UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

Pró-reitoria de Pesquisa, Inovação e Desenvolvimento Tecnológico Coordenadoria de Pesquisa e Pós-Graduação *Strictu Sensu* Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências dos Materiais

ANDRÉ LUÍS POSSAN

A ADSORÇÃO DE TIÓIS MONITORADOS PELO MÉTODO DE VOLTAMETRIA CÍCLICA COM USO DE ELETRODOS DE OURO

CAXIAS DO SUL

ANDRÉ LUÍS POSSAN

A ADSORÇÃO DE TIÓIS MONITORADOS PELO MÉTODO DE VOLTAMETRIA CÍCLICA COM USO DE ELETRODOS DE OURO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Materiais da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do grau de Doutor em Engenharia e Ciências dos Materiais, sob a orientação do Prof. Frank P. Missell, co-orientação da Prof^a. Eliena Jonko e supervisão internacional da Prof^a. Lígia M. Moretto (*Università Ca' Foscari di Venezia – Italy*.

CAXIAS DO SUL

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Universidade de Caxias do Sul Sistema de Bibliotecas UCS - Processamento Técnico

P856a Possan, André Luís

A adsorção de tióis monitorados pelo método de voltametria cíclica com uso de eletrodos de ouro / André Luís Possan. – 2019.

159 f.: il.; 30 cm

Tese (Doutorado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2019.

Orientação: Frank P. Missell.

Coorientação: Eliena Jonko, Lígia M. Moretto.

1. Adsorção. 2. Voltametria. 3. Eletrodos. 4. Química orgânica. I. Missell, Frank P., orient. II. Jonko, Eliena, coorient. III. Moretto, Lígia M., coorient. IV. Título.

CDU 2. ed.: 544.723.2

Catalogação na fonte elaborada pela(o) bibliotecária(o) Carolina Machado Quadros - CRB 10/2236

ANDRÉ LUÍS POSSAN

A ADSORÇÃO DE TIÓIS MONITORADOS PELO MÉTODO DE VOLTAMETRIA CÍCLICA COM USO DE ELETRODOS DE OURO

André Luís Possan

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Materiais da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do grau de Doutor em Engenharia e Ciências dos Materiais, sob a orientação do Prof. Frank P. Missell, co-orientação da Prof^a. Eliena Jonko e supervisão internacional da Prof^a. Lígia M. Moretto (*Università Ca' Foscari di Venezia – Italy*).

Aprovado em 25 de março de 2019.

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Eliena Jonko (co-orientadora)

Prof^a. Dr^a. Lisete C. Scienza Universidade Federal do Rio Grande do Sul Prof. Dr. Fernando Rhen University of Limerick – Ireland

Prof^a. Dr^a. Jadna Catafesta Universidade de Caxias do Sul Prof^a. Dr. Márcio R. F. Soares Universidade de Caxias do Sul

DEDICATÓRIA

Ofereço este estudo a todos que confiaram e acreditaram na ciência como método efetivo de ajuda ao próximo, e aos que confiaram em mim como instrumento facilitador.



"Se cheguei até aqui foi porque me apoiei no ombro dos gigantes".

De Isaac Newton para Robert Hooke, 1676.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho tornou-se possível com a ajuda e empenho dos orientadores professor Frank P. Missell (UCS), professora Eliena Jonko (UCS) e professora Lígia M. Moretto (Ca' Foscari - *Italy*), que além de orientações, correções e conselhos, sempre estiveram junto, independente da hora ou do dia e até em distância intercontinental. São esses exemplos que nos alavancam a continuar pesquisando e tendo fé na ciência.

Agradeço imensamente a Maria Sole Zalaffi (Ca' Foscari - *Italy*), Najmeh Karimian (Ca' Foscari - *Italy* - *Iran*), Claudio Constantino (Ca' Foscari - *Italy*), Maísa A. Beluomini (UNESP) e Professor Paolo Ugo (Ca' Foscari - *Italy*), pelas discussões científicas nos laboratórios da *Università Ca' Foscari di Venezia* e nas reuniões festivas ao qual alinhamos conhecimentos gerais e a língua italiana. Foram os seis meses mais intensos de minha vida.

Gostaria de agradecer à CAPES pela participação no programa PDSE (Processo - 88881.135894/2016-01) que proveu financiamento para adquirir conhecimento no exterior e trazer a tecnologia dos NEE para o Brasil, e a todos os brasileiros contribuintes.

Pelas discussões científicas, pela parceria na resolução dos problemas laboratoriais e na construção dos mais diversos dispositivos que facilitam a vida do cientista, agradeço intensamente ao mestre Mateus Beltrami e à graduanda Joana Pasquali.

Agradeço à Universidade de Caxias do Sul por oferecer as oportunidades necessárias para a conclusão de mais esta etapa e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências dos Materiais, que proveu a bolsa integral de doutorado.

Agradeço a minha família, que em todos os momentos dessa caminhada esteve sempre presente, para que a jornada científica a qual escolhi não fosse interrompida de qualquer forma, pelos inúmeros obstáculos que a vida nos propõe.

A todos os demais que não foram citados aqui, mas que colaboraram no crescimento acadêmico, profissional e a realização deste trabalho.

PREFÁCIO

Com o passar dos anos, a revolução tecnológica acelerou o desenvolvimento dos dispositivos de detecção e quantificação de bactérias, tanto por incentivos governamentais e impulsionados por crises relacionadas à propagação de doenças providas por bactérias e vírus, quanto por interesses acadêmicos de resolver os problemas relacionados com desenvolvimento, inovação e aumento de eficiência dos dispositivos já conquistados. Nos anos 2016 e 2017, a proliferação dos mosquitos que transmitem o Zika vírus e outras doenças relacionadas, disparou o alerta para a intensificação dos estudos de detecção e quantificação, mas não foram deixados de lado os outros tipos de doenças que assolaram o mundo por décadas, desde as mais complexas até as mais simples, como a *Escherichia coli*. Neste trabalho, é avaliada a liga amorfa magnetoelástica (LAM) revestida de ouro como suporte para a construção de eletrodos de trabalho, material base usado pelo nosso grupo de pesquisa nos desenvolvimentos de bioeletrodos e biossensores para a detecção e quantificação de bactérias. Também são propostas melhorias nos sistemas usados, tanto no âmbito de formação dos bioconjugados, quanto em outras plataformas de produção de bioeletrodos de maior sensitividade.

No Capítulo I, é demonstrado o uso da LAM com revestimento de ouro depositado pelos métodos de magnetron sputtering e eletrodeposição, com intuito de verificar as características das superfícies, para posteriormente propor melhorias no uso de compostos tióis como intermediadores na formação de bioconjugados. Para isso, foram utilizadas as técnicas de microscopia eletrônica de varredura e espectrometria de retroespalhamento de Rutherford na avaliação de delaminação e espessura dos revestimentos, respectivamente. A rugosidade dos revestimentos é demonstrada a partir de resultados obtidos por perfilometria 2D em escala micrométrica e por microscopia de força atômica em escala nanométrica. Os dados de rugosidade são corroborados pelos dados obtidos no ensaio de gota séssil de cada revestimento e posteriormente, os revestimentos são testados na adsorção do ácido 11-marcaproundecanóico para a formação das camadas auto-organizadas (SAM), com monitoramento eletroquímico pelo método da cronoamperometria. Os resultados indicaram que a LAM revestida de ouro por eletrodeposição pode ser usada para a construção de eletrodos de trabalho e para o estudo da adsorção de tióis, por possuir perfil de caráter platicúrtico e menor rugosidade a nível nanométrico, quando comparado ao eletrodo de trabalho revestido de ouro por magnetron sputtering.

No Capítulo II, é demonstrado o uso do método eletroquímico da voltametria cíclica por meio de simulações de voltamogramas cíclicos, com variação na concentração do eletrólito de oxirredução e parâmetros relacionados com o método eletroquímico e a Equação de Randles – Sevčik. Após, é demonstrado a simulação do uso de dados da diminuição da corrente faradaica em função do tempo, quando aplicado um composto químico passivante na superfície dos eletrodos de trabalho, base para o monitoramento de compostos tióis. As simulações mostraram que é possível verificar a funcionalidade dos eletrodos de trabalho de ouro mudando a concentração do eletrólito de oxirredução e a velocidade de varredura, aplicando os dados da diminuição da corrente faradaica nas equações respectivas e monitorar a adsorção de um agente passivante na interface.

No Capítulo III, é evidenciada a construção de eletrodos de trabalho de ouro a partir da LAM, revestida de ouro pelos métodos de *magnetron sputtering* e eletrodeposição. Os eletrodos de trabalho de ouro, construídos a partir da LAM revestida de ouro e encapsulada em fitas adesivas, são testados por meio do método da voltametria para a verificação da funcionalidade e os dados comparados com aqueles obtidos com o eletrodo de trabalho padrão de ouro. Na sequência, os eletrodos de trabalho de ouro, tantos os encapsulados quanto o padrão, são empregados para a avaliação e monitoramento da adsorção de tióis de diferentes cadeias, como a cistamina, a cisteamína e o ácido 3-mercaptopropiônico, usando uma concentração específica e analisando a diminuição da corrente faradaica. Também são demonstrados os comportamentos das adsorções de ácido 11-marcaproundecanóico e tratado como revestimento passivante, considerando a aplicação e não aplicação de agitação magnética na célula eletroquímica, usando o eletrodo de trabalho padrão e aplicando os dados obtidos na Equação de Langmuir. Também é demonstrado o comparativo de comportamento da adsorção de ácido 11-marcaproundecanóico com variação na concentração, usando o eletrodo de ouro padrão. Na sequência, é apresentado o comparativo de comportamento da adsorção de ácido 11marcaproundecanóico relacionando os eletrodos encapsulados com a LAM revestida de ouro e o eletrodo de ouro padrão. Dessa forma, foi averiguada a melhor concentração de tiol e o menor tempo possível para garantir a criação de uma camada auto-organizada que faça o revestimento da área total dos eletrodos de trabalho de ouro, garantido a posterior formação de bioconjugados e a aplicação das informações nos tióis de cadeia curta, que não podem ter a adsorção monitorada. Os resultados mostram que o eletrodo de trabalho construído com LAM revestida de ouro pelo método de eletrodeposição apresentou melhores resultados na adsorção de ácido 11-marcaproundecanóico, indicando a viabilidade de construção, quando comparado com os outros tipos.

No Capítulo IV, é apresentada uma das inovações relacionadas com os eletrodos de trabalho de ouro encapsulados, onde é proposto um aumento de sensitividade e captação de sinal usando um método alternativo para a construção de eletrodos. Dessa forma, são mostradas a teoria e os dados adquiridos na avaliação nanoeletrodos conjuntos, em comparação com o eletrodo de trabalho de ouro padrão. Sem perder as características dos picos faradaicos de nível macro, os nanoeletrodos conjuntos operam em níveis de microampere quando avaliados pelo método da voltametria cíclica. Em comparação ao eletrodo de trabalho padrão de ouro, os nanoeletrodos conjuntos mostraram menores correntes capacitivas sugerindo um melhoramento na captação do sinal quando construídos em escala nanométrica.

RESUMO

Neste trabalho, é demonstrado o uso da liga amorfa magnetoelástica revestida de ouro pelos métodos de deposição magnetron sputtering e eletrodeposição. As avaliações de espessura, delaminação e rugosidade dos revestimentos de ouro mostram que o eletrodo de trabalho construído com a liga amorfa magnetoelástica com revestimento de ouro pelo método de eletrodeposição é viável, e pode ser utilizado para a fabricação de biossensores e bioeletrodos que usam os protocolos que possuem tióis e bioconjugados, podendo ser avaliados por métodos eletroquímicos. O método eletroquímico da voltametria cíclica é aplicável para o uso de eletrodos de trabalho revestidos de ouro e as simulações demonstradas indicam que é possível verificar a funcionalidade desde que operem por difusão, e dessa forma, monitorar a adsorção dos tióis. Nas avaliações voltamétricas da adsorção de tióis, foi verificado que é necessária a agitação da célula eletroquímica durante a adsorção para a formação das camadas autoorganizadas em tempos de até 180 min, e que é possível reduzir a concentração de tiol, mas pode haver consequências e aumento de tempo de adsorção. Os eletrodos de trabalho produzidos com a liga amorfa magnetoelástica revestida de ouro por eletrodeposição apresentaram melhor performance na adsorção dos tióis quando comparado ao método de revestimento por magnetron sputtering. Na produção dos nanoeletrodos conjuntos de ouro, foi verificado que é possível melhorar a captação do sinal com a redução da corrente capacitiva, mantendo as características de picos faradaicos de escala macro, mas usando escalas micro e nano.

Palavras-chave: Eletrodos, SAM, ouro, tióis, voltametria, NEE.

ABSTRACT

In this work, the application of amorphous magnetoelastic alloy coated with gold by magnetron sputtering and electroless methods is demonstrated. The thickness, delamination, and roughness evaluations of the gold coatings show that the working electrode constructed with the amorphous magnetoelastic alloy with gold coating by the electrodeposition method is viable. It can be used for biosensors and bioelectrodes manufacture using the protocols that have thiols and bioconjugates and can be evaluated by electrochemical methods. The electrochemical method of cyclic voltammetry is applicable for the use of gold-plated working electrodes. The simulations demonstrated indicate that it is possible to check the functionality since they operate by diffusion and thus monitor the thiols adsorption. In the voltammetric evaluations of thiol adsorption, it was verified that it is necessary to stir the electrochemical cell during the adsorption to form the self-organized layers in times of up to 180 min. It is possible to reduce the concentration of thiol, but there may be consequences such as increased adsorption time. The work electrodes produced with the gold-plated magnetoelastic amorphous alloy by electrodeposition presented a better performance in the thiol adsorption when compared to the magnetron sputtering coating method. In the production of the gold nanoelectrodes, it was verified that it is possible to improve the signal acquisition with the reduction of the capacitive current, maintaining the characteristics of sigmoidal peaks of macro scale, but using micro and nano scales.

Keywords: Electrodes, SAM, gold, thiols, voltammetry, NEE.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema do desenvolvimento de biossensores magnetoelásticos revestidos de ouro,
com aplicação de bioconjugados, para a detecção e quantificação de patógenos por meio de
mudança de massa
Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura apresentando comparativo entre duas amostras
de LAM revestida com Au, pelos métodos de deposição por SP (a) e ED (b)35
Figura 3 - Microscopia eletrônica de varredura comparando as amostras de LAM com
revestimentos de Au por SP (a) e por ED (b), também indicando o revestimento de Cr37
Figura 4 – Simulações RBS de amostras de LAM revestidas de Au pelos métodos de deposição
SP (a) e ED (b)
Figura 5 - Resultados encontrados no ensaio de PERF 2D das amostras de LAM sem
revestimento de Au (a), LAM com revestimento de Au pelo método SP (b) e a LAM revestida
de Au pelo método ED (c)
Figura 6 - Imagens de microscopia de força atômica das superfícies da liga magnetoelástica
sem revestimento de Au (a), com revestimento de Au por SP (b) e com revestimento de Au por
ED (c)41
Figura 7 – Resultados das análises de hidrofobicidade por ângulo de contato de gota séssil das
amostras de LAM sem revestimento (AC), com revestimento de Au pelo método SP e com
revestimento de Au pelo método ED
Figura 8 - Curvas amperométricas relativas à adsorção de MUA (1 mM), em solução
hidroalcoólica de FC (1.10 ⁻³ mM) e LiClO ₄ (0,1 mM)
Figura 9 – Esquema de reação interfacial de um eletrodo de trabalho constando a oxirredução
de uma espécie em solução e em difusão no sentido bulk/interface, demonstrando a interface
de um eletrodo de trabalho (a) e um eletrodo de trabalho completo (b)50
Figura 10 – Mecanismos de transporte de massa que operam em um eletrodo planar quando é
aplicado uma espécie eletroativa no processo eletroquímico
Figura 11 - Voltamograma cíclico hipotético de uma reação semi reversível da espécie
eletroativa K ₃ Fe(CN) ₆ 10 mM, considerando eletrodo de trabalho metálico planar, de A _{Geo} de
$0,03142~\text{cm}^2=2~\text{mm}$ de diâmetro e velocidade de varredura de $50~\text{mVs}^{-1}$ 60
Figura 12 – Voltamograma cíclico da espécie eletroativa K ₃ Fe(CN) ₆ (8 mM) em solução aquosa
com eletrólito suporte KCl (0,1 M), com velocidade de varredura de100 Vs ⁻¹ , eletrodo de Au
(linha pontilhada) e eletrodo modificado (linha contínua): (a) 30 min, (b) 60 min e (c) 900 min
de adsorção de 1.4 - Dithiane 61

Figura 13 – Simulação da variação da corrente de picos faradaicos em função dos potenciais de
varredura, considerando a mudança de concentração do eletrólito K ₃ Fe(CN) ₆ e velocidade de
varredura de 50 mVs ⁻¹ .
Figura 14 - Simulação da variação da corrente de pico faradaico em função dos potenciais de
varredura, considerando a mudança de concentração do eletrólito $K_3Fe(CN)_6$ em escala μM e
velocidade de varredura de 50 mVs ⁻¹ .
Figura 15 - Simulação da variação da corrente de picos faradaicos catódico e anódico em
função da variação de concentração do eletrólito $K_3Fe(CN)_6$ e velocidade de varredura de 50 mVs $^{-1}$.
Figura 16 – Simulação da variação da corrente de pico faradaico em função dos potenciais de
varredura, considerando a mudança da velocidade de varredura do potencial, em eletrólito
K ₃ Fe(CN) ₆ com concentração de 10 mM.
Figura 17 – Simulação da variação da corrente de pico faradaico anódico e catódico em função
da variação da velocidade de varredura do potencial, considerando K ₃ Fe(CN) ₆ 10 mM como
eletrólito de oxirredução
Figura 18 – Simulações de curvas i versus t para possíveis casos de decréscimo da i_F e dos
estados estacionários, em um tempo de avaliação de três horas
Figura 19 – Esquema de uma molécula de cisteamína sobre uma superfície de Au75
Figura 20 – Esquema mostrando o processo de formação das camadas auto-organizadas76
Figura 21 – Esquema demonstrando a inclinação das cadeias na compactação de formação de
alcanotióis
Figura 22 - Voltamogramas cíclicos da aplicação de etanotiol, em diferentes concentrações,
usando eletrodo de Au
Figura 23 – Demonstração dos equipamentos usados nas medidas voltamétricas, contemplando
a célula eletroquímica no centro, os eletrodos acoplados, a gaiola de Faraday de Al, o
equipamento de agitação magnética e o potenciostato
Figura 24 - Célula eletroquímica encamisada com o conjunto de três eletrodos conectados:
eletrodo de trabalho (WE), eletrodo auxiliar (AE) e o eletrodo de referência (RE)84
Figura 25 – Software usado nas medidas voltamétricas na avaliação de compostos tióis 84
Figura 26 – Esquema representando os materiais para a obtenção de eletrodos de trabalho de
ouro com A _{Geo} teórica de 0,03142 cm ²
Figura 27 – Voltamograma cíclico registrado com um eletrodo de trabalho STD, em solução de
KCl 0,1 M, velocidade de varredura específica de 0,05 Vs ⁻¹ 91

Figura 28 – Voltamogramas cíclicos registrados com um eletrodo de trabalho STD, em solução de KCl 0,1 M, nas velocidades de varredura de 0,03, 0,06 e 0,09 Vs ⁻¹ 92
Figura 29 – Regressão linear da variação da i _C média (i) em função da variação da velocidade
de varredura94
Figura 30 - Variação das correntes faradaicas em função da variação da velocidade de
varredura, em solução de K ₃ Fe(CN) ₆ 1 mM em eletrólito suporte KCl 0,1 M95
Figura 31 – Regressões lineares dos dados coletados das correntes faradaicas catódicas e
anódicas em função da raiz quadrada da velocidade de varredura96
Figura 32 - Variações das correntes de pico em função da variação da concentração do
K ₃ Fe(CN) ₆ 1 mM, com eletrólito suporte KCl 0,1 M97
Figura 33 – Regressões lineares dos dados coletados das i _F catódicas e anódicas em função da
variação da concentração do eletrólito de oxirredução K ₃ Fe(CN) ₆ , com diluições em KCl 0,1
M
Figura 34 – Peças de liga magnetoelástica revestidas de Au pelos métodos de deposição SP
(lado esquerdo) e ED (lado direito) usados na construção de eletrodos de trabalho para o
monitoramento da adsorção de compostos tióis
Figura 35 – Conjunto usado para a fabricação de eletrodos de trabalho com uso da LAM
revestida de Au
Figura 36 – Exemplos de eletrodos construídos com LAM revestida de ouro e encapsulada em
fita isolante adesiva
Figura 37 – Regressões lineares dos valores de corrente de pico em função da velocidade de
varredura para o eletrodo de trabalho ED
Figura 38 – Regressões lineares dos valores de corrente de pico em função da velocidade de
varredura para o eletrodo de trabalho SP
Figura 39 – Demonstrativo de curvas da variação da corrente de pico catódico em função do
tempo de deposição de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM e com eletrólito
suporte LiClO ₄ 0,1 M
Figura 40 – Curvas da variação das correntes faradaicas normalizadas pelo SSI em função do
tempo de deposição mercaptoundecanóico MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1
$$ mM, com eletrólito suporte LiClO $_4$ 0,1 M, considerando a agitação da célula eletroquímica e o
eletrodo STD
Figura 41 – Diferenças de uso da agitação magnética no interior da célula eletroquímica, com
aplicação de MUA na formação das camadas auto-organizadas, monitorados pelo método

eletroquimico de voltametria ciclica, onde CA se refere a situação de agitação e AS como sem
agitação.
Figura 42 – Diferenças de redução da concentração na adsorção de MUA com eletrodo de
trabalho STD, em função do tempo de aplicação
Figura 43 – Curvas de adsorção de compostos tióis de cadeias curtas e longa, avaliados por
voltametria cíclica, demonstrando a variação da corrente faradaica normalizada em função do
tempo de aplicação.
Figura 44 – Curvas da variação das correntes faradaica normalizadas pelo SSI em função do
tempo de deposição de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito
suporte LiClO ₄ 0,1 M, considerando a agitação da célula eletroquímica e os eletrodos de
trabalho encapsulados ED e SP
Figura $45-\text{Curvas}$ da variação das i_F normalizadas pelo SSI em função do tempo de deposição
de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito suporte LiClO $_4$ 0,1 M,
considerando as médias entre os eletrodos de trabalho ED e SP e, 1440 min de avaliação116
Figura $46-Curvas$ da variação das i_{F} normalizadas pelo SSI em função do tempo de deposição
de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito suporte LiClO $_4$ 0,1 M,
considerando as médias entre os eletrodos de trabalho ED e SP em 180 min de avaliação117
Figura 47 – Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais
e o modelo de regressão não linear de Langmuir para os processos com agitação e sem agitação
magnética na célula eletroquímica
Figura 48 – Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais
e o modelo de regressão não linear de Langmuir para os processos com variação de
concentração do tiol
Figura $49-\mathrm{Curvas}$ de adsorção de MUA com uso de eletrodos de trabalho encapsulados ED e
SP, contemplando os dados experimentais e o modelo de regressão não linear de Langmuir.
Figura $50-$ Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais
e o modelo de regressão não linear Mn Molecular para os processos com agitação e sem agitação
magnética na célula eletroquímica
Figura 51 – Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais
e os modelos de regressão não linear Mn Molecular (1 mM e 0,5 mM) e S Gomperts (0,1 mM).
Figura 52 – Curvas de adsorção de MUA sobre os eletrodos de trabalho encapsulados ED e SP,
contemplando os dados experimentais e o modelo de regressão não linear LangmuirEXT1.126

Figura 53 – Linhas de fluxo de massa e voltamogramas cíclicos para os casos macro (a) e micro
(b) eletrodos
Figura 54 – Esquema mostrando os poros preenchidos de Au, que formam os nanoeletrodos em
membrana de policarbonato133
Figura 55 – Instrumentação usada para a avaliação dos NEE, com uso de membrana de PC com
nano poros preenchidos de Au, na Università Ca'Foscari di Venezia – Italy136
Figura 56 – Comparativo entre os voltamogramas cíclicos registrados com os NEE e o eletrodo
STD, com uso do cátion FA ⁺ (0,125 mM) em eletrólito suporte KNO ₃ (0,05 M)138
Figura 57 – Microscopias MEV dos NEEs onde são apresentadas as variações da área dos furos
e as distribuições randômicas dos poros preenchidos de Au
Figura 58 - Regressões lineares das variações das i_C médias (i) em função da variação da
velocidade de varredura do STD e NEEs
Figura 59 - NEE produzido nas dependências laboratoriais da Università Ca' Foscari d
Venezia – Italy e usado nos experimentos

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros de rugosidade coletados no ensaio de perfilometria 2D das amostras de
LAM sem revestimento de Au, LAM com revestimento de Au pelo método SP e a amostra de
LAM revestida de Au pelo método de ED
Tabela 2 - Valores dos parâmetros de rugosidade obtidos das imagens das microscopias de
força atômica das superfícies sem revestimento de Au (AC), com revestimento de Au por SP e
com revestimento de Au por ED
Tabela 3 – Resultados dos parâmetros de rugosidade obtidos das imagens de microscopia de
força atômica. Valores de ângulo de contato por gota séssil das amostras de LAM sem
revestimento (AC), com revestimento de Au por SP e com revestimento de Au por ED44
Tabela 4 – Valores da i_C calculados a partir dos voltamogramas cíclicos da Figura 2893
$Tabela \ 5 - Valores \ de \ i_c e \ i_N \ dos \ eletrodos \ de \ trabalho \ encapsulados \ com \ uso \ da \ LAM \ revestida$
de Au
Tabela 6 – Resultados estimados de coeficiente de correlação linear (r²), a inclinação da reta da
regressão linear, A_{Act} do eletrodo de trabalho e a relação fracionária entre a A_{Act} e a A_{Geo} teórica
do eletrodo
Tabela 7 - Verificação da funcionalidade dos eletrodos de trabalho ED e SP, com dados
calculados por meio dos voltamogramas cíclicos
Tabela 8 – Dados provenientes das regressões lineares apresentando o coeficiente de correlação
linear, a inclinação da reta e a estimativa de concentração molar do eletrólito de oxirredução, a
partir dos dados experimentais
Tabela 9 – Velocidades da agitação magnética no interior da célula eletroquímica em solução
hidroalcoólica
Tabela 10 – Dados estimados para a adsorção de MUA com uso do eletrodo de trabalho STD,
considerando a regressão não linear MnMolecular e os modos CA e FA para o revestimento de
SAM e a A _{Rev}
Tabela 11 – Dados estimados para a adsorção de MUA com uso do eletrodo de trabalho STD,
considerando a regressão não linear MnMolecular (1 mM e 0,5 mM) e SGompertz (0,1 mM) e
apresentando os dados de revestimento de SAM e a A _{Rev}
Tabela 12 – Dados estimados para a adsorção de MUA com uso dos eletrodos de trabalho
encapsulados ED e SP, considerando a regressão não linear LangmuirEXT1e apresentando os
dados de revestimento de SAM e a ARev

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

α – Alpha / coeficiente de transferência
v – Velocidade de varredura
°C – Graus Celsius
μM – Concentração micromolar
μm – Micrometro
2D – Duas dimensões
A – Ampere
\mathring{A} – Angstron
A _{Act} – Área ativa do eletrodo de trabalho
AC – Eletrodo sem revestimento de Au
AE – Eletrodo auxiliar
AFM – Microscopia de força atômica
Ag – Prata
A _{Geo} – Área geométrica
aq – Aquoso
A_{Rev} – Área revestida do eletrodo de trabalho
Au – Ouro
b – Inclinação da reta (slope)
C-Coulomb
CA – Com agitação magnética
c _{DL} – Capacitância da dupla camada elétrica
C _i – Concentração da espécie i
Cl – Cloro
Co – Concentração de reagente O
C _R – Concentração de reagente R
Cr-Cromo
Cu - Cobre
CYS – Cystamine
CYSTE – Cysteamine

D – Coeficiente de difusão

DC - Corrente contínua

E – Potencial de equilíbrio

E⁰ – Potencial padrão

E_{1/2} – Potencial de meia onda

ED - Eletrodo com revestimento de Au pelo método de eletrodeposição

E_f – Potencial final

E_i - Potencial inicial

E_{pa} – Potencial anódico

E_{pc} – Potencial catódico

et al – E outros

EtOH – Álcool etílico

F – Constante de Faraday

FA⁺ – cátion Ferrocenylmetilammonium

FC - Ferrocene

FESEM – Microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo

h - Hora

i - Corrente

i.e. – Isto é

 i_C – Corrente capacitiva

i_F - Corrente faradaica

i_N – Corrente de ruído

i_{norm} – Corrente faradaica normalizada

i_{PA} – Corrente faradaica de pico anódico

i_{PC} – Corrente faradaica de pico catódico

is - Corrente total

i_{SAM} – Abalo na corrente faradaica causada por camada auto-organizada

J-Joules

J_i – Fluxo de espécies

K - Kelvin

k – coeficiente de proporcionalidade

k⁰ – Constante de transferência de elétrons

k_{oxi} - Constante cinética de oxidação

k_{red} – Constante cinética de redução

LAM/Au – Liga amorfa magnetoelástica revestida de ouro

LCMIC – Laboratório Central de Microscopias da UCS

LESTT – Laboratório de Engenharia de Superfícies e Tratamentos Térmicos

LCOR – Laboratório de Corrosão

m - Massa

M - Molar

mM - Concentração milimolar

MM – Massa molar

mm – milímetro

MPA – Ácido 3 – mercaptopropiônico

MUA – Ácido 11 – mercaptoundecanóico

N - Newton

n – Número de elétrons transferidos

nA – Nano ampere

NEE – conjunto de nanoeletrodos (nanoelectrode ensembles)

nm – Nanômetros

Θ – Teta / revestimento de camada auto-organizada

PC – Policarbonato

PERF – Perfilometria

pH – Potencial de hidrogênio

Pt - Platina

Q – Quantidade de carga elétrica

R – Constante Universal dos Gases

R – Radical

r² – Coeficiente de regressão

Ra - Rugosidade média

RBS – Espectrometria de retroespalhamento de Rutherford

RE – Eletrodo de referência

R_{ku} – Curtose do perfil

rpm – Rotações por minuto

R_q – Média quadrática da rugosidade

R_{sk} – Assimetria do perfil

S – Enxofre

s – Segundo

SA – Sem agitação magnética

SAM – Camadas auto-organizadas de tióis

SP – Eletrodo com revestimento de Au pelo método de magnetron sputtering

SS – Estado estacionário

SSF – Estado estacionário final

SSI – Estado estacionário inicial

STD – Eletrodo padrão de Au

T-Temperatura

t-Tempo

Un.-Unidade

V_i - Velocidade do elemento volume

V - Volt

WE – Eletrodo de trabalho

x – Distância em relação à interface

z – Número de elétrons por molécula

USP – Universidade de São Paulo

u.n – Unidade arbitrária

SUMÁRIO

CAPÍ	TULO I – DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSORES	
MAG	NETOELÁSTICOS, DESAFIOS E AVANÇOS	25
1	INTRODUÇÃO	26
2	OBJETIVOS	30
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
3	MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1	REAGENTES, SOLUÇÕES E MATERIAIS	31
3.2	INSTRUMENTAÇÃO	31
3.3	MÉTODO	32
3.3.1	Deposição de Au e corte de amostras teste	32
3.3.2	Análise das superfícies	32
3.3.3	Ângulo de contato	33
3.3.4	Monitoramento da adsorção de tióis em função do tempo	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5	CONCLUSÃO	47
	TULO II – A ELETROQUÍMICA APLICADA EM ELETRODOS DE BALHO E O MÉTODO DA VOLTAMETRIA CÍCLICA	48
1	INTRODUÇÃO	
1.1	A VOLTAMETRIA CÍCLICA	59
1.2	A VARIAÇÃO DA CORRENTE FARADAICA EM FUNÇÃO DO TEMPO	63
2	OBJETIVOS	64
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	64
3	MATERIAIS E MÉTODOS	65
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5	CONCLUSÃO	72
CAPÍ	TULO III – O MONITORAMENTO ELETROQUÍMICO DA ADSORÇÃO) DE
TIÓIS	S SOBRE ELETRODOS DE AU	73
1	INTRODUÇÃO	74
2	OBJETIVOS	81
<i>1</i> 1	ORIETIVOS ESPECÍFICOS	Q 1

3	MATERIAIS E MÉTODOS	32		
3.1	REAGENTES, SOLUÇÕES E MATERIAIS	32		
3.2	INSTRUMENTAÇÃO			
3.2.1	Sistemas de base e aquisição de dados			
3.2.2	Sistemas de base comparativa			
3.3	MÉTODO85			
3.3.1	Montagem de eletrodos revestidos de Au com base em LAM86			
3.3.2	Pré-tratamento dos eletrodos	37		
3.3.3	A funcionalidade dos eletrodos	3 7		
3.3.4	Caracterização dos compostos tióis por voltametria cíclica	38		
3.3.5	Comparativo entre diferentes tipos de tióis e eletrodos	38		
3.3.6	Fluxograma geral do processo de fabricação de eletrodos de trabalho e avaliação)		
	dos parâmetros9	0		
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO9	1		
4.1	A FUNCIONALIDADE DOS ELETRODOS DE TRABALHO9	1		
4.1.1	A funcionalidade e resultados do eletrodo de trabalho STD9	1		
4.1.2				
4.2	ADSORÇÃO DOS COMPOSTOS TIÓIS10)7		
4.2.1	A adsorção de MUA e tióis com cadeia curta no eletrodo de trabalho STD107			
4.2.2	A adsorção de MUA nos eletrodos de trabalho encapsulados114			
4.3	ANÁLISE COMPORTAMENTAL DA ADSORÇÃO DE MUA NOS ELETRODOS			
	DE TRABALHO STD, ED E SP	7		
4.3.1	Avaliação do tempo de revestimento provido pela adsorção de MUA comparand	0		
	a agitação magnética da célula eletroquímica e sem agitação, através do modelo)		
	de Langmuir11	8		
4.3.2	Avaliação do tempo de revestimento provido pela adsorção de MUA comparand	o		
	a mudança de concentração do tiol, por meio do modelo de Langmuir11	9		
4.3.3	Avaliação do tempo de revestimento provido pela adsorção de MUA comparand	lo		
	os eletrodos de trabalho ED e SP, por meio do modelo de Langmuir12	20		
4.3.4	Modelos correspondentes nas avaliações de adsorção de MUA12	22		
5	CONCLUSÃO	28		
CAPÍ	TULO IV – NANOELETRODOS: A PROMESSA DE MAIOR SENSIBILIDADI	Ξ		
A NO	SSO ALCANCE13	50		

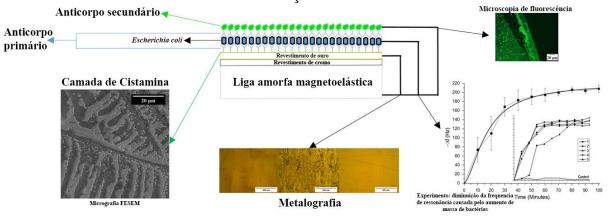
1	INTRODUÇÃO	131
2	OBJETIVOS	134
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	134
3	MATERIAIS E METODOS	135
3.1	REAGENTES, SOLUÇÕES E MATERIAIS	135
3.2	INSTRUMENTAÇÃO	135
3.3	METODO	136
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	138
4.1	OS NANOELETRODOS	138
5	CONCLUSÃO	143
CON	NCLUSAO FINAL	144
REF	TERÊNCIAS	145
APÊ	ENDICE	154

CAPÍTULO I – DESENVOLVIMENTO DE BIOSSENSORES MAGNETOELÁSTICOS, DESAFIOS E AVANÇOS

1 INTRODUÇÃO

Com a possibilidade de captar e quantificar bactérias em meio líquido, o processo de construção de um biossensor foi proposto a partir do uso da liga amorfa magnetoelástica (LAM). Os biossensores magnetoelásticos são dispositivos capazes de captar variações de massa sobre a superfície de uma LAM, que estimulada pela aplicação de um campo magnético, relaciona a variação de frequência de ressonância a variação de massa. Onde a LAM é usada como substrato ressonador, com revestimento de ouro (Au) e complementada pela deposição de compostos químicos e biológicos, foi possível medir e correlacionar a captação de bactérias por meio da mudança de massa causada pelo patógeno e a variação de frequência de ressonância (Possan, 2015; Dalla Pozza *et al.*, 2017).

Figura 1 – Esquema do desenvolvimento de biossensores magnetoelásticos revestidos de ouro, com aplicação de bioconjugados, para a detecção e quantificação de patógenos por meio de mudança de massa.



Fonte: Possan et al. (2016).

No experimento demonstrado na Figura 1, foi possível escolher o lado de menor rugosidade da liga magnetoelástica revestida de Au e aplicar uma camada de tiol, onde posteriormente habilita a formação dos bioconjugados para captar bactérias. Nesse dispositivo e com o uso dos bioconjugados, foi possível conectar anticorpos na camada de tiol, dessa forma, a bactéria captada pelo anticorpo causou uma mudança de massa na superfície do biossensor e o efeito imediato foi a redução da frequência de ressonância.

Problemas que envolvem bactérias e vírus como a *Escherichia coli* e Zika vírus, respectivamente, causam enorme desconforto e riscos de morte nos países afetados, o que leva os governos a estimularem a comunidade acadêmica na implementação de dispositivos que

detectem e quantifiquem bactérias, para que, atuem no campo da prevenção em primeiro lugar (CDC, 2018a; b).

Os biossensores magnetoelásticos que usam os protocolos de bioconjugados como protocolo de detecção e quantificação de patógenos, são muito importantes neste esforço. Os bioconjugados são um conjunto de componentes químicos e biológicos que intermediam a conexão entre a superfície de um sensor revestido de Au e um patógeno alvo, em especial, os compostos tióis e os anticorpos (HERMANSON, 2013a; b; d; e; f).

