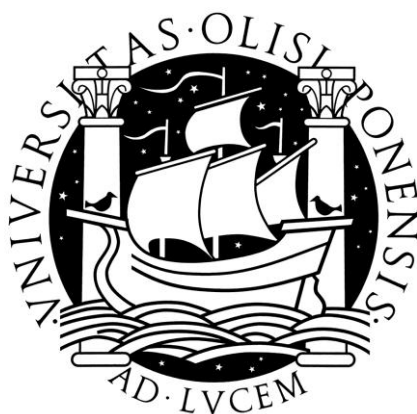


UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
Departamento de Química e Bioquímica



Polímeros Condutores e Monocamadas
Auto-montadas na Concepção de Novas
Arquitecturas contendo Nanopartículas
Metálicas: Preparação, Caracterização e
Desempenho para Electrocatalise e Biosensores

VIRGÍNIA CLARA TEIXEIRA FERREIRA

DOUTORAMENTO EM QUÍMICA
(Química-Física)

2011

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
Departamento de Química e Bioquímica



Polímeros Condutores e Monocamadas
Auto-montadas na Concepção de Novas
Arquitecturas contendo Nanopartículas
Metálicas: Preparação, Caracterização e
Desempenho para Electrocatalise e Biosensores

VIRGÍNIA CLARA TEIXEIRA FERREIRA

Tese orientada pela Professora Doutora Luísa Maria Álvares Duarte de Almeida Abrantes
e pelo Professor Doutor António Fernando Sousa da Silva

DOUTORAMENTO EM QUÍMICA
(Química-Física)

2011

Clara
Aos meus pais

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Luisa Maria Abrantes, o meu mais profundo e sincero agradecimento pela sábia orientação, apoio e incentivo constantes ao longos destes anos e pelo rigor e sentido de responsabilidade exigidos que contribuíram para o meu desenvolvimento tanto profissional como pessoal.

Ao meu co-orientador, Professor Doutor António Fernando Silva, agradeço o incentivo, os ensinamentos transmitidos e as sempre encorajadoras discussões científicas.

Ao Professor António Aldaz manifesto o meu agradecimento pelo simpático acolhimento no Grupo de Electrocatálise e Electroquímica Aplicada.

Aos Doutores José Solla-Gullón e Francisco Vidal-Iglesias a minha gratidão pela simpatia com que me acolheram, pelo encorajamento e por todos os conhecimentos que me proporcionaram adquirir.

À Doutora Ana Tenreiro o meu sincero agradecimento pela simpatia e pelo auxílio nas “bio-coisas”, sem a qual este trabalho não teria sido o mesmo.

Obrigada à Doutora Ana Viana pela obtenção das imagens de microscopia de força atómica e de microscopia de varrimento por efeito de túnel e pelas discussões e sugestões dadas para a sua análise.

Agradeço à Engenheira Isabel Nogueira pela disponibilidade e aquisição das imagens de microscopia electrónica de varrimento e electrónica de transmissão.

À Fundação Calouste Gulbenkian agradeço o apoio financeiro no âmbito da Bolsa de Estudo de Curta Duração no Estrangeiro, para a participação na “European School of Nanosciences & Nanotechnologies” – ESSION’2007. À Fundação para a Ciência e a Tecnologia agradeço a Bolsa de Doutoramento (SFRH/BD/30585/2006) concedida, assim como o apoio financeiro para a participação e divulgação do trabalho de investigação em reuniões científicas internacionais.

Ao Grupo de Electroquímica Interfacial e a todos os colegas e ex-colegas que por lá passaram, Doutor Jorge Correia, Joana Cabrita, Inês Almeida, Joaquim, Tiago, Isabel Tissot, Sheila, António, Miguel, Diogo, Elisabete e Alda Fundo agradeço o pronto auxílio e disponibilidade, o companheirismo e o bom ambiente da trabalho.

Um agradecimento especial à Ana Mourato pelo seu carinho, amizade, companheirismo e constante boa disposição e à Ana Melato, com quem é sempre um prazer colaborar, a minha gratidão pela amizade e disponibilidade constante.

À Doutora Olinda Monteiro manifesto o meu sincero agradecimento pela confiança e compreensão nesta fase final.

Um especial agradecimento às minhas amigas de sempre, Ana Lobo e Ana Rita, pelo carinho constante, compreensão e incentivo permanente. Agradeço à Marta Figueiredo por me ter recebido tão acolhedoramente em sua casa.

Agradeço ainda a todos os familiares e amigos, que directa ou indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho, pelo encorajamento, apoio e carinhosa atenção sempre manifestados.

Aos meus pais e irmã o meu muito obrigada por acreditarem que sou capaz, pelo carinho, sabedoria e apoio incondicional, agradeço a vossa infinita paciência comigo!

Resumo

Nanopartículas (NPs) de ouro e de platina, com distribuições homogêneas em tamanho e forma, são sintetizadas via química e analisadas por espectroscopia de UV-vis, DRX e TEM. A caracterização electroquímica das Au-NPs, por deposição a sub-potencial de chumbo, revela domínios cristalinos poliorientados nas esferas e orientados segundo os planos (100) e (111)+(110) nos cubos e bastonetes, respectivamente. Verifica-se que o melhor desempenho electrocatalítico para a reacção de oxidação do ácido ascórbico ocorre nos bastonetes.

Superfícies de Au(111) modificadas por SAMs de α,ω -alcanoditióis e Au-NPs, são analisadas por STM, AFM, voltametria cíclica e QCM. A quantidade de Au-NPs imobilizadas é controlada pela distribuição de grupos tiol livres na interface SAM/solução. Face a SAMs simples de ditiol, as SAMs mistas de alcanoditióis de cadeia longa (1,10-decanoditiol) são mais organizadas, estáveis e bloqueiam mais a t.e..

Sintetizam-se electroquimicamente filmes de P(3-MeT) e PEDOT em platina. A eficiência da electropolimerização potencioestática do P(3-MeT), monitorizado por EQCM, é de 44-54 %. A variação de frequência durante a conversão redox revela que o processo é complexo e envolve o solvente; em películas finas não se observa histerese nas curvas Δm vs Q, no entanto em filmes espessos (e.g., $Q_{ox.} = 2,3 \text{ mC cm}^{-2}$) a de-dopagem é retardada, devido à baixa densidade da camada externa, que retém facilmente iões e solvente.

Compósitos polímero/NPs, formados por interacção Metal-S, são investigados por técnicas espectroscópicas, microscópicas, microgravimétricas e electroquímicas. Para o P(3-MeT), inactivo para a oxidação da hidrazina, mostra-se que o compósito com NPs de Pt ($\varnothing = 3 \text{ nm}$), apresenta resposta electrocatalítica. Em filmes de PEDOT de electroactividade semelhante ao P(3-MeT), a quantidade de NPs imobilizada é superior devido à maior rugosidade do filme; o compósito mostra bom desempenho electrocatalítico (sobrepotenciais 280, 220 e 60 mV inferiores ao PEDOT, ao P(3-MeT)/Pt-NPs e à platina, respectivamente).

Avalia-se o comportamento de superfícies de Au(111) e dos compósitos P(3-MeT)/Pt-NPs, modificadas com oligonucleótidos tiolados, como biosensores de ADN; as propriedades

condutoras e a elevada área superficial dos compósitos permitem a detecção, por *QCM* e voltametria cíclica, da hibridação com a sequência complementar ($1,6 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$).

Palavras-chave: SAMs, α,ω -alcanoditióis, poli(3-metiltiofeno), poli(3,4-etilenodioxítiofeno), nanopartículas metálicas, electrocatálise, (bio)sensores.

Abstract

Homogeneously sized and shaped, gold and platinum nanoparticles (NPs) are chemically synthesized and analysed by means of UV-vis spectroscopy, XRD and TEM. The Au-NPs electrochemical characterization (under-potential deposition of lead) reveals spherical NPs with poly-oriented crystalline domains and cubic and rod-shaped particles displaying (100) and (111)+(110) facets, respectively. Enhanced electrocatalytic behaviour, towards the ascorbic acid oxidation reaction, is achieved in rod nanoparticles.

Gold surfaces modified with self-assembled α,ω -alkanedithiols and Au-NPs, are analysed by STM, AFM, cyclic voltammetry and QCM. The amount of attached Au-NPs is imparted by the free thiol groups distribution at the SAM/solution interface. Long chain alkanedithiols (1,10-decanedithiol) mixed SAMs are more organized, stable and display better electron transfer blocking properties than the corresponding simple dithiol monolayers.

P(3-MeT) and PEDOT films are electrochemically synthesized on platinum. A potentiostatic electropolymerisation efficiency of 44-54% is retrieved from the EQCM data. The frequency change recorded simultaneously with redox conversion, reveals a complex process which involves the solvent; hysteresis is not observed in the Δm vs Q curves in thin polymer films (e.g., $Q_{ox.} = 2.3 \text{ mC cm}^{-2}$), although for thicker layers the de-doping is delayed, i.e. ions and solvent are retained due to the low density of the external layer.

Polymer/NPs composites, formed by Metal-S interaction, are investigated by spectroscopic, microscopic, microgravimetric and electrochemical techniques. For the P(3-MeT), inactive for the hydrazine oxidation, it is shown that the composite with Pt-NPs ($\varnothing = 3 \text{ nm}$), displays electrocatalytic response. Using PEDOT films, displaying similar electroactivity as P(3-MeT), the superior amount of immobilized NPs is due to a rougher polymer surface; the composite shows good electrocatalytic performance (280, 220 and 60 mV lower over-potentials than for PEDOT, P(3-MeT)/Pt-NPs and platinum electrode, respectively) to the substrate under study.

The behaviour of the Au(111) and P(3-MeT)/Pt-NPs composite surfaces, modified with thiolated oligonucleotides, as DNA biosensors, is evaluated; the conducting properties and

the high surface area of the composites enable the detection of the hybridization with the complementary sequence ($1.6 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$) by cyclic voltammetry and QCM.

Keywords: SAMs, α,ω -alkanedithiols, poly(3-methylthiophene), poly(3,4-ethylenedioxythiophene), metal nanoparticles, electrocatalysis, (bio)sensors.

Índice

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS	1
1.2. ELÉCTRODOS MODIFICADOS POR MONOCAMADAS AUTO-MONTADAS	4
1.3. ELÉCTRODOS MODIFICADOS POR POLÍMEROS CONDUTORES	7
1.4. ESTRUTURA DA TESE	11
1.5. REFERÊNCIAS.....	12
2. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO E DE PLATINA.....	19
2.1. OBJECTIVO	19
2.2. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE AU E DE PT.....	19
2.3. CARACTERIZAÇÃO DE SUSPENSÕES COLOIDAIS DE AU E DE PT-NPS.....	23
2.3.1. <i>Nanopartículas esféricas de ouro e de platina estabilizadas por iões citrato</i>	<i>23</i>
2.3.2. <i>Nanopartículas preparadas a partir de sementes e estabilizadas por surfactante.....</i>	<i>30</i>
2.4. CARACTERIZAÇÃO ELECTROQUÍMICA DE AU-NPS IMOBILIZADAS EM ITO E GC	35
2.5. AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA ESTRUTURA SUPERFICIAL E DA PRESENÇA DE SURFACTANTE NA ACTIVIDADE ELECTROCATALÍTICA DE AU-NPS.....	43
2.6. CONCLUSÕES	49
2.7. REFERÊNCIA	51
3. MONOCAMADAS AUTO-MONTADAS FUNCIONALIZADAS - INTERACÇÃO AU-S NA IMOBILIZAÇÃO DE AU-NPS E OLIGONUCLEÓTIDOS TIOLADOS NO DESENVOLVIMENTO DE BIOSENSORES DE ADN	55
3.1. OBJECTIVO	55
3.2. PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MONOCAMADAS AUTO-MONTADAS	55
3.2.1. <i>SAMs contendo α,ω-alcanoditióis</i>	<i>55</i>
3.2.2. <i>Monocamadas mistas contendo α,ω-alcanoditióis.....</i>	<i>63</i>
3.2.3. <i>Estudo do comportamento de SAMs simples e mistas na presença de uma espécie electroactiva em solução.....</i>	<i>67</i>
3.3. IMOBILIZAÇÃO DE AU-NPS EM SAMs FUNCIONALIZADAS	76
3.4. MONOCAMADAS AUTO-MONTADAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS TIOLADOS E SEU DESEMPENHO COMO BIOSENSORES DE ADN	83
3.5. CONCLUSÕES	89
3.6. REFERÊNCIAS.....	92

4. PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÕES DE ELÉCTRODOS MODIFICADOS POR POLÍMEROS CONDUTORES CONTENDO ENXOFRE E NANOPARTÍCULAS DE OURO E DE PLATINA .97

4.1. OBJECTIVO	97
4.2. POLÍMEROS CONDUTORES COM ÁTOMOS DE ENXOFRE NA SUA ESTRUTURA	97
4.2.1. <i>Síntese e caracterização de filmes de Politionina</i>	97
4.2.2. <i>Síntese e caracterização de polímeros condutores de derivados do Tiofeno</i>	101
<i>Poli(3-metiltiofeno)</i>	101
<i>Poli(3,4-etilenodioxítiofeno)</i>	115
4.3. IMOBILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS EM POLÍMEROS CONDUTORES	117
<i>Politionina</i>	117
<i>Poli(3-metiltiofeno) e Poli(3,4-etilenodioxítiofeno)</i>	118
4.4. APLICAÇÕES DOS ELÉCTRODOS MODIFICADOS	123
4.4.1. <i>Avaliação do desempenho como sensores electroquímicos</i>	123
4.4.2. <i>Avaliação da actividade electrocatalítica para a oxidação da Hidrazina</i>	125
<i>Estudo cinético da oxidação da HZ em EM por P(3-MeT)/Pt-NPs</i>	130
4.4.3. <i>Resultados preliminares do desempenho dos EM como biosensores de ADN</i>	134
4.5. CONCLUSÕES	138
4.6. REFERÊNCIAS	141
5. TÉCNICAS E INSTRUMENTAÇÃO	145
5.1. DETALHES EXPERIMENTAIS	145
5.1.1. <i>Reagentes</i>	145
5.1.2. <i>Eléctodos e células</i>	147
Células Electroquímicas	147
Eléctodos de Trabalho	148
5.1.3. <i>Preparação de nanopartículas e modificação e caracterização de superfícies</i>	150
5.2. TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS	155
5.2.1. <i>Convencionais</i>	155
5.2.1.1. Voltametria cíclica	155
5.2.1.2. Cronoamperometria	156
5.2.1.3. Eléctrodo de disco rotativo, <i>RDE</i>	157
5.2.2. <i>Avançadas</i>	159
5.2.2.1. Microscopia de varrimento electroquímico, <i>SECM</i>	159
5.2.2.2. Microbalança electroquímica de cristal de quartzo, <i>EQCM</i>	162
5.3. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA	164
5.3.1. <i>Microscopia Electrónica de Varrimento, SEM</i>	165

5.3.2. <i>Microscopia Electrónica de Transmissão</i>	166
5.4. MICROSCOPIA DE VARRIMENTO DE SONDA	168
5.4.1. <i>Microscopia de Força Atómica</i>	168
5.4.2. <i>Microscopia de varrimento por efeito de túnel</i>	170
5.5. ESPECTROSCOPIA DE ULTRA-VIOLETA VISÍVEL, UV-VIS	172
5.6. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X, XRD	175
5.7. REFERÊNCIAS.....	179
6. CONCLUSÕES FINAIS	183
ANEXOS	189
FICHAS JCPDS	189
- OURO – 4-0784	189
- PLATINA – 4-0802	189
- NaCl – 5-0628.....	190
- SILÍCIO – 27-1402	190

Capítulo 1

Introdução

1. Introdução

1.1. Nanopartículas metálicas

As nanopartículas metálicas, M-NPs, apresentam propriedades distintas dos materiais à escala macroscópica, o que as torna elementos relevantes para diversas aplicações, em particular em (bio)sensores (por ex. ópticos e electroquímicos), electrocatálise e no desenvolvimento de dispositivos electrónicos [1-3]. De entre os metais mais usualmente empregues, Au, Pt, Pd, Ag, Ru, [4-10], destacam-se o ouro e a platina.

A preparação de NPs de Au e de Pt por métodos químicos em solução encontra-se amplamente referenciada na literatura [1, 4, 9-11]. Em geral envolve o uso de um sal do metal em solução e a adição de um agente redutor (por exemplo citrato de sódio, borohidreto de sódio ou hidrazina) [5, 9, 12-14]. A presença de uma espécie que se adsorve na superfície das Au-NPs (que pode ser o próprio redutor, surfactantes, tióis, polímeros) em solução, permite estabilizar e funcionalizar as NPs formadas; a sua acção exerce um papel importante no controlo da agregação, do tamanho, da forma e da orientação cristalográfica superficial das NPs [15]. Entre os métodos disponíveis para a síntese de Au-NPs, tem sido recentemente dado ênfase aos métodos de redução directa e de crescimento a partir de sementes de pequenas dimensões. No primeiro, inicialmente descrito por Turkevich [16] e desenvolvido por outros [9, 17, 18], o sal de ouro em solução é reduzido, a temperatura elevada, por citrato de sódio, formando-se NPs esféricas com tamanhos entre cerca de 16-150 nm de diâmetro [9, 17, 18]; um método semelhante usa o agente redutor borohidreto de sódio e permite obter Au-NPs com 2-5 nm, à temperatura ambiente, em metanol ou em solução aquosa [13]. Partículas com forma não-esférica podem ser preparadas, por exemplo em solução de dimetilformamida (DMF) na presença de polivinilpirrolidona (PVP); obtêm-se partículas octaédricas ou planares hexagonais (aumento da concentração de sal de Au em solução), com orientação cristalográfica superficial (111); a adição de NaOH e/ou NaCl leva à obtenção de Au-NPs cúbicas (com faces orientadas segundo o plano (111) ou (100) ou truncadas com domínios orientados

segundo os planos (111) e (100)) [15]. O crescimento de NPs a partir de sementes de pequenas dimensões permite, através do controlo das condições de síntese, preparar suspensões coloidais de Au-NPs com tamanho, forma e estrutura cristalográfica superficial específicas [19]. Neste caso o agente estabilizador habitualmente empregue é o brometo de hexadeciltrimetilamónio (CTAB), um surfactante catiónico que forma micelas alongadas em água [4, 20], embora outros sejam também usados [21, 22]. A forma e a estrutura cristalográfica superficial destas Au-NPs resultam do balanço entre a tendência para o facetamento cristalográfico, devido às diferentes forças de interacção de espécies em solução (estabilizadores, surfactantes e outros aditivos) com os domínios cristalinos da superfície, e da cinética de crescimento (velocidade de fornecimento de átomos de Au para os planos cristalográficos), uma vez atingida uma dimensão crítica dos domínios cristalinos nas sementes que permitam a estabilização diferenciada [23-26]. Au-NPs cúbicas, com a superfície dominada pela orientação cristalográfica (100), podem ser preparadas pelo método de crescimento a partir de sementes usando o surfactante CTAB e ácido ascórbico (AA) como redutor na solução de crescimento [27]. O ajuste das condições de síntese permite controlar as dimensões de Au-NPs com forma de bastonetes [28], que em geral apresentam as faces terminais com orientação cristalográfica (111) e as laterais orientadas segundo o plano (110) ou (100) [23, 24, 29-31].

Na síntese de nanopartículas de platina, um dos redutores usados é o hidrogénio embora Pt-NPs esféricas de 4 nm possam ser obtidas por redução por hidrazina ou borohidreto de sódio em micro-emulsões ou em solução com citrato de sódio e borohidreto de sódio [5, 6, 14]. Pt-NPs de maiores dimensões e com forma e estrutura cristalográfica superficial específica formam-se, pelo método coloidal, ajustando as condições de síntese. Por exemplo, na presença de poliacrilato de sódio e de H₂ como redutor, o sal de platina K₂PtCl₄ conduz à formação de cubos com faces orientadas segundo o plano (100) [5, 6, 14, 32] e o H₂PtCl₆ a partículas tetraédricas e hexaédricas com superfície orientada segundo o plano (111), ou octaédricas com orientação cristalográfica (100) e (111) [5, 6, 14].

No que respeita às propriedades electrocatalíticas das Pt- e Au-NPs, o tamanho, a forma e a orientação cristalográfica da superfície afectam a resposta electroquímica e desempenham um papel fundamental, em especial nas reacções sensíveis aos domínios cristalinos da superfície dos eléctrodos. Aldaz *et al.* mostraram que a actividade

electrocatalítica das Pt-NPs é fortemente dependente da estrutura superficial e forma das nanopartículas; em Pt-NPs depositadas em superfícies de Au, a oxidação do amoníaco aumenta com os domínios com orientação segundo o plano (100) na superfície e a oxidação do metanol e do ácido fórmico é favorecida nas Pt-NPs dominadas pela orientação (111) [6, 33, 34].

No caso das Au-NPs, a actividade electrocatalítica para a oxidação do monóxido de carbono aumenta com o decréscimo do tamanho das partículas [35]. A reacção de oxidação do metanol é favorecida em Au-NPs planares e ramificadas, com orientação superficial preferencial segundo o plano (111), enquanto melhor resposta para a oxidação da glucose é obtida em Au-NPs planares com orientação cristalográfica preferencial (110) [36, 37]. Em superfícies monocristalinas de Au, a reacção de redução do oxigénio (*oxygen reduction reaction, ORR*) conduz à formação de peróxido de hidrogénio (2 electrões) naquelas com orientação (111) e (110) e de água (4 electrões) na (100) [38]. Em eléctrodos modificados com Au-NPs a *ORR* depende igualmente dos domínios cristalinos da sua superfície; Aldaz *et al.* mostraram que a melhor resposta electroquímica para a *ORR* é obtida em Au-NPs pela ordem: cúbicas > esféricas > bastonetes, devido às faces dos cubos serem dominadas pela orientação (100), enquanto os bastonetes são compostos por domínios com orientação (111) e (110) e as esferas têm um carácter mais policristalino [27, 38-40].

As Au-NPs têm sido muito frequentemente usadas no desenvolvimento de biosensores de ADN, tanto em solução, envolvendo a auto-montagem de oligonucleótidos tiolados na superfície de Au das NPs [41-44], como imobilizadas (por ex. em *SAMs* ou polímeros [44-47]). As propriedades ópticas das Au-NPs permitem a detecção da hibridação de sequências de ADN de cadeia simples, modificadas com grupos tiol e imobilizadas na superfície das NPs, com a sequência complementar em solução [43, 48-50]. Diversas abordagens têm sido usadas para a detecção electroquímica da hibridação de sequências de ADN com base em nanopartículas, com vantagens em termos de custo, sensibilidade e tempo de resposta. As Au-NPs permitem aumentar a área superficial dos eléctrodos e maximizar a imobilização de ADN [45-47]; a redissolução de Au- ou Ag-NPs (ou Ag depositada em Au-NPs), imobilizadas por hibridação da sequência de ADN ligada às NPs com a sua complementar imobilizada no substrato constitui um método para a detecção da hibridação [42, 44, 51]. Na detecção piezoeléctrica da hibridação as Au-NPs

desempenham um papel importante na amplificação do sinal na microbalança de cristal de quartzo [41]. Superfícies modificadas com nanopartículas de Pt, em combinação com nanotubos de carbono, aliam as vantagens destes materiais (transferência electrónica e actividade electrocatalítica) e aumentam a sensibilidade do biosensor de ADN [52].

1.2. Eléctrodos modificados por monocamadas auto-montadas

A auto-montagem de moléculas orgânicas em superfícies sólidas a partir de soluções é um método conveniente para a modificação das propriedades dos eléctrodos convencionais. Uma resenha bibliográfica dos aspectos mais relevantes da preparação, caracterização e propriedades de monocamadas auto-montadas (*self-assembled monolayers, SAMs*) de alcanotióis em superfícies de Au (planas e em nanopartículas) encontra-se no artigo de revisão publicado na revista Química “Monocamadas auto-montadas de alcanotióis - das superfícies planas à estabilização de nanopartículas de ouro” (V.C. Ferreira, F. Silva, L.M. Abrantes, *Química* 111 (2008) 37-48), pelo que não serão aqui abordados em profundidade.

As monocamadas auto-montadas constituem-se como modelos para estudos de transferência electrónica, conferem elevada selectividade e sensibilidade aos eléctrodos modificados, permitem conhecer a composição química e estrutural das superfícies e efectuar modificações adicionais posteriores [53-55]. A facilidade de preparação, estabilidade e versatilidade torna-as atractivas para diversas aplicações (por exemplo controlar a hidrofiliabilidade/hidrofobicidade das superfícies, lubrificação, adesão, corrosão, (electro)catálise, desenvolvimento de (bio)sensores e padronização), pois permitem controlar as propriedades físicas e químicas dos eléctrodos modificados [53, 55]. As moléculas mais habitualmente empregues em superfícies de Au são os *n*-alcanotióis, dialquilsulfuretos e dialquildissulfuretos [55, 56] e a auto-montagem é controlada pela elevada afinidade do enxofre para a superfície de ouro. A estabilidade, organização e compacidade das SAMs é afectada pelas interacções molécula/substrato, entre moléculas adsorvidas e entre os grupos terminais das moléculas. Os grupos terminais são responsáveis pelas propriedades interfaciais dos eléctrodos modificados (figura 1.1); os

mais comuns são os grupos metilo, amina, ácido carboxílico, hidroxilo e tiol [57-61], embora outras funcionalidades como grupos polimerizáveis sejam de interesse em muitas aplicações [62-64].

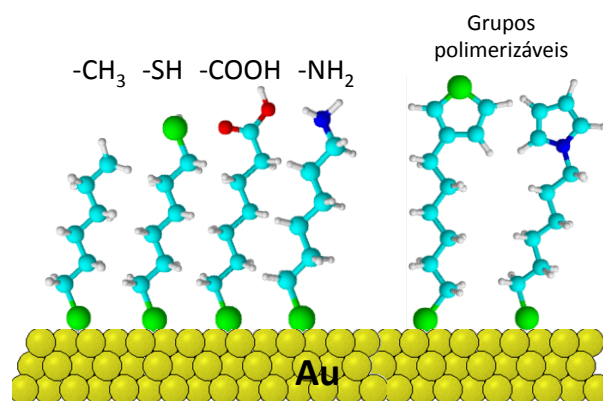


Figura 1.1 - Representação esquemática de alcanotióis com diferentes grupos terminais.

As monocamadas funcionalizadas com grupos terminais livres na interface com a solução estão na base do desenvolvimento de superfícies nanoestruturadas e arquiteturas bi- e tri-dimensionais com outras moléculas e nanopartículas metálicas [55, 65, 66], embora a funcionalização seja limitada pela disponibilidade e capacidade de síntese das moléculas apropriadas e/ou pela possibilidade de pós-funcionalização das monocamadas pré-formadas.

Diversas abordagens têm sido usadas para a funcionalização de SAMs de alcanotióis (figura 1.2), em particular a formação de monocamadas (simples e mistas) a partir de moléculas com grupos funcionais terminais adequados para posterior modificação. Destes salientam-se os seguintes: (i) os grupos tiol terminais para imobilização de Au-NPs através da interação Au-S [59, 66-73] e de iões metálicos, por adsorção e posterior redução electroquímica e/ou redução do ião metálico em simultâneo com a oxidação dos grupos tiol terminais a dissulfuretos [73, 74]; e (ii) os grupos ionizáveis, como o ácido carboxílico e a amina, tanto para estabelecer interações electrostáticas [58, 75-77] como para acoplamento covalente com outras moléculas após activação química (por exemplo ADN, proteínas, enzimas ou grupos funcionais de moléculas imobilizadas em NPs) [60, 61, 78-81].

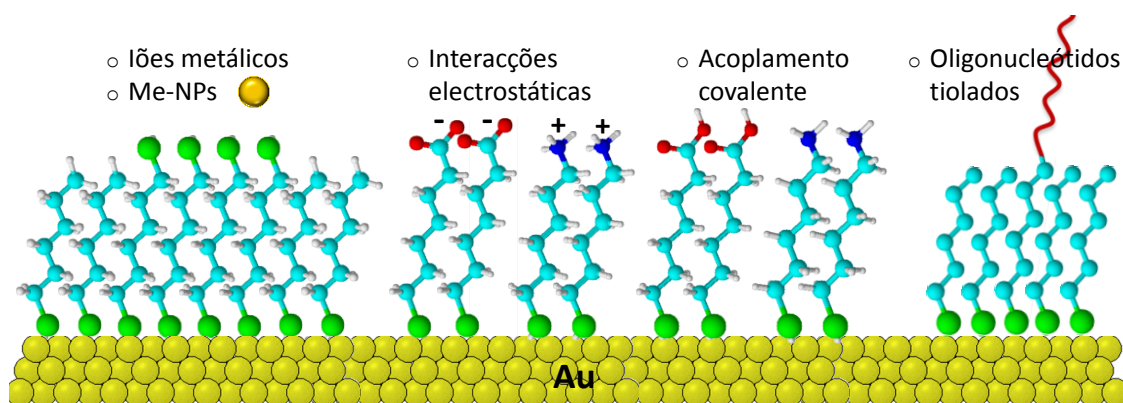


Figura 1.2 - Representação esquemática de algumas abordagens usadas na modificação de SAMs de alcanotóis com base em diversas interações e funcionalidades.

A construção de biosensores com base em SAMs funcionalizadas tem sido reportada. A imobilização covalente de biomoléculas permite controlar a quantidade imobilizada, evita a desorção para o seio da solução, não limita a acessibilidade na hibridação de oligonucleótidos nem parece afectar a actividade catalítica de proteínas [60, 61, 78]. Zhou *et al.* [79] usaram diversas abordagens e mostraram que a imobilização através da interacção de afinidade entre a avidina (covalentemente imobilizada na SAM) e a biotina (na posição 5' da sequência complementar de ADN) permite obter uma resposta rápida e com elevada eficiência de hibridação. Outros autores usaram o acoplamento covalente entre grupos azina, em SAMs mistas, e acetileno, no oligonucleótido, para controlar a sua imobilização em superfícies de Au [80]. Uma outra abordagem interessante é a formação de monocamadas em superfícies de Au a partir de oligonucleótidos modificados com grupos tiol, conduzindo à formação de monocamadas funcionalizadas adequadas para a detecção da hibridação com a sequência complementar [78]. Neste caso a concentração da solução de imobilização e o tempo de imersão permitem controlar a quantidade de moléculas depositadas na superfície e a detecção da imobilização e hibridação dos oligonucleótidos pode ser obtida electroquimicamente na presença de espécies electroactivas em solução [82-85].

A imobilização de Au-NPs em SAMs permite aumentar a área superficial dos eléctrodos modificados com vantagens, em particular no desenvolvimento de sensores e biosensores [59, 71]. Au-NPs pré-formadas imobilizadas electrostaticamente em SAMs de cistamina conduzem à discriminação da resposta electroquímica da oxidação da dopamina (DA) na

presença de ácido ascórbico (AA) [75]; Au-NPs depositadas em monocamadas de 1,6-hexanoditiol através de interacção Au-S permitiram a detecção electrocatalítica da oxidação do AA, sem interferência da presença de ácido úrico [71] e a imobilização de heparina e a detecção da interacção com a antitrombina III, por microbalança de cristal de quartzo [59].

A formação de SAMs com grupos polimerizáveis, como o pirrolilo, favorece a nucleação e crescimento do polipirrolo (PPy) e a aderência dos filmes à superfície do eléctrodo e afecta a morfologia dos filmes [62-64].

1.3. Eléctrodos modificados por polímeros condutores

A polimerização electroquímica constitui um modo conveniente e versátil para a formação de filmes de polímeros condutores (PCs); estes têm sido amplamente usados na modificação de superfícies de eléctrodos, pois as suas propriedades, em especial a área superficial, a porosidade e a condutividade, podem ser controladas pelas condições experimentais de síntese e dopagem [86-89]. Os eléctrodos modificados com PCs são atractivos para aplicação em electrocatálise e no desenvolvimento sensores e biosensores. Entre os monómeros mais usados encontram-se a polianilina (PAni), o polipirrolo (PPy) e o politiofeno (PT) e seus derivados. A modificação de eléctrodo com PCs permite controlar as propriedades das superfícies e funcionalizá-las. Neste caso, é possível tirar partido dos grupos funcionais existentes na estrutura do polímero, como por exemplo os grupos amina nos filmes de politionina, adequados para o acoplamento covalente com biomoléculas como o ADN [90] ou os átomos de enxofre na estrutura do poli(3,4-etilenodioxitiofeno) (PEDOT) e do poli(3-metiltiofeno) (P(3-MeT)) responsáveis pela imobilização de Au e Ag-NPs pré-formadas através da interacção Metal-S [91].

Comparativamente com superfícies modificadas com SAMs, os PCs apresentam algumas vantagens, em particular a já referida elevada área superficial e as propriedades condutoras da matriz polimérica [92].

A formação de materiais compósitos envolvendo polímeros condutores e nanopartículas metálicas pretende tirar partido das características individuais de ambos os materiais, combinando-as para obter superfícies modificadas com propriedades distintas das dos seus componentes [92, 93]. A morfologia e estrutura da matriz polimérica garantem uma elevada área superficial, dispersão das partículas, elevada eficiência de transporte de carga, estabilidade, contacto eléctrico entre os componentes e possibilidade de dispersão das NPs; as características das M-NPs, em particular as estruturais, electrónicas, ópticas e químicas são distintas dos materiais à escala macroscópica. Entre as vantagens dos compósitos salientam-se a área superficial, a densidade de locais reactivos na superfície, a resposta rápida e a estabilidade [92, 93]. O método de preparação é um factor importante na distribuição homogénea das NPs. Existem diversas metodologias para a imobilização de partículas metálicas em matrizes poliméricas, tanto químicas como electroquímicas [94-97], das quais se salientam as seguintes:

(i) a síntese de Au-NPs estabilizadas por PPy, num único passo, em que o sal de Au(III) é usado como agente oxidante para a formação do polímero, com a formação simultânea das partículas [96, 98];

(ii) a incorporação de NPs pré-sintetizadas na matriz polimérica durante a electropolimerização [99-101], embora não tirando partido de interacções específicas polímero/NPs;

(iii) a deposição de NPs por precipitação electroless, por exemplo em filmes de PANi, em meio ácido. Este processo ocorre devido à oxidação espontânea do polímero e redução simultânea do ião metálico em solução [89, 102, 103]. Em meio ácido a PANi encontra-se no estado protonado; na presença de iões metálicos, que podem actuar como oxidantes do filme, ocorre a desprotonação espontânea e oxidação do polímero, com redução simultânea dos iões ao estado metálico. Este processo apenas ocorre usando iões de metais nobres cujo potencial de redução se encontra no intervalo de potencial da conversão redox do polímero e é auto-sustentado enquanto houver polímero exposto na interface com a solução, pois a PANi em meio ácido é reprotonada.

(iv) a polimerização de grupos terminais polimerizáveis (por exemplo o pirrolilo e o tienilo [95, 104]) em monocamadas auto-montadas na superfície de Au-NPs, em analogia com a formação de SAMs em superfícies planas (figura 1.3). Pode ser efectuada por oxidação química em solução [94, 104, 105], obtendo-se Au-NPs envolvidas por uma camada de

polímero (figura 1.3 (a)) ou por polimerização electroquímica em superfícies de eléctrodos, na presença de unidades monoméricas em solução (figura 1.3 (b)) [95]. Neste caso, as nanopartículas apresentam elevada estabilidade e funcionalidade conferida pelo polímero [106]. No entanto, embora esta metodologia permita a distribuição aleatória das NPs na matriz polimérica, a cadeia alquilo que geralmente faz a ponte entre as NPs e os grupos polimerizáveis (e o polímero) (figura 1.3), dificulta a transferência de carga através do material [97];

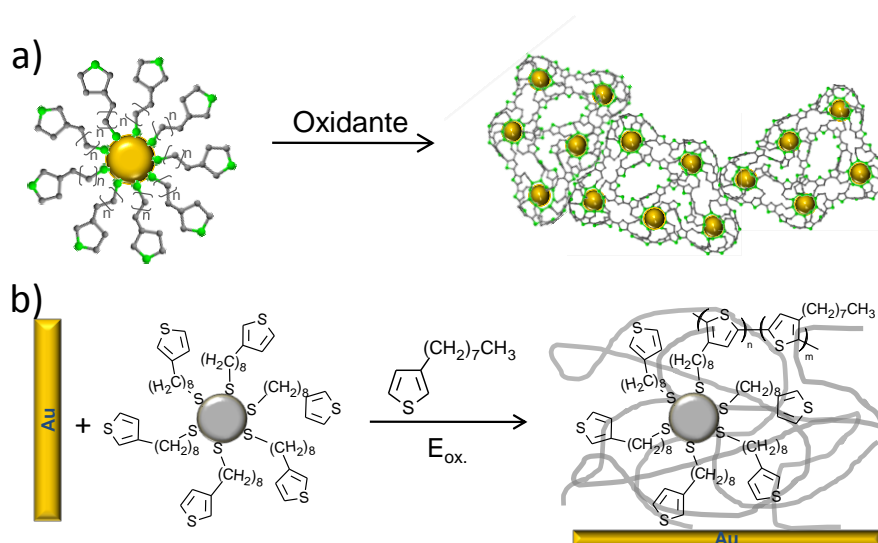


Figura 1.3 - Representação esquemática de (a) polimerização química em SAMs com derivados polimerizáveis em Au-NPs e (b) polimerização electroquímica entre monómeros em solução e unidades monoméricas em derivados auto-montados em SAMs em Au-NPs.

(v) a imobilização através de interacções químicas Metal-S em polímeros condutores com átomos de enxofre na sua estrutura (figura 1.4); foi inicialmente reportado para a imobilização de Ag- e Au-NPs em filmes de P(3-MeT) e PEDOT, preparados potenciostaticamente [91]. Este método de adsorção específica das NPs em filmes poliméricos é simples, apenas requer a imersão do polímero na suspensão coloidal por um dado período de tempo, permite seleccionar a forma e tamanho das NPs (pré-sintetizadas) e controlar a quantidade imobilizada;

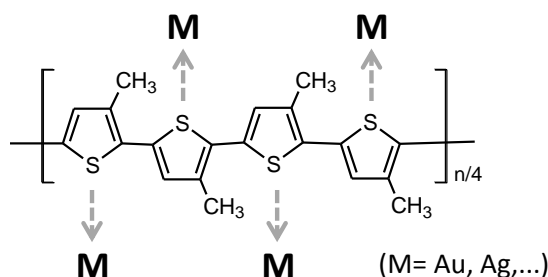


Figura 1.4 - Representação esquemática dos locais de interacção entre as nanopartículas metálicas e o polímero.

Kumar *et al.* [107] estudaram compósitos formados por Au-NPs (20-40 nm) e PEDOT, a partir de NPs estabilizadas por moléculas de monómero e posterior electroxidação para formação do polímero; os compósitos preparados em meio orgânico apresentaram actividade electrocatalítica, permitindo a determinação selectiva de AA e DA. Em contraste, compósitos preparados em meio aquoso não apresentaram electroactividade. No entanto, outros autores verificaram que compósitos de PEDOT e Au-NPs ($\varnothing \approx 5$ nm), pré-sintetizadas, incorporadas na matriz polimérica durante a electropolimerização galvanostática em meio aquoso, conduzem igualmente à determinação selectiva do AA e DA devido à presença de surfactantes [108]. Alguns autores referem que a incorporação de nanopartículas, pré-sintetizadas, de Pt ($\varnothing = 5-6$ nm) e Pt-Pd ($\varnothing = 9-10$ nm) em filmes de PT durante a electropolimerização potenciodinâmica, permite obter uma distribuição homogénea de NPs em toda a espessura do filme [100]. Selvaraj *et al.* [100] verificaram que as NPs assim depositadas se encontram distribuídas tanto no interior do filme como à superfície e que esta metodologia confere elevada actividade electrocatalítica aos eléctrodos modificados para a electroxidação do ácido fórmico. Também Bouzek *et al.* [109], que analisaram diferentes metodologias de deposição de Pt-NPs em filmes de PPy, concluíram que a incorporação durante a electropolimerização potencioestática conduz a uma distribuição tridimensional das NPs no interior da matriz polimérica. No entanto a acessibilidade de espécies em solução à superfície das partículas metálicas encapsuladas por polímeros é limitada. Este problema pode ser ultrapassado pela deposição de NPs após electropolimerização, em particular por precipitação electroless [93, 110] e através de interacções Metal-S, de NPs pré-sintetizadas e polímeros condutores de derivados do tiofeno [91]. Embora seja limitado o controlo sobre a

distribuição e tamanho de M-NPs depositadas na superfície de polímero por precipitação electroless [103], Mourato *et al.* [93] mostraram que o modo de crescimento, a morfologia de filmes de PPy e o tempo para a precipitação electroless de partículas de paládio afecta a resposta electrocatalítica dos compósitos para a reacção de oxidação da hidrazina (HZ); os filmes rugosos, crescidos potenciodinamicamente, com Pd-NPs pequenas (20 nm) distribuídas na superfície do filme conduzem a menor sobrepotencial e maior densidade de corrente de oxidação da HZ do que filmes formados potenciostaticamente, com menor rugosidade, e longos períodos de precipitação electroless. Os mesmos autores verificaram que os compósitos PAni/Pd-NPs ($\varnothing \approx 100$ nm) são igualmente electrocatalíticos para a hidrogenação do 4-nitrobenzaldeído [110]; Li *et al.* [111] mostraram que a detecção de nitrito em compósitos PPy/Pt-NPs ($\varnothing \approx 9$ nm) é afectada pela espessura do filme crescido potenciodinamicamente. Cho *et al.* [91] verificaram que a interacção responsável pela deposição de Ag- e Au-NPs, pré-sintetizadas, em filmes poliméricos depende da natureza do filme. Enquanto no PPy interacções não-específicas conduzem à imobilização de um número muito reduzido de NPs após longos períodos de imersão ($t = 1$ h), o P(3-MeT) e o PEDOT permitem a deposição de um elevado número de partículas, após tempos de imersão curtos (5 min.), devido às interacções específicas M-S. A actividade electrocatalítica de compósitos formados por P(3-MeT) e Pt-Ag-NPs e Au-NPs, respectivamente para a reacção de redução de protões [112] e para a detecção de nitrito e iodato [113], depende da área superficial do polímero, pois a estrutura porosa do filme favorece a distribuição das NPs.

1.4. Estrutura da tese

O presente trabalho engloba os aspectos relacionados com a preparação de suspensões coloidais de Au- e Pt-NPs, a sua imobilização em superfícies modificadas com monocamadas auto-montadas e polímeros condutores e a avaliação do desempenho dos eléctrodos modificados para aplicação em electrocatálise e biosensores, do qual resultou a publicação de 5 artigos científicos originais em revistas internacionais com arbitragem. O primeiro capítulo de resultados, Capítulo 2, mostra como as condições de síntese das NPs

afecta a sua forma, tamanho e estrutura cristalográfica superficial e como essa estrutura se reflecte no comportamento electroquímico das Au-NPs. O Capítulo 3 aborda a formação e caracterização de monocamadas auto-montadas de α,ω -alkanoditióis em superfícies de ouro, e a selecção das condições que conduzem à sua organização, estabilidade e funcionalização, para o desenvolvimento de arquitecturas tri-dimensionais com Au-NPs; este capítulo contempla ainda a formação de SAMs funcionalizadas com oligonucleótidos tiolados e a avaliação do desempenho como biosensores de ADN. Por último, no Capítulo 4 estuda-se a modificação de eléctrodos de platina por electropolimerização de diferentes monómeros e avalia-se o seu comportamento electroquímico. Os materiais compósitos formados por imobilização de Au- e Pt-NPs na matriz polimérica, são empregues na análise das propriedades electrocatalíticas e no desenvolvimento de (bio)sensores.

