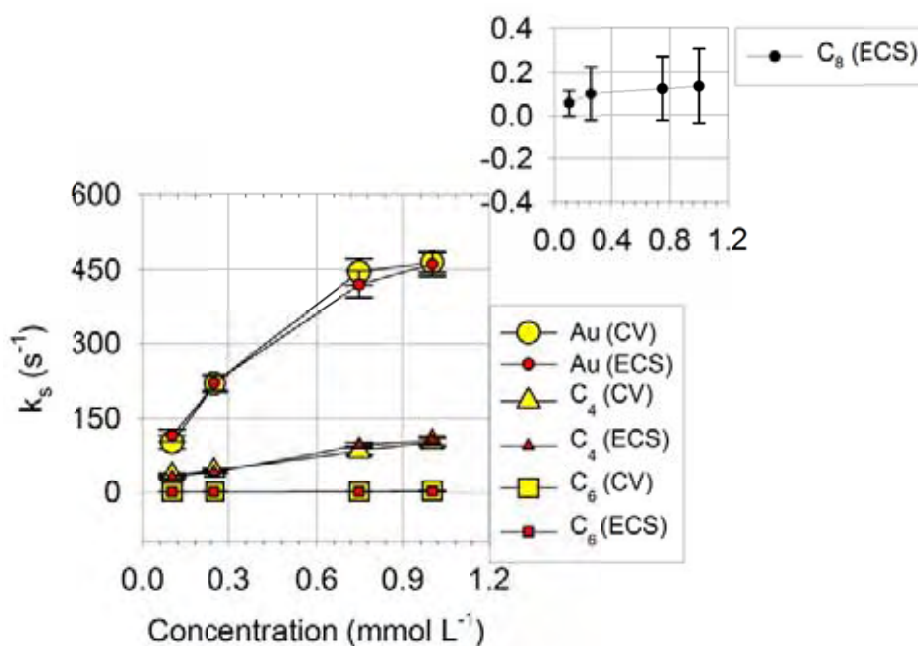


Figura 24. Gráfico comparativo dos valores de k_s entre as metodologias de Nicholson e Laviron contra ECS. Foram comparados os valores de k_s obtidos para Au (círculo), C₄ (triângulo) e C₆ (quadrado) medidos contra as concentrações entre 0,1 mmol L⁻¹ e 1 mmol L⁻¹, os gráficos em vermelho representam as análises por ECS enquanto que os gráficos em amarelo as metodologias de Nicholson (Au) e Laviron (C₄ e C₆). O gráfico de C₈ foi medido apenas por ECS devido ao fato de que nas análises voltamétricas não foi possível gerar picos redox para essa situação. Os resultados apresentaram um erro menor do que 5% para todas as análises de ECS.

Claramente a constante cinética é proporcional à velocidade de transferência eletrônica, como demonstrado na Figura 24 os resultados comprovam as teorias citadas, já que para todas as situações em que houve um menor bloqueio

inversamente proporcional se obteve um maior valor de k_s . O que prova que o cálculo do valor da constante é um excelente instrumento de quantificar e qualificar o efeito dielétrico e de bloqueio das SAMs, tendo em vista a rapidez da medição por ECS, pode-se se dizer que essa nova metodologia é de grande utilidade para a área dos estudos eletroquímicos principalmente aplicáveis aos biossensores, pela sua alta precisão e rápida resposta sendo uma ferramenta poderosa de análise de superfícies modificadas.

Em suma, uso da técnica ECS mostra-se vantajosa quando comparado com as técnicas de VC consagradas. A ECS ainda demonstrou uma maior precisão, já que, sozinha, foi capaz de abranger ambas as formas de análise (com ou sem passivação da superfície por tióis), enquanto que as metodologias tradicionais (Nicholson e Laviron) são limitadas pela difusão a uma ou outra forma de análise na detecção de k_s .

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos foi possível concluir em primeiro lugar, a importância vital em se controlar a área real ativa dos eletrodos de ouro para a obtenção de uma formação ideal das monocamadas automontadas. Além disso, através da análise do efeito de transferência e acúmulo de carga nas interfaces modificadas pelas SAMs, frente à variação da concentração do meio eletrolítico, foram obtidas informações sobre as propriedades dielétricas e de bloqueio das monocamadas de forma qualitativa e quantitativa. Tal efeito dielétrico provocado pela adsorção das SAMs na superfície atua como um isolamento da passagem de carga o que pôde ser ratificado pelos resultados de k_s obtidos. Através da quantificação da constante k_s , se notou a relação exata do bloqueio ocasionado, pois a constante tem relação inversa com o nível de bloqueio provocado, esse ponto é o fator que demonstra a conexão das diferentes espessuras dos tióis com a cinética eletroquímica do sistema, mais precisamente a transferência eletrônica. De maneira que ao controlar a espessura da cadeia há um controle da própria cinética de transferência eletrônica. Suplementarmente, ainda, foi introduzida uma metodologia inédita capaz de quantificar rapidamente o valor de k_s , que se provou válida quando comparada as metodologias tradicionalmente aceitas.