Para adsorver compostos químicos como os tióis sobre uma superfície há necessidade de um sensor que possua revestimento de Au, pois moléculas que possuem terminação com enxofre (S) demonstram biocompatibilidade com revestimentos de Au (Love, J. C. *et al.*, 2005; Hermanson, 2013c; Besharat *et al.*, 2016; Gupta *et al.*, 2016). Na deposição de tióis há formação de uma camada auto-organizada (SAM), que pode ser afetada pelas propriedades físicas e químicas da superfície, como a molhabilidade (Ulman, 1996), sensoriamento químico (Chaki e Vijayamohanan, 2002), biocompatibilidade (Gonçalves *et al.*, 2005), e também por particularidades que estão relacionadas com a tribologia da superfície e a interação com os compostos químicos que são adsorvidos (Jabbarzadeh, 2018).

De modo geral, para a formação de uma camada de tiol organizada, é necessária uma superfície de baixa rugosidade (nanômetros) pois uma deposição de tióis sobre a superfície do sensor revestido de Au, impacta na eficiência de quantificação do patógeno alvo (POSSAN, 2015). Dessa forma, uma superfície de Au de baixa rugosidade pode facilitar a adsorção de tióis, onde deseja-se que os grãos de Au estejam compactados lado a lado e por isso, uma atenção particular deve ser dada aos parâmetros de deposição do revestimento, seja ele via *magnetron sputtering* ou eletroquímico (DASH *et al.*, 2015). Diferentes mecanismos de deposição podem aumentar a rugosidade do revestimento, e de forma sequencial, dificultar a deposição dos compostos que formam os bioconjugados, como visto nos desenvolvimentos de Dalla Pozza (2016) no campo de estudo dos biossensores magnetoelásticos.

Visualizando uma superfície de Au, que apresenta opacidade ou espelhamento, podemos ter uma ideia de maior ou menor rugosidade, pois pode ser indicada pelo brilho. Entretanto, a hidrofobicidade da superfície revestida pode ser medida e relacionada com a rugosidade da superfície, sendo que substratos revestidos de Au podem apresentar maior hidrofobicidade quando possuir menor rugosidade (KIM *et al.*, 2000; ZAHIRI *et al.*, 2017).

Na produção de bioeletrodos e biossensores, diversos tipos de metais podem ser empregados, e entre eles, a LAM revestida de Au. A ótima afinidade entre os tióis e superfícies de ouro é conhecida e largamente usada para a formação das SAM (LOVE, J. CHRISTOPHER *et*

al., 2005). Como é necessária uma adsorção de tiolatos de qualidade pois influencia na eficiência de captação dos patógenos, é possível monitorar o processo de adsorção por meio de métodos eletroquímicos, medindo a taxa de deposição em função do tempo de deposição e concentração de tiol (DIAO et al., 1999; RUAN et al., 2004; SUN et al., 2008; SHE et al., 2016).

Nesse capítulo, é evidenciado o uso da LAM com revestimento de Au depositado mediante duas técnicas diferentes: via *magnetron sputtering* (SP) e por eletrodeposição (ED), com a intenção de avaliar as intensidades e distribuições da rugosidade dos revestimentos e os respectivos efeitos na adsorção de tióis. Da mesma forma, será avaliada a liga magnetoelástica como é fornecida (*As-cast*, AC – sem revestimento), para efeitos de comparação. São demonstradas micrografias eletrônicas de varredura (FESEM) e de RBS (*Rutherford Backscattering Spectrometry*) para a avaliação da textura, delaminação e espessura dos tipos de revestimentos.

A rugosidade dos revestimentos em escala micrométrica foi medida por meio da perfilometria 2D (PERF), e para a rugosidade dos revestimentos na escala nanométrica, foi usada a microscopia de força atômica (AFM). A rugosidade da superfície AC foi avaliada nos parâmetros de rugosidade foi medida com ambos métodos. É necessária a avaliação de rugosidade na escala micrométrica pois as bactérias, como a *Eschericha coli*, possuem essa dimensão (RESHES *et al.*, 2008), e também na escala nanométrica pois os componentes químicos que formam os bioconjugados possuem essa dimensão (SABER *et al.*, 2011; NCBI, 2018).

Os dados coletados na PERF e AFM foram interpretados nos parâmetros de rugosidade como: a rugosidade média (R_a) do perfil, a média quadrática da rugosidade (R_q) do perfil, a assimetria (R_{sk}) do perfil e a curtose (R_{ku}). O parâmetro R_{sk} é sensível aos vales profundos (valores negativos) e a picos intensos e quando o valor tende a zero indica uma distribuição uniforme entre picos e vales, *in allis verbis*, uma distribuição de picos e vales com simetria. O parâmetro R_{ku} , também conhecido como coeficiente de *kurtosis*, descreve a agudez dos picos e vales do perfil de rugosidade (GADELMAWLA *et al.*, 2002).

As hidrofobicidades das superfícies revestidas SP e ED, bem como da AC, são demonstradas por meio do ensaio de gota séssil, pois superfícies planares e de baixa rugosidade podem apresentar maior hidrofobicidade, como evidenciado nos estudos de Kubiak *et al.* (2011).

A LAM revestida de Au também pode ser usada para a construção de um eletrodo de trabalho. Dessa forma, foi avaliada a LAM revestida de Au por SP e ED, com intuito de monitorar a adsorção de tiolatos em função do tempo, até a passivação total da superfície. Os resultados encontrados são comparados com eletrodo de trabalho padrão de Au (STD) e nos

mesmos parâmetros de tempo de adsorção do composto tiol, concentração e agitação, usando um agente de oxirredução como marcador de passivação.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste capítulo é de caracterizar a LAM revestida de Au por dois métodos de deposição, por meio de técnicas que fornecem informações sobre a espessura, rugosidade e hidrofobicidade dos revestimentos de Au.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar as superfícies revestidas de Au sobre a LAM, usando microscopia eletrônica de varredura e RBS, para verificar delaminações e espessuras dos revestimentos;
- Avaliar as rugosidades dos revestimentos de Au em escalas micrométricas e nanométricas e comparar com os dados da LAM sem revestimento;
- Corroborar os valores de rugosidade com a hidrofobicidade dos revestimentos de Au e comparar com a hidrofobicidade da liga magnetoelástica sem revestimento;
- Monitorar a adsorção de ácido 11-mercaptoundecanóico pelo método eletroquímico de cronoamperometria.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES, SOLUÇÕES E MATERIAIS

Os reagentes usados nesse capítulo foram: cianeto de potássio (KCN, CAS 151-50-8, Sigma Aldrich), água Millipore (H₂O, CAS 7732-18-5, Sigma-Aldrich), ferrocene (FC, CAS 105-54-5, Sigma-Aldrich), ácido 11-mercaptoundecanóico 95% (MUA, CAS 71310-21-9, Sigma-Aldrich), perclorato de lítio (LiClO₄, CAS 7791-03-9, Sigma-Aldrich), álcool etílico (EtOH, CAS 64-17-5, Sigma-Aldrich).

A LAM é composta por Fe₄₅Ni₄₅Mo₇B₃, em percentual de massa. O material, a descrição e as propriedades físicas e magnéticas são providas pela METGLAS (Corporation of Conway SC) (METGLAS, 2018).

Para o polimento das amostras foi usado alumina coloidal 0,05 μ m (ALU2, Arotec), lixas (θ = 20 cm; 600, 800, 1000 e 1200 grãos por cm²) e pano de polimento MD-NAP (Struers). O embutimento das amostras foi feito com baquelite condutiva para microscopia eletrônica (Teclaco).

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

O equipamento usado para a formação do revestimento de Au por SP é da marca AJA, modelo ATC 2000 (*magnetron sputtering*). A fonte de corrente usada na produção de revestimentos de Au por ED em ligas magnetoelásticas é da marca Agilent, modelo E3634 (Fonte DC 0 – 25 V; 7 A). A politriz usada nos polimentos é da marca Struers, modelo Tegramin 20. As micrografias apresentadas foram geradas por microscopia eletrônica de varredura por meio do equipamento de marca TESCAN, modelo MIRA 3 MEVEC, FESEM. Os perfis e dados estatísticos das perfilometrias 2D foram gerados por meio do equipamento da marca Taylor Hobson, modelo Talysurf 50. As imagens de AFM foram geradas com o equipamento de marca Shimadzu, modelo SPM 9700. As imagens da gota séssil foram registradas por câmera digital com lente de macrofotografia e câmera digital (Canon T1i Rebel, lente 40mm f 2.8 *pancake*), a uma distância focal de 15 cm da amostra e com régua milimétrica para comparação. O potenciostato usado nos experimentos eletroquímicos é o modelo 600C da *CH Instruments* e o software usado é de mesma marca e modelo CHI660b.

3.3 MÉTODO

3.3.1 Deposição de Au e corte de amostras teste

A LAM foi revestida de Au no lado de menor rugosidade: revestimento de Au por sputtering SP e revestimento de Au por ED. O método de deposição de Au por SP requer um revestimento prévio de cromo (Cr) aplicado por *magnetron sputtering*, com o objetivo de melhorar a adesão do revestimento final (ROMERO *et al.*, 2000). A deposição de Au por SP das amostras estudadas nesse capítulo foram feitas no Instituto de Física da USP, sob supervisão do prof. Dr. Antonio Domingues dos Santos.

Os parâmetros usados na deposição ED foram ajustados à formação de um revestimento laminar de 0,125 µm, em solução de KCN 1 M pH 11 (D7728, 2011), com tempo de deposição de 300 s, corrente de 60 mA e ânodo de Au metálico. O revestimento eletroquímico foi feito no Laboratório de Corrosão da UCS (LCOR). Depois da aplicação dos revestimentos de Au, as amostras foram cortadas com tesoura, em dimensão apropriada para cada tipo de experimento.

3.3.2 Análise das superfícies

As amostras de LAM revestidas de Au foram embutidas em baquelite condutiva e a quente, para a microscopia da seção transversal. Após o embutimento, as amostras foram polidas mecanicamente com o auxílio de politriz, com adição de alumina coloidal 0,05 µm, com tempo de 120 s para cada lixa abrasiva e por 300 s de polimento com pano MD-NAP, sob pressão de 10 N configurado na politriz. Os tratamentos das amostras foram realizados no Laboratório de Caracterização de Materiais para Mineração da UCS.

Foi usado a microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo para a observação dos revestimentos de Au. As imagens foram obtidas no Laboratório Central de Microscopia da UCS (LCMIC). As medidas de espessura relatadas nas respectivas micrografias foram adquiridas com o auxílio do *software* ImageJ e a calibração foi produzida com a régua apresentada na micrografia específica de cada medição.

A espessura dos revestimentos de Au aplicados pelos métodos SP e ED foram simuladas por RBS sob substrato de silício e com espessuras simuladas no software de rotinas RUMP (DOOLITTLE, 1985). As avalições foram realizadas no Instituto de Física da USP sob supervisão do Dr. Antonio Domingues dos Santos.

O estudo das rugosidades da superfície AC e dos revestimentos de Au obtidos pelos métodos de deposição por SP e ED, foram aplicadas em duas escalas: micrométrica e nanométrica. A avaliação na escala micrométrica foi por meio da perfilometria 2D, com *cut-off* de 2,5 mm, com 1500 pontos de resolução e filtro de regressão gaussiana e provendo dados estatísticos da avaliação das superfícies. A avaliação na escala nanométrica foi executada por microscopia de força atômica (AFM) no modo *tapping* e área de avaliação de 1 μm², que forneceu os dados estatísticos de rugosidade das superfícies dos revestimentos. As avaliações foram feitas no LCMIC e no Laboratório de Caracterizações de Superfícies em Nanoescala da UCS.

3.3.3 Ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato de gota séssil das amostras que indicam a hidrofobicidade das superfícies AC, SP e ED foram executadas com uso de água destilada e em ambiente condicionado ($23^{\circ} \pm 1^{\circ}$ C). As medidas de hidrofobicidade foram executadas de acordo com a metodologia de Stalder *et al.* (2010). As avaliações foram feitas no LCOR.

3.3.4 Monitoramento da adsorção de tióis em função do tempo

O monitoramento da adsorção de tióis foi conduzido eletroquimicamente com uma célula de três eletrodos, usando a LAM revestida de Au como eletrodo de trabalho. A área geométrica (A_{Geo}) de contato com o meio eletrolítico foi de 3,14 mm².

O eletrodo de trabalho foi montado sobre fita adesiva de marca Scotch, com contatos elétricos de cobre. O furo circular relativo à A_{Geo}, foi formado por um pino metálico de dimensão apropriada para os comparativos eletroquímicos, medindo 2 mm de diâmetro. O eletrólito suporte era uma solução de EtOH com 0,1 M de LiClO₄ e o elemento de oxirredução usado foi o FC 1x10⁻³ M. O eletrodo de referência era do tipo Ag / AgCl com KCl saturado (cloreto de potássio). Um espiral de platina (Pt) foi usado como eletrodo auxiliar. As curvas amperométricas foram registradas sob agitação magnética (200 rpm).

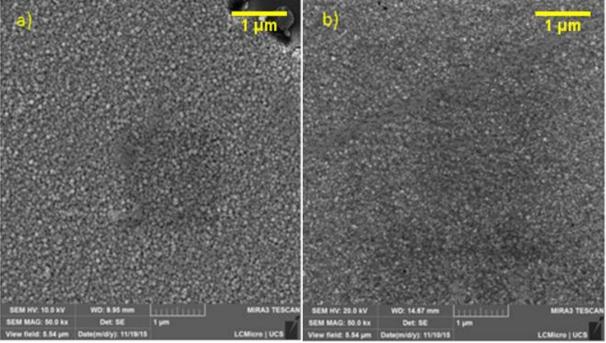
O potencial aplicado na cronoamperometria foi de 0,6 V. Após 600 s de medição, foi introduzida na célula eletroquímica uma solução de 1x10⁻³ de MUA e por 3 h a corrente foi medida, com coleta de dados a cada 100 ms. O mesmo procedimento foi utilizado com um eletrodo de trabalho comercial (STD) de Au de 2 mm de diâmetro modelo CHI101 (Labsolutions), para fins comparativos. O eletrodo STD foi polido com alumina (0,3 μm - 0,05

μm) e posteriormente lavado por 3 vezes com EtOH. O estudo eletroquímico foi realizado com o potenciostato CHI660b, *CH Instruments* com o respectivo software. Os experimentos foram realizados nos laboratórios do Departamento de Ciências Moleculares e Nanosistemas da Università *Ca' Foscari di Venezia - Italy*.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta micrografias de microscopia eletrônica de varredura de amostras de LAM com revestimento de Au, pelos métodos de deposição SP (Figura 2a) e por ED (Figura 2b). A comparação das micrografias revela que a deposição de Au por SP possui uma característica de conjuntos de grãos de dimensões em torno de 0,1 μm, como demonstrado em toda a abrangência da Figura 1a, sugerindo uma maior rugosidade quando comparada com o método de deposição de Au por ED, que apresenta formato compacto.

Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura apresentando comparativo entre duas amostras de LAM revestida com Au, pelos métodos de deposição por SP (a) e ED (b).



Fonte: o autor.

Esse efeito de aglomeração produzido pelo método de deposição de Au por SP, caracterizado por uma forma pulverizada, pode mostrar uma morfologia plana ou não aguda, mas de forma randômica, sobrepõe moléculas e gera acúmulos que não só podem aumentar a rugosidade, mas provocam assimetria na dispersão de picos e vales do perfil. De forma contrária, a nucleação do Au lado-a-lado, quando a deposição eletroquímica é programada para longos tempos e em baixas correntes, contribui para uma distribuição de asperezas regulares, em outras palavras, simétricas. Resultados similares são evidenciados nos estudos de Bell *et al.* (2018), e de acordo com a Figura 2b, a nucleação lado-a-lado pode agregar compactação ou menores tamanhos de aglomerações

O procedimento de funcionalização de uma superfície de Au para a fabricação de um biossensor ou bioeletrodo, necessita longo tempo de contato entre a superfície e soluções de moléculas e biomoléculas. De fato, a estabilidade do revestimento de Au depositado na superfície da LAM torna-se fundamental. Além do mais, as soluções de produtos químicos e bioquímicos causam corrosão nos metais que compõe a LAM, em especial no ferro, que possui percentual majoritário na sua composição. Um exemplo de uso de funcionalização de superfície de Au é a aplicação da cistamina (CYS), um dos tióis mais usados na formação dos bioconjugados e formação das SAM. Nos processos mais estudados e comumente utilizados, demonstram que é necessário um tempo mínimo 120 min em solução hidroalcoólica, para a formação de uma SAM com aglomeração caótica das moléculas de CYS e de até 24 h para a sua compactação (MENDES *et al.*, 2008; JANEGITZ *et al.*, 2012).

Ademais, o processo de mudança de frequência de ressonância relacionada com a mudança de massa causada pela bactéria, que compreende a detecção e quantificação de patógenos com o uso de biossensores magnetoelásticos, tem um tempo experimental que varia em torno de 40 min. Em trabalhos recentes, foi observado que uma região não protegida com Au é intensamente atacada pela solução hidroalcoólica que contém CYS, característica de alguns tióis (POSSAN, 2015; DALLA POZZA *et al.*, 2017).

A Figura 3a mostra uma microscopia eletrônica de varredura de uma fita de LAM revestida de Au por SP, com Cr intermediando o substrato e o revestimento e com o intuito de agregar adesão interlaminar. A imagem demonstra claramente que, que sob a pressão causada pelo processo de polimento pós embutimento em baquelite, o revestimento de Au depositado por SP é totalmente passível de remoção sob pressões físicas inferiores a 10 N aplicados pela politriz. Por outro lado, o revestimento de Au por ED não apresenta deficiência na adesão, sendo o Au aplicado eletroquimicamente e sem Cr interlaminar, como demonstrado na Figura 3b, sugerindo o processo como melhor hipótese de logística de produção. Lembrando que a amostra revestida de Au por ED recebeu as mesmas condições de embutimento e polimento. Esse comportamento indica que a deposição de Au por ED possui estabilidade física quando sujeita a esforços físicos transversais de polimento de até 10 N de pressão e com tempo de aplicação de 300 s de polimento, e não delaminará facilmente.

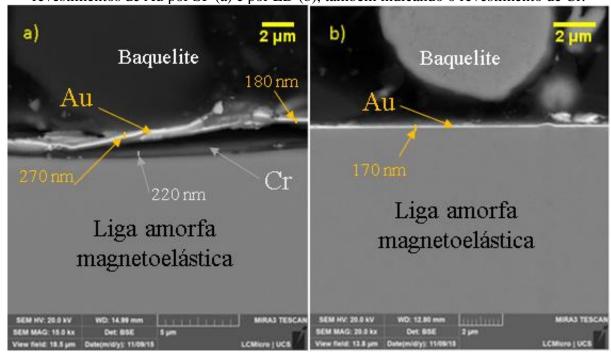


Figura 3 – Microscopia eletrônica de varredura comparando as amostras de LAM com revestimentos de Au por SP (a) e por ED (b), também indicando o revestimento de Cr.

Fonte: o autor.

Em conjectura preliminar apresentada na Figura 3, é demonstrada que a produção de revestimentos de Au sobre superfícies metálicas por ED, em comparação ao processo de deposição de Au por SP, e mostrou vantagem não somente em termos de delaminação, mas de logística. De fato, a preparação de biossensores com revestimento de Au é indicada, não somente pela melhoria da adesão, mas pela simplicidade do processo de revestimento e somado às interações moleculares do Au com tióis.

A partir das micrografias mostradas na Figura 3, podem ser estimadas as espessuras dos revestimentos de Au, com valores menores que 300 nm para revestimentos por SP e menores que 200 nm para o revestimento por ED. A Figura 4 evidencia as simulações RBS com aproximações de espessuras e que corroboram a aproximação com os valores encontrados anteriormente.

Energia (MeV) 1.5 2.0 250 a) ---- Dados experimentais RBS 200 Rampa de simulação SP (Au 117 nm, Cr 128 nm) Contagem (u.a) 50 Cr Si 0 100 150 200 Canal Energia (MeV) 1.0 2.0 200 Au Dados experimentais RBS Rampa de simulação ED (Au 104 nm) Contagem (u.a.) 50 0 250 50 100 150 200 300 Canal

Figura 4 – Simulações RBS de amostras de LAM revestidas de Au pelos métodos de deposição SP (a) e ED (b).

Fonte: Prof. Dr. Antonio D. dos Santos, Instituto de Física (USP).

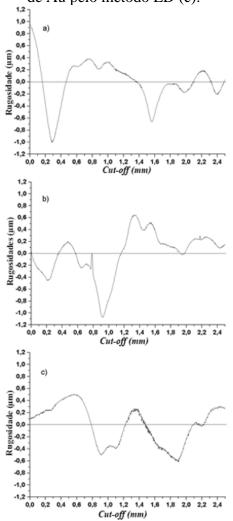
De forma geral, todas simulações apresentaram valores inferiores a 200 nm de para os revestimentos de Au, ou seja, 117 nm de Au e 128 nm de Cr para o revestimento por SP (Figura 4a), e 104 nm de Au para o revestimento por ED (Figura 4b).

Na escala micrométrica, a avaliação das superfícies revestidas de Au é necessária pois o tamanho das bactérias alvo captados pelo sistema de biosensoriamento variam de 1 a 5 μm de comprimento, como mostrado nos estudos de nosso grupo de pesquisa e relacionado com a bactéria *Escherichia coli* (Possan, 2015; Dalla Pozza *et al.*, 2017). De fato, uma superfície de menor rugosidade pode melhorar a compactação de bactérias e aumentar a eficiência do biosensoriamento.

A Figura 5 apresenta a perfilometria 2D das superfícies da LAM sem revestimento (AC), da LAM com revestimento de Au pela técnica de deposição SP e da LAM com

revestimento de Au pela técnica de deposição ED. Nota-se que há uma similaridade entre as avaliações das superfícies SP e ED na escala micrométrica (Figura 5b e 5c).

Figura 5 – Resultados encontrados no ensaio de PERF 2D das amostras de LAM sem revestimento de Au (a), LAM com revestimento de Au pelo método SP (b) e a LAM revestida de Au pelo método ED (c).



Fonte: o autor.

Observa-se nos resultados das perfilometrias das superfícies AC e SP que há picos de até 0,8 μ m e vales de até 1 μ m. Menores valores de rugosidade total são observados na superfície ED (Figura 5c), com picos de até 0,5 μ m e vales de até 0,6 μ m. Comparando as 3 superfícies em termos de rugosidade média (Ra) e o desvio médio quadrático (Rq), e com base nas observações foi visto similaridade e requer uma avaliação mais ampla, de acordo com a Tabela 1 onde são apresentados os dados de Ra, Rq, Rsk e Rku.

Tabela 1 – Parâmetros de rugosidade coletados no ensaio de perfilometria 2D das amostras de LAM sem revestimento de Au, LAM com revestimento de Au pelo método SP e a amostra de LAM revestida de Au pelo método de ED.

	Un.	AC	SP	ED
R_a	μm	0,26	0,28	0,28
$\mathbb{R}_{\mathbf{q}}$	μm	0,35	0,37	0,32
\mathbb{R}_{sk}	-	-0,51	-0,84	-0,25
$R_{\mathbf{k}\mathbf{u}}$	-	3,95	3,61	1,80

A análise dos resultados mostrados na Tabela 1 indica que, de forma geral, os valores de R_a e R_q são próximos quando as superfícies são comparadas a nível micrométrico, apresentando diferença de apenas 20 nm em relação à amostra AC. Entretanto, esses fatores não fornecem informações sobre a dispersão dos picos e vales e nem sobre a intensidade deles. A assimetria do perfil (R_{sk}) e a kurtosis (R_{ku}) podem diferenciar superfícies que possuem mesmos valores de R_a e R_q .

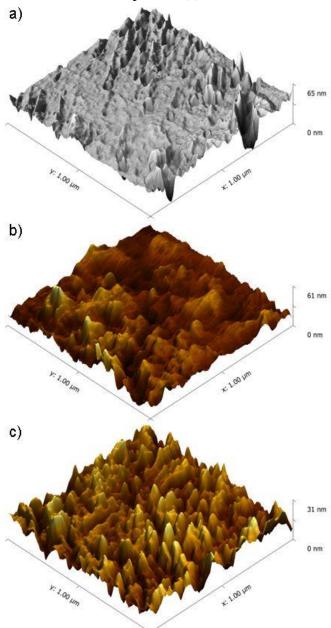
O parâmetro Rsk da avaliação relacionada com a amostras ED apresentou o menor valor em direção equilíbrio simétrico, ou seja, valores próximos à zero indicam simetria. Com predominância negativa, indica também que há mais vales do que picos e dessa forma aponta a prevalência.

De acordo com Gadelmawla *et al.* (2002), é considerada leptocúrtica uma superfície com valores de R_{ku} maiores que 3, e platicúrtica quando os valores de R_{ku} são menores do que 3. Com base na referência, o parâmetro R_{ku} demonstrado na Tabela 1 mostra que a superfície revestida de Au por ED possui uma característica platicúrtica ($R_{ku} < 3$) e uma distribuição com picos e vales de menor agudez. O revestimento de Au por SP e a superfície da LAM apresentaram uma distribuição leptocúrtica ($R_{ku} > 3$), com picos e vales agudos.

Com os dados providos pela microscopia de AFM na escala nanométrica, foi possível observar que a soma das distâncias entre os vales mais profundos e os picos mais intensos da superfície da LAM sem revestimento de Au (AC) e a superfície com revestimento de Au por SP, estão em torno de 60 nm (Figura 6b).

Também foi observado na superfície revestida de Au por ED, onde houve uma redução desta distância, em torno de 31 nm (Figura 6c), que houve suavização relacionada com a distribuição de picos e vales.

Figura 6 – Imagens de microscopia de força atômica das superfícies da liga magnetoelástica sem revestimento de Au (a), com revestimento de Au por SP (b) e com revestimento de Au por ED (c).



Ademais, o revestimento de Au por ED também apresentou uma redução no parâmetro R_a quando comparado com o revestimento de Au por SP, indicando que possivelmente, vales foram preenchidos. Os resultados do cálculo dos parâmetros de rugosidade relativos à análise AFM são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Valores dos parâmetros de rugosidade obtidos das imagens das microscopias de força atômica das superfícies sem revestimento de Au (AC), com revestimento de Au por SP e com revestimento de Au por ED.

	Un.	AC	SP	ED
R_a	nm	2,42	5,74	4,00
$\mathbb{R}_{\mathbf{q}}$	nm	3,66	6,89	4,91
$\mathbb{R}_{\mathfrak{s}\mathbf{k}}$	-	-0,75	-0,29	0,06
R_{ku}	-	6,72	2,51	2,71

O aumento das asperidades na escala nanométrica está relacionada com o crescimento dos cristais de Au na superfície, no entanto, é esperado que esse aumento apresente um comportamento similar ao substrato (Sun *et al.*, 2010).

De fato, essa afirmação foi evidenciada pelos dados de Ra e Rq providos pelas análises das imagens de AFM dos revestimentos de Au por SP e ED e quando comparados com a superfície sem revestimento AC (Tabela 2).

Como pode-se observar na Tabela 2, ambos revestimentos apresentaram aumento em R_a e R_q quando comparados com a superfície sem revestimento. Em ambos casos, o R_q é maior que o R_a em torno de 20-30%, em acordo com os estudos de Shindo *et al.* (2013). Entretanto, a superfície com revestimento de Au por ED apresentou valores de R_a em torno de 30% menores em relação ao revestimento de Au por SP.

A assimetria negativa ($R_{sk=-0,75}$) encontrada na superfície AC e no revestimento de Au por SP indicam que esses perfis de distribuição de picos e vales possuem maior asperidade e com predominância de vales profundos.

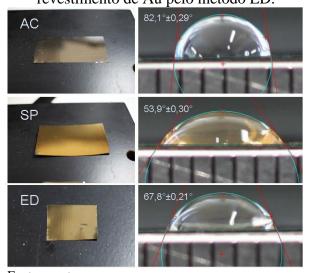
No caso do revestimento de Au por ED, com suporte da micrografia obtida por FESEM da Figura 2b, é possível afirmar que os grãos de Au não apresentam formato de grandes aglomerados como evidenciado no revestimento de Au por SP (Figura 2a). Esse fato pode ser confirmado pelo R_{sk} que apresenta valor próximo a zero, caracterizando uma superfície de maior simetria na distribuição de picos e vales deste perfil.

Também é notado que a agudez (R_{ku}) dos picos e vales se apresentam de forma platicúrtica nas superfícies com revestimento de Au por SP e ED, indicando que as asperidades a nível nanométrico não possuem agudez intensa ou desproporcional entre picos e vales. Esse tipo de revestimento é indicado para desenvolvimentos tecnológicos de filmes finos de Au

desde que haja uma distribuição otimizada entre os picos e vales dos perfis (CELEDÓN *et al.*, 2006).

Os dados de rugosidade podem ser corroborados por medidas de ângulo de contato de gota séssil. A Figura 7 apresenta os resultados obtidos nos testes de ângulo de contato que indicam a hidrofobicidade. Os resultados de ângulo de contato por gota séssil das amostras de LAM sem revestimento de Au (AC), com revestimento por SP e ED são consistentes com os valores de rugosidade encontrados nos dados estatísticos extraídos das imagens de microscopia AFM.

Figura 7 – Resultados das análises de hidrofobicidade por ângulo de contato de gota séssil das amostras de LAM sem revestimento (AC), com revestimento de Au pelo método SP e com revestimento de Au pelo método ED.



Fonte: o autor.

Com esses resultados, é possível confirmar que o revestimento de Au por ED possui maior ângulo de contato $(67.8^{\circ} \pm 0.21^{\circ})$ quando comparado com o revestimento de Au por SP $(53.9^{\circ} \pm 0.30^{\circ})$, e ambos são menos hidrofóbicos quando comparados com a LAM sem revestimento de Au $(82.1^{\circ} \pm 0.29^{\circ})$.

Esses valores de ângulo de contato corroboram os valores de R_a e R_q extraídos das imagens providas pela microscopia AFM e dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados dos parâmetros de rugosidade obtidos das imagens de microscopia de força atômica. Valores de ângulo de contato por gota séssil das amostras de LAM sem revestimento (AC), com revestimento de Au por SP e com revestimento de Au por ED.

	Un.	AC	SP	ED
R_a	nm	2,42	5,74	4,00
$R_{\mathbf{q}}$	nm	3,66	6,89	4,91
Ângulo	graus	82.1° ± 0.29°	53.9° ± 0.30°	67.8° ± 0.21°

		Relação	
		AC - SP	AC - ED
Hidrofobicidade	%	66	83

Os dados da Tabela 3 sugerem que os revestimentos de Au por SP e ED tornam a superfície menos hidrofóbica, i.e., a rugosidade aumenta quando comparado com a LAM sem revestimento AC. Relacionando rugosidade e hidrofobicidade, nota-se que o revestimento de Au por ED apresenta melhores resultados quando objetivada a hidrofobicidade, sendo 17% mais hidrofílico quando comparado à superfície sem revestimento AC. Por outro lado, o revestimento de Au por SP apresentou valores reprovativos quanto ao método de produção, quando comparado com a superfície sem revestimento AC e sendo 34% mais hidrofílico, ou menos hidrofóbico.

A adsorção de compostos tióis sobre superfícies revestidas de Au em função do tempo de aplicação é estudada por amperometria, como descrito na sessão 3.3.4. Após a aplicação de um potencial anódico, a corrente relativa à oxidação do agente de oxirredução FC é registrada para monitoramento.

Conforme a superfície do eletrodo é passivada pela adsorção do MUA, a corrente diminui proporcionalmente até estabilizar em valores correspondentes às correntes capacitivas relacionadas com as características dimensionais e propriedades do eletrodo, valores que correspondem a 10% da corrente inicial.

Nos primeiros 10 min, o sistema foi composto por solução hidroalcoólica de FC com eletrólito de suporte (LiClO₄). Após os 10 min iniciais, o MUA foi injetado na célula eletroquímica em concentração de 1 mM. Após um período de 3 h, acontece a passivação da superfície do eletrodo em função da adsorção do MUA, ocasionando a redução na corrente

faradaica que está relacionada com a oxidação do FC. A curva amperométrica indicando a diminuição da corrente faradaica foi registrada dando a indicação do tempo necessário para a completa passivação do eletrodo de trabalho, que corresponde à sua cobertura completa pelo tiol.

A Figura 8 apresenta as curvas cronoamperométricas relativas aos três tipos de eletrodos estudados: o eletrodo de trabalho STD, eletrodo de trabalho com a LAM revestida de Au por SP e eletrodo de trabalho com a LAM revestida de Au por ED.

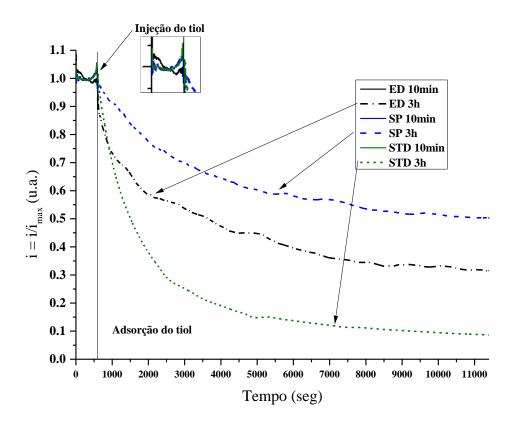


Figura 8 – Curvas amperométricas relativas à adsorção de MUA (1 mM), em solução hidroalcoólica de FC (1.10⁻³ mM) e LiClO₄ (0,1 mM).

Fonte: o autor.

Como evidenciado na Figura 8, nos 10 min iniciais em ausência de MUA, o comportamento das três curvas é similar, mostrando a corrente faradaica relativa à oxidação do FC. Após a introdução do MUA na solução eletrolítica, cada tipo de eletrodo apresentou diferentes variações de decaimento da corrente faradaica, que pode ser explicado em função da rugosidade das superfícies testadas.

O eletrodo STD apresentou o maior decaimento de corrente e após 9000 s da aplicação de MUA, atingiu um estado estacionário. Esse comportamento indica que a superfície do

eletrodo STD foi passivada pela adsorção do MUA e a contribuição de corrente faradaica que é observada no estado estacionários (i = i/i_{max} = 0,1) está em níveis capacitivos. Esse resultado descreve uma superfície ideal para deposição de tióis. Por outro lado, os eletrodos produzidos a partir da LAM com revestimento de Au por SP e ED, mostraram curvas amperométricas distintas entre si e em relação ao eletrodo STD, como pode-se observar na Figura 8. Analisando as três curvas da Figura 8, se observa que após 9000 s, ambos eletrodos (SP e ED) não atingiram níveis de corrente capacitiva, indicando que ao passar do tempo de injeção do MUA, a área disponível do eletrodo de trabalho para a oxidação do FC diminuiu, mas não foi completamente passivada .A corrente faradaica relacionada à oxidação do FC continuou a ser detectada.

Esses fatos nos levam a acreditar que a rugosidade. nas escalas micrométricas e nanométricas, dificultam a adsorção do MUA na superfície de Au, deixando pontos de contato entre a superfície e o eletrólito e ocorrendo a oxidação do FC. Entretanto, comparando as respostas cronoamperométricas de MUA nos revestimentos SP e ED, observa-se que na superfície de Au ED é mais completa que na superfície de Au por SP.

Além disso, esse resultado sugere que a técnica de deposição eletroquímica de Au possui menores asperidades do que a técnica por *sputtering*, e pode facilitar a adsorção de moléculas na formação das SAM, passo primário e essencial para a construção de um biossensor ou bioeletrodo com base nos bioconjugados, além de aumentar a eficiência do biosensoriamento.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que a deposição de Au por ED é mais compacta do que deposição de Au por SP, o que sugere menor rugosidade, simetria e kurtosis platicúrtica. De acordo com as micrografias FESEM, foi evidenciado que o revestimento de Au por ED, quando submetido a esforços físicos relacionados ao polimento transversal, não delaminou. As simulações em RBS evidenciaram que a espessura do revestimento do revestimento de Au por ED é de 104 nm. A perfilometria 2D indicou que o revestimento por ED possui rugosidade similar ao SP em escala micrométrica, mas o perfil possui uma assimetria menor entre picos e vales e a kurtosis apresenta um caráter platicúrtico. A microscopia AFM revelou que em escala nanométrica e nos parâmetros de rugosidade e assimetria, o revestimento de Au por ED possui menores valores quando comparado com SP, entretanto, a kurtosis de ambos apresentou caráter platicúrtico. Os dados de rugosidade adquiridos foram corroborados pela avaliação de hidrofobicidade das superfícies, indicando que o revestimento ED é mais hidrofóbico quando comparado com o revestimento SP. O estudo da adsorção de MUA pelo método eletroquímico de cronoamperometria revelou que os revestimentos de Au por ED e SP sofrem passivação proveniente da criação da camada auto-organizada de tiol, entretanto, não a níveis de total revestimento quando comparados aos resultados do STD.

CAPÍTULO II – A ELETROQUÍMICA APLICADA EM ELETRODOS DE TRABALHO E O MÉTODO DA VOLTAMETRIA CÍCLICA

1 INTRODUÇÃO

O estudo da eletroquímica e suas aplicações são muito antigas e ajudaram a ciência a resolver problemas em diversas áreas de pesquisa e de desenvolvimento tecnológico, como o exemplo da determinação da glucose a partir da enzima glucose oxidase (URBAN *et al.*, 1991). Partindo de um simples entendimento das leis de Faraday sobre a eletrólise em que uma espécie química pode sofrer oxidação perante um potencial elétrico e posteriormente sofrer uma redução química, uma infinidade de aplicações, ou janelas de possibilidades, são criadas e estudadas para resolver problemas de nosso dia-a-dia (EHL e IHDE, 1954; STRONG, 1961). Considerando uma espécie química ao qual a energia depende do potencial de fase aplicado, tem-se a seguinte reação de oxirredução:

$$0_{(aq)} + e_{(m)}^{-} \underset{k^{ox}}{\rightleftharpoons} R_{(aq)}$$

$$(1)$$

Onde O e R são o par de formas oxidada e reduzida em solução aquosa, respectivamente. O termo "m" indica a fonte de elétrons e "aq" indica o estado das formas envolvidas, no caso, aquoso. Os termos K_{red} e K_{ox} representam os parâmetros cinéticos da reação.

A reação eletroquímica vista na Equação 1, somente procede quando um eletrodo condutivo é colocado na solução que contém o par de oxirredução, e atua como entrada e saída de elétrons. Dessa forma, salienta-se que essa reação envolve a transferência de espécies carregadas entre o eletrodo e a espécie da fase solução (aq), concluindo-se que este tipo de reação é de processo de interface ou interfacial e heterogênea.