1.5. Referências

- [1] M.-C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **104** (2004) 293.
- [2] A.N. Shipway, E. Katz, I. Willner, *Chem. Phys. Chem.* **1** (2000) 18.
- [3] C.M. Welch, R.G. Compton, *Anal. Bioanal. Chem.* **384** (2006) 601.
- [4] N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy, *Adv. Mater.* **13** (2001) 1389.
- [5] J. Solla-Gullón, P. Rodríguez, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10** (2008) 1359.
- [6] J. Solla-Gullón, F.J. Vidal-Iglesias, A. López-Cudero, E. Garnier, J.M. Feliu, A. Aldaz, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10** (2008) 3689.
- [7] E. Coronado, A. Ribera, J. García-Martínez, N. Linares, L.M. Liz-Marzán, *J. Mater. Chem.* **18** (2008) 5682.
- [8] J. Yang, T.C. Deivaraj, H.-P. Too, J.Y. Lee, *Langmuir* **20** (2004) 4241.
- [9] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 15700.
- [10] J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L.M. Liz-Marzán, P. Mulvaney, *Coord. Chem. Rev.* **249** (2005) 1870.

- [11] N.C. Bigall, T. Hartling, M. Klose, P. Simon, L.M. Eng, A. Eychmuller, *Nano Lett.* **8** (2008) 4588.
- [12] K.R. Brown, D.G. Walter, M.J. Natan, *Chem. Mater.* **12** (2000) 306.
- [13] N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy, *J. Phys. Chem. B* **105** (2001) 4065.
- [14] J. Solla-Gullón, F.J. Vidal-Iglesias, E. Herrero, J.M. Feliu, A. Aldaz, *Electrochem. Commun.* **8** (2006) 189.
- [15] Y. Chen, X. Gu, C.-G. Nie, Z.-Y. Jiang, Z.-X. Xie, C.-J. Lin, *Chem. Commun.* (2005) 4181.
- [16] J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* **11** (1951) 55.
- [17] G. Frens, *Kolloid Z. Z. Polym.* **250** (1972) 736.
- [18] G. Frens, *Nature Phys. Sci.* **241** (1973) 20.
- [19] M. Grzelczak, J. Pérez-Juste, P. Mulvaney, L.M. Liz-Marzán, *Chem. Soc. Rev.* **37** (2008) 1783.
- [20] M. Tornblom, U. Henriksson, *J. Phys. Chem. B* **101** (1997) 6028.
- [21] X. Kou, S. Zhang, C.-K. Tsung, M.H. Yeung, Q. Shi, G.D. Stucky, L. Sun, J. Wang, C. Yan, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 16377.
- [22] J. Perez-Juste, L.M. Liz-Marzán, S. Carnie, D.Y.C. Chan, P. Mulvaney, *Adv. Funct. Mater.* **14** (2004) 571.
- [23] C.J. Johnson, E. Dujardin, S.A. Davis, C.J. Murphy, S. Mann, *J. Mater. Chem.* **12** (2002) 1765.
- [24] C.J. Murphy, T.K. Sau, A.M. Gole, C.J. Orendorff, J. Gao, L. Gou, S.E. Hunyadi, T. Li, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 13857.
- [25] B. Nikoobakht, M.A. El-Sayed, *Chem. Mater.* **15** (2003) 1957.
- [26] T.K. Sau, C.J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 8648.
- [27] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 14078.
- [28] T.K. Sau, C.J. Murphy, *Langmuir* **20** (2004) 6414.
- [29] P.L. Gai, M.A. Harmer, *Nano Lett.* **2** (2002) 771.
- [30] Z.L. Wang, R.P. Gao, B. Nikoobakht, M.A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* **104** (2000) 5417.
- [31] Z.L. Wang, M.B. Mohamed, S. Link, M.A. El-Sayed, *Surf. Sci.* **440** (1999) L809.
- [32] T.S. Ahmadi, Z.L. Wang, A. Henglein, M.A. El-Sayed, *Chem. Mater.* **8** (1996) 1162.

- [33] F.J. Vidal-Iglesias, J. Solla-Gullón, P. Rodríguez, E. Herrero, V. Montiel, J.M. Feliu, A. Aldaz, *Electrochem. Commun.* **6** (2004) 1080.
- [34] J. Solla-Gullón, F.J. Vidal-Iglesias, P. Rodríguez, E. Herrero, J.M. Feliu, J. Clavilier, A. Aldaz, *J. Phys. Chem. B* **108** (2004) 13574.
- [35] D. Geng, G. Lu, *J. Nanopart. Res.* **9** (2007) 1145.
- [36] Y. Chen, W. Schuhmann, A.W. Hassel, *Electrochem. Commun.* **11** (2009) 2036.
- [37] B.K. Jena, C.R. Raj, *Langmuir* **23** (2007) 4064.
- [38] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, J.M. Feliu, A. Aldaz, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **9** (2009) 2256.
- [39] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 12651.
- [40] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, *J. Electroanal. Chem.* **574** (2004) 185.
- [41] F. Patolsky, K.T. Ranjit, A. Lichtenstein, I. Willner, *Chem. Commun.* (2000) 1025.
- [42] H. Cai, Y. Wang, P. He, Y. Fang, *Anal. Chim. Acta* **469** (2002) 165.
- [43] J.J. Storhoff, R. Elghanian, R.C. Mucic, C.A. Mirkin, R.L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **120** (1998) 1959.
- [44] M. Wang, C. Sun, L. Wang, X. Ji, Y. Bai, T. Li, J. Li, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **33** (2003) 1117.
- [45] J. Wang, S. Zhang, Y. Zhan, *Anal. Biochem.* **396** (2010) 304.
- [46] F. Li, Y. Feng, P. Dong, B. Tang, *Biosens. Bioelectron.* **25** (2010) 2084.
- [47] P. Du, H. Li, Z. Mei, S. Liu, *Bioelectrochemistry* **75** (2009) 37.
- [48] J.J. Storhoff, R. Elghanian, C.A. Mirkin, R.L. Letsinger, *Langmuir* **18** (2002) 6666.
- [49] S.J. Hurst, A.K.R. Lytton-Jean, C.A. Mirkin, *Anal. Chem.* **78** (2006) 8313.
- [50] J. Yang, J.Y. Lee, H.-P. Too, G.-M. Chow, L.M. Gan, *Chem. Phys.* **323** (2006) 304.
- [51] J. Wang, D. Xu, A.N. Kawde, R. Polsky, *Anal. Chem.* **73** (2001) 5576.
- [52] N.N. Zhu, Z. Chang, P.G. Heb, Y.Z. Fang, *Anal. Chim. Acta* **545** (2005) 21.
- [53] H.O. Finklea, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A. Meyers ed., John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, **2000**.
- [54] H.O. Finklea, *Encyclopedia of Electrochemistry*, vol. 10, A.J. Bard e M. Stratmann ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.

- [55] J.C. Love, L.A. Estroff, J.K. Kriebel, R.G. Nuzzo, G.M. Whitesides, *Chem. Rev.* **105** (2005) 1103.
- [56] A. Ulman, *Chem. Rev.* **96** (1996) 1533.
- [57] C.E.D. Chidsey, D.N. Loiacono, *Langmuir* **6** (1990) 682.
- [58] C.R. Bradbury, J. Zhao, D.J. Fermín, *J. Phys. Chem. C* **112** (2008) 10153.
- [59] Q. Zhang, Y. Huang, R. Zhao, G. Liu, Y. Chen, *J. Colloid Interf. Sci* **319** (2008) 94.
- [60] D. Chen, J. Li, *Surf. Sci. Rep.* **61** (2006) 445.
- [61] Y.-D. Zhao, D.-W. Pang, S. Hu, Z.-L. Wang, J.-K. Cheng, H.-P. Dai, *Talanta* **49** (1999) 751.
- [62] R.J. Willicut, R.L. McCarley, *Langmuir* **11** (1995) 296.
- [63] J.F. Cabrita, A.S. Viana, C. Eberle, F.-P. Montforts, A. Mourato, L.M. Abrantes, *Surf. Sci.* **603** (2009) 2458.
- [64] E. Smela, G. Zuccarello, H. Kariis, B. Liedberg, *Langmuir* **14** (1998) 2970.
- [65] M. Chirea, V. García-Morales, J.A. Manzanares, C. Pereira, R. Gulaboski, F. Silva, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 21808.
- [66] M. Lu, X. H. Li, B. Z. Yu, H. L. Li, *J. Colloid Interf. Sci.* **248** (2002) 376.
- [67] T. Ohgi, H.-Y. Sheng, H. Nejoh, *Appl. Surf. Sci.* **130-132** (1998) 919.
- [68] C.J. Zhong, W.X. Zheng, F.L. Leibowitz, *Electrochem. Commun.* **1** (1999) 72.
- [69] M. Chirea, A. Cruz, C.M. Pereira, A.F. Silva, Chirea, *J. Phys. Chem. C* **113** (2009) 13077.
- [70] K. Stolarczyk, R. Bilewicz, *Electrochim. Acta* **51** (2006) 2358.
- [71] A. Sivanesan, P. Kannan, S.A. John, *Electrochim. Acta* **52** (2007) 8118.
- [72] M. Yang, Z. Zhang, *Electrochim. Acta* **49** (2004) 5089.
- [73] D. Qu, K. Uosaki, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 17570.
- [74] J.F. Hicks, F.P. Zamborini, R.W. Murray, *J. Phys. Chem. B* **106** (2002) 7751.
- [75] M. Brust, P.M. Blass, A.J. Bard, *Langmuir* **13** (1997) 5603.
- [76] C.R. Raj, T. Okajima, T. Ohsaka, *J. Electroanal. Chem.* **543** (2003) 127.
- [77] J. Zhao, C.R. Bradbury, D.J. Fermín, *J. Phys. Chem. C* **112** (2008) 6832.
- [78] F. Lucarelli, G. Marrazza, A.P.F. Turner, M. Mascini, *Biosens. Bioelectron.* **19** (2004) 515.
- [79] X.C. Zhou, L.Q. Huang, S.F.Y. Li, *Biosens. Bioelectron.* **16** (2001) 85.
- [80] N.K. Devaraj, G.P. Miller, W. Ebina, B. Kakaradov, J.P. Collman, E.T. Kool, C.E.D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.* **127** (2005) 8600.

- [81] E.W.L. Chan, L. Yu, *Langmuir* **18** (2002) 311.
- [82] J. Zhang, S. Song, L. Zhang, L. Wang, H. Wu, D. Pan, C. Fan, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 8575.
- [83] A.B. Steel, T.M. Herne, M.J. Tarlov, *Anal. Chem.* **70** (1998) 4670.
- [84] S.O. Kelley, E.M. Boon, J.K. Barton, N.M. Jackson, M.G. Hill, *Nucleic Acids Res.* **27** (1999) 4830.
- [85] F. Turcu, A. Schulte, G. Hartwich, W. Schuhmann, *Biosens. Bioelectron.* **20** (2004) 925.
- [86] A.I. Melato, A.S. Viana, L.M. Abrantes, *Electrochim. Acta* **54** (2008) 590.
- [87] J.P. Correia, L.M. Abrantes, *Synth. Met.* **156** (2006) 287.
- [88] A.I. Melato, A.S. Viana, L.M. Abrantes, *J. Solid State Electr.* **14** (2010) 523.
- [89] A. Mourato, A.S. Viana, J.P. Correia, H. Siegenthaler, L.M. Abrantes, *Electrochim. Acta* **49** (2004) 2249.
- [90] V. Ferreira, A. Tenreiro, L.M. Abrantes, *Sensor Actuat. B-Chem.* **119** (2006) 632.
- [91] S.H. Cho, S.-M. Park, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 25656.
- [92] D.W. Hatchett, M. Josowicz, *Chem. Rev.* **108** (2008) 746.
- [93] A. Mourato, J.F. Cabrita, A.M. Ferraria, A.M. Botelho do Rego, L.M. Abrantes, *Catalysis Today* **158** (2010) 2.
- [94] Rajesh, T. Ahuja, D. Kumar, *Sensor Actuat. B-Chem.* **136** (2009) 275.
- [95] Z. Peng, E. Wang, S. Dong, *Electrochem. Commun.* **4** (2002) 210.
- [96] K. Huang, Y. Zhang, D. Han, Y. Shen, Z. Wang, J. Yuan, Q. Zhang, L. Niu, *Nanotechnology* **17** (2006) 283.
- [97] B.C. Sih, M.O. Wolf, *Chem. Commun.* (2005) 3375.
- [98] S.T. Selvan, J.P. Spatz, H.-A. Klok, M. Möller, *Adv. Mater.* **10** (1998) 132.
- [99] V. Selvaraj, M. Alagar, I. Hamerton, *J. Power Sources* **160** (2006) 940.
- [100] V. Selvaraj, M. Alagar, I. Hamerton, *Appl. Catal. B-Environ.* **73** (2007) 172.
- [101] C. Zanardi, F. Terzi, L. Pigani, A. Heras, A. Colina, J. Lopez-Palacios, R. Seeber, *Electrochim. Acta* **53** (2008) 3916.
- [102] M. Ocyba, M. Ptasińska, A. Michalska, K. Maksymiuk, E.A.H. Hall, *J. Electroanal. Chem.* **596** (2006) 157.
- [103] V. Tsakova, *J. Solid State Electr.* **12** (2008) 1421.
- [104] Z. Zhang, F. Wang, F. Chen, G. Shi, *Mater. Lett.* **60** (2006) 1039.

- [105] T. Wang, D. Zhang, W. Xu, S. Li, D. Zhu, *Langmuir* **18** (2002) 8655.
- [106] J. Shan, H. Tenhu, *Chem. Commun.* (2007) 4580.
- [107] S.S. Kumar, J. Mathiyarasu, K.L. Phani, *J. Electroanal. Chem.* **578** (2005) 95.
- [108] C. Zanardi, F. Terzi, R. Seeber, *Sens. Actuat. B-Chem.* **148** (2010) 277.
- [109] K. Bouzek, K.-M. Mangold, K. Juttner, *Electrochim. Acta* **46** (2000) 661.
- [110] A. Mourato, S.M. Wong, H. Siegenthaler, L.M. Abrantes, *J. Solid State Electr.* **10** (2006) 140.
- [111] J. Li, X. Lin, *Microchem. J.* **87** (2007) 41.
- [112] G. Tourillon, F. Garnier, *J. Phys. Chem.* **88** (1984) 5281.
- [113] X. Huang, Y. Li, Y. Chen, L. Wang, *Sens. Actuat. B-Chem.* **134** (2008) 780.



Capítulo 2

Preparação e caracterização de nanopartículas de Ouro e de Platina

Parte do trabalho apresentado neste capítulo foi objecto do seguinte artigo:

- “Progress in the understanding of surface structure and surfactant influence on the electrocatalytic activity of gold nanoparticles”, V.C. Ferreira, J. Solla-Gullón, A. Aldaz, F. Silva, L.M. Abrantes, *Electrochimica Acta* (2011) (doi:10.1016/j.electacta.2011.01.105).

A síntese e parte da caracterização das Au-NPs (das amostras B a E) foi realizada no Instituto de Electroquímica da Universidade de Alicante University, Espanha, no grupo de Electroquímica Aplicada e Electrocatalise sob supervisão do Professor António Aldaz e a colaboração do Doutor José Solla-Gullón e do Doutor Francisco Vidal-Iglesias.

2. Preparação e caracterização de nanopartículas de Ouro e de Platina

2.1. Objectivo

Os estudos presentes neste capítulo tiveram como objectivos:

- Preparar suspensões coloidais de nanopartículas de ouro com forma e tamanho homogéneos e estrutura cristalina superficial distintas (policristalina ou com orientação cristalográfica específica, usando diferentes condições experimentais de síntese;
- Caracterizar as partículas preparadas, nomeadamente avaliando a relação entre as condições de síntese e os produtos obtidos, a homogeneidade de tamanho e forma, a orientação cristalográfica predominante na sua superfície e a estabilidade no tempo das suspensões coloidais de partículas esféricas, mediante a utilização de diversas técnicas (espectroscópicas, microscópicas e electroquímicas).
- Identificar as propriedades electroquímicas das nanopartículas preparadas, através de uma reacção sensível à orientação cristalográfica superficial, a oxidação do ácido ascórbico, e analisar o efeito do surfactante adsorvido, usado na síntese, na resposta electroquímica das partículas.
- Sintetizar e caracterizar nanopartículas de platina de pequenas dimensões, usando metodologias análogas às da preparação de Au-NPs esféricas.

2.2. Síntese de nanopartículas de Au e de Pt

As nanopartículas - pequenos agregados de átomos cujas dimensões se encontram entre 1 e 100 nm [1,2] - de ouro e de platina, Au- e Pt-NPs, usadas no decorrer do trabalho, foram sintetizadas e purificadas de acordo com os procedimentos mencionados no capítulo 5.

No que respeita à síntese de partículas de ouro estabilizadas por iões citrato fracamente adsorvidos, as da amostra A são obtidas por redução por citrato de sódio (reductor fraco) a temperatura elevada [3-5], enquanto para as da amostra B usa-se o borohidreto como

agente redutor (forte) à temperatura ambiente [6,7], de acordo com as condições indicadas na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Condições e concentrações dos reagentes usados na preparação das amostras A e B.

Amostra	Temp.	$C_{\text{Au(III)}}$ / mol dm ⁻³	C_{NaBH_4} / mol dm ⁻³	$C_{\text{Cit. Na}}$ / mol dm ⁻³
A	100 °C	$2,4 \times 10^{-4}$	---	$1,6 \times 10^{-3}$
B	$T_{\text{amb.}}$	$1,25 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-4}$

A redução do HAuCl₄ por citrato de sódio conduz à formação de partículas de maiores dimensões ($\varnothing \geq \approx 16$ nm) [3, 5, 8-10] do que as obtidas usando o borohidreto de sódio [3, 6, 7].

Nestas amostras o ião citrato adsorve-se na superfície das Au-NPs, estabilizando-as, prevenindo a sua agregação e conferindo-lhes uma carga negativa.

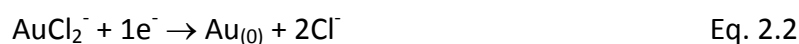
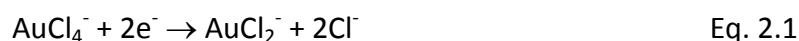
As Au-NPs das amostras C a G, obtidas pelo método de crescimento a partir de partículas pequenas (3-4 nm) designadas por sementes, são preparadas de acordo com as metodologias descritas no capítulo 5 e nas condições indicadas na tabela 2.2.

Nas amostras C, D e E usam-se sementes estabilizadas pelo surfactante brometo de hexadeciltrimetilamónio (CTAB), o que em especial na preparação de bastonetes tem sido referido como um factor importante para a obtenção de elevado rendimento na síntese de partículas com forma e tamanho homogéneos [7, 11, 12].

Tabela 2.2 - Condições usadas na preparação das Au-NPs das amostras C a G.

Amostra	T °C	Sementes			Crescimento		
		$C_{\text{Au(III)}}$ / mol dm ⁻³	C_{NaBH_4} / mol dm ⁻³	$C_{\text{estab.}}$ / mol dm ⁻³	$C_{\text{Au(III)}}$ / mol dm ⁻³	C_{AA} / mol dm ⁻³	C_{outros} / mol dm ⁻³
C	25	$3,0 \times 10^{-4}$	$7,2 \times 10^{-4}$	0,1 (CTAB)	$1,9 \times 10^{-4}$	$8,0 \times 10^{-3}$	0,015 CTAB
D	25-30	$2,5 \times 10^{-4}$	$6,0 \times 10^{-4}$	0,1 (CTAB)	$2,5 \times 10^{-4}$	$5,5 \times 10^{-4}$	0,1 CTAB $6,0 \times 10^{-5}$ Ag _(I)
E	25	$2,5 \times 10^{-4}$	$6,0 \times 10^{-4}$	0,1 (CTAB)	$2,5 \times 10^{-4}$	$5,6 \times 10^{-4}$	0,1 CTAB
F	$T_{\text{amb.}}$	$2,6 \times 10^{-4}$	$2,6 \times 10^{-3}$	$2,6 \times 10^{-3}$ (Cit. Na)	$2,7 \times 10^{-4}$	$5,3 \times 10^{-4}$	0,1 CTAB $5,3 \times 10^{-4}$ NaOH (pH 3,5)
G	25	$2,5 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-3}$	$2,5 \times 10^{-4}$ (Cit. Na)	$2,5 \times 10^{-4}$	$5,5 \times 10^{-4}$	0,1 CTAB

O crescimento das Au-NPs das amostras C e D é efectuado num único passo [6, 13] e o da amostra E é faseado, envolvendo a transferência de alíquotas de um recipiente reaccional para outro em sequência [14]. No crescimento usa-se o ácido ascórbico (AA) como agente redutor e o estabilizador CTAB, que é frequentemente empregue neste método de síntese. É um surfactante catiónico, que forma uma bicamada envolvente, com os grupos trimetilamónio da primeira monocamada orientados para a superfície de Au da partícula [12, 15, 16] e confere uma carga positiva às Au-NPs. O AA reduz os iões Au(III) a Au(I), equação 2.1, e na presença de sementes a redução do Au(I) ocorre na superfície destas através da equação 2.2; na presença de CTAB e sementes, a reacção pode ser traduzida pela equação 2.3 [12].



Quando as sementes são adicionadas a soluções de crescimento contendo concentrações adequadas dos reagentes é possível formar partículas de maiores dimensões com formas definidas.

Atendendo aos valores incluídos da tabela 2.2, o uso de baixa concentração de CTAB (0,015 mol dm⁻³, SigmaUltra, 99%) e elevada de AA (8,0 mmol dm⁻³) na síntese das partículas da amostra C favorece o crescimento rápido e a deposição de átomos de Au nas faces (111) levando à formação de partículas cúbicas, em concordância com o observado por Sau *et al.* [17]; por outro lado, concentrações elevadas de CTAB (0,1 mol dm⁻³) conduzem à formação de bastonetes nas amostras D e E.

Embora a acção do CTAB e de outros aditivos (como os iões prata) não seja completamente compreendida, atribui-se ao efeito do CTAB a formação de micelas alongadas em água, pelo que tem sido considerado como um templat para a obtenção de bastonetes [15]. Na sua presença, ajustando as condições de síntese, é também possível preparar Au-NPs com outras formas, tal como cubos - a amostra C [13]. É, pois, conhecido como molécula capaz de direccionar a estrutura da superfície, interagindo diferentemente com os distintos domínios cristalinos da superfície de Au, i.e., pela ordem (100) ≈ (110) > (111) [12, 18]. O bloqueio preferencial de certas faces cristalinas, promove o crescimento

de outras [15, 17, 19], o que permite preparar partículas com forma e orientação cristalográfica da superfície controlada. Assim, a formação de Au-NPs com formas distintas resulta da contribuição da tendência para o facetamento cristalográfico induzida pelo agente estabilizador e da cinética de crescimento (velocidade de fornecimento de átomos de Au para os planos cristalográficos) [17]. Na formação de bastonetes Perez-Juste *et al.* [7] consideraram a possibilidade de feitos de campo eléctrico localizado nas extremidades permitirem que os iões Au fortemente ligados às micelas de CTAB sofram redução. No entanto, a ausência de extremidades nas sementes esféricas requer a alteração inicial da sua morfologia, o que exige condições para a ocorrência de um campo eléctrico assimétrico que permita iniciar o crescimento preferencial. Para tal tem sido considerada a possibilidade de defeitos de empacotamento dos átomos e a existência de planos de simetria (*twinning planes*) nas sementes estarem na origem de tais observações [7, 15, 18]. Uma vez atingida uma dimensão crítica dos domínios cristalinos nas sementes que permitam a estabilização diferenciada por moléculas de surfactante, é a velocidade de crescimento dessas faces que determina a forma final das Au-NPs [19]. Os planos com orientação (110) e (100) crescem mais lentamente e são mais fortemente estabilizados pelo CTAB, muito provavelmente devido ao espaçamento dos átomos de Au nesses domínios ser mais comparável com o tamanho dos grupos carregados do CTA⁺ do que nos domínios densamente empacotados de Au(111) [15, 18, 20].

As amostras D e E preparadas na presença e ausência de Ag(I), respectivamente, mostram o efeito da adição de iões prata à solução de crescimento. Estes iões afectam significativamente o rendimento na preparação de Au-NPs em forma de bastonetes [12, 15], pois na ausência de Ag(I), amostra E, a quantidade de bastonetes formada é menor e ocorrem subprodutos com outras formas que são rejeitados. Embora Liu *et al.* [11] considerem que a estabilização dos domínios da superfície acompanha o desvio de potencial para a deposição a sub-potencial de Ag na superfície de Au das nanopartículas, que é mais favorável na ordem (110) > (100) > (111), a análise por Espectroscopia por Energia Dispersiva de raios-X (EDX) das Au-NPs da amostra D não revela a presença de prata. Assim, a hipótese de os iões Ag(I) adsorverem na superfície das nanopartículas na forma de pares Ag-Br, restringindo o crescimento segundo os planos cristalográficos passivados [12], ou a de os pares Ag-Br entre os grupos positivamente carregados do CTA⁺, diminuírem a densidade de carga dos iões Br⁻ e favorecerem a adsorção e empacotamento

das moléculas de surfactante nos planos (110), pela diminuição das repulsões entre grupos vizinhos adsorvidos [19], é mais provável.

Nas amostras F e G as sementes são estabilizadas por iões citrato como indicado na tabela 2.2. O crescimento a partir destas é efectuado de modo faseado [21, 22] em soluções contendo CTAB (Riedel-de-Haen, 98%), AA e Au(III) em proporções semelhantes às usadas na preparação da amostra E (tabela 2.2). O pH da solução de crescimento das Au-NPs da amostra F foi ajustado a pH 3,5, pois nestas condições Busbee *et al.* [21] reportaram a formação de Au-NPs em que cerca de 90% são bastonetes. Da síntese da amostra G resultam Au-NPs com tamanhos distintos em cada passo (1-3) que são designadas por amostras G(1), G(2) e G(3) [22].

As nanopartículas de platina das amostras A e B são preparadas a partir do sal K_2PtCl_6 pelos métodos usados na síntese das Au-NPs das amostras A e B, respectivamente, e são igualmente estabilizadas por iões citrato.

2.3. Caracterização de suspensões coloidais de Au e de Pt-NPs

2.3.1. Nanopartículas esféricas de ouro e de platina estabilizadas por iões citrato

Os espectros de UV-vis das amostras A e B constam na figura 2.1. As suspensões coloidais de Au-NPs absorvem luz na região do visível, a cerca de 520 nm (vermelho) [23-25], devido à ressonância de plasmão de superfície (*Surface Plasmon Resonance, SPR*). A posição da banda de absorção característica, banda de plasmão de superfície de Au-NPs de pequenas dimensões (ausente na solução do sal de Au ($HAuCl_4$) no espectro incluído na figura 2.1), centrada a cerca de 521 nm para a amostra A e 513 nm para a amostra B, concorda com os dados da literatura [3]. Os valores de comprimento de onda da banda de absorção destas amostras ($\lambda_A > \lambda_B$) revelam a formação de partículas com diâmetros ≤ 20 nm e $\phi_A > \phi_B$, pois a intensidade aumenta com o tamanho sem grande deslocamento do pico de absorção para partículas com diâmetro até cerca de 20 nm [3]. As imagens de microscopia

electrónica de transmissão (*Transmission Electron Microscopy, TEM*) apresentadas na figura 2.2 (A e B) suportam a afirmação anterior.

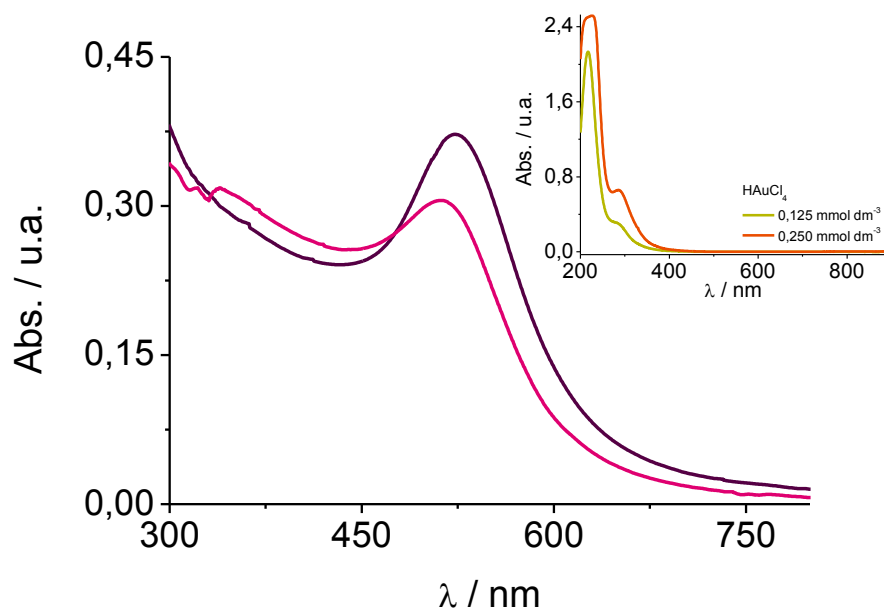


Figura 2.1 - Espectros de absorção na gama de UV-vis de suspensões coloidais de Au-NPs estabilizadas por iões citrato, nas amostras: A (—) e B (—). Detalhe incluído na figura: espectros de absorção de soluções de HAuCl_4 (—) $0,125 \text{ mmol dm}^{-3}$ e (—) $0,25 \text{ mmol dm}^{-3}$.

As imagens da figura 2.2, representativas das amostras, e os correspondentes histogramas, construídos com base na medição de 200 a 300 partículas usando o programa *Image J* (*National Institute of Health*), confirmam a formação de Au-NPs com tamanhos distintos usando os agentes redutores citrato de sódio (A, $\varnothing = 16 \pm 2 \text{ nm}$) e borohidreto (B, $\varnothing = 3,8 \pm 0,6 \text{ nm}$).

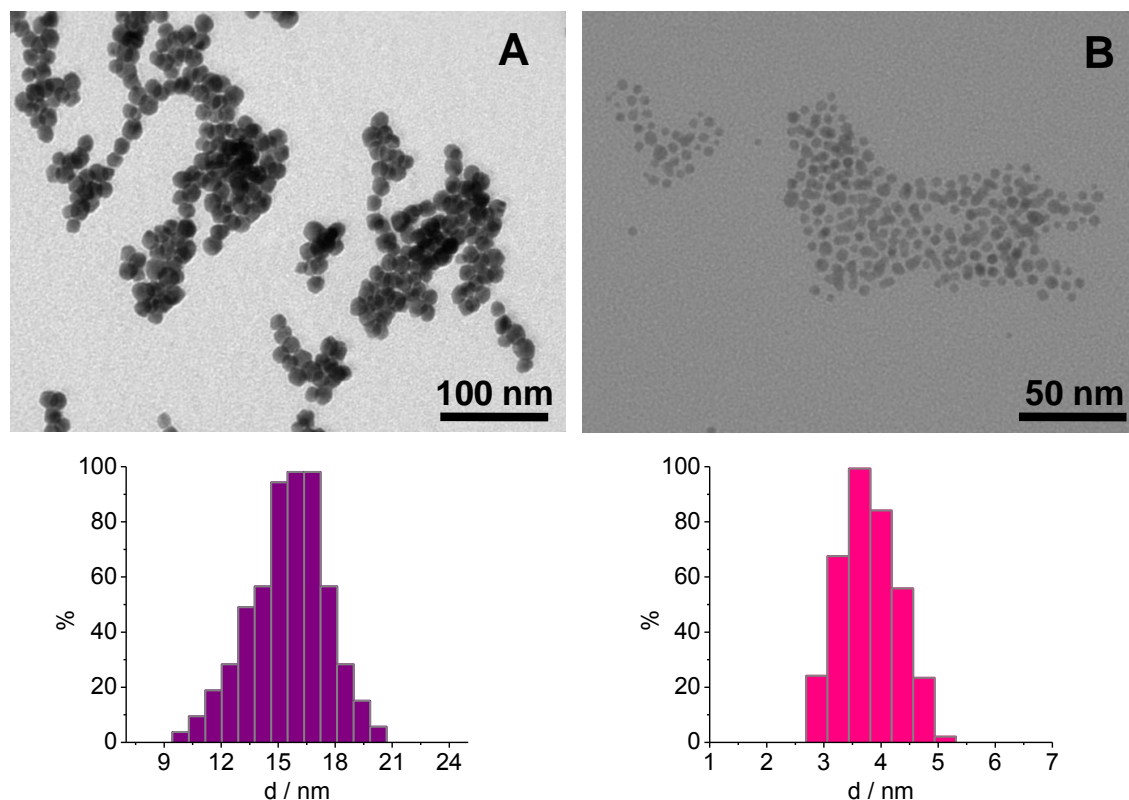


Figura 2.2 – Micrografias de *TEM* obtidas para as suspensões coloidais de Au-NPs estabilizadas por íons citrato, nas amostras: A e B, e respectivos histogramas.

As Pt-NPs não apresentam banda de plasmão de superfície na gama de comprimentos de onda da região Ultra-violeta/visível, no entanto a sua formação pode ser acompanhada pelo desaparecimento da banda de absorção do sal de platina (K_2PtCl_6) em água a cerca de 258 nm como se ilustra na figura 2.3.

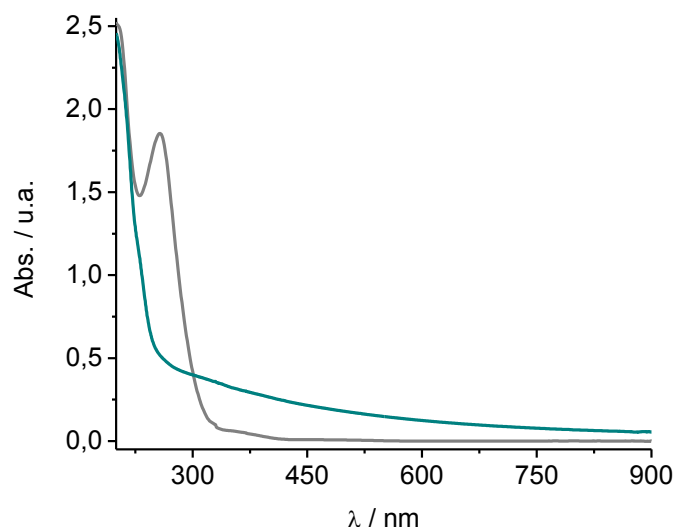


Figura 2.3 - Espectros de absorção na gama de UV-vis de suspensões coloidais de Pt-NPs estabilizadas por íons citrato na amostra A (—) e comparação com o espectro obtido para o sal de platina, $0,125 \text{ mmoldm}^{-3}$ de K_2PtCl_6 em água (---).

As imagens de *TEM* da figura 2.4, obtidas para as suspensões coloidais de nanopartículas de platina, mostram Pt-NPs com cerca de $2,6 \pm 0,4$ nm e $3,4 \pm 0,6$ nm de diâmetro médio para as partículas preparadas em meio aquoso pelos métodos de redução por citrato de sódio a temperatura elevada (amostra A) e borohidreto à temperatura ambiente (amostra B), respectivamente.

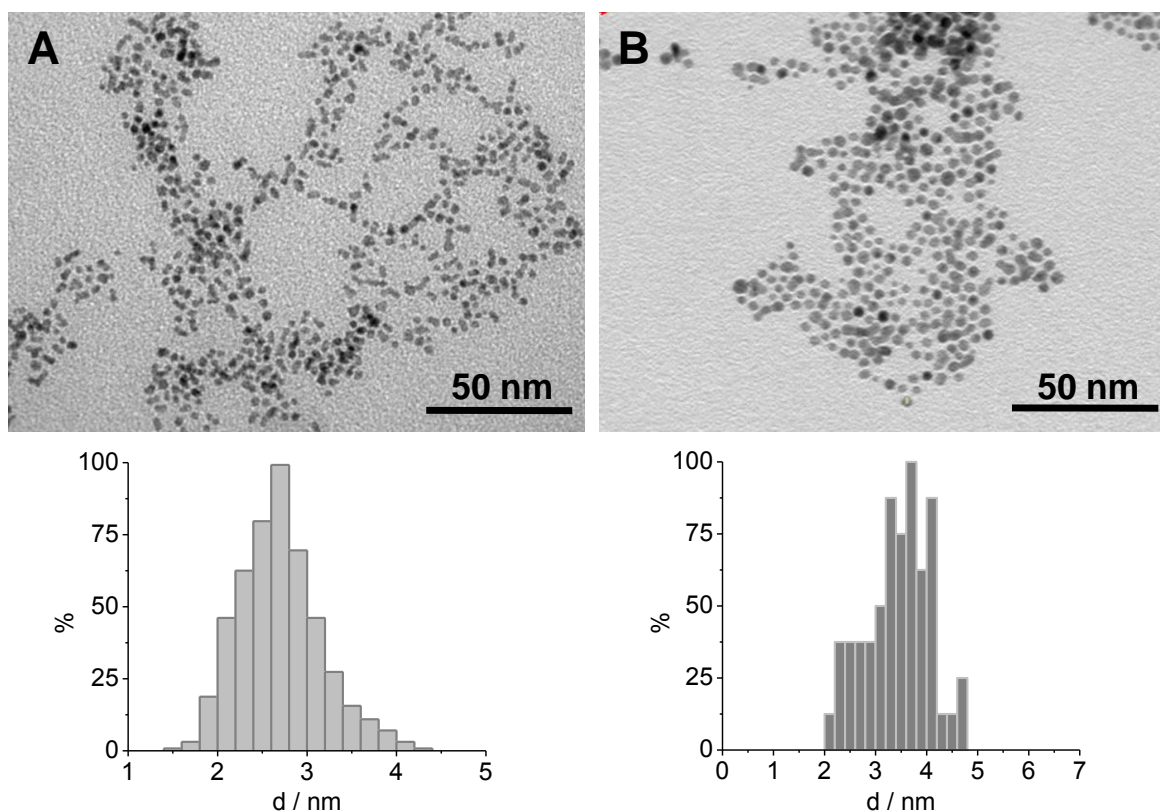


Figura 2.4 - Micrografias de *TEM* obtidas para as suspensões coloidais de Pt-NPs estabilizadas por iões citrato, nas amostras: A e B e respectivos histogramas.

Os espectros de UV-vis representados na figura 2.5 permitem avaliar a estabilidade das suspensões coloidais de nanopartículas de ouro e de platina. Os da suspensão coloidal de Au-NPs da amostra A ilustrados na figura 2.5 (a) mostram uma banda de absorção pouco intensa, imediatamente após a preparação. Quando armazenadas a baixa temperatura e ao abrigo da luz, a banda de absorção aumenta de intensidade nas 1-2 semanas subsequentes, após o que tende a manter-se aproximadamente constante. Cerca de 5 semanas após a sua preparação a intensidade da banda diminui, embora sem sofrer deslocamento significativo no valor do comprimento de onda, possivelmente devido à formação de agregados que se depositam por gravidade nas 4-5 semanas seguintes,

podendo este facto contribuir para a diminuição da concentração de Au-NPs em suspensão e conseqüentemente da intensidade da banda de absorção neste período. Por outro lado, as suspensões coloidais de Au-NPs da amostra B e Pt-NPs da amostra A apresentam espectros estáveis ao longo de pelo menos 6 meses, figura 2.5 (b e c).

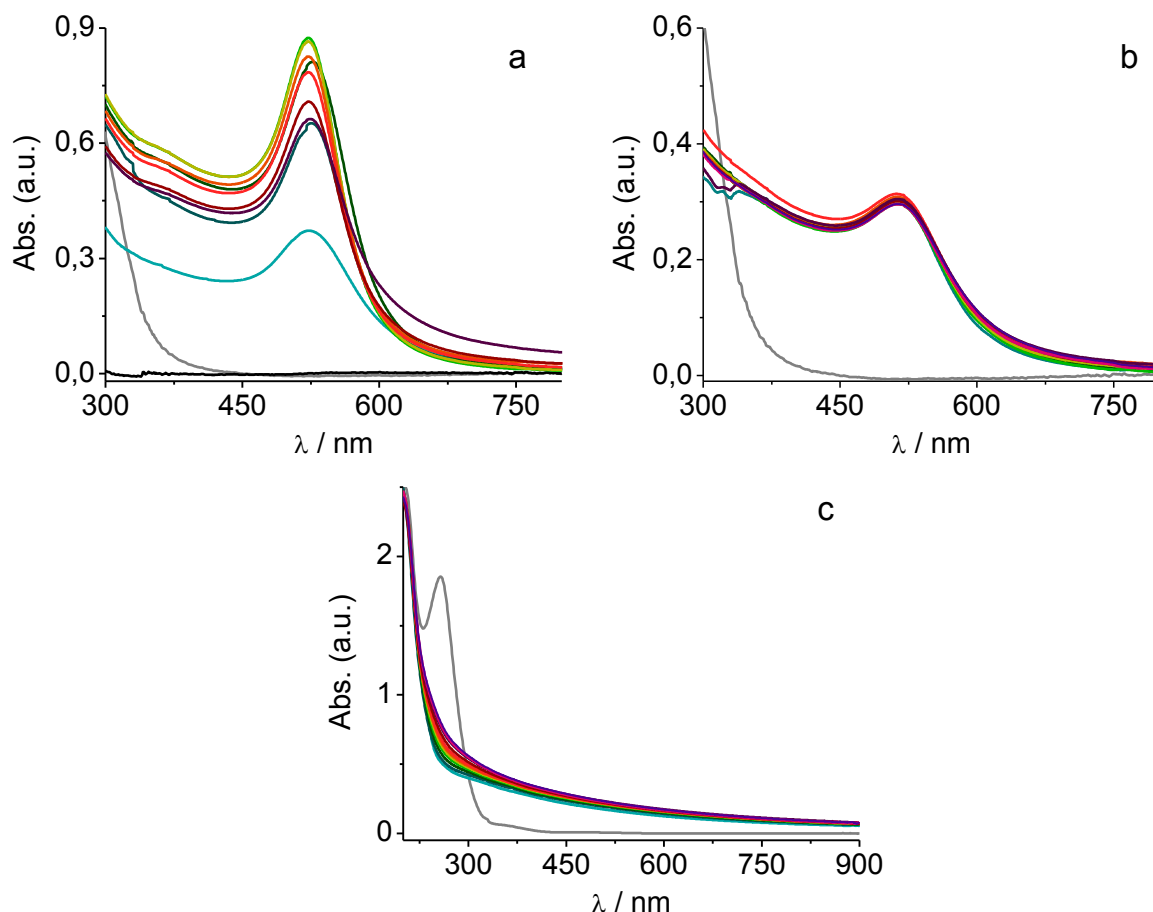


Figura 2.5 - Espectros de absorção na gama de UV-vis de suspensões coloidais de (a e b) Au-NPs e (c) Pt-NPs, estabilizadas por iões citrato, nas amostras (a) Au-NPs (A), (b) Au-NPs (B) e (c) Pt-NPs (A), ao longo do tempo: (—) imediatamente após a síntese, (—) 2 dias, (—) 1 semana, (—) 2 semanas, (—) 3 semanas, (—) 4 semanas, (—) 5 semanas, (—) 9 semanas, (—) 3 meses, (—) 4 meses e (—) 6 meses e comparação com soluções aquosas dos respectivos sais (—) de Au e Pt e com citrato de sódio (—).