REFERÊNCIAS

- AMATORE, C.; SAVEANT, J. M.; TESSIER, D. Kinetics of electron-transfer to organic-molecules at solid electrodes in organic media. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 146, n. 1, p. 37-45, 1983.
- BAIN, C. D. et al. Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, n. 1, p. 321-335, Jan. 1989.
- BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamentals and applications**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1982. 808 p.
- BECKA, A. M.; MILLER, C. J. Electrochemistry at omega-hydroxy thiol coated electrodes. 4. Comparison of the double-layer at omega-hydroxy thiol and alkanethiol monolayer coated au electrodes. **Journal of Physical Chemistry**, v. 97, n. 23, June 1993.
- BERGGREN, C.; BJARNASON, B.; JOHANSSON, G. Capacitive biosensors. **Electroanalysis**, v. 13, n. 3, p. 173-180, Mar. 2001.
- BHATTI, N. K. et al. Heterogeneous electron transfer rate constants of viologen monocations at a platinum disk electrode. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 165-180, 2006.
- BIGELOW, W. C.; PICKETT, D. L.; ZISMAN, W. A. Oleophobic monolayers. 1. Films adsorbed from solution in non-polar liquids. **Journal of Colloid Science**, v. 1, n. 6, p. 513-538, 1946.
- BLODGETT, K. B. Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface. **Journal Of The American Chemical Society**, v. 57, n. 6, p. 1022, 1935.
- BOLLO, S. et al. Cyclic voltammetry and scanning electrochemical microscopy studies of the heterogeneous electron transfer reaction of some nitrosoaromatic compounds. **Electrochimica Acta**, v. 52, n. 15, p. 4892-4898, Apr. 2007.
- BOUBOUR, E. **Ion transport and electron transfer at self-assembled alkylthiol/gold monolayers**. 2000. 188 p. Tesis (Doctor of Philosophy) - Department of Chemistry, McGill University, Montréal, 2000.
- BOUBOUR, E.; LENNOX, R. B. Insulating properties of self-assembled monolayers monitored by impedance spectroscopy. **Langmuir**, v. 16, n. 9, p. 4222-4228, May 2000.
- BUENO, P. R. et al. Electrochemical capacitance spectroscopy and capacitive relaxation of the changeover process in iron hexacyanoferrate molecular compound. **Electrochimica Acta**, v. 55, n. 21, Aug. 2010.
- BUENO, P. R.; MIZZON, G.; DAVIS, J. J. Capacitance spectroscopy: a versatile approach to resolving the redox density of states and kinetics in redox-active self-assembled monolayers. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 116, n. 30, Aug. 2012.
- BUTLER, J. A. V.; ZUMAN, P. Jaroslav Heyrovsky. 1890-1967. **Biographical Memoirs of Fellows of the Royal Society**, v. 13, p. 167-191, 1967.