À medida que a transferência de elétrons se move em direção ao equilíbrio, uma separação de carga líquida desenvolve-se entre o eletrodo e a solução, causando uma diferença de potencial na interface eletrodo/solução, ou seja, para o processo definido na Equação 1, a equação de Nernst é aplicável (Equação 2).

Se o sistema opera seguindo a Equação de Nernst, a reação do eletrodo/interface é comumente dita como termodinamicamente e eletroquimicamente reversível, caracterizando o comportamento nernstiano (SKOOG, 2006).

$$E = E_0 + \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln\left(\frac{C_0}{C_R}\right) \tag{2}$$

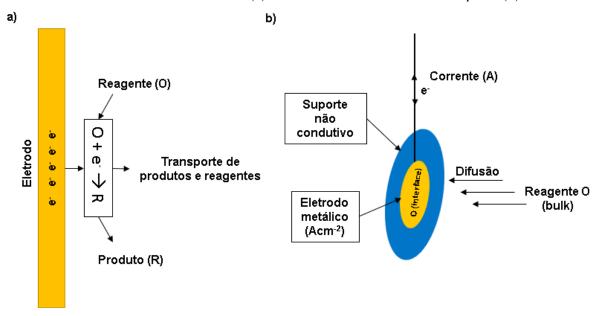
Onde E (V) é o potencial de equilíbrio, E^0 é o potencial padrão (V) e as C_0 e C_r são as concentrações molares (M = mol L^{-1}) das espécies O e R na interface (x = 0), e considerando condições de equilíbrio, $E = E^0$. Ademais, R é a constante universal dos gases (8,314 JK⁻¹mol⁻¹), T é a temperatura em Kelvin, n é o número de elétrons transferidos na reação e F é a constante de Faraday (96485,33 Cmol⁻¹).

Embora a eletroquímica de equilíbrio demonstre importância fundamental permitindo que parâmetros termodinâmicos como energia livre de reação, constantes de equilíbrio e pH de soluções sejam avaliadas, a eletroquímica dinâmica demonstra o principal impulso para uso comercial em várias áreas, inclusive o de sensoriamento e diagnóstico.

Partido da eletroquímica de equilíbrio para a eletroquímica dinâmica e considerando a Equação 1, é necessário um segundo eletrodo para que a passagem da corrente seja facilitada e um eletrodo de referência com potencial conhecido (SMITH e STEVENSON, 2007).

Como apresentado na Figura 9, o processo ocorre nos seguintes passos gerais: primeiro o reagente se propaga da região *bulk* (região do eletrólito de maior concentração e longe da interface) em direção da interface, denominando o transporte de massa das espécies envolvidas. Em seguida, um potencial é aplicado na célula e induz a troca de elétrons na interface, entre o eletrodo e a espécie de oxirredução em solução. Dessa forma, ocorre a eletrólise onde a magnitude da corrente (i) está relacionada com o fluxo da espécie em solução.

Figura 9 – Esquema de reação interfacial de um eletrodo de trabalho constando a oxirredução de uma espécie em solução e em difusão no sentido bulk/interface, demonstrando a interface de um eletrodo de trabalho (a) e um eletrodo de trabalho completo (b)



Fonte: o autor.

Portanto, o fluxo das espécies em solução em função da corrente (i) é apresentado pela Equação 3, derivada da Lei de Faraday para a eletrólise:

$$i = zAFJ_i (3)$$

Onde z é o número de elétrons por molécula envolvida no processo eletroquímico, A é área do eletrodo (cm²), F é a constante de Faraday e J_i é o fluxo de espécies em solução (mols¹), considerando condições de limite (distância do eletrodo igual a zero e tempo t) e em conjunto com a primeira e segunda lei de Fick (BARD e FAULKNER, 2001). O processo de transferência de elétrons entre a espécie O e o eletrodo ocorre via tunelamento mecânico quântico, com distâncias estimadas em 10 - 20 Å na interface (ALBRECHT, 2012).

Considerando a Equação 1, onde um processo catódico fornece elétrons ao mesmo tempo em que um processo anódico remove o elétron causando a oxidação, as constantes de taxa de formação K_{red} e K_{ox} são dependentes do potencial aplicado negativo para a redução catódica enquanto a redução anódica com potencial aplicado dominantemente positivo, respectivamente, e de acordo com a lei das taxas mostrado na Equação 4.

$$J_{i} = k_{red}[R] - k_{ox}[0]$$

$$(4)$$

Quando um potencial é aplicado, a energia livre dos reagentes é aumentada desde que a energia livre de Gibbs para a redução esteja relacionada com o potencial formal no equilíbrio (Equação 5), onde $E-E_0$ é o potencial aplicado no eletrodo de trabalho e relacionado com o par de oxirredução O/R, com ambos potenciais medidos no mesmo eletrodo de referência.

$$\Delta G_0 = -nF(E - E_0) \tag{5}$$

Para uma transferência eletrônica heterogênea, a energia de transição é conduzida termodinamicamente até o estado de baixa energia evidenciados na Equação 6 e 7.

$$\Delta G_{\text{red}} = \Delta G_{\text{red}} + \alpha n F(E - E_0)$$
 (6)

$$\Delta G_{ox} = \Delta G_{ox} - (1 - \alpha) nF(E - E_0)$$
 (7)

Onde α é o parâmetro conhecido como coeficiente de transferência, que fornece informações físicas relacionadas com o estado de transição, e é influenciado pela aplicação de tensão. É tipicamente encontrado na literatura com um valor de α = 0,5. Um valor médio entre 0,3 e 0,7 demonstra que o estado de transição se comporta a meio caminho entre a resposta dos reagentes e produtos, quando aplicado uma tensão (BROWNSON e BANKS, 2014).

Considerando a cinética química com comportamento e de acordo com a Equação de Arrhenius, as constantes de taxa podem ser reescritas de acordo com as Equações 8 e 9.

$$k_{red} = A_{red} e^{-\left(\frac{\Delta G_{red}}{RT}\right)}$$
 (8)

$$k_{ox} = A_{ox}e^{-\left(\frac{\Delta G_{ox}}{RT}\right)} \tag{9}$$

Com as energias de ativação propostas nas Equações 6 e 7, reescrevemos as Equações 8 e 9 da seguinte forma:

$$k_{red} = A_{red} e^{\left(\frac{\Delta G_{red}}{RT}\right)} e^{\left(\frac{-\alpha n F(E - E_0)}{RT}\right)}$$
(10)

$$k_{ox} = A_{ox} e^{\left(\frac{\Delta G_{ox}}{RT}\right)} e^{\left(\frac{(1-\alpha)nF(E-E_0)}{RT}\right)}$$
(11)

Dessa forma, fica evidenciado que as constantes de taxa são dependentes apenas do potencial aplicado como demonstrado nas Equações 12 e 13.

$$k_{red} = k_{red}^{0} e^{\left(\frac{-\alpha n F(E - E_0)}{RT}\right)}$$
 (12)

$$k_{ox} = k_{ox}^{0} e^{\left(\frac{(1-\alpha)nF(E-E_{0})}{RT}\right)}$$
(13)

Como demonstrado nas Equações 12 e 13, a oxidação de R e a redução de O são dependentes exponencialmente do potencial aplicado: a constante de taxa de oxidação aumenta à medida que o eletrodo se torna mais positivo em relação à solução enquanto a constante de taxa de redução aumenta conforme o eletrodo se torna mais negativo em relação à solução, onde k^0 é a constante de taxa padrão eletroquímica.

Inserindo as constantes de taxa das Equações 12 e 13 na equação de fluxo (Equação 4), obtemos o fluxo em função das constantes de taxa e de concentração do agente de oxirredução, como demonstrado na Equação 14.

$$J_{i} = k_{red}^{0} e^{\left(\frac{-\alpha n F(E-E_{0})}{RT}\right)} [R] - k_{ox}^{0} e^{\left(\frac{(1-\alpha)n F(E-E_{0})}{RT}\right)} [0]$$
(14)

Considerando o equilíbrio eletroquímico no eletrodo de trabalho onde as correntes de oxirredução estão equilibradas e não há fluxo de corrente líquida (J = 0) e o coeficiente de transferência é igual a 0,5, o potencial é dado pela Equação 15.

$$E = E_0 + \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln\left(\frac{C_0}{C_R}\right) + \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln\left(\frac{k_{ox}^0}{k_{red}^0}\right)$$
 (15)

Onde, em caso de $k_{ox}^0 = k_{red}^0 = k^0$, a Equação de Nernst confirma o equilíbrio. Dessa forma as constantes de taxa podem ser reescritas nas Equações 16 e 17. Onde a constante de taxa padrão.

$$k_{red} = k^0 e^{\left(\frac{-\alpha n F(E - E_0)}{RT}\right)}$$
 (16)

$$k_{ox} = k^0 e^{\left(\frac{(1-\alpha)nF(E-E_0)}{RT}\right)}$$
(17)

A configuração comum encontrada para processos eletroquímicos é composta de três eletrodos: o eletrodo de trabalho (WE), o eletrodo auxiliar (AE) e o eletrodo de referência (RE) (MA *et al.*, 2017). Ambos eletrodos conectados em um potenciostato que permite o controle da diferença de potencial entre o WE e RE com mínima interferência de queda ôhmica (METROHM, 2011).

O fluxo de corrente através do eletrodo de referência é minimizado com a inserção do AE (de área maior que o WE) e um eletrólito suporte, assegurando que o potencial seja mantido estável entre o WE e o RE, e dessa forma, o fluxo de corrente é provido no sentido do AE para o WE (BARD e FAULKNER, 2001).

De acordo com a Figura 9a, o processo eletroquímico de oxirredução que acontece na superfície (interface) do WE é dependente do transporte de massa. Considerando três passos distintos, o processo eletroquímico ocorre quando a transferência de elétrons é induzida, há

transporte do elemento O na direção da superfície do eletrodo e o transporte concomitante da espécie R para longe do eletrodo.

De acordo com essa perspectiva, a transferência de massa é operacional de acordo com a geometria do WE e a configuração da célula eletroquímica, podendo coexistir três tipos de mecanismos: a difusão, a migração e convecção, respectivamente (CHEN, 2007; MORETTO e KALCHER, 2014).

Em complemento à Figura 9, a Figura 10 exemplifica os três tipos de mecanismos de transporte de massa que podem operar em um eletrodo planar quando é proporcionado um fluxo de uma espécie eletroativa, usada no processo eletroquímico.

No caso onde os três mecanismos de transferência de massa operam simultaneamente, a equação de Nernst - Planck demonstra o processo de fluxo de espécies, onde o primeiro termo esclarece o mecanismo de difusão, o segundo referente à migração e o terceiro termo para a convecção, como evidenciada na Equação 18 (BARD e FAULKNER, 2001).

$$J_{i(x,t)} = -D_{i} \frac{\partial C_{i(x,t)}}{\partial x} - \frac{(z_{i}FD_{i}C_{i})}{(RT)} \frac{\partial \emptyset_{(x,t)}}{\partial x} + C_{i(x,t)}V_{i(x,t)}$$
(18)

Onde $J_{i(x, t)}$ é o fluxo de difusão da espécie eletroativa (molcm²s⁻¹) em relação à distância x com a interface do eletrodo e no tempo t, D_i é coeficiente de difusão (cm²s⁻¹), $\frac{\partial C_{(x,t)}}{\partial x}$ é o gradiente de concentração na distância x, $\frac{\partial \emptyset_{(x,t)}}{\partial x}$ é o gradiente de potencial, z é a carga da espécie (sem dimensão), $C_{i(x, t)}$ é a concentração da espécie (molcm⁻³) e V_i representa a velocidade (cm²s⁻¹) do "elemento volume" que está em solução e se move em direção à interface.

Estes três termos mostrados na Equação 18 representam a contribuição para o fluxo de espécies: correspondendo à difusão, migração e convecção, respectivamente.

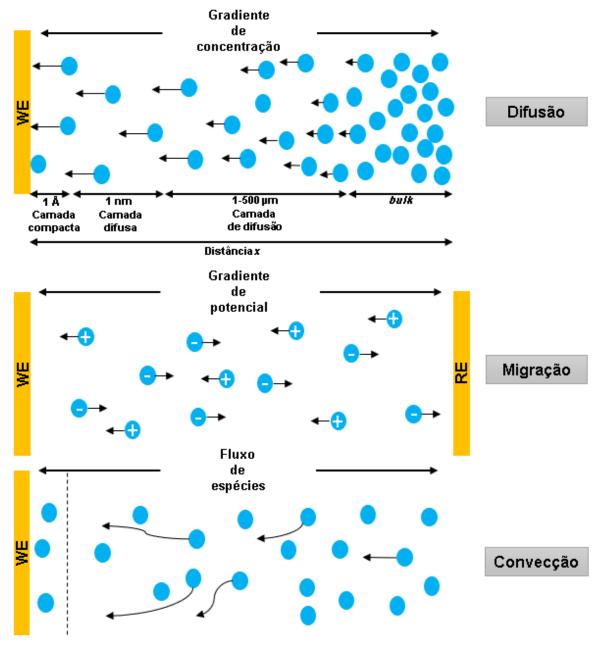


Figura 10 – Mecanismos de transporte de massa que operam em um eletrodo planar quando é aplicado uma espécie eletroativa no processo eletroquímico.

Fonte: esquema adaptado de Moretto e Kalcher (2014).

A grande maioria das técnicas voltamétricas/amperométricas tendem a produzir resultados com excelência, tendo em vista configurações fáceis e condições experimentais adequadas, de forma prática, a difusão constitui o mecanismo de transferência de massa. A difusão explica a capacidade intrínseca da movimentação de uma espécie (O ou R) no interior de uma solução, pela contribuição da concentração como força motriz e modulada pelo coeficiente de difusão (Brownson e Banks, 2014; Moretto e Kalcher, 2014).

A migração é minimizada quando é adicionado à solução um sal inerte, também conhecido como eletrólito suporte, inerte a ponto de não possuir oxirredução em relação à espécie em questão (próximas janelas de potenciais redox), e que não interfira no WE, adsorvendo na superfície por exemplo (CREAGER, 2007). A concentração do sal inerte é geralmente alta, podendo ser de 50 a 100 vezes maior do que a espécie eletroativa em estudo, o que assegurará eletro neutralidade em todas as regiões da solução e impedindo a formação de campo elétrico devido ao gradiente de cargas (SCOOG *et al.*, 2006). Dessa forma, será compensado excessos de carga positivas ou negativas que possam surgir na camada adjacente ao eletrodo, em consequência da transferência de carga.

A convecção surge pelo movimento da solução composta pelas espécies eletroquímicas em relação ao eletrodo, mas o eletrodo pode se mover em relação à solução, em técnicas específicas que operam com eletrodo de disco rotante ou com agitação da solução (HOLDYNSKI *et al.*, 2018; MOOSTE *et al.*, 2018). Outras técnicas, como a voltametria cíclica, operam com eletrodo e solução de forma estática. Pode ser impedida de forma simples: mantendo a solução ou o eletrodo de forma estática no interior da célula eletroquímica.

O modelo mais simples de difusão linear em um eletrodo planar assume que o eletrodo é perfeitamente plano e tem dimensões infinitas (SILD, *semi-infinite linear diffusion*). Neste modelo, a difusão ou linhas de fluxo são perpendiculares à superfície do eletrodo e as bordas não são significativas quando comparadas à área de superfície de contato. Os resultados derivados deste modelo podem ser usados para eletrodos reais desde que não sejam pequenos, ou seja, com dimensão em milímetros (MORETTO e KALCHER, 2014).

A primeira lei de Fick (Equação 19) expressa o fluxo difusional de espécies em uma unidade de área ortogonal e na direção de difusão (paralelo ao eletrodo), na distância x do eletrodo e no tempo t. Quando x=0 (interface), o fluxo está relacionado com a densidade de corrente (Equação 3) proveniente das Leis de Faraday para a eletrólise.

$$J_{i(x,t)} = -D_i \frac{\partial C_{i(x,t)}}{\partial x}$$
 (19)

Segundo a Primeira Lei de Faraday para a eletrólise, a massa de uma substância modificada durante a eletrólise é diretamente proporcional à quantidade de eletricidade transferida no eletrodo de trabalho, ou seja, a carga elétrica medida em coulombs (C). De acordo com a Segunda Lei de Faraday para a eletrólise, para uma quantidade de eletricidade (corrente

elétrica), a massa elementar de um eletrodo é diretamente proporcional ao peso equivalente do elemento e depende da reação sofrida pelo material (BHATTACHARYYA, 2015).

A forma matemática que representa as Leis de Faraday para a eletrólise é demonstrada na Equação 20. Nota-se que M, F e z são constantes, portanto, quanto maior a massa, maior a quantidade de Q. A Equação 21 representa a quantidade carga elétrica.

$$m = \left(\frac{Q}{F}\right) \left(\frac{M}{z}\right) \tag{20}$$

Onde, m é a massa (g) da substância modificada no eletrodo, Q é a quantidade de carga elétrica total provida pela substância em coulombs, M é a massa molar (gmol⁻¹) e F é a constante de Faraday (96485 Cmol⁻¹) e z é o número de valência da transferência eletrônica dos íons.

$$Q = it (21)$$

Onde i é a corrente elétrica em amperes (A) e t é o tempo (s).

Dessa forma, é possível relacionar a primeira e segunda lei de Faraday (Equação 20 e 21) com a Primeira Lei de Fick (Equação 19) e obter a corrente elétrica de uma reação para a difusão de espécies (Equação 22) considerando x = 0 e t, uma unidade de área do eletrodo e no sentido de redução da espécie.

$$i_{0,t} = zFD \frac{\partial C_{0,t}}{\partial x}$$
 (22)

Partindo desta equação, houve enormes avanços na área da eletroquímica. Com condições limite específicos para cada caso, foi possível chegar nas equações mais famosas da eletroquímica como a Equação de Cottrell e a Equação de Randles – Sevčik (DANIELS, 1949; MORETTO e KALCHER, 2014).

Diversas modalidades de técnicas podem ser empregadas na investigação de perturbações que ocorrem na superfície dos eletrodos de trabalho ou bioeletrodos, considerando o analito, o elemento biológico e o tipo de imobilização. Dependendo da combinação escolhida, há variação de faixa linear de funcionalidade e dos limites de detecção.

Sensores enzimáticos, eletrodos enzimáticos, biossensores de afinidade, entre outros, vem sendo estudados desde 1975, quando foi desenvolvido o eletrodo biossensor baseado em

enzimas, para analisar níveis de glicose no sangue e extensamente aplicado na área clínica desde 1986 (Turner, 2000).

Mardegan *et al.* (2015) alegam que nos últimos tempos foi criado o que ele chama de mercurofobia, e que levou grande número de pesquisadores a desenvolver eletrodos para a detecção e quantificação de traços de mercúrio (Hg), de Cr (III) e Cr (VI). Nesses casos, o sistema de detecção usado foi o eletrodo de carbono fotossensível com medição por voltametria. Em trabalho anterior, Mardegan *et al.* (2014) mostrou que é possível detectar traços de arsênio através de nanoeletrodos usando o método de voltametria cíclica.

Stortini *et al.* (2015) demonstram preocupação com resíduos de nitrato em alimentos, este associado a fertilizantes inorgânicos usados na produção. Para isso desenvolveu um eletrodo com deposição de cobre, pois este metal é adequado para detecção de analitos com valor de potencial negativo.

O estudo de eletrodos de trabalho e medição por voltametria cíclica está muito avançado, abrindo janelas de desenvolvimento para eletrodos de trabalho impressos e de pequeno tamanho. A grande vantagem deste método eletroquímico é de analisar traços de componentes químicos em várias áreas de aplicação, monitorando o tempo deposição de componentes químicos e as concentrações molares. Através do um método eletroquímico, podemos estudar o processo de adsorção de um componente sobre a superfície de um eletrodo específico, em especial à voltametria cíclica que apresenta relações quantitativas em termos termodinâmicos e cinéticos. Um dos processos mais estudados em eletrodos é a transferência de massa como resultado de gradiente de concentração, e com um voltamograma podemos registrar a corrente faradaica resultante em função de um potencial aplicado, não somente do eletrólito a qual o eletrodo de trabalho está imerso, mas também de um produto que é adsorvido sobre o eletrodo de trabalho. Na interface eletrodo-eletrólito, quando há uma transferência de carga heterogênea (metal / solução eletrolítica), é denominado como corrente faradaica e pode ser medida com o auxílio de um potenciostato (FATIMA, 1998).

1.1 A VOLTAMETRIA CÍCLICA

Para um caso de reação *quasi* reversível (Figura 11), na qual a velocidade de transferência de carga heterogênea é elevada, é estabelecido o equilíbrio na superfície do eletrodo. Neste caso, onde há comportamento nernstiano, a Equação 23 pode ser usada, pois as concentrações (C₀ – concentração da espécie oxidada e C_{bulk} – concentração *bulk*) dependem somente do potencial do eletrodo e não de efeitos cinéticos. Ademais, E_{O/R} também é conhecido como E_{1/2}, é chamado de potencial de meia onda.

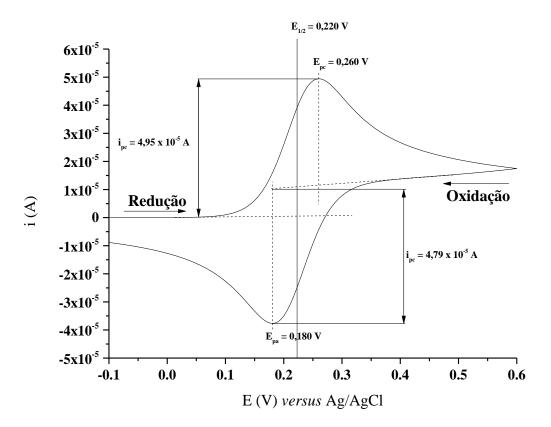
$$E = E_{0/R} - \left(\frac{RT}{nF}\right) \ln \left(\frac{C_{ox}}{C_{red}}\right)$$
 (23)

Desta forma, usando uma espécie eletroativa, podemos captar uma diferença de corrente faradaica e relacionar com algum tipo de efeito, que porventura, possa ocorrer na superfície do eletrodo/interface, considerando a variação do potencial aplicado e da concentração do eletrólito de oxirredução (força motriz). Em outras palavras, a voltametria cíclica é a medida da magnitude da corrente elétrica por efeito da aplicação de uma janela de potenciais e o registro é denominado como voltamograma cíclico. Esse efeito pode aumentar ou diminuir a corrente faradaica, e alguns casos não demonstrar picos regulares (DíAZ *et al.*, 2013; SIRAJUDDIN *et al.*, 2013).

Na voltametria cíclica, os parâmetros operacionais são ajustados para que a migração e convecção sejam suprimidas e só opere por difusão. Há necessidade de utilizar eletrodo auxiliar e de referência.

Dois tipos de corrente operam na voltametria cíclica, a corrente faradaica que é relacionada com a espécie eletrolítica e a corrente capacitiva que está relacionada com o eletrodo de trabalho. Também deve ser considerado a corrente de ruído (i_N) do sistema eletroquímico, onde problemas de variação de energia elétrica da rede ou ausência de aterramento podem impactar nesse parâmetro. Esta técnica oferece informações termodinâmicas de um processo de oxirredução, cinética de transferências de elétrons e de processos de adsorção (ELGRISHI *et al.*, 2018).

Figura 11 - Voltamograma cíclico hipotético de uma reação semi reversível da espécie eletroativa $K_3Fe(CN)_6$ 10 mM, considerando eletrodo de trabalho metálico planar, de A_{Geo} de 0,03142 cm² = 2 mm de diâmetro e velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹.



Fonte: simulação executada no software CHI660b.

Onde E é a relação entre os potenciais anódico (E_{pa}) e catódico (E_{pc}), como mostrado na Equação 24. Ademais, n é o número de elétrons transferidos na reação, e para um processo mono eletrônico, a separação dos picos anódico e catódico deve ser aproximadamente 0,059 V, servindo como parâmetro de verificação da funcionalidade e averiguação da qualidade na construção de eletrodos.

$$E = E_{pc} - E_{pa} \stackrel{.}{=} \frac{0,059}{n}$$
 (24)

O potencial de oxirredução de meia onda (E_{1/2}) está relacionado na Equação 25:

$$E_{1/2} = \left(\frac{E_{pc} + E_{pa}}{2}\right) \tag{25}$$

Complementando com a Equação 26, indicando que é unitária a razão entre as correntes catódica e anódica, para uma reação reversível e serve de verificação de funcionalidade do sistema:

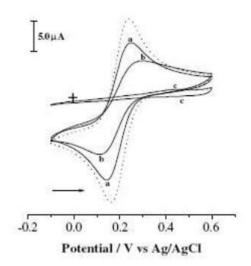
$$\frac{i_{pc}}{i_{pa}} = 1 \tag{26}$$

A corrente de pico faradaico (i_F) do eletrólito pode ser calculada por meio da equação de Randles - Sevčik (SKOOG, 2006), onde n é o número de elétrons, A (cm²) é a A_{Geo} do eletrodo, D (cm²s⁻¹) é o coeficiente de difusão da espécie eletroativa, C é a concentração das espécies eletroativas (mol cm⁻³) e v é a velocidade de varredura de potencial (mVs⁻¹), a 25°C, é descrita a Equação 27.

$$i_F = 2,69 \times 10^5 \text{ n}^{\frac{3}{2}} \text{ A } D^{\frac{1}{2}} \text{ C } v^{\frac{1}{2}}$$
 (27)

Com isso, podemos avaliar o sistema eletroquímico em função da velocidade de varredura e concentração de eletrólito marcador. Desta forma, o sistema eletroquímico pode ser utilizado como ferramenta de diagnóstico para eventos que acontecem em solução ou na interface do eletrodo de trabalho, como apresentado na Figura 12.

Figura 12 – Voltamograma cíclico da espécie eletroativa K₃Fe(CN)₆ (8 mM) em solução aquosa com eletrólito suporte KCl (0,1 M), com velocidade de varredura de100 Vs⁻¹, eletrodo de Au (linha pontilhada) e eletrodo modificado (linha contínua): (a) 30 min, (b) 60 min e (c) 900 min de adsorção de 1,4 - Dithiane.



Fonte: De Sousa et al. (2004).

Ademais, deve ser considerado que a intensidade da corrente, nos casos experimentais, é composta por três contribuições e que dependendo do tipo de eletrodo ou sensitividade desejada, devem ser avaliadas e separadas para análise. Além da corrente faradaica (if) demonstrada pela Equação 27, o somatório da corrente (is) é composto também pela corrente capacitiva (ic) e a de ruído (in) (Moretto e Kalcher, 2014). Em especial, a corrente capacitiva que está relacionada diretamente com o eletrodo de trabalho, de acordo com a Equação 28, e que denominam as correntes não faradaicas (Moretto *et al.*, 2004; Brownson e Banks, 2014).

$$i_{C} = C_{DL} A_{Act} v \tag{28}$$

Onde, C_{DL} é a capacitância da dupla camada (µFcm⁻²) do elemento metálico que compõem o eletrodo e A_{Act} é a área eletroativa do eletrodo.

As medições da corrente capacitiva e os resultados comparativos entre tipos de eletrodos construídos de diferentes formas serão mostrados no capítulo III e IV, e demais teorias sobre o que cerca os problemas e soluções para a diminuição da ic.

1.2 A VARIAÇÃO DA CORRENTE FARADAICA EM FUNÇÃO DO TEMPO

Para monitorar eventos que ocorrem na interface dos eletrodos de trabalho construídos de formas diversas, seja um simples comportamento de oxirredução até a adsorção de um componente na superfície, é necessário que a if inicial, ou a variação mínima das if iniciais, tenda a um estado estacionário (SS, steady state). Como visto nos desenvolvimento de Kye e Hwang (2011), existe a dificuldade de estabilizar o sistema para que a i_F inicial se mantenha estacionária e não decresça por efeitos característicos do método ou externos. Dessa forma, para atingir o SS é necessário que o sistema eletroquímico opere somente por difusão e que haja oxirredução do agente marcador, em outras palavras, que o agente marcador sofra oxidação e posteriormente redução, controlado pela concentração e modulado pelo coeficiente de difusão. Somando com a in, que são os eventos externos à célula eletroquímica, é possível manter a corrente de oxirredução de um agente eletroquímico em SS e monitorar um componente que passive (bloqueie a corrente faradaica) a superfície. O efeito esperado desta passivação é a redução da if pela passivação da A_{Geo}, barrando o tunelamento quântico do elétron sob efeito do agente passivante (ALBRECHT, 2012). Nesses moldes, coletando o pico de if em determinados tempos, é possível construir uma curva de i versus t, e o decaimento da corrente pode ser relacionado com a redução da A_{Geo} considerando efeitos que ocorrem na interface.

2 OBJETIVOS

O objetivo deste capítulo é simular o comportamento de i_F com mudanças de parâmetros, como concentração de eletrólito de oxirredução e velocidade de varredura, usando o método eletroquímico da voltametria cíclica e atestar a Equação 27, bem como simular o possível impacto da adsorção de um composto passivante na interface do eletrodo de trabalho, demonstrando a redução da i_F em função do tempo de aplicação.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Simular, por meio do método eletroquímico de voltametria cíclica, o impacto da variação da concentração de um eletrólito de oxirredução, com velocidade de varredura específica e atestar a Equação 27 por meio de regressão linear, com base nos dados de variação de picos de i_F;
- Simular, pelo mesmo método, o impacto da variação da velocidade de varredura com concentração específica de eletrólito de oxirredução e atestar a Equação 27 por meio de regressão linear, com base nos dados de variação de picos de i_F;
- Simular, pelo mesmo método, possíveis comportamentos da adsorção de composto químico
 passivante na superfície de eletrodo de trabalho, coletando correntes de picos faradaicos em
 função do tempo de aplicação do composto passivante.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

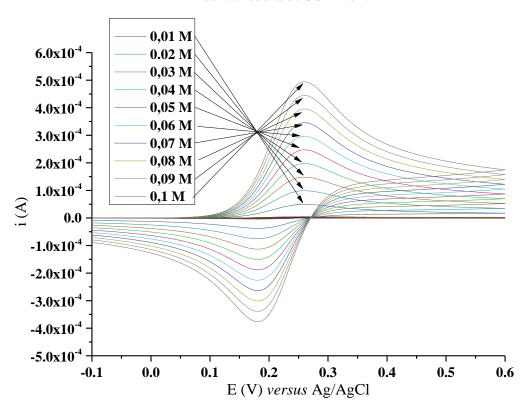
Nesta seção, foram avaliadas as simulações de voltamogramas cíclicos gerados pela voltametria cíclica e a curva i *versus* t. As simulações dos voltamogramas cíclicos são produzidas pelo software CHI606b, considerando parâmetros ideais e possuindo em comum o potencial inicial (E_i) e potencial final (E_f) como -0,1 V e 0,6 V, respectivamente, com intervalo de amostragem a cada 0,001 V. O sentido da reação é de O para R, considerando o eletrólito K₃Fe(CN)₆ 10 mM como agente de oxirredução (D = 7,6 x 10⁻⁶ cm²s⁻¹), eletrodo de trabalho de diâmetro de 2 mm e temperatura de 25°C (LI *et al.*, 2013; CHENG *et al.*, 2016). O potencial padrão de oxirredução sugerido foi de 0,22 V (FERTONANI e BENEDETTI, 1997), considerando um eletrodo de referência do tipo Ag / AgCl com KCl 3 M e eletrodo auxiliar de Pt. Os gráficos das simulações foram plotados no software Origin9. Foi considerado a variação da concentração e a velocidade de varredura nas simulações propostas.

As simulações da curva i *versus* t são providas especulando dados provenientes da diminuição da i_F em função tempo de uma possível adsorção na interface do eletrodo de trabalho, considerando comportamento linear e exponencial de diminuição, iniciando por um estado estacionário inicial, diminuição em função da passivação e estado estacionário final por consequência da passivação total da superfície. A especulação foi permitida considerando proporções de i_F relacionadas com uma velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹ e concentração de 10 mM do eletrólito K₃Fe(CN)₆, eletrodo de trabalho de diâmetro de 2 mm e temperatura de 25°C. O potencial padrão de oxirredução sugerido foi de 0,22 V, considerando um eletrodo de referência do tipo Ag / AgCl com KCl 3 M e eletrodo auxiliar de Pt. Os gráficos das simulações foram plotados no software Origin9.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O voltamograma cíclico apresentado na Figura. 13 evidencia a variação de concentração do agente de oxirredução em função da corrente de pico faradaico (i_p) catódico e anódico. Os valores correspondentes de variação de corrente faradaica catódica em função da variação da concentração atingem valores de 4,9 x 10⁻⁴ A para a concentração de 0,1 M, 2,25 x 10⁻⁴ A para a concentração de 50 mM e 4,9 x 10⁻⁵ A para a concentração de 10 mM. As voltametrias cíclicas que estão sobrepostas na área central do gráfico, possuem correntes de pico proporcionais à escala micromolar de concentração.

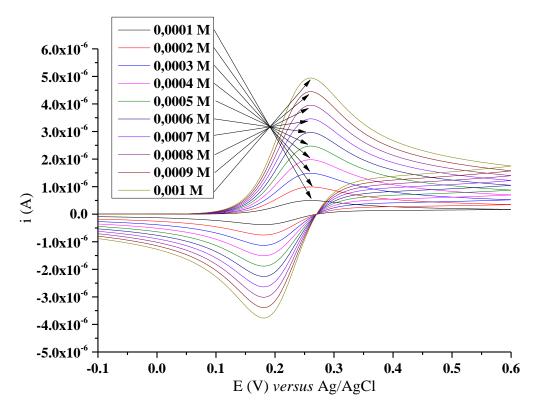
Figura 13 - Simulação da variação da corrente de picos faradaicos em função dos potenciais de varredura, considerando a mudança de concentração do eletrólito K_3 Fe(CN) $_6$ e velocidade de varredura de 50 mVs^{-1} .



Fonte: Software CHI606b.

A Figura 14 apresenta as simulações de voltamogramas para o *range* de concentrações abaixo de 1 mM, considerando a variação na escala de 1000 μ M a 100 μ M. A variação da concentração para o nível micromolar acarreta uma diminuição significativa na corrente faradaica, com valores estimados de 4,9 x 10⁻⁷ A para a concentração de 100 μ M, 1,5 x 10⁻⁶ A para a concentração de 300 μ M e 4,9 x 10⁻⁶ para a concentração de 1 mM, para a if catódica.

Figura 14 – Simulação da variação da corrente de pico faradaico em função dos potenciais de varredura, considerando a mudança de concentração do eletrólito $K_3Fe(CN)_6$ em escala μM e velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹.



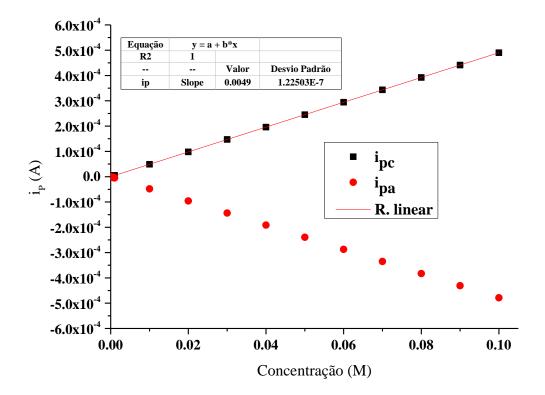
Fonte: Software CHI606b.

Para uma reação semi reversível e de acordo com a Equação 27, é esperada a linearidade proporcional em função do aumento e/ou diminuição da concentração do reagente. A linearidade da corrente de pico catódico (ipc) e anódico (ipa) podem ser atestadas plotando um gráfico dos pontos de pico das correntes faradaicas em função da concentração, como mostrado na Figura 15.

A sensitividade da variação da corrente faradaica em função da variação da concentração apresenta um valor estimado de 0,0049 A M⁻¹ (4,9 μAmM⁻¹).

Em relação à razão mencionada na Equação 26, os valores de corrente de pico faradaico em função da variação da concentração apresentaram em média um valor de 0,98, confirmando a reversibilidade nas simulações apresentadas.

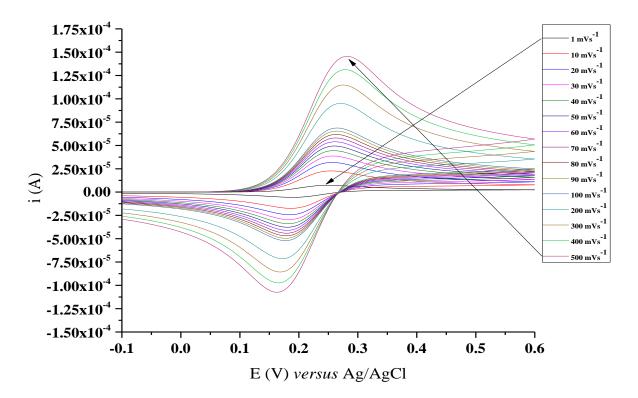
Figura 15 – Simulação da variação da corrente de picos faradaicos catódico e anódico em função da variação de concentração do eletrólito $K_3Fe(CN)_6$ e velocidade de varredura de 50 mVs^{-1} .



A Figura 16 evidencia a variação da corrente faradaica em função da variação da velocidade de varredura do potencial (v, *scanrate*), no *range* de potenciais de -0,1 V a 0,6 V. Neste caso, a variação da corrente está em função de v, considerando a concentração do eletrólito redox em 10 mM.

A variação do *scanrate* aumenta a corrente faradaica como evidenciado nos valores encontrados na Figura 16, por exemplo, o valor estimado da corrente faradaica considerando v (1 mVs⁻¹) é de 7,3 x 10⁻⁶ A, para v (50 mVs⁻¹) é 4,9 x 10⁻⁵ A, para v (100 ms⁻¹) é 6,8 x 10⁻⁵ A e para v (500 mVs⁻¹) a corrente faradaica simulada é de 1,43 x 10⁻⁴ A.

Figura 16 – Simulação da variação da corrente de pico faradaico em função dos potenciais de varredura, considerando a mudança da velocidade de varredura do potencial, em eletrólito $K_3Fe(CN)_6$ com concentração de 10 mM.