As figura 2.6 e tabela 2.3 mostram os resultados obtidos por difracção de raios-X (DRX), das Au- e Pt-NPs esféricas depositadas num disco de silício amorfo. As linhas verticais, inseridas nas figuras, indicam a posição e intensidade relativa dos picos de difracção correspondentes aos planos cristalográficos registados nas fichas *JCPDS* (*Joint Committee*

on Powder Diffraction Standards) do Au, Pt e NaCl (incluídas no Anexo). Os picos marcados com um asterisco, correspondem a reagentes e/ou produtos de reacção. Nas amostras obtidas por redução por citrato de sódio e por borohidreto, foi possível identificar o NaCl como produto da reacção (valores de 2θ indicados pelas linhas verticais a cinzento na figura 2.6 (a)). Os picos de difracção detectados a cerca de $38,1$, $44,4$, $64,6$ e $77,5^\circ$, correspondentes aos planos com orientação (111), (200), (220) e (311), da estrutura cristalina *fcc* (*face-centered cubic*) do Au, mostram que as Au-NPs sintetizadas são de natureza cristalina; apresentam uma orientação cristalográfica preferencial, embora não muito marcante, segundo a orientação (111) uma vez que as intensidades dos picos a cerca de $44,4$, $64,6$ e $77,5^\circ$, em relação ao pico a cerca de $38,1^\circ$ são inferiores aos valores registados na ficha do Au (0,52, 0,32 e 0,36), como se pode verificar a partir dos dados incluídos na tabela 2.3.

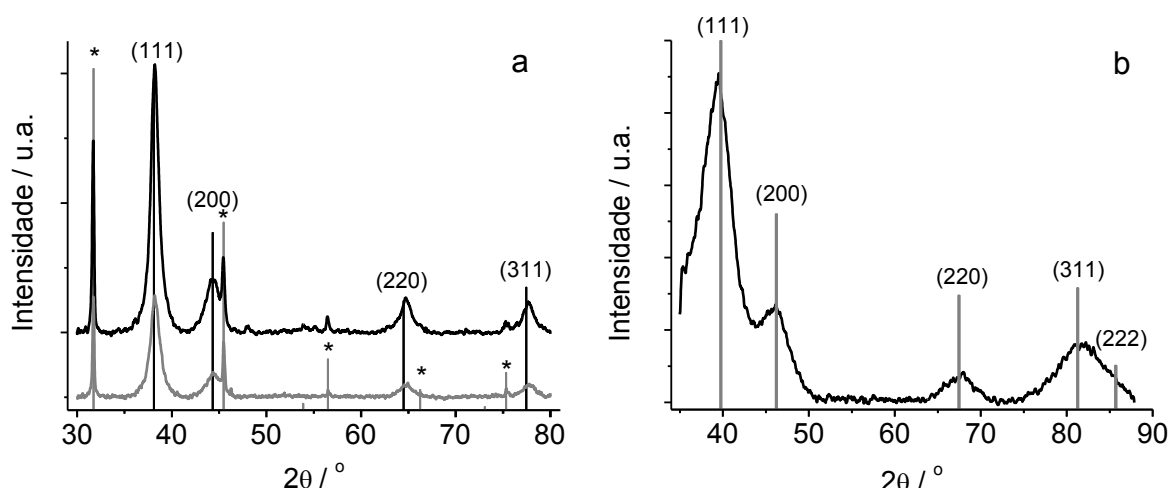


Figura 2.6 - Difractogramas de raios-X das (a) Au-NPs: amostra A (—) e amostra B (---) e (b) Pt-NPs: amostra A; linhas verticais - posição e intensidade relativa dos picos de difracção de acordo com as fichas JCPDS (a) do Au (—) e do NaCl (---) e (b) da Pt (—); marcados com asterisco - picos de difracção de reagentes e/ou produtos da reacção; tempo por degrau 5,000 s e degrau de $2\theta = 0,010^\circ$.

Para as Pt-NPs da amostra A, o padrão de difracção da figura 2.6 (b) mostra picos de difracção a $39,47$, $46,13$, $67,84$ e $81,63^\circ$ que correspondem aos planos de difracção (111), (200), (220) e (311), respectivamente, numa estrutura cristalina *fcc*, de acordo com a ficha JCPDS da platina (Anexo). A intensidade relativa dos picos também apresenta uma maior contribuição do plano (111), tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Valores de posição, 2θ , e intensidades relativas, $I/I_{(111)}$, dos picos de difracção das amostras de Au- e Pt-NPs e comparação com os dados das fichas *JCPDS* do Au e da Pt.

Amostra	(111)		(200)		(220)		(311)		t / nm
	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	
Au [*]	38,18	1,00	44,39	0,52	64,58	0,32	77,55	0,36	---
Au-NPs (A)	38,14	1,00	44,30	0,22	64,64	0,15	77,62	0,13	8,9
Au-NPs (B)	38,19	1,00	44,14	0,25	64,44	0,14	77,74	0,13	6,0
Pt [#]	39,76	1,00	46,23	0,53	67,47	0,31	81,29	0,33	---
Pt-NPs (A)	39,47	1,00	46,13	0,29	67,84	0,09	81,63	0,18	3,4

Valores recolhidos na ficha *JCPDS* de: * - Au, nº 4-0784 e # - Pt, nº 4-0802, incluídas no Anexo.

Usando as equações 2.4 e 2.5

$$\beta = \sqrt{B_{\text{am.}}^2 - B_{\text{padrão}}^2} \quad \text{Eq. 2.4}$$

$$\beta_{\text{rad.}} = \beta^{(0)} \frac{2\pi}{360} \quad \text{Eq. 2.5}$$

e a equação de Scherrer, equação 2.6, para obter o valor de β

$$t = \frac{0,9 \lambda}{\beta_{\text{rad.}} \cos \theta} \quad \text{Eq. 2.6}$$

onde B é a largura a meia altura do pico (111) na amostra e no padrão (Au policristalino, $B_{\text{padrão}} = 0,24^\circ$), λ é o comprimento de onda da radiação incidente ($\lambda_{\text{Cu}} = 0,154056 \text{ nm}$) e θ é a posição do pico no difractograma ($\theta = 2\theta/2$), é possível estimar os tamanhos médios, t , dos domínios ordenados nas nanopartículas. O uso do valor de β , em vez de directamente o valor de B permite eliminar erros instrumentais [26].

Os valores assim obtidos, tabela 2.3, revelam a presença de domínios ordenados com tamanhos da mesma ordem de grandeza das partículas formadas. Comparado o valor de t com os tamanhos médios estimados através das imagens de *TEM* verifica-se, como esperado, que as dimensões das cristalites são da mesma ordem de grandeza das das NPs. No entanto, os valores de t estimados são apenas uma referência da ordem de grandeza e não de tamanho das NPs.

2.3.2. Nanopartículas preparadas a partir de sementes e estabilizadas por surfactante

A figura 2.7 ilustra os espectros de UV-vis das suspensões coloidais de Au-NPs das amostras C, D e E, preparadas a partir das sementes estabilizadas por CTAB. O controlo rigoroso das condições de síntese, nomeadamente a concentração e razão de concentrações dos reagentes e sementes, uso de aditivos (por ex. iões prata [12, 13, 27]) e surfactantes, como o CTAB [12, 15], resulta na formação de partículas com formas definidas, como cubos e bastonetes. Na amostra C um único pico de absorção centrado a cerca de 534 nm revela a presença de partículas com tamanho superior a 20 nm e indica que ocorre a formação de cubos de tamanho homogéneo [28].

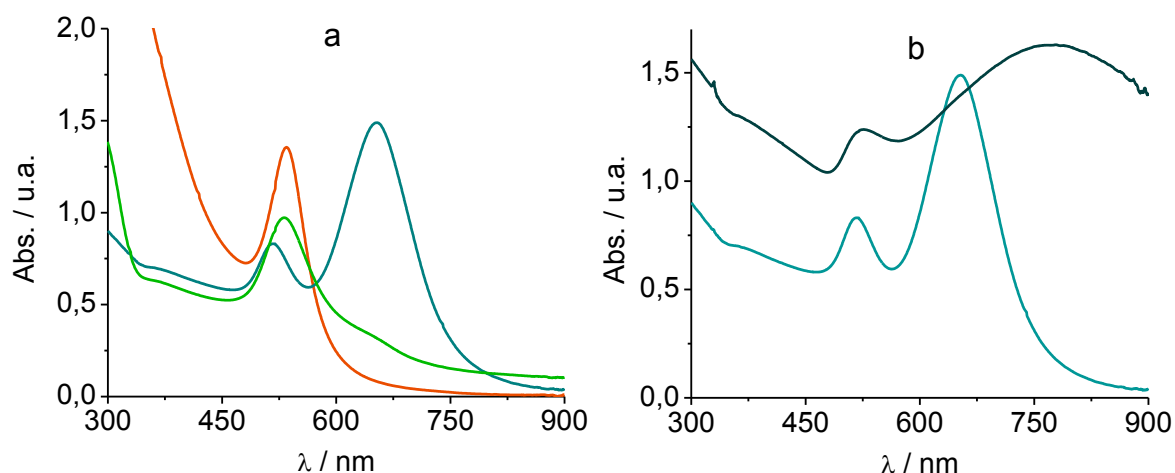


Figura 2.7 - Espectros de absorção na gama de UV-vis de suspensões coloidais de Au-NPs estabilizadas por CTAB, (a) nas amostras C (—), D (—) e E (—) e (b) comparação amostra D (—) colóide e (—) limpas (amostra D').

A imagem de *TEM*, figura 2.8 (C), representativa da amostra C (1 de 20 imagens a partir das quais foi construído o histograma), confirma a formação de partículas cúbicas com $l \approx 42 \pm 2$ nm. A caracterização espectrofotométrica da amostra D, representada na figura 2.7, revela a presença de dois picos de absorção correspondentes às bandas de plasmão de superfície transversal ($\lambda = 518$ nm) e longitudinal ($\lambda = 652$ nm) dos nanobastonetes sintetizados [29, 30], com comprimento $l \approx 44 \pm 14$ nm e largura $d \approx 14 \pm 2$ nm, como

mostra a imagem de *TEM* representativa da amostra D e o respectivo histograma (figura 2.8 (D)). Atendendo às condições de síntese discutidas acima e às imagens de *TEM* das amostras C e D, verifica-se que enquanto concentrações elevadas de CTAB ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) favorecem a formação de bastonetes, a diminuição da sua concentração ($0,015 \text{ mol dm}^{-3}$) e o aumento da de AA favorece o crescimento rápido e a deposição de átomos de Au nos domínios (111) levando à formação de partículas cúbicas, em concordância com o observado por Sau *et al.* [17].

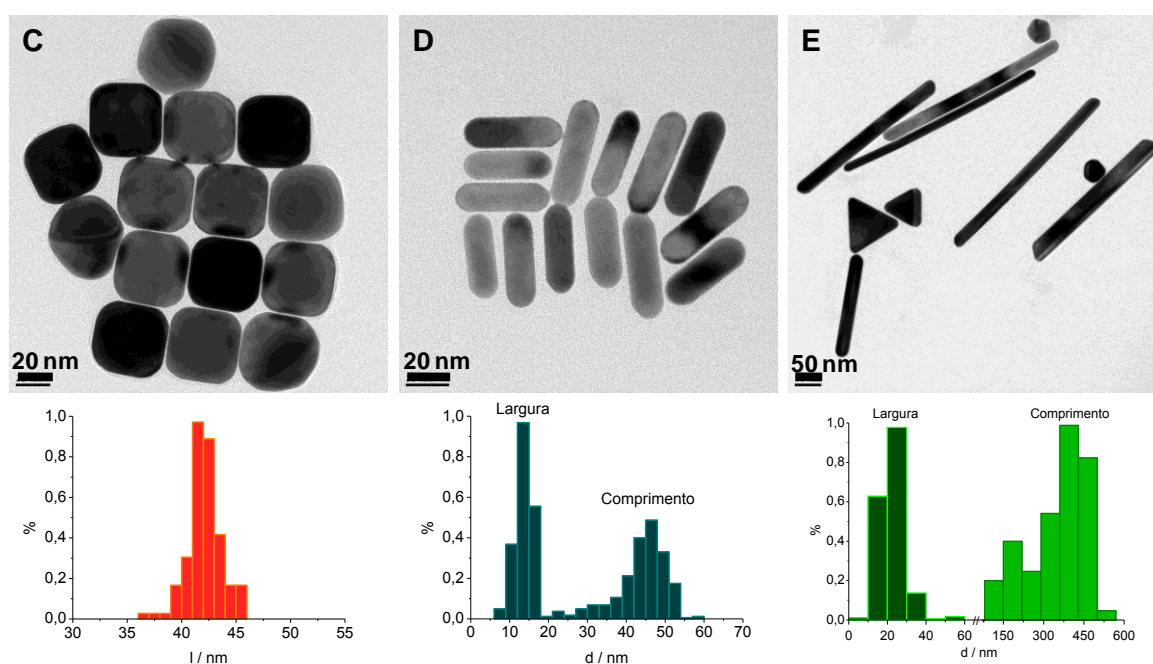


Figura 2.8 - Micrografias de *TEM* obtidas para as suspensões coloidais de Au-NPs estabilizadas por CTAB, nas amostras: C, D e E, respectivamente, e histogramas correspondentes.

O agente estabilizador (CTAB) que envolve as Au-NPs conferindo-lhe uma carga superficial positiva, permite que as Au-NPs se encontrem numa suspensão coloidal individualizadas através das interações electrostáticas repulsivas. A sua remoção por tratamento da suspensão coloidal com NaOH, resulta na agregação das Au-NPs, claramente identificada no espectro de UV-vis da amostra D' pelo alargamento da banda a cerca de 665 nm e o seu desvio para valores de comprimento de onda superiores, figura 2.7 (b). Este comportamento é semelhante ao reportado para suspensões de nanopartículas de ouro após adição de um sal [31] ou de espécies cuja interação com as nanopartículas favoreça a diminuição da distância inter-partículas [32].

No que se refere às Au-NPs da amostra E preparada na ausência de íons Ag(I) , a suspensão coloidal resultante contém uma grande quantidade de subprodutos com formas distintas dos bastonetes que se pretendem obter; aqueles produtos são rejeitados no processo de separação, pelo que o espectro de absorção obtido, após a síntese, apresenta um pico intenso e alargado a cerca de 530 nm e uma segunda banda a cerca de 640 nm, mostrando a heterogeneidade da forma e tamanhos das Au-NPs na suspensão. Na preparação dos bastonetes desta amostra, o processo de separação por centrifugação e lavagem é muito delicado, moroso e resulta na recolha de uma pequena quantidade de bastonetes que, após separação, apresentam um comprimento médio de $l \approx 390 \pm 67$ nm e largura de $d \approx 22 \pm 5$ nm, figura 2.8 (E).

A figura 2.9 (a) mostra os espectros de UV-vis obtidos para as Au-NPs das amostras F e G, preparadas a partir de sementes estabilizadas por íons citrato. Aqueles apresentam duas bandas de absorção a cerca de $\lambda = 549$ e 816 nm (amostra F), $\lambda = 527$ e 607 nm (amostra G(2)) e $\lambda = 547$ e 772 nm (amostra G(3)), e apenas uma banda na amostra G(1) a cerca de $\lambda = 528$ nm. A detecção de bandas de absorção alargadas ou múltiplas nos espectros de UV-vis da figura 2.9 resultam da formação de produtos com uma grande dispersão de tamanhos e formas [17], como confirmam as imagens de TEM apresentadas na figura 2.10 (F e G(2)); a amostra F contém partículas com forma de esferóides com diâmetros de cerca de $\varnothing \approx 82 \pm 4$ nm e de bastonetes com cerca de 210×53 nm e as da amostra G(2) com $\varnothing_{\text{esferóides}} \approx 38 \pm 2$ nm e bastonetes com $\approx 100 \times 15$ nm. No primeiro passo da síntese das Au-NPs da amostra G, formam-se partículas esféricas, G(1), com cerca de $\varnothing \approx 19 \pm 2$ nm, figura 2.10 (G(1)).

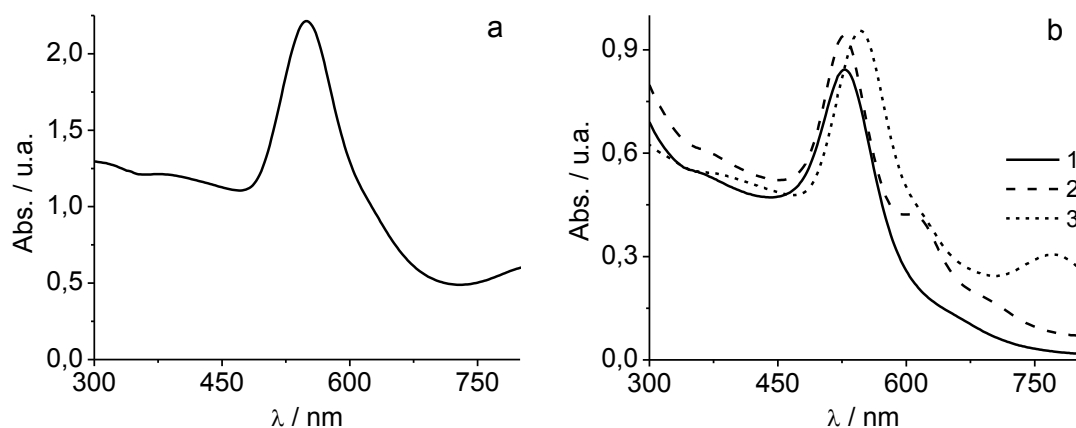


Figura 2.9 - Espectros de absorção na gama de UV-vis de suspensões coloidais de Au-NPs estabilizadas por CTAB, (a) na amostra F e (b) na amostra G (a-c, passos 1-3, respectivamente).

Apesar de Busbee *et al.* [21] verificarem que variando o pH da solução de crescimento de 2,8 para 3,5 a quantidade de bastonetes formados aumenta de cerca de 4% para 90%, as Au-NPs da amostra F apresentam uma grande dispersão de formas e tamanhos. Este resultado mostra a dificuldade de preparar Au-NPs com tamanho e forma homogêneas a partir de sementes estabilizadas por iões citrato [7, 12, 20, 33].

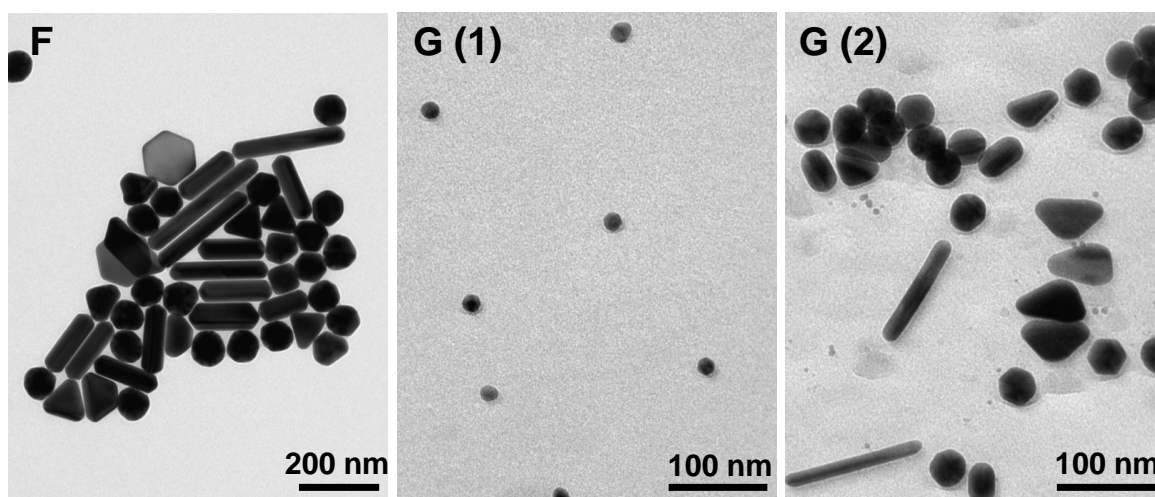


Figura 2.10 - Micrografias de TEM obtidas para as suspensões coloidais de Au-NPs estabilizadas por CTAB, nas amostras F e G(1 e 2).

A utilização de sementes estabilizadas por uma bicamada de moléculas CTAB, usadas na síntese das amostras C e D, revela-se vantajosa na obtenção de Au-NPs com forma e tamanho homogêneo, quando comparado com as nanopartículas crescidas a partir de sementes estabilizadas por iões citrato, nas amostras F e G [7, 20, 33]. No caso das amostras F e G, também o grau de pureza do surfactante (Riedel-de Haen, 98%) influencia o produto final e resulta na formação de amostras com formas e tamanhos heterogêneos. A partir dos difractogramas obtidos para as Au-NPs das amostras D, F e G, depositadas em silício amorfo, representados na figura 2.11 compilaram-se os valores incluídos na tabela 2.4. Os picos de difracção marcados com um asterisco, correspondem a reagentes e/ou produtos de reacção.

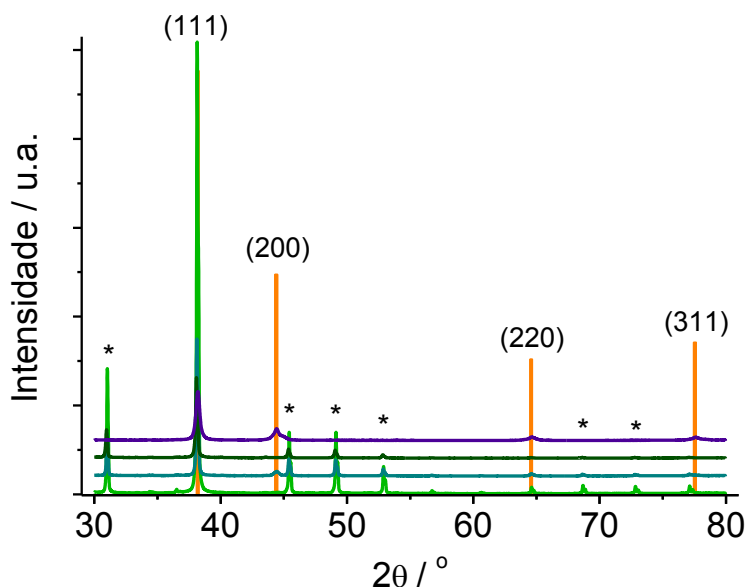


Figura 2.11 - Difractogramas de Raios-X das Au-NPs das amostras D (—), F (—), G(1) (—) e G(2) (—); linhas verticais - posição e intensidade relativa dos picos de difracção de acordo com a ficha *JCPDS* do (—) Au. Marcados com asterisco - picos de difracção de reagentes e/ou produtos da reacção na mistura reaccional; tempo por degrau 5,000 s e degrau de $2\theta = 0,010^\circ$.

Nestas amostras os picos de difracção detectados a cerca de $38,1$, $44,4$, $64,6$ e $77,5^\circ$, figura 2.11, correspondentes aos planos com orientação (111), (200), (220) e (311) do Au, mostram que as Au-NPs sintetizadas são de natureza cristalina. A partir dos dados incluídos na tabela 2.4 verifica-se que os bastonetes da amostra D apresentam uma orientação cristalográfica preferencial segundo a orientação (111) pois as intensidades relativas dos picos dos restantes planos são muito inferiores às registadas na ficha *JCPDS* do Au (Anexo). Apesar da elevada heterogeneidade das partículas formadas na amostra G(2), esta apresenta um comportamento semelhante, tabela 2.4, indicando que a média da superfície contém uma maior contribuição daquela orientação superficial. Nas partículas da amostra F o difractograma obtido mostra diferentes planos cristalográficos na superfície das Au-NPs, cujas intensidades relativas dos picos de difracção apresentados na tabela 2.4 são próximas das apresentadas para as partículas esféricas, tabela 2.3.

Tabela 2.4 - Valores de posição, 2θ , e intensidades relativas, $I/I_{(111)}$, dos picos de difracção das amostras de Au-NPs e comparação com os dados das fichas JCPDS do Au.

Amostra	(111)		(200)		(220)		(311)		t / nm
	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	$2\theta / ^\circ$	$I/I_{(111)}$	
Au *	38,18	1,00	44,39	0,52	64,58	0,32	77,55	0,36	---
Au-NPs (D)	38,12	1,00	44,44	0,02	64,59	0,02	77,10	0,01	38,6
Au-NPs (F)	38,11	1,00	44,36	0,29	64,54	0,13	77,54	0,12	37,0
Au-NPs(G2)	38,14	1,00	---	---	64,62	0,01	---	---	37,4

Valores recolhidos na ficha JCPDS de: * - Au, nº 4-0784.

Os tamanhos médios dos domínios ordenados nestas nanopartículas, obtidos através da equação de Scherrer, equação 2.6, e apresentados na tabela 2.4, são da mesma ordem de grandeza dos obtidos por TEM.

2.4. Caracterização electroquímica de Au-NPs imobilizadas em ITO e GC

O uso de reacções sensíveis à natureza da superfície, como a deposição a sub-potencial (*Under-potential Deposition, UPD*) de chumbo (Pb) em superfícies de Au e Ag [13, 14, 34-36], a adsorção irreversível de adatomos (por ex. Ge ou Bi) e a oxidação do metanol, amónia ou ácido fórmico em superfícies de Pt [14, 37, 38], permite a caracterização estrutural da superfície de eléctrodos. A deposição a sub-potencial de Pb tem sido empregue na discriminação dos domínios cristalinos na superfície de Au-NPs, sem que a orientação cristalográfica preferencial seja afectada e com a vantagem de permitir a remoção de contaminantes na superfície a valores de potencial elevados ($E > 1 \text{ V vs ERH}$) [34, 36].

A deposição a sub-potencial de Pb para a caracterização dos domínios cristalográficos da superfície das Au-NPs esféricas (amostra B), cúbicas (amostra C) e bastonetes (amostras D e E), está bem estudada para as superfícies de Au monocristalinas de baixo índice (por ex. (111), (110) e (100)). Os perfis voltamétricos dependem das interacções específicas entre os átomos da superfície e os átomos do metal a depositar, permitindo assim a aplicação na caracterização da orientação cristalográfica superficial de nanopartículas de ouro [6, 34, 36].

Na figura 2.12 ilustram-se os voltamogramas cíclicos da deposição/dissolução de $\text{PbO}_2(\text{s})$ e $\text{Pb}(\text{s})$ na superfície de Au das Au-NPs (amostra D', após remoção do surfactante) depositadas sobre uma superfície de carbono vítreo (*Glassy Carbon, GC*), numa solução 1 mmol dm^{-3} de PbNO_3 em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaOH . A formação da primeira monocamada de óxido de chumbo (PbO_2) é detectável a valores de potencial superiores a $1,0 \text{ V}$ (vs ERH) e a valores superiores a $1,5 \text{ V}$ (vs ERH) tem início a formação de multicamadas [36]. Como a deposição do filme de PbO_2 ocorre a valores de potencial inferiores a $1,10 \text{ V}$ (vs ERH), este, uma vez depositado, protege a superfície de Au da oxidação a valores de potencial mais elevados, desde que seja restrito o número de ciclos de potencial neste intervalo [36]. Comparando as respostas da intensidade de corrente aos primeiro e último ciclos de potencial, no intervalo onde a deposição/dissolução de $\text{Pb}(\text{s})$ ocorre ($0,3 < E < 0,7 \text{ V}$, vs ERH), é observável um desvio de potencial e/ou aumento de intensidade de corrente após os ciclos no intervalo de potencial alargado, devido à remoção de impurezas e contaminantes da superfície de Au [34], pela deposição de PbO_2 , sem que os domínios cristalográficos das NPs sejam afectados.

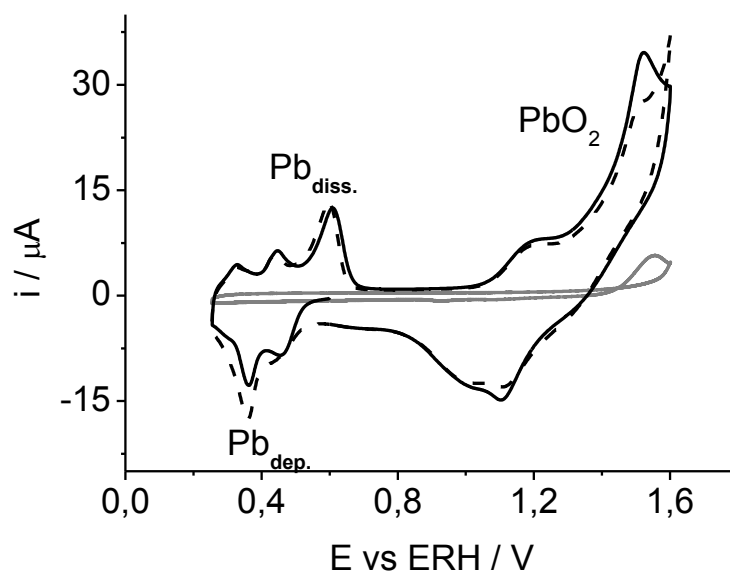


Figura 2.12 - Voltamogramas cíclicos da deposição e dissolução de uma monocamada de $\text{Pb}(\text{s})$ e $\text{PbO}_2(\text{s})$ na superfície de Au das Au-NPs da amostra D' depositadas sobre GC; (—) 1º ciclo e (– –) último ciclo e comparação com a resposta do eléctrodo de GC limpo (—); solução 1 mmol dm^{-3} de PbNO_3 em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaOH , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Na figura 2.13 (a-d) estão representados os perfis voltamétricos da UPD de Pb nas Au-NPs das amostras B', C', D' e E' (após remoção do surfactante da suspensão coloidal), antes e

após os ciclos de deposição/dissolução de PbO_2 . A remoção de contaminantes da superfície das Au-NPs é revelada pelo aumento da intensidade de corrente de deposição e de dissolução do Pb e a melhor definição dos picos de corrente nos voltamogramas, após formação do filme de óxido de chumbo.

Nas superfícies monocristalinas os picos de corrente de deposição e dissolução de Pb são detectados a diferentes valores de potencial que dependem do seu plano de orientação cristalográfica. Nas Au-NPs esféricas da amostra B' (figura 2.13 (a)), a intensidade relativa e posição dos picos de dissolução detectados a cerca de 416, 470 e 570 mV (vs ERH) correspondem aos domínios com orientações cristalográficas (111), (100) e (110), respectivamente, e relacionam-se com o perfil de uma superfície poliorientada [6, 34]. Neste caso, o pico de corrente a cerca de 416 mV (vs ERH) indica a presença de domínios (111) de pequenas dimensões, pois em superfícies monocristalinas com orientação (111), composta por grandes terraços, a dissolução do Pb ocorre a cerca de 435 mV (vs ERH) [36]. Nas partículas cúbicas da amostra C' (figura 2.13 (b)), são detectados picos de corrente anódica a cerca de 379 mV (vs ERH), um duplo a 416 e 430 mV (vs ERH) e outro largo a cerca de 565 mV (vs ERH). O primeiro, observado a valores de potencial inferiores a 400 mV (vs ERH), deve-se à dissolução do Pb a partir de degraus e locais de defeito; o segundo é atribuído à presença de domínios com tamanhos distintos com orientação (111), igualmente observado em superfícies poliorientadas; o que ocorre a valores de potencial mais elevado corresponde à dissolução a partir locais com orientação segundo o plano (110) [34]. No entanto, é a presença de um pico anódico intenso a 475 mV (vs ERH), correspondente à orientação cristalográfica (100), que mostra a predominância desta orientação na superfície destas Au-NPs, uma vez que este pico é praticamente inexistente nas superfícies policristalinas [34].

No caso dos bastonetes, é conhecido que estes podem apresentar faces laterais com orientação (110) ou (100) e faces terminais (111) [6, 12, 14, 15, 18, 39]. Os nanobastonetes preparados apresentam picos de dissolução do Pb a cerca de 444 e 605 mV (vs ERH) (amostra D') e 437, 463 e 616 mV (vs ERH) (amostra E'), que comparando com os valores reportados para as superfícies monocristalinas podem ser atribuídos à presença de domínios com orientação cristalográfica (111) e (110) nestas amostras [6, 34, 36], o que está de acordo com o esperado para Au-NPs com forma de bastonetes com faces laterais (110) e terminais (111) [39, 40].

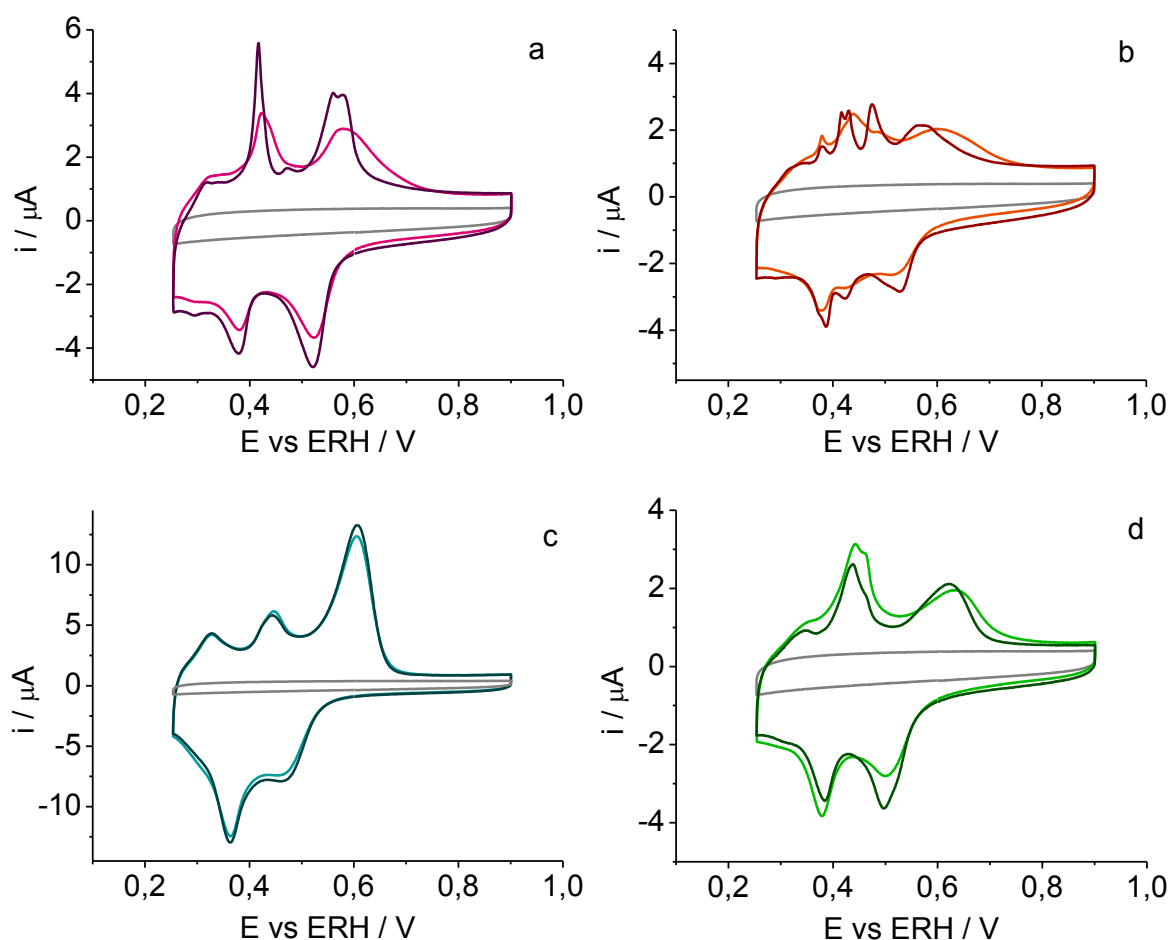


Figura 2.13 - Voltamogramas cíclicos da deposição/dissolução de uma monocamada de Pb(s) na superfície de Au das Au-NPs (a) esféricas - amostra B, (b) cúbicas - amostra C, (c) bastonetes curtos - amostra D e (d) bastonetes longos - amostra E, antes (linha clara) e depois (linha escura) de ciclos de deposição/dissolução de PbO₂, e comparação com resposta do eléctrodo de GC limpo, numa solução 1 mmol dm⁻³ de PbNO₃ em 0,1 mol dm⁻³ de NaOH, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A deposição de Au-NPs em superfícies de óxido de índio e estanho (*Indium Tin Oxide, ITO*) tem sido efectuada em particular através de auto-montagem em *ITO* previamente modificado com 3-mercaptopropiltrimetoxissilano (MPTMS, tirando partido das interações Au-S) [41], por imersão em suspensões coloidais [41, 42] e por deposição e secagem de alíquotas [43]. As Au-NPs das amostras A, C, C', D, D', F e G(2) imobilizadas em superfícies de *ITO*, previamente limpas de acordo com o mencionado no capítulo 5, por deposição de alíquotas das suspensões coloidais e evaporação da solução, originaram os espectros de UV-vis presentes na figura 2.14; as bandas típicas de plasmão de superfície das nanopartículas de ouro confirmam o seu confinamento.

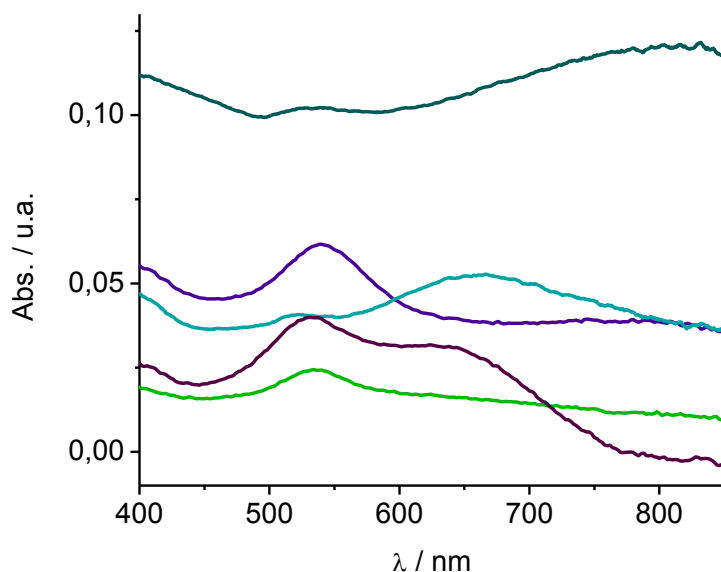


Figura 2.14 - Espectros de UV-vis das superfícies de *ITO* modificadas com Au-NPs, (—) amostra A, (—) amostra D, (—) amostra D', (—) amostra F e (—) amostra G(2).

O aparecimento de uma banda de absorção adicional ($\lambda \approx 630$ nm) na superfície *ITO*/Au-NPs - amostra A sugere a formação de agregados de partículas [32], o que é confirmado pela imagem de *SEM* na figura 2.15 (A) onde se observam pequenos agregados de 4-8 partículas. O desvio das bandas de plasmão de superfície para valores de comprimento de onda ligeiramente superiores ($\Delta\lambda \approx 10 - 35$ nm) nas amostras A e D, quando comparados com os valores observados em solução (figuras 2.1 e 2.7), está relacionado com o acoplamento dos plasmões de superfície de partículas próximas, devido à diminuição da distância entre partículas imobilizadas [32, 44, 45], apesar de tal não ser detectado para a superfície *ITO*/Au-NPs depositadas a partir das amostras F e G(2). Neste caso, embora as imagens de *SEM* da figura 2.15 revelem que nestas amostras a dispersão de tamanhos e formas das Au-NPs se reflecte nas nanopartículas imobilizadas no *ITO*, ou seja, aparentemente não há imobilização preferencial, o desvio das bandas de absorção para valores de comprimento de onda inferiores ($\Delta\lambda \approx -10$ a -35 nm) sugere a imobilização de Au-NPs de menores dimensões.

As imagens de microscopia electrónica de varrimento (*Scanning Electron Microscopy, SEM*) das superfícies modificadas de *ITO*/Au-NPs corroboram o bem sucedido confinamento das nanopartículas nas superfícies, figura 2.15.

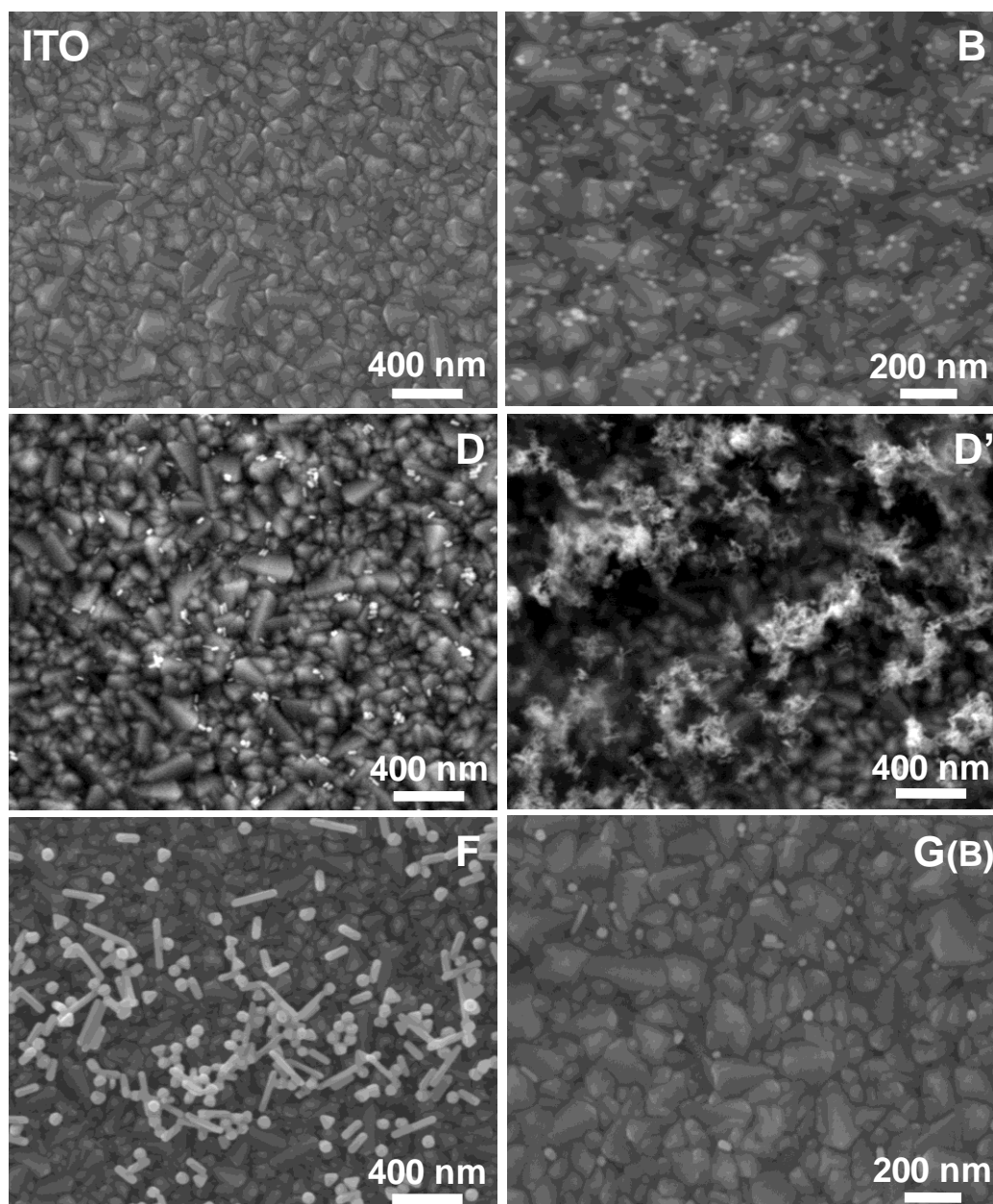


Figura 2.15 - Micrografias de *SEM* de superfícies de *ITO* não modificado (*ITO*) e modificado com Au-NPs da amostra A (A), amostra D (D), amostra D' (D'), amostra F (F) e amostra G(2) (G(2)), por evaporação do solvente.