- CAMPUZANO, S. et al. Characterization of alkanethiol-self-assembled monolayers-modified gold electrodes by electrochemical impedance spectroscopy. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 586, n. 1, Jan. 2006.
- CARRARA, S. et al. Label-free cancer markers detection by capacitance biochip. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 136, n. 1, p. 163-172, Feb. 2009.
- CARVALHO, L. A.; ANDRADE, A. R.; BUENO, P. R. Electrochemical impedance spectroscopy applied in the study of heterogeneous reactions at dimensionally stable anodes. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 796-804, jul./ago. 2006.
- CHAKI, N. K. et al. Applications of self-assembled monolayers in materials chemistry. **Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Chemical Sciences**, v. 113, n. 5/6, p. 659-670, Oct./Dec. 2001.
- CHAKI, N. K.; VIJAYAMOHANAN, K. Self-assembled monolayers as a tunable platform for biosensor applications. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 17, n. 1/2, p. 1-12, Jan. 2002.
- CHANG, B.-Y.; PARK, S.-M. Electrochemical impedance spectroscopy. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 3, p. 207-229, 2010.
- CREAGER, S. E.; WOOSTER, T. T. A new way of using ac voltammetry to study redox kinetics in electroactive monolayers. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 20, p. 4257-4263, Oct. 1998.
- CUI, X. L. et al. Assessing the apparent effective thickness of alkanethiol self-assembled monolayers in different concentrations of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ by ac impedance spectroscopy. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 470, n. 1, p. 9-13, July 1999.
- ECKERMANN, A. L. et al. Electrochemistry of redox-active self-assembled monolayers. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 254, n. 15/16, p. 1769-1802, Aug. 2010.
- FERNANDES, F. C. B. et al. Label free redox capacitive biosensing. **Biosensors and Bioelectronics**, 2013. In press.
- GANESH, V. et al. Self-assembled monolayers (SAMS) of alkoxycyanobiphenyl thiols on gold: a study of electron transfer reaction using cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 296, n. 1, p. 195-203, Apr. 2006.
- GOES, M. S. et al. A dielectric model of self-assembled monolayer interfaces by capacitive spectroscopy. **Langmuir**, v. 28, n. 25, p. 9689-9699 June 2012a.
- GOES, M. S. et al. Impedance spectroscopy analysis of the effect of TiO_2 blocking layers on the efficiency of dye sensitized solar cells. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 116, n. 23, p. 12415-12421, June 2012b.
- GOTTSCHALCK, J.; HAMMER, B. A density functional theory study of the adsorption of sulfur, mercapto, and methylthiolate on Au(111). **Journal of Chemical Physics**, v. 116, n. 2, p. 784-790, Jan. 2002.
- HEYROVSKY, J. Electrolysis with a drooping mercury cathode. Part I. Deposition of alkali and alkaline earth metals. **Philosophical Magazine**, v. 45, n. 266, p. 303-315, Feb. 1923.

HOOGVLIET, J. C. et al. Electrochemical pretreatment of polycrystalline gold electrodes to produce a reproducible surface roughness for self assembly: a study in phosphate buffer pH 7.4. **Analytical Chemistry**, v. 72, n. 9, p. 2016-2021, May 2000.

HORIE, M.; SAKANO, T.; OSAKADA, K. Preparation and electrochemical properties of SAM of alkanethiols functionalized with 2-aza 3 ferrocenophane on gold electrode. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 691, n. 26, p. 5935-5945, Dec. 2006.

HUSH, N. S. Adiabatic rate processes at electrodes. 1. Energy-charge relationships. **Journal of Chemical Physics**, v. 28, n. 5, p. 962-972, 1958.

JENNINGS, G. K. et al. Effect of chain length on the protection of copper by n-alkanethiols. **Langmuir**, v. 14, n. 21, p. 6130-6139, Oct. 1998.

JONSCHER, A. K. The universal dielectric response: Part 1. **IEEE Electrical Insulation Magazine**, v. 6, n. 2, p. 16-22, Mar./Apr. 1990.

KLINGLER, R. J.; KOCHI, J. K. Electron-transfer kinetics from cyclic voltammetry - quantitative description of electrochemical reversibility. **Journal of Physical Chemistry**, v. 85, n. 12, p. 1731-1741, 1981.

LAVIRON, E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 19-28, 1979.

LI, Z. et al. Electrochemical studies on the permeable characteristics of thiol-modified double-stranded DNA self-assembled monolayers on gold. **Analytst**, v. 136, n. 10, p. 2090-2099, 2011.

LISDAT, F.; SCHAEFFER, D. The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 391, n. 5, p. 1555-1567, July 2008.

LOVE, J. C. et al. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 4, p. 1103-1169, Apr. 2005.

LY, H. K. et al. Electric-field effects on the interfacial electron transfer and protein dynamics of cytochrome c. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 660, n. 2, p. 367-376, Sept. 2011.

MacDONALD, D. D. Reflections on the history of electrochemical impedance spectroscopy. **Electrochimica Acta**, v. 51, n. 8/9, p. 1376-1388, Jan. 2006.

MADUEÑO, R. et al. A voltammetric study of 6-mercaptopurine monolayers on polycrystalline gold electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 506, n. 2, p. 92-98, 2001.

MANDLER, D.; TURMAN, I. Applications of self-assembled monolayers in electroanalytical chemistry. **Electroanalysis**, v. 8, n. 3, p. 207-213, Mar. 1996.

MARCUS, R. A. Chemical and electrochemical electron-transfer theory. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 15, p. 155-196, 1964.

MATHARU, Z. et al. Low density lipoprotein detection based on antibody immobilized self-assembled monolayer: investigations of kinetic and thermodynamic properties. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 43, p. 14405-14412, Oct. 2009.

Estudo das propriedades dielétricas e de bloqueio das monocamadas automontadas

MURRAY, R. W. Chemically modified electrodes. **Accounts of Chemical Research**, v. 13, n. 5, p. 135-141, 1980.