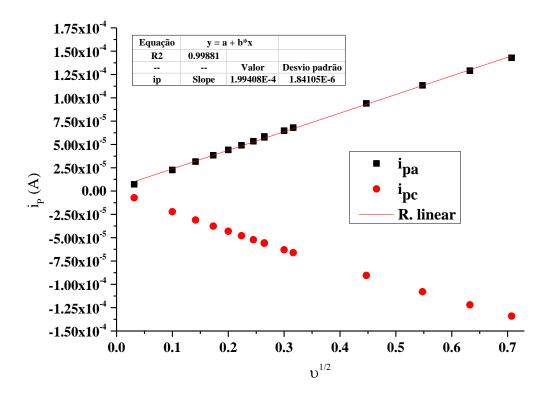


Fonte: Software CHI606b.

A Figura 17 atesta a linearidade indicada pela Equação 27 quando consideramos o impacto da variação da velocidade de varredura do potencial em função da corrente faradaica. A linearidade é mantida para ambos casos de i_p, catódica e anódica. A sensitividade da variação do *scanrate* é de 1,994 x 10⁻⁴ AsV⁻¹.

Em relação à razão mencionada na Equação 26, os valores de i_p em função da variação da velocidade de varredura do potencial apresentaram em média um valor de 0,97, confirmando novamente a reversibilidade nas simulações apresentadas.

Figura 17 – Simulação da variação da corrente de pico faradaico anódico e catódico em função da variação da velocidade de varredura do potencial, considerando K_3 Fe(CN) $_6$ 10 mM como eletrólito de oxirredução.



De forma teórica e considerando um composto passivante sendo adsorvido na superfície do eletrodo, são esperadas duas situações de diminuição da i_F: o primeiro que contempla queda de i_F mas somente até a metade do *range* útil, e que pode ser explicado pelo fato de que o composto adsorvente foi impossibilitado de executar o processo por motivos de tempo disponível ou maior rugosidade; a segunda situação possível contempla a total cobertura da superfície e a queda da corrente faradaica para os níveis capacitivos e de ruído. Essas situações estão apresentadas nas Figura 18 como linha (preta) contínua 2 e 4, respectivamente.

Outros casos como representado nas linhas (preta) contínuas 1 e 3, demonstram redução da taxa de deposição em função de parâmetros podem interferir na cinética de adsorção do composto passivante, como baixa concentração do composto passivante, adição ou ausência de agitação na aplicação e efeitos de rugosidade da superfície metálica do eletrodo de trabalho. A linha tracejada vermelha representa o estado estacionário final (SSF) com níveis de i_F nos níveis de i_C e de i_N. A linha verde (tracejada) acompanha o estado estacionário inicial (SSI) de i_F. A linha cinza evidencia um possível comportamento da diminuição linear da i_F em função do tempo.

7.5x10⁻⁵ Tióis que não passivam a superfície 7.0x10⁻⁵ 6.5x10⁻⁵ 6.0x10⁻⁵ 5.5x10⁻⁵ 2 5.0x10⁻⁵ Defeitos, rugosidades e concentração de tiol 4.5x10⁻⁵ $\underbrace{\underbrace{\underbrace{\underbrace{\underbrace{4.0x10}}_{4.0x10^{-5}}}}_{}^{4.0x10^{-5}}$ 3 3.5x10⁻⁵ 3.0x10⁻⁵ 4 2.5x10⁻⁵ 2.0x10⁻⁵ 1.5x10⁻⁵ Comportamento ideal 1.0x10⁻⁵ 2000 4000 6000 8000 10000 Tempo (s)

Figura 18 – Simulações de curvas i *versus* t para possíveis casos de decréscimo da i_F e dos estados estacionários, em um tempo de avaliação de três horas.

Quando a superfície é saturada pelo composto passivante, a mínima corrente faradaica estabiliza em níveis de corrente capacitiva e de ruído, na possibilidade de as asperidades da superfície do eletrodo de trabalho não estarem totalmente bloqueadas pelo composto passivante, causará a oxirredução do agente, como demonstrado na linha tracejada amarela. O estado estacionário é atingido, mas com níveis de i_F.

Com uma célula eletroquímica, um conjunto de três eletrodos e um potenciostato, será possível avaliar soluções eletrolíticas e efeitos que ocorrem na superfície de diferentes eletrodos de trabalho, podendo verificar o sistema para a quantificação e monitoramento, usando a voltametria cíclica como método experimental.

5 CONCLUSÃO

No Capítulo II, foi possível simular voltamogramas cíclicos por meio de variações de concentração do eletrólito de oxirredução e da velocidade de varredura, onde os dados de variação de correntes faradaicas correspondentes apresentaram caráter linear, quando submetidos à interpretação do *software* CHI606b. Aplicando hipoteticamente um composto passivante a qual executa bloqueio na interface onde opera a corrente faradaica do eletrólito de oxirredução em função da área do eletrodo de trabalho, foi possível simular situações que envolvem a diminuição da corrente faradaica considerando diferentes superfícies de mesma A_{Geo}. Dessa forma, as simulações propiciaram estimativas sobre os comportamentos nos experimentos com tióis e diferentes eletrodos de trabalho de Au.

CAPÍTULO III – O MONITORAMENTO ELETROQUÍMICO DA ADSORÇÃO DE TIÓIS SOBRE ELETRODOS DE AU

1 INTRODUÇÃO

Em estudos já realizados no desenvolvimento de biossensores magnetoelásticos, nosso grupo de pesquisa obteve sucesso em detectar a bactéria *Escherichia coli*, houve êxito em fazer a contagem e a modelagem do sistema usado, captando valores de variação de massa que ocorreram na superfície do biossensor magnetoelástico e relacionando com contagem de bactérias. O sucesso desse modelo se deve ao elemento que promove a ligação entre o sensor e o os anticorpos: as SAM de tióis (DALLA POZZA, 2016).

Na montagem do biossensor magnetoelástico, a verificação da adsorção das SAM sobre a superfície revestida de Au não foi feita por sensoriamento, mas apenas por FESEM, onde é mostrado que a superfície do sensor magnetoelástico não está totalmente coberta, indicando um padrão de distribuição a qual denominamos como "Nazca lines". Também é mostrado que o limite possível de saturação de bactérias que podem ser compactadas sobre a superfície do biossensor, em termos de redução de frequência de ressonância em função do aumento de massa foi de 220 Hz, o que representa uma eficiência de 60% em relação aos dados teóricos quando se relaciona a mudança de massa com o peso de uma quantidade de bactérias (Possan et al., 2016). Possíveis falhas na adsorção de tióis na formação das SAM podem ser a causa de diminuição da eficiência na formação de bioconjugados e impossibilitando que toda a superfície modificada seja preenchida por bactérias (Possan, 2015). Além de uma SAM uniforme e dispersa, é necessária uma baixa rugosidade prévia relacionada com o revestimento de Au (Possan et al., 2016). Outro fato pertinente em relação à adsorção, é o tempo de aplicação do tiol sobre a superfície, que exige um tempo mínimo de duas horas de adsorção desordenada (caótica) e vinte e quatro horas para compactação (Love, J. C. et al., 2005). Os tióis tem sido usados na formação de camadas de bioconjugados em grande variedade de trabalhos envolvendo biossensores e bioeletrodos, e compostos como a cisteamína (CYSTE), a cistamina (CYS) e o ácido 3-mercaptopropiônico (MPA) também foram investigados no método de biosensoriamento usando ligas amorfas magnetoelásticas revestidas de Au (DALLA POZZA, 2016).

Com auge na década de 90, as SAM de tióis possibilitaram avanços tecnológicos nos estudos de interação entre células e proteínas sobre revestimentos de prata (Ag) e Au, em especial ao grupo de George M. Whitesides, entre outros (NUZZO e ALLARA, 1983; OSTUNI *et al.*, 1999).

Uma forma de descrever os compostos tióis que produzem as SAM, é separar em 3 partes de componentes (Figura 19), onde a primeira é composta pela "cabeça" (grupo do S), a

segunda é chamada de "corpo" (grupos carbônicos) e a parte "terminal" (grupo específico de cada tipo de tiol). Os grupamentos terminais especificam as propriedades das SAM, podendo variar de hidrofóbica a hidrofílica, reagindo com metais, com grupos carboxílicos e uma variedade de moléculas orgânicas que, dependendo do caso, podem reagir de forma seletiva com moléculas em uma solução (HERMANSON, 2008; 2013d).

A ligação entre o grupo cabeça e a superfície de Au é geralmente estável e o processo ocorre por quimissorção. Por meio de uma ligação de caráter covalente, a energia envolvida é da ordem de 50 Kcalmol⁻¹ e, comparando com as forças de Van Der Waals dos grupos carbônicos do corpo da molécula (2 Kcalmol⁻¹), é muito maior (ULMAN, 1996; SMITH et al., 2004).

N • C Terminal

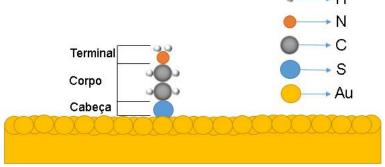


Figura 19 – Esquema de uma molécula de cisteamína sobre uma superfície de Au.

Fonte: o autor.

O grupo R-S-R ou R-S-S-R, é responsável pela adsorção dos tióis na superfície do Au e controla a energia entre a superfície e a molécula de S. O processo de formação das SAM ocorre em 3 etapas: a fisissorção, a adsorção química e a nucleação. A fisissorção acontece entre a molécula e o substrato por forças de Van der Waals, de baixa intensidade de ligação. Após a aproximação, ocorre a reação de adsorção química entre o S e o substrato de Au, com ligação de caráter covalente. No primeiro momento, a ligação de tióis é desordenada e são necessários longos tempos de interação para uma organização da camada. Inicialmente, os tióis reagem na superficie de forma "deitada" (striped fhase), pois o espaço é amplo e disponível. Desta forma, a parte terminal da molécula, que é o ponto de ligação de formação de bioconjugados, fica indisponível pois está próxima do substrato. Em tempos maiores, mais moléculas se aproximam e reagem com o substrato, formando uma rede. O ordenamento entre as cadeias é regido por forças de Van der Waals do corpo da molécula de tiol, deixando as moléculas "em pé" (standing up fhase), também chamada de nucleação (FISHER, 2011).

Fisher (2011) demonstrou que a distância entre as moléculas de S sobre o substrato é de 0,5 nm de distância, duas vezes maior que a compactação dos átomos de Au. A Figura 20 ilustra um esquema das fases de aproximação e ligação, até a compactação final das SAM.

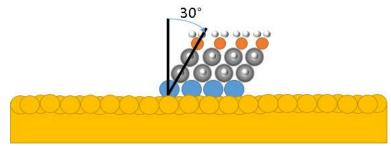
Figura 20 – Esquema mostrando o processo de formação das camadas auto-organizadas.

	, 3 , 3 , 3 , 3 , 3 , 3 , 3 , 3 , 3 , 3	20000000 e 2000	\$2555555555555555555555555555555555555
Fisissorção	Adsorção química	Nucleação	Compactação final

Fonte: o autor.

O tempo necessário para a formação das SAM pode variar com concentração e agitação. Além de apresentar movimentos vibracionais e rotacionais que variam de acordo com a estrutura do composto, as moléculas com cadeia carbônica de número ímpar tem estabilidade ligeiramente maior que as de cadeia carbônica de número par, mas de forma geral para alcanotióis, a inclinação prevista é de 30° na compactação das cadeias pelo resultado das interações das ligações de Van der Waals entre os hidrogênios, buscando um estado de energia mínima (LOVE, J. C. *et al.*, 2005; JACKSON *et al.*, 2009). A Figura 21 ilustra a inclinação de compactação na formação das SAM de alcanotióis.

Figura 21 – Esquema demonstrando a inclinação das cadeias na compactação de formação de alcanotióis.



Fonte: o autor.

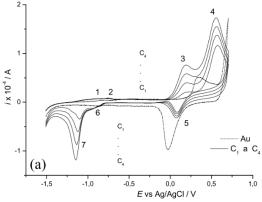
De forma geral, a reação que ocorre entre o substrato o e tiol é a seguinte:

$$R - SH + Au \rightarrow R - SAu + H^+ + e^- \tag{29}$$

Com uma perda de H⁺ da molécula de tiol, há liberação de energia para o sistema e diminuição do pH, formando uma reação anódica (KAPOOR e AGGARWAL, 1991; CANCINO,

2008). A Figura 22 mostra um conjunto de voltamogramas típicos do etanotiol adsorvido sobre a superfície de um eletrodo de Au, dentro de uma janela de potencial que varia de 1 V a -1,5 V. Ajustando o potencial para um range da janela onde não há oxirredução da molécula de tiol, é possível usar um marcador redox para verificar a adsorção dos tióis que promovem passivação (JALAL UDDIN *et al.*, 2017).

Figura 22 – Voltamogramas cíclicos da aplicação de etanotiol, em diferentes concentrações, usando eletrodo de Au.



Fonte: Dias (2012).

De mesma forma que o etanotiol, a CYS (MM = 225,2 g mol⁻¹), a CYSTE (MM = 77,15 g mol⁻¹) e o MPA (MM = 106,4 g mol⁻¹) também são adsorvidos sobre eletrodos revestidos de Au pois possuem grupo cabeça composto por S. a diferença entre essas moléculas é a habilidade de fazer ligação com outras moléculas que contém ácidos carboxílicos na composição, entre elas, os anticorpos (HERMANSON, 2013e).

De acordo com Love, J. Christopher *et al.* (2005), quanto maior a cadeia carbônica dos tióis, melhor é o ordenamento das moléculas na adsorção, e podendo até sobrepor um bloqueio nos defeitos do substrato de Au. Ademais, os autores anteriormente citados complementam que defeitos na superfície do revestimento de Au, como impurezas, excesso de rugosidade e vacâncias de revestimento de Au, podem impactar significativamente na produção de uma SAM compacta. Cadeias longas (acima de 10 carbonos) formam um bloqueio eficiente, inclusive à passagem ao tunelamento quântico de um elétron que opera em nível nanométrico (ALBRECHT, 2012).

Cadeias carbônicas menores (CYS, CYSTE e MPA) apresentam diferenças de estabilidade na formação quando comparada às cadeias carbônicas mais longas (MUA), tanto na formação das SAM quanto na possibilidade de bloquear um defeito do substrato. A importância da avaliação de um tiol de cadeia longa remete aos parâmetros ideais para a

formação das monocamadas, como concentração e tempo mínimo de aplicação, e será possível aplicar parâmetros de controle nos tióis de cadeias curtas.

Para visualizar a adsorção das moléculas de tióis sob uma superfície revestida de Au, é necessária uma microscopia que tenha magnificação de ordem nanométrica, como a microscopia de varredura por tunelamento (STM) ou microscopia de força atômica (AFM), nos casos gerais (BRAND *et al.*, 2018; HOLMES *et al.*, 2018). A microscopia STM permite visualizar a formação das SAM e podendo ainda verificar as inclinações das moléculas nas monocamadas. Entretanto, para os casos de construção de biossensores e bioeletrodos, os métodos eletroquímicos podem facilitar a verificação da adsorção dos tióis, de modo rápido e menos custoso.

A diminuição da i_F provocada pela passivação do tiol na superfície dos eletrodos de trabalho, chega em valores de SSF muito baixos e na escala de nano amperes. Com valores nessa escala, é possível estimar se a A_{Geo} real do eletrodo de trabalho foi passivada com uma monocamada de tiol, aplicando como base a A_{Geo} teórica.

No entanto, apesar de a medida de i_F gerada pelo probe de oxirredução na voltametria cíclica ter caráter faradaico, o componente que promove a redução da i_F não possui este caráter. Em outras palavras, as SAM bloqueiam a i_F do probe de oxirredução conforme a área diminui em função da passivação promovida pelo tiol.

Para provermos esses dizeres em parâmetros equacionais, denominaremos os fatores como correntes e considerando t=0. A i_F no tempo estacionário inicial (SSI), antes da injeção do MUA na célula eletroquímica, será o ponto de normalização da curva de redução da i_F em função do efeito do revestimento de tiol. Após a injeção do MUA, a corrente começa a diminuir e a superfície do eletrodo começa a ser revestida pela SAM de tiol (KYE e HWANG, 2011).

Dessa forma, a Equação 30 designa a possível parametrização da adsorção de MUA sobre a superfície dos eletrodos de Au.

$$\frac{i}{i_{t=0}} = \frac{i_F}{i_{SSI}} - \frac{i_{SAM}}{i_{SSI}}$$
 (30)

Onde i_F é a corrente faradaica inicial, i_{SSI} é a corrente no estado estacionário no tempo igual a zero e i_{SAM} é o efeito da passivação do tiol que reduz a área do eletrodo de trabalho, causando a diminuição da i_F.

Quando o tempo avança na adsorção do tiol, a i_F decresce, e dessa forma, designamos a equação para o revestimento onde o parâmetro θ representa o impacto do revestimento de tiol (Equação 31).

$$\frac{i_{SAM}}{i_{SSI}} = 1 - \frac{i}{i_{t=0}} = \theta \tag{31}$$

Quando o tempo é igual a zero (SSI / Injeção do tiol), o revestimento é zero. Conforme o tempo passa, a ir diminui e o revestimento aumenta. Substituindo a Equação 31 na Equação 30, também no tempo inicial, a ir dividida pelo SSI é igual a 1, temos:

$$(1 - \theta) = comportamento \tag{32}$$

Variando o θ em função do tempo, modulado pelo coeficiente de proporcionalidade, chegamos na possível solução para o problema da análise da adsorção dos tióis proposto por Henderson *et al.* (2009), usando a o modelo de crescimento de Langmuir, onde:

$$\frac{d\theta}{dt} = k(1 - \theta) \tag{33}$$

Integrando a Equação 33, obtermos um comportamento teórico (Equação 34) para a adsorção dos tióis em função do tempo, que pode se assemelhar aos valores experimentais.

$$\theta(t) = 1 - e^{-kt} \tag{34}$$

Usando os valores de variação de θ será possível estimar a área revestida (Equação 35), em comparativo a A_{Geo} teórica e conhecer as taxas de adsorção (k) do tiol usado.

$$\theta = \frac{A_{Rev}}{A_{Ceo}} \tag{35}$$

Onde, A_{Rev} é a área do eletrodo de trabalho revestida pela adsorção do tiol e A_{Geo} é a A_{Geo} teórica do eletrodo de trabalho (cm²).

Dessa forma, podemos estimar a área revestida pelo tiol adsorvido e propor um percentual de revestimento considerando a A_{Geo} :

$$A_{Rev} = A_{Geo}(1 - e^{-kt}) (36)$$

Dessa forma, é possível avaliar a área revestida do eletrodo de trabalho em função do tempo de aplicação de tiol e ainda fazer comparativos de taxa de adsorção dos tióis, variando a concentração e os tipos de eletrodos de trabalho padrão e construídos.

Podendo investigar a deposição de tióis em função do tempo e da concentração, será possível certificar dosimetria de aplicação (tempo e concentração). É possível também avaliar a qualidade do revestimento de Au depositado sobre o eletrodo de trabalho. Em outras palavras, os métodos eletroquímicos podem fornecer informações importantes para otimizar as condições experimentais, seja para a deposição do filme de Au sobre o substrato, seja para definir os parâmetros de formação das SAM de tiol.

Com o método adequado de aplicação de tióis e conhecendo a superfície revestida de Au, melhorias podem ser sugeridas para o aumento da eficiência de detecção e quantificação de bactérias, que é o objetivo final da construção dos biossensores e bioeletrodos usados na área dos alimentos e clínica.

2 OBJETIVOS

O objetivo neste capítulo é avaliar a adsorção de diferentes compostos tióis averiguando a concentração e tempo em diferentes tipos de eletrodo de trabalho, com intuito de conhecer a influência das cadeias carbônicas de tióis e dos revestimentos de Au dos eletrodos de trabalho produzidos pelo grupo de pesquisa.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a funcionalidade de eletrodo padrão;
- Produzir eletrodos de trabalho com LAM revestida de Au e verificar a funcionalidade;
- Determinar de parâmetros ideais de dosagem de tióis usando a voltametria cíclica como método de avaliação;
- Comparar diferentes eletrodos de trabalho na dosagem de tióis usando a voltametria cíclica como método de avaliação;
- Comparar os comportamentos e as taxas de adsorção de tióis em diferentes eletrodos de trabalho usando modelos conhecidos, com suporte de dados coletados a partir do método eletroquímico da voltametria cíclica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES, SOLUÇÕES E MATERIAIS

Os reagentes usados nesse capítulo foram: cianeto de potássio (KCN, CAS 151-50-8, Sigma Aldrich/Merck), água destilada e deionizada, ferrocene (FC, CAS 105-54-5, Sigma-Aldrich/Merck), ferricianeto de potássio (K₃Fe(CN)₆, CAS 13746-66-2, Sigma-Aldrich/Merck), ácido 11-mercaptoundecanóico 95% (MUA, CAS 71310-21-9, Sigma-Aldrich/Merck), ácido 3-mercaptopropiônico (MPA, CAS 107-96-0, Sigma-Aldrich/Merck), cistamina diclorohidrato (CYS, CAS 56-17-7, Sigma-Aldrich/Merck), perclorato de lítio (LiClO₄, CAS 7791-03-9, Sigma-Aldrich/Merck), cloreto de potássio (KCl, CAS 7447-40-7, Sigma-Aldrich/Merck), álcool etílico (EtOH, CAS 64-17-5, Dinâmica), ácido sulfúrico 95-97% (H₂SO₄, CAS 7664-93-9, Merck), alumina coloidal 0,05 μm (ALU2, Arotec), e pano de polimento MD-NAP (Struers).

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

3.2.1 Sistemas de base e aquisição de dados

A agitação das soluções no interior da célula eletroquímica foi provida com o auxílio de um agitador magnético em barra (15 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro) e pelo equipamento de agitação magnética da marca VELP, modelo ARE.

A velocidade da agitação foi ajustada com o auxílio de um tacômetro digital modelo DT-2234C⁺, marcando o agitador magnético com fita reflexiva.

A célula eletroquímica é de vidro, com volume total de 50 mL, entradas para eletrodos pequenos e padronizados. É dotada de camisa para refrigeração. A célula eletroquímica foi alocada no interior de uma gaiola de Faraday de alumínio (Al) que estava conectada ao aterramento do laboratório, com função de reduzir ou barrar efeitos elétricos externos ao experimento. A gaiola possui tampa frontal e fica posicionada sobre o equipamento de agitação magnética, como demonstrado na Figura 23.

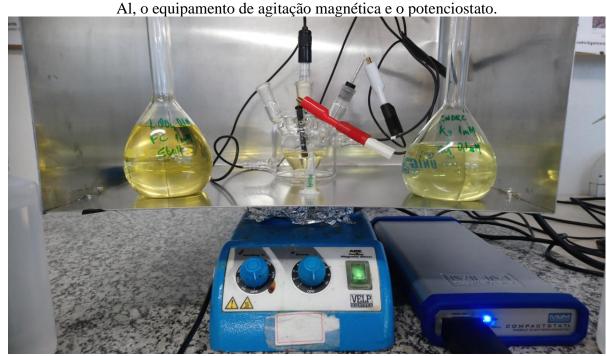
O eletrodo de referência (RE) usado em todos os experimentos era do tipo Ag / AgCl em solução saturada de KCl, temperatura de operação de 0 a 90°C, junção de cerâmica, corpo de vidro, resistência de 200 MOhms, modelo 3A11 da marca Analyser. O eletrodo auxiliar (AE)

era composto de fio de Pt de 1 mm de diâmetro, em formato de antena. A Figura 24 apresenta a célula eletroquímica completa usada nos experimentos eletroquímicos.

O potenciostato usado nos experimentos de avaliação dos parâmetros de adsorção de compostos tióis com uso do método da voltametria cíclica, é da marca IVIUM modelo B65606 portátil (*CompactStat*), com aquisição de dados através do seu respectivo *software* (IVIUMSOFT), como demonstrado na Figura 25. A compilação dos dados e a produção dos gráficos foi feita por meio do *software* Origin9.

A limpeza dos eletrodos foi executada na cuba do equipamento de ultrassom da marca Denkel, modelo DK-255, com EtOH.

Figura 23 – Demonstração dos equipamentos usados nas medidas voltamétricas, contemplando a célula eletroquímica no centro, os eletrodos acoplados, a gaiola de Faraday de



Fonte: o autor.

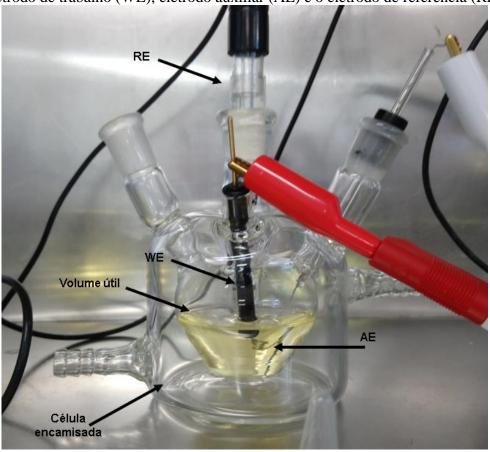
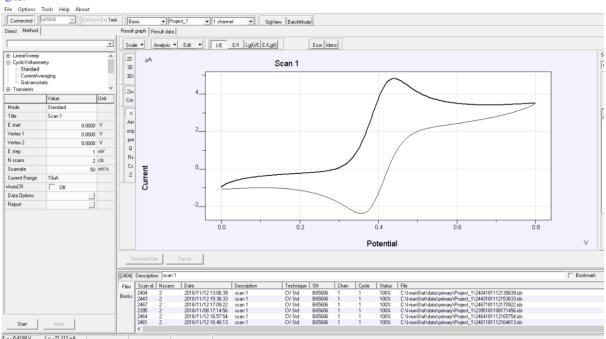


Figura 24 – Célula eletroquímica encamisada com o conjunto de três eletrodos conectados: eletrodo de trabalho (WE), eletrodo auxiliar (AE) e o eletrodo de referência (RE).

Figura 25 – Software usado nas medidas voltamétricas na avaliação de compostos tióis.



Fonte: o autor.

3.2.2 Sistemas de base comparativa

No estudo da adsorção dos pelo método eletroquímico foi utilizado um eletrodo de trabalho de Au de 2 mm de diâmetro suporte isolante polimérico, modelo CHI101 (CH INSTRUMENTS, 2018).

Os eletrodos de trabalho produzidos por nosso grupo de pesquisa consistem em materiais de baixo custo e alta logística produtiva. São produzidos com base em LAM revestida de Au, composta por Fe₄₅Ni₄₅Mo₇B₃, em peso. O material, a descrição e as propriedades físicas e magnéticas são providas pela METGLAS *Corporation of Conway SC* (METGLAS, 2018).

A fita isolante adesiva para o encapsulamento dos eletrodos é da marca Vonder, com propriedades de antichama. A fita de Ag adotada para aplicação do contato elétrico entre a liga magnetoelástica revestida de Au e o cabo do potenciostato é da marca 3M (série 1182).

Dois tipos de revestimento de Au foram testados: revestimento de Au por SP e por ED. Os revestimentos de Au por SP foram feitos no Laboratório de Engenharia de Superfícies e Tratamentos Térmicos (LESTT) da Universidade de Caxias do Sul, com deposição de Cr (tempo de 220 s, 100 W, 100 nm de espessura do revestimento) interlaminar, para aumentar a aderência entre a liga magnetoelástica e o Au; e posterior deposição de Au (tempo de 120 s, 30 W, 100 nm de espessura do revestimento), distância dos alvos à amostra de 6 cm e pressão de trabalho de 3 x 10⁻³ bar.

Os parâmetros usados na deposição eletroquímica foram ajustados a formação de um revestimento laminar de $0,125~\mu m$, em solução de KCN1 M pH 11 (D7728, 2011), com tempo de deposição de 300~s, corrente de 60~mA e anodo de ouro metálico. A fonte de corrente usada na produção de revestimentos de ouro em ligas magnetoelásticas é da marca Agilent, modelo E3634 (Fonte DC 0-25~V; 7 A).

3.3 MÉTODO

O método de avaliação dos eletrodos de trabalho revestidos de Au e da adsorção de tióis, consiste na produção e verificação da funcionalidade dos eletrodos e o monitoramento da adsorção dos compostos tióis. Primeiramente os eletrodos são construídos e posteriormente prétratados para estarem qualificados para os experimentos.

A funcionalidade dos eletrodos de trabalho é verificada por meio da voltametria cíclica, em presença de um probe de oxirredução em meio aquoso ou hidroalcoólico. São

avaliados os parâmetros característicos das curvas de voltametria cíclica, como potencial e corrente de picos faradaicos e corrente capacitiva.

Em seguida, os eletrodos de trabalho são aplicados no monitoramento da formação das SAM e otimização das condições de concentração do tiol e de tempo de aplicação.

3.3.1 Montagem de eletrodos revestidos de Au com base em LAM

Inicialmente, a LAM foi revestida de Au para posteriormente ocorrer a construção dos eletrodos de trabalho e a adsorção dos compostos tióis, monitorados pelo método eletroquímico de voltametria cíclica. Os métodos aplicados para a deposição do revestimento dourado são denominados como SP (Cr 100 nm de espessura / Au 100 nm de espessura) e ED (Au 100 nm de espessura). No método de deposição de Au por SP houve necessidade de adição de revestimento primário de Cr para aumentar a adesão do Au, conforme descrito no Capítulo I.

Para redução dos custos de produção de eletrodos de trabalho, foram usados componentes condutivos e isolantes provenientes do cotidiano laboratorial. Como mencionado antes, os eletrodos de trabalho possuem A_{Geo} com revestimento de Au e com finalidade de promover a adsorção de compostos tióis. Dessa forma, a LAM revestida de Au de 5 mm x 5 mm é encapsulada em fita adesiva isolante.

A construção é iniciada colocando uma fita isolante de base e dessa forma, posicionando a LAM revestida de Au (Figura 26). É adicionado 2 cm de fita adesiva condutiva de Ag, agregando contato elétrico entre a LAM revestida de Au e o cabo do potenciostato. Posteriormente, outra fita adesiva isolante (topo), com furo de diâmetro de 2 mm feito por punção, é adicionada sobre a fita adesiva isolante base, dessa forma, a LAM revestida de Au e a fita condutiva de Ag são encapsuladas e podem ser imersas em solução hidroalcoólica ou aquosa.

A área proveniente do corte feito por punção de 2 mm de diâmetro deixará exposta à solução eletrolítica a parte central da LAM revestida de ouro. A Figura 26 apresenta o esquema de produção de eletrodos de trabalho usados nos experimentos de adsorção de tióis.

Adição da fita magnetoelástica adesiva condutiva Fita adesiva revestida de ouro de prata isolante base Junção das fitas adesivas base e topo Fita adesiva Furo de 2 mm Punção com 2 isolante topo Eletrodo Trabalho

Figura 26 – Esquema representando os materiais para a obtenção de eletrodos de trabalho de ouro com A_{Geo} teórica de 0,03142 cm².

3.3.2 Pré-tratamento dos eletrodos

Os eletrodos de trabalho revestidos de Au receberam pré-tratamento antes da aplicação na célula eletroquímica. O pré-tratamento consistiu basicamente em remover resíduos da superfície, sejam partículas de contaminação ou dos próprios tióis, no caso do reuso do eletrodo de trabalho. Esses eletrodos possuem características que não permitem polimento e lavagem no banho de ultrassom, portanto, foram pré-tratados com jatos de EtOH providos por pisseta de bico estreito e posteriormente a aplicação de 30 ciclos de voltametria, em solução de ácido sulfúrico 0,5 M, variando o intervalo de potencial de 0 a 1,8 V.

No eletrodo de trabalho STD, o pré-tratamento consistiu no polimento da superfície com alumina coloidal 0,05 μm, seguindo o método descrito por Elgrishi *et al.* (2018). Posteriormente, foram aplicados 30 ciclos de voltametria cíclica no intervalo de potencial de 0 a 1,8 V, em uma solução de H₂SO₄ de 0,5 M. Por fim, o eletrodo STD foi colocado em um copo de Becker de com EtOH e inserido no ultrassom por 300 s.

3.3.3 A funcionalidade dos eletrodos

A verificação da funcionalidade dos eletrodos de trabalho, construídos com base de liga magnetoelástica e do eletrodo de trabalho STD, foi realizada com o uso de uma solução de (30 mL) K₃Fe(CN)₆ 1 mM, com KCl 0,1 M como eletrólito suporte, na célula eletroquímica. De acordo com a Equação 27, é possível verificar a funcionalidade dos eletrodos de trabalho variando a velocidade de varredura (*scanrate*) ou a concentração do probe de oxirredução,

causando a mudança de comportamento linear da corrente de pico faradaico. Os dados do sistema eletroquímico foram extraídos usando o método de voltametria cíclica. Da mesma forma, a avaliação da i_C e da A_{Act} foi executada usando apenas o eletrólito suporte e de acordo com a Equação 28. A medição das i_C dos eletrodos de trabalho foi medida variando a velocidade de varredura e coletando os valores específicos de corrente nos pontos de potencial de 0,2 V, 0,225 V e 0,25 V. Os dados serviram para ajuste linear onde pode-se verificar a inclinação da reta, dessa forma, é possível estimar a A_{Act} dos eletrodos de trabalho, considerando a capacitância (30 μFcm⁻²) de dupla camada do Au (DE LEO *et al.*, 2007).

3.3.4 Caracterização dos compostos tióis por voltametria cíclica

A caracterização das adsorções dos compostos tióis sobre os eletrodos de trabalho construídos com base na LAM revestida de Au e do eletrodo de trabalho STD, foi executada usando solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito suporte LiClO₄ 0,1 M.

Obtendo as correntes de pico faradaico a cada 10 min por meio da geração de um voltamograma cíclico e com uso de eletrodo de trabalho específico para cada caso, primeiramente foi medido sem adição do tiol respectivo por 30 min e denominando dessa forma o SSI.

Após os 30 min de SSI, adiciona-se o tiol respectivo em concentração de 1 mM e os picos são coletados a cada 10 min até concluir 3 h de avaliação. Posteriormente o eletrodo de trabalho é mantido por 24 h na solução de tiol para obter a corrente de pico faradaico respectivo a este tempo de adsorção, quando necessário.

Os parâmetros da voltametria cíclica usados para essa avaliação foram: velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹, potenciais de varredura variando de 0 a 0,8 V e eletrodo de trabalho de Au com A_{Geo} teórica de 0,03142 cm².

3.3.5 Comparativo entre diferentes tipos de tióis e eletrodos

Obtendo as correntes de pico faradaico dos voltamogramas cíclicos em função do tempo de aplicação dos tióis, é possível comparar diferentes eletrodos de trabalho usando a aplicação do mesmo tiol ou comparar diferentes tióis em um eletrodo de trabalho específico.

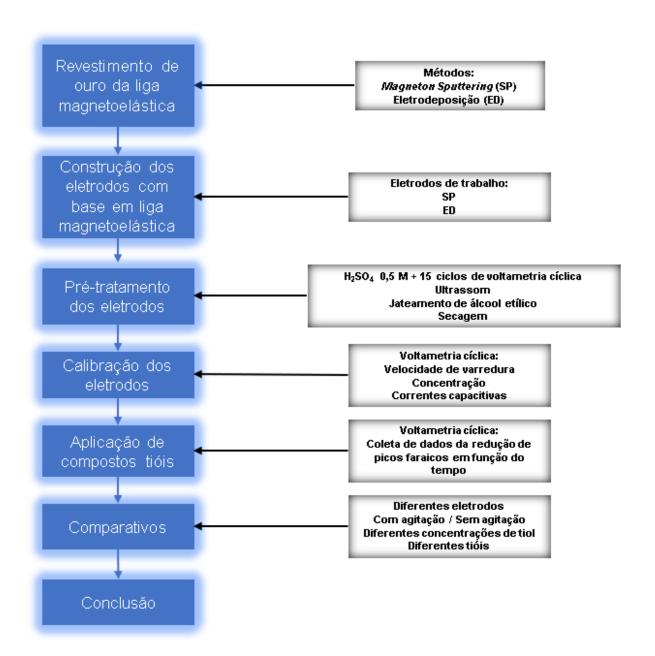
Para executar esses comparativos, usam-se os valores de correntes de pico faradaico coletados em cada intervalo de tempo (após adição do composto tiol) e dividido média das correntes de pico faradaico do SSI de 0 a 30 min (antes da adição do composto tiol). Dessa

forma, são demonstrados os comparativos entre os eletrodos de trabalho STD e os eletrodos com base em LAM revestida de Au pelo método de SP e revestida pelo método de ED, usando o composto tiol MUA e averiguando os tempos correspondentes a redução da i_F.

Para o estudo dos diferentes tipos de tióis foi usado o eletrodo STD, medindo os tempos de redução da i_F e concentração dos compostos tióis aplicados. Também foi avaliado o efeito da agitação magnética interna na célula eletroquímica e variações de concentração do MUA.

Quando usado apenas o eletrodo de trabalho STD, foi considerada a média de 3 verificações, considerando a média do SSI agregada. Nos eletrodos de trabalho construídos a partir da LAM revestida de Au, é feita a média dos dados coletados por 3 eletrodos de trabalho construídos similarmente, para cada tipo de revestimento de Au. Os comparativos de revestimento proporcionado pela adsorção do tiol que passiva a área de Au do eletrodo de trabalho foram feitos usando as Equações 34 e 36.

3.3.6 Fluxograma geral do processo de fabricação de eletrodos de trabalho e avaliação dos parâmetros



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

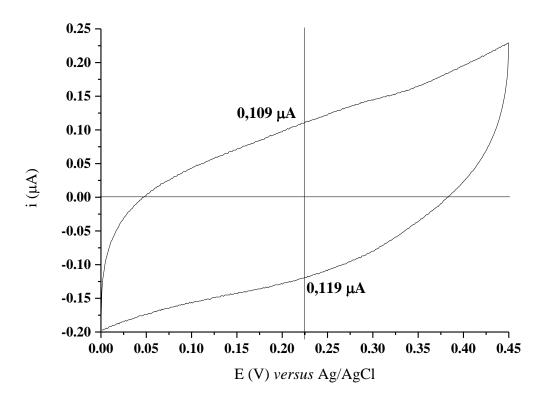
4.1 A FUNCIONALIDADE DOS ELETRODOS DE TRABALHO

Nesta sessão, são apresentados os resultados de funcionalidade dos eletrodos de trabalho usados nesse estudo. O comparativo geral entre os eletrodos de trabalho visando a funcionalidade está na Tabela 1 do Apêndice.