De acordo com as evidências obtidas por espectroscopia de UV-vis em solução, as Au-NPs da amostra D' encontram-se agregadas após remoção do surfactante. Quando são imobilizadas em *ITO*, o desvio da posição das bandas em cerca de 10-35 nm reflecte a presença de agregados depositados sobre a superfície, como confirma a imagem de *SEM* da figura 2.15 (D'). Nas superfícies *ITO*/Au-NPs - amostra D e G(2) observam-se partículas dispersas e na amostra F detecta-se maior quantidade de partículas depositadas. Na

amostra A, embora os dados de UV-vis indiquem a formação de agregados e sejam detectados pequenos conjuntos de Au-NPs próximas, estas apresentam uma grande dispersão na superfície, figura 2.15 (A). A gama alargada de formas e tamanhos das amostras F e G(2) encontra-se claramente reflectida nas correspondentes superfícies modificadas, figura 2.15 (F e G(2)).

Também a resposta electroquímica obtida por voltametria cíclica das superfícies *ITO*/Au-NPs, em meio ácido ($0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4) e neutro ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de tampão fosfato (TF), pH 7), confirma a imobilização das partículas, como se ilustra na figura 2.16 (a e b) para as amostras F e G(1), respectivamente. Em meio ácido, figura 2.16 (a), a oxidação da superfície das nanopartículas é detectada pelo aumento de corrente a valores de potencial superiores a 1,1 V e o correspondente pico de redução observado no varrimento catódico centrado a 0,84 V, em boa concordância com o esperado para a oxidação e redução de Au em meio ácido, processos estes que não são observados na superfície de *ITO* limpa.

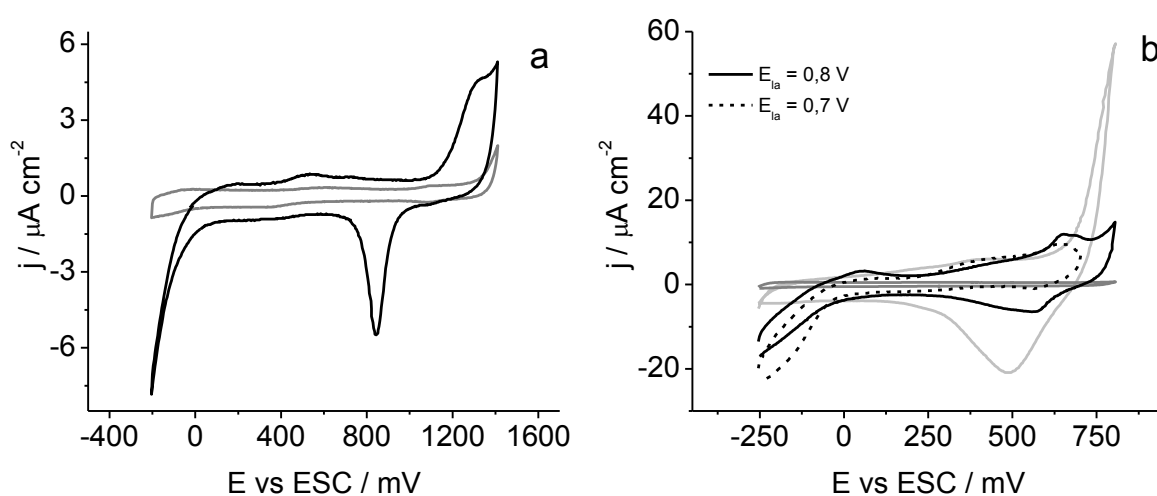


Figura 2.16 - Voltamogramas cíclicos da caracterização de superfícies de *ITO* modificadas com Au-NPs; (a) *ITO*/Au-NPs amostra G(A) em $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 e (b) *ITO*/Au-NPs amostra F em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7) e comparação com resposta do *ITO* nos respectivos meios (—) e do Au em meio neutro (---); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Em meio neutro, figura 2.16 (b), a oxidação da superfície tem início a valores de potencial ($E_{\text{ox.}} > 0,73 \text{ V}$) ligeiramente superiores aos detectados para um eléctrodo de Au maciço ($E_{\text{ox.}} > 0,63 \text{ V}$), embora o ombro observado a cerca de 0,65 V possa já indiciar a oxidação da superfície. Como referido anteriormente, a oxidação da superfície de ouro das Au-NPs

pode afectar a sua estrutura superficial; assim, a aplicação de valores de potencial elevados onde a oxidação e consequente modificação da superfície cristalina do Au pode ocorrer é contra-producente quando se pretendem estudar efeitos da estrutura superficial das Au-NPs imobilizadas.

Na figura 2.17 avalia-se, por voltametria de varrimento linear, o efeito do potencial de limite anódico, E_{la} , na oxidação da superfície de Au em meio neutro ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF, pH 7) usando as Au-NPs da amostra F depositadas em ITO. Após os varrimentos lineares no sentido do potencial mais positivo, este foi mantido constante e igual a $E_{la} = 800$ ou 700 mV durante 0, 5, 30 e 300 s, seguido do varrimento no sentido inverso.

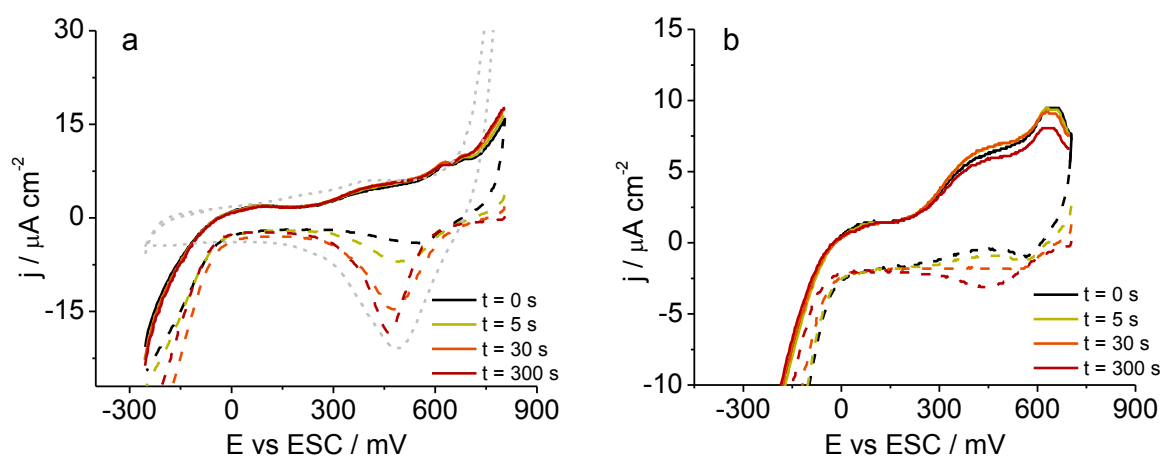


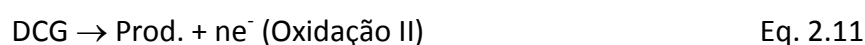
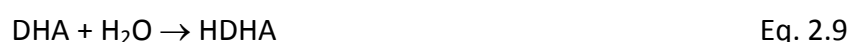
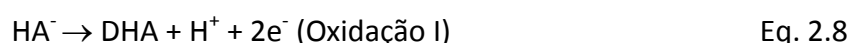
Figura 2.17 – Voltamogramas de varrimento linear da caracterização de superfícies modificadas ITO/Au-NPs com Au-NPs da amostra F com (a) $E_{la} = 800$ mV e (b) $E_{la} = 700$ mV para t ao E_{la} : (—) 0 s, (—) 5 s, (—) 30 s e (—) 300 s, em que (linhas a cheio) varrimento anódico e (linhas a tracejado) varrimento catódico, em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7) e comparação com resposta do Au (x 0,5) no mesmo meio (—); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Da análise dos voltamogramas representados na figura 2.17 (a) verifica-se que ao $E_{la} = 800$ mV ocorre oxidação da superfície das Au-NPs, o que é claramente identificável pela presença do pico de redução do óxido de Au formado no varrimento anódico, cuja intensidade aumenta com o tempo durante o qual o potencial E_{la} é aplicado. Diminuindo o E_{la} para 700 mV, decresce significativamente a oxidação da superfície de Au como se ilustra na figura 2.17 (b). Assim, em meio neutro o intervalo de potencial deve ser moderado ($E_{la} \approx 700$ mV), evitando a oxidação da superfície e consequente modificação da sua estrutura.

2.5. Avaliação da influência da estrutura superficial e da presença de surfactante na actividade electrocatalítica de Au-NPs

A possibilidade de controlar a orientação cristalográfica da superfície das NPs, particularmente as de ouro e de platina, tem sido muito intensivamente investigada com o objectivo da aplicação destes materiais em reacções electrocatalíticas sensíveis à estrutura ou que requerem locais específicos nas superfícies [6, 13, 14, 36, 46]. No entanto, a presença de surfactantes adsorvidos à superfície dos eléctrodos pode afectar a sua resposta electroquímica, como observado em carbono na presença de ácido ascórbico (AA) e dopamina (DA) [47, 48].

A reacção de oxidação do ácido L(+)-ascórbico (AA), sensível à estrutura superficial dos eléctrodos de Au [49], permite analisar o comportamento electroquímico das Au-NPs sintetizadas. Em meio neutro o AA encontra-se na sua forma desprotonada como anião ascorbato, HA^- ($\text{pK}_a = 4,17$) de acordo com a equação 2.7. A reacção de oxidação do AA ou do HA^- é complexa; tem sido aceite [49-52] que essa ocorre em dois passos, de acordo com as equações químicas:



Em superfícies de Au monocristalinas, o passo limitante da velocidade, oxidação I, tem sido referido como insensível à orientação cristalográfica da superfície de ouro e atribuído à oxidação do AA (ou HA^-) a ácido deshidro-L-ascórbico (DHA) e/ou aos seus produtos de hidratação (HDHA), num processo complexo envolvendo 2 electrões (equações 2.8 e 2.9) [49, 51, 52]. O produto desta oxidação é instável em meio aquoso a $\text{pH} > 5$ e sofre hidrólise irreversível espontânea, equação 2.10, resultando na abertura do anel lactona e consequente formação do ácido 2,3-dicetoglucónico (DCG) [50]. O segundo passo de oxidação (oxidação II, equação 2.11) tem sido considerado como sensível à orientação

cristalográfica superficial do ouro e atribuído à oxidação dos produtos resultantes do primeiro passo de oxidação [49, 50].

Os perfis voltamétricos da oxidação do AA em meio neutro ($0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ de AA em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF, pH 7) dependem da natureza da superfície de Au; em Au policristalino, é detectado um único pico de oxidação a cerca de 315 mV, figura 2.18 (a) enquanto em superfícies monocristalinas, como a orientada segundo o plano (111), figura 2.18 (b), são observadas duas ondas de oxidação a 54 e 345 mV.

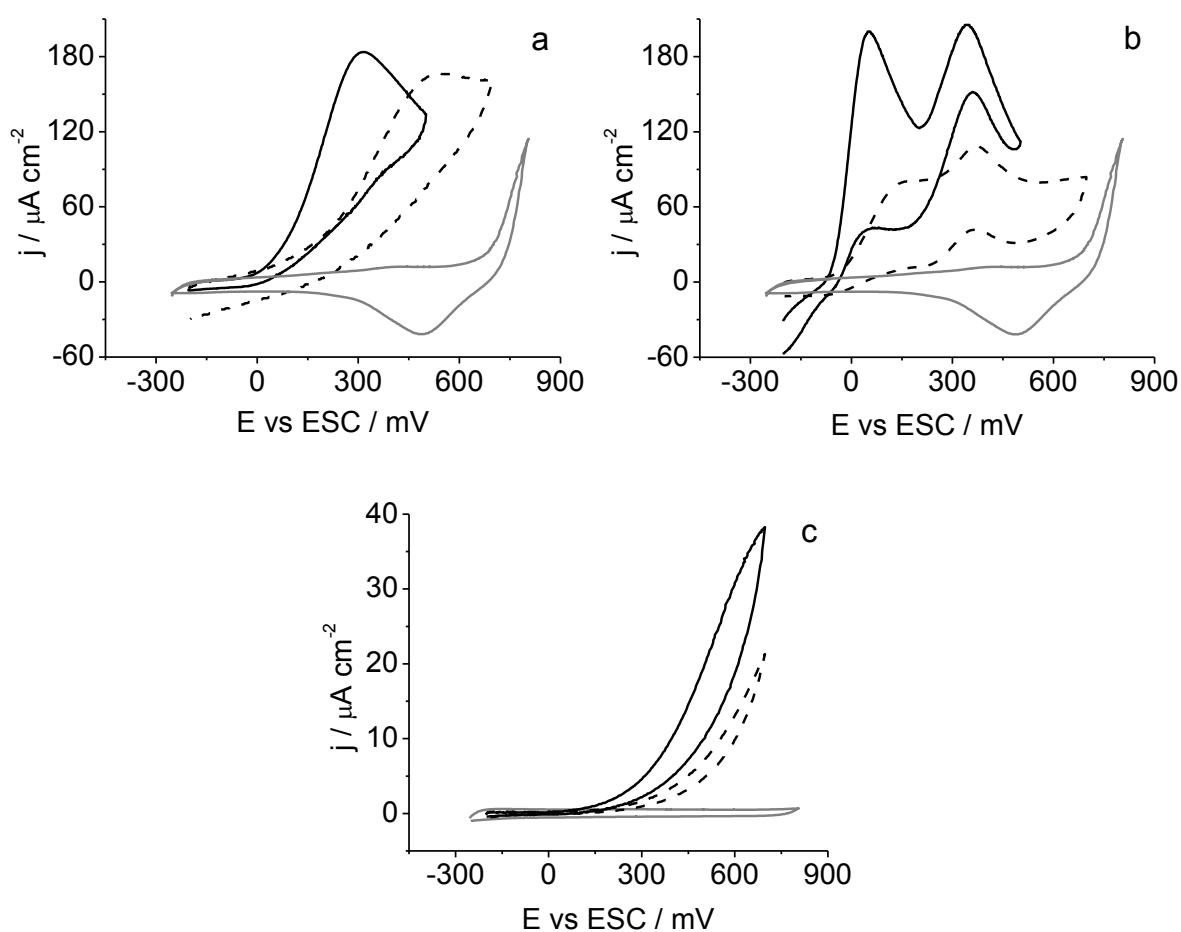


Figura 2.18 - Voltamogramas cíclicos obtidos para as superfícies de eléctrodo de (a) Au policristalino, (b) Au(111) e (c) ITO, (—) antes e (- - -) após imersão numa solução $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB durante 18 h, em solução contendo $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ de AA em TF $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ (pH 7) e (—) comparação com os voltamogramas em solução sem AA; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Para avaliar a influência do surfactante usado na síntese das Au-NPs, na resposta electroquímica dos eléctrodos, as superfícies de Au e de ITO foram imersas numa solução de CTAB ($0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ em H_2O) durante 18 horas. Na figura 2.18 contrastam-se os perfis

voltamétricos, obtidos em solução de tampão fosfato (TF, pH 7) na presença de AA. Verifica-se que o CTAB interage com as superfícies de Au policristalino, Au(111) e *ITO*, modificando a sua resposta electroquímica. O processo de oxidação é desviado para valores de potencial mais elevados e as correntes de oxidação diminuem. É importante referir que para a superfície de Au(111), o comportamento típico de uma superfície monocristalina prevalece após contacto com a solução de CTAB e duas ondas de oxidação são detectadas a cerca de 155 e 370 mV, respectivamente (figura 2.18 (b)).

Contrariamente ao reportado [47, 48], a diminuição de potencial para a oxidação do AA, devido a atracção electrostática para a superfície de eléctrodos modificados com surfactantes catiónicos adsorvidos, como o CTAB ou o DDAB (brometo de didodecil-dimetilamónio), não é observada, uma vez que melhor resposta electroquímica é obtida, em todos os casos, para os eléctrodos limpos.

Apesar de alguma irreprodutibilidade devida a dificuldades em controlar a quantidade de nanopartículas imobilizada na superfície de *ITO* pelo método de secagem de gota, a resposta voltamétrica de três experiências independentes, obtidas para as Au-NPs da amostra D' e ilustradas na figura 2.19 (a), mostra um comportamento do tipo policristalino; a oxidação do AA ocorre a valores de sobrepotencial superiores aos registados na superfície de Au policristalina, o que também é observado quando se usam as Au-NPs esféricas da amostra A estabilizadas por iões citrato, figura 2.19 (b). A maior quantidade depositada e a presença de agregados, revelados pelas imagens de *SEM* (figura 2.15 (D')), resultaram numa corrente de oxidação baixa deslocada para valores de potencial elevados sugerindo a existência de fraco contacto eléctrico entre as nanopartículas depositadas e a superfície do eléctrodo. A resposta electroquímica das Au-NPs da amostra A é semelhante à obtida para o eléctrodo policristalino de Au, pois a superfície destas partículas esféricas é essencialmente poliorientada como mostraram os resultados da análise por DRX e os dados da deposição a sub-potencial de Pb para Au-NPs esféricas (da amostra B). O pico de oxidação encontra-se deslocado cerca de 150 mV para valores de potencial mais positivos em relação ao observado no eléctrodo de Au limpo, possivelmente devido a repulsão electrostática entre os iões citrato adsorvidos na superfície das Au-NPs e o anião ascorbato em solução.

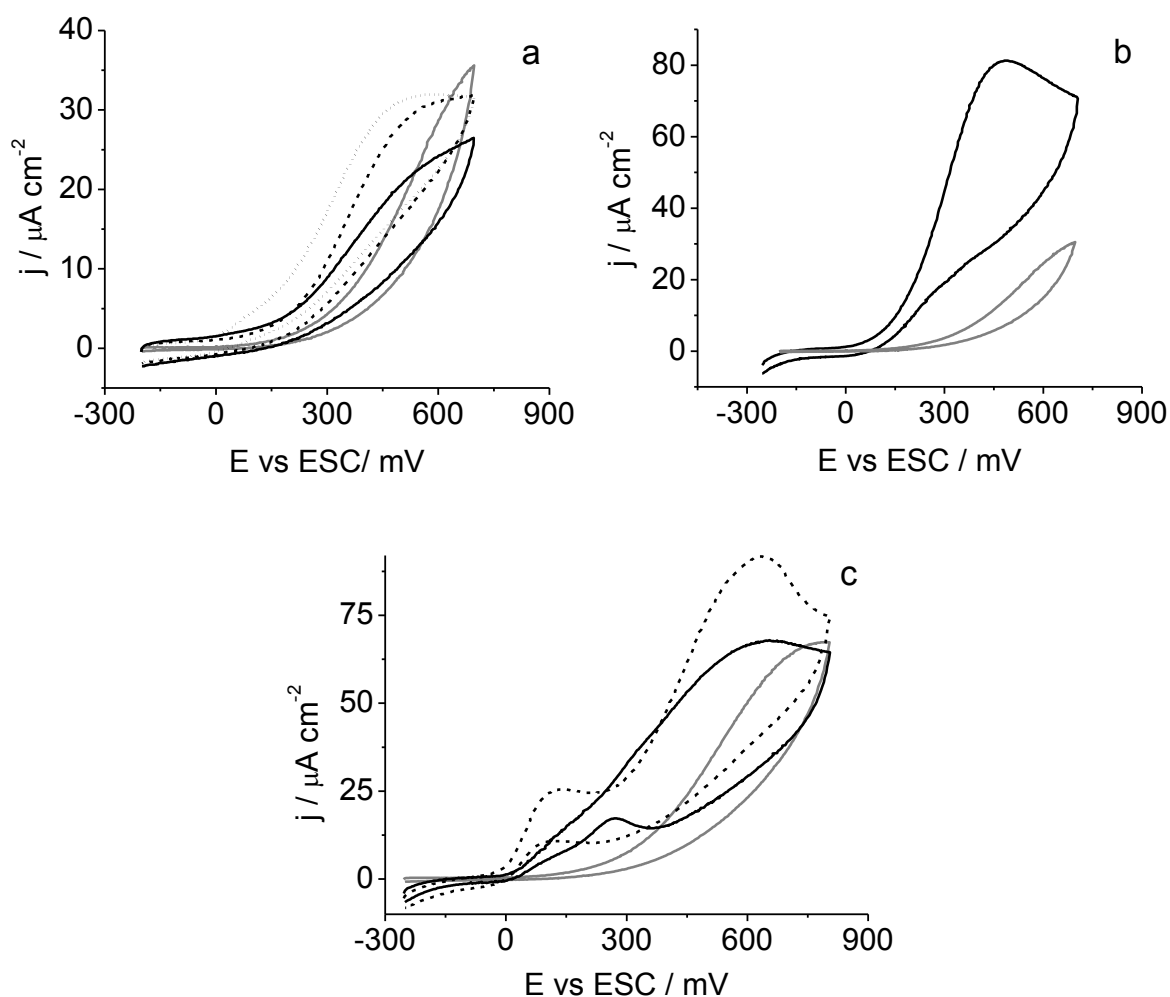


Figura 2.19 - Voltamogramas cíclicos obtidos para as superfícies modificadas de *ITO/Au-NPs* da (a) amostra D' (linhas (—), (- - -) e (·····) em 3 experiências independentes), (b) amostra A e (c) amostra F (- - -) e amostra G(2) (—) e comparação com a superfície de *ITO* (—) numa solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7) contendo $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ de AA; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Por outro lado, usando as nanopartículas estabilizadas por CTAB das amostras F e G(2), observa-se um menor sobrepotencial para a oxidação do AA do que nas Au-NPs da amostra D'; dois processos de oxidação são detectados nos voltamogramas da figura 2.19 (c), a cerca de 160 e 600 mV, lembrando o comportamento de uma superfície monocristalina (figura 2.18 (b)). Contudo, a compreensão do efeito do tamanho, forma e estrutura superficial na resposta electroquímica das Au-NPs é dificultada devido à heterogeneidade destas amostras ilustrada nas imagens de *SEM* na figura 2.15.

As características das Au-NPs das amostras C e D, tamanho e forma homogêneas e superfície com domínios orientados segundo o plano (100) (amostra C) e (111) e (110) (amostra D), permitem uma melhor compreensão da influência dos domínios da superfície e da presença do surfactante no comportamento electroquímico.

Os resultados incluídos na figura 2.20 (a) mostram que as Au-NPs da amostra D apresentam uma resposta do tipo-monocristalino com duas ondas de oxidação a cerca de 110 e 440 mV. São também observadas maior corrente de oxidação e menor sobrepotencial do que aquelas registadas para as Au-NPs sem surfactante da amostra D'. Estes resultados confirmam que a interacção do CTAB com os domínios da superfície das Au-NPs afecta a resposta electroquímica, o que está de acordo com o observado nas superfícies de Au (figura 2.18 (a e b)). Os valores de potencial a que ocorrem as duas ondas de oxidação do AA correlacionam-se com aqueles observados na superfície de Au(111) após contacto com a solução de CTAB ($E_{ox.1} \approx 155$ mV e $E_{ox.2} \approx 370$ mV). Assim, o acesso do AA à superfície (111) é facilitado pela interacção menos forte do CTAB com os domínios da superfície com aquela orientação, do que com os orientados segundo o plano (110), esquema 1 (a).

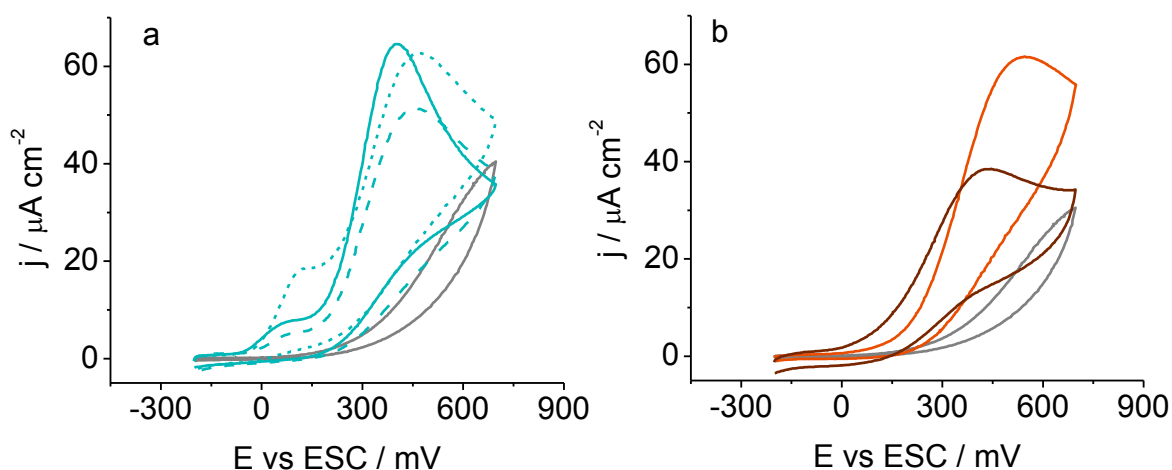


Figura 2.20 - Voltamogramas cíclicos obtidos para o eléctrodo modificado *ITO*/Au-NPs da (a) amostra D (linhas (—), (---) e (····)) em 3 experiências independentes) e (b) amostra C (—) com e (---) sem surfactante, e comparação com a superfície de *ITO* (linha cinzenta) em solução 0,1 mol dm^{-3} de TF (pH 7) contendo 0,5 mmol dm^{-3} de AA; $\nu = 50$ mV s^{-1} .



Os resultados anteriores são reforçados pelos obtidos usando as Au-NPs da amostra C. Nestas partículas cúbicas, de tamanho e forma homogénea, com faces orientadas segundo o plano (100), fortemente estabilizadas pelo CTAB, observa-se um comportamento do tipo-policristalino, ilustrado na figura 2.20 (b), distinto do detectado nos bastonetes da amostra D (duas ondas de oxidação devido à disponibilidade dos domínios com orientação (111) menos estabilizadas pelo CTAB). Na presença de CTAB, possivelmente a menor organização da bicamada de surfactante próximo das arestas dos cubos, esquema 1 (b), facilita o acesso do AA a estas zonas poliorientadas, e portanto o perfil voltamétrico apresenta um único pico de oxidação. Quando os cubos sem surfactante são caracterizados, a resposta registada corresponde à média da superfície, que se reflecte num perfil voltamétrico do tipo-policristalino, semelhante ao obtido para as partículas esféricas estabilizadas por iões citrato e para as Au-NPs da amostra D' sem surfactante.

Suporte adicional obtém-se através do eléctrodo modificado com Au-NPs da amostra D', após imersão numa solução $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB durante cerca de 17 horas; os voltamogramas presentes na figura 2.21 ilustram a resposta electroquímica antes e após contacto com a solução de CTAB.

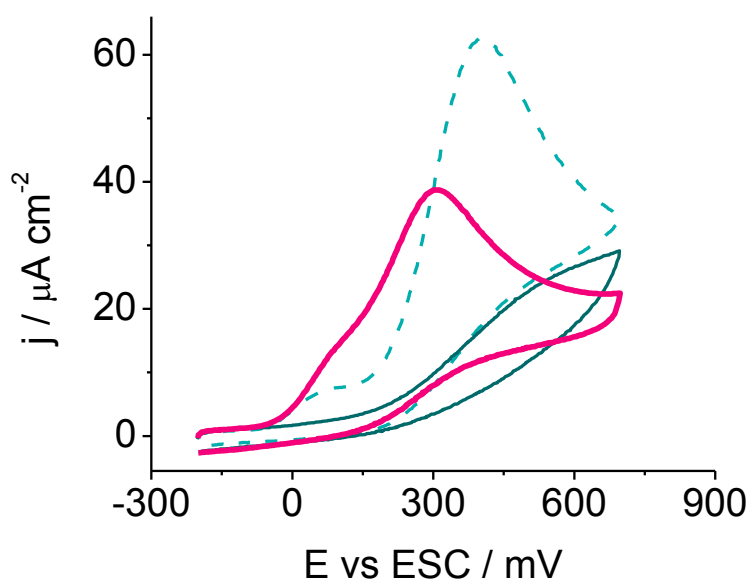


Figure 2.21 - Voltamogramas cíclicos obtidos para as superfícies de *ITO/Au-NPs* da amostra D (---), *ITO/Au-NPs* da amostra D' antes (—) e após imersão em solução $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB durante 17 h, em solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7) contendo $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ de AA; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Na presença de CTAB um perfil do tipo-monocristalino é restabelecido, com as duas ondas de oxidação a valores de potencial de cerca de 85 e 300 mV, próximos dos detectados para a superfície de Au(111), confirmando que são os domínios (111) da superfície, menos estabilizados pelo CTAB, os responsáveis pelo melhor desempenho electrocatalítico. É ainda de referir que a hipótese de fraco contacto eléctrico entre as Au-NPs sem surfactante e a superfície do substrato não se verifica, uma vez que após contacto com a solução de CTAB os dois processos de oxidação do AA são detectados.

2.6. Conclusões

Na síntese de Au-NPs esféricas, policristalinas e com tamanho homogéneo, o uso de agentes redutores mais fortes (como o borohidreto de sódio) permite obter partículas de menores dimensões do que aquelas preparadas com citrato de sódio. Usando os redutores citrato de sódio ou borohidreto de sódio, formam-se nanopartículas de platina igualmente esféricas, policristalinas e com tamanhos homogéneos, no entanto com diâmetro semelhante independentemente do agente redutor usado.

A preparação de nanopartículas com forma e tamanho específico, pelo método de síntese mediado por sementes, depende das condições de preparação, da natureza das sementes e da presença de aditivos na solução de crescimento. A estabilização diferenciada de domínios da superfície das Au-NPs pelo agente surfactante (CTAB), na presença e ausência de Ag(I), é claramente observada na formação de nanopartículas com forma homogénea partindo de sementes estabilizadas por CTAB. Neste caso, baixa concentração de surfactante e elevada de agente redutor (AA) na solução de crescimento, conduz à formação de partículas cúbicas com tamanho homogéneo (42 ± 2 nm) e compostas por faces com orientação cristalográfica (100) revelado por TEM e UPD de chumbo; formam-se bastonetes (44 ± 14 nm x 14 ± 2 nm) que apresentam, de acordo com os dados de UPD de Pb, a sua superfície orientada segundo os planos (111) e (110), sem que ocorra deposição de Ag(s) na sua superfície, aumentando a concentração de CTAB e diminuindo a de AA, na presença de iões Ag(I). Na ausência de iões Ag(I), formam-se bastonetes mais longos embora em menor quantidade juntamente com subprodutos com forma e tamanhos não

homogêneos; apenas após separação é possível isolar bastonetes (390 ± 67 nm x 22 ± 5 nm) que apresentam domínios de superfície orientados segundo os planos (111) e (110) revelados por *UPD* de Pb.

As sementes estabilizadas por iões citrato, originam Au-NPs com forma e tamanho heterogénea, mesmo em soluções de crescimento com valores de pH mais elevados, como é o caso da amostra F.

A imobilização das Au-NPs em superfícies de *ITO*, confirmada por UV-vis, *SEM* e voltametria cíclica, permite avaliar as suas propriedades electroquímicas. Para que o intervalo de potencial usado não afecte a estrutura superficial das Au-NPs depositadas, o potencial do limite anódico não deve exceder 0,7 V (vs ESC), em meio aquoso neutro.

Usando a reacção de oxidação do AA, sensível à natureza do eléctrodo, mostra-se a resposta electroquímica das nanopartículas de ouro e o efeito da presença do surfactante usado na síntese. As Au-NPs esféricas e poliorientadas (amostra B, estabilizadas por iões citrato fracamente adsorvidos) e as partículas constituídas por faces com orientação cristalográfica bem definidas como nos cubos (amostra C') ou nos bastonetes (amostra D'), após remoção do CTAB, apresentam uma única onda de oxidação do AA, a valores de potencial elevado, semelhante ao detectado em superfícies policristalinas de Au, devido à contribuição de toda a superfície (domínios cristalinos, arestas e defeitos) para a resposta electroquímica.

O CTAB, interagindo com as superfícies de *ITO* e Au (poli- e mono-cristalino), afecta a sua resposta electroquímica para a oxidação do AA, conduz à diminuição da corrente de oxidação e ao deslocamento para valores de potencial mais elevado. No entanto, o comportamento tipo-monocristalino com detecção de duas ondas de oxidação prevalece na superfície de Au monocristalina após contacto com o surfactante. Nas Au-NPs das amostras F e G, estabilizadas com CTAB, ainda que apresentem uma grande dispersão de formas e tamanhos, a resposta electroquímica mostra duas ondas de oxidação do AA, num comportamento semelhante ao obtido na superfície monocristalina de Au.

As Au-NPs cúbicas e os bastonetes mais curtos, constituídas por domínios bem definidos, mostram como a orientação cristalográfica das nanopartículas e a interacção com o surfactante afecta o comportamento electroquímico. A resposta electroquímica relaciona-se com a diferente interacção do surfactante com distintos domínios cristalinos na superfície das Au-NPs na ordem $(110) \sim (100) > (111)$. Nos bastonetes que apresentam

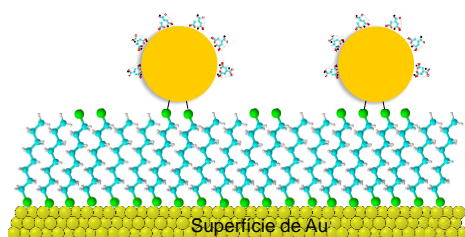
domínios orientados segundo os planos (111) e (110), aqueles com orientação cristalográfica (110) são preferencialmente estabilizados pelo CTAB, enquanto as faces (111) persistem disponíveis para a reacção de oxidação do AA, o que origina numa resposta electroquímica tipo-monocristalina (duas ondas de oxidação). Nas Au-NPs cúbicas a resposta do tipo-policristalino (um pico de oxidação a valores de potencial elevado) resulta da forte interacção do CTAB com os domínios da superfície com orientação segundo o plano (100) nas faces dos cubos e do acesso preferencial do AA aos vértices (poli-orientados) onde a camada de surfactante adsorvido está menos organizada. É, portanto, a distinta interacção do CTAB com os domínios cristalinos presentes na superfície das Au-NPs (mais forte com o planos (110) do que no (111)) que permite a discriminação da contribuição dos diferentes domínios da superfície para a resposta electrocatalítica das Au-NPs. Nos bastonetes, são os planos com orientação cristalográfica (111) os responsáveis pela sua reactividade para a reacção usada.

2.7. Referênciã

- [1] Y.-S. Shon, "Metal Nanoparticles Protected with Monolayers: Synthetic Methods", in J.A. Schwarz; C.I. Contescu; K. Putyera (ed.), *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, Marcel Dekker: New York (2004) 1.
- [2] M.-C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **104** (2004) 293.
- [3] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 15700.
- [4] M. Chirea, V. García-Morales, J.A. Manzanares, C. Pereira, R. Gulaboski, F. Silva, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 21808.
- [5] J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hiller, *Discuss. Faraday Soc.* **11** (1951) 55.
- [6] C.M. Sánchez-Sánchez, F.J. Vidal-Iglesias, J. Solla-Gullón, V. Montiel, A. Aldaz, J.M. Feliu, E. Herrero, *Electrochim. Acta* **55** (2010) 8252.
- [7] J. Pérez-Juste, L.M. Liz-Marzán, S. Carnie, D.Y.C. Chan, P. Mulvaney, *Adv. Funct. Mater.* **14** (2004) 571.
- [8] B.V. Enustun, J. Turkevich, *J. Am. Chem. Soc.* **85** (1963) 3317.

- [9] M. Giersig, P. Mulvaney, *Langmuir* **9** (1993) 3408.
- [10] M. Yang, Z. Zhang, *Electrochim. Acta* **49** (2004) 5089.
- [11] M. Liu, P. Guyot-Sionnest, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 22192.
- [12] J. Perez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L.M. Liz-Marzán, P. Mulvaney, *Coord. Chem. Rev.* **249** (2005) 1870.
- [13] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 14078.
- [14] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 12651.
- [15] C.J. Murphy, T.K. Sau, A.M. Gole, C.J. Orendorff, J. Gao, L. Gou, S.E. Hunyadi, T. Li, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 13857.
- [16] B. Nikoobakht, M.A. El-Sayed, *Langmuir* **17** (2001) 6368.
- [17] T.K. Sau, C.J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 8648.
- [18] C.J. Johnson, E. Dujardin, S.A. Davis, C.J. Murphy, S. Mann, *J. Mater. Chem.* **12** (2002) 1765.
- [19] B. Nikoobakht, M.A. El-Sayed, *Chem. Mater.* **15** (2003) 1957.
- [20] M. Grzelczak, J. Pérez-Juste, P. Mulvaney, L.M. Liz-Marzán, *Chem. Soc. Rev.* **37** (2008) 1783.
- [21] B.D. Busbee, S.O. Obare, C.J. Murphy, *Adv. Mater.* **15** (2003) 414.
- [22] K. Kwon, K.Y. Lee, Y.W. Lee, M. Kim, J. Heo, S.J. Ahn, S.W. Han, *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 1161.
- [23] T. Yonezawa, T. Kunitake, *Colloids Surf. A* **149** (1999) 193.
- [24] S. Chen, K. Kimura, *Langmuir* **15** (1999) 1075.
- [25] Y. Shiraishi, D. Arakawa, N. Toshima, *Eur. Phys. J. E* **8** (2002) 377.
- [26] H. Klug, L. Alexander, *X-ray diffraction procedures of crystalline and amorphous materials*, J.W. & Sons, New York (1974).
- [27] T.K. Sau, C.J. Murphy, *Langmuir* **20** (2004) 6414.
- [28] Y. Chen, X. Gu, C.-G. Nie, Z.-Y. Jiang, Z.-X. Xie, C.-J. Lin, *Chem. Commun.* (2005) 4181.
- [29] X.C. Jiang, M.P. Pileni, *Colloid Surface A* **295** (2007) 228.
- [30] L. Gou, C.J. Murphy, *Chem. Mater.* **17** (2005) 3668.
- [31] J. Yang, J.Y. Lee, H.-P. Too, *Anal. Chim. Acta* **546** (2005) 133.

- [32] S. Basu, S.K. Ghosh, S. Kundu, S. Panigrahi, S. Praharaj, S. Pande, S. Jana, T. Pal, *J. Colloid Interf. Sci.* **313** (2007) 724
- [33] N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy, *J. Phys. Chem. B* **105** (2001) 4065.
- [34] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, J.M. Feliu, A. Aldaz, *J. Nanosci. Nanotechnol.* **9** (2009) 2256.
- [35] Y.V. Bokshits, N.P. Osipovich, E.A. Strel'tsov, G.P. Shevchenko, *Colloid Surface A* **242** (2004) 79.
- [36] J. Hernandez, J. Solla-Gullón, E. Herrero, *J. Electroanal. Chem.* **574** (2004) 185.
- [37] F.J. Vidal-Iglesias, J. Solla-Gullón, P. Rodríguez, E. Herrero, V. Montiel, J.M. Feliu, A. Aldaz, *Electrochem. Commun.* **6** (2004) 1080.
- [38] J. Solla-Gullón, P. Rodríguez, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10** (2008) 1359.
- [39] P.L. Gai, M.A. Harmer, *Nano Lett.* **2** (2002) 771.
- [40] Z.L. Wang, M.B. Mohamed, S. Link, M.A. El-Sayed, *Surf. Sci.* **440** (1999) L809.
- [41] J. Zhang, M. Kambayashi, M. Oyama, *Electrochem. Commun.* **6** (2004) 683.
- [42] R.N. Goyal, A. Aliumar, M. Oyama, *J. Electroanal. Chem.* **631** (2009) 58.
- [43] Y. Chen, W. Schuhmann, A.W. Hassel, *Electrochem. Commun.* **11** (2009) 2036.
- [44] B. Ballarin, M.C. Cassani, E. Scavetta, D. Tonelli, *Electrochim. Acta* **53** (2008) 8034.
- [45] O.P. Khatri, K. Murase, H. Sugimura, *Langmuir* **24** (2008) 3787.
- [46] J. Hernandez, J. Solla-Gullón, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *Electrochim. Acta* **52** (2006) 1662.
- [47] S.-M. Chen, W.-Y. Chzo, *J. Electroanal. Chem.* **587** (2006) 226.
- [48] R. Hosseinzadeh, R.E. Sabzi, K. Ghasemlu, *Colloid Surface B* **68** (2009) 213.
- [49] X. Xing, M. Shao, M.W. Hsiao, R.R. Adzic, C.-C. Liu, *J. Electroanal. Chem.* **339** (1992) 211.
- [50] B.K. Jena, C.R. Raj, *Electrochem. Commun.* **10** (2008) 951.
- [51] M. Rueda, A. Aldaz, F. Sanchez-Burgos, *Electrochim. Acta* **23** (1978) 419.
- [52] M.I. Manzanares, V. Solís, R.H. Rossi, *J. Electroanal. Chem.* **407** (1996) 141.



Capítulo 3

Monocamadas auto-montadas funcionalizadas - interacção Au-S na imobilização de Au-NPs e oligonucleótidos tiolados no desenvolvimento de biosensores de ADN

Parte do trabalho apresentado neste capítulo foi objecto dos seguintes artigos:

- “Electrochemical and STM study of α,ω -alkanedithiols Self-assembled monolayers”, V.C. Ferreira, F. Silva, L.M. Abrantes, *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* **23** (2009) 99-106.
- “Electrochemical and morphological characterization of new architectures containing self-assembled monolayers and Au-NPs”, Virgínia C. Ferreira, A. Fernando Silva, Luisa M. Abrantes, *Journal of Physical Chemistry C* **114** (2010) 7710-7716.

3. Monocamadas auto-montadas funcionalizadas - interacção Au-S na imobilização de Au-NPs e oligonucleótidos tiolados no desenvolvimento de biosensores de ADN

3.1. Objectivo

Neste capítulo descreve-se:

- A formação de monocamadas auto-montadas de *n*-alcanotióis e α,ω -alcanoditióis em ouro, para preparar superfícies adequadamente funcionalizadas com grupos tiol livres na interface monocamada/solução;
- A caracterização das monocamadas auto-montadas preparadas quanto à estabilidade, organização e propriedades electroquímicas, e a selecção das superfícies modificadas mais adequadas para posterior modificação;
- A imobilização e quantificação de nanopartículas de Au nas monocamadas seleccionadas, a avaliação das suas propriedades electroquímicas e o desenvolvimento de estruturas tridimensionais de monocamadas e Au-NPs;
- A avaliação da resposta de eléctrodos de Au modificados com monocamadas mistas de oligonucleótidos funcionalizados com dialquildissulfuretos no desempenho como biosensores de ADN e o estudo de métodos de detecção aplicáveis.

3.2. Preparação e Caracterização de Monocamadas Auto-montadas

3.2.1. SAMs contendo α,ω -alcanoditióis

Nas figuras 3.1 (a e b) ilustram-se os voltamogramas cíclicos obtidos para a dessorção redutiva (2 ciclos de potencial) em meio alcalino (0,1 mol dm⁻³ de NaOH) de monocamadas simples, preparadas de acordo com o descrito no capítulo 5, a partir de soluções etanólicas 1 mmol dm⁻³ de 1,10-decanoditiol e de 1-hexanotiol, respectivamente. São observados

dois picos de redução no varrimento catódico (Red. 1 e 2) e um de oxidação no varrimento anódico (Ox.).