NICHOLSON, R. S. Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics. **Analytical Chemistry**, v. 37, n. 11, p. 1351-1355, 1965.

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

OESCH, U.; JANATA, J. Electrochemical study of gold electrodes with anodic oxide films - I. Formation and reduction behaviour of anodic oxides on gold. **Electrochimica Acta**, v. 28, n. 9, p. 1237-1246, 1983.

ORTIZ, M. E.; NUNEZ-VERGARA, L. J.; SQUELLA, J. A. Voltammetric determination of the heterogeneous charge transfer rate constant for superoxide formation at a glassy carbon electrode in aprotic medium. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 549, p. 157-160, June 2003.

PORTER, M. D. et al. Spontaneously organized molecular assemblies .4. Structural characterization of normal-alkyl thiol monolayers on gold by optical ellipsometry, infrared-spectroscopy, and electrochemistry. **Journal of the American Chemical Society**, v. 109, n. 12, p. 3559-3568, June 1987.

PROTSAILO, L. V.; FAWCETT, W. R. Studies of electron transfer through self-assembled monolayers using impedance spectroscopy. **Electrochimica Acta**, v. 45, n. 21, p. 3497-3505, 2000.

QUERSHI, A. et al. A novel interdigitated capacitor based biosensor for detection of cardiovascular risk marker. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 25, n. 4, p. 877-882, Dec. 2009.

RAO, C. J. et al. Electrochemical and thermodynamic properties of europium(III), samarium(III) and cerium(III) in 1-butyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquid. **Journal of Nuclear Materials**, v. 399, n. 1, p. 81-86, Apr. 2010.

RODRIGUEZ, J. M. D.; MELIAN, J. A. H.; PENA, J. P. Determination of the real surface area of Pt electrodes by hydrogen adsorption using cyclic voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 77, n. 9, p. 1195-1197, Sept. 2000.

RUBINSTEIN, I. et al. Ionic recognition and selective response in self-assembling monolayer membranes on electrodes. **Nature**, v. 332, n. 6163, p. 426-429, Mar. 1988.

SAGIV, J. Organized monolayers by adsorption .1. Formation and structure of oleophobic mixed monolayers on solid-surfaces. **Journal of the American Chemical Society**, v. 102, n. 1, p. 92-98, 1980.

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

SCHWARTZ, D. K. Mechanisms and kinetics of self-assembled monolayer formation. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 52, p. 107-137, 2001.

SELLERS, H. et al. Structure and binding of alkanethiolates on gold and silver surfaces - implications for self-assembled monolayers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 115, n. 21, p. 9389-9401, Oct. 1993.

- SHIMAZU, K. et al. *In situ* and dynamic monitoring of the self-assembling and redox processes of a ferrocenylundecanethiol monolayer by electrochemical quartz crystal microbalance. **Langmuir**, v. 8, n. 5, p. 1385-1387, May 1992.
- SONG, S. et al. Characterization of cytochrome-c alkanethiolate structures prepared by self-assembly on gold. **Journal of Physical Chemistry**, v. 97, n. 24, p. 6564-6572, June 1993.
- SUBRAMANIAN, R.; LAKSHMINARAYANAN, V. A study of kinetics of adsorption of alkanethiols on gold using electrochemical impedance spectroscopy. **Electrochimica Acta**, v. 45, n. 27, p. 4501-4509, 2000.
- TKAC, J.; DAVIS, J. J. An optimised electrode pre-treatment for SAM formation on polycrystalline gold. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 621, n. 1, p. 117-120, Sept. 2008.
- TRASATTI, S.; PETRII, O. A. Real surface-area measurements in electrochemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 63, n. 5, p. 711-734, May 1991.
- UCAR, M. et al. The electrochemical behaviour of 2'-halogenated derivatives of 4-methoxyazobenzene at a mercury electrode. **Dyes and Pigments**, v. 87, n. 1, p. 55-61, Sept. 2010.
- ULMAN, A. Formation and structure of self-assembled monolayers. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 4, p. 1533-1554, June 1996.
- UNTEREKE, D.F.; BRUCKENS, S. Dissolution-redeposition mechanism for roughening of platinum-electrodes by cyclic potential programs. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 121, n. 3, p. 360-362, 1974.
- VOETS, J. et al. Chain-length-dependent structure of alkanethiols forming dimers on Au(111). **Surface Science**, v. 399, n. 2/3, p. 316-323, Mar. 1998.
- ZHOU, X. C.; HUANG, L. Q.; LI, S. F. Y. Microgravimetric DNA sensor based on quartz crystal microbalance: comparison of oligonucleotide immobilization methods and the application in genetic diagnosis. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 16, n. 1/2, p. 85-95, Jan. 2001.