4.1.1 A funcionalidade e resultados do eletrodo de trabalho STD

Considerando a A_{Geo} teórica igual a A_{Act} , a i $_C$ teórica para um eletrodo de 2 mm de A_{U} ($C_{DL} = 30~\mu F cm^{-2}$) é de $0,047~\mu A$, com velocidade de varredura de $50~mV s^{-1}$ e de acordo com a Equação 28. A Figura 27 apresenta o voltamograma cíclico do eletrodo de trabalho STD, com variação do potencial de 0 a 0,45~V.

Figura 27 – Voltamograma cíclico registrado com um eletrodo de trabalho STD, em solução de KCl 0,1 M, velocidade de varredura específica de 0,05 Vs⁻¹.

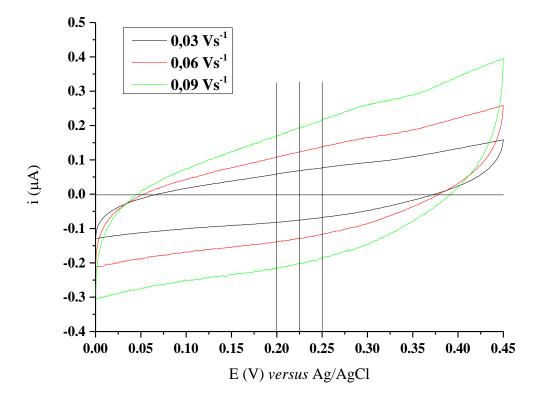


Fonte: o autor.

A medida da i_C foi feita no ponto de potencial igual a 0,225 mV e apresentou um valor médio de 114 nA, calculando a média aritmética das correntes capacitivas catódicas e anódicas do voltamograma cíclico.

Para cada voltamograma cíclico, registrado a uma velocidade de varredura escolhida, foram coletados três pontos de i_C catódica e três pontos anódicos, especificamente nos potenciais 0,200 V, 0,225 V e 0,250 V, como evidenciado na Figura 28.

Figura 28 – Voltamogramas cíclicos registrados com um eletrodo de trabalho STD, em solução de KCl 0,1 M, nas velocidades de varredura de 0,03, 0,06 e 0,09 Vs⁻¹.



Fonte: o autor.

Os valores médios de corrente capacitiva em função da velocidade de varredura estão dispostos na Tabela 4 e a Figura 29 mostra os valores em um gráfico. Os valores serviram para a linearização entre a variação da i_C média *versus* a velocidade de varredura. Com o valor referente à inclinação da curva (b, *slope*), foi possível estimar a A_{Act} do eletrodo de trabalho STD, onde o b da curva de linearização é igual à multiplicação entre a A_{Act} e a C_{DL}.

Tabela 4 – Valores da i_C calculados a partir dos voltamogramas cíclicos da Figura 28.

Pontos de coleta de dados (V)

(Vs ⁻¹)	i Capacitiva (μΑ)	0,200	0,225	0,250
0,03	i _c (μΑ)	0,059	0,070	0,077
	i _a (μΑ)	0,083	0,075	0,069
0,06	i _c (μΑ)	0,107	0,124	0,138
	i _a (μΑ)	0,140	0,128	0,117
0,09	i _e (μΑ)	0,171	0,191	0,217
	i _a (μΑ)	0,216	0,202	0,186

(Vs ⁻¹)	i Capacitiva média (μΑ)
0,03	0,072 ± 0,006
0,06	0,126 ± 0,009
0,09	0,197 ± 0,015

Fonte: o autor.

A regressão linear dos dados experimentais apresentada na Figura 28, resulta em uma inclinação igual a $2,08 \pm 0,16$, com um r^2 de 0,99. Como a inclinação da reta é igual à A_{Act} multiplicada pela C_{DL} do metal Au, obtém-se um valor estimado de A_{Act} do eletrodo de trabalho STD igual a $0,069~\text{cm}^2$, o que corresponde uma área 2,21 vezes maior do que A_{Geo} teórica do eletrodo $(0,03142~\text{cm}^2)$.

A Figura 29 apresenta os resultados médios encontrados considerando as velocidades de varredura de 0,01 a 0,1 Vs⁻¹, resultando em uma inclinação igual a 2,05 \pm 0,10, com um r² de 0,98. Convertendo a inclinação em A_{Act} , o valor estimado foi de 0,068 cm² e dividindo pela A_{Geo} teórica, o valor encontrado foi de 2,17 maior.

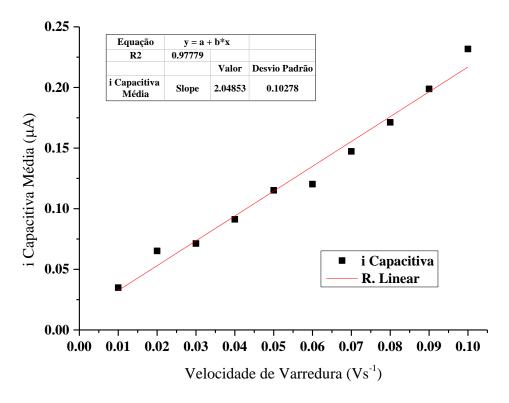


Figura 29 – Regressão linear da variação da i_C média (i) em função da variação da velocidade de varredura.

O ruído mostrado no potenciostato durante as varreduras dos potenciais, foi captado entre as leituras e no modo de espera (standby). O valor da i_N agregado à análise da corrente capacitiva apresentou uma variação de 114 ± 34 pA.

De acordo com a Equação 27, um voltamograma cíclico registrado com um eletrodo de trabalho de A_{Geo} teórica de $0,03142~cm^2$ (2 mm de diâmetro) e nas condições experimentais ideais, de concentração de 1 mM de $K_3Fe(CN)_6$ ($D=7,6 \times 10^{-6}~cm^2s^{-1}$) e velocidade de varredura de $50~mVs^{-1}$, deve apresentar uma corrente de pico igual a $5,21~\mu A$ para a temperatura de $25^{\circ}C$.

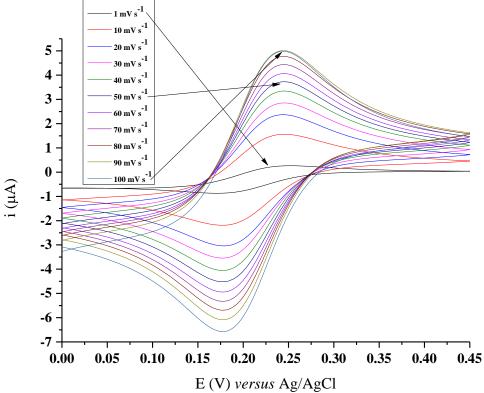
A Figura 30 apresenta a variação da i_F em função da variação da velocidade de varredura, que compreende a avaliação de 10 a 100 mVs⁻¹. Na velocidade de varredura igual a 50 mVs⁻¹, o valor medido de i_F catódica foi de 4,55 μA e 4,74 μA para a i_F anódica.

Considerando o valor de i_F teórico como base, há uma defasagem de corrente de 10,5%, que pode ser explicado pelas pequenas variações de A_{Geo} real, de concentração do reagente ou do coeficiente de difusão.

Para averiguar a qualidade do eletrodo de trabalho e atestar a funcionalidade, as Equações 24, 25 e 26 foram usadas para delimitar os valores dos parâmetros de potencial catódico (E_{pc}), potencial anódico (E_{pa}) e a razão entre as i_F de cada ponto coletado, quando a velocidade de varredura foi variada.

As diferenças (*peak to peak*) dos valores de potencial E_{pc} e E_{pa} entre os dados coletados da variação da i_F *versus* velocidade de varredura, em média, mostraram um valor de $67 \pm 1,13$ mV, indicando um valor próximo do teórico mostrado na Equação 24. O valor de $E_{1/2}$ (Equação 25) também apresentou proximidade com o valor teórico usado nas simulações (0,22 mV), ou seja, o valor médio quando houve a variação da velocidade de varredura foi de 0,211 \pm 3,24 x 10^{-4} mV. A razão entre a corrente de pico faradaico catódica e a corrente de pico faradaico anódico (Equação 26), em média, apresentou um valor de 0,96 \pm 0,02.

Figura 30 – Variação das correntes faradaicas em função da variação da velocidade de varredura, em solução de K₃Fe(CN)₆ 1 mM em eletrólito suporte KCl 0,1 M.

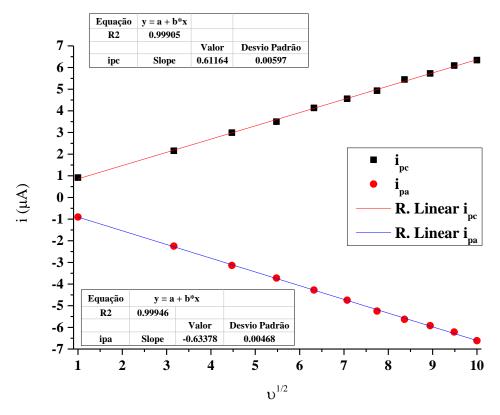


Fonte: o autor.

De acordo com a Equação 27, o aumento da i_F deve ser linear quando submetida à variação da raiz quadrada da velocidade de varredura. A Figura 31 apresenta as regressões lineares da variação da i_F em função do aumento da velocidade de varredura.

Os pontos coletados referentes às i_F catódicas mostraram coeficiente de correlação linear de 0,99. Os pontos coletados referentes às i_F anódicas também apresentaram coeficiente de correlação linear de 0,99, dessa forma, atestando a Equação 27.

Figura 31 – Regressões lineares dos dados coletados das correntes faradaicas catódicas e anódicas em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.



Fonte: o autor.

O valor da i_N agregado à análise da corrente capacitiva, apresentou uma variação de $119 \pm 45 \ pA$.

Outra forma de averiguar a linearidade da Equação 27, é variando a concentração do eletrólito de oxirredução. A Figura 32 apresenta dos dados de variação da concentração do eletrólito de oxirredução ferricianeto de potássio, partindo da concentração de 1 mM (1/1) no sentido da diluição de 1/2 e 1/3. Os dados coletados mostraram que a diferença entre os potenciais E_{pc} e E_{pa} é em média de $68 \pm 4 \times 10^{-4}$ mV, quando usada a Equação 24.

1/1 1/2 3 1/3 2 1 0 $i \; (\mu A)$ -1 -2 -3 -4 -5 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 0.35 0.40 0.00 0.45 E (V) versus Ag/AgCl

Figura 32 – Variações das correntes de pico em função da variação da concentração do K₃Fe(CN)₆ 1 mM, com eletrólito suporte KCl 0,1 M.

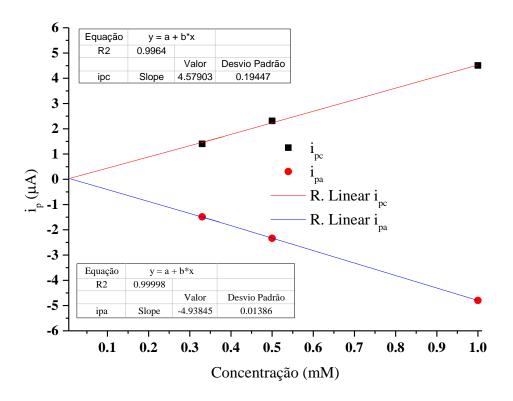
As diferenças dos pontos de potencial E_{pc} e E_{pa} entre os dados obtidos da variação da corrente faradaica versus a variação da concentração do eletrólito de oxirredução, em média, mostraram um valor de $68 \pm 4 \times 10^{-4}$ mV, indicando um valor próximo do teórico mostrado na Equação 24.

O valor de $E_{1/2}$ (Equação 25) também apresentou proximidade com o valor teórico usado nas simulações (0,22 mV), ou seja, o valor médio quando houve a variação da velocidade de varredura foi de 0,211 \pm 6 x 10⁻⁴ mV. A relação entre a corrente de pico faradaico catódica e a corrente de pico faradaico anódico (Equação 26), em média, apresentou um valor de 0,94 \pm 0,003.

A Figura 33 apresenta as regressões lineares da variação da i_F em função da variação da concentração do eletrólito de oxirredução, diluído no eletrólito de suporte KCl 0,1 M.

Os pontos coletados referentes às i_F catódicas mostraram coeficiente de correlação linear de 0,99. Os pontos coletados referentes às i_F anódicas também apresentaram coeficiente de correlação linear de 0,99, dessa forma, atestando a Equação 27.

Figura 33 – Regressões lineares dos dados coletados das i_F catódicas e anódicas em função da variação da concentração do eletrólito de oxirredução $K_3Fe(CN)_6$, com diluições em KCl 0,1 M.



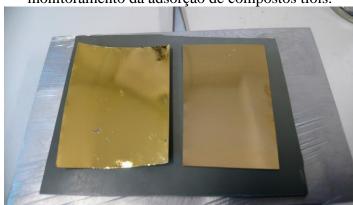
A sensibilidade pode ser evidenciada no parâmetro b. O valor encontrado para a variação da i_F catódica em função da variação da concentração do eletrólito de oxirredução foi de $4,579 \pm 0,194$. O valor encontrado para a i_F anódica foi de $4,94 \pm 0,014~\mu A~mM^{-1}$.

As duas retas que representam as regressões lineares das correntes se interceptam no valor de 6 nA para a concentração de 0,008 mM, indicando a possível sensitividade mínima para este caso. O valor da i_C agregado à análise da corrente faradaica em função da concentração, apresentou uma variação de 248 ± 119 pA.

4.1.2 Montagem dos eletrodos encapsulados e resultados de funcionalidade

A Figura 34 apresenta as peças de liga magnetoelástica revestida pelos métodos SP e ED.

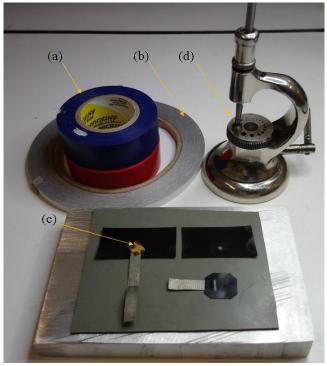
Figura 34 – Peças de liga magnetoelástica revestidas de Au pelos métodos de deposição SP (lado esquerdo) e ED (lado direito) usados na construção de eletrodos de trabalho para o monitoramento da adsorção de compostos tióis.



Após a aplicação dos revestimentos de Au sobre as fitas de liga magnetoelástica, as fitas foram recortadas em tamanho apropriado para o encapsulamento em fita adesiva isolante, segundo o método descrito na seção 3.3.1 deste capítulo.

A Figura 35 apresenta o conjunto completo para a montagem dos eletrodos de trabalho encapsulados usados nos experimentos, com as fitas isolantes e adesivas (a), a fita de Ag (b), a LAM revestida (c) de Au e dimensionada apropriadamente e o sistema usado para furar a fita adesiva (punção) (d).

Figura 35 – Conjunto usado para a fabricação de eletrodos de trabalho com uso da LAM revestida de Au.



Fonte: o autor.

A Figura 36 apresenta dois exemplos de eletrodos de trabalho encapsulados: tipos de cor azul foram encapsulados com LAM revestida de Au por ED, e os tipos de cor preta foram encapsulados com a mesma fita, mas com Au depositado por SP. Na sequência, os eletrodos construídos por encapsulamento foram testados para a medição das i_C, i_F e i_N.

Da mesma forma que ocorrido para o eletrodo de trabalho STD (Equação 27), um eletrodo de trabalho com A_{Geo} teórica de 0,03142 cm² (2 mm de diâmetro) e nas condições experimentais ideais, de concentração de 1 mM de $K_3Fe(CN)_6$ D = 7,6 x 10^{-6} cm²s⁻¹) e velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹, deve apresentar uma corrente faradaica máxima de 5,21 μA para a temperatura de 25°C.

Figura 36 – Exemplos de eletrodos construídos com LAM revestida de ouro e encapsulada em fita isolante adesiva.



Fonte: o autor.

Dessa forma, definimos os comparativos com base nos valores teóricos informados (Equação 27 e Equação 28), avaliando os eletrodos encapsulados ED (1, 2 e 3) e SP (1, 2 e 3) e em triplicata para avaliar o desvio padrão de avaliação em cada eletrodo de trabalho

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos dos voltamogramas cíclicos para a avaliação da i_C, considerando 50 mVs⁻¹ de velocidade de varredura e solução de KCl 0,1 M.

Tabela 5 – Valores de i_c e i_N dos eletrodos de trabalho encapsulados com uso da LAM revestida de Au.

Eletrodo de Trabalho	i _C (μΑ)	i _N (μΑ)
ED1	0,065 ± 1,4E-3	5,20E-4 ± 1,37E-4
ED2	0,073 ± 3,3E-3	5,87E-4 ± 1,58E-4
ED3	0,072 ± 2,1E-3	3,55E-4 ± 9,57E-5
SP1	0,032 ± 4,0E-4	2,56E-4 ± 6,89E-5
SP2	0,039 ± 1,6E-3	3,84E-4 ± 1,03E-4
SP3	0,047 ± 3,5E-3	2,88E-4 ± 7,75E-5

De forma geral, os eletrodos ED e SP apresentaram correntes capacitivas baixas quando comparados com o valor teórico de 0,047 μ A, em média, calculado com a Equação 28, considerando um C_{DL} de 30 μ Fcm⁻².

Como procedido para o eletrodo STD, a A_{Act} de cada eletrodo foi calculada fazendo a médias das correntes capacitivas catódicas e anódicas dos pontos de potenciais (0,200 V, 0,225 V e 0,250 V) e correlacionando as variações das velocidades de varredura propostas (30 mVs⁻¹, 60 mVs⁻¹ e 90 mVs⁻¹), dessa forma, foi possível encontrar a A_{Act} de cada eletrodo a partir da inclinação da reta da regressão linear (Tabela 6), sendo que b é igual a multiplicação da A_{Act} e o C_{DL} (30 μFcm⁻², como consta na Equação 28.

Tabela 6 – Resultados estimados de coeficiente de correlação linear (r^2), a inclinação da reta da regressão linear, A_{Act} do eletrodo de trabalho e a relação fracionária entre a A_{Act} e a A_{Geo} teórica do eletrodo.

Eletrodo de Trabalho	r²	ь	A _{Act} (cm ⁻²)	A _{Act} A _{Geo} -1
ED1	0,998	1,36	0,045	1,45
ED2	0,985	1,49	0,050	1,58
ED3	0,976	1,86	0,062	1,98
SP1	0,995	0,69	0,023	0,73
SP2	0,996	0,77	0,026	0,82
SP3	0,998	0,58	0,019	0,61

Em comparação aos resultados encontrados para o de eletrodo de trabalho ED, o SP apresentou valores de A_{Act} menores do que a A_{Geo} teórica, sugerindo que houve uma retração da fita de encapsulamento. Nesse momento não há como saber como se comporta ou como apresenta-se a A_{Geo} real do eletrodo pois pequenas variações da área A_{Geo} real impactam na i_F. As i_N não são apresentadas na Tabela 6 pois já foram documentadas na Tabela 5.

Para as medições da i_F, foi aplicada a variação de velocidade de varredura de 10 mVs⁻¹ a 100 mVs⁻¹, solução de K₃Fe(CN)₆ 1 mM em eletrólito suporte (KCl 0,1 M). Com a geração dos voltamogramas cíclicos, foram coletados os dados das i_F catódicas e anódicas de cada velocidade de varredura dos eletrodos de trabalho ED e SP. A Tabela 7 apresenta os valores coletados dos voltamogramas cíclicos referentes aos eletrodos de trabalho construídos com base em LAM revestida de Au pelos métodos ED e SP.

Tabela 7 – Verificação da funcionalidade dos eletrodos de trabalho ED e SP, com dados calculados por meio dos voltamogramas cíclicos.

	Equação 27 em 50 mVs ⁻¹ $i_F = 2,69x10^5 n^{\frac{5}{2}} A D^{\frac{1}{2}} C v^{\frac{1}{2}}$				
Eletrodo de Trabalho	Equação 24 (V) $E = E_{pc} - E_{pa} \triangleq \frac{0,059}{n}$			і _{рс} (µА)	i _{pa} (μΑ)
TD:	0.003 + 0.07 0	0.030 + 0.15 0	1,007 + 1,57 0	4.030	3.040
ED1	0,093 ± 0,8E-2	0,230 ± 0,1E-2	1,037 ± 1,5E-2	4,030	3,948
ED2	0,074 ± 0,7E-2	$0,220 \pm 0,1E-2$	1,029 ± 1,5E-2	4,231	4,156
ED3	0,092 ± 0,9E-2	$0,230 \pm 0,1E-2$	$1,014 \pm 5,8E-2$	4,553	4,361
SP1	$0,132 \pm 2,4E-2$	$0,224 \pm 0,3E-2$	1,002 ± 3,5E-2	3,459	3,313
SP2	0,135 ± 2,2E-2	$0,224 \pm 0,1E-2$	$1,003 \pm 2,3E-2$	3,334	3,222
SP3	0,122 ± 1,9E-2	0,213 ± 0,3E-2	1,043 ± 2,3E-2	3,505	3,482

Considerando a média entre as três unidades do mesmo tipo de eletrodo de trabalho, o ED apresentou média de i_{pc} igual a 4,271 μ A \pm 0,188 μ A e i_{pa} igual a 4,155 μ A \pm 0,138 μ A. Da mesma forma, a média para SP resultou em valores de i_{pc} igual a 3,433 μ A \pm 0,066 μ A e i_{pa} igual a 3,339 μ A \pm 0,095 μ A. A i_{N} dos resultados obtidos referentes à Tabela 7, apresentou uma média com valor de 3,19 x 10^{-4} μ A \pm 9,33 x 10^{-5} μ A.

Nessa parte, podemos evidenciar que os eletrodos de trabalho SP apresentaram uma retração da fita de encapsulamento pois as correntes de pico faradaico catódicas e anódicas mostraram um valor abaixo do esperado, em comparação ao valor teórico e ao ED. Uma redução da área real impacta diretamente nas correntes faradaicas, de acordo com a Equação 27.

Outra evidência encontrada são os valores médios de potenciais ao variar a velocidade de varredura, indicando perda de qualidade. A diferença entre os potenciais relacionados com os i_{pc} e i_{pa} do SP, aumentaram quando comparados com o ED.

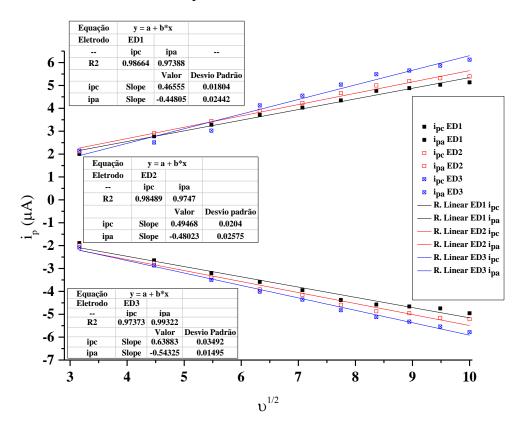
Conforme aumenta a velocidade de varredura, aumenta a distância entre os potenciais de pico de oxidação e redução, o que indica que há uma perda de qualidade na construção do eletrodo de trabalho e não somente uma redução da A_{Geo} real, o que remete a possíveis problemas causados pela rugosidade.

Para um eletrodo de boa qualidade, o distanciamento entre os pontos de potencial relacionados com i_{pc} e i_{pa} devem acontecer somente em altas velocidades de varredura, onde a varredura de potenciais é rápida o suficiente para que um pico de oxirredução não tenha tempo

para ser produzido. Ou seja, a variação do potencial é rápida e a aproximação da molécula de oxirredução não possui tempo suficiente para chegar até a interface do eletrodo de trabalho e completar o ciclo de difusão, o que não é o caso neste momento. Dessa forma, pode haver relação com a qualidade do eletrodo de trabalho, variação do diâmetro de furo da fita de encapsulamento ou problemas de contato entre a fita de Ag e a LAM revestida de Au.

Os valores encontrados para os eletrodos de trabalho ED e SP quando aplicados nas Equações 25 e 26, apresentaram boa concordância como valor de potencial E_{1/2} usado nas simulações e que correspondem aproximadamente aos picos faradaicos de oxirredução do K₃Fe(CN)₆. A razão entre as correntes de pico demonstrou a reversibilidade para ambos eletrodos de trabalho, ED e SP. As Figuras 37 e 38 apresentam as regressões lineares entre a velocidade de varredura e as i_{pc} e i_{pa} dos eletrodos de trabalho ED e SP, contemplando informações de r², b e desvio padrão, respectivamente.

Figura 37 – Regressões lineares dos valores de corrente de pico em função da velocidade de varredura para o eletrodo de trabalho ED.



Fonte: o autor.

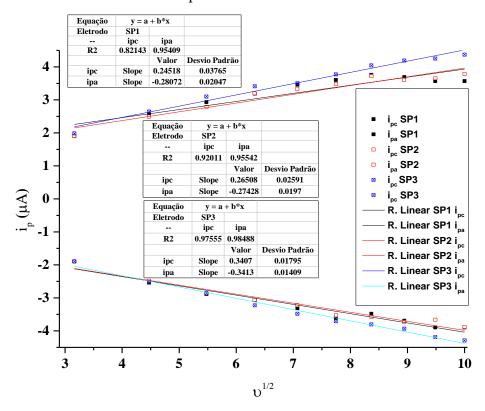


Figura 38 – Regressões lineares dos valores de corrente de pico em função da velocidade de varredura para o eletrodo de trabalho SP.

De modo geral, os eletrodos ED e SP são funcionais. Perdas de linearidade são vistas nos eletrodos SP1 e SP2 quando são consideradas as i_F catódicas e nas velocidades de varredura acima de 70 mVs⁻¹. As inclinações das retas indicam a funcionalidade pois quando os valore são inseridos na Equação 27, se mostram lineares.

Considerando o coeficiente de difusão igual a 7,6 x 10⁻⁶ cm²s⁻¹, a A_{Geo} teórica igual a 0,03142 cm² e a velocidade de varredura de 1 mVs⁻¹, podemos estimar a concentração do eletrólito de oxirredução a partir dos dados experimentais. A concentração do eletrólito de oxirredução usado no experimento foi de 1 mM, com essa estratégia podemos atestar a funcionalidade dos eletrodos construídos. Os valores de concentração molar estimados pela Equação 27 e que mais se aproximam da concentração molar de eletrólito de oxirredução usado no experimento, estão relacionados com os eletrodos ED1, ED2 e ED3. A Tabela 8 apresenta os dados coletados das regressões lineares e a estimativa para a concentração molar, de acordo com a Equação 27. Também neste caso, é indicado que o ED se aproxima da concentração de eletrólito de oxirredução usado nos experimentos, ademais, os resultados podem ser menores quando há suspeita de variação de A_{Geo}, como visto anteriormente para SP.

Tabela 8 – Dados provenientes das regressões lineares apresentando o coeficiente de correlação linear, a inclinação da reta e a estimativa de concentração molar do eletrólito de oxirredução, a partir dos dados experimentais.

Eletrodo				Equação 27 (mM)
de Trabalho	i _F	r ²	b	$i_{\rm F} = 2,69 {\rm x} 10^5 \; {\rm n}^{\frac{3}{2}} \; {\rm A} \; {\rm D}^{\frac{1}{2}} \; {\rm C} \; {\rm v}^{\frac{1}{2}}$
ED1	i _{pe}	0,99	0,465 ± 1,8E-2	0,63
LD I	i _{pa}	0,97	0,448 ± 2,4E-2	0,61
EDO	i _{pe}	0,98	0,494 ± 2,0E-2	0,67
ED2	i _{pa}	0,97	0,480 ± 2,5E-2	0,65
FD2	i _{pe}	0,97	0,638 ± 3,4E-2	0,87
ED3	i _{pa}	0,99	0,543 ± 1,4E-2	0,74
CD1	i _{pe}	0,82	0,245 ± 3,7E-2	0,33
SP1	i _{pa}	0,95	0,280 ± 2,0E-2	0,38
SP2	i _{pe}	0,92	0,256 ± 2,5E-2	0,35
	i _{pa}	0,96	0,274 ± 1,9E-2	0,37
SP3	i _{pc}	0,98	0,340 ± 1,7E-2	0,46
	i _{pa}	0,98	0,341 ± 1,4E-2	0,46
	-			

Como evidenciado na Tabela 8, novamente os eletrodos de trabalho ED apresentaram melhores valores de aproximação nas estimativas de concentração, em especial para o eletrodo de trabalho ED3.

Mesmo que os eletrodos de trabalho SP não tenham apresentado qualidade de construção em comparação aos ED, mostraram funcionalidade pois as regressões lineares mantiveram altos valores nos coeficientes de correlação, dessa forma, seguem a Equação 27 e indica que o processo redox é reversível e controlado pela difusão.

Para o uso experimental e prático dos eletrodos de trabalho construídos com revestimento de Au por ED e SP, o SP pode não estar apto tanto quanto o ED. Entretanto, para o estudo da superfície do revestimento de Au para cada modelo, as medidas de adsorção são relativas, pois são analisadas as taxas de adsorção para cada tipo de eletrodo de trabalho respectivo onde a diminuição da i_F catódica em função da adsorção de um composto químico é normalizada pela i_F catódica no SSI (tempo zero). Dessa forma, será possível avaliar o comportamento da adsorção de um composto químico em função das diferentes superfícies com revestimento de Au em função do tempo, pelo método de voltametria cíclica.

4.2 ADSORÇÃO DOS COMPOSTOS TIÓIS

Nesta seção, são apresentados os resultados das adsorções de compostos tióis com o uso dos eletrodos de trabalho STD e encapsulados. O comparativo geral entre os eletrodos de trabalho visando a adsorção de tióis e com resultados da diminuição da i_F, está na Tabela 2 do Apêndice.

4.2.1 A adsorção de MUA e tióis com cadeia curta no eletrodo de trabalho STD

Primeiramente, foi avaliado a diferença da deposição do tiol MUA, considerando a célula eletroquímica sem agitação (SA) e posteriormente com agitação (CA) provida pela agitação magnética, aplicando o método de coleta de dados descrito na seção 3.3.4 e 3.3.5 deste capítulo.

Inserido o agitador magnético no interior da célula e marcado com fita reflexiva para monitoramento da rotação com tacômetro digital, a Tabela 9 apresenta os dados adquiridos de rotações (rpm) relacionadas com as posições de escolha de velocidades no agitador magnético.

A agitação magnética ideal foi escolhida por indicativo visual da não formação do vórtex, na velocidade 3 e que corresponde à 275 ± 11 rpm, de acordo com as informações providas pelo tacômetro digital.

Tabela 9 – Velocidades da agitação magnética no interior da célula eletroquímica em solução hidroalcoólica.

Velocidade		Média (rpm)
1	75	65±4
2	119	151±1
3	287	275±11
4	393	397±2
5	491	491±2

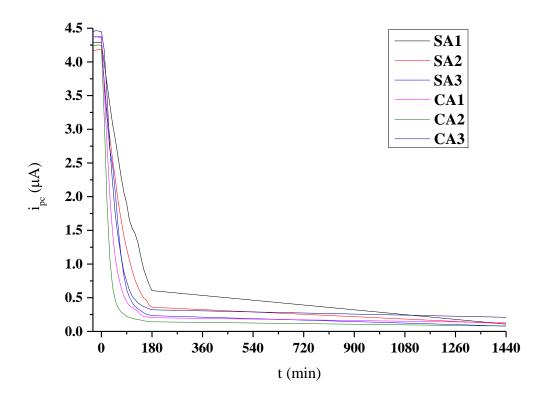
Fonte: o autor.

Definida a velocidade de agitação, foi procedido o experimento de adsorção de MUA, considerando 3 medidas de adsorção sem agitação magnética e três medidas com agitação magnética no interior da célula eletroquímica.

Conforme descrito na seção 3.3.4, nos primeiros 30 minutos foi averiguado o SSI e definido o tempo zero, em seguida foi adicionado o tiol MUA. A cada 10 minutos foi adquirido um voltamograma cíclico para a coleta da corrente de pico faradaico.

A Figura 39 apresenta os dados brutos (sem normalização pelo SSI) das adsorções de MUA, em função do tempo de avaliação. O tempo de leitura dos voltamogramas cíclicos é estendido até 1440 min que corresponde a 24 h de adsorção de MUA, sendo que após os 180 min consta uma descontinuidade pois somente é coletada a leitura dos 1440 min finais. Os dados que compõe a Figura 39 estão dispostos na Tabela 5 do Apêndice.

Figura 39 – Demonstrativo de curvas da variação da corrente de pico catódico em função do tempo de deposição de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM e com eletrólito suporte LiClO₄ 0,1 M.



Fonte: o autor.

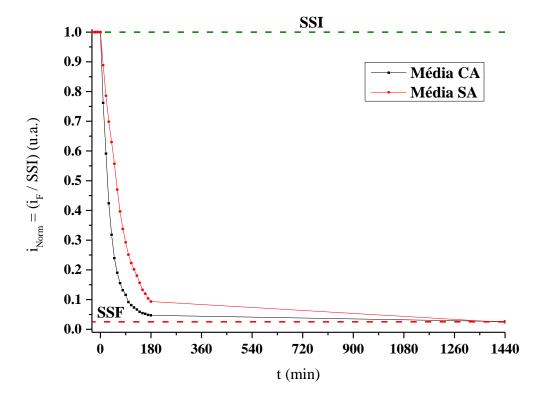
Após a coleta dos dados brutos das correntes de pico, os dados foram normalizados pelo SSI de cada análise correspondente e entre a média das 3 coletas de dados para cada situação (SA / CA). A Figura 40 apresenta os dados das médias de corrente de pico normalizadas pelo SSI, com avaliação de 1440 minutos de adsorção do MUA.

Comparando as curvas de corrente normalizada, é evidenciada a melhoria sugerida quando aplicada a agitação magnética interna na célula eletroquímica. Facilitando a

aproximação das moléculas de MUA em até 180 min da aplicação, é possível garantir a passivação da superfície do eletrodo de trabalho de Au que ocorre na etapa da fisissorção.

Também fica evidenciado, mas não explícito, que a curva correspondente à adsorção de MUA sem agitação interna da célula eletroquímica não atinge valores de SSF quando comparada à curva a qual foi usada a agitação interna, considerando 180 min de aplicação. Dessa forma, é demonstrada a dificuldade de aproximação da molécula de MUA no sentido bulk/interface e a agitação da solução ajudará no transporte de massa.

Figura 40 – Curvas da variação das correntes faradaicas normalizadas pelo SSI em função do tempo de deposição mercaptoundecanóico MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito suporte LiClO₄ 0,1 M, considerando a agitação da célula eletroquímica e o eletrodo STD.



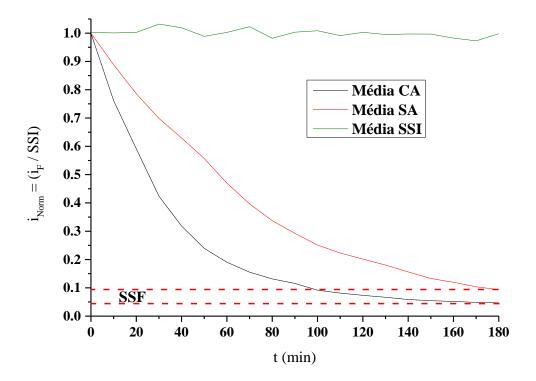
Fonte: o autor.

No tempo de 1440 minutos, ambos casos SA e CA atingem correntes normalizadas em baixos níveis percentuais de SSF, apresentando valores que correspondem 2,34% para o caso de SA e 3,21% para o caso de CA, em relação ao SSI.

Considerando apenas o tempo de 180 min de adsorção do MUA, fica explícita e evidenciada a grande diferença entre o uso e o não uso da agitação magnética interna na célula

eletroquímica na adsorção dos tióis. Avaliando a média de CA (Figura 41), nota-se que o SSF é praticamente atingido em torno de 150 min.

Figura 41 — Diferenças de uso da agitação magnética no interior da célula eletroquímica, com aplicação de MUA na formação das camadas auto-organizadas, monitorados pelo método eletroquímico de voltametria cíclica, onde CA se refere a situação de agitação e AS como sem agitação.



Fonte: o autor.

De forma divergente, a média de SA indica que a passivação total causada pelo MUA na superfície do eletrodo de trabalho de Au ainda está para finalizar, em tempos maiores do que de 180 min.

Isso comprova que há necessidade aumentar o transporte de massa de tiol até a interface do eletrodo de trabalho de Au, ou seja, aproximar a molécula para a fase inicial da fisissorção. Por mais que haja um gasto energético para executar esse serviço, um ganho de tempo considerável é provido. Para o caso de SA, o percentual em relação ao SSI foi de 9,32 %. Para o caso de CA, o percentual em relação ao SSI foi de 5,11%. Em acordo, os experimentos seguintes foram executados sempre com agitação na célula eletroquímica para a adsorção de tióis. Em outras palavras, estimular a convecção da adsorção dos tióis.

A Figura 41 ainda contempla a média do SSI para uma avaliação de 180 min e não possui adição do MUA após os 30 minutos iniciais. A média das correntes normalizadas da variação do SSI foi de $1,00 \pm 0,01$.

O referencial teórico encontrado sobre a adsorção de tióis, em especial da CYS e no uso dos bioconjugados para captar bactérias, indicam que há necessidade de no mínimo 120 min para que se produza uma camada auto-organizada de forma caótica, mas não mencionam se há agitação envolvida no processo nos períodos iniciais de adsorção. Entretanto, altas concentrações de tióis são mencionadas.

Dos clássicos referenciais encontramos o trabalho de Janegitz *et al.* (2012), onde foi aplicado 10 mM de CYS e 2 h de adsorção, Zhou *et al.* (2011) aplicou 3 mM de CYS e 12 h de adsorção, Huang e Lee (2008) aplicou 20 mM de CYS e 1 h de adsorção. A concentração elevada e o tempo reduzido indicam que há uma tentativa de saturar a interface dos biossensores, porém não é mencionado o uso de agitação no processo de adsorção.

Para definir as diferenças entre valores de concentração *versus* tempo, foi avaliada a redução da concentração do tiol MUA, usando a agitação interna na célula eletroquímica.

Como mencionado anteriormente, é adicionada na célula eletroquímica uma quantidade suficiente de MUA para que a concentração final no volume útil da célula eletroquímica seja igual a 1 mM, juntamente com o eletrólito suporte e em solução hidroalcoólica. A Figura 42 apresenta as curvas de adsorção de MUA variando a concentração de aplicação, com curvas médias e tempo de avaliação de 180 min.