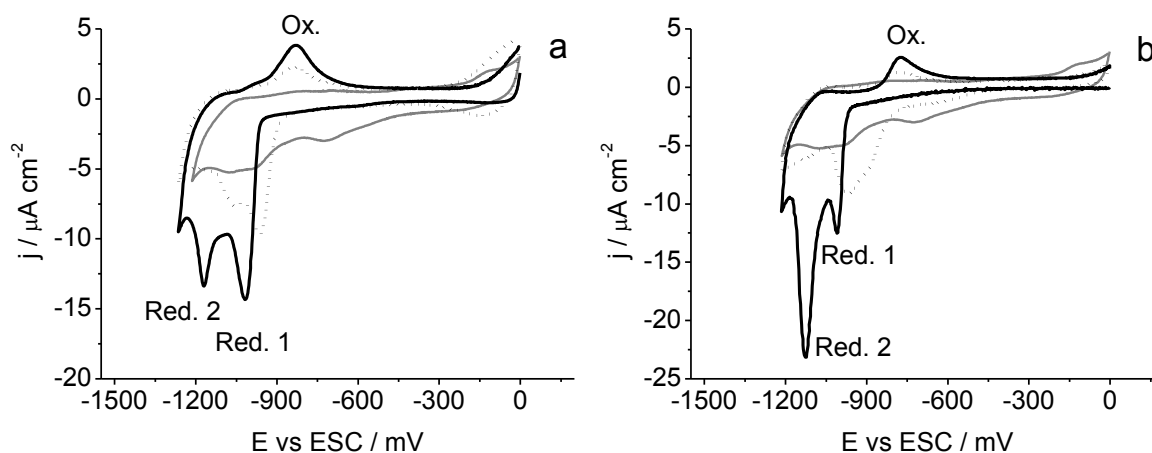
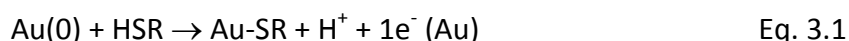


Figure 3.1 - Voltamogramas cíclicos da dessorção redutiva das SAMs preparadas a partir de (a) 1,10-decanoditiol, (—) ciclo 1 e (---) ciclo 2 e (b) 1-hexanotioli, (—) ciclo 1 e (---) ciclo 2, com $t_{ads} = 22$ h; $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaOH, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Os primeiros têm sido atribuídos à dessorção das moléculas auto-montadas em resultado da forte interacção Au-S que controla o processo para moléculas que contêm grupos terminais com enxofre (por exemplo os tióis, sulfuretos e dissulfuretos) em superfícies de ouro; a adsorção de tióis pode ser descrita pela equação 3.1:

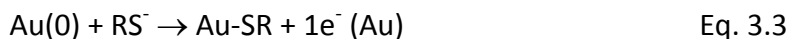


ou seja, ocorre por um processo anódico que envolve a transferência de electrões [1-3]. A formação de hidrogénio molecular resultante da reacção anterior tem sido sugerida, no entanto, na presença de oxigénio dissolvido na solução de preparação, aquele pode encontrar-se na forma de H_2O_2 [4], cuja formação é favorecida pela elevada densidade de carga negativa acumulada na superfície metálica em resultado da reacção de adsorção ao potencial em circuito aberto [1, 2, 5]. A reacção de dessorção conduz à formação de um tiolato, de acordo com a equação 3.2:

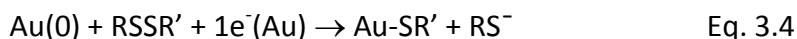


Este, que pode permanecer nas imediações da superfície atraído pelos catiões adsorvidos no Au, devido ao elevado potencial negativo aplicado [6, 7], é readsorvido no varrimento

anódico [8, 9], por um processo oxidativo, através da reacção representada pela equação 3.3:



Esta é comum à adsorção de dialquildissulfuretos, como passo subsequente ao da adsorção redutiva representada pela equação 3.4:



O pico de oxidação detectado no varrimento anódico (Ox.) corresponde à re-deposição oxidativa das moléculas desorvidas no varrimento catódico. No entanto, para as monocamadas formadas a partir tanto de *n*-alcanotióis como de α,ω -alcanoditióis (figura 3.1), a carga envolvida no pico de corrente de re-deposição oxidativa detectada no varrimento anódico do primeiro ciclo de potencial (Ox.) é inferior aquela do segundo ciclo da desorção redutiva. A possibilidade de desorção incompleta no primeiro varrimento catódico ($v = 20 \text{ mV s}^{-1}$) não é de considerar pois obtiveram-se valores de carga de redução semelhantes a uma velocidade de varrimento inferior ($v = 10 \text{ mV s}^{-1}$).

Por outro lado, a literatura reporta que a desorção de SAMs de *n*-alcanotióis preparadas a partir de soluções etanólicas ocorre não com a formação de tiolatos mas de dialquildissulfuretos [4, 10-12], o que permite justificar a diferença de carga obtida entre a adsorção oxidativa das SAMs de tióis e ditióis no segundo ciclo de desorção catódica. Neste caso, uma vez que a adsorção de dissulfuretos ocorre em dois passos, um catódico (envolvendo 2 electrões na redução do dissulfureto e 1 electrão na oxidação do Au, equação 3.4) e o segundo anódico (adsorção oxidativa de moléculas de tiolato que não difundiram para o seio da solução, equação 3.3) [1-3], o balanço global de carga de adsorção é inferior ao esperado se o processo fosse totalmente oxidativo.

A desorção redutiva de SAMs preparadas, por imersão durante curtos períodos de tempo a partir de 1,6-hexanoditiol ($t_{\text{ads.}} = 8 \text{ h}$) e 1-hexanotiol ($t_{\text{ads.}} = 1 \text{ h}$) ocorre a valores de potencial menos negativos do que aquelas formadas durante períodos de tempo mais longos ($t_{\text{ads.}} = 22 \text{ h}$) em cerca de 46 e 120 mV (Red. 1 e 2 no 1,6-hexanoditiol) e 68 e 15 mV (Red. 1 e 2 no 1-hexanotiol), mostrando a sua menor estabilidade. Apesar disso, os valores estimados de recobrimento superficial, Γ , das SAMs de 1,6-hexanoditiol após 8 e 22 horas

de adsorção são semelhantes ($\Gamma \approx 7,3 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$), indicando que a sua organização é um processo muito mais lento do que o passo de adsorção, tal como tem sido reportado na literatura [6, 13, 14]. Assim, de modo a obter monocamadas organizadas estas são preparadas com um tempo de adsorção mínimo de 22 horas.

As figuras 3.2 e 3.3 contêm os voltamogramas cíclicos da dessorção redutiva das monocamadas preparadas a partir de α,ω -alcanoditióis e n -alcanotióis, respectivamente, com diferentes comprimentos de cadeia alquilo ($n = 6, 9$ e 10). Observa-se a presença de dois picos de redução, cuja posição apresenta uma variabilidade de ± 10 mV entre amostras, com diferença de potencial, ΔE^c , entre os picos Red. 1 e Red. 2 de cerca de 149 mV e 65-120 mV, para as SAMs de ditiol e tiol, respectivamente. A separação dos picos de dessorção, de 20-100 mV, tem sido atribuída à presença de diferentes domínios moleculares na monocamada [15, 16]; também a rugosidade microscópica da superfície de ouro, é responsável por desvios de potencial entre 200-300 mV e divisão do pico de dessorção, devido a domínios cristalográficos na superfície com distintas orientações [15, 17, 18], contudo o valor de potencial de carga zero (pcz) de superfícies de Au com distintas orientações cristalográficas pode apresentar diferenças de potencial daquela ordem [9].

Na tabela 3.1 encontram-se os valores de potencial dos picos, E_p , da diferença de potencial entre os picos de redução, ΔE^c , e o recobrimento superficial, Γ , determinados a partir das figuras 3.2 e 3.3. Tendo em conta a rugosidade superficial do Au ($R_s = 1,2$), obtida de acordo com o referido no capítulo 5, são estimados os valores de Γ , através da equação 5.1 mencionada no mesmo capítulo, com base na carga eléctrica envolvida nos picos de dessorção redutiva da monocamada, assumindo um electrão por molécula adsorvida de acordo com a equação 3.2 [8, 9, 16 18-20].

A estabilidade das monocamadas preparadas a partir de α,ω -alcanoditióis aumenta com o comprimento da cadeia das moléculas adsorvidas; o pico de dessorção redutiva Red. 1, assinalado na figura 3.2, é desviado para valores de potencial mais negativos, E_1^c , devido às interacções de van der Waals entre cadeias alquilo. Um comportamento idêntico é observado na figura 3.3 para os n -alcanotióis. Contudo, a dessorção redutiva das SAMs de n -alcanotióis ocorre a valores de potencial mais negativos do que os correspondentes ditióis, mostrando que a presença de grupos tiol em ambas as extremidades da molécula afecta a estabilidade das monocamadas.

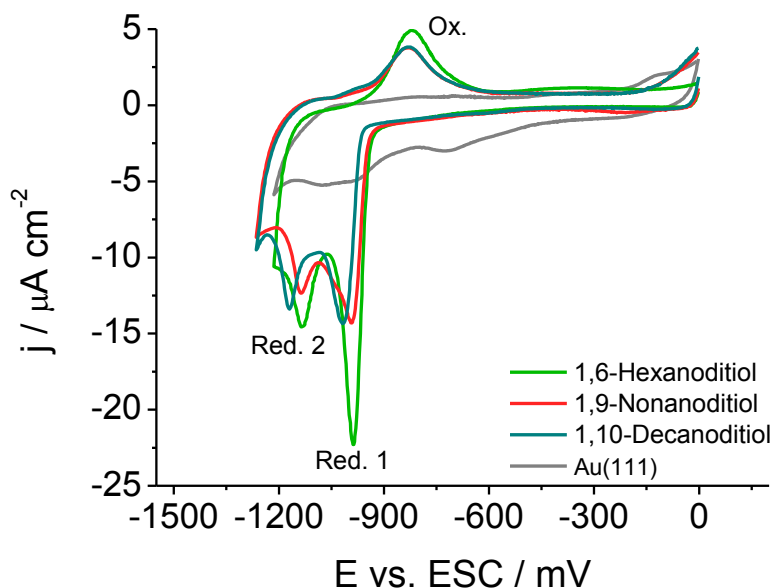


Figura 3.2 - Voltamogramas cíclicos da desorção redutiva de SAMs de (—) 1,6-hexanoditiol, (—) 1,9-nonanoditiol e (—) 1,10-decanoditiol, com $t_{\text{ads.}} = 22 \text{ h}$ e comparação com resposta de Au(111) limpo; $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaOH, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

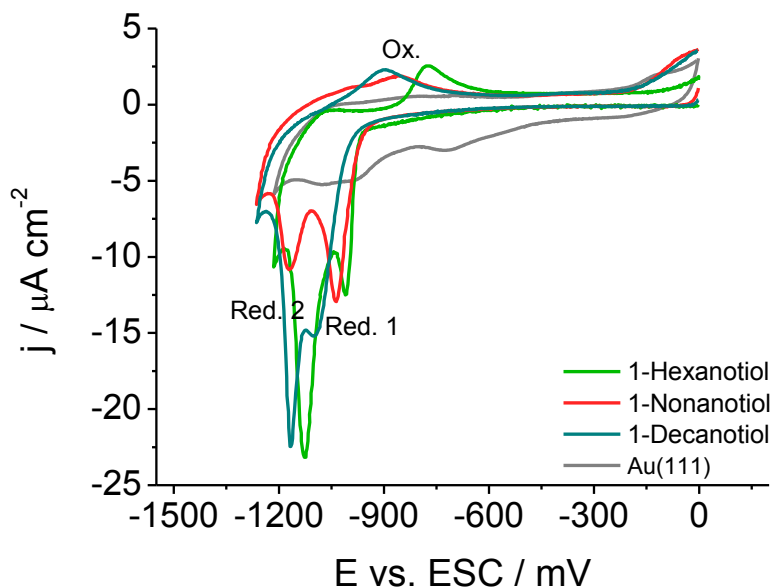


Figura 3.3 - Voltamogramas cíclicos da desorção redutiva de SAMs de (—) 1-hexanotiol, (—) 1-nonanotiol e (—) 1-decanotiol, com $t_{\text{ads.}} = 22 \text{ h}$ e comparação com resposta de Au(111) limpo; $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaOH, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Tabela 3.1 - Valores de potencial dos picos de dessorção redutiva (E^c) e reoxidação (E^a) e recobrimento superficial (Γ) das SAMs de α,ω -alcanoditióis e n -alcanoditióis.

Tiol (1 mmol dm ⁻³)	t / h	v / mV s ⁻¹	E^c / mV		E^a / mV	ΔE^c (2-1) / mV	$10^{10} \Gamma$ ($\pm 0,3$) / mol cm ⁻²
			1	2			
1-Hexanotiol	22	20	-1008	-1126	-774	118	6,6
1,6-Hexanoditiol			-988	-1135	-821	147	7,3
1-Nonanotiol	22	20	-1041	-1161	-860	120	5,5
1,9-Nonanoditiol			-992	-1138	-832	146	6,3
1-Decanotiol	22	20	-1100	-1165	-897	65	7,4
1,10-Decanoditiol			-1018	-1170	-828	152	6,2
(10 mmol dm ⁻³)			-1135	-1177	-833	42	6,8

E – Valores de potencial dos picos catódico (c) e anódico (a); ΔE^c – separação dos picos catódicos;
 Γ - recobrimento superficial.

Os valores de recobrimento superficial estão de acordo com os reportados para monocamadas compactas de n -alcanoditióis (com $n > 10$) com recobrimento de saturação numa estrutura ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$)R30° em Au(111), $\Gamma = 7,6 \times 10^{-10}$ mol cm⁻² [8, 9, 19, 20]. Sugerem a formação de monocamadas compactas de ditióis orientados perpendicularmente à superfície, pois a adsorção paralela daquelas moléculas com $n = 6, 9$ e 10 resultaria em valores de $\Gamma \approx 2,9 \times 10^{-10}$; $2,2 \times 10^{-10}$ e $2,0 \times 10^{-10}$ mol cm⁻², respectivamente (valores estimados com base na área ocupada pelas moléculas, obtida com o auxílio do software *ChemSketch* e assumindo um espaçamento de 0,5 nm entre moléculas adsorvidas [21]).

O uso de α,ω -alcanoditióis tem particular interesse, uma vez que contendo duas funcionalidades SH nas extremidades opostas da cadeia alquilo, permitem obter superfícies modificadas com grupos tiol livres na interface SAM/solução e posterior modificação, em particular através de interacção com outras moléculas, iões e partículas metálicas [22-27]. No entanto, para as SAMs de ditióis com comprimento de cadeia mais curto ($n = 6$ e 9) os valores de Γ são superiores aos obtidos para a SAM do monotiol correspondente. Neste caso, ocorre a redução de algumas ligações dissulfureto na interface SAM/solução, em simultâneo com a dessorção redutiva, o que contribui para a carga catódica resultando em valores de Γ mais elevados [6, 25]. De facto, a disponibilidade dos grupos SH na interface SAM/solução possibilita a formação oxidativa de ligações dissulfureto, S-S, inter- ou intra-camada, que perturbam o empacotamento das cadeias alquilo [6, 13, 25, 26, 28-30].

Para o 1,10-decanoditiol o potencial do pico de redução E_1^c , deslocado 80 mV para valores menos negativos, em relação aos obtidos para o 1-decanotiol, e o baixo valor de Γ , mostram uma SAM menos organizada e sugerem a formação de aselhas (ambos os grupos SH ligados à superfície), cuja tendência aumenta para alcanoditióis com $n > 8$ [31].

A adsorção a partir de uma solução 10 mmol dm^{-3} de 1,10-decanoditiol, favorece a estabilização e orientação perpendicular das moléculas adsorvidas [28], pois os valores de potencial dos picos de dessorção redutiva aproximam-se dos observados para o correspondente monotiol, obtendo-se um ligeiro aumento do valor de Γ , tabela 3.1. No entanto, embora nestas condições a orientação perpendicular das moléculas adsorvidas seja favorecida, tem-se observado a formação de ligações S-S inter-camadas [28], o que contribui para os valores de carga de redução superiores, como foi acima referido.

Nas figuras 3.4 e 3.5 ilustram-se as imagens de STM obtidas para as SAMs simples preparadas a partir de *n*-alcanotióis e α,ω -alcanoditióis. A formação das monocamadas na superfície é evidenciada pela presença de depressões típicas, figura 3.4 (a), que contêm uma SAM organizada [13, 32, 34, 39], com profundidade comensurável com a de um degrau monoatômico numa superfície de Au(111) ($\approx 0,24 \text{ nm}$) [33-35, 39], figura 3.4 (b), induzidas pelo tiol nos terraços da superfície de ouro. Aquelas têm sido explicadas pela reconstrução da superfície com compressão da camada externa de átomos de ouro [34, 35], dissolução de Au [32, 36, 37] ou pela mobilidade do par Au/tiolato [13, 37].

Nas monocamadas preparadas com *n*-alcanotióis, apresentadas nas imagens $5 \times 5 \text{ nm}^2$ incluídas nas figuras 3.5 (a-c), é detectável uma estrutura hexagonal ($\sqrt{3} \times \sqrt{3}$)R30° comensurável com a superfície de Au(111) e uma periodicidade constante de cerca de 0,5 nm entre moléculas adsorvidas [35, 38, 39].

A ausência de resolução molecular nas imagens de STM das SAMs de α,ω -alcanoditióis (figura 3.5 (a'-c')) corrobora a baixa organização das monocamadas de ditiol, sugerida pelos resultados electroquímicos; pode ter origem na presença de ligações S-S aleatoriamente distribuídas na interface SAM/solução [6, 13]. No entanto, a interacção ponta/grupos SH livres na SAM podem também influenciar a obtenção das imagens de STM nestas monocamadas [13].

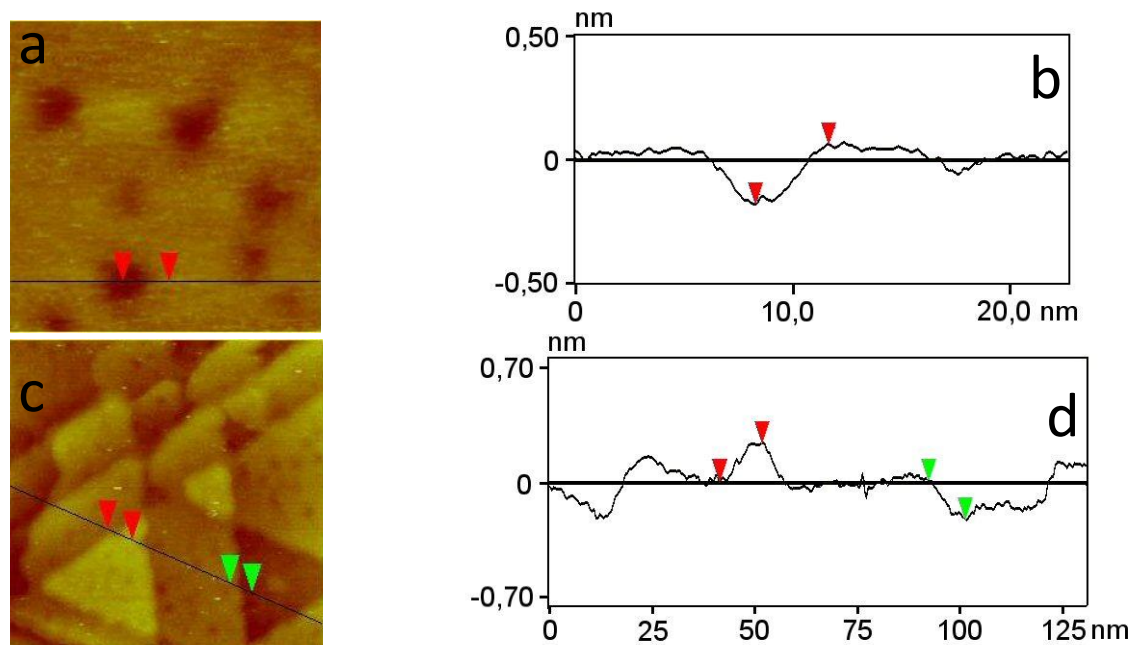


Figura 3.4 - Imagens (a e c) de *STM* de superfícies de Au(111) modificadas com *SAMs* preparadas em solução etanólica de (a) 1,6-hexanoditiol ($z = 1$ nm, 22×22 nm²) e (b) 1,9-nonanoditiol ($z = 1,5$ nm, 120×120 nm²), e os respectivos perfis ilustrando as depressões induzidas pelo tiol (a e b) e os degraus monoatómicos na superfície do Au(111) (c e d); $i_T \approx 150$ pA e $U_T \approx 800$ mV.

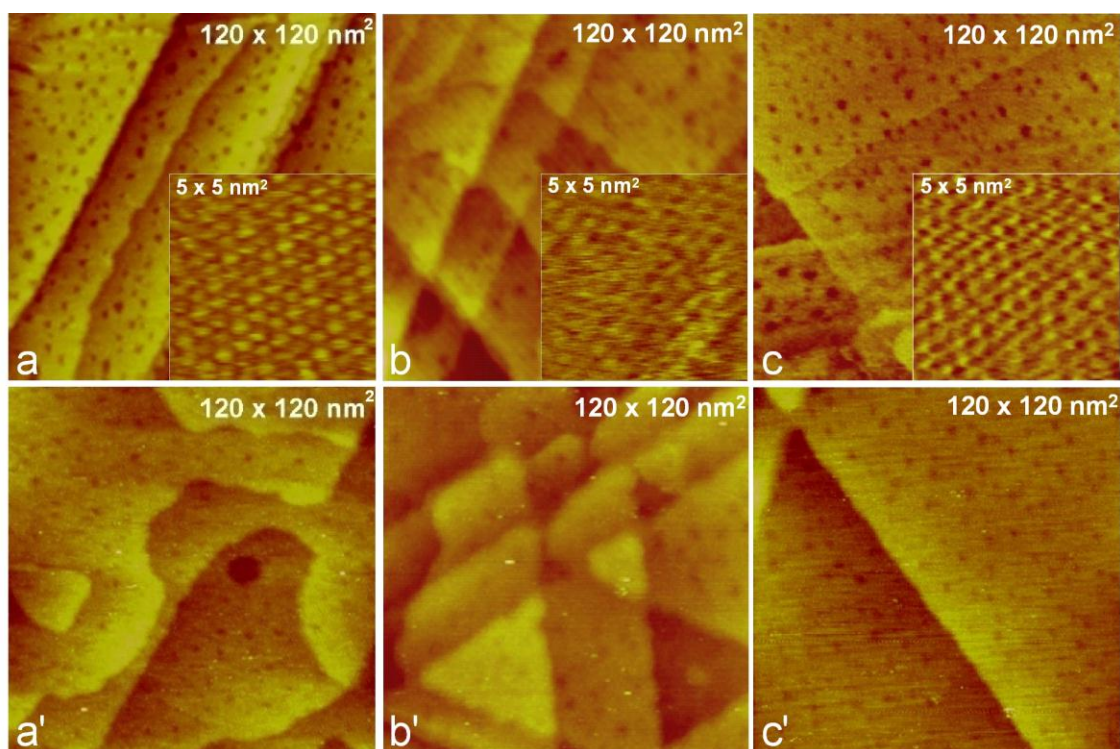


Figura 3.5 - Imagens de *STM* das *SAMs* preparadas em soluções etanólicas de *n*-alcanotióis: (a) 1-hexanotiól ($z = 4$ nm), (b) 1-nanotiól ($z = 2$ nm) e (c) 1-decanotiól ($z = 2$ nm) (detalhes incluídos nas figuras: imagens de *n*-alcanotióis 5×5 nm²) e de α,ω -alcanoditióis: (a') 1,6-hexanoditiól ($z = 2$ nm), (b') 1,9-nonanoditiól ($z = 2$ nm) e (c') 1,10-decanoditiól ($z = 1$ nm); imagens 120×120 nm², $i_T = 150$ pA e $U_T = 800$ mV.

No caso das *SAMs* de α,ω -alcanoditióis, agregados com menos de 1 nm de altura observam-se na imagem de *STM* ilustrada na figura 3.6, mas não nas das *SAMs* de *n*-alcanotióis. Embora não se encontre reportada na literatura a sua detecção por esta técnica, devem-se à formação de mais do que uma monocamada através de ligações dissulfureto com moléculas livres em solução, ficando estas não orientadas, dado que a altura dos agregados é inferior ao comprimento de uma molécula de 1,9-nonanoditiol (1,364 nm). Esta observação concorda com as estruturas detectadas sobre as monocamadas em estudos por *AFM*; neste caso, com altura comensurável com uma mono- ou bicamada adicional em *SAMs* de *n*-alcanotiol e α,ω -alcanoditiol, respectivamente [26, 30, 40].

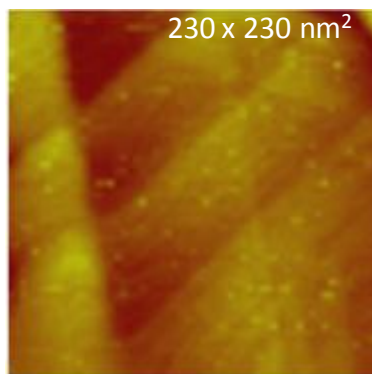


Figure 3.6 - Imagem de *STM* das *SAMs* preparadas em soluções etanólicas de 1,9-nonanoditiol ($z = 6$ nm); imagens 230×230 nm², $i_T = 500$ pA e $U_T = 200$ mV.

3.2.2. Monocamadas mistas contendo α,ω -alcanoditióis

Um método simples e conveniente para obter monocamadas mistas é o uso de soluções de auto-montagem contendo ambas as moléculas (tiol e ditiol) [41, 42].

Nas figuras 3.7 e 3.8 e tabela 3.2 compara-se a caracterização electroquímica das monocamadas mistas, *m-Cn*, preparadas em soluções etanólicas contendo diferentes proporções de moléculas de tiol e ditiol (1 mmol dm⁻³ de concentração total de moléculas) com igual comprimento de cadeia alquilo ($n = 6, 9$ ou 10), com as correspondentes *SAMs* simples de tiol e ditiol.

Nas *SAMs* mistas preparadas em soluções equimolares (ou quase-equimolares) dos dois componentes, o aumento da concentração de *n*-alcanotiol na solução de adsorção conduz a um incremento do recobrimento superficial, indicando que o monotiol induz a

organização e estabilização da monocamada. Esta é confirmada nos voltamogramas da figura 3.7 (a e b), pelo desvio de potencial dos picos catódicos para valores mais negativos nas SAMs mistas ($n = 6$ e 9), quando comparadas com as monocamadas simples de ditiol. Para o maior comprimento de cadeia alquilo ($n = 10$, figura 3.7 (c)) o pico catódico surge sensivelmente ao mesmo valor de potencial; a presença de moléculas de n -alcanotiol na SAM mista parece atenuar a formação de aselhas, obtendo-se um maior recobrimento superficial como se constata pelos valores incluídos na tabela 3.2.

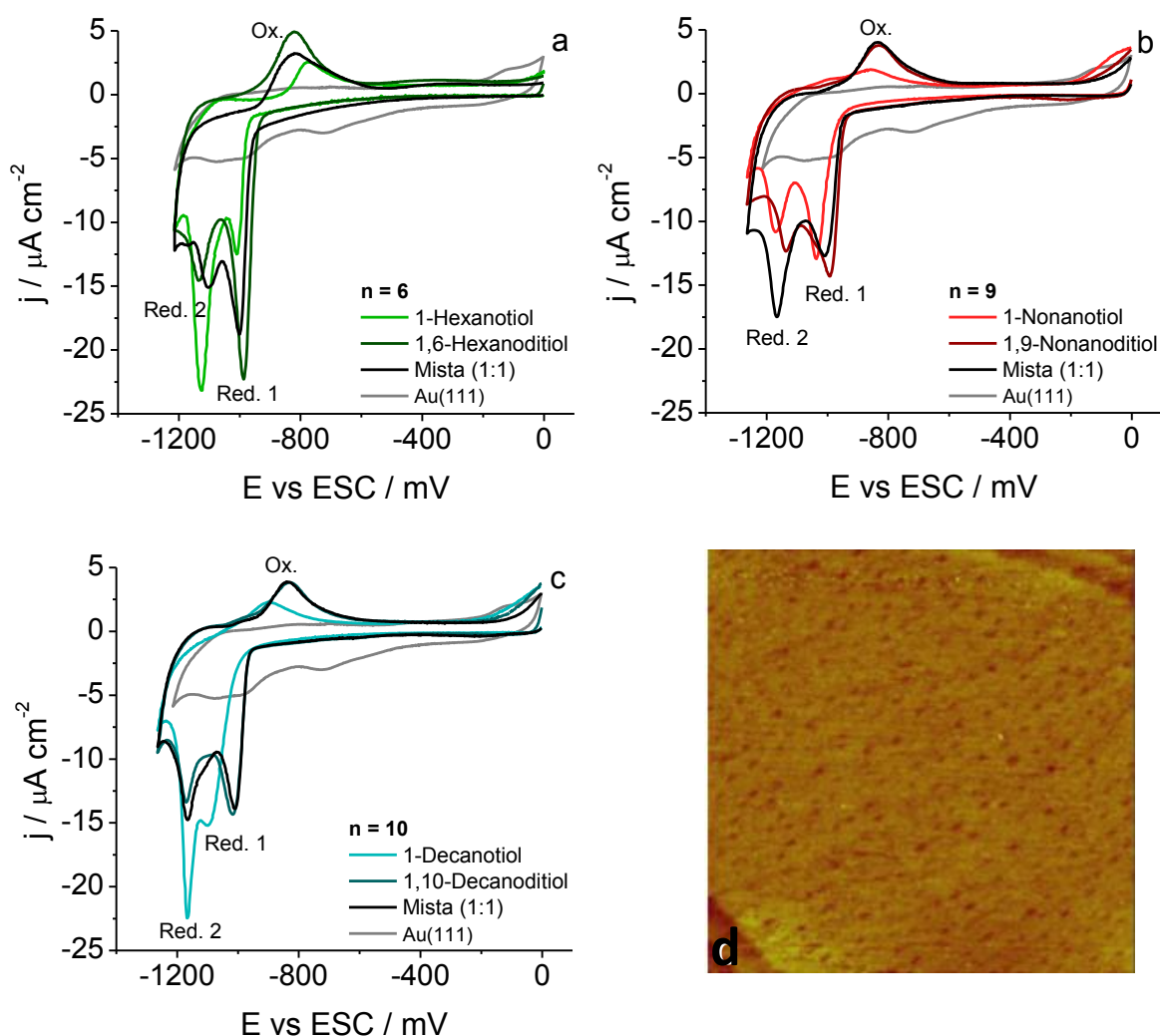


Figura 3.7 - Voltamogramas cíclicos da dessorção redutiva de SAMs mistas preparadas em soluções etanólicas contendo: (a) 1,6-hexanoditiol/1-hexanotiol, (b) 1,9-nonanoditiol/1-nonanotiol e (c) 1,10-decanoditiol/1-decanotiol e comparação com as SAMs simples com igual comprimento de cadeia e com resposta de Au(111) limpo (—), com $t_{\text{ads.}} = 22 \text{ h}$; $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaOH, $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$; (d) imagem de STM da SAM mista (1:1) de 1-decanotiol/1,10-decanoditiol ($z = 1 \text{ nm}$); imagens $120 \times 120 \text{ nm}^2$, $i_T = 150 \text{ pA}$ e $U_T = 800 \text{ mV}$.

Nas condições usadas para a preparação destas monocamadas e uma vez que a constante de velocidade de adsorção do ditiol é superior à do monotiol (por exemplo para o 1,8-octanoditiol e o 1-octanotiol, $k = 2188$ e $1380 \text{ s}^{-1/2}$, respectivamente, em soluções $5 \mu\text{mol dm}^{-3}$ [43]), é razoável assumir que o primeiro é o componente principal.

Na figura 3.7 (d), que ilustra uma imagem de *STM* representativa das obtidas para as *SAMs* mistas preparadas a partir de soluções contendo a proporção equimolar dos componentes, podem distinguir-se as depressões típicas que confirmam a formação da monocamada. Apesar dos resultados electroquímicos indicarem um aumento de estabilidade e diminuição de formação de aselhas nas *SAMs* mistas *m-Cn*, não foi possível detectar detalhes estruturais nas imagens de *STM* devido à composição das monocamadas conter o ditiol como componente maioritário e ser difícil obter resolução molecular em monocamadas de ditióis e em mistas pouco organizadas, nas quais apenas alguma segregação de fases foi distinguida [6, 13].

Tabela 3.2 - Valores dos picos de dessorção redutiva (E^c) e re-oxidação (E^a), separação dos picos (ΔE^c) e recobrimento superficial (Γ) das *SAMs* mistas preparadas com $t_{\text{ads.}} = 22 \text{ h}$.

Tiol / Ditiol	E^c / mV		$\Delta E^c_{(2-1)} / \text{mV}$	$10^{10} \Gamma (\pm 0,2) / \text{mol cm}^{-2}$	
	1	2			
$C_6:C_6\text{-SH}$	(1:1)	-1003	-1104	101	5,2
	(3:1)	-1028	-1087	59	5,8
	(50:1)	-1015	-1091	76	6,6
$C_9:C_9\text{-SH}$	(1:1)	-1010	-1166	156	6,2
$C_{10}:C_{10}\text{-SH}$	(1:1)	-1012	-1165	153	6,6
	(5:1)	-1098	-1155	57	6,3
	(10:1)	-1123	-1166	43	6,2
	(50:1)	-1109 ^a	-1167	~58	7,1

^a – pico mal definido.

Por outro lado, a presença de concentrações de monotiol significativamente superiores às de ditiol, nas soluções de preparação das *SAMs* mistas, conduz a um aumento da estabilidade das monocamadas como se mostra na figura 3.8. Os picos de dessorção redutiva, E^c_1 , ocorrem a valores de potencial mais negativos, cerca de 147 e 91 mV, do que os detectados para as *SAMs* simples de 1,6-hexanoditiol e 1,10-decanoditiol, respectivamente; o potencial do segundo pico de dessorção, E^c_2 , é essencialmente independente da composição da *SAM* ($n = 10$). No entanto, como a dessorção redutiva das

monocamadas simples de tiol e ditiol ocorre na mesma gama de valores de potencial, não é possível inferir da composição final das SAMs mistas. Apenas a intensidade relativa do segundo pico de redução, Red. 2, superior a Red. 1, nas monocamadas simples de *n*-alcanotiol e crescente com o conteúdo em monotiol sugere que este predomina nas SAMs (50:1).

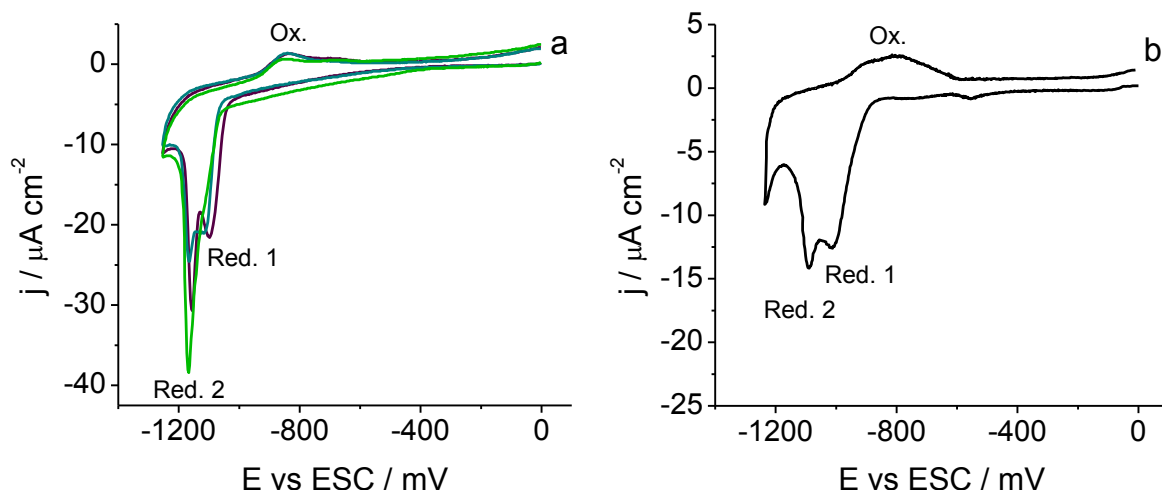


Figura 3.8 - Perfis voltamétricos da dessorção redutiva de SAMs mistas preparadas em soluções etanólicas contendo (a) ($\text{C}_{10}:\text{C}_{10}\text{-SH}$) nas proporções (—) (5:1), (—) (10:1) e (—) (50:1) e (b) ($\text{C}_6:\text{C}_6\text{-SH}$) na proporção (50:1), com $t_{\text{ads.}} = 22$ h; $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaOH e $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Os valores de recobrimento superficial apresentados na tabela 3.2 mostram que se pode tirar partido da formação de SAMs mistas, usando soluções com elevada proporção de tiol (50:1), para preparar monocamadas funcionalizadas com grupos SH na interface SAM/solução. Neste caso os valores de Γ , próximos dos obtidos para as monocamadas simples dos *n*-alcanotióis correspondentes, indicam que as moléculas de ditiol adoptam preferencialmente uma orientação perpendicular, não sendo esperada a formação de ligações dissulfureto em quantidade significativa devido à presença do monotiol. A disponibilidade e adequada orientação dos grupos funcionais SH na interface SAM/solução são factores importantes para a subsequente modificação da superfície.

3.2.3. Estudo do comportamento de SAMs simples e mistas na presença de uma espécie electroactiva em solução

De modo a avaliar a organização e estabilidade das monocamadas simples e mistas, através das suas propriedades barreira, pode recorrer-se à voltametria cíclica, em soluções $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 contendo 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, pois os perfis corrente-potencial são característicos da qualidade da monocamada naquele meio [44].

Na figura 3.9 ilustram-se os voltamogramas cíclicos obtidos a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ para as SAMs simples de 1-hexanotiol e 1,6-hexanoditiol, 1,9-nonanoditiol, 1-decanotiol e 1,10-decanoditiol. Os resultados mostram que a presença da segunda funcionalidade tiol nas moléculas adsorvidas resulta numa diminuição do bloqueio à transferência electrónica (t.e.). Os α,ω -alcanoditióis de cadeia mais curta ($n = 6$ e 9) promovem a perda de organização dos filmes, com conseqüente diminuição da densidade de empacotamento e o início de permeabilidade a iões da solução. Neste caso, a presença de picos de corrente indica a existência de locais de defeito e poros em número e dimensões suficientes para que as camadas de difusão nesses pontos se sobreponham, comportando-se como um macroeléctrodo [45-47].

Na SAM de 1,10-decanoditiol a t.e. é mais inibida; a forma aproximadamente sinusoidal dos voltamogramas cíclicos ilustrados na figura 3.9 (c) aponta para a presença de defeitos e poros dispersos que se comportam como microeléctrodos, com camadas de difusão não sobrepostas [44, 47, 48]. Este comportamento está de acordo com o efeito do comprimento da cadeia alquilo: as SAMs de n -alcanotióis de cadeia longa constituem-se como barreiras de alta qualidade aos processos de t.e. e são consideravelmente impermeáveis a iões [49-51]; comprova ainda que SAMs α,ω -alcanoditióis podem igualmente comportar-se como barreiras isoladoras [5, 44, 52, 53]. Este resultado reforça os anteriormente discutidos que apontam para a adsorção das moléculas de ditiol perpendicularmente à superfície; pois a adsorção através dos dois grupos -SH da molécula resultaria num menor bloqueio da t.e. devido a menor grau de compactação e organização da monocamada.

Comparando a densidade de corrente ao potencial de meia onda do par $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4-}$, numa solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 em Au(111) ($E^{1/2} = 174 \text{ mV vs ESC}$), com a medida a partir

dos perfis voltamétricos da figura 3.9 obtidos para as SAMs de ditiol, verifica-se que a supressão da t.e. aumenta com o comprimento de cadeia; é de 54, 70 e 85% para as monocamadas de ditiol com $n = 6, 9$ e 10 , respectivamente. O aumento do tempo de adsorção ($t = 40$ h) não favorece o bloqueio da superfície (87 %) nem a organização da SAM de C_{10} -SH, como mostra a figura 3.9 (c). Apenas em monocamadas preparadas a partir de soluções mais concentradas de 1,10-decanoditiol (10 mmol dm^{-3}) se obtêm valores de 92 e 95% para $t_{\text{ads.}} = 22$ e 64 h, respectivamente, o que concorda com os resultados de dessorção reductiva, embora nestas condições, a contribuição da presença de multicamadas deva ser tida em conta.

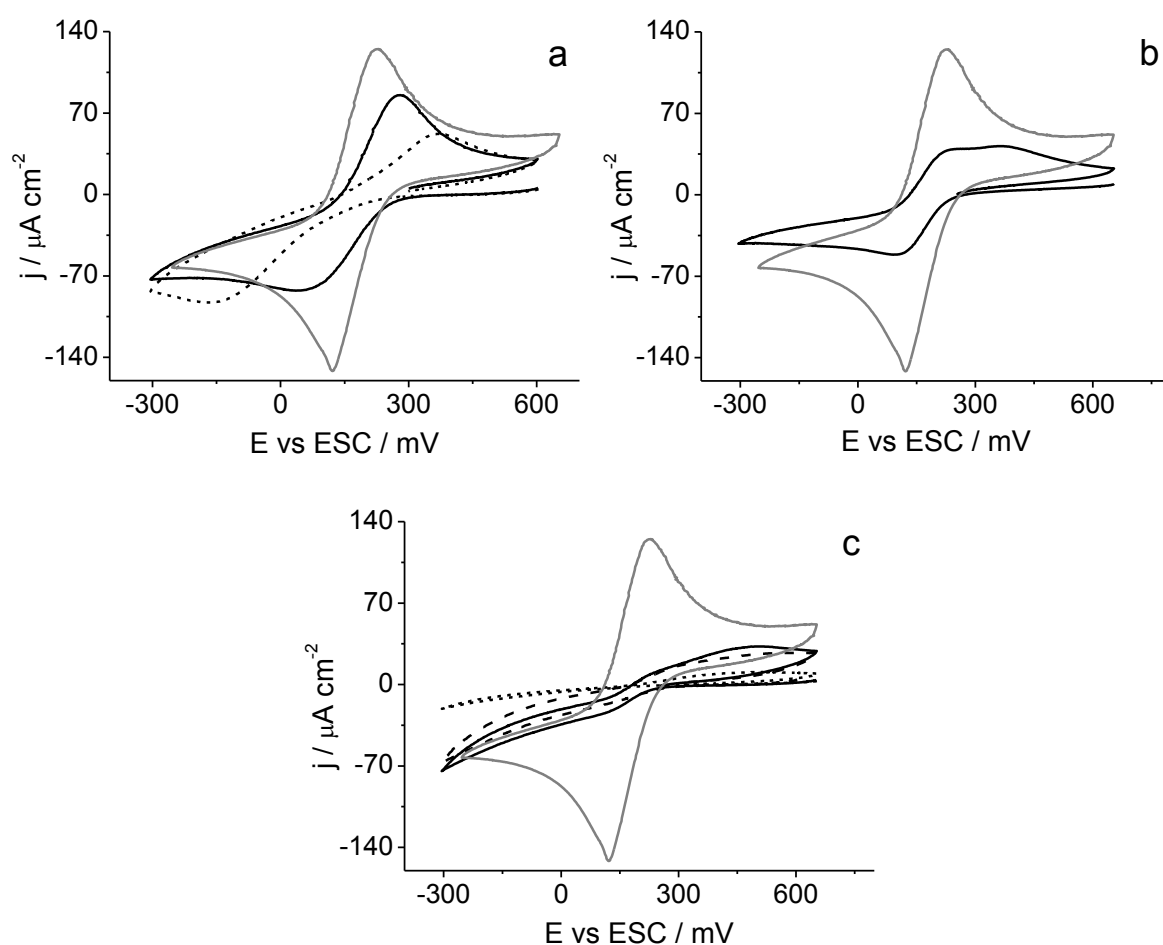


Figura 3.9 - Voltamogramas cíclicos da caracterização de SAMs simples preparadas com $t_{\text{ads.}} = 22$ h a partir de: (a) 1-hexanotiol (---) e 1,6-hexanoditiol (—), (b) 1,9-nonanoditiol (—) e (c) 1-decanotiol (---) e 1,10 decanoditiol ($t_{\text{ads.}} = 22$ (—) e 40 h (---)); comparação com Au(111) (—); 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

O tempo de imersão do eléctrodo modificado na solução de electrólito é um factor a considerar na análise dos resultados obtidos, pois, tal como outros [54, 55], afecta a

permeabilidade das SAMs. Nos perfis voltamétricos da figura 3.10, obtidos para a SAM formada a partir de 1,10-decanoditiol, pode observar-se que, para curtos períodos de imersão (até 1 hora), a resposta electroquímica sem pico catódico definido, evolui no tempo para um comportamento reversível semelhante ao observado na monocamada pouco organizada de 1,6-hexanoditiol, cujo perfil voltamétrico se encontra na figura 3.9 (a). Embora os grupos tiol na interface SAM/solução não sejam ionizáveis no meio usado (pH 7) ($pK_a \approx 10-11$ [8, 9]), a imersão das monocamadas na solução electrolítica perturba a sua organização, nomeadamente em resultado da penetração de pequenos iões da solução e moléculas de água do solvente, através de canais com cerca de 0,3 nm identificados em SAMs compactas e organizadas de *n*-alcanotióis [56]. De facto, a literatura reporta desordem introduzida nas cadeias alquilo (quer seja na interface SAM/solução ou no interior da SAM) tanto com grupos terminais ionizáveis, NH_2 , como não-ionizáveis, CH_3 [54]. Nas SAMs de ditiol a formação de ligações dissulfureto, intra- ou inter-camada na interface com a solução, podem introduzir distorções ao empacotamento [6, 13, 26, 28], aumentando a permeabilidade a iões da solução com o tempo de imersão e facilitando o processo de transferência electrónica entre as espécies electroactivas em solução e a superfície do eléctrodo.