1.0 0.9 1 mM MUA 0.8 0,5 mM MUA 0.7 0,1 mM MUA 0.6 0.5 0.4 0.3 0.2 0.1 0.0 100 40 60 80 120 140 160 0 20 180 t (min)

Figura 42 – Diferenças de redução da concentração na adsorção de MUA com eletrodo de trabalho STD, em função do tempo de aplicação.

Como evidenciado na Figura 42, reduzindo a concentração do tiol na solução para valores abaixo de 0,1 mM o tempo de interação deve ser maior, mas não há necessidade de grandes concentrações como de 10 a 20 mM, como relatado nas referências anteriores. Somando uma concentração adequada à agitação magnética interna, em qualquer recipiente laboratorial, haverá a passivação proveniente à adsorção do MUA e o problema relacionado com a fisissorção é resolvido.

Na aplicação de diferentes tióis, as moléculas que possuem cadeias curtas não passivam a superfície do eletrodo de trabalho de Au, no sentido que não bloqueiam completamente a i_F. Tipos de tióis como a CYS / CYSTE e o MPA possuem 2 carbonos e 3 carbonos, respectivamente.

Ao contrário do MUA, esses tipos de tióis não impedem a passagem da corrente faradaica, mas funcionam da mesma forma na construção das SAM para o uso nos bioconjugados. Com uma quantidade de 11 carbonos no corpo da molécula e maior quantidade de hidrogênios, a estabilidade do MUA é garantida, pois há maior interação de forças de Van der Waals interagindo na SAM de cadeia longa. Inclusive a ponto de cercar um defeito da superfície de Au, que por eventualidade, possua uma área nanométrica sem revestimento.

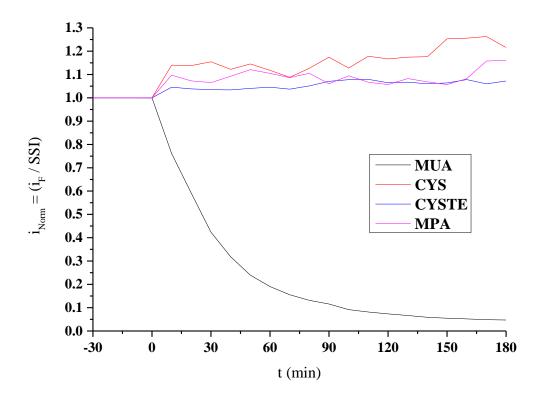
Comparando as curvas de adsorção dos tióis de cadeia curta com o tiol MUA (Figura 43), de cadeia longa, evidenciamos a deficiência em bloquear a passagem da i_F quando submetemos a concentração de 1 mM de cada tipo de tiol mencionado anteriormente. Mesmo que a aplicação seja em tempos de até 24 h e com agitação interna na célula eletroquímica, as SAM formadas por tióis de cadeia curta apresentam comportamento diferente ao que foi evidenciado com o uso da molécula de MUA.

De forma geral, ambos tióis de cadeia curta mostraram variação de corrente normalizada em valores próximos ao SSI, com leve aumento e não diminuição. Isso demonstra que as i_F coletadas em cada experimento aumentaram ao invés de diminuir com a formação da SAM na superfície do eletrodo de trabalho STD, mas quando comparado ao MUA, as moléculas de cadeia curta não bloquearam a passagem da i_F.

Como em todos os casos de adsorção de tióis foram usados o FC e a mesma velocidade de varredura, o pequeno aumento da i_F sugere que a SAM formada por CYS, CYSTE e MPA, e de acordo com a Equação 27, pode ter influenciado dos parâmetros que compõe a equação.

Uma pequena modificação na A_{Geo} real poderia explicar esse fenômeno. A Figura 43 apresenta os comparativos entre a adsorção do MUA e os dados coletados das adsorções da CYS, CYSTE e MPA.

Figura 43 – Curvas de adsorção de compostos tióis de cadeias curtas e longa, avaliados por voltametria cíclica, demonstrando a variação da corrente faradaica normalizada em função do tempo de aplicação.

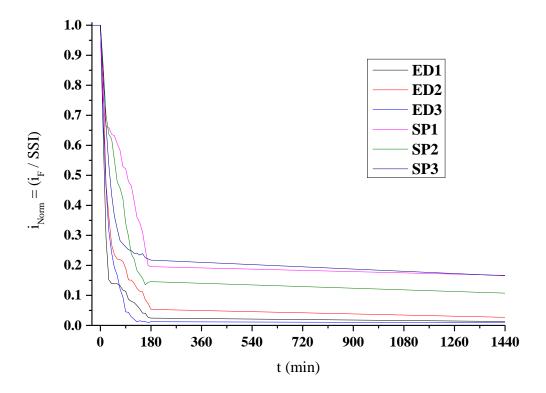


A variação da corrente normalizada para o tiol CYS apresentou um valor médio de $1,137\pm0,059$, para o tiol CYSTE apresentou variação de $1,046\pm0,021$ e para o tiol MPA um valor médio de $1,074\pm0,033$. Não houve mudanças significativas quando considerado o tempo de 1440 min. O tempo de -30 a 0 min está relacionado com o SSI de cada experimento.

4.2.2 A adsorção de MUA nos eletrodos de trabalho encapsulados

A Figura 44 apresenta as curvas da diminuição da i_F normalizada pelo SSI de cada experimento, em função do tempo de avaliação. O tempo de leitura dos voltamogramas cíclicos é estendido até 1440 min que corresponde a 24 h de adsorção de MUA, onde até 180 min com medidas de 10 em 10 min e medida final em 1440 min. Os dados que compõe a Figura 44 estão dispostos na Tabela 5 do Apêndice.

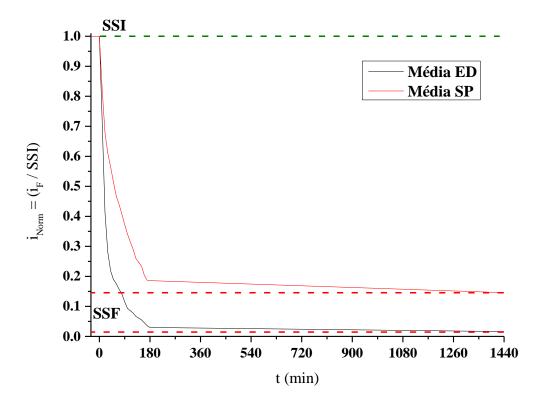
Figura 44 – Curvas da variação das correntes faradaica normalizadas pelo SSI em função do tempo de deposição de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito suporte LiClO₄ 0,1 M, considerando a agitação da célula eletroquímica e os eletrodos de trabalho encapsulados ED e SP.



Como evidenciado na Figura 44, o SP não atinge valores de diminuição da i_F normalizada pelo SSI a níveis de i_C. Em comparação com o ED, o SP apresentou menores valores de corrente normalizada. Isso pode ser explicado pelos valores de rugosidade de cada superfície, como foi demonstrado no Capítulo I desta tese. Uma rugosidade maior implica em maior dificuldade na formação das SAM, pois mesmo usando um tipo de tiol de cadeia longa, não foi possível obter melhores resultados para o SP.

A Figura 45 apresenta os dados médios relacionando os valores de i_F normalizada pelo SSI dos eletrodos de trabalho ED e SP, considerando a avaliação de 1440 min de adsorção de MUA. Para o eletrodo de trabalho encapsulado ED, o percentual de queda da i_F em 1440 min foi de 1,62 % quando comparado ao SSI médio. O SP apresentou um percentual de 14,59 % quando comparado ao SSI médio. Os dados que compõe a Figura 45 estão dispostos na Tabela 5 do Apêndice.

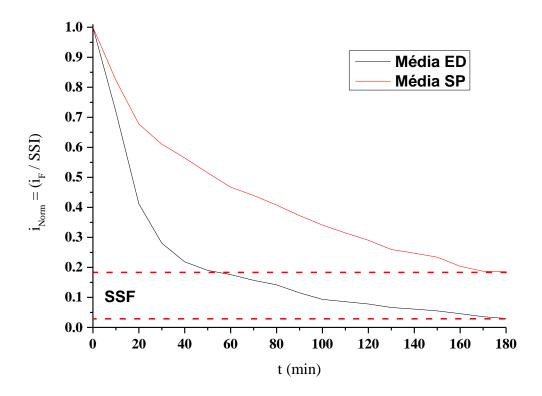
Figura 45 – Curvas da variação das i_F normalizadas pelo SSI em função do tempo de deposição de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito suporte LiClO₄ 0,1 M, considerando as médias entre os eletrodos de trabalho ED e SP e, 1440 min de avaliação.



Avaliando as médias de i_F normalizadas pelo SSI dos eletrodos de trabalho ED e SP, considerando um tempo de adsorção de MUA de 180 min (Figura 46), notamos que o SP não atingiu os valores percentuais de SSF observados com o uso dos eletrodos de trabalho STD e ED, com um percentual de 18,57 % em relação ao SSI médio.

De forma melhorada e em comparação, o de eletrodo de trabalho encapsulado ED apresentou um percentual de SSF de 2,98 % na diminuição da i_F normalizada pelo SSI médio, em 180 min de adsorção do MUA. Os dados que compõe a Figura 46 estão dispostos na Tabela 5 do Apêndice.

Figura 46 – Curvas da variação das i_F normalizadas pelo SSI em função do tempo de deposição de MUA 1 mM, em solução hidroalcoólica de FC 1 mM, com eletrólito suporte LiClO₄ 0,1 M, considerando as médias entre os eletrodos de trabalho ED e SP em 180 min de avaliação.



Dessa forma, fica evidenciado que o eletrodo de trabalho encapsulado composto pela LAM revestida de Au pelo método de ED com anodo de Au, apresenta melhores valores percentuais (acima de 95%) de SSF quando comparado ao SP.

4.3 ANÁLISE COMPORTAMENTAL DA ADSORÇÃO DE MUA NOS ELETRODOS DE TRABALHO STD, ED E SP

Nesta seção, são apresentados os resultados da diminuição de i_F em função do tempo proporcionados pela adsorção de MUA na superfície dos eletrodos de trabalho. São considerados os valores convertidos em teta (Equação 31), o comportamento de teta em função do tempo de 180 min, a aplicação do modelo de Langmuir (Equação 34) e a estimativa da área de revestimento de MUA (Equação 36) em relação à A_{Geo} teórica, considerando o comportamento de cada eletrodo de trabalho frente à aplicação do tiol. O comparativo geral

entre os eletrodos de trabalho com as conversões da i_F em revestimento de tiol, está na Tabela 3 do Apêndice.

4.3.1 Avaliação do tempo de revestimento provido pela adsorção de MUA comparando a agitação magnética da célula eletroquímica e sem agitação, através do modelo de Langmuir

Eventualmente, a passivação total da superfície do eletrodo de trabalho ocorrerá, mas sempre em longos tempos de aplicação de tiol. Para que haja economia no tempo, possivelmente considerando até 1440 min (24h), devemos propor que a melhoria dos sistemas aplicados esteja adequada em até 180 minutos e revestindo a superfície do eletrodo de trabalho com uma SAM correspondente à 95%, remetendo 5% para possíveis defeitos, diferentes intensidades de rugosidade etc.

Uma das melhorias já verificadas é a agitação magnética interna na célula eletroquímica, visando a aproximação da molécula de tiol para estimular a fisissorção da etapa 1 na adsorção de tióis. Mas em termos de área revestida, poderemos ter uma ideia do impacto que os estados CA e SA podem causar na adsorção do MUA.

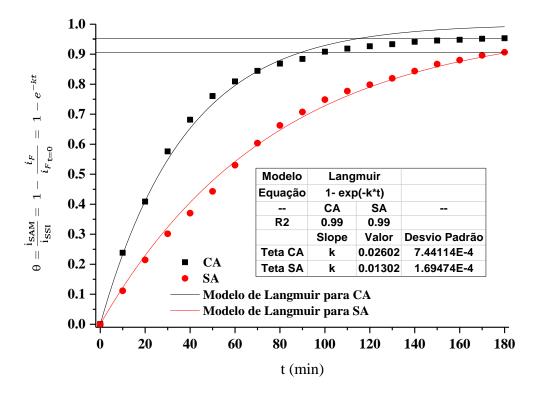
A Figura 47 apresenta esse impacto, onde são demonstradas as diferenças nas inclinações (k) das curvas de revestimento de MUA em função do tempo de aplicação, segundo o modelo de Langmuir (Equação 33 e 34). Quando os dados coletados são avaliados em 180 minutos, um patamar de teta (Θ) de 0,95 é atingido para o caso de CA, entretanto, o caso de SA apresentou apenas 0,90. As linhas horizontais contínuas marcam essas posições na Figura 47. Aplicando os dados experimentais no modelo de regressão não linear de Langmuir, verificamos a diferença na inclinação das curvas, onde o modo CA apresentou uma inclinação de 0,02647 \pm 7,44 x 10 $^{-4}$ Θ min $^{-1}$ com um r^2 de 0,99. O caso de SA apresentou uma inclinação menor quando comparado ao caso de CA, de 0,01302 \pm 1,69 x 10 $^{-4}$ Θ min $^{-1}$ com um r^2 de 0,99.

Aplicando a inclinação na Equação 36 e variando o tempo de aplicação do MUA, podemos estimar o tempo mínimo necessário para que se atinja 95% de revestimento de tiol na superfície do eletrodo.

No caso de CA e aplicando o valor de inclinação respectivo e provido pela regressão não linear de Langmuir (Equação 34), foi especulado que em tempos de 110 min é possível um revestimento sobre a área teórica de 0,02971 cm², com percentual de 95%.

De forma menos eficiente, no modo SA foi estimado que os tempos onde há total revestimento de MUA na área teórica está entre 180 e 1440 min, de acordo com a inclinação gerada e quando aplicada na Equação 36.

Figura 47 – Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais e o modelo de regressão não linear de Langmuir para os processos com agitação e sem agitação magnética na célula eletroquímica.



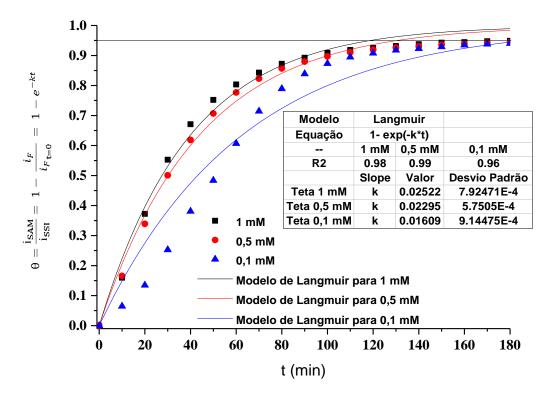
Fonte: o autor.

4.3.2 Avaliação do tempo de revestimento provido pela adsorção de MUA comparando a mudança de concentração do tiol, por meio do modelo de Langmuir

A variação da concentração do tiol usado é de extrema importância por causa dos custos agregados. É possível usar uma concentração menor, mas sempre levando em conta a eficiência em primeiro lugar. Como evidenciado na Figura 48, o tempo de adsorção do MUA é abalado quando é usada uma aplicação de concentração igual a 0,1 mM. Em ambos casos, é considerado a agitação magnética na célula eletroquímica. Dessa forma, foi especulado que para uma concentração igual a 0,1 mM de MUA, o tempo de aplicação estará entre 180 a 1440 min, com percentual de revestimento variando de 94 – 100 % nesse intervalo de tempo. É

notado que existe uma dificuldade em entregar a molécula nas proximidades da interface, mesmo que sob agitação magnética na célula eletroquímica.

Figura 48 – Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais e o modelo de regressão não linear de Langmuir para os processos com variação de concentração do tiol.



Fonte: o autor.

Nos casos de variações de concentração que compreendem o *range* de 0,5 – 1,0 mM, as especulações de tempo de aplicação são similares. Aplicando uma concentração de MUA de 0,5 mM é necessário um tempo mínimo de 130 minutos para que 95% da A_{Geo} teórica seja revestida com o tiol. Na aplicação de 1,0 mM são necessários tempos especulados que circundam 120 min para um revestimento de tiol que passive 95 % da A_{Geo} teórica. Ambos casos também consideram a aplicação de agitação magnética na célula eletroquímica.

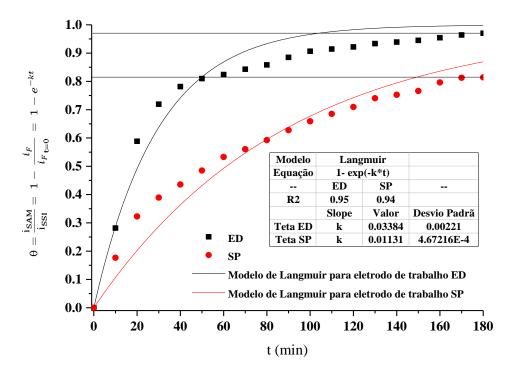
4.3.3 Avaliação do tempo de revestimento provido pela adsorção de MUA comparando os eletrodos de trabalho ED e SP, por meio do modelo de Langmuir

A capacidade de revestir um eletrodo com uma SAM é de extrema importância, mas nem sempre possível, visto que as superfícies de Au nem sempre possuem baixa rugosidade em

nível micrométrico e nanométrico. Também é difícil revestir uma superfície com Au tendo uma boa dispersão de grãos de forma simétrica entre picos e vales e com um perfil platicúrtico. Entretanto, é possível propor métodos diferentes de revestimento de que possam melhorar a eficiência na adsorção de tióis.

A Figura 49 apresenta as diferenças que são encontradas em diferentes tipos de revestimentos de Au aplicados por diferentes métodos. O impacto da rugosidade, da assimetria dos picos e vales e da kurtosis já indicava que o eletrodo de trabalho encapsulado com LAM e com revestimento de Au pelo método SP teria menor eficiência na adsorção de um composto tiol, com dados de rugosidade corroborados pelos ensaios de hidrofobicidade dos revestimentos. A inclinação da curva correspondente à regressão não linear do modelo de Langmuir dos dados experimentais do eletrodo de trabalho ED, apresentou um valor de 0,03384 ± 2,2 x 10⁻⁴ Omin⁻¹, que quando convertido (Equação 36) demonstra um valor de 95% (0,02993 cm²) da A_{Geo} teórica com revestimento de MUA, para o tempo de 90 min.De forma menos eficiente, a inclinação correspondente ao eletrodo de trabalho SP, apresentou um valor de 0,01302 ± 5 x 10⁻⁴ Omin⁻¹, correspondendo à valores percentuais de revestimento de MUA que variam de 87 a 100 % nos tempos de 180 a 1440 min.

Figura 49 – Curvas de adsorção de MUA com uso de eletrodos de trabalho encapsulados ED e SP, contemplando os dados experimentais e o modelo de regressão não linear de Langmuir.



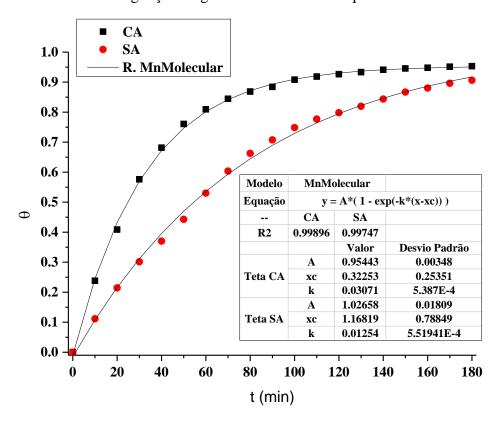
Fonte: o autor.

Como evidenciado, no tempo de aplicação de até 3 h, somente o eletrodo de trabalho ED obteve resultados satisfatórios, visto que a adsorção caótica do MUA e considerando 95% da A_{Geo} foi revestida pela SAM em 90 min. Entretanto, o modelo proposto por Langmuir e revisto por Henderson *et al.* (2009), não apresenta correlação ideal para as curvas demonstradas e sobrepondo os pontos das curvas de adsorção, mesmo com bons valores de coeficiente de regressão não linear.

4.3.4 Modelos correspondentes nas avaliações de adsorção de MUA

Para corrigir os desvios encontrados nas regressões não lineares das curvas de adsorção de MUA, foi proposto usar outros tipos de modelos fornecidos pelo software Origin9, dessa forma, garantindo maior relação entre os dados e as regressões, não somente em coeficiente de regressão não linear. A Figura 50 demonstra o primeiro caso, onde são correlacionados os dados entre os modos CA e SA da adsorção de MUA com o eletrodo de trabalho STD.

Figura 50 – Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais e o modelo de regressão não linear MnMolecular para os processos com agitação e sem agitação magnética na célula eletroquímica.



Fonte: o autor.

Ambas regressões não lineares MnMolecular apresentaram coeficiente de regressão igual a 0,99 e uma correspondência ideal entre dados brutos e correlacionados, quando considerado os modos CA e SA. Com as variáveis de cada regressão não linear foi possível estimar o revestimento das SAM e a área revestida, como demonstrado na Tabela 10 para os casos de CA e SA.

Tabela 10 – Dados estimados para a adsorção de MUA com uso do eletrodo de trabalho STD, considerando a regressão não linear MnMolecular e os modos CA e FA para o revestimento de SAM e a A_{Rev}.

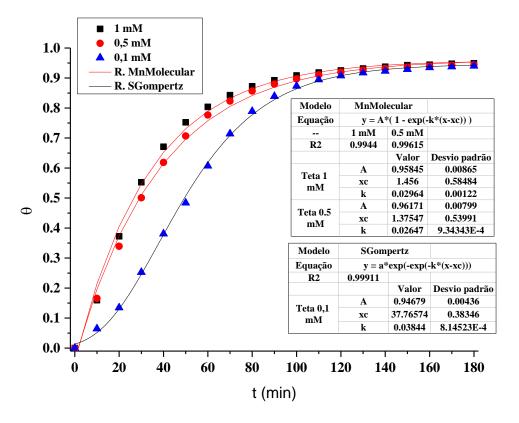
	•	•	$ m A_{Rev} \ (cm^2)$		
t (min)	CA	SA	CA	SA	
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140	0,25 0,43 0,57 0,67 0,75 0,80 0,84 0,87 0,89 0,91 0,92 0,93 0,94	0,11 0,22 0,31 0,40 0,47 0,54 0,59 0,64 0,69 0,73 0,76 0,80 0,82 0,85	0,00771 0,01360 0,01793 0,02112 0,02347 0,02519 0,02646 0,02739 0,02808 0,02858 0,02896 0,02923 0,02943 0,02943	0,00338 0,00678 0,00979 0,01243 0,01477 0,01683 0,01865 0,02025 0,02167 0,02291 0,02402 0,02499 0,02584 0,02660	
150 160 170 180	0,94 0,95 0,95 0,95 0,95	0,87 0,89 0,90 0,92	0,02969 0,02977 0,02982 0,02987	0,02727 0,02785 0,02837 0,02883	

Fonte: o autor.

A estimativa do modo CA e tempo de 160 min atinge o valor de 0,95, sugerindo que 95% da área geométrica teórica do eletrodo foi revestida pelo MUA. A estimativa do modo SA revelou que sem agitação não é possível atingir 95% da A_{Geo} teórica com revestimento de MUA, reforçando a ideia de que é necessária a agitação interna na célula eletroquímica.

Reduzindo a concentração de MUA na solução hidroalcoólica de aplicação das SAM e em modo CA, foi visto que as curvas entre 1 mM e 0,5 mM possuem características similares quando os dados brutos são aplicados na regressão não linear MnMolecular. Entretanto, com a redução da concentração de MUA para 0,1 mM, houve mudanças nas características de adsorção, como demonstrado na Figura 51.

Figura 51 – Curvas de adsorção de MUA sobre o STD, contemplando os dados experimentais e os modelos de regressão não linear MnMolecular (1 mM e 0,5 mM) e SGomperts (0,1 mM).



Fonte: o autor

O formato da curva muda de exponencial para sigmoidal quando uma concentração baixa é aplicada na solução de hidroalcoólica de tióis, mostrando que há dificuldade difundir as moléculas de tiol para a interface do eletrodo de trabalho, até a primeira hora de aplicação e com o modo CA.

Com a aplicação do modelo sigmoidal SGompertz, foi possível estimar o percentual de revestimento de SAM e a A_{Rev} em relação à A_{Geo} teórica do eletrodo de trabalho STD quando usada baixas concentrações de MUA, como a de 0,1 mM. A Tabela 11 apresenta os dados estimados para cada caso de diminuição de concentração de MUA.

Tabela 11 – Dados estimados para a adsorção de MUA com uso do eletrodo de trabalho STD, considerando a regressão não linear MnMolecular (1 mM e 0,5 mM) e SGompertz (0,1 mM) e apresentando os dados de revestimento de SAM e a A_{Rev}.

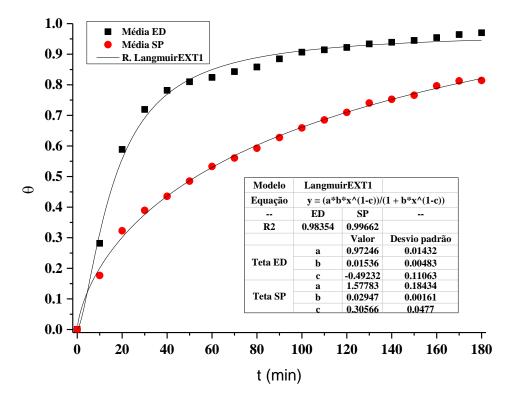
	θ			$ m A_{Rev} \ (cm^2)$		
t (min)	l mM	0.5 mM	0.1 mM	1 mM	0.5 mM	0.1 mM
10	0,21	0,20	0,05	0,00674	0,00617	0,00162
20	0,41	0,37	0,13	0,01273	0,01176	0,00411
30	0,55	0,51	0,25	0,01719	0,01605	0,00773
40	0,65	0,62	0,38	0,02051	0,01935	0,01188
50	0,73	0,70	0,51	0,02297	0,02187	0,01593
60	0,79	0,76	0,62	0,02480	0,02381	0,01944
70	0,83	0,81	0,71	0,02617	0,02530	0,02227
80	0,87	0,84	0,78	0,02718	0,02645	0,02442
90	0,89	0,87	0,83	0,02793	0,02732	0,02601
100	0,91	0,89	0,86	0,02849	0,02800	0,02715
110	0,92	0,91	0,89	0,02891	0,02851	0,02795
120	0,93	0,92	0,91	0,02922	0,02891	0,02851
130	0,94	0,93	0,92	0,02945	0,02921	0,02890
140	0,94	0,94	0,93	0,02962	0,02945	0,02917
150	0,95	0,94	0,93	0,02975	0,02963	0,02935
160	0,95	0,95	0,94	0,02984	0,02976	0,02948
170	0,95	0,95	0,94	0,02991	0,02987	0,02956
180	0,95	0,95	0,94	0,02996	0,02995	0,02962

Em baixas concentrações não foi possível revestir com MUA os 95% da superfície do eletrodo de trabalho STD em até 3h de aplicação de solução hidroalcoólica de tiol e em modo CA. A ausência de moléculas para a grande quantidade de solução hidroalcoólica dificultou difusão de tiol em relação à interface do eletrodo de trabalho STD, sugerindo que é necessário maiores tempos de aplicação para a formação da SAM. Nas concentrações de 1 mM e 0,5 mM, as curvas se mantiveram exponenciais e com bom rendimento de revestimento, atingindo 95% da A_{Geo} teórica em 150 min para a concentração de 1 mM e 160 min para a concentração de 0,5 mM, de acordo com as estimativas.

Na aplicação de MUA e com uso dos eletrodos de trabalho encapsulados com LAM revestida com Au por ED e SP, foi encontrado resultados que corresponderam a diferentes

características de adsorção, com maior relação para o tipo: isotermas de adsorção de Langmuir. O modelo de regressão não linear que obteve maior correspondência entre os dados brutos e as regressões foi o modelo LangmuirEXT1, onde para ED apresentou-se um valor de coeficiente de regressão igual a 0,98 e para SP igual a 0,99, como demonstrado na Figura 52.

Figura 52 – Curvas de adsorção de MUA sobre os eletrodos de trabalho encapsulados ED e SP, contemplando os dados experimentais e o modelo de regressão não linear LangmuirEXT1.



Fonte: o autor

Para este caso, foi evidenciado que o modelo se adequa em relação aos dados brutos, correspondendo de forma ideal. Com os dados dos coeficientes foi possível estimar os tempos de revestimentos de MUA para os respectivos tempos de adsorção, onde foi evidenciado que é necessário 3h para uma adsorção de até 95% de A_{Geo} teórica do eletrodo de trabalho encapsulado ED, como evidenciado na Tabela 12.

Tabela 12 – Dados estimados para a adsorção de MUA com uso dos eletrodos de trabalho encapsulados ED e SP, considerando a regressão não linear LangmuirEXT1e apresentando os dados de revestimento de SAM e a ARev.

ED 0,31 0,56	SP 0,20	ED 0,00987	SP
0,56		0 00987	
0,69 0,77 0,82 0,85	0,30 0,38 0,44 0,49 0,53	0,01751 0,02172 0,02416 0,02568 0,02670	0,00631 0,00947 0,01181 0,01370 0,01529 0,01666
0,89 0,90 0,91 0,92 0,92 0,93 0,93 0,94 0,94 0,94	0,60 0,63 0,66 0,69 0,71 0,73 0,75 0,77 0,79 0,81	0,02793 0,02832 0,02862 0,02887 0,02906 0,02922 0,02936 0,02947 0,02957 0,02965	0,01786 0,01893 0,01990 0,02078 0,02158 0,02232 0,02300 0,02364 0,02423 0,02479 0,02531 0,02580
	0,77 0,82 0,85 0,87 0,89 0,90 0,91 0,92 0,92 0,93 0,93 0,94 0,94	0,77 0,44 0,82 0,49 0,85 0,53 0,87 0,57 0,89 0,60 0,90 0,63 0,91 0,66 0,92 0,69 0,92 0,71 0,93 0,73 0,93 0,75 0,94 0,79 0,94 0,81	0,77 0,44 0,02416 0,82 0,49 0,02568 0,85 0,53 0,02670 0,87 0,57 0,02741 0,89 0,60 0,02793 0,90 0,63 0,02832 0,91 0,66 0,02862 0,92 0,69 0,02887 0,92 0,71 0,02906 0,93 0,73 0,02922 0,93 0,75 0,02936 0,94 0,77 0,02947 0,94 0,79 0,02957 0,94 0,81 0,02965

O eletrodo de trabalho encapsulado SP, de forma diferente ao ED, não apresentou resultados satisfatórios quando considerado o tempo de 3h de aplicação de MUA, sugerindo que este tipo de revestimento de Au provido por *sputtering* pode comprometer o desenvolvimento das camadas auto-organizadas quando há necessidade de produção de eletrodos de trabalho, ou outros tipos, em tempos menores.

5 CONCLUSÃO

No Capítulo III, foram evidenciadas as funcionalidades dos eletrodos de trabalho de Au, as diminuições das correntes faradaicas em função das aplicações de MUA e os comportamentos específicos para cada eletrodo de trabalho, quando considerado o tiol de cadeia longa como revestimento passivante. O STD apresentou uma ic média de 114 ± 34 pA, quando medido na velocidade específica de 50 mVs⁻¹. Relacionando a variação das velocidades de varredura com as i_C, o STD apresentou uma A_{Act} 2,21 vezes maior do que a A_{Geo} teórica. Os valores adquiridos de i_F apresentaram uma defasagem de 10,5% quando comparado ao valor teórico. Os pontos de potencial *peak-to-peak* marcaram 67 mV de diferença, atestando a ótima qualidade do STD, quando comparado ao valor teórico. As i_F adquiridas quando variado a velocidade de varredura apresentaram caráter linear, atestando a Equação 27. A variação de i_F em relação à diluição da concentração do eletrólito de oxirredução também apresentou caráter linear, atestando a Equação 27, com valores de *peak-to-peak* de 68 mV. As i_N se mantiveram em níveis de pA.

Foi possível montar eletrodos encapsulados com a LAM revestida de Au por dois métodos de deposição distintos. Os resultados de i_C ficaram próximos ao teórico para ambos tipos de eletrodos de trabalho ED e SP, sendo que as i_N dos experimentos se mantiveram em níveis de pA. O eletrodo de trabalho ED apresentou maior A_{Act} e maior i_F quando comparado com o SP, mas ambos apresentaram linearidade nas i_F quando variado a velocidade de varredura, mostrando que estavam funcionais para a avaliação da adsorção dos tióis.

Usando o eletrodo de trabalho STD, foi verificado que a agitação magnética interna na célula eletroquímica sem criação de vórtex, é essencial para aproximar as moléculas na interface no que compreende a etapa da fisissorção. O tempo de deposição de MUA com agitação magnética operante, compreendeu o tempo mínimo de 150 min. Para o modo sem agitação, o tempo compreendeu valores maiores do que 180 min, comprovando a necessidade de facilitar a fisissorção na aplicação dos tióis em até 3 h para a formação da camada auto-organizada caótica, após a agitação pode ser desligada para a formação da SAM compacta. Concentrações de MUA abaixo de 1 mM podem ser usadas, entretanto, na concentração de 0,1 mM notou-se deficiência na adsorção em até 180 min de avaliação. Os tióis CYS, CYSTE e MPA não passivaram a interface do STD a ponto de interromper a passagem da i_F, dessa forma, mesmo criando uma SAM não é possível medir a adsorção de tióis de cadeia curta.

O eletrodo de trabalho ED mostrou adsorção de MUA, com diminuição da i_F em percentual igual a 2,98% em relação ao SSI médio, no tempo de 180 min. O SP não atingiu níveis satisfatórios de diminuição de i_F, com percentual de 18,57% em relação ao SSI médio, para o mesmo tempo de avaliação.

Usando o parâmetro Θ na interpretação do MUA como um revestimento passivante e usando o STD para averiguar o impacto da agitação magnética na fisissorção dos tióis, o caso de CA demonstrou que 95% da interface do eletrodo é passivada, com uma taxa de 0,02647 \pm 7,44 x 10^{-4} Θ min⁻¹. O caso de SA atingiu apenas 90%, com taxa de 0,01302 \pm 1,69 x 10^{-4} Θ min⁻¹, ambos casos com avaliação em até 180 min.

Quando a concentração de MUA foi reduzida na aplicação no STD e com agitação, foi averiguado que houve impacto significante em 0,1 mM, com taxa de 0,01609 \pm 9,14 x 10⁻⁵ Θ min⁻¹, com tempo de aplicação maior que 180 min para revestir 95%. As concentrações de MUA correspondentes à 1 mM e 0,5 mM apresentaram taxas de 0,02522 \pm 7,92 x 10⁻⁴ Θ min⁻¹ (95% a 120 min) e 0,2295 \pm 5,75 x 10⁻⁴ Θ min⁻¹ (95% a 130 min), respectivamente.

Avaliando a adsorção de MUA com agitação e usando os eletrodos de trabalho ED e SP, foi constatado que o ED possui taxa de $0.03384 \pm 2.2 \times 10^{-3} \, \Theta \text{min}^{-1}$, que corresponde a 95% de revestimento em até 90 min. O SP apresentou taxa de $0.01302 \pm 5 \times 10^{-4} \, \Theta \text{min}^{-1}$, que corresponde a 87% de revestimento em até 180 min. Dessa forma, o ED obteve resultados satisfatórios de funcionalidade e aplicabilidade quando comparado ao STD, nas mesmas condições experimentais.

CAPÍTULO IV – NANOELETRODOS: A PROMESSA DE MAIOR SENSIBILIDADE A NOSSO ALCANCE

1 INTRODUÇÃO

Quando avaliamos as possibilidades de aumentar a sensibilidade de resposta nos eletrodos de trabalho, ficamos presos aos limites físicos e químicos de nosso sistema eletroquímico. Desejamos usar menores quantidades de reagentes químicos por efeito de custo, menores áreas de materiais que compõe os eletrodos porque são revestidos de Au e dos efeitos relacionados com o sinal obtido na varredura dos potenciais no método eletroquímico da voltametria cíclica.

Se desejarmos obter menores valores de i_F mas mantendo a qualidade no sinal, em nA ou pA por exemplo, há necessidade de reduzir valores de um dos parâmetros que compõe a Equação 27. Reduzir a velocidade de varredura é a resposta direta, mas isso implica em diminuir a intensidade do sinal, além de aumentar o tempo de análise. Em caso de longo *range* de varredura de potenciais, como o usado no FC (0-0.8 V), o tempo é demasiadamente grande se usarmos 10 mVs^{-1} ou até 1 mVs^{-1} para este parâmetro.

Outra forma de diminuir a i_F mas mantendo a qualidade no sinal é reduzir a A_{Geo} do eletrodo, onde pequenas variações podem ser detectadas e mantendo uma velocidade de varredura alta, ou em valores intermediários (50 mVs⁻¹), quando comparada ao limite mínimo permitido pelo potenciostato (1 mVs⁻¹) e a convecção natural que passa a ter participação nesse caso.

Com uma A_{Geo} menor, menos moléculas serão captadas e assim será proporcionado um aumento de sensibilidade de captação, se a resposta puder ser coletada devidamente. Detectando menores quantidades de bactérias e podendo captar uma variação adequada de medida de sinal, o processo de biosensoriamento pode operar em regime de antecipação, onde a presença de pequenas quantidades de patógenos no analito indicam o possível tratamento, antes da infecção. Entretanto, reduzindo a A_{Geo}, haverá consequências, como a diminuição do sinal.

De acordo com Brownson e Banks (2014), nos eletrodos de tamanho macrométrico, a eletrólise de O ou R ocorrem em toda a superfície do eletrodo, e o processo de difusão de O para o eletrodo de trabalho ou de R para a região *bulk* são denominadas como planar semi-infinita. A resposta voltamétrica da corrente (sinal) dá origem a picos assimétricos e característico do controle por difusão, como mostrado na Figura 53a. Na região onde o material metálico encontra o polímero isolante (*Edge*) que define a área do eletrodo de trabalho, a difusão é efetivamente ponto a ponto (Figura 53b). O fluxo (J_i) e a taxa de transporte de massa são maiores na borda do eletrodo, dessa forma, a difusão se torna convergente (efeito de borda).