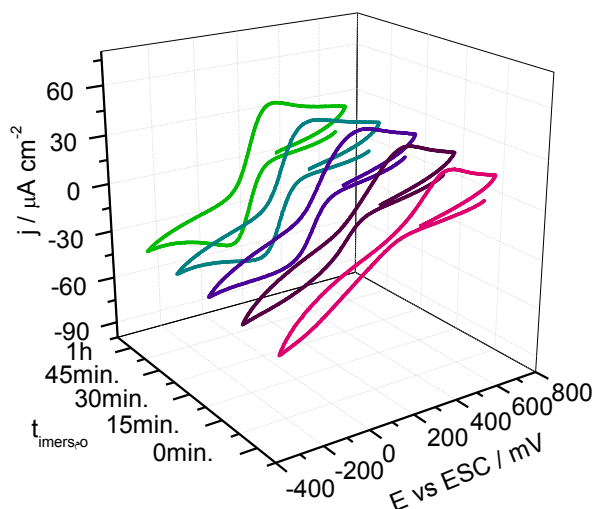


Figura 3.10 - Voltamogramas cíclicos da caracterização de SAMs de 1,10-decanoditiol (22 h) com diferentes tempos de imersão: (—) 0 min., (—) 15 min., (—) 30 min., (—) 45 min. e (—) 1 h, em solução de electrólito: 1 mmol dm^{-3} de $Fe(CN)_6^{3-}$ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 ; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Na figura 3.11 constam os voltamogramas cíclicos de SAMs mistas preparadas a partir de soluções etanólicas contendo C_6 e C_6-SH e C_{10} e C_{10-SH} . Na SAM de tiol e ditiol de cadeia

curta ($n = 6$), o bloqueio da t.e. de 72 % é superior ao obtido na monocamada simples de ditiol (54 %), confirmando que a presença de elevada proporção de monotiol (50:1) na solução de preparação permite aumentar a sua organização e diminuir os defeitos [41, 42]. No entanto, no voltamograma cíclico da figura 3.11 (a), observam-se picos de corrente, pois as menores forças de van der Waals entre as cadeias alquilo destas moléculas não garante a ausência de locais de defeito através dos quais a t.e. possa ocorrer. Por outro lado, nas SAMs mistas contendo 1,10-decanoditiol, o aumento da proporção de tiol na solução de preparação entre (5:1) e (100:1) conduz a um bloqueio da t.e. entre 94-96% (a $E^{1/2} = 174$ mV), superior ao da SAM simples de ditiol (85 %).

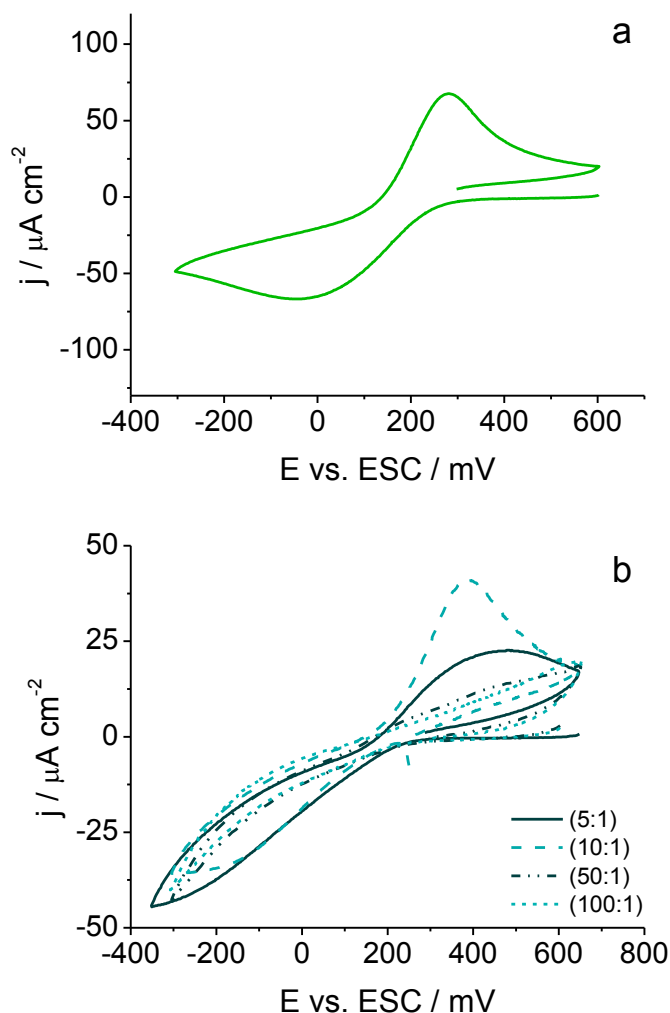


Figura 3.11 - Voltamogramas cíclicos da caracterização de SAMs mistas preparadas com $t_{ads.} = 22$ h a partir de soluções contendo: (a) 1-hexanotiol e 1,6-hexanoditiol com (—) $C_6:C_6-SH$ (50:1) e (b) 1-decanotiol e 1,10 decanoditiol com (—) $C_{10}:C_{10}-SH$ (5:1), (---) $C_{10}:C_{10}-SH$ (10:1) e (· · · ·) $C_{10}:C_{10}-SH$ (50:1) e (- - -) $C_{10}:C_{10}-SH$ (100:1); 1 mmol dm^{-3} de $Fe(CN)_6^{3-}$ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 , $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Em concordância com os resultados de dessorção redutiva, o uso da razão de concentrações de (50:1), permite obter monocamadas funcionalizadas organizadas e favorece as suas propriedades barreira, no intervalo alargado de valores de potencial estudados, embora a t.e. ocorra preferencialmente em locais de defeito. O uso de soluções mais concentradas de tiol na solução de preparação, por exemplo (100:1), não revela vantagens.

Nas figuras 3.12 e 3.13 encontram-se representados os resultados obtidos por microscopia de varrimento electroquímico (*Scanning Electrochemical Microscopy, SECM*) para as monocamadas auto-montadas simples e mista preparadas a partir de 1-hexanotiol e 1,6-hexanoditiol, em soluções 1 mmol dm⁻³ de Fe(CN)₆^{3-/4-} em tampão fosfato (TF 0,1 mol dm⁻³, pH 7). Tendo em conta o tempo necessário de imersão do eléctrodo modificado na solução electrolítica para a realização destas experiências, foram usadas SAMs preparadas com tempos de adsorção longos (40 h) a fim de minimizar quaisquer defeitos na SAM que possam favorecer a desorganização induzida durante o período da experiência.

As curvas de aproximação experimentais (CA) do eléctrodo-ponta ao substrato, i_T-d , obtidas em modo *feedback*, após normalização, $i_T/i_{T,\infty} - L(d/a)$, foram comparadas com as curvas teóricas. Estas são calculadas através das equações 5.6 e 5.7 referidas no capítulo 5, para os substratos condutores e isoladores, respectivamente [57, 58] e usando os parâmetros da tabela 3.3 para o valor $RG = 2$ da ponta de platina (medido com o auxílio de um microscópio óptico). A distância, d , foi determinada a partir de valores experimentais de i_T e das curvas teóricas. Os valores de intensidade de corrente, $i_{T,\infty}$, medidos na ponta, tabela 3.4, sob aplicação dos potenciais $E_T = 350$ mV (oxidação) e $E_T = 25$ mV (redução) para os quais a corrente é controlada por difusão [59], encontram-se em boa concordância com os valores estimados pela equação 5.5, mencionada no capítulo 5, usando os coeficientes de difusão das espécies, D , reportados na literatura [60].

Tabela 3.3 - Valores dos parâmetros k das equações 5.6 e 5.7 (capítulo 5) para o valor $RG = 2$, da literatura.

Substrato	k_1	k_2	k_3	k_4
Condutor [57]	0,6686604	0,6973984	0,3218171	-1,744691
Isolador [58,61]	0,76179	0,60983	0,23866	-2,03267

Tabela 3.4 - Valores de intensidade de corrente, $i_{T,\infty}$, medidos e coeficientes de difusão, D , das espécies obtidos usando a ponta de platina com $a = 50 \mu\text{m}$ numa solução 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7).

Espécie Electroactiva	E_T / mV (vs ESC)	$i_{T,\infty} / \text{nA}$		$D / \text{cm}^2 \text{s}^{-1} *$
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	350	12 ± 2	$12,8^\#$	$6,61 \times 10^{-6}$
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$	25	14 ± 2	$13,5^\#$	$6,98 \times 10^{-6}$

- valores de corrente estimados através da equação 5.5 (capítulo 5); * - valores da referência [60].

A figura 3.12 mostra que ao potencial de circuito aberto, as SAMs em contacto com a solução electrolítica comportam-se como substratos isoladores à t.e. (*feedback* negativo); a fraca resposta do substrato à t.e. através da SAM está de acordo com o reportado na literatura para SAMs de *n*-alcanotióis [59, 62]. No entanto, o desvio das curvas experimentais da curva teórica para um substrato isolador quando a ponta se encontra nas imediações da superfície, confirma a existência de locais de defeito e/ou poros, através dos quais a t.e. ocorre mais facilmente, em harmonia com os dados obtidos por voltametria cíclica, pese embora esta técnica fornecer uma resposta média da superfície e a microscopia de varrimento electroquímico facultar informação localizada, obtida em estado estacionário, o que permite atenuar os efeitos da carga da dupla camada.

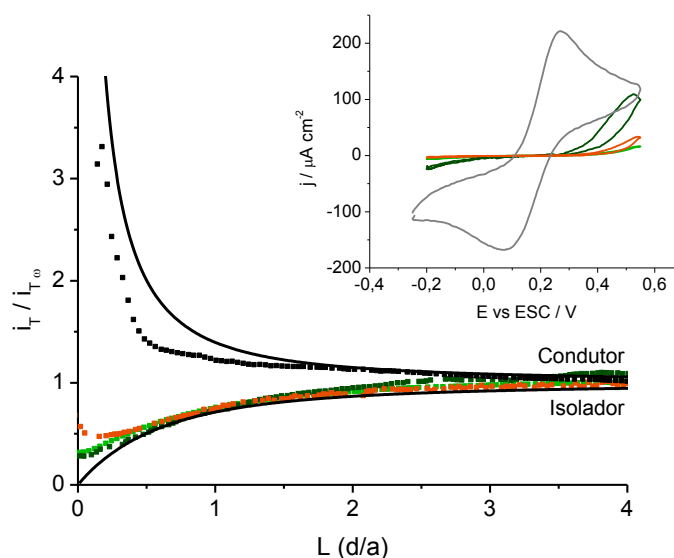


Figura 3.12 - Curvas de aproximação, em modo *feedback*, do eléctrodo-ponta ($E_T = 350 \text{ mV}$, Ox.) a superfícies modificadas com SAMs: (■) C_6 (40 h), (■) $\text{C}_6\text{-SH}$ (40 h) e (■) $\text{C}_6\text{:C}_6\text{-SH}$ (50:1) (40 h) e comparação com (■) CA ao substrato de Au limpo e (—) curvas teóricas; $E_S = \text{PCA}$, em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF contendo 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$. Incluído na figura: voltamogramas cíclicos das SAMs correspondentes e comparação com resposta no Au; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

As CA apresentadas na figura 3.13 foram obtidas nos substratos modificados pelas SAMs sob um potencial aplicado ao eléctrodo-substrato e portanto no modo de operação *geração no substrato/recolha na ponta*. Os valores de potenciais aplicados ao substrato são seleccionados na gama de potencial de estabilidade da SAM e atendendo ao potencial de conversão do par redox em solução, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$, como indicado nos voltamogramas cíclicos incluídos nas figuras. Por uma questão de clareza, os perfis $j-E$ do substrato de Au limpo, do eléctrodo-ponta e do substrato modificado pelas respectivas SAMs são também incluídos nas figuras 3.13 (a-c). Da análise das CA é possível verificar que para as SAMs de 1-hexanotiol e 1,6-hexanoditiol, variando o potencial aplicado ao substrato entre 200 e -100 mV, e recolhendo na ponta ($E_T = 350$ mV) as espécies reduzidas no eléctrodo modificado, a velocidade de redução do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ aumenta, o que se traduz na modificação das CA de um comportamento de *feedback* negativo para uma resposta intermédia (embora não de *feedback* positivo). Obtém-se um comportamento semelhante quando se varia o potencial aplicado ao substrato entre 200 e 550 mV, recolhendo-se na ponta as espécies oxidadas ($E_T = 25$ mV), figura 3.13 (a' e b'). No entanto, para igual valor de potencial aplicado ao substrato (por exemplo $E_S = -100$ mV ou $E_S = 350$ mV) e quando $L \approx 0$, os valores corrente ($i_T / i_{T,\infty}$) mostram que a velocidade da reacção é significativamente superior no eléctrodo modificado pela SAM de $\text{C}_6\text{-SH}$ do que na de C_6 , revelando a menor eficiência no bloqueio à t.e. da monocamada de ditiol. As CA da figura 3.13 (c) recolhidas para a SAM mista (50:1) apontam para uma velocidade da reacção comparável com aquela que ocorre na SAM simples de ditiol, sob um potencial negativo aplicado ao eléctrodo modificado ($E_S = -100$ mV). No entanto, no intervalo de valores de potencial positivos $E_S > 250$ mV, quando na ponta são recolhidas as espécies $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ geradas no substrato ($E_T = 25$ mV), o aumento da velocidade da reacção traduz-se na modificação das CA de um comportamento de *feedback* negativo para positivo, figura 3.13 (c').

Os conjuntos das CA obtidas para os diferentes eléctrodos modificados foram usados para a determinação dos parâmetros cinéticos da reacção no substrato; os valores de intensidade de corrente, i_T , a $L = 0$ foram extrapolados a partir das CA, dos quais, por ajuste à equação 3.5, se obtiveram os valores da constante de velocidade, k_{SAM} , para cada valor de sobrepotencial, η , aplicado.

$$i = nFAk_{SAM}C^\infty \quad \text{Eq. 3.5}$$

onde n é o número de electrões envolvidos na reacção, F a constante de Faraday ($F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$), A a área do eléctrodo-ponta (cm^2) e C^∞ a concentração da espécie electroactiva em solução (mol cm^{-3}).

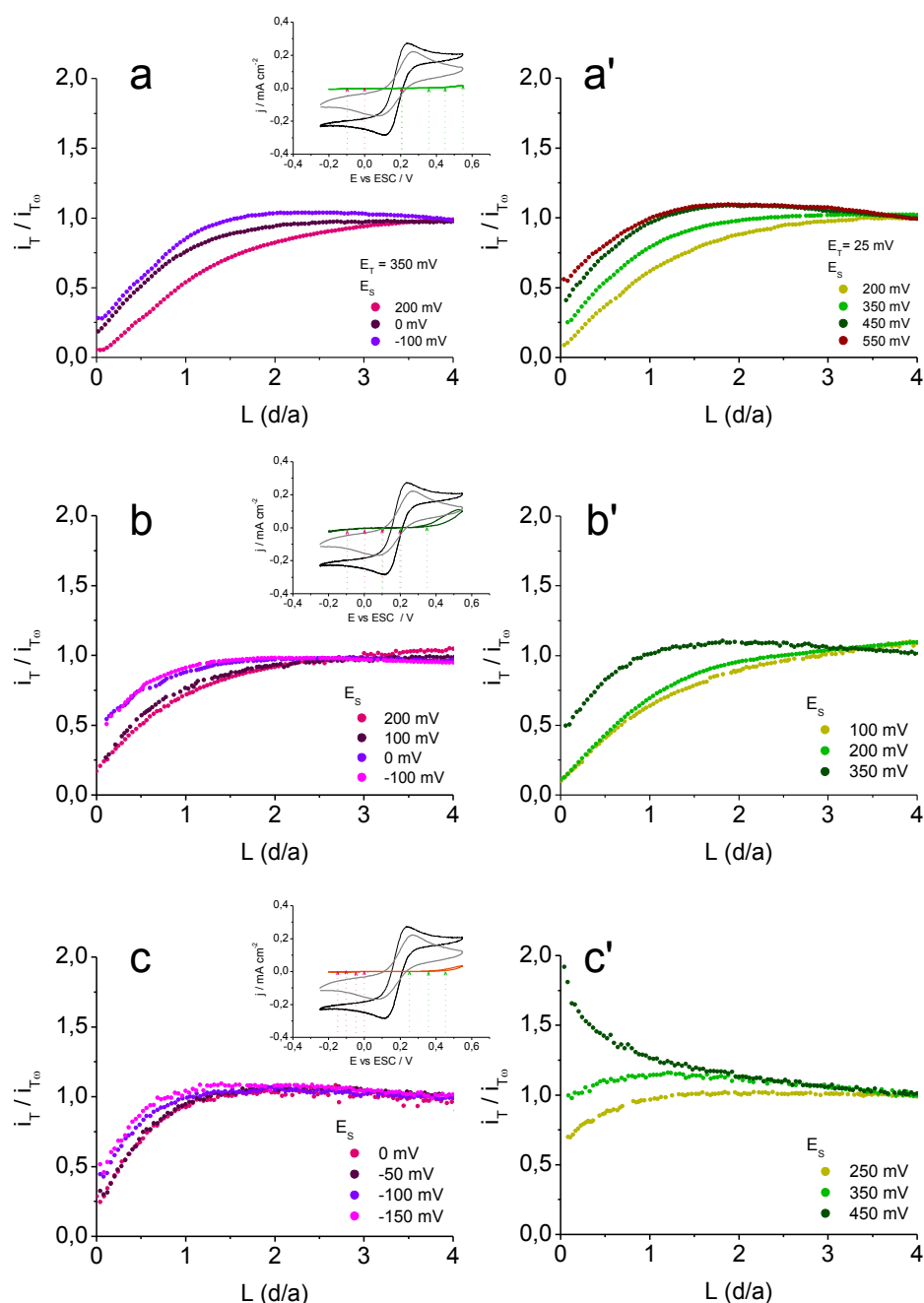


Figura 3.13 - Curvas de aproximação, em modo *Geração/Recolha*, às superfícies modificadas com SAMs de (a e a') C_6 , (b e b') $C_6\text{-SH}$ e (c e c') $C_6:C_6\text{-SH}$ (50:1) preparadas com $t_{\text{ads.}} = 40 \text{ h}$, com (a, b e c) $E_T = 350 \text{ mV}$ (Ox.) e (a', b' e c') $E_T = 25 \text{ mV}$ (Red.) e E_S conforme indicado na figura, em 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7). Incluídos nas figuras (a, b e c) voltamogramas cíclicos de (—) eléctrodo-ponta, (---) Au e (linha colorida) SAM, no mesmo meio e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A constante de velocidade padrão, k_{SAM}^0 , e o coeficiente de transferência, α , compilados na tabela 3.5, são obtidos através da representação gráfica da equação de Butler-Volmer, equação 3.6, apresentada na figura 3.14.

$$k_{SAM} = k_{SAM}^0 \exp -\alpha \frac{nF}{RT} (E - E^{o'}) \quad \text{Eq. 3.6}$$

onde R é a constante do gás perfeito ($R = 8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T é a temperatura absoluta (298 K), E é o potencial aplicado ao substrato e $E^{o'}$ é o potencial formal do par redox.

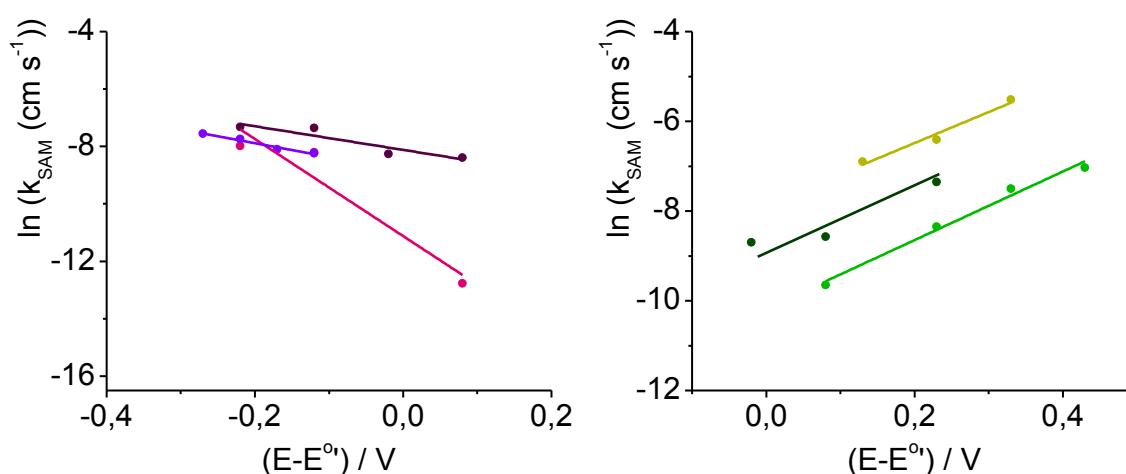


Figura 3.14 - Constantes de velocidade obtidas nas SAMs com $E_T = 350 \text{ mV}$: C_6 (●), $C_6\text{-SH}$ (●) e mista (50:1) (●) e $E_T = 25 \text{ mV}$: C_6 (●), $C_6\text{-SH}$ (●) e mista (50:1) (●), e ajustes à equação de Butler-Volmer (linhas) em solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF contendo 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$.

Tabela 3.5 - Valores da constante de velocidade padrão, k_{SAM}^0 , e coeficiente de transferência, α , obtidos para os eléctrodos modificados com SAMs simples e mista.

SAM	$E_T = 350 \text{ mV}$ (Ox.)		$E_T = 25 \text{ mV}$ (Red.)	
	$k_{SAM}^0 / \text{cm s}^{-1}$	α	$k_{SAM}^0 / \text{cm s}^{-1}$	α
1-hexanotiol	$1,48 \times 10^{-5}$	0,43	$3,80 \times 10^{-5}$	0,20
1,6-hexanoditiol	$2,98 \times 10^{-4}$	0,11	$1,58 \times 10^{-4}$	0,20
Mista (50:1)	$1,43 \times 10^{-4}$	0,12	$3,86 \times 10^{-4}$	0,18

Os valores de α obtidos são baixos quando comparados com os reportados na literatura [59], indicando que há contribuição dos defeitos e poros existentes na SAM para a t.e.. De salientar que os resultados obtidos para $E_T = 25 \text{ mV}$ correspondem a tempos de imersão da SAM na solução electrolítica longos, pelo que os baixos valores de α e k_{SAM}^0 podem traduzir

o efeito destabilizador da imersão em solução, anteriormente demonstrada por voltametria cíclica para a monocamada preparada a partir de 1,10-decanoditiol (figura 3.10). Os valores de constante de velocidade padrão, k_{SAM}^0 , estimados são da mesma ordem de grandeza dos reportados para SAMs de 1-nonanotiol e 1,8-octanoditiol [44, 59, 63], embora sejam elevados quando contrastados com o esperado, para a t.e. por efeito de túnel, em monocamadas de *n*-alcanotióis com comprimento de cadeia comparável [59]. Esta diferença tem sido atribuída à contribuição de corrente proveniente da t.e. que ocorre não só através da SAM por efeito de túnel mas em locais onde esta é menos espessa ou em poros, em consequência da menor organização de monocamadas de cadeia curta. Os resultados mostram que o bloqueio à t.e. em eléctrodos modificados pelas monocamadas estudadas diminui na ordem 1-hexanotiol > mista (50:1) ≈ 1,6-hexanoditiol, tanto a valores de potencial anódico como catódico, o que confirma que na presença de moléculas de ditiol, as SAMs são menos organizadas, compactas e bloqueadoras, embora a velocidade da reacção seja ligeiramente inferior na SAM mista (mas da mesma ordem de grandeza), em resultado do efeito estabilizador do 1-hexanotiol.

3.3. Imobilização de Au-NPs em SAMs funcionalizadas

As monocamadas funcionalizadas com grupos -SH têm sido usadas para o desenvolvimento de arquitecturas bi- e tri-dimensionais com Au-NPs, nomeadamente através de abordagens que envolvem a modificação de nanopartículas de ouro, em solução, com moléculas de ditiol e posterior imobilização em eléctrodos de Au [5, 64, 65], a deposição de Au-NPs em SAMs de ditióis [52, 53, 66, 67] e a formação de multicamadas por imersão alternada em solução de ditiol e suspensões de nanopartículas [64, 68-70].

Neste caso usam-se as SAMs simples de 1,6-hexanoditol e 1,10-decanoditiol e as mistas (50:1) como modelos para o estudo da imobilização de Au-NPs da amostra A através da interacção Au-S, em superfícies funcionalizadas com átomos de enxofre disponíveis na interface com a solução, e para a formação de arquitecturas tridimensionais em multicamadas. Uma vez modificada a superfície de Au(111), com a SAM preparada nas condições anteriormente referidas ($t = 22$ h), as Au-NPs são imobilizadas na superfície

funcionalizada por imersão na suspensão coloidal ($t = 22$ h); o desenvolvimento de multicamadas é efectuado por imersão alternada (solução de ditiol/suspensão de Au-NPs). À medida que a estrutura se desenvolve camada-a-camada a morfologia da superfície é alterada como mostram as imagens de *AFM* da figura 3.15.

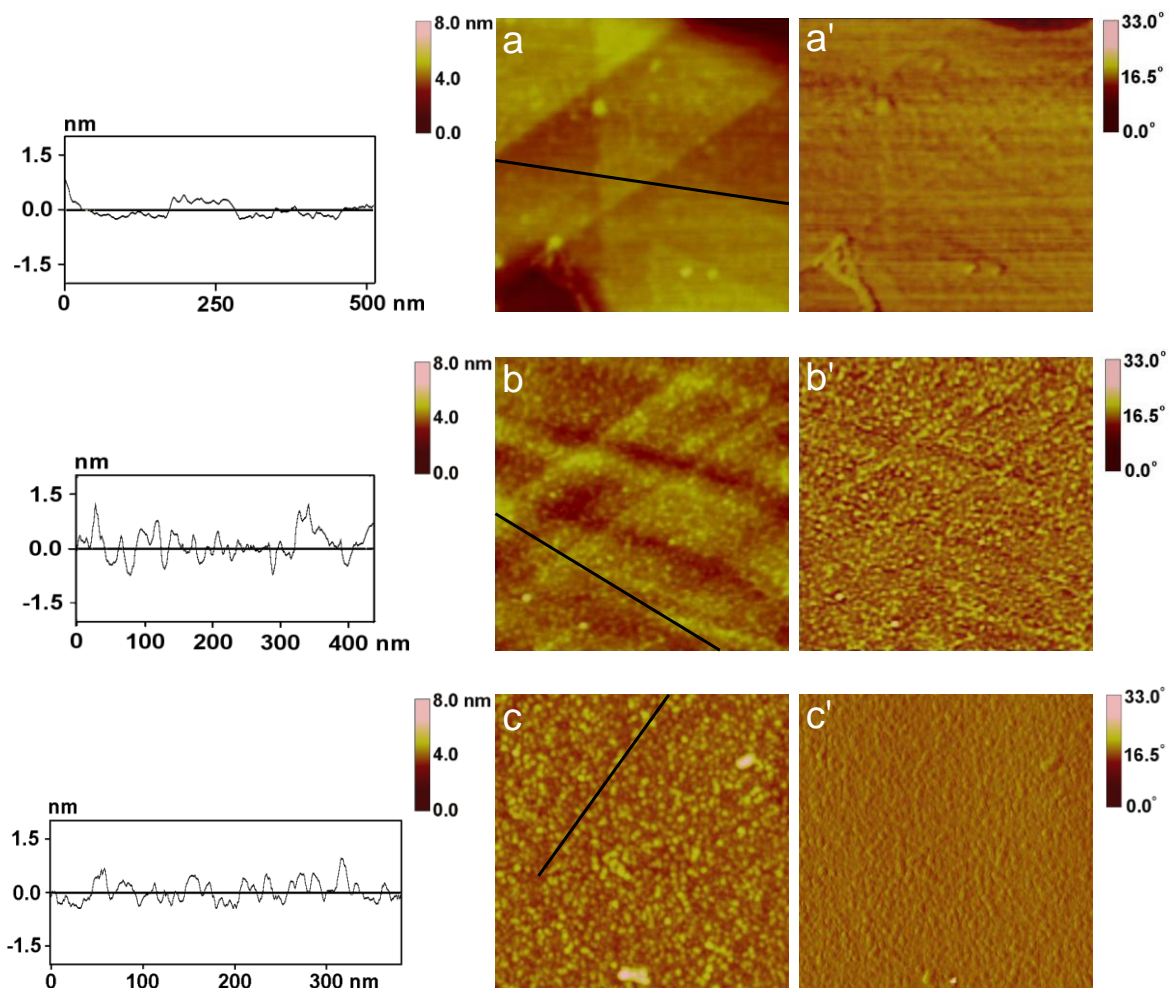


Figura 3.15 - Imagens de *AFM* obtidas *ex situ* em modo *tapping*, (a-c) topografia e (a'-c') fase, dos eléctrodos de Au(111) modificados com (a) C_{10} -SH , (b) C_{10} -SH/Au-NPs da amostra A e (c) C_{10} -SH/Au-NPs/ C_{10} -SH. Imagens (500×500) nm^2 ; topografia $z = 8$ nm e fase $z = 33^\circ$.

A primeira *SAM* de C_{10} -SH apresenta uma superfície pouco rugosa onde se detectam os degraus monoatómicos do substrato de Au (figura 3.15 (a)). A imobilização das Au-NPs conduz a alterações significativas na superfície; detectam-se detalhes esféricos com cerca de 11,1 nm de diâmetro na imagem de topografia da figura 3.15 (b), cujo tamanho é próximo do diâmetro das Au-NPs desta amostra (15 nm); o valor de rugosidade *rms* (R_q , *root mean square*) aumenta de 0,31 nm, na *SAM* de ditiol, para 0,55 nm. Devido às

propriedades viscoelásticas distintas das Au-NPs e da SAM, observa-se um aumento do contraste de fase entre as imagens da figura 3.15 (a' e b') após imobilização das Au-NPs. Na figura 3.15 (c), o decréscimo do valor de R_q para 0,35 nm e o aumento do tamanho dos detalhes esféricos na superfície ($\varnothing = 13,5$ nm), são devido ao efeito da monocamada adsorvida nas Au-NPs, o que é corroborado pela recuperação de uma camada homogénea na imagem de fase (figura 3.15 (c')).

A figura 3.16 mostra a variação de frequência de oscilação do cristal de quartzo da QCM durante a imobilização das Au-NPs da amostra A nas monocamadas simples e mistas (50:1) de tióis e ditióis com $n = 6$ e 10 (preparadas a partir de soluções 1 mmol dm^{-3} e $t = 22$ h). Após o período inicial de estabilização da SAM em contacto com água ultra-pura, adiciona-se a suspensão coloidal e a imobilização tem início. Através da variação de frequência de oscilação do cristal de quartzo da QCM, Δf , e assumindo que a SAM se comporta como uma camada rígida e portanto usando a equação de Sauerbrey (equação 5.8, capítulo 5), estima-se a quantidade de Au-NPs imobilizadas nas superfícies modificadas, N , cujos valores se encontram na tabela 3.6.

Considerando que o volume de uma célula unitária de Au no sistema *fcc* é cerca de $0,054 \text{ nm}^3$ e que a massa das Au-NPs da amostra A, $m_{\text{Au-NPs}}$, com diâmetro médio de $15,1 \text{ nm}$ (estabilizadas por uma monocamada de iões citrato adsorvidos) é de $0,027 \text{ g nmol}^{-1}$, obtém-se a cobertura superficial de Au-NPs imobilizadas, após 800 s , através da variação de massa, Δm . Tendo em conta que parte das Au-NPs pode imobilizar-se fisicamente na superfície, o controlo é efectuado nas SAMs simples de *n*-alcanotiol que apresentam grupos terminais metilo na interface com a solução e portanto não estabelecem interações específicas com as Au-NPs.

Como esperado e ilustrado na tabela 3.16, a variação de frequência $\Delta f = -47,8$ e $-39,3 \text{ Hz}$ nas SAMs de 1-hexanotiol e 1-decanotiol, respectivamente, é inferior à registada nas correspondentes monocamadas funcionalizadas com grupos -SH livres (ditiol e mistas); para efeitos de cálculo, a variação de massa correspondente a interações não específicas é subtraída.

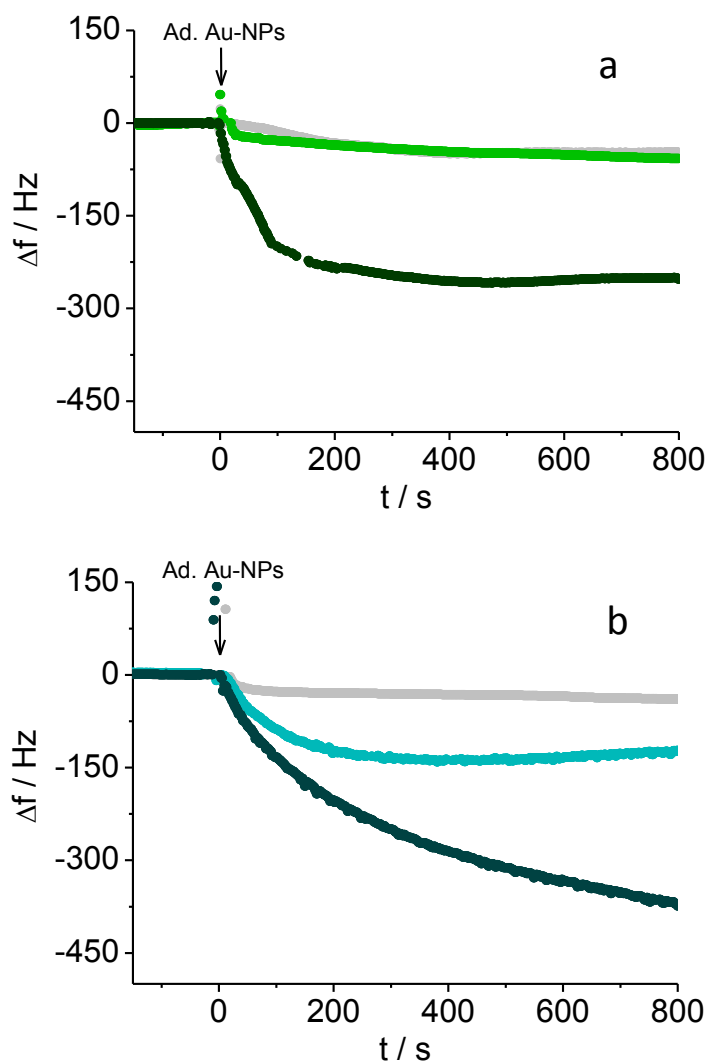


Figura 3.16 - Variação da frequência de oscilação do cristal de quartzo da QCM durante a deposição de Au-NPs da amostra A nos eléctrodos modificados com as SAMs ($t = 22$ h): (a) C_6 (•), C_6 -SH (•) e mista C_6 : C_6 -SH (50:1) (•) e (b) C_{10} (•), C_{10} -SH (•) e mista C_{10} : C_{10} -SH (50:1) (•).

Tabela 3.6 - Valores de variação da frequência de oscilação do cristal de quartzo da QCM, Δf , de massa calculada, Δm , e quantidade estimada de Au-NPs da amostra A imobilizadas nas SAMs, N .

SAM	$t_{\text{imob.}} / \text{s}$	$\Delta f / \text{Hz}$	$\Delta m / \mu\text{g cm}^{-2}$	$N / \text{parts. cm}^{-2}$	$N'{}^a / \text{parts. cm}^{-2}$
C_6	800	-47,8	0,33	$0,74 \times 10^{10}$	---
C_6 -SH		-252,5	1,45	$3,23 \times 10^{10}$	$2,49 \times 10^{10}$
C_6 : C_6 -SH (50:1)		-57,6	0,40	$0,89 \times 10^{10}$	$0,15 \times 10^{10}$
C_{10}	800	-39,3	0,27	$0,61 \times 10^{10}$	---
C_{10} -SH		-374,2	2,59	$5,79 \times 10^{10}$	$5,18 \times 10^{10}$
C_{10} : C_{10} -SH (50:1)		-122,0	0,84	$1,89 \times 10^{10}$	$1,28 \times 10^{10}$

^a cobertura superficial de Au-NPs da amostra A imobilizadas nas SAMs através de interacção Au-S.

Numa monocamada de ditiol, a cobertura superficial máxima, $N_{\max.}$, de Au-NPs com diâmetro médio de 15,1 nm num arranjo empacotado, não tendo em conta os efeitos repulsivos entre partículas devido à carga superficial negativa conferida pelos iões citrato adsorvidos [66], é de $N_{\max.} = 5,6 \times 10^{11}$ parts. cm^{-2} . Nas SAMs simples de 1,6-hexanoditiol e 1,10-decanoditiol, a quantidade estimada de Au-NPs imobilizadas através de interacções Au-S, N' , é inferior a uma monocamada, cerca de 4,5 e 9,2%, respectivamente. Este resultado indica que para além das repulsões electrostáticas, a quantidade de grupos -SH adequadamente orientados na interface SAM/solução é mais baixa na SAM do ditiol com cadeia alquilo mais curta (menos organizada). Na SAM mista contendo 1,6-hexanoditiol apenas 0,3 % de Au-NPs são imobilizadas, mostrando que apesar dos dados electroquímicos sugerirem um aumento da organização e estabilidade da monocamada pela inserção de moléculas de monotiol, a disponibilidade dos grupos funcionais na interface com a solução não favorece a interacção específica com as Au-NPs em suspensão. De referir que, após 800 s de imobilização, a quantidade de Au-NPs depositada não atinge o seu valor máximo, pelo que é de esperar que a quantidade de partículas imobilizadas seja superior findo o tempo usado para a modificação ($t = 22$ h).

A escala de tempo do processo de auto-montagem, superior nas monocamadas simples de ditiol do que nas que contêm grupos CH_3 (interacção física nas simples de monotiol e funções -SH diluídas numa SAM de monotiol) resulta do balanço entre as repulsões electrostáticas e a forte interacção Au-S, que permite a ligação entre as Au-NPs e os grupos tiol na interface SAM/solução.

Os resultados mostram que a quantidade de Au-NPs imobilizada na superfície através de ligação Au-S depende da composição da monocamada e do tempo de deposição e que a formação de SAMs mistas de 1,10-decanoditiol permite o controlo dessa quantidade e possivelmente da distribuição das Au-NPs na superfície modificada.

As SAMs, simples e mista, contendo 1,10-decanoditiol podem comportar-se como barreiras mais ou menos isoladoras à transferência electrónica (85-96 %), embora não sejam isentas de locais de defeitos e poros dispersos. Dependendo da qualidade da SAM e da quantidade e distribuição das Au-NPs, a imobilização destas facilita a t.e. entre espécies electroactivas em solução e a superfície do eléctrodo [52, 53, 67, 68]. As propriedades de t.e. das arquitecturas formadas por SAMs e Au-NPs da amostra A são caracterizadas por

voltametria cíclica em solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 (pH 7) contendo 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$. Usam-se duas superfícies modificadas com monocamadas de base (primeira camada) distintas, uma simples formada a partir de $\text{C}_{10}\text{-SH}$ e outra mista na proporção (50:1), pois como observado por *QCM* estas permitem imobilizar quantidades diferentes de Au-NPs. As figuras 3.17 e 3.18 apresentam os voltamogramas cíclicos obtidos para as camadas consecutivas formadas sobre as *SAMs* base de $\text{C}_{10}\text{-SH}$ e mista (50:1), respectivamente.