Esse efeito é desprezível no caso de eletrodos de dimensões macroscópicas. Mudando a A_{Geo} de macro para micro (diâmetros menores que 1 mm), ou até em tamanhos menores como os nanoeletrodos de trabalho, o efeito de borda, i.e., a difusão convergente se torna significativa. Neste caso, o voltamograma cíclico perde a forma de pico faradaico e apresenta uma forma sigmoidal. Por outro lado, o efeito de borda que promove a difusão convergente (radial) traz o benefício de aumento do transporte de massa, de modo que a densidade i_F é maior do que a de um macroeletrodo.

a)

Polimero
de
Revestimento

b)

I (A)

E (V)

F (V)

F (V)

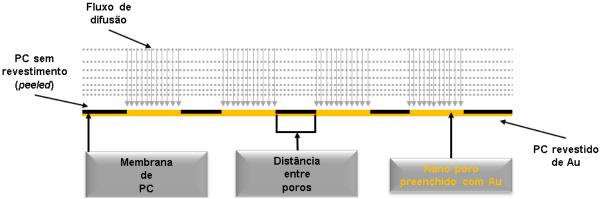
Figura 53 – Linhas de fluxo de massa e voltamogramas cíclicos para os casos macro (a) e micro (b) eletrodos.

Fonte: Adaptado de Brownson e Banks (2014).

A estratégia aplicada pelos pesquisadores da *Università Ca' Foscari di Venezia – Italy*, mostrou funcionalidade na redução da A_{Geo} dos eletrodos e sem perder as características do voltamograma cíclico exemplificado na Figura 53a. A estratégia consiste em encapsular em fitas adesivas e com contato elétrico, uma membrana porosa de policarbonato (PC) com os poros preenchidos de Au, sendo que o lado da membrana oferecido para o operacional é desrevestido (*peeled*) e os poros preenchidos ficam expostos juntamente com o PC. Dependendo da distância entre os poros, é possível que as camadas de difusão se sobreponham (*total overlap*) globalmente na A_{Geo} do eletrodo de forma planar e semi-infinita, e não de forma radial como exemplificado no caso de um único nanoeletrodo (Figura 53b). Para isso há

necessidade de um diâmetro de poro específico, de escala nanométrica e uma distância específica entre os poros, como mostrado na Figura 54.

Figura 54 – Esquema mostrando os poros preenchidos de Au, que formam os nanoeletrodos em membrana de policarbonato.



Fonte: o autor.

É possível verificar a funcionalidade da construção deste tipo de eletrodo usando a Equação 28, e com possível redução de i_C, a captação do sinal é mantida. Se o eletrodo, composto de uma membrana de PC e com os poros revestidos de Au operando em conjunto (NEE, *nanoelectrodes ensembles*), apresentar picos faradaicos com características similares ao eletrodo de trabalho STD e menor i_C, haverá melhoria no sinal captado, o que melhoraria a sensibilidade de captação, como demonstrado por Moretto *et al.* (2004) e De Leo *et al.* (2007).

Exemplos do uso dos NEE já foram apresentados pelos pesquisadores da *Università Ca' Foscari – Italy*, onde a aplicação se estende desde a área alimentícia até a área de preservação da arte.

Silvestrini *et al.* (2015) apresentam o uso dos NEE funcionalizado com SAM para a análise de proteínas, usando a voltametria cíclica como método de análise.

Gaetani *et al.* (2017) apresentam o mesmo tipo de NEE para a produção de um imunossensor eletroquímico, onde visa-se a detecção da imunoglobulina Y em alimentos e suplementos alimentares.

A vantagem de usar este tipo de nanoeletrodo de trabalho é o aumento da sensibilidade na captação do sinal, quando comparados aos tipos de eletrodos já conhecidos como o STD e o ED.

2 OBJETIVOS

O objetivo neste capítulo é avaliar os NEE produzidos no laboratório de sensores eletroquímicos da *Università Ca' Foscari*, com intuito de conhecer o comportamento voltamétrico desse tipo de eletrodo e compará-lo com o eletrodo STD, de superfície com dimensões macroscópicas.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o perfil dos voltamogramas cíclicos, comparando os NEE com o STD;
- Avaliar os problemas relacionados com a área geométrica e seus impactos na i_F;
- Relacionar as i_C com a A_{Act} dos NEE e comparar com o STD.

3 MATERIAIS E METODOS

3.1 REAGENTES, SOLUÇÕES E MATERIAIS

Os reagentes usados nesse capítulo foram: ferrocene(Dimethylaminomethil) (CAS 1271-86-9, Sigma Aldrich/Merck), nitrato de potássio (KNO₃, CAS 7757-79-1, Sigma Aldrich/Merck), iodometano (CH₃I, CAS 74-88-4, Sigma Aldrich/Merck), hexafluorofosfato de prata (AgPF₆, CAS 26042-63-7, Sigma Aldrich/Merck), sulfito de sódio (Na₂SO₃, CAS 7757-83-7, Sigma Aldrich/Merck), solução de sulfito de sódio e ouro 7 % pH 8,5 – 10 (Na₃[Au(SO₃)₂], CAS 19153-98-1, *Colonial Metals Inc – Manchester - UK*), ácido trifluorocético (CF3COOH, CAS 76-05-1, Sigma Aldrich/Merck), cloreto de estanho (SnCl₂, CAS 7772-98-8, Sigma Aldrich/Merck), metanol (CH₃OH, CAS 67-56-1, Sigma Aldrich/Merck), nitrato de prata (AgNO₃, CAS 7761-88-8, Sigma Aldrich/Merck), solução de hidróxido de amônio 30% (NH₄OH, CAS 1336-21-6, Sigma Aldrich/Merck) e água destilada *in loco*.

Os materiais usados para a construção dos eletrodos de trabalho foram: fita adesiva de encapsulamento *Scotch Film/Fiber Tape 720* da marca 3M, fita adesiva de cobre (Cu) para contato elétrico *Foil Tape 3313* da marca 3M, membranas nanoporosas de policarbonato SPI (diâmetro de 47 mm, diâmetro de poros de 30 nm).

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

O banho termostático usado na produção dos NEE é de marca HAAKE modelo K20, e operou a 0°C e com fluído anticongelante.

O potenciostato e o *software* usados nos experimentos voltamétricos é da marca *CH Instruments*, modelo CHI660b. Foram usados uma célula eletroquímica convencional e o conjunto de 3 eletrodos, ambos alocados em gaiola de Faraday de Al, como mostrado na Figura 55.

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos NEE foi executada no microscópio modelo TM3000 da marca *HITACHI*.



Figura 55 – Instrumentação usada para a avaliação dos NEE, com uso de membrana de PC com nano poros preenchidos de Au, na *Università Ca'Foscari di Venezia – Italy*.

Fonte: o autor.

3.3 METODO

A caracterização eletroquímica dos NEE foi feita por meio da voltametria cíclica do cátion ferrocenylmetyltrimethylammonium (FA⁺). Esse cátion é utilizado como mediador de oxirredução em muitos sensores por ter um comportamento voltamétrico conhecido e foi sintetizado através da conversão do ferrocene(Dimethylaminomethil) com iodometano, usando AgPF₆ (MORETTO *et al.*, 2004).

O FA⁺ (D = 4,6 x 10⁻⁶ cm²s⁻¹) apresenta um potencial padrão de 0,44 V *versus* Ag/AgCl em KCl saturado, com cinética reversível e rápida. O range de potenciais empregado foi de 0,1 a 0,8 V e velocidade de varredura de 50 mVs⁻¹. O eletrólito suporte usado foi KNO₃ (0,05 M).

A determinação da A_{Act} do eletrodo foi feita por meio da medida da i_C ao variar a velocidade de varredura (Equação 28), em procedimento análogo ao apresentado no Capítulo III, considerando a C_{DL} (30 μF cm⁻²) do Au (DE LEO *et al.*, 2007).

O método de montagem dos NEE segue em conformidade com a seção 3.3.1 do Capítulo 3. A produção da membrana de PC segue o protocolo proposto por Menon e Martin (1995) e aprimorado por De Leo *et al.* (2007).

Os NEE de referência "A" foram produzidos pelo autor, o de referência "NK" foram produzidos pela Dr^a Najmeh Karimiam e o eletrodo de trabalho de Au de referência STD é o padrão usado para comparativo de mesma referência ao STD usado no Capítulo III.

Todos os experimentos e caracterizações envolvendo os NEE foram procedidos nas dependências do laboratório de eletroquímica do Departamento de Ciências Moleculares e Nano Sistemas da *Università Ca'Foscari di Venezia – Italy*.

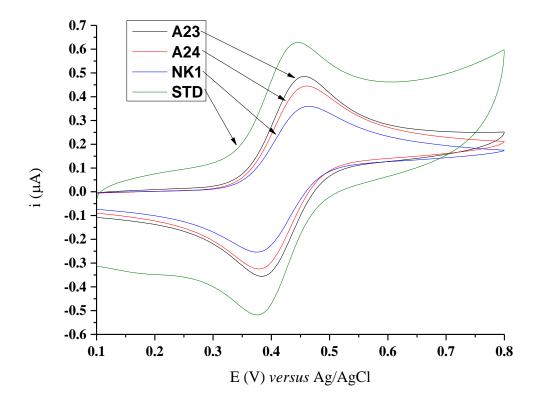
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção, serão apresentados os resultados encontrados com o uso dos NEE, fabricados e testados na *Università Ca'Foscari di Venezia*, de acordo com o método de preparo do laboratório de sensores eletroquímicos do Departamento de Ciências Moleculares e Nano Sistemas. O comparativo geral entre os NEE está na Tabela 4 do Apêndice.

4.1 OS NANOELETRODOS

Após a fabricação da membrana de PC e o encapsulamento em fitas adesivas, os NEE foram testados para a verificação do seu comportamento voltamétrico e avaliação da funcionalidade, como evidenciado na Figura 53.

Figura 56 – Comparativo entre os voltamogramas cíclicos registrados com os NEE e o eletrodo STD, com uso do cátion FA⁺ (0,125 mM) em eletrólito suporte KNO₃ (0,05 M).



Fonte: o autor.

De forma geral, os voltamogramas cíclicos dos NEE apresentaram perfis de picos faradaicos que correspondem ao caso de operação em total sobreposição e não operando como um microeletrodo de trabalho, com perfil sigmoidal de voltamograma cíclico.

Nota-se que os NEE apresentaram similaridade nos picos faradaicos, catódicos e anódicos quando comparados com o STD, indicando que não houve perda de sinal, visto que, a área do furo feito na fita adesiva dos NEE é de 2mm de diâmetro, ou seja, mesmo diâmetro que é usado no STD.

Comparando os voltamogramas registrados entre os NEE, há uma disparidade entre os picos, o que sugere que há pequenas variações de A_{Geo} , entretanto, há uma diferença relevante na i $_{C}$ quando comparado com o STD.

Uma das dificuldades encontradas na produção dos NEE é executar uma furação na fita de maneira proporcional ao diâmetro de furo escolhido e manter o padrão na fabricação, sendo que se há variação nesta área, os picos faradaicos sofrerão variações.

Como os NEE são produzidos de forma laboratorial (artesanal), há necessidade de desenvolvimento de um filme adesivo padronizado onde todos os furos possuam o diâmetro igual. A Figura 57 apresenta as micrografias MEV, onde na magnificação de 50x se observam as diferenças entre as A_{Geo} em consequência da variação da furação.

Outra dificuldade encontrada é a variação da densidade de poros na mesma membrana. As pequenas partes de membrana de PC que são encapsuladas para a produção dos NEE, são recortadas em dimensão a qual se permite a exposição desta no furo de 2 mm e ainda sobre um espaço para acoplar o contato elétrico de Cu.

Na Figura 57, na magnificação de 20000x, nota-se que há uma diferença na quantidade de poros quando comparados os NEE de referência "A" e "NK". A quantidade de poros preenchidos de Au pode impactar na padronização dos eletrodos de trabalho.

É evidenciado nas altas magnificações apresentadas na Figura 57, que nem todos os poros preenchidos de Au possuem inclinação de 90° em relação ao feixe de elétrons que produz as imagens da microscopia, mostrando um efeito ilusório nos poros e que lembram cometas. Esses poros podem não estar em contato com a base dourada da membrana e possivelmente causar defasagem de sinal do NEE, caso ocorra de forma generalizada. Também em altas magnificações é possível verificar que a distância entre poros apresenta espaçamento que varia de 350 a 500 nm.

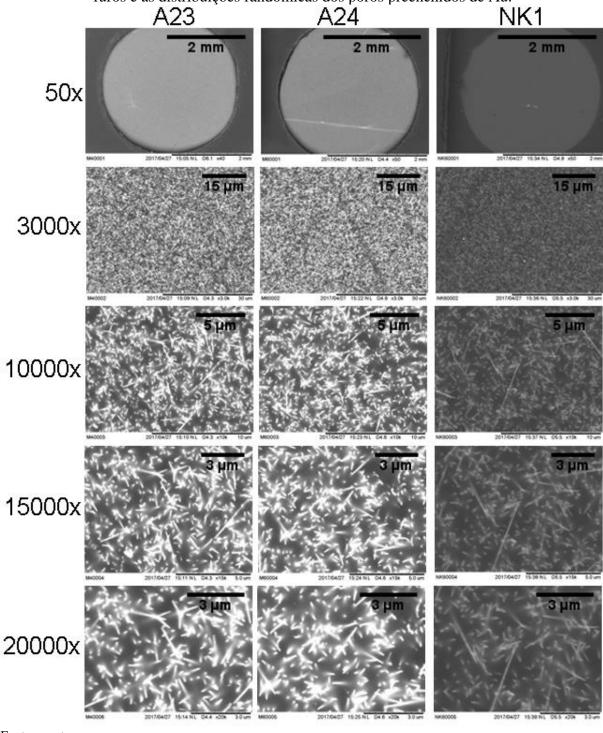
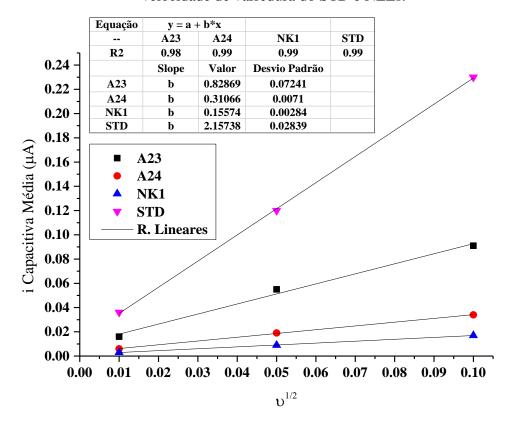


Figura 57 – Microscopias MEV dos NEEs onde são apresentadas as variações da área dos furos e as distribuições randômicas dos poros preenchidos de Au.

Variando a velocidade varredura, foi possível verificar as i_C respectivas e usar a inclinação da reta da regressão linear para verificar a A_{Act} dos NEE, como apresentado na Figura 58. A regressão linear dos dados de variação de velocidade de varredura versus i_C do NEE de referência A23 apresentou, um valor de b de $0.828 \pm 0.0724 \,\mu\text{AV}^{-1}$, r^2 igual 0.984, e com A_{Act}

estimada de $0,02702~cm^2$. A regressão linear dos dados de variação de velocidade de varredura versus i $_{\rm C}$ do NEE de referência A24 apresentou um valor de b igual a $0,3106\pm0,0071~\mu{\rm AsV^{-1}},$ r 2 igual a 0,998, e com $A_{\rm Act}$ estimada de $0,01021~cm^2$. Para o NEE de referência NK1, o valor de foi igual a $0,1557\pm0,0028~\mu{\rm AsV^{-1}},$ r 2 foi igual a 0,999, e com $A_{\rm Act}$ estimada de $0,0052~cm^2$. Para o eletrodo de trabalho STD, a inclinação da reta foi igual a $2,1573\pm0,0283~\mu{\rm AsV^{-1}},$ r 2 igual a 0,999, convergindo para uma $A_{\rm Act}$ estimada de $0,0722~cm^2$. Em consideração à $A_{\rm Geo}$ teórica de $0,03142~cm^2$ para um eletrodo de 2 mm de diâmetro ou um furo de mesmo diâmetro, a relação entra a $A_{\rm Act}$ e a $A_{\rm Geo}$ teórica demonstra uma razão de 2,3 para o STD, 0,88 para o A23, 0,32 para o A24 e 0,17 para o NK1. Essa relação indica que houve redução na i $_{\rm C}$ e sem perda do sinal captado.

Figura 58 – Regressões lineares das variações das i_C médias (i) em função da variação da velocidade de varredura do STD e NEEs.



Fonte: o autor.

A Figura 59 apresenta um dos tipos de construção de NEE usado nos experimentos que proveram os dados de i_F e i_C para verificação do efeito de borda que pode mudar as características dos voltamogramas cíclicos e as medições da A_{Act}, respectivamente.

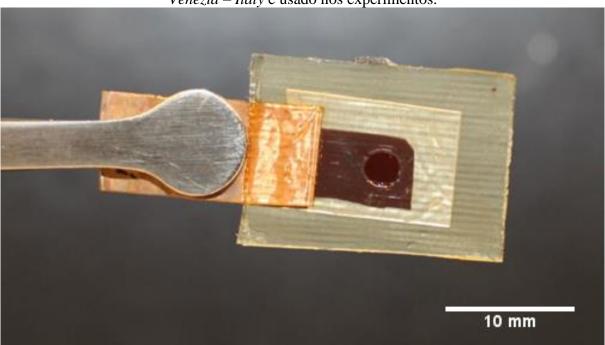


Figura 59 – NEE produzido nas dependências laboratoriais da *Università Ca' Foscari di Venezia – Italy* e usado nos experimentos.

Como evidenciado, é possível inibir o efeito de borda que muda os picos de i_F nos voltamogramas cíclicos, mantendo o eletrodo operando no regime difusional adequado, sem perder as características de sinal captado e com melhoria de redução da i_C .

5 CONCLUSÃO

No Capítulo IV, foi usada a estratégia de construção dos nanoeletrodos de Au. Os NEE apresentaram semelhante característica de picos faradaicos quando comparados com o STD, indicando que não houve perda de sinal. A A_{Act} dos NEE mostrou-se menor do que a do STD, indicando que as i_C foram reduzidas nesse método de construção, onde é possível melhorar a captação do sinal devido à redução da corrente capacitiva.

CONCLUSAO FINAL

Portanto, conclui-se que o trabalho desenvolvido com a abordagem da adsorção de tióis monitorados pelo método eletroquímico de voltametria cíclica, apresentou as dificuldades e melhorias que podem ser aplicadas na construção dos eletrodos de trabalho e dos parâmetros ideais de aplicação.

Foi evidenciado que a liga amorfa magnetoelástica revestida de ouro por eletrodeposição apresentou melhor performance nos testes de delaminação, espessura e rugosidade, quando comparado ao método de magnetron sputtering, mostrando a viabilidade do método de deposição de ouro e aplicação para a construção inicial de biossensores e bioeletrodos. Foi demonstrado que o método eletroquímico da voltametria cíclica pode ser usado para a avaliação da adsorção de tióis, onde foi evidenciada a necessidade do uso da agitação magnética na célula eletroquímica e que é possível reduzir a concentração de tióis durante a aplicação. Foi demonstrado que os eletrodos de trabalho revestidos de ouro por eletrodeposição apresentaram melhor performance na adsorção de tióis em até 180 min de aplicação, quando comparados com o eletrodo de trabalho de ouro revestido pelo método de magnetron sputtering. Foi evidenciado que é possível melhorar a captação do sinal com o uso dos nanoeletrodos em conjunto, com a redução da corrente capacitiva e sem perder as características dos picos faradaicos de escala macro, mas operando na escala micro e nano. Com tudo, este trabalho apresentou as informações de método de construção, melhorias e desenvolvimentos futuros para os processos que abordam adsorção de tióis e formação dos bioconjugados, na fabricação de biossensores e bioeletrodos.

REFERÊNCIAS

- ALBRECHT, T. Electrochemical tunnelling sensors and their potential applications. **Nature Communications**, v. 3, p. 829, 05/08/online 2012.
- BARD, A.; FAULKNER, L. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**. John Wiley & Sons, Inc, 2001.
- BELL, S. J.; BAKER, M. A.; DUARTE, D. D.; SCHNEIDER, A.; SELLER, P.; SELLIN, P. J.; VEALE, M. C.; WILSON, M. D. Comparison of the surfaces and interfaces formed for sputter and electroless deposited gold contacts on CdZnTe. **Applied Surface Science**, v. 427, p. 1257-1270, 2018/01/01/2018.
- BESHARAT, Z.; WAKEHAM, D.; JOHNSON, C. M.; LUENGO, G. S.; GREAVES, A.; ODNEVALL WALLINDER, I.; GÖTHELID, M.; RUTLAND, M. W. Mixed monolayers of alkane thiols with polar terminal group on gold: Investigation of structure dependent surface properties. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 484, p. 279-290, 2016/12/15/2016.
- BHATTACHARYYA, B. Chapter 2 Electrochemical Machining: Macro to Micro. In: BHATTACHARYYA, B. (Ed.). **Electrochemical Micromachining for Nanofabrication, MEMS and Nanotechnology**: William Andrew Publishing, 2015. p.25-52.
- BRAND, R. P.; MANDEMAKER, L. D. B.; DELEN, G.; RIJNVELD, N.; WECKHUYSEN, B. M. Behavior of a Metal Organic Framework Thin-Film at Elevated Temperature and Pressure as Studied with an Autoclave-Inserted Atomic Force Microscope. **ChemPhysChem,** v. 19, n. 18, p. 2397-2404, 2018/09/18 2018.
- BROWNSON, D. A. C.; BANKS, C. E. **The Handbook of Graphene Electrochemistry**. 1st Ed. London: UK: Springer-Verlag, 2014.
- CANCINO, J. C. Eletrodos modificados com monocamadas auto-organizadas de alcanotióis: uma abordagem sobre a transferência eletrônica. Universidade de São Paulo: 06 de Novembro de 2008. 2008. (Dissertação de Mestrado)
- CDC. **E.coli (Escherichia coli)**, 25/04/2018 2018a.Disponível em: < https://www.cdc.gov/ecoli/index.html >. Acesso em: 05/06/2018.
- _____. **About Zika Virus Disease**, 03/03/2018 2018b.Disponível em: < https://www.cdc.gov/zika/index.html >. Acesso em: 05/06/2018.

- CELEDÓN, C.; FLORES, M.; HÄBERLE, P.; VALDÉS, J. E. Surface roughness of thin gold films and its effects on the proton energy loss straggling. **Brazilian Journal of Physics**, v. 36, p. 956-959, 2006.
- CH INSTRUMENTS, I. 2 mm diameter Gold Working Electrode. **Electrochemical Instrumentation**, Acessories list., 2018.Disponível em: < https://www.chinstruments.com/accessories.shtml#chi101_image >. Acesso em: 13/11/2018.
- CHAKI, N. K.; VIJAYAMOHANAN, K. Self-assembled monolayers as a tunable platform for biosensor applications. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 2002/01/01/ 2002.
- CHEN, S. 2 Practical Electrochemical Cells. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p.33-56.
- CHENG, Q.; JI, L.; WU, K.; ZHANG, W. Morphology-dependent Electrochemical Enhancements of Porous Carbon as Sensitive Determination Platform for Ascorbic Acid, Dopamine and Uric Acid. **Scientific Reports**, v. 6, p. 22309, 02/29/online 2016.
- CREAGER, S. 3 Solvents and Supporting Electrolytes. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p.57-72.
- D7728. Standard Guide for Selection of ASTM Analytical Methods for Implementation of International Cyanide Management Code Guidance. ASTM Compass: ASTM: 5 p. 2011.
- DALLA POZZA, M. Avaliação da influência da monocamada auto-organizada no desempenho de biossensores magnetoelásticos para detecção de Escherichia coli. 2016. 91 (Disseratação de mestrado). CCET, Universidade de Caxias do Sul, UCS.
- DALLA POZZA, M.; POSSAN, A. L.; ROESCH-ELY, M.; MISSELL, F. P. Magnetoelastic biosensors: Influence of different thiols on pathogen capture efficiency. **Materials Science and Engineering: C**, v. 75, p. 629-636, 6/1/2017.
- DANIELS, F. Frederick Gardner Cottrell: 1877-1948. **Science,** v. 110, n. 2863, p. 497, 1949.
- DASH, P.; SAHOO, P. K.; SOLANKI, V.; SINGH, U. B.; AVASTHI, D. K.; MISHRA, N. C. Study of thickness dependent sputtering in gold thin films by swift heavy ion irradiation. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms,** v. 365, Part B, p. 496-502, 12/15/2015.

- DE LEO, M.; PEREIRA, F. C.; MORETTO, L. M.; SCOPECE, P.; POLIZZI, S.; UGO, P. Towards a Better Understanding of Gold Electroless Deposition in Track-Etched Templates. **Chemistry of Materials**, v. 19, n. 24, p. 5955-5964, 2007/11/01 2007.
- DE SOUSA, J. R.; PARENTE, M. M. V.; DIÓGENES, I. C. N.; LOPES, L. G. F.; NETO, P. D. L.; TEMPERINI, M. L. A.; BATISTA, A. A.; MOREIRA, Í. D. S. A correlation study between the conformation of the 1,4-dithiane SAM on gold and its performance to assess the heterogeneous electron-transfer reactions. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 566, n. 2, p. 443-449, 5/15/ 2004.
- DIAO, P.; JIANG, D.; CUI, X.; GU, D.; TONG, R.; ZHONG, B. Studies of structural disorder of self-assembled thiol monolayers on gold by cyclic voltammetry and ac impedance. **Journal of Electroanalytical Chemistry,** v. 464, n. 1, p. 61-67, 3/19/1999.
- DIAS, D. Mecanismo reacional de etanotiol em eletrodo de ouro e seu comportamento em sistemas redox 2012. Universidade Federal de Santa Maria, UFSM.
- DÍAZ, C.; GARCÍA, C.; ITURRIAGA-VÁSQUEZ, P.; AGUIRRE, M. J.; MUENA, J. P.; CONTRERAS, R.; ORMAZÁBAL-TOLEDO, R.; ISAACS, M. Experimental and theoretical study on the oxidation mechanism of dopamine in n-octyl pyridinium based ionic liquids—carbon paste modified electrodes. **Electrochimica Acta**, v. 111, p. 846-854, 2013/11/30/2013.
- DOOLITTLE, L. R. Algorithms for the rapid simulation of Rutherford backscattering spectra. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms,** v. 9, n. 3, p. 344-351, 1985/06/01 1985.
- EHL, R. G.; IHDE, A. J. Faraday's electrochemical laws and the determination of equivalent weights. **Journal of Chemical Education**, v. 31, n. 5, p. 226, 1954/05/01 1954.
- ELGRISHI, N.; ROUNTREE, K. J.; MCCARTHY, B. D.; ROUNTREE, E. S.; EISENHART, T. T.; DEMPSEY, J. L. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education,** v. 95, n. 2, p. 197-206, 2018/02/13 2018.
- FATIMA, M. Voltametria cíclica: aplicações ao estudo de reações induzidas por transferência eletrônica. **Sociedade portuguesa de química**, p. 70, 1998.
- FERTONANI, F. L.; BENEDETTI, A. V. Microeletrodos: II. Caracterização eletroquímica. **Eclética Química**, v. 22, p. 171-190, 1997.

- FISHER, J. A. **Estudo da formação de monocamada auto-organizadas de tióis sobre Au.** 2011. (Dissertação de mestrado). Física, Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC.
- GADELMAWLA, E. S.; KOURA, M. M.; MAKSOUD, T. M. A.; ELEWA, I. M.; SOLIMAN, H. H. Roughness parameters. **Journal of Materials Processing Technology,** v. 123, n. 1, p. 133-145, 4/10/2002.
- GAETANI, C.; AMBROSI, E.; UGO, P.; MORETTO, L. M. Electrochemical immunosensor for detection of IgY in food and food supplements. **Chemosensors**, v. 5, n. 1, p. 10, 2017.
- GONÇALVES, I. C.; MARTINS, M. C. L.; BARBOSA, M. A.; RATNER, B. D. Protein adsorption on 18-alkyl chains immobilized on hydroxyl-terminated self-assembled monolayers. **Biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3891-3899, 2005/06/01/2005.
- GUPTA, P.; LAKES, A.; DZIUBLA, T. Chapter One A Free Radical Primer. In: (Ed.). **Oxidative Stress and Biomaterials**: Academic Press, 2016. p.1-33.
- HENDERSON, A. P.; SEETOHUL, L. N.; DEAN, A. K.; RUSSELL, P.; PRUNEANU, S.; ALI, Z. A Novel Isotherm, Modeling Self-Assembled Monolayer Adsorption and Structural Changes. **Langmuir**, v. 25, n. 2, p. 931-938, 2009/01/20 2009.
- HERMANSON, G. T. Chapter 3 Zero-Length Crosslinkers. **Bioconjugate Techniques (Second Edition)**, p. 213-233, 2008.
- _____. Chapter 1 Introduction to Bioconjugation. In: (Ed.). **Bioconjugate Techniques (Third edition)**. Boston: Academic Press, 2013a. p.1-125.
- _____. Chapter 2 Functional Targets for Bioconjugation. In: (Ed.). **Bioconjugate Techniques (Third edition)**. Boston: Academic Press, 2013b. p.127-228.
- _____. Chapter 3 The Reactions of Bioconjugation. In: (Ed.). **Bioconjugate Techniques (Third edition)**. Boston: Academic Press, 2013c. p.229-258.
- _____. Chapter 4 Zero-Length Crosslinkers. In: (Ed.). **Bioconjugate Techniques** (Third edition). Boston: Academic Press, 2013d. p.259-273.
- _____. Chapter 20 Antibody Modification and Conjugation. In: (Ed.). **Bioconjugate Techniques (Third edition)**. Boston: Academic Press, 2013e. p.867-920.
- _____. Chapter 24 Bioconjugation in the Study of Protein Interactions. In: (Ed.). **Bioconjugate Techniques (Third edition)**. Boston: Academic Press, 2013f. p.989-1016.

- HOLDYNSKI, M.; DOLINSKA, J.; OPALLO, M. Collisions of suspended Prussian Blue nanoparticles with a rotating disc electrode. **Electrochemistry Communications**, v. 86, p. 130-134, 2018/01/01/ 2018.
- HOLMES, S.; GAO, J.; TANG, L.; LI, F.; PALMER, R. E.; GUO, Q. Bridge-bonded methylthiolate on Au(111) observed with the scanning tunneling microscope. **Physical Chemistry Chemical Physics,** v. 20, n. 29, p. 19486-19491, 2018.
- HUANG, I. Y.; LEE, M. C. Development of a FPW allergy biosensor for human IgE detection by MEMS and cystamine-based SAM technologies. **Sensors and Actuators B: Chemical,** v. 132, n. 1, p. 340-348, 5/28/ 2008.
- JABBARZADEH, A. Tribological Properties of Interfacial Molecular Films A2 Wandelt, Klaus. In: (Ed.). **Encyclopedia of Interfacial Chemistry**. Oxford: Elsevier, 2018. p.864-874.
- JACKSON, D. C.; CHAUDHURI, A.; LEROTHOLI, T. J.; WOODRUFF, D. P.; JONES, R. G.; DHANAK, V. R. The local adsorption site of methylthiolate on Au(111): Bridge or atop? **Surface Science**, v. 603, n. 5, p. 807-813, 2009/03/01/2009.
- JALAL UDDIN, M.; KHALID HOSSAIN, M.; HOSSAIN, M. I.; QARONY, W.; TAYYABA, S.; MIA, M. N. H.; PERVEZ, M. F.; HOSSEN, S. Modeling of self-assembled monolayers (SAMs) of Octadecanethiol and Hexadecanethiol on gold (Au) and silver (Ag). **Results in Physics**, v. 7, p. 2289-2295, 2017/01/01/ 2017.
- JANEGITZ, B. C.; MEDEIROS, R. A.; ROCHA-FILHO, R. C.; FATIBELLO-FILHO, O. Direct electrochemistry of tyrosinase and biosensing for phenol based on gold nanoparticles electrodeposited on a boron-doped diamond electrode. **Diamond and Related Materials**, v. 25, n. 0, p. 128-133, 5// 2012.
- KAPOOR, R. C.; AGGARWAL, B. S. Principles of Polarography. Wiley, 1991.
- KIM, S.-H.; OCK, K.-S.; IM, J.-H.; KIM, J.-H.; KOH, K.-N.; KANG, S.-W. Photoinduced refractive index change of self-assembled spiroxazaine monolayer based on surface plasmon resonance. **Dyes and Pigments,** v. 46, n. 1, p. 55-62, 7// 2000.
- KUBIAK, K. J.; WILSON, M. C. T.; MATHIA, T. G.; CARVAL, P. Wettability versus roughness of engineering surfaces. **Wear**, v. 271, n. 3–4, p. 523-528, 6/3/2011.
- KYE, J.; HWANG, S. In situ real time monitoring of kinetics of thiol adsorption on gold based on electrochemical steady-state current. **Electrochemistry Communications**, v. 13, n. 11, p. 1209-1212, 2011/11/01/2011.

- LI, J.; KUANG, D.; FENG, Y.; LIU, M.; ZHANG, F.; DENG, P. An enhanced electrochemical sensing platform integrated with graphene oxide and iron hydroxide colloid for sensitive determination of phloroglucinol. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 621-630, 2013.
- LOVE, J. C.; ESTROFF, L. A.; KRIEBEL, J. K.; NUZZO, R. G.; WHITESIDES, G. M. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology. **Chem Rev,** v. 105, n. 4, p. 1103-69, Apr 2005.
- LOVE, J. C.; ESTROFF, L. A.; KRIEBEL, J. K.; NUZZO, R. G.; WHITESIDES, G. M. Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 4, p. 1103-1170, 2005/04/01 2005.
- MA, D.; WANG, Y.; HAN, X.; XU, S.; WANG, J. Electrode configuration optimization of capacitive deionization cells based on zero charge potential of the electrodes. **Separation and Purification Technology,** v. 189, p. 467-474, 2017/12/22/ 2017.
- MARDEGAN, A.; CETTOLIN, M.; KAMATH, R.; VASCOTTO, V.; STORTINI, A. M.; UGO, P.; SCOPECE, P.; MADOU, M.; MORETTO, L. M. Speciation of Trace Levels of Chromium with Bismuth Modified Pyrolyzed Photoresist Carbon Electrodes. **Electroanalysis**, v. 27, n. 1, p. 128-134, 2015.
- MARDEGAN, A.; SCOPECE, P.; MORETTO, L. M.; UGO, P. An Electrochemical Sensor for Trace Inorganic Arsenic Based on Nanoelectrode Ensembles. In: BALDINI, F.;D'AMICO, A., et al (Ed.). **Sensors**: Springer New York, v.162, 2014. cap. 81, p.453-458. (Lecture Notes in Electrical Engineering).
- MENDES, R. K.; CARVALHAL, R. F.; KUBOTA, L. T. Effects of different self-assembled monolayers on enzyme immobilization procedures in peroxidase-based biosensor development. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 612, n. 2, p. 164-172, 1/15/2008.
- MENON, V. P.; MARTIN, C. R. Fabrication and Evaluation of Nanoelectrode Ensembles. **Analytical Chemistry**, v. 67, n. 13, p. 1920-1928, 1995/07/01 1995.
- METGLAS. Metglas® 2826MB Magnetic Alloy. **Magnetic Materials**, Metglas Products, 2018.Disponível em: < http://www.metglas.com/products/magnetic_materials/ >. Acesso em: 13/11/2018.
- METROHM. Ohmic Drop Part 1 **Basic Principles** Metrohm, July 21st 2011.Disponível em:

 http://www.ecochemie.nl/download/Applicationnotes/Autolab_Application_Note_EC0
 3.pdf >. Acesso em: 24/08/2018.

MOOSTE, M.; KIBENA-PÕLDSEPP, E.; MARANDI, M.; MATISEN, L.; SAMMELSELG, V.; PODVORICA, F. I.; TAMMEVESKI, K. Surface and electrochemical characterization of aryl films grafted on polycrystalline copper from the diazonium compounds using the rotating disk electrode method. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 817, p. 89-100, 2018/05/15/ 2018.

MORETTO, L. M.; KALCHER, K. Environmental Analysis by Electrochemical Sensors and Biosensors. 1st Ed. New York: Springer-Verlag, 2014. 713.

MORETTO, L. M.; PEPE, N.; UGO, P. Voltammetry of redox analytes at trace concentrations with nanoelectrode ensembles. **Talanta**, v. 62, n. 5, p. 1055-1060, 2004/04/19/2004.

NCBI, N. C. F. B. I. Cystamine dihydrochloride **CID=5941**, Pubchem, 2018.Disponível em: < https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5941 >. Acesso em: 22/05/2018.

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, 1983/06/01 1983.

OSTUNI, E.; YAN, L.; WHITESIDES, G. M. The interaction of proteins and cells with self-assembled monolayers of alkanethiolates on gold and silver. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 15, n. 1, p. 3-30, 1999/08/31/ 1999.

POSSAN, A. L. **Biosensor magnetoelástico para detecção de Escherichia coli**. 2015. 105 (Masters degree). CCET, Universidade de Caxias do Sul, Dissertação de mestrado.

POSSAN, A. L.; MENTI, C.; BELTRAMI, M.; SANTOS, A. D.; ROESCH-ELY, M.; MISSELL, F. P. Effect of surface roughness on performance of magnetoelastic biosensors for the detection of Escherichia coli. **Materials Science and Engineering: C,** v. 58, p. 541-547, 2016.

RESHES, G.; VANOUNOU, S.; FISHOV, I.; FEINGOLD, M. Cell Shape Dynamics in Escherichia coli. **Biophysical Journal**, v. 94, n. 1, p. 251-264, 08/31

02/08/received

07/06/accepted 2008.

ROMERO, S. A.; CORNEJO, D. R.; RHEN, F. M.; NEIVA, A. C.; TABACNIKS, M. H.; MISSELL, F. P. Magnetic properties and underlayer thickness in SmCo/Cr films. **Journal of Applied Physics,** v. 87, n. 9, p. 6965-6967, 2000.