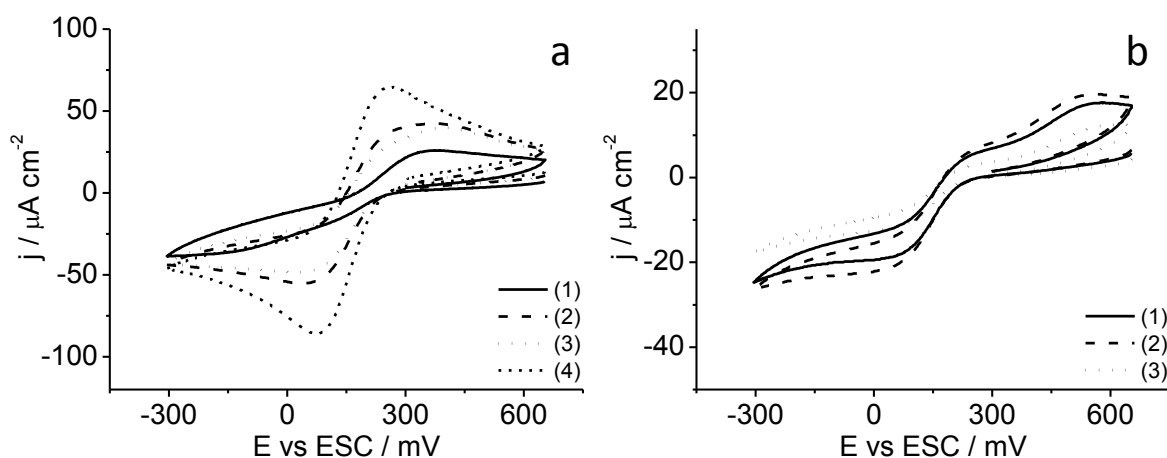


Figura 3.17 - Voltamogramas cíclicos dos eléctrodos de Au(111) modificados com: (a) $\text{C}_{10}\text{-SH}$ (1), $\text{C}_{10}\text{-SH}/\text{Au-NPs}$ (2), $\text{C}_{10}\text{-SH}/\text{Au-NPs}/\text{C}_{10}\text{-SH}$ (3) e $[\text{C}_{10}\text{-SH}/\text{Au-NPs}]_2$ (4) e (b) $[\text{C}_{10}\text{-SH}/\text{Au-NPs}]_3/\text{C}_{10}\text{-SH}$ (1), $[\text{C}_{10}\text{-SH}/\text{Au-NPs}]_4$ (2) e $[\text{C}_{10}\text{-SH}/\text{Au-NPs}]_4/\text{C}_{10}\text{-SH}$ (3), em 1 mmol dm^{-3} de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ em solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 (pH 7); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados mostram que após imobilização das Au-NPs a t.e. aumenta em ambos os eléctrodos modificados (com *SAMs* simples e mista), indicando que a presença das Au-NPs favorece o processo de t.e. entre o $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ em solução e o eléctrodo. Este comportamento concorda com estudos reportados na literatura; para a mesma espécie electroactiva, o impedimento à t.e. em eléctrodos modificados com Au-NPs e ditióis diminui com a imobilização de nanopartículas [52, 68]. No entanto, Yang *et al.* [66] não observaram aumento da t.e. em solução com $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ em *SAMs*, preparadas a partir de 1,6-hexanoditiol e 1,9-nonanoditiol, com Au-NPs imobilizadas. Estes autores sugerem que a falta de reversibilidade se deve à quantidade de Au-NPs (inferior a uma monocamada) depositada nas *SAMs* de ditiol em virtude das repulsões electrostáticas entre Au-NPs estabilizadas por iões citrato. Uma vez que a *SAM* de $\text{C}_{10}\text{-SH}$ é menos organizada do que a

mista (50:1), o aumento da t.e. observada nestes eléctrodos modificados após imobilização das Au-NPs, figura 3.17, pode ter origem em dois aspectos: a transferência electrónica ocorrer em locais de defeito ou poros na SAM e ser devido à presença das nanopartículas. Embora Brust *et al.* [64, 69] refiram que a t.e. é suprimida quando a camada exposta à solução é a do ditiol e que para a camada externa de Au-NPs o perfil voltamétrico é do tipo quase-reversível com a separação entre os picos a aumentar com o número de camadas auto-montadas, os voltamogramas da figura 3.17 mostram que a formação de uma SAM de ditiol na superfície de Au das NPs conduz ao bloqueio apenas parcial da superfície, pois o perfil voltamétrico obtido para a de 1,10-decanoditiol (primeira camada) não é restabelecido. É possível que tal se deva à formação de uma monocamada desorganizada adsorvida na superfície das Au-NPs, o que revela a contribuição da camada inferior de nanopartículas. A exposição de uma segunda camada de Au-NPs conduz ao aumento da reversibilidade do processo de t.e.. Um comportamento semelhante foi observado por Lu *et al.* [68] em multicamadas de 1,6-hexanoditiol e Au-NPs (estabilizadas por iões citrato); com o aumento do número de camadas, o comportamento electroquímico passa de resistivo ($n < 3$ camadas) para sinusoidal, quando a camada exposta é de Au-NPs ($n = 3$), e para um perfil de difusão linear com $n > 3$. A figura 3.17 (b) ilustra o comportamento electroquímico para multicamadas com $n > 3$. Neste caso, embora os valores de corrente sejam inferiores aos registados para $n \leq 2$, os perfis voltamétricos sinusoidais, do tipo micro-eléctrodo, sugerem que a t.e. ocorre através das Au-NPs nas camadas, quer seja a camada externa formada por SAM de 1,10-decanoditiol como por nanopartículas; de referir que alguns autores consideram que a t.e. heterogénea apenas pode ocorrer na camada exposta de Au-NPs [64, 69]. De facto, está reportado que, em sistemas análogos, a condutividade dos eléctrodos modificados aumenta com o número de camada de Au-NPs [70].

Uma vez que os resultados electroquímicos, anteriormente discutidos, permitem concluir que as SAMs mistas (50:1) são mais organizadas do que as preparadas a partir apenas de ditiol, espera-se que aquelas inibam a t.e. através dos locais de defeito e poros e reflectam uma maior contribuição das Au-NPs para a resposta electroquímica. De facto, como se pode observar nos voltamogramas da figura 3.18, o comportamento electroquímico é irreversível nas superfícies modificadas com SAM mista/Au-NPs, provavelmente devido ao melhor efeito bloqueador da primeira monocamada. A deposição de uma monocamada de

1,10-decanoditiol na superfície de Au das Au-NPs modifica significativamente o perfil voltamétrico; obtém-se um voltamograma reversível com picos definidos ($\Delta E_p = 75$ mV) e a resposta electroquímica é bloqueada a valores de potencial inferiores a cerca de 100 mV (redução) e superiores a ≈ 250 mV (oxidação), confirmando a modificação da superfície das Au-NPs pela SAM de C_{10} -SH. A deposição da camada seguinte de Au-NPs ($n = 2$) conduz ao aumento da corrente e da reversibilidade da t.e. (figura 3.18).

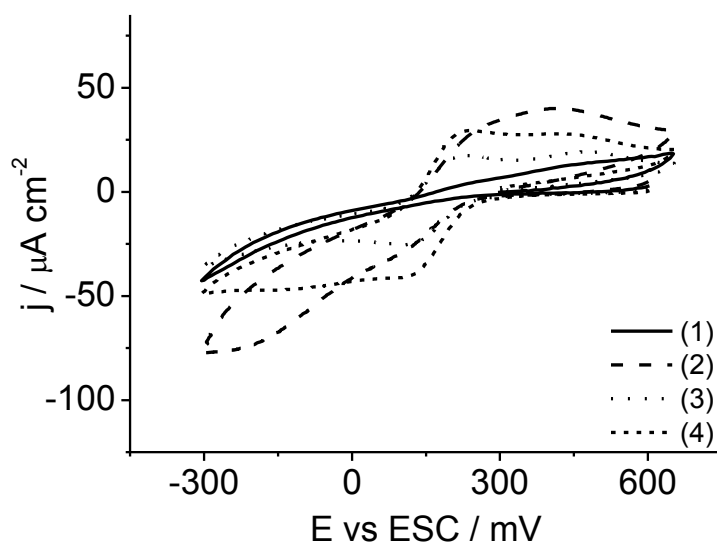


Figura 3.18 - Voltamogramas cíclicos dos eléctrodos de Au(111) modificados com: (a) SAM mista (50:1) (1), SAM mista (50:1)/Au-NPs (2), SAM mista (50:1)/Au-NPs/ C_{10} -SH (3) e SAM mista (50:1)/Au-NPs/ C_{10} -SH/Au-NPs (4), em 1 mmol dm^{-3} de $K_3Fe(CN)_6$ em solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de KNO_3 (pH 7); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

3.4. Monocamadas auto-montadas de oligonucleótidos tiolados e seu desempenho como biosensores de ADN

No presente estudo usam-se os oligonucleótidos (ON), cujas sequências se encontram referidas no capítulo 5, para a avaliação do desempenho de estruturas auto-montadas, com base em ON de cadeia simples tiolados, como biosensores de ADN. A abordagem usada encontra-se esquematizada na figura 3.19.

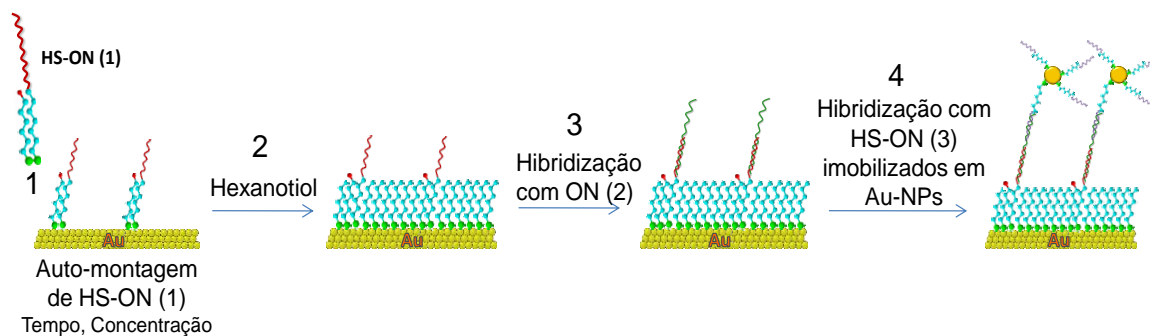


Figura 3.19 - Representação esquemática da abordagem usada na construção e avaliação do desempenho como biossensor.

O oligonucleótido HS-ON (1), modificado com um grupo dialquildissulfureto é usado para imobilização na superfície de Au(111) através do grupo S-S que adsorve em superfície de Au de acordo com as equações 3.3 e 3.4. Após adsorção, a superfície de Au não ocupada por ON é exposta a uma solução 1 mmol dm^{-3} de 1-hexanotiol durante 2 horas, resultando no seu preenchimento com uma monocamada. O passo seguinte envolve a hibridação com a sequência complementar, ON (2) numa solução $1 \mu\text{mol dm}^{-3}$ em 10 mmol dm^{-3} de TF (pH 7,4) com $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl ($t = 1 \text{ h}$). O oligonucleótido HS-ON (3), modificado com um grupo dialquildissulfureto, é usado para a imobilização na superfície de Au-NPs da amostra A em solução e posterior hibridação com o ON (2) que contém igualmente a sua sequência complementar. Neste caso, a modificação prévia das Au-NPs é efectuada numa solução $3 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de HS-ON (3) e $1,2 \text{ nmol dm}^{-3}$ de Au-NPs durante cerca de 16 horas, seguida de estabilização numa solução de $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7) com $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl ($t = 40 \text{ h}$), e separação dos oligonucleótidos não imobilizados por centrifugação ($14\text{k rpm}/30 \text{ min.}$) e ressuspensão numa solução 10 mmol dm^{-3} de TF (pH 7) com $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl.

A figura 3.20 apresenta os voltamogramas da dessorção redutiva do oligonucleótido HS-ON (1) adsorvido em superfícies de Au(111) a partir de soluções $0,2$ e $2,0 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (em 10 mmol dm^{-3} de Tris-HCl (pH 7) com $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl) durante 30 minutos e 1 hora, respectivamente. Os valores de recobrimento superficial, Γ , incluídos na tabela 3.7, são obtidos a partir da carga envolvida no varrimento catódico (equação 5.1, capítulo 5), assumindo que na dessorção das moléculas adsorvidas (dissulfureto) estão envolvidos 2 electrões por molécula e que apenas 50 % dessas contêm o oligonucleótido. Aqueles

mostram que a partir da solução mais diluída e após imersão durante 30 minutos a quantidade de moléculas adsorvidas é da mesma ordem de grandeza e apenas ligeiramente inferior à obtida para a solução mais concentrada.

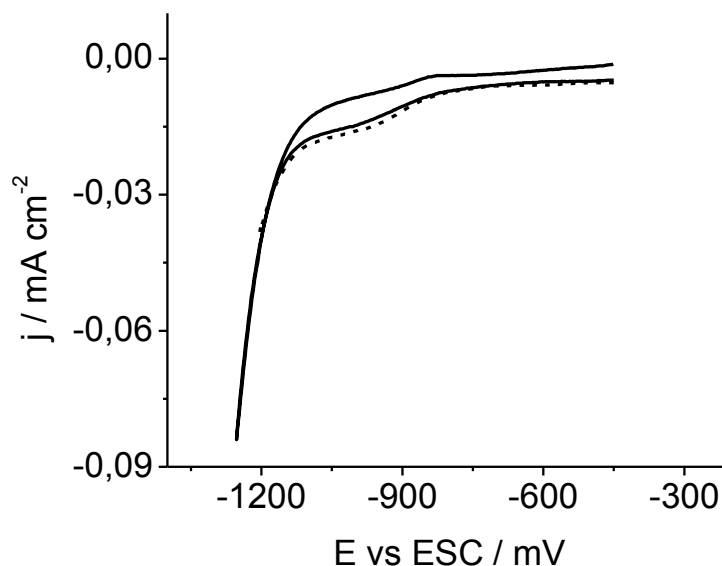


Figura 3.20 - Voltamogramas cíclicos da dessorção redutiva de oligonucleótidos HS-ON (1) adsorvidos em Au(111): (—) 0,2 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ de HS-ON (1) com $t_{\text{ads.}} = 30$ min. e (- -) 2,0 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ de HS-ON (1) com $t_{\text{ads.}} = 1$ h; solução 0,1 mol dm^{-3} de NaOH a 20 mV s^{-1} .

Tabela 3.7 - Valores de cobertura superficial, Γ , obtida por dessorção redutiva de oligonucleótidos HS-ON (1) imobilizados em diferentes condições.

Oligonucleótido	C / $\mu\text{mol dm}^{-3}$	$t_{\text{imersão}}$ / h	$10^{11} \Gamma$ / mol cm^{-2}
HS-ON (1)	0,2	0,5	2,5
	2,0	1	3,7

A imobilização destas moléculas é ainda confirmada pelos perfis voltamétricos representados na figura 3.21. Estes mostram a resposta electroquímica obtida para os eléctrodos modificados com HS-ON (1) e 1-hexanotiol (após o passo 2 do esquema da figura 3.19) em soluções contendo espécies electroactivas. A presença dos grupos fosfato negativamente carregados no oligonucleótido auto-montado conduz a maior bloqueio da t.e. em solução contendo $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, devido às repulsões electrostáticas, do que o observado na SAM pouco organizada de C_6 após 2 horas de adsorção (figura 3.21 (a)). A

imobilização de maior quantidade de HS-ON (1) a partir de soluções mais concentradas ($2,0 \mu\text{mol dm}^{-3}$ com $t = 1 \text{ h}$, $\Gamma = 3,7 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$) não causa diferenças nos perfis voltamétricos. A inversão da ordem de modificação da superfície de Au(111) (adsorção de SAM de 1-hexanotiol, $t_{\text{ads.}} = 2 \text{ h}$, seguida de inserção do oligonucleótido HS-ON (1)) também não conduz a diferenças nos resultados obtidos.

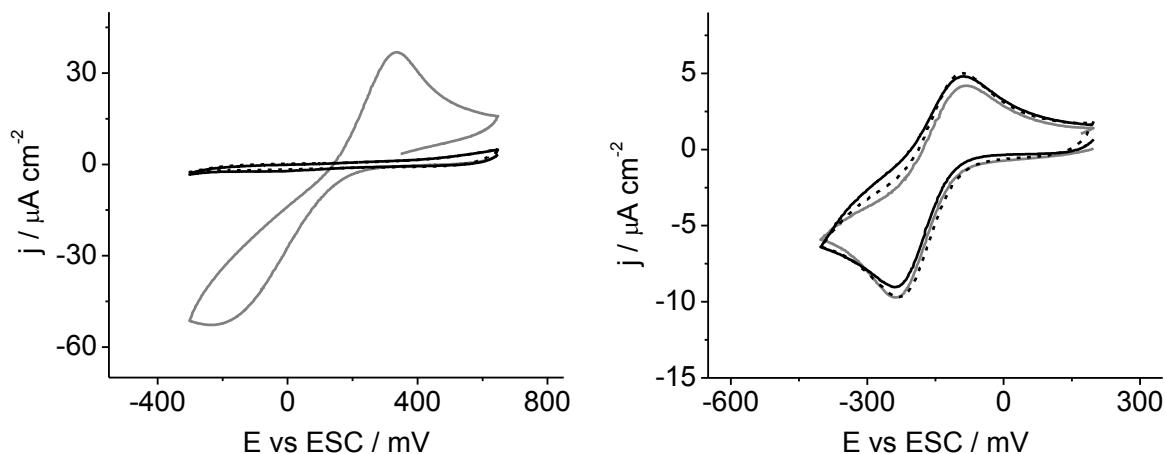


Figura 3.21 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos eléctrodos de Au(111) modificados com as SAMs (—) 1-hexanotiol ($t_{\text{ads.}} = 2 \text{ h}$), (---) HS-ON (1) ($0,2 \mu\text{mol dm}^{-3} / 30 \text{ min.}$) e C_6 ($1 \text{ mmol dm}^{-3} / 2 \text{ h}$) e (---) HS-ON (1) ($2,0 \mu\text{mol dm}^{-3} / 1 \text{ h}$) e C_6 ($1 \text{ mmol dm}^{-3} / 2 \text{ h}$) em soluções (a) 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ em 10 mmol dm^{-3} de Tris-HCl (pH 7) e (b) $50 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ no mesmo electrólito; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Em solução com $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ a resposta electroquímica, figura 3.21 (b), apresenta um pico anódico e um catódico a cerca de -90 e -235 mV, respectivamente, cuja posição e intensidade é independente da composição da SAM; neste caso não se observa um aumento da resposta electroquímica, devido a atracção electrostática, na presença do oligonucleótido imobilizado.

Para além de efeitos electrostáticos entre os grupos fosfato no oligonucleótido e as espécies electroactivas em solução, as respostas electroquímicas distintas podem dever-se aos mecanismos de transferência electrónica do $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ e do $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$, que geralmente são designados de esfera interna e externa, respectivamente [66, 71, 72]. O primeiro é sensível ao estado da superfície e à presença de espécies adsorvidas; a t.e. envolve a participação dos ligandos em contacto directo com a superfície do eléctrodo e/ou moléculas de água adsorvidas. Neste caso, devido à presença de uma camada não

condutora (cadeia alquilo com 6 átomos de C) entre o eléctrodo e o $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, a t.e. é bloqueada. O segundo é insensível à superfície e à presença de espécies adsorvidas; a TE ocorre entre os centros metálicos que interagem através das respectivas esferas de coordenação mas sem a participação da interacção dos ligandos com o eléctrodo ou moléculas de solvente adjacentes à superfície do eléctrodo. A t.e. de/para o $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ ocorre sem que este tenha que penetrar na SAM, possivelmente facilitada pela atracção electrostática e pela presença de poros e locais de defeito onde a monocamada é mais fina.

A figura 3.22 ilustra os voltamogramas obtidos na caracterização electroquímica dos eléctrodos modificados após os diferentes passos de modificação e hibridação (figura 3.19) na presença das espécies electroactivas. Os resultados mostram que, nas condições experimentais usadas, a voltametria cíclica não permite a detecção inequívoca da hibridação dos oligonucleótidos. Não se observam diferenças significativas entre os perfis voltamétricos antes e após hibridação com o ON (2) nem destes com o oligonucleótido imobilizado nas Au-NPs (HS-ON (3)). Aparentemente a modificação das Au-NPs com o oligonucleótido tiolado conduz ao bloqueio da sua superfície impedindo que esta esteja acessível para a t.e. entre as espécies electroactivas em solução e o eléctrodo.

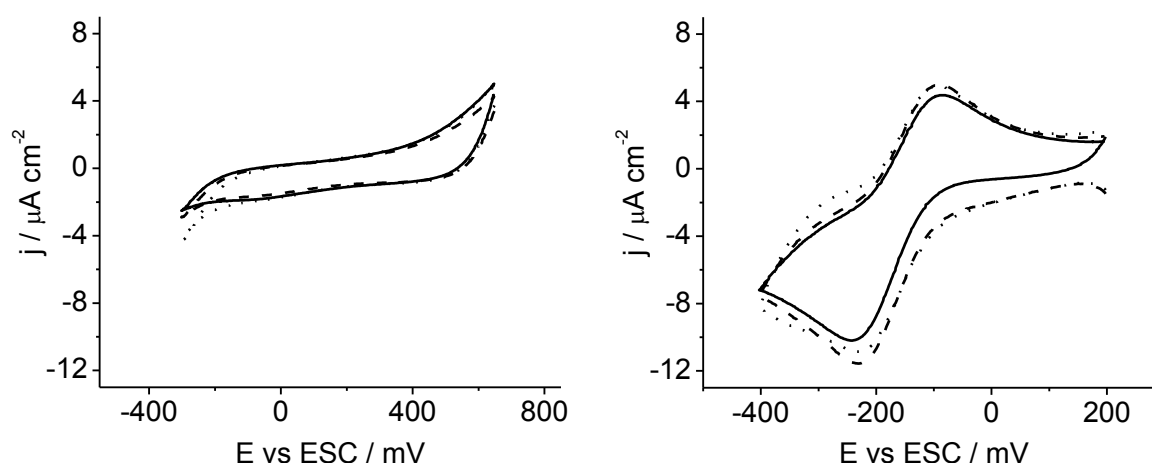


Figura 3.22 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos eléctrodos de Au(111) modificados com HS-ON (1) ($0,2 \mu\text{mol dm}^{-3}/30 \text{ min.}$) e C_6 ($1 \text{ mmol dm}^{-3}/2 \text{ h}$) antes (—) e após (---) hibridação com a sequência complementar ON (2) ($1,0 \mu\text{mol dm}^{-3} / 1 \text{ h}$) e após contacto com a suspensão de Au-NPs modificadas com HS-ON (3) ($t = 2 \text{ h}$) (---), em soluções (a) 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ em 10 mmol dm^{-3} de Tris-HCl (pH 7) e (b) $50 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ no mesmo electrólito; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Assumindo um comportamento de camada rígida para o oligonucleótido HS-ON (1) adsorvido na superfície de Au e usando a equação de Sauerbrey (equação 5.8, capítulo 5), a variação de frequência de oscilação do cristal de quartzo, na *QCM*, registada durante 900 s de imobilização ($\Delta f \approx -13,5$ Hz), que se mantém aproximadamente constante até aos 30 minutos (figura 3.23) conduz a uma massa depositada de $\Delta m = 93,4$ ng cm⁻². Esta corresponde a uma cobertura superficial de moléculas adsorvidas de $\Gamma = 2,0 \times 10^{-11}$ mol cm⁻², tabela 3.8, e é próxima da obtida através da carga envolvida na dessorção redutiva, indicando que a modificação da superfície pode ser monitorizada por esta técnica.

A detecção da hibridação com a sequência complementar (ON (2)) por esta técnica encontra-se na figura 3.23. A variação de frequência de cerca de $\Delta f \approx -18,9$ Hz corresponde a uma massa depositada na superfície do eléctrodo de $\Delta m = 130,8$ ng cm⁻², a partir da qual se estima uma cobertura superficial de $\Gamma = 1,1 \times 10^{-11}$ mol cm⁻² (tabela 3.8).

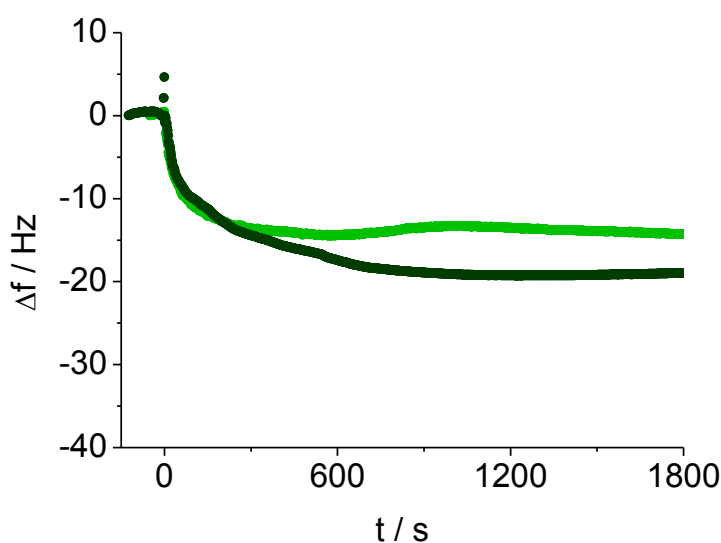


Figura 3.23 - Variação da frequência de oscilação do cristal de quartzo da *QCM* durante a imobilização do oligonucleótido HS-ON (1) (—) e hibridação com a sequência complementar ON (2) (—); soluções: HS-ON (1) 0,2 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ (10 mmol dm^{-3} de Tris-HCl (pH 7) + 0,1 mol dm^{-3} de NaCl) e ON (2) 1,0 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ (10 mmol dm^{-3} de TF (pH 7,4) + 0,25 mol dm^{-3} de NaCl).

A origem da menor quantidade de moléculas hibridadas em relação à adsorvida na superfície através de interacções Au-S, estimada por dessorção redutiva e *QCM*, pode ser diversa: os oligonucleótidos auto-montados adoptam uma orientação paralela à superfície (menos favorável para a hibridação) devido a adsorção física na monocamada com grupos

terminais CH₃, e/ou devido a repulsão electrostática entre grupos fosfato negativamente carregados, e/ou entre as moléculas adsorvidas (HS-ON (1)) e o ON (2).

Tabela 3.8 - Valores de variação de frequência, Δf , obtida por *QCM* e valores estimados de variação de massa, Δm , e de cobertura superficial, Γ , de oligonucleótidos imobilizados.

Oligonucleótido	Δf / Hz	Δm / ng cm ⁻²	$10^{11} \Gamma$ / mol cm ⁻²
HS-ON (1) 0,2 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ 30 min.	-13,5 Hz (900 s)	93,4	2,0
	-14,3 (1800 s)	98,9	2,1
ON (2) 1,0 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ 2 h	-18,9 Hz (900 s)	130,8	1,1
	-19,0 (1800 s)	131,5	1,1

Usando a *QCM* não foi possível detectar a hibridação do oligonucleótido imobilizado nas Au-NPs da amostra A (HS-ON (3)), nem se observou o esperado efeito amplificador das nanopartículas [73], possivelmente devido à alteração das propriedades viscoelásticas do material depositado na arquitectura tridimensional, não rigidamente ligado à superfície do eléctrodo modificado. A *QCM* pode ser adequada para a detecção da hibridação de oligonucleótidos com base em superfícies modificadas com sequências tioladas especificamente adsorvidas em eléctrodos de Au, desde que as propriedades viscoelásticas do material depositado garantam os pressupostos da aplicabilidade da equação de Sauerbrey.

3.5. Conclusões

As monocamadas funcionalizadas com grupos SH na interface SAM/solução podem ser obtidas a partir da auto-montagem de α,ω -alcanoditióis em superfícies de Au. A organização das monocamadas aumenta com o tempo de imersão, com o comprimento da cadeia alquilo das moléculas adsorvidas, devido às interacções de van der Waals, e com a proporção de monotiol na solução de preparação de monocamadas mistas. A adsorção das moléculas de ditiol através de apenas um dos seus grupos SH terminais é indicada pela

quantidade de moléculas adsorvidas, Γ , que é da mesma ordem de grandeza do obtido para os correspondentes *n*-alcanotióis, embora a formação de ligações dissulfureto inter- ou intra-camada possa afectar os valores estimados.

A presença da segunda funcionalidade tiol na interface SAM/solução induz a perda de estabilidade das SAMs em relação às correspondentes de monotiol; é responsável pela ausência de resolução molecular nas imagens de STM (presente nas dos *n*-alcanotióis) e pelo menor bloqueio à transferência electrónica. As ligações S-S na interface com a solução perturbam o empacotamento das SAMs preparadas a partir de ditióis de cadeia alquilo curta e são responsáveis pela formação de mais do que uma monocamada, evidenciada pelos agregados detectados sobre a monocamada nas imagens de STM. A transferência electrónica entre a superfície do eléctrodo e uma espécie electroactiva em solução é do tipo-macroeléctrodo em monocamadas de alcanoditióis de cadeia curta devido à presença de locais de defeito e poros através dos quais a t.e. ocorre mais facilmente; nestas SAMs a constante de velocidade (SAM de 1,6-hexanoditiol) é superior à obtida na monocamada do alcanotiol correspondente.

A tendência para a formação de aselhas, em alcanoditióis de cadeia longa ($n = 10$), é compensada pela estabilização conferida pelas interacções de van der Waals e conduz ao aumento da organização desta monocamada; o perfil de t.e. aproxima-se de um comportamento tipo-microeléctrodo (menor quantidade e/ou menores locais de defeito e poros). O uso de soluções mais concentradas na preparação das SAMs de ditiol parece favorecer a orientação perpendicular das moléculas adsorvidas, a organização e a sua estabilização; no entanto, facilita a formação de ligações S-S. Longos períodos de imersão na solução de electrólito perturbam a organização e estabilidade das SAMs e favorecem a permeabilidade a iões da solução, facilitando a t.e..

A formação de monocamadas mistas, em resultado da inserção de moléculas de monotiol nas SAMs de ditiol, favorece a organização e a estabilidade das monocamadas e a orientação perpendicular das moléculas de α,ω -alcanoditiol, resultando na disponibilidade dos grupos -SH distribuídos na interface SAM/solução. No entanto, proporções equimolares dos componentes levam à formação de SAMs em que o constituinte maioritário é o ditiol (cinética de adsorção mais rápida) como indicado pelas imagens de STM. Embora não seja possível inferir da composição final das SAMs mistas, verificou-se que proporções elevadas do componente monotiol na solução de preparação, até (50:1),

originam *SAMs* com propriedades mais favoráveis (o potencial de dessorção redutiva é deslocado no sentido catódico, o recobrimento superficial aumenta e as *SAMs* bloqueiam mais efectivamente a t.e., do que as simples de ditiol). Mesmo para o menor comprimento de cadeia ($n = 6$), do qual resultam monocamadas menos organizadas, a constante de velocidade de t.e. através da monocamada mista (50:1) é menor do que na correspondente simples de 1,6-hexanoditiol.

A disponibilidade dos grupos tiol na interface *SAM*/solução em monocamadas simples de ditiol e mistas permite a imobilização de Au-NPs através de interacção Au-S. A imobilização de uma sub-monocamada de Au-NPs da amostra A (15 nm) estabilizadas por iões citrato nas *SAMs* simples de 1,6-hexanoditiol e 1,10-decanoditiol ou mistas (50:1), monitorizada por *QCM* mostra que a quantidade de Au-NPs imobilizada pode ser controlada pelo tempo de imersão e pela composição das monocamadas, através da densidade de grupos –SH na interface com a solução, e da adequada orientação dos grupos funcionais livres.

O desenvolvimento de arquitecturas com *SAMs* e Au-NPs formadas camada-a-camada conduz à evolução da morfologia da superfície caracterizada por *AFM*. A imobilização de Au-NPs na monocamada de 1,10-decanoditiol conduz ao aumento da rugosidade superficial e detectam-se detalhes esféricos com tamanho comensurável com o diâmetro das Au-NPs; a imagem de fase revela inequivocamente a imobilização das nanopartículas na *SAM* pelo aumento do contraste de fase devido às propriedades viscoelásticas distintas dos dois materiais (camada orgânica e Au-NPs). A formação de uma camada adicional de C₁₀-SH na superfície das Au-NPs é confirmada pelo reaparecimento de uma camada homogénea e lisa.

Embora apenas uma sub-monocamada de Au-NPs tenha sido imobilizada nos eléctrodos modificados por *SAMs* simples e mistas (50:1) (espera-se um comportamento semelhante nas camadas sucessivas de Au-NPs) e as camadas de ditiol na superfície das nanopartículas seja desorganizada, a presença destas ilhas metálicas aumenta a t.e. em cada camada de Au-NPs. A camada mista, mais organizada do que a simples de ditiol, parece permitir distinguir a contribuição das Au-NPs da dos locais de defeito e poros na *SAM*, para a resposta electroquímica.

O desenvolvimento de plataformas transdutoras para a construção de biosensores de ADN pode ser efectuada com base na modificação de superfícies de Au com oligonucleótidos modificados com grupos funcionais com afinidade para o ouro, como os dialquildissulfuretos. A quantidade de oligonucleótidos imobilizados na superfície de Au, inferior a uma monocamada, estimada por dessorção redutiva e *QCM*, depende das condições de modificação (tempo e concentração da solução). Na superfície modificada por uma monocamada mista de oligonucleótidos e 1-hexanotiol, o bloqueio à t.e. detectada por voltametria cíclica, na presença de espécies electroactivas aniónicas em solução, confirma a imobilização, embora esta técnica não permita a detecção da hibridação com a sequência complementar.

Apesar de por *QCM* não ter sido possível detectar o efeito amplificador de Au-NPs modificadas com oligonucleótidos no desempenho do biosensor, devido às propriedades viscoelásticas do material depositado na superfície do eléctrodo, esta técnica permite a detecção da hibridação do oligonucleótido imobilizado com a sua sequência complementar em solução, e quantificar valores da ordem de $1,1 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$.

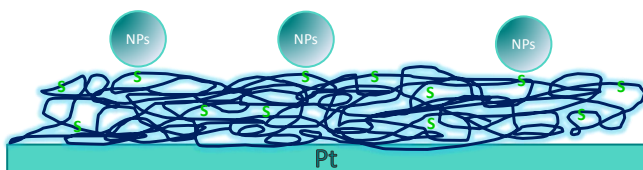
3.6. Referências

- [1] S. Chon, W. Paik, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **3** (2001) 3405.
- [2] W. Paik, S. Eu, K. Lee, S. Chon, M. Kim, *Langmuir* **16** (2000) 10198.
- [3] S. Eu, W. Paik, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* **337** (1999) 49.
- [4] H.M. Schessler, D.S. Karpovich, G.J. Blanchard, *J. Am. Chem. Soc.* **118** (1996) 9645.
- [5] C.J. Zhong, W.X. Zheng, F.L. Liebowitz, *Electrochem. Commun.* **1** (1999) 72.
- [6] M.L. Carot, M.J. Esplandiu, F.P. Cometto, E.M. Patrito, V.A. Macagno, *J. Electroanal. Chem.* **579** (2005) 13.
- [7] S. Rifai, M. Laferriere, D. Qu, D.D.M. Wayner, C.P. Wilde, M. Morin, *J. Electroanal. Chem.* **531** (2002) 111.
- [8] D.-F. Yang, C.P. Wilde, M. Morin, *Langmuir* **13** (1997) 243.
- [9] D.-F. Yang, C.P. Wilde, M. Morin, *Langmuir* **12** (1996) 6570.
- [10] M. Hara, K. Tamada, C. Hahn, N. Nishida, W. Knoll, *Supramol. Sci.* **3** (1996) 103.

- [11] J.L. Trevor, K.R. Lykke, M.J. Pellin, L. Hanley, *Langmuir* **14** (1998) 1664.
- [12] W. Yang, R. Zhang, G.D. Willett, D.B. Hibbert, J.J. Gooding, *Anal. Chem.* **75** (2003) 6741.
- [13] M.J. Esplandiu, M.L. Carot, F. Cometto, V. Macagno, E.M. Patrito, *Surf. Sci.* **600** (2006) 155.
- [14] C.D. Bain, E.B. Troughton, Y.-T. Tao, J. Evall, G.M. Whitesides, R.G. Nuzzo, *J. Am. Chem. Soc.* **111** (1989) 321.
- [15] C.-J. Zhong, M.D. Porter, *J. Electroanal. Chem.* **425** (1997) 147.
- [16] S.-S. Wong, M.D. Porter, *J. Electroanal. Chem.* **485** (2000) 135.
- [17] C.-J. Zhong, J. Zak, M.D. Porter, *J. Electroanal. Chem.* **421** (1997) 9.
- [18] M.M. Walczak, C.A. Alves, B.D. Lamp, M.D. Porter, *J. Electroanal. Chem.* **396** (1995) 103.
- [19] M.M. Walczak, D.D. Popenoe, R.S. Deinhammer, B.D. Lamp, C. Chung, M.D. Porter, *Langmuir* **7** (1991) 2687.
- [20] C.A. Widrig, C.A. Alves, M.D. Porter, *J. Am. Chem. Soc.* **113** (1991) 2805.
- [21] T.Y.B. Leung, M.C. Gerstenberg, D.J. Lavrich, G. Scoles, *Langmuir* **16** (2000) 549.
- [22] T. Nakanishi, B. Ohtani, K. Uosaki, *J. Phys. Chem. B* **102** (1998) 1571.
- [23] M. Brust, P.M. Blass, A.J. Bard, *Langmuir* **13** (1997) 5602.
- [24] W. Deng, L. Yang, D. Fujita, H. Nejoh, C. Bai, *Appl. Phys. A* **71** (2000) 639.
- [25] M.J. Esplandiu, H. Hagenstrom, *Solid State Ionics* **150** (2002) 39.
- [26] J. Liang, L.G. Rosa, G. Scoles, *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 17275.
- [27] T. Ohgi, H.-Y. Sheng, H. Nejoh, *Appl. Surf. Sci.* **130-132** (1998) 919.
- [28] P. Kohli, K.K. Taylor, J.J. Harris, G.J., Blanchard, *J. Am. Chem. Soc.* **120** (1998) 11962.
- [29] S.W. Joo, S.W. Han, K. Kim, *Langmuir* **16** (2000) 5391.
- [30] S.W. Joo, S.W. Han, K. Kim, *J. Phys. Chem. B* **104** (2000) 6218.
- [31] S. Kohale, S.M. Molina, B.L. Weeks, R. Khare, L.J. Hope-Weeks, *Langmuir* **23** (2007) 1258.
- [32] C. Schonberger, J.A.M. Sondag-Huethorst, J. Jorritsma, L.G.J. Fokkink, *Langmuir* **10** (1994) 611.
- [33] E. Delamarche, B. Michel, H. Kang, C. Gerber, *Langmuir* **10** (1994) 4103.
- [34] C.A. McDermott, M.T. McDermott, J.-B. Green, M.D. Porter, *J. Phys. Chem.* **99** (1995) 13257.

- [35] R. Yamada, H. Wano, K. Uosaki, *Langmuir* **16** (2000) 5523.
- [36] G.E. Poirier, M.J. Tarlov, *Langmuir* **10** (1994) 2853.
- [37] R.L. McCarley, Y.-T. Kim, A.J. Bard, *J. Phys. Chem.* **97** (1993) 211.
- [38] C.E.D. Chidsey, G.-Y. Liu, P. Rowntree, G. Scoles, *J. Chem. Phys.* **91** (1989) 4421.
- [39] C. Schonenberger, J. Jorritsma, J.A.M. Sondag-Huethorst, L.G.J. Fokkink, *J. Phys. Chem.* **99** (1995) 3259.
- [40] A. Tlili, *Mat. Sci. Eng. C-Solid.* **27** (2007) 620.
- [41] A.K.A. Alianga, A.-S. Duwez, S. Mittler, *Org. Electron.* **7** (2006) 337.
- [42] W. Jiang, N. Zhitenev, Z. Bao, H. Meng, D. Abusch-Magder, D. Tennant, E. Garfunkel, *Langmuir* **21** (2005) 8751.
- [43] U.K. Sur, R. Subramanian, V. Lakshminarayanan, *J. Colloid Interf. Sci.* **266** (2003) 175.
- [44] D. García-Raya, R. Madueno, J.M. Sevilla, *Electrochim. Acta* **53** (2008) 8026.
- [45] H.O. Finklea, *Encyclopedia of Electrochemistry*, vol. 10, Ed. M. Fujihira, I. Rubinstein, J.F. Rusling, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, **2007**.
- [46] H.O. Finklea, D.A. Snider, J. Fedyk, E. Sabatini, Y. Gafni, I. Rubinstein, *Langmuir* **9** (1993) 3660.
- [47] P. Diao, D. Jiang, X. Cui, D. Gu, R. Tong, B. Zhong, *J. Electroanal. Chem.* **464** (1999) 61.
- [48] M.D. Porter, T.B. Bright, D.L. Allara, C.E.D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 3559.
- [49] J.M. Campina, A. Martins, F. Silva, *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 5351.
- [50] C.E.D. Chidsey, D.N. Loiacono, *Langmuir* **6** (1990) 682.
- [51] M.D. Porter, T.B. Bright, D.L. Allara, C.E.D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.* **109** (1987) 3559.
- [52] L. Su, L. Mao, *Talanta* **70** (2006) 68.
- [53] M. Chirea, A. Cruz, C.M. Pereira, A.F. Silva, *J. Phys. Chem. C* **113** (2009) 13077.
- [54] J.M. Campina, A. Martins, F. Silva, *J. Phys. Chem. C* **113** (2009) 2405.
- [55] U.K. Sur, V. Lakshminarayanan, *J. Electroanal. Chem.* **516** (2001) 31.
- [56] J. Dai, Z. Li, Y. Shi, J. Cheng, J. Kong, S. Bi, *Biosens. Bioelectron.* **24** (2009) 1074.
- [57] L. Rajendran, S.P. Ananthi, *J. Electroanal. Chem.* **561** (2004) 113.
- [58] J. Amphlett, G. Denuault, *J. Phys. Chem. B* **102** (1998) 9946.
- [59] A. Kiani, M.A. Alpuche-Aviles, P.K. Eggers, M. Jones, J.J. Gooding, M.N. Paddon-Row, A.J. Bard, *Langmuir* **24** (2008) 2841.
- [60] O. Koster, W. Schuhmann, H. Vogt, W. Mokwa, *Sens. Actuat. B-Chem.* **76** (2001) 573.

- [61] P. Sun, F.O. Laforge, M.V. Mirkin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **9** (2007) 802.
- [62] B. Liu, A.J. Bard, M.V. Mirkin, S.E. Creager, *J. Am. Chem. Soc.* **126** (2004) 1485.
- [63] L.V. Protsailo, W.R. Fawcett, *Electrochim. Acta* **45** (2000) 3497.
- [64] D. Bethel, M. Brust, D.J. Schiffrin, C.J. Kiely, *J. Electroanal. Chem.* **409** (1996) 137.
- [65] B. Su, H.H. Girault, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 23925.
- [66] M. Yang, Z. Zhang, *Electrochim. Acta* **49** (2004) 5089.
- [67] K. Stolaczyk, R. Bilewicz, *Electrochim. Acta* **51** (2006) 2358.
- [68] M. Lu, X.H. Li, B.Z. Yu, H.L. Li, *J. Colloid Interf. Sci.* **248** (2002) 376.
- [69] M. Brust, D. Bethell, C.J. Kiely, D.J. Schiffrin, *Langmuir* **14** (1998) 5425.
- [70] I. Joseph, I. Besnard, M. Rosenberger, B. Guse, H.-G. Nothofer, J.M. Wessels, U. Wild, A. Knop-Gericke, D. Su, R. Schlogl, A. Yasuda, T. Vossmeier, *J. Phys. Chem. B* **107** (2003) 7406.
- [71] G. Schmid, U. Simon, *Chem. Commun.* (2005) 697.
- [72] P. Chen, R.L. McCreery, *Anal. Chem.* **68** (1996) 3958.
- [73] H.Q. Zhao, L. Lin, J.R. Li, J.A. Tang, M.X. Duan, L. Jiang, *J. Nanopart. Res.* **3** (2001) 321.



Capítulo 4

Preparação, caracterização e aplicações de eléctrodos modificados por polímeros condutores contendo enxofre e nanopartículas de ouro e de platina

Parte do trabalho apresentado neste capítulo foi objecto dos seguintes artigos:

- “Attachment of Noble Metal Nanoparticles to Conducting Polymers containing Sulphur - preparation conditions for enhanced electrocatalytic activity”, V.C. Ferreira, A.I. Melato, A.F. Silva, L.M. Abrantes, *Electrochimica Acta* 56 (2011) 3567-3574.
- “Conducting Polymers with attached Platinum Nanoparticles towards the development of DNA biosensors”, V.C. Ferreira, A.I. Melato, A.F. Silva, L.M. Abrantes (2011) (submetido para publicação).

4. Preparação, caracterização e aplicações de eléctrodos modificados por polímeros condutores contendo enxofre e nanopartículas de ouro e de platina

4.1. Objectivo

Neste capítulo descreve-se:

- O uso de monómeros com átomos de enxofre na sua estrutura (tionina, 3-metiltiofeno e 3,4-etilenodioxítiofeno) para obter, por electropolimerização, superfícies de platina modificadas por polímeros condutores com capacidade e características morfológicas favoráveis para estabelecer interações selectivas e específicas, através dos átomos de S na estrutura polimérica;
- A imobilização de nanopartículas pré-formadas na superfície dos polímeros condutores e a avaliação do efeito da natureza dos polímeros, das NPs e das condições experimentais usadas (tanto na síntese dos filmes como na deposição das NPs) na resposta electroquímica dos materiais compósitos formados;
- A avaliação do desempenho dos eléctrodos modificados para aplicação em electrocatálise e como bio(sensores).

4.2. Polímeros condutores com átomos de enxofre na sua estrutura

4.2.1. Síntese e caracterização de filmes de Politionina

Dos monómeros, com átomos de enxofre na estrutura, seleccionados para a modificação de superfícies de platina, a tionina (TN, ou acetato de 3,7-diamino-5-fenotiazina, figura 4.1) foi polimerizada electroquimicamente de acordo com as condições estabelecidas na referência [1] (solução $50 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de TN em $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 , com 80 ciclos de potencial e $E_{\text{la}} = 1,15 \text{ V}$ a $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ - PTN 80/20).

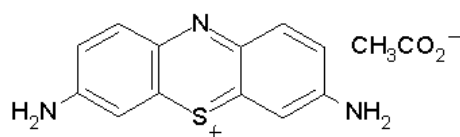


Figura 4.1 - Representação esquemática do monómero TN, sob a forma de acetato de tionina.

No varrimento anódico do primeiro ciclo da electropolimerização a oxidação irreversível do monómero ocorre a valores de potencial elevados ($E > 1,0$ V (vs ESC)), sobreposta com a oxidação da superfície de platina, Ox. 1, figura 4.2; no varrimento inverso é detectada a redução do óxido formado na superfície, Red. 1, seguida da redução do polímero, Red. 2, a $E \approx 188$ mV. Após nova inversão do sentido de variação de potencial, o processo anódico, Ox. 2 a $E \approx 233$ mV, corresponde à oxidação do polímero sobreposta com a oxidação reversível do monómero em solução, pois a tionina é uma molécula electroactiva da família do azul de metileno e apresenta, em solução, um comportamento redox reversível (detalhe incluído na figura 4.2) [2, 3]. Devido à presença de grupos doadores de electrões - aminas primárias - e pelo menos uma posição *orto* ou *para* não substituída no anel aromático, o mecanismo da electropolimerização da TN tem sido descrito na literatura como sendo semelhante ao da anilina [4-6]. A polimerização da TN ocorre através da oxidação irreversível do monómero a valores de potencial elevados, imediatamente antes da libertação de oxigénio, com a formação de um radical-catião estável e monocarregado [5, 6]. A estrutura do polímero resultante (politionina, PTN), embora não esteja completamente estabelecida, tem sido descrita como formada por unidades monoméricas ligadas via pontes amina secundária na posição *para* e contendo grupos $-NH_2$ livres na sua estrutura [5-8]. Com o incremento do número de ciclos de potencial os picos catódico (Red. 2) e anódico (Ox. 2), aumentam de intensidade revelando o crescimento do polímero na superfície do eléctrodo. Estes sofrem um ligeiro deslocamento para valores de potencial inferiores (pico catódico, $E \approx 175$ mV) e superiores (pico anódico, $E \approx 283$ mV), respectivamente. O desvio de potencial, igualmente observado noutros polímeros derivados das fenazinas e fenotiazinas, tem sido atribuído a dificuldades cinéticas de transporte de protões e/ou electrões e ao aumento da queda ohmica com o aumento da espessura do filme [9, 10]. Estudos por *AFM* revelaram que o espessamento dos filmes de PTN é acompanhado pelo aumento da rugosidade *rms* (*root mean square*) do polímero

com a formação de estruturas globulares de pequenas dimensões, sobre uma primeira camada compacta, cuja agregação resulta na evolução para domínios compactos em filmes crescidos com 80 ciclos de potencial [8].

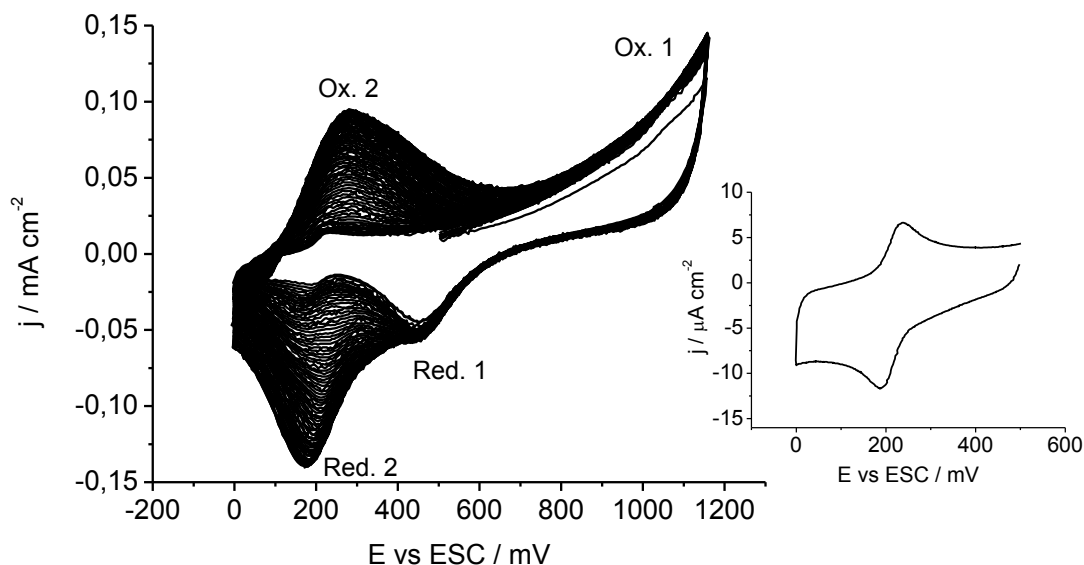


Figura 4.2 - Voltamogramas cíclicos da electropolimerização potenciodinâmica da TN em Pt; $50 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de TN em $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 a $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ com 80 ciclos de potencial; detalhe incluído na figura: comportamento redox da Tionina em solução nas mesmas condições.

A caracterização electroquímica do eléctrodo modificado (EM) com PTN, a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, realizada em solução isenta de monómero, mostra um pico anódico a cerca de 290 mV e um pico catódico a cerca de 152 mV, que revelam a presença de um filme polimérico depositado na superfície do eléctrodo de Pt. Estes envolvem na oxidação a desprotonação do filme e saída de contra-íões do electrólito que garantiam a electroneutralidade do filme no estado reduzido, e na redução o processo inverso, figura 4.3. A separação dos picos ($\Delta E \approx 62 \text{ mV}$), próxima de 59 mV, e a razão das cargas de oxidação e redução ($Q_{\text{Ox.}} = 1,65 \text{ mC cm}^{-2}$ e $Q_{\text{Red.}} = 1,45 \text{ mC cm}^{-2}$) próxima da unidade, indicam que a conversão redox da PTN é praticamente completa em meio ácido. A conversão redox deste polímero ocorre na mesma gama de valores de potencial da conversão do monómero em solução (detalhe incluído na figura 4.2); tem sido proposto que possa ocorrer, em meio ácido, de acordo com o esquema da figura 4.4; no estado reduzido ocorre a protonação dos grupos amina, o que requer a entrada de protões e de contra-íões (A^-) da solução para a compensação de carga; a oxidação do filme e consequente desprotonação dos grupos amina leva à expulsão de protões e contra-íões do polímero.

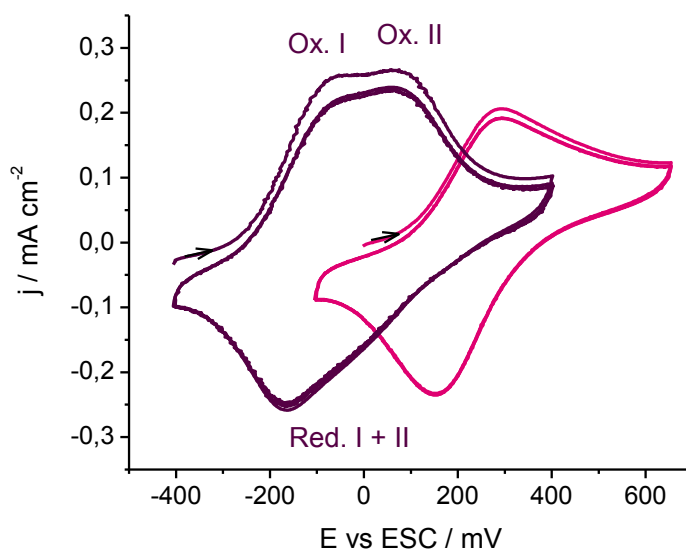


Figura 4.3 - Perfis i - E da caracterização electroquímica da PTN 80/20 em (—) $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 e (—) $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

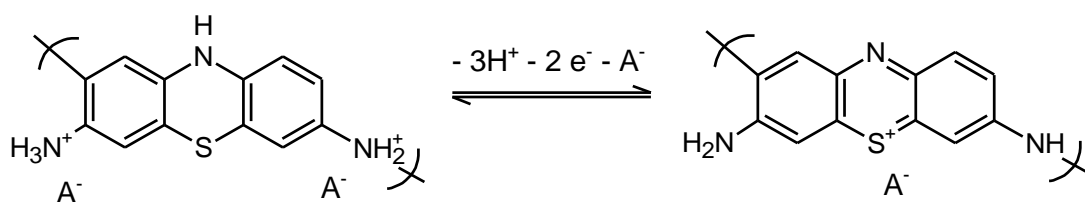


Figura 4.4 - Representação da estrutura da politionina e sua conversão redox em meio ácido proposta por Hamnett *et al.*, adaptado de [11].

Contrariamente ao observado noutros polímeros condutores, como a polianilina [12], a PTN e outros derivados de azinas (fenotiazinas, fenoxazinas e fenazinas) mantêm a sua electroactividade em meio neutro [8, 10]. Na figura 4.3 observa-se a conversão redox deste polímero, PTN 80/20, em solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de tampão fosfato (TF, pH 7). Neste meio, a conversão redox da PTN é mais complexa do que em meio ácido e podem ser detectados dois processos de oxidação a cerca de -40 e 65 mV, respectivamente; no varrimento catódico um pico alargado de redução a cerca de -163 mV, que envolve os dois processos catódicos. A razão das cargas de oxidação e de redução próxima da unidade ($Q_{\text{Ox.}} = 2,02 \text{ mC cm}^{-2}$ e $Q_{\text{Red.}} = 1,97 \text{ mC cm}^{-2}$) indica uma conversão redox eficaz do filme neste meio. Outros autores também observaram dois processos na conversão redox em polímeros derivados da fenotiazina, nomeadamente do poli(azul I), poli(azul de toluidina) e

poli(azul de metileno) [4-6, 10]. O pico a valores de potencial mais catódicos, Ox. I, tem sido atribuído ao monómero, podendo ter origem em moléculas adsorvidas no polímero via ligação S-S, que afectando a densidade electrónica do sistema aromático induzem o desvio de potencial para valores mais negativos [10, 13]. O processo a valores de potencial menos negativos, Ox. II, tem sido atribuído à conversão redox do polímero e a alterações nos anéis aromáticos que induzem o desvio de potencial (diminuição do carácter dador do átomo de azoto).

4.2.2. Síntese e caracterização de polímeros condutores de derivados do Tiofeno

Poli(3-metiltiofeno)

A electropolimerização do 3-metiltiofeno (3-MeT), derivado do tiofeno com um substituinte metilo na posição 3 (figura 4.5), foi efectuada por ciclos de potencial (entre 0 e 1,45 V, durante 7 e 11 ciclos a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$), figura 4.6 (a), ou a potencial constante ($E_g = 1,42 \text{ V}$ e $Q_g \approx 90$ e 160 mC cm^{-2} com $t = 30$ e 40 s), figura 4.6 (b), em solução contendo $0,6 \text{ mol dm}^{-3}$ de 3-MeT e $0,2 \text{ mol dm}^{-2}$ de electrólito suporte, TBAClO_4 , em ACN. Os valores de potencial de crescimento, E_g , e de limite anódico, E_{la} , foram seleccionados a partir da resposta da corrente no varrimento anódico representado no detalhe (a_1) incluído na figura 4.6. De modo a obter filmes com electroactividade semelhante, foram controlados o tempo e número de ciclos de crescimento, respectivamente na electropolimerização potencioestática e potenciodinâmica do 3-MeT.

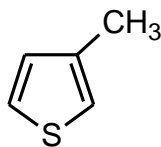
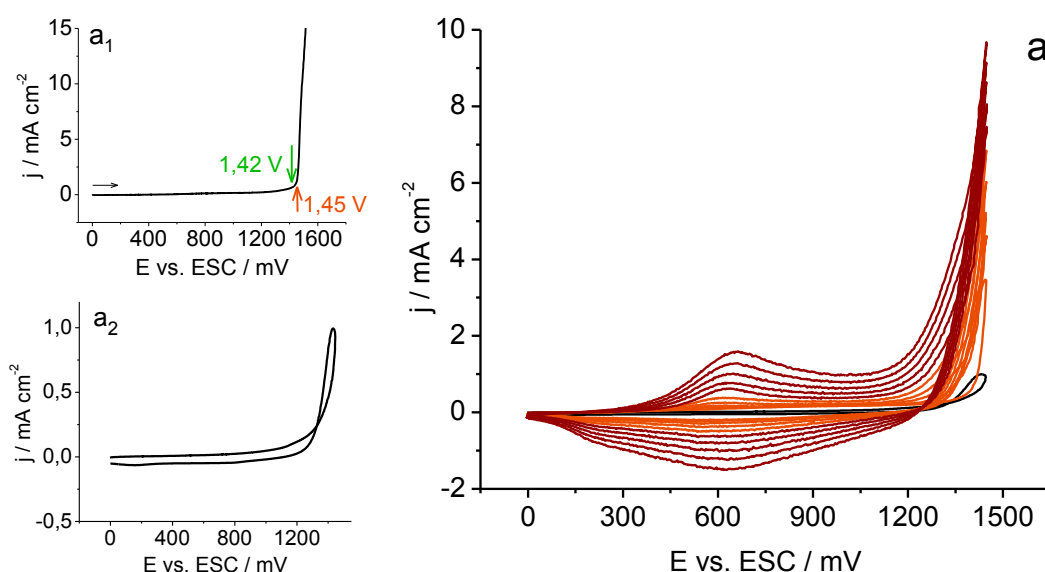


Figura 4.5 - Representação esquemática da molécula de monómero: 3-metiltiofeno.

No primeiro ciclo da electropolimerização potenciodinâmica observa-se, a valores de potencial elevado ($E > 1,4 \text{ V}$), um aumento de corrente acentuado que corresponde à oxidação do monómero, figura 4.6 (a_1). Invertendo o sentido do varrimento de potencial ao $E_{la} = 1,42 \text{ V}$, um cruzamento de corrente evidencia a nucleação de oligómeros na

superfície do eléctrodo e deposição de uma nova fase [14]. No entanto, tem sido referido que este cruzamento de corrente tem origem na reacção homogénea entre os oligómeros oxidados (Oligo^{n+}) e o monómero neutro (Mon.), de acordo com: $\text{Oligo}^{n+} + \text{Mon.} \rightarrow \text{Oligo}^{(n-1)+} + \text{Mon.}^+$ (*comproportionation*), resultando num oligómero parcialmente reduzido ($\text{Oligo}^{(n-1)+}$) e no monómero oxidado (Mon.^+), ou seja, o processo de polimerização é desencadeado a valores de potencial menos positivos do que o da oxidação do monómero e origina o cruzamento de corrente [15, 16]. Em resultado deste processo designado auto-catalítico, após o primeiro ciclo de potencial, a oxidação do monómero ocorre a valores de potencial menos positivos e a corrente de oxidação ao E_{I_a} aumenta com o número de ciclos, figura 4.6 (a). Este fenómeno é característico da reacção de electropolimerização de diversos monómeros como o tiofeno e o 3,4-etilenodioxitiofeno [15-18]. Os picos de corrente, correspondentes aos processos de oxidação (dopagem) e redução (de-dopagem) do filme depositado, $E_{\text{Ox.}} = 620$ mV e $E_{\text{Red.}} = 550$ e 240 mV, sofrem um incremento de densidade de corrente de ciclo para ciclo e um pequeno deslocamento para valores de potencial mais positivos com o espessamento do filme, devido a rearranjos estruturais no filme [17]. A assimetria dos processos de dopagem/de-dopagem de polímeros condutores como o politiofeno e seus derivados tem sido atribuída a alterações estruturais e conformacionais, a estados de oxidação distintos no filme e a distintas propriedades do polímero no estado oxidado e reduzido [15, 19].



(continua)

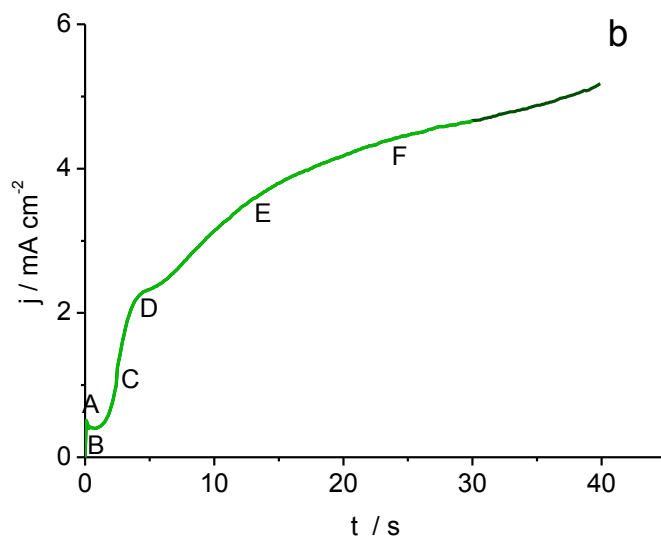


Figura 4.6 - Electropolimerização do 3-MeT em Pt numa solução $0,6 \text{ mol dm}^{-3}$ de 3-MeT contendo $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ de TBAClO_4 em ACN, em (a) modo potenciodinâmico a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$, $[0; +1,45] \text{ V}$ com (—) 1 ciclo, (—) 7 ciclos e (—) 11 ciclos e (b) modo potenciostático a $E_g = 1,42 \text{ V}$ com (—) $Q_g = 90 \text{ mC cm}^{-2}$ e (—) $Q_g = 162 \text{ mC cm}^{-2}$. Detalhes incluídos na figura (a₁) varrimento linear com detecção do início da oxidação do 3-MeT e (a₂) primeiro ciclo da electropolimerização potenciodinâmica.

No crescimento a potencial constante, podem distinguir-se diferentes zonas nos perfis corrente-tempo representados na figura 4.6 (b), que correspondem a diferentes etapas e velocidades da polimerização [20-22]. Na fase inicial, A-B, as unidades monoméricas em solução sofrem oxidação e quando os oligómeros formados atingem uma concentração suficiente e se tornam insolúveis, precipitam na superfície do eléctrodo ao t_n (tempo de nucleação) que corresponde ao mínimo de corrente, i_n , no transiente de corrente-tempo, ponto B. No intervalo entre B e D, ocorrem os processos de nucleação e crescimento do filme e após o ponto D, o seu espessamento prossegue.

Chao *et al.* [20] mostraram que durante as diferentes fases de crescimento a potencial constante ($E_g \leq 1,42 \text{ V}$), ocorre a formação de uma primeira camada compacta (até 30-40 nm), constituída por fibras com espessura crescente, que evoluem progressivamente para uma textura granular e uma segunda camada menos compacta e composta de aglomerados de pequenos grãos dispostos numa estrutura mais ou menos helicoidal; igualmente Abrantes *et al.* [23, 24] verificaram, por elipsometria, a formação de uma primeira camada de P(3-MeT) compacta e organizada até $Q_g \approx 20 \text{ mC cm}^{-2}$, cuja espessura e carga dispendida na sua formação depende do potencial aplicado, após o que a estrutura

polimérica ainda uniforme se torna menos densa, até que filmes espessos ($Q_g > 80 \text{ mC cm}^{-2}$) surgem desorganizados e superficialmente rugosos.

O mecanismo de electropolimerização do 3-metil tiofeno é semelhante ao do tiofeno e de outros seus derivados como o EDOT [15, 19, 27], e é geralmente aceite que este envolve a oxidação do monómero com formação de um radical-catião que pode reagir com outro igual ou com um monómero neutro por acoplamento nas posições α , formando um dímero após eliminação de 2 protões. O dímero sofre oxidação (a um radical-catião) e reage com um radical-catião (monomérico), um monómero neutro ou através de dimerização consecutiva com outro dímero oxidado (radical-catião) e assim sucessivamente, até que os oligómeros formados atinjam uma concentração tal, se tornem insolúveis e se depositem da superfície do eléctrodo [15, 16, 19], correspondendo ao mínimo do transiente em que o t_n é atingido, figura 4.6 (b).

A electropolimerização potenciostática foi monitorizada por microbalança electroquímica de cristal de quartzo (*Electrochemical Quartz Crystal Microbalance, EQCM*) e a variação de frequência registada ao longo do transiente corrente-tempo encontra-se representada na figura 4.7 (a).

Para o tratamento das variações de frequência, assumiu-se um comportamento de uma camada rígida para os filmes depositados. Embora a literatura refira que o P(3-MeT) formado com Q_g superior a 12 mC cm^{-2} apresenta efeitos viscoelásticos, estes são pouco relevantes até $Q_g \approx 49 \text{ mC cm}^{-2}$ e em filmes com Q_{red} até cerca de $4,5 \text{ mC cm}^{-2}$ [25, 26]. Neste pressuposto, verificam-se as condições que permitem o uso da equação de Sauerbrey (equação 5.8) referida no capítulo 5; a uma variação negativa de frequência de 1 kHz corresponde a um aumento de massa na superfície do eléctrodo de $7 \mu\text{g cm}^{-2}$.

Da análise dos perfis obtidos é possível distinguir as diferentes zonas de crescimento. Na fase inicial até cerca de t_n não há variação de frequência, ou seja, durante o processo de oxidação do monómero e formação de oligómeros solúveis, não ocorre deposição de massa na superfície do eléctrodo. Por outro lado, quando t_n é atingido observa-se uma diminuição de frequência que corresponde a um aumento de massa depositada na superfície do eléctrodo que acompanha a nucleação e crescimento do filme. A variação de frequência no tempo apresenta períodos de crescimento com velocidades distintas nos intervalos $t: [t_n - 13 \text{ s}]$ e $t > 13 \text{ s}$.

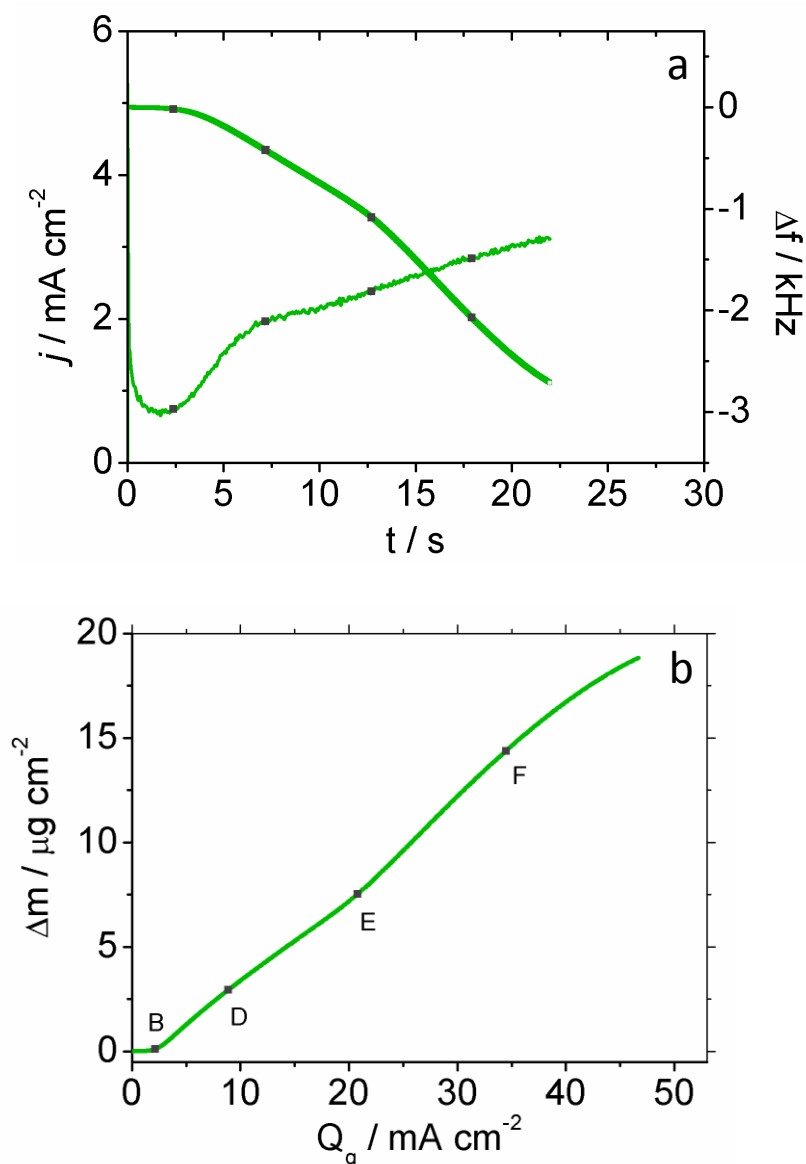


Figura 4.7 - (a) Transiente corrente-tempo (—) e correspondente variação de frequência (□), registados durante o crescimento potenciosotático do P(3-MeT) a $E_g = 1,42$ V e (b) representação de variação de massa em função da carga de crescimento (Δm vs Q_g); 0,6 mol dm⁻³ de 3-MeT em 0,2 mol dm⁻³ de TBAClO₄ em ACN.

No entanto, uma análise mais detalhada da variação da massa depositada, Δm , com a carga de crescimento, ilustrada na figura 4.7 (b), permite verificar a existência de etapas distintas de deposição do filme de P(3-MeT) assinaladas nas figuras, que correspondem aos valores de $Q_g = 2,1, 8,8, 20,8$ e $34,5$ mC cm⁻², em relativa concordância com as fases de crescimento (B, D, E e F) anteriormente referidas. Considerando que na polimerização estão envolvidos $(2n + 2 + nx)$ electrões, em que n é o número de unidades monoméricas e

x o nível de dopagem do filme no estado oxidado, entre 0,25 e 0,4 [15] e assumindo $x = 0,25$, por cada segmento de 4 unidades monoméricas depositadas na superfície do eléctrodo estão envolvidos 6,5 electrões. Por cada 5 mC cm^{-2} de carga dispendida é esperada a deposição de $3,9 \mu\text{g cm}^{-2}$; entre os pontos assinalados na figura 4.7 (b), as variações de massa depositada de 2,1, 1,5 e $2,6 \mu\text{g cm}^{-2}$, são inferiores ao esperado devido à formação de oligómeros solúveis. Em cada intervalo os diferentes valores de massa depositada revelam as distintas etapas de crescimento: após a nucleação e coalescência dos núcleos (B-D) a velocidade de deposição abranda (D-E); o aumento da área superficial com o espessamento do filme (entre E-F) conduz a uma maior quantidade de massa depositada ($2,6 \mu\text{g cm}^{-2}$). De notar que sendo os eléctrodos usados na *EQCM* (camada fina de platina depositada sobre o cristal de quartzo) distintos do eléctrodo policristalino e maciço de platina, podem resultar filmes com Q_g ligeiramente diferentes. Devido a limitações decorrentes das propriedades viscoelásticas do material depositado sobre o cristal de quartzo [25, 26] não é possível, nas condições experimentais usadas, acompanhar a formação de filmes filme com $t > 22 \text{ s}$ ($\Delta f \approx -2,70 \text{ kHz}$).

Na tabela 4.1 encontram-se os dados, recolhidos a partir dos transientes densidade de corrente-tempo e da variação de frequência, de filmes de P(3-MeT) crescidos com diferentes tempos de polimerização ($t = 10, 20$ e 22 s) a que correspondem distintas cargas de crescimento ($Q_g = 15,2, 37,5$ e $46,7 \text{ mC cm}^{-2}$). De salientar que, para $t = 10 \text{ s}$, o desvio dos valores de densidade de corrente e variação de frequência são de $j = 2,2 \pm 0,2 \text{ mA cm}^{-2}$ e $\Delta f = -0,74 \pm 0,03 \text{ kHz}$, respectivamente. Tendo em conta que a deposição do filme ocorre no estado oxidado e que nessas condições é requerida a incorporação de um contra-íão para compensação de carga por cada quatro unidades monoméricas no polímero [27], usam-se os valores Q_g para estimar a variação de massa esperada, $\Delta m_{\text{calc.}}$, o que corresponde a assumir que toda a carga dispendida está envolvida na formação e dopagem de polímero. Os valores de $\Delta m_{\text{calc.}}$ afastam-se dos obtidos experimentalmente, Δm , traduzindo-se numa eficiência de polimerização inferior a 54%. Este facto está relacionado com a já referida formação de oligómeros solúveis que difundem para o seio da solução, como evidenciado por efeito de miragem [28].

Tabela 4.1 - Valores de variação de frequência medidos, Δf , quantidades estimadas de carga de crescimento, Q_g , e de variação de massa depositada, Δm , variação de massa esperada, $\Delta m_{\text{calc.}}$, e eficiência de polimerização do 3-MeT a potencial constante, $E_g = 1,42 \text{ V}$.

t / s	Q_g / mC cm^{-2}	Δf / kHz	Δm / $\mu\text{g cm}^{-2}$	$\Delta m_{\text{calc.}}$ / $\mu\text{g cm}^{-2}$	$\Delta m /$ $\Delta m_{\text{calc.}}$
10	15,2	-0,77	5,3	11,9	44 %
20	37,5	-2,27	15,8	29,4	54 %
22	46,7	-2,71	18,8	36,6	51 %

$$\Delta m_{\text{calc.}} = \Delta m_{3\text{-MeT}} + \Delta m_{\text{ClO}_4^-}$$

Os filmes formados foram caracterizados em solução isenta de monómero ($0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ de TBAClO₄ em ACN) a 50 mV s^{-1} , após descarga ao potencial de limite catódico ($E_{\text{lc}} = 0 \text{ V}$) durante 300 s, ou seja, de-dopagem do polímero por aplicação de um potencial de redução durante um período de tempo que garante que o filme se encontra no estado neutro [14]. Os voltamogramas cíclicos obtidos, a partir dos quais foram compilados os dados da tabela 4.2, encontram-se representados na figura 4.8.

Após descarga dos filmes, no varrimento anódico observa-se um pico de corrente correspondente à oxidação do polímero e entrada de aniões para compensação de carga, de acordo com o esquema da figura 4.9; ao potencial de limite anódico ($E_{\text{la}} = 1,0 \text{ V}$) o sentido de varrimento é invertido e detectam-se dois picos catódicos relativos à redução do filme, e concomitante expulsão dos aniões do electrólito para a solução. À semelhança do reportado para o PEDOT, a presença destes últimos está relacionada com a redução e de-dopagem de camadas distintas do filme [22, 29]. Uma interpretação alternativa refere a existência de estados redox no polímero, cujo número aumenta com o comprimento da cadeia, resultando na sobreposição daqueles numa gama alargada de valores de potencial e uma grande concentração de estados, centrada no valor de potencial dos picos de corrente detectados nos voltamogramas cíclicos [15]; Skompska *et al.* [30, 31] reportaram que o pico de oxidação do P(3-MeT) a valores de potencial menos positivo se deve a segmentos poliméricos de cadeia longa, formados maioritariamente no início da polimerização, e o que ocorre a valores de potencial mais positivos aos segmentos curtos, que contribuem para o espessamento do filme. De notar ainda que no segundo ciclo de potencial, a densidade de corrente de oxidação é inferior à verificada no primeiro ciclo devido a redução incompleta do filme durante o primeiro varrimento catódico.

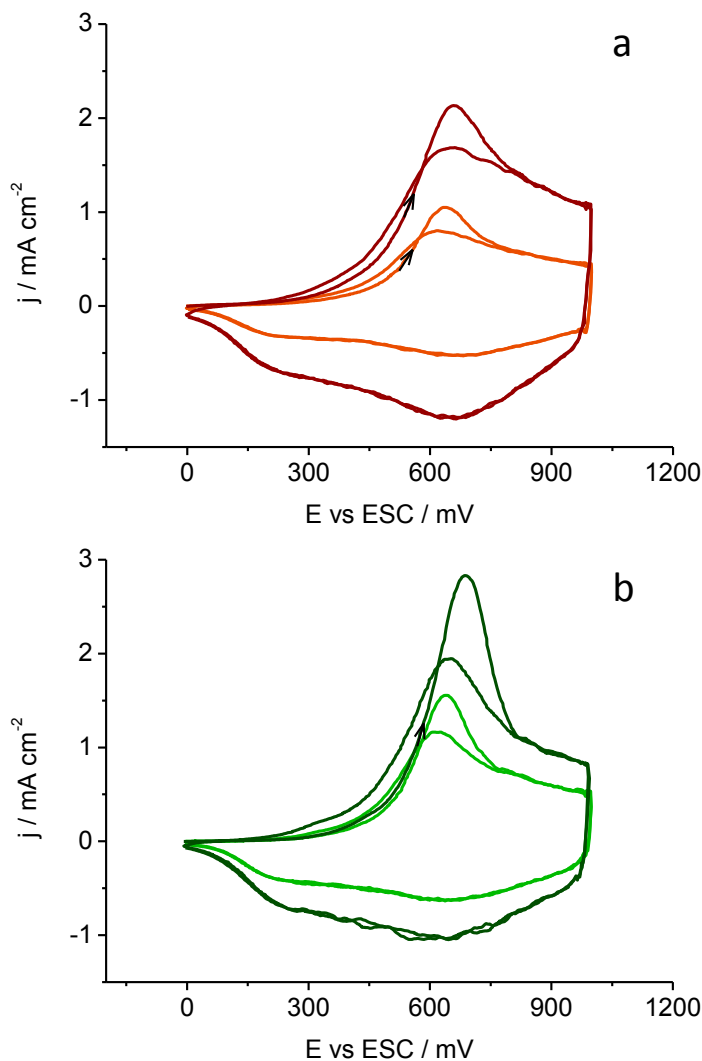


Figura 4.8 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos filmes de P(3-MeT) crescidos (a) por varrimentos cíclicos de potencial: $E_{la} = 1,45$ V a 50 mV s^{-1} com (—) 7 ciclos e (—) 11 ciclos e (b) a potencial constante: $E_g = 1,42$ V e (—) $Q_g = 92$ mC cm^{-2} e (—) $Q_g = 162$ mC cm^{-2} , em solução $0,2$ mol dm^{-3} de TBAClO_4 em ACN.

Tabela 4.2 - Valores de potencial de pico, $E_{Ox.}$ e $E_{Red.}$, e cargas de crescimento, Q_g , e de oxidação e redução, $Q_{Ox.}$ e $Q_{Red.}$ dos filme de P(3-MeT).

P(3-MeT)	Ciclos	$E_{Ox.}$ / mV	$E_{Red.}$ / mV	$Q_{Ox.}$ / mC cm^{-2}	$Q_{Red.}$ / mC cm^{-2}	$Q_{Ox.}$ / $Q_{Red.}$	
$E_{la} = 1,45$ V	7	665	656 255	7,3	6,5	1,1	
	11	656	668 274	16,0	15,2	1,0	
P(3-MeT)	t_g / s	Q_g / mC cm^{-2}	$E_{Ox.}$ / mV	$E_{Red.}$ / mV	$Q_{Ox.}$ / mC cm^{-2}	$Q_{Red.}$ / mC cm^{-2}	$Q_{Ox.}$ / $Q_{Red.}$
$E_g = 1,42$ V	30	92	642	639 295	8,6	7,7	1,1
	40	162	682	644 295	15,0	13,8	1,1

Como se pode observar na tabela 4.2, no filme fino crescido a potencial constante ($Q_{ox.} \approx 8 \text{ mC cm}^{-2}$), o pico de anódico é detectado a valores de potencial menos positivos do que naquele crescido por ciclos de potencial com $Q_{ox.}$ comparável, indicando, à luz da interpretação mais geralmente aceite [22, 30], que o processo de dopagem é facilitado no filme crescido potencioestaticamente. Este facto permite prever uma estrutura mais porosa naquele polímero do que no formado potenciodinamicamente (7 ciclos). No filme obtido utilizando mais ciclos de potencial (11) os processos de dopagem/de-dopagem são facilitados, como revelam os valores de potencial de oxidação (e redução) desviados no sentido negativo (e positivo). No entanto, a separação entre os picos de redução mostra que a de-dopagem das diferentes camadas que constituem os filmes de P(3-MeT) é mais heterogénea naqueles obtidos potenciodinamicamente, uma vez que a separação de potencial entre as ondas catódicas é superior (filmes formados por ciclos de potencial $\Delta E_{red.1-2} \approx 400 \text{ mV}$ e a potencial constante $\Delta E_{red.1-2} \approx 350 \text{ mV}$), o que está de acordo com o esperado para filmes menos porosos em que a expulsão de contra-íões da camada mais interna e compacta ocorre menos facilmente do que a da camada externa [22].

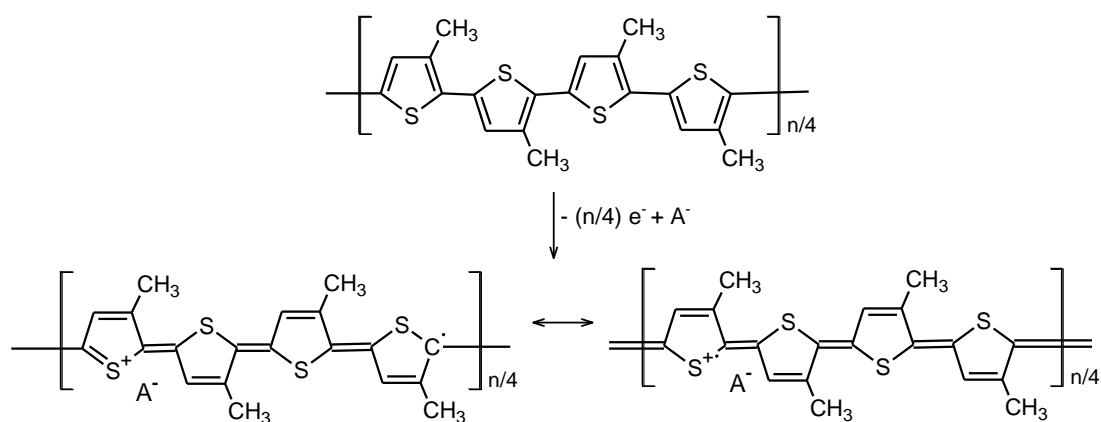


Figura 4.9. - Representação esquemática da conversão redox de um derivado do politiofeno - poli(3-metilthiofeno). Adaptado de [27].

Comparando a carga de crescimento dos filmes obtidos em modo potencioestático, Q_g , com a carga envolvida na sua oxidação, $Q_{ox.}$, em solução sem monómero, verifica-se que não há uma relação directa. Considerando os $(2n + 2 + 0,25n)$ electrões envolvidos na polimerização [15], para uma carga de crescimento de $Q_g \approx 90 \text{ mC cm}^{-2}$ seria de esperar um filme com carga de oxidação de cerca de $Q_{ox.} \approx 13,8 \text{ mC cm}^{-2}$. Este valor é superior ao valor obtido pela integração da corrente de oxidação nos voltamogramas da caracterização

($Q_{ox.} \approx 8 \text{ mC cm}^{-2}$), o que resulta numa eficiência de polimerização de 58 %, que é ligeiramente superior à obtida através da variação de massa estimada a partir dos resultados de *EQCM* (44-54 %). Considerando a eficiência da electropolimerização como a razão entre $Q_{ox.}/Q_g$, aos filmes obtidos a potencial constante, com $Q_g = 92 \text{ mC cm}^{-2}$ e 162 mC cm^{-2} , corresponde um valor de $Q_{ox.}/Q_g$ de $\approx 9 \%$, que se encontra próximo do reportado para filmes de P(3-MeT) [21, 28].

As imagens de microscopia de força atómica (*Atomic Force Microscopy, AFM*) obtidas para os filmes de P(3-MeT) crescidos a potencial constante com $Q_g \approx 90 \text{ mC cm}^{-2}$ ($Q_{ox.} \approx 8 \text{ mC cm}^{-2}$), e por 7 ciclos de potencial a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ com idêntica $Q_{ox.}$ encontram-se representadas na figura 4.10. É conhecido que as condições de crescimento de polímeros condutores afectam a sua morfologia [22, 24, 29, 32], nomeadamente filmes de PANi, crescidos a lenta velocidade de varrimento de potencial, são mais compactos e menos rugosos [32] e filmes de PEDOT crescidos na presença de diferentes electrólitos de suporte resultam na formação de polímeros com morfologia e porosidade distintas [29]. As imagens revelam que, pelo adequado ajuste das condições de síntese, é possível obter filmes crescidos sob distintos regimes de potencial, com electroactividade semelhante e morfologias distintas. Os polímeros depositados são constituídos por estruturas globulares formadas por grãos de menores dimensões em boa concordância com o reportado para filmes de P(3-MeT) com $Q_g > \approx 20 \text{ mC cm}^{-2}$ [20, 33]. Para o filme formado por varrimentos cíclicos de potencial (figura 4.10 (b)) é visível a presença da primeira camada densa e compacta, sobre a qual se observa a deposição de uma segunda menos compacta com estruturas globulares. Estas estruturas são mais evidentes no filme obtido a potencial constante como se mostra na figura 4.10 (a). A presença de formas fibrilares reportada para filmes finos de P(3-MeT) (cerca de 20-40 nm) não é observada nos filmes formados com $Q_g \approx 90 \text{ mC cm}^{-2}$ devido à sua elevada espessura quando comparada com os filmes reportados ($Q_g < 17,6 \text{ mC cm}^{-2}$) [20]; apenas no filme obtido potenciostaticamente se detectam algumas daquelas estruturas no canto superior direito da figura 4.10 (b). Para filmes espessos ocorre a agregação de glóbulos, notória durante a segunda fase de crescimento [20], e a formação de uma matriz polimérica mais porosa. Neste caso, os valores de rugosidade *rms* obtidos foram de $R_q = 17$ e 31 nm , para os filmes preparados por ciclos de potencial e a potencial constante, respectivamente, revelam que potenciostaticamente é possível obter electrodos modificados por filmes de

poli(3-metil-tiofeno) com elevada área superficial ao longo de uma estrutura porosa. É de prever que os filmes ainda mais espessos ($Q_{ox} \approx 15 \text{ mC cm}^{-2}$) se apresentem mais porosos e com uma superfície mais rugosa.

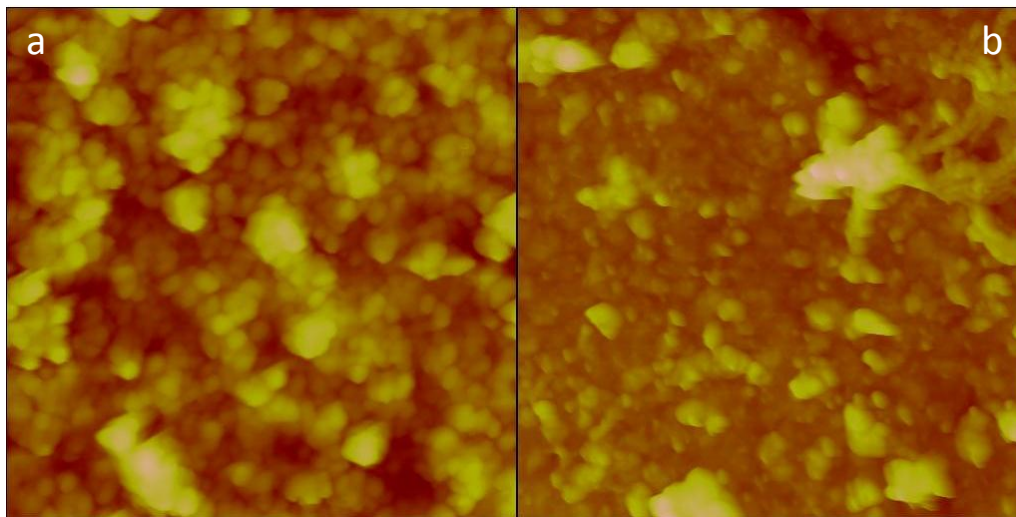


Figura 4.10 - Imagens de AFM ($1,5 \times 1,5 \mu\text{m}^2$) obtidas *ex situ* para os filmes de P(3-MeT) preparados (a) a potencial constante ($E_g = 1,42 \text{ V}$, $Q_g = 90 \text{ mC cm}^{-2}$) e (b) por varrimentos cíclicos de