- RUAN, C.; ZENG, K.; VARGHESE, O. K.; GRIMES, C. A. A staphylococcal enterotoxin B magnetoelastic immunosensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 20, n. 3, p. 585-591, 10/15/2004.
- SABER, R.; SARKAR, S.; GILL, P.; NAZARI, B.; FARIDANI, F. High resolution imaging of IgG and IgM molecules by scanning tunneling microscopy in air condition. **Scientia Iranica**, v. 18, n. 6, p. 1643-1646, 2011/12/01/ 2011.
- SCOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; S.R., C. **Principles of Instrumental Analysis**. 6th Ed. Boston: CENGAGE Learning, 2006. 961.
- SHE, Z.; DI FALCO, A.; HÄHNER, G.; BUCK, M. Electrodeposition of gold templated by patterned thiol monolayers. **Applied Surface Science**, v. 373, p. 51-60, 2016.
- SHINDO, M.; SAWADA, T.; DOI, K.; MUKAI, K.; SHUDO, K. Spectroscopic analysis of a nanostructure roughness of plasma-deposited Au films using organic monolayer. **Journal of Physics: Conference Series,** v. 441, n. 1, p. 012044, 2013.
- SILVESTRINI, M.; FRUK, L.; MORETTO, L. M.; UGO, P. Detection of DNA Hybridization by Methylene Blue Electrochemistry at Activated Nanoelectrode Ensembles. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology,** v. 15, n. 5, p. 3437-3442, // 2015.
- SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology,** v. 124, p. 1-19, 2013/07/05/ 2013.
- SKOOG, D. A. W., DONALD M. HOLLER, JAMES F. CROUCH, STANLEY R. Fundamentals of Analytical Chemistry. 8 ed. Thonson, 2006. 999.
- SMITH, R. K.; LEWIS, P. A.; WEISS, P. S. Patterning self-assembled monolayers. **Progress in Surface Science,** v. 75, n. 1-2, p. 1-68, 6// 2004.
- SMITH, T. J.; STEVENSON, K. J. 4 Reference Electrodes. In: ZOSKI, C. G. (Ed.). **Handbook of Electrochemistry**. Amsterdam: Elsevier, 2007. p.73-110.
- STALDER, A. F.; MELCHIOR, T.; MÜLLER, M.; SAGE, D.; BLU, T.; UNSER, M. Lowbond axisymmetric drop shape analysis for surface tension and contact angle measurements of sessile drops. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects,** v. 364, n. 1, p. 72-81, 2010/07/20/ 2010.
- STORTINI, A. M.; MORETTO, L. M.; MARDEGAN, A.; ONGARO, M.; UGO, P. Arrays of copper nanowire electrodes: Preparation, characterization and application as nitrate

sensor. **Sensors and Actuators B: Chemical,** v. 207, Part A, n. 0, p. 186-192, 2// 2015.

STRONG, F. C. Faraday's laws in one equation. **Journal of Chemical Education,** v. 38, n. 2, p. 98, 1961/02/01 1961.

SUN, Y.; WANG, H.; SUN, C. Amperometric glucose biosensor based on layer-by-layer covalent attachment of AMWNTs and IO4--oxidized GOx. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 24, n. 1, p. 22-28, 2008/09/15/ 2008.

SUN, Z.; LÜ, J.; SONG, X. Microstructure and electrical properties of ultrathin gold films prepared by DC sputtering. **Vacuum**, v. 85, n. 2, p. 297-301, 8/20/ 2010.

TURNER, A. P. F. Biosensors--Sense and Sensitivity. **Science**, v. 290, n. 5495, p. 1315-1317, 2000.

ULMAN, A. Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 4, p. 1533-1554, 1996/01/01 1996.

URBAN, G.; JOBST, G.; KOHL, F.; JACHIMOWICZ, A.; OLCAYTUG, F.; TILADO, O.; GOISER, P.; NAUER, G.; PITTNER, F.; SCHALKHAMMER, T.; MANN-BUXBAUM, E. Miniaturized thin-film biosensors using covalently immobilized glucose oxidase. **Biosensors and Bioelectronics,** v. 6, n. 7, p. 555-562, 1991/01/01/1991.

ZAHIRI, B.; SOW, P. K.; KUNG, C. H.; MÉRIDA, W. Understanding the wettability of rough surfaces using simultaneous optical and electrochemical analysis of sessile droplets. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 501, p. 34-44, 9/1/2017.

ZHOU, Y.; WENG, Y.; ZHANG, L.; JING, F.; HUANG, N.; CHEN, J. Cystamine immobilization on TiO2 film surfaces and the influence on inhibition of collagen-induced platelet activation. **Applied Surface Science**, v. 258, n. 5, p. 1776-1783, 12/15/2011.

APÊNDICE

Tabela 1

SP3	SP2	SP1	ED3	ED2	ED1	SID	Teónico	Eletrodo de Trabalho		
					및 및	Å Å	, the second	ho E		
0,275		0,289	. 0,278 . 0,186	0,256 0,183	0,276	0,245	0,249	Dados (V)		
3 5	00	00	σ ∞	ω σ.	ω σ.	<u>о</u>	0 %			
122	134	133	92	73	93	69	59	Equação 24 (mV) $E = E_{pc} - E_{pa} \stackrel{\text{def}}{=} \frac{0.059}{n}$	K ₃ Velocidade c	
0,214	0,223	0,222	0,232	0,220	0,230	0,211	0,220	Equação 25 (mV) $E_{1/2} = \left(\frac{E_{pc} + E_{pa}}{2}\right)$	Experimental: $ m K_3Fe(CN)_6~1~mm$ Velocidade de varredura de $50~mVs^{-1}$	
4	Ü	i	Ö	Ö	ŏ	1	ö	io 25 /) /pc+Epa /2	50 mVs	
찬. 작.	ф. ф.	φ. φ.	ð. Ý.	δ. δ.	Å. Å.	φ. φ.	찬. 수.	År.	<u>,</u>	
3,505 3,482	3,334 3,222	3,459 3,313	4,553 4,361	4,231 4,156	4,03 3,948	4,55 4,74	5,21 5,21	(μΑ)		
1,007	1,035	1,044	1,044	1,018	1,021	0,960	1	$\begin{array}{c} Equação\\ 26\\ \frac{i_{pc}}{i_{pa}}=1 \end{array}$		
0,976	0,920 0,955	0,821 0,954	0,974 0,993	0,985 0,975	0,987 0,974	0,999		r _n	Velo	Regres
0,340±0,017 0,341±0,014	$0,256 \pm 0,025$ $0,274 \pm 0,019$	0,245 ± 0,037 0,280 ± 0,020	$0,638 \pm 0,034$ $0,543 \pm 0,014$	$0,494 \pm 0,020$ $0,480 \pm 0,025$	$0,465 \pm 0,018$ $0,448 \pm 0,024$	$0,611 \pm 0,005$ $0,633 \pm 0,004$	0,736 0,736	5	Expen K3Fe(C cidades de varred	Regressões lineares das ir catódicas e função da velocidade de varre
0,46 0,46	0,35 0,37	0,33 0,38	0,87 0,74	0, <i>67</i> 0,65	0,63 0,61	0,83 0,86	1	Equação 27 Concentração (mM) $i_F = 2.69 \times 10^5 \text{ n}^{\frac{3}{2}} \text{ A D}^{\frac{1}{2}} \text{ C v}^{\frac{1}{2}}$	Experimental: K3Fe(CN) ₆ 1 mm Velocidades de varredura de 10 a 100 mVs ⁻¹ .	ões lineares das ir catódicas e anódicas em função da velocidade de varredura
866'0	0,996	0,995	0,976	0,985	0,998	0,987	1	r _{is}	Veloci	Regress
0,58	0,77	0,69	1,86	1,49	1,36	2,08	1	5	Exj K dades de	sões linea velocida
0,019	0,026	0,023	0,062	0,05	0,045	0,069	1	A _{Act} (cm ⁻²)	Experimental KCl 0,1 M de varredura mVs ⁻¹	ões lineares das iç em fu velocidade de varredura
0,61	0,82	0,73	1,98	1,58	1,45	2,21		A _{Act} (cm ⁻²) A _{Act} A _{Geo}	Experimental: KCl 0,1 M Velocidades de varredura 30, 60 e 90 mVs ⁻¹ .	Regressões lineares das iç em função da velocidade de varredura

Tabela 2

Eletrodo de Trabalho	Agitação	i _{pe} SSI Média MUA (μΑ)	i _{pe} SSF Minimo MUA Média 180 min (μΑ)	i _{pe} SSF Minimo MUA Média 1440 min (μΑ)	% % % (SSI / SSF) (SSI / SSF) 180 min 1440 min	% (SSI / SSF) 1440 min
	S.A	4,278 ± 8,2E-2	0,399 ± 0,137	0,100 ± 1,3E-2	9,33	2,34
210	CA	4,359 ± 9,0E-2	0,228 ± 0,065	0,139 ± 4,6E-2	5,11	3,21
ED1*	CA	4,409 ± 7,6E-2	0,108*	0,057*	2,45*	1,30*
ED2*	CA	4,655 ± 4,4E-2	0,248*	0,125*	5,34*	2,71*
ED3*	CA	4,896 ± 3,2E-2	0,059*	0,042*	1,21*	*88,0
SP1*	CA	4,434 ± 2,2E-2	*698,0	0,739*	19,58*	16,67*
SP2*	CA	4,756 ± 6,0E-2	0,693*	0,512*	14,57*	10,76*
SP3*	CA	4,577 ± 4,2E-2	*566,0	0,757*	21,75*	16,55*
ED	CA	4,653 ± 21,4E-2	0,138 ± 0,073	$0,075 \pm 3,3E-2$	2,98	1,62
SP	CA	4,591 ± 14,2E-2	0,852±0,106	0,669 ± 10,5E-2	18,57	14,59

*Dados sem média.

Tabela 3

Tabela 3	Eletrodo de Trabalho	Agitação CA SA	Concentração de MUA (mM)	θ(t 0,990 0,996	Equação 34 $\theta(t) = 1 - e^{-kt}$ \mathbf{k} $(\Theta \text{ min}^{-1})$ $0 0.02647 \pm 0.0007$ 0.01302 ± 0.0002	Tempo (min) 110 180 - 1440		Equação 36 $A_{Rev} = A_{Geo}(1 - e^{-kt})$ Área teórica estimada revestida de MUA (cm^2) $0,02971$ $0,02840 - 0,03142$ Percentual revestimento 95 95
rabeia 3	SID	CA	1,0	966 0	0,02647±0,0007	110 180 - 1440	0,02971 0.02840 - 0.03142	95 90 - 100
	STD	CA	1,0	866'0	0,02522 ± 0,0008	120	0,02990	
	SI	CA	0,5	0,991	$0,02295 \pm 0,0006$	130	0,02983	
	SID	CA	0,1	0,957	$0,01609 \pm 0,0009$	180 - 1440	0,02968 - 0,03142	142
	ED	CA	1,0	0,950	$0,03384 \pm 0,0022$	90	0,02993	
	SP	CA	1,0	0,941	$0,01131 \pm 0,0004$	180 - 1440	0,02732 - 0,03142	142

Tabela 4

			(Vs ⁻¹)						
		0,01	0,05	0,1	r²	b (μΑsV ¹)	${ m A_{Geo}} \ ({ m cm}^2)$	A _{Act} (cm ²)	$\begin{pmatrix} A_{Act} \\ (cm^2) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_{Act}A_{Geo} \end{pmatrix}$
ıa +	A23	0,016±0,0098	0,055±0,0045	0,016±0,0098 0,055±0,0045 0,091±0,0086 0,980	086'0	0,828 ± 0,0724 0,03142 0,02762	0,03142	0,02762	0,88
1 400	A24	0,006 ± 0,0009	0,019±0,0061	0,034 ± 0,0059	0,990	0,006 ± 0,0009 0,019 ± 0,0061 0,034 ± 0,0059 0,990 0,3106 ± 0,0071 0,03142 0,01021	0,03142	0,01021	0,32
	NK1	0,003 ± 0,0003	0,009 ± 0,0067	0,017±0,0031	0,990	0,003 ± 0,0003 0,009 ± 0,0067 0,017 ± 0,0031 0,990 0,1557 ± 0,0028 0,03142 0,0052	0,03142	0,0052	0,17
	STD	0,036 ± 0,0026	0,12±0,0084	0,23 ± 0,0181	0,990	0,990 2,1573 ± 0,0283 0,03142 0,0722	0,03142	0,0722	2,30
									1

Tabela 5

| | | | | | | | | | | | | Ta | be
 | la 5 |
 |
 | |
 | |
 | | | | | | |
|-------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--|---
---|---
--

--
---|---

--|--|---|--|---|----------------|---|---|
| 180 | 170 | 160 | 150 | 140 | 130 | 120 | 110 | 100 | 90 | 80 | 70 | 60 | 50
 | 40 | 30
 | 20
 | 10 | 0
 | -10 | -20
 | -30 | (min) | | | | |
| 0,606 | 0,695 | 0,812 | 0,929 | 1,120 | 1,316 | 1,450 | 1,526 | 1,650 | 1,895 | 2,069 | 2,298 | 2,573 | 2,842
 | 3,072 | 3,372
 | 3,678
 | 3,984 | 4,288
 | 4,286 | 4,285
 | 4,268 | #1 | | | | |
| 0,358 | 0,391 | 0,466 | 0,498 | 0,573 | 0,658 | 0,762 | 0,900 | 1,057 | 1,226 | 1,421 | 1,661 | 1,915 | 2,255
 | 2,549 | 2,884
 | 3,240
 | 3,738 | 4,181
 | 4,190 | 4,170
 | 4,174 | #2 | (μA) | 2 | | |
| 0,234 | 0,244 | 0,256 | 0,277 | 0,310 | 0,335 | 0,370 | 0,426 | 0,508 | 0,620 | 0,828 | 1,119 | 1,536 | 2,049
 | 2,461 | 2,705
 | 3,163
 | 3,678 | 4,367
 | 4,367 | 4,376
 | 4,367 | #3 | | | S | Figu |
| 0,204 | 0,208 | 0,219 | 0,220 | 0,252 | 0,299 | 0,325 | 0,354 | 0,381 | 0,439 | 0,527 | 0,651 | 0,834 | 1,072
 | 1,457 | 2,018
 | 2,774
 | 3,618 | 4,381
 | 4,381 | 4,367
 | 4,380 | #1 | | | ∂ | Figura 39 |
| 0,143 | 0,144 | 0,152 | 0,159 | 0,169 | 0,176 | 0,183 | 0,196 | 0,208 | 0,223 | 0,257 | 0,291 | 0,348 | 0,452
 | 0,656 | 1,091
 | 1,921
 | 3,189 | 4,244
 | 4,253 | 4,244
 | 4,248 | #2 | (A.4) | 2 | | |
| 0,321 | 0,335 | 0,355 | 0,371 | 0,395 | 0,422 | 0,472 | 0,519 | 0,610 | 0,742 | 0,886 | 1,113 | 1,387 | 1,717
 | 2,193 | 2,742
 | 3,513
 | 4,185 | 4,447
 | 4,456 | 4,467
 | 4,447 | #3 | | | | |
| 0,108 | 0,116 | 0,179 | 0,181 | 0,245 | 0,292 | 0,336 | 0,353 | 0,383 | 0,500 | 0,520 | 0,580 | 0,611 | 0,612
 | 0,612 | 0,672
 | 1,289
 | 2,838 | 4,393
 | 4,442 | 4,489
 | 4,311 | | ED1 | | | |
| 0,248 | 0,337 | 0,396 | 0,522 | 0,531 | 0,574 | 0,654 | 0,703 | 0,705 | 0,886 | 0,993 | 1,019 | 1,027 | 1,098
 | 1,250 | 1,698
 | 2,195
 | 3,762 | 4,655
 | 4,711 | 4,650
 | 4,604 | | ED2 | | | |
| 0,059 | 0,047 | 0,061 | 0,065 | 0,076 | 0,059 | 0,101 | 0,139 | 0,214 | 0,221 | 0,466 | 0,591 | 0,817 | 0,944
 | 1,184 | 1,547
 | 2,259
 | 3,430 | 4,924
 | 4,853 | 4,914
 | 4,897 | e l | ED3 | | Figu | |
| 0,869 | 0,884 | 1,127 | 1,382 | 1,523 | 1,602 | 1,845 | 2,066 | 2,127 | 2,313 | 2,350 | 2,586 | 2,688 | 2,805
 | 2,824 | 2,925
 | 2,942
 | 3,357 | 4,430
 | 4,453 | 4,410
 | 4,458 | A | SP1 | | ra 44 | |
| 0,693 | 0,682 | 0,645 | 0,745 | 0,811 | 0,871 | 1,053 | 1,131 | 1,412 | 1,618 | 2,017 | 2,175 | 2,275 | 2,620
 | 2,955 | 3,028
 | 3,337
 | 4,118 | 4,840
 | 4,724 | 4,705
 | 4,756 | | SP2 | | | |
| 0,996 | 1,013 | 1,030 | 1,095 | 1,073 | 1,102 | 1,100 | 1,140 | 1,155 | 1,198 | 1,244 | 1,292 | 1,470 | 1,668
 | 1,994 | 2,454
 | 3,048
 | 3,865 | 4,635
 | 4,535 | 4,562
 | 4,577 | | SP3 | | | |
| 0,030 | 0,036 | 0,046 | 0,055 | 0,061 | 0,066 | 0,078 | 0,086 | 0,093 | 0,115 | 0,142 | 0,157 | 0,176 | 0,190
 | 0,218 | 0,281
 | 0,411
 | 0,718 | 1,001
 | 1,003 | 1,007
 | 686'0 | (F | ED | T. T. A. T. A. | Figuras | |
| 0,186 | 0,187 | 0,204 | 0,234 | 0,247 | 0,260 | 0,290 | 0,315 | 0,341 | 0,372 | 0,407 | 0,440 | 0,467 | 0,515
 | 0,564 | 0,611
 | 0,677
 | 0,823 | 1,010
 | 0,996 | 0,993
 | 1,001 | a.) | dS | To Table | 45 e 46 | |
| | 0,606 0,358 0,234 0,204 0,143 0,321 0,108 0,248 0,059 0,869 0,693 0,996 0,030 | 0,695 0,391 0,244 0,208 0,144 0,335 0,116 0,337 0,047 0,884 0,682 1,013 0,036 0,606 0,358 0,234 0,204 0,143 0,321 0,108 0,248 0,059 0,869 0,693 0,996 0,030 | 0,812 0,466 0,256 0,219 0,152 0,355 0,179 0,396 0,061 1,127 0,645 1,030 0,046 0,695 0,391 0,244 0,208 0,144 0,335 0,116 0,337 0,047 0,884 0,682 1,013 0,036 0,606 0,358 0,234 0,204 0,143 0,321 0,108 0,248 0,059 0,869 0,693 0,996 0,030 | 0,929 0,498 0,277 0,220 0,159 0,371 0,181 0,522 0,065 1,382 0,745 1,095 0,055 0,812 0,466 0,256 0,219 0,152 0,355 0,179 0,396 0,061 1,127 0,645 1,030 0,046 0,695 0,391 0,244 0,208 0,144 0,335 0,116 0,337 0,047 0,884 0,682 1,013 0,036 0,606 0,358 0,234 0,204 0,143 0,321 0,108 0,248 0,059 0,869 0,693 0,996 0,030 | 1,120 0,573 0,310 0,252 0,169 0,395 0,245 0,531 0,076 1,523 0,811 1,073 0,061 0,929 0,498 0,277 0,220 0,159 0,371 0,181 0,522 0,065 1,382 0,745 1,095 0,055 0,812 0,466 0,256 0,219 0,152 0,355 0,179 0,396 0,061 1,127 0,645 1,030 0,046 0,695 0,391 0,244 0,208 0,144 0,335 0,116 0,337 0,047 0,884 0,682 1,013 0,036 0,606 0,358 0,234 0,204 0,143 0,321 0,108 0,248 0,059 0,869 0,693 0,996 0,030 | 1,316 0,658 0,335 0,299 0,176 0,422 0,292 0,574 0,059 1,602 0,871 1,102 0,066 1,120 0,573 0,310 0,252 0,169 0,395 0,245 0,531 0,076 1,523 0,811 1,073 0,061 0,929 0,498 0,277 0,220 0,159 0,371 0,181 0,522 0,065 1,382 0,745 1,095 0,055 0,812 0,466 0,256 0,219 0,152 0,355 0,179 0,396 0,061 1,127 0,645 1,030 0,046 0,695 0,391 0,244 0,208 0,144 0,335 0,116 0,337 0,047 0,884 0,682 1,013 0,036 0,606 0,358 0,234 0,204 0,143 0,321 0,108 0,248 0,059 0,693 0,996 0,030 | 1,450 0,762 0,370 0,325 0,183 0,472 0,336 0,654 0,101 1,845 1,053 1,100 0,078 1,316 0,658 0,335 0,299 0,176 0,422 0,292 0,574 0,059 1,602 0,871 1,102 0,066 1,120 0,573 0,310 0,252 0,169 0,395 0,245 0,531 0,076 1,523 0,811 1,073 0,061 0,929 0,498 0,277 0,220 0,159 0,371 0,181 0,522 0,065 1,382 0,745 1,095 0,055 0,811 0,466 0,256 0,219 0,159 0,355 0,179 0,396 0,061 1,127 0,645 1,030 0,046 0,895 0,391 0,244 0,208 0,144 0,335 0,116 0,337 0,047 0,884 0,682 1,013 0,036 0,606 0,358 0,234 0,204 0,143 0,321 0,108 0,048 0,693 0,693 0,996 0,030 | 1,526 0,900 0,426 0,354 0,196 0,519 0,353 0,703 0,139 2,066 1,131 1,140 0,086 1,450 0,762 0,370 0,325 0,183 0,472 0,336 0,654 0,101 1,845 1,053 1,100 0,078 1,316 0,658 0,335 0,299 0,176 0,422 0,292 0,574 0,059 1,602 0,871 1,102 0,066 1,120 0,573 0,310 0,252 0,169 0,395 0,245 0,574 0,059 1,602 0,871 1,102 0,066 1,120 0,573 0,310 0,252 0,169 0,395 0,245 0,531 0,076 1,523 0,811 1,073 0,061 1,929 0,498 0,277 0,220 0,159 0,371 0,181 0,522 0,065 1,382 0,745 1,095 0,055 0,811 0,498 0,256 0,219 0,152 0,355 0,116 0,337 0,061 1,127 0,645 1,013 0,046 | 1,650 1,057 0,508 0,381 0,208 0,610 0,383 0,705 0,214 2,127 1,412 1,155 0,093 1,526 0,900 0,426 0,354 0,196 0,519 0,353 0,703 0,139 2,066 1,131 1,140 0,086 1,450 0,762 0,370 0,325 0,183 0,472 0,336 0,654 0,101 1,845 1,053 1,100 0,078 1,316 0,658 0,335 0,299 0,176 0,422 0,292 0,574 0,059 1,602 0,871 1,102 0,066 1,120 0,573 0,310 0,252 0,169 0,395 0,245 0,531 0,076 1,523 0,811 1,073 0,061 1,120 0,462 0,277 0,181 0,535 0,531 0,076 1,523 0,811 1,073 0,061 0,929 0,464 0,256 0,219 0,159 0,371 0,181 | 1,895 1,226 0,620 0,439 0,223 0,742 0,500 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 1,650 1,057 0,508 0,381 0,208 0,610 0,383 0,705 0,214 2,127 1,412 1,155 0,093 1,526 0,900 0,426 0,354 0,196 0,519 0,353 0,703 0,139 2,066 1,131 1,140 0,086 1,450 0,762 0,370 0,325 0,183 0,472 0,336 0,654 0,101 1,845 1,031 1,140 0,086 1,316 0,658 0,335 0,299 0,176 0,422 0,292 0,574 0,059 1,602 0,871 1,102 0,066 1,120 0,573 0,310 0,252 0,169 0,395 0,245 0,531 0,076 1,523 0,811 1,073 0,061 1,931 0,466 0,256 0,219 0,152 | 2,069 1,421 0,828 0,527 0,286 0,520 0,993 0,466 2,350 2,017 1,244 0,142 1,895 1,226 0,620 0,439 0,223 0,742 0,500 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 1,650 1,057 0,508 0,381 0,208 0,610 0,383 0,705 0,214 2,127 1,412 1,155 0,093 1,526 0,900 0,426 0,354 0,196 0,519 0,353 0,703 0,139 2,066 1,131 1,140 0,086 1,450 0,762 0,370 0,325 0,183 0,472 0,336 0,654 0,101 1,845 1,03 1,100 0,078 1,120 0,658 0,335 0,299 0,176 0,422 0,292 0,574 0,059 1,602 0,871 1,102 0,066 1,120 0,538 0,249 0,395 0,245 0,531 0 | 2,298 1,661 1,119 0,651 0,291 1,113 0,580 1,019 0,591 2,186 2,175 1,292 0,157 2,069 1,421 0,828 0,527 0,257 0,886 0,520 0,993 0,466 2,350 2,017 1,244 0,142 1,895 1,226 0,620 0,439 0,223 0,742 0,500 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 1,650 1,057 0,508 0,321 0,500 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 1,556 0,900 0,426 0,354 0,101 0,383 0,703 0,139 2,066 1,131 1,140 0,086 1,450 0,762 0,370 0,325 0,183 0,472 0,336 0,654 0,101 1,845 1,031 1,102 0,086 1,316 0,573 0,335 0,299 0,176 0,422 0,531 0,076 | 60 2,573 1,915 1,536 0,834 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,688 2,275 1,470 0,176 70 2,298 1,661 1,119 0,651 0,291 1,113 0,580 1,019 0,591 2,586 2,175 1,292 0,157 80 2,069 1,421 0,828 0,527 0,257 0,886 0,520 0,993 0,466 2,350 2,017 1,244 0,142 90 1,895 1,226 0,620 0,439 0,223 0,742 0,500 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 100 1,650 1,057 0,508 0,381 0,208 0,519 0,383 0,705 0,214 2,127 1,412 1,155 0,093 110 1,526 0,900 0,426 0,325 0,183 0,472 0,336 0,654 0,101 1,845 1,053 1,100 0,086 | 50 2,842 2,255 2,049 1,072 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,190 60 2,573 1,915 1,536 0,834 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,688 2,275 1,470 0,176 70 2,298 1,661 1,119 0,651 0,291 1,113 0,580 1,019 0,591 2,588 2,275 1,470 0,176 80 2,069 1,421 0,828 0,527 0,257 0,886 0,520 0,993 0,466 2,350 2,017 1,244 0,142 90 1,895 1,224 0,620 0,439 0,223 0,742 0,500 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 100 1,895 1,226 0,639 0,221 0,214 2,127 1,412 1,155 0,093 1100 1,528 0,342 0,342 | 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,250 1,184 2,824 2,955 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,072 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,824 2,955 1,668 0,190 60 2,573 1,915 1,536 0,834 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,688 2,275 1,470 0,176 70 2,298 1,661 1,119 0,651 0,227 0,286 0,520 0,886 0,520 0,886 2,350 2,175 1,292 0,176 80 2,069 1,421 0,822 0,227 0,286 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 90 1,895 1,226 0,638 0,223 0,742 0,500 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 10 1,526 0,936 <t< th=""><th>3,372 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,250 1,184 2,925 1,994 0,218 2,842 2,254 2,461 1,457 0,652 2,193 0,612 1,250 1,184 2,824 2,955 1,994 0,218 2,842 2,255 2,049 1,072 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,190 2,277 1,915 1,536 0,834 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 0,288 2,275 1,470 0,176 2,298 1,661 1,119 0,627 0,286 0,520 0,993 0,466 2,350 2,017 1,244 0,142 1,895 1,221 0,828 0,520 0,383 0,705 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 <th>20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,942 3,337 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,948 0,411 30 3,372 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,454 0,281 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,250 1,184 2,824 2,955 1,994 0,281 50 2,842 2,255 2,049 1,072 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,190 60 2,573 1,915 1,638 0,324 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,688 2,275 1,470 0,176 70 2,288 1,421 0,423 0,223 0,742 0,500</th><th>10 3,984 3,738 3,678 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,185 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,259 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,772 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,147 2,925 3,028 2,454 0,411 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,536 2,945 1,944 2,925 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,077 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,199 60 2,573 1,915 0,651 0,241 1,131 0,580 0,519 0,586 2,175 1,420 0,176 70 1,825 1,226 0,239 <t< th=""><th>0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,845 1,001 10 3,984 3,738 3,678 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,259 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,844 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,454 0,281 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,290 1,184 2,824 2,955 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,045 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,680 2,175 1,420 0,176</th><th>-10 4,286 4,190 4,367 4,381 4,253 4,454 4,711 4,853 4,453 4,634 4,031 4,031 4,031 4,434 4,447 4,431 4,453 4,635 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,830 1,001 10 3,984 3,768 3,618 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,772 2,848 2,705 2,048 1,051 0,651 0,652 2,193 0,611 1,220 0,124 2,925 1,470 0,176 40 2,842 2,252 2,049 1,119 0,651 0,334 1,381 1,381 1,424</th><th>-20 4,285 4,170 4,376 4,367 4,244 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,253 4,456 4,442 4,711 4,853 4,453 4,453 1,003 0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,635 1,001 10 3,884 3,782 3,618 3,188 4,185 2,838 3,762 3,430 3,337 4,118 3,865 0,718 20 3,672 2,242 3,618 1,947 0,621 1,250 1,247 2,225 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,246 1,427 0,626 1,747 0,612 1,289 1,247 2,925 1,994 0,218 4,80 2,342 2,257 0,426 1,257</th><th>-20 4,268 4,174 4,367 4,380 4,248 4,474 4,367 4,284 4,477 4,376 4,376 4,224 4,467 4,489 4,650 4,914 4,470 4,475 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,252 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,224 4,447 4,439 4,655 4,924 4,430 4,453 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,333 4,655 4,493 4,453 4,430 4,450 4,450 4,652 1,007 10 4,288 3,372 2,848 3,678 3,183 4,189 4,189 2,125 2,241 4,241 4,483 4,484 4,430 4,430 4,463 4,430 4,463 4,424 4,417 4,489 4,42</th><th> Phi #1 #2 #3 #3 #4 #3 #4 #3 #4 #4</th><th> </th><th>t
(μαh) $(μλ)$ $(μλ)$</th><th> This This </th></t<></th></th></t<> | 3,372 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,250 1,184 2,925 1,994 0,218 2,842 2,254 2,461 1,457 0,652 2,193 0,612 1,250 1,184 2,824 2,955 1,994 0,218 2,842 2,255 2,049 1,072 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,190 2,277 1,915 1,536 0,834 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 0,288 2,275 1,470 0,176 2,298 1,661 1,119 0,627 0,286 0,520 0,993 0,466 2,350 2,017 1,244 0,142 1,895 1,221 0,828 0,520 0,383 0,705 0,886 0,221 2,313 1,618 1,198 0,115 <th>20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,942 3,337 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,948 0,411 30 3,372 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,454 0,281 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,250 1,184 2,824 2,955 1,994 0,281 50 2,842 2,255 2,049 1,072 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,190 60 2,573 1,915 1,638 0,324 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,688 2,275 1,470 0,176 70 2,288 1,421 0,423 0,223 0,742 0,500</th> <th>10 3,984 3,738 3,678 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,185 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,259 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,772 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,147 2,925 3,028 2,454 0,411 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,536 2,945 1,944 2,925 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,077 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,199 60 2,573 1,915 0,651 0,241 1,131 0,580 0,519 0,586 2,175 1,420 0,176 70 1,825 1,226 0,239 <t< th=""><th>0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,845 1,001 10 3,984 3,738 3,678 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,259 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,844 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,454 0,281 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,290 1,184 2,824 2,955 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,045 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,680 2,175 1,420 0,176</th><th>-10 4,286 4,190 4,367 4,381 4,253 4,454 4,711 4,853 4,453 4,634 4,031 4,031 4,031 4,434 4,447 4,431 4,453 4,635 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,830 1,001 10 3,984 3,768 3,618 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,772 2,848 2,705 2,048 1,051 0,651 0,652 2,193 0,611 1,220 0,124 2,925 1,470 0,176 40 2,842 2,252 2,049 1,119 0,651 0,334 1,381 1,381 1,424</th><th>-20 4,285 4,170 4,376 4,367 4,244 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,253 4,456 4,442 4,711 4,853 4,453 4,453 1,003 0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,635 1,001 10 3,884 3,782 3,618 3,188 4,185 2,838 3,762 3,430 3,337 4,118 3,865 0,718 20 3,672 2,242 3,618 1,947 0,621 1,250 1,247 2,225 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,246 1,427 0,626 1,747 0,612 1,289 1,247 2,925 1,994 0,218 4,80 2,342 2,257 0,426 1,257</th><th>-20 4,268 4,174 4,367 4,380 4,248 4,474 4,367 4,284 4,477 4,376 4,376 4,224 4,467 4,489 4,650 4,914 4,470 4,475 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,252 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,224 4,447 4,439 4,655 4,924 4,430 4,453 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,333 4,655 4,493 4,453 4,430 4,450 4,450 4,652 1,007 10 4,288 3,372 2,848 3,678 3,183 4,189 4,189 2,125 2,241 4,241 4,483 4,484 4,430 4,430 4,463 4,430 4,463 4,424 4,417 4,489 4,42</th><th> Phi #1 #2 #3 #3 #4 #3 #4 #3 #4 #4</th><th> </th><th>t
(μαh) $(μλ)$ $(μλ)$</th><th> This This </th></t<></th> | 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,942 3,337 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,948 0,411 30 3,372 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,454 0,281 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,250 1,184 2,824 2,955 1,994 0,281 50 2,842 2,255 2,049 1,072 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,190 60 2,573 1,915 1,638 0,324 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,688 2,275 1,470 0,176 70 2,288 1,421 0,423 0,223 0,742 0,500 | 10 3,984 3,738 3,678 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,185 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,259 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,772 2,884 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,147 2,925 3,028 2,454 0,411 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,536 2,945 1,944 2,925 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,077 0,452 1,717 0,612 1,098 0,944 2,805 2,620 1,668 0,199 60 2,573 1,915 0,651 0,241 1,131 0,580 0,519 0,586 2,175 1,420 0,176 70 1,825 1,226 0,239 <t< th=""><th>0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,845 1,001 10 3,984 3,738 3,678 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,259 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,844 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,454 0,281 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,290 1,184 2,824 2,955 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,045 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,680 2,175 1,420 0,176</th><th>-10 4,286 4,190 4,367 4,381 4,253 4,454 4,711 4,853 4,453 4,634 4,031 4,031 4,031 4,434 4,447 4,431 4,453 4,635 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,830 1,001 10 3,984 3,768 3,618 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,772 2,848 2,705 2,048 1,051 0,651 0,652 2,193 0,611 1,220 0,124 2,925 1,470 0,176 40 2,842 2,252 2,049 1,119 0,651 0,334 1,381 1,381 1,424</th><th>-20 4,285 4,170 4,376 4,367 4,244 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,253 4,456 4,442 4,711 4,853 4,453 4,453 1,003 0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,635 1,001 10 3,884 3,782 3,618 3,188 4,185 2,838 3,762 3,430 3,337 4,118 3,865 0,718 20 3,672 2,242 3,618 1,947 0,621 1,250 1,247 2,225 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,246 1,427 0,626 1,747 0,612 1,289 1,247 2,925 1,994 0,218 4,80 2,342 2,257 0,426 1,257</th><th>-20 4,268 4,174 4,367 4,380 4,248 4,474 4,367 4,284 4,477 4,376 4,376 4,224 4,467 4,489 4,650 4,914 4,470 4,475 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,252 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,224 4,447 4,439 4,655 4,924 4,430 4,453 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,333 4,655 4,493 4,453 4,430 4,450 4,450 4,652 1,007 10 4,288 3,372 2,848 3,678 3,183 4,189 4,189 2,125 2,241 4,241 4,483 4,484 4,430 4,430 4,463 4,430 4,463 4,424 4,417 4,489 4,42</th><th> Phi #1 #2 #3 #3 #4 #3 #4 #3 #4 #4</th><th> </th><th>t
(μαh) $(μλ)$ $(μλ)$</th><th> This This </th></t<> | 0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,845 1,001 10 3,984 3,738 3,678 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,259 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,844 2,705 2,018 1,091 2,742 0,672 1,698 1,547 2,925 3,028 2,454 0,281 40 3,072 2,549 2,461 1,457 0,656 2,193 0,612 1,290 1,184 2,824 2,955 1,994 0,218 50 2,842 2,255 2,049 1,045 0,348 1,387 0,611 1,027 0,817 2,680 2,175 1,420 0,176 | -10 4,286 4,190 4,367 4,381 4,253 4,454 4,711 4,853 4,453 4,634 4,031 4,031 4,031 4,434 4,447 4,431 4,453 4,635 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,830 1,001 10 3,984 3,768 3,618 3,618 3,189 4,185 2,838 3,762 3,430 3,357 4,118 3,865 0,718 20 3,678 3,240 3,163 2,774 1,921 3,513 1,289 2,195 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,772 2,848 2,705 2,048 1,051 0,651 0,652 2,193 0,611 1,220 0,124 2,925 1,470 0,176 40 2,842 2,252 2,049 1,119 0,651 0,334 1,381 1,381 1,424 | -20 4,285 4,170 4,376 4,367 4,244 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,253 4,456 4,442 4,711 4,853 4,453 4,453 1,003 0 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,393 4,655 4,924 4,430 4,840 4,635 1,001 10 3,884 3,782 3,618 3,188 4,185 2,838 3,762 3,430 3,337 4,118 3,865 0,718 20 3,672 2,242 3,618 1,947 0,621 1,250 1,247 2,225 2,942 3,337 3,048 0,411 30 3,372 2,246 1,427 0,626 1,747 0,612 1,289 1,247 2,925 1,994 0,218 4,80 2,342 2,257 0,426 1,257 | -20 4,268 4,174 4,367 4,380 4,248 4,474 4,367 4,284 4,477 4,376 4,376 4,224 4,467 4,489 4,650 4,914 4,470 4,475 4,562 1,007 -10 4,288 4,190 4,367 4,381 4,252 4,467 4,489 4,560 4,914 4,410 4,705 4,562 1,007 -10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,224 4,447 4,439 4,655 4,924 4,430 4,453 1,003 10 4,288 4,181 4,367 4,381 4,244 4,447 4,333 4,655 4,493 4,453 4,430 4,450 4,450 4,652 1,007 10 4,288 3,372 2,848 3,678 3,183 4,189 4,189 2,125 2,241 4,241 4,483 4,484 4,430 4,430 4,463 4,430 4,463 4,424 4,417 4,489 4,42 | Phi #1 #2 #3 #3 #4 #3 #4 #3 #4 #4 | | t
(μαh) $(μλ)$ | This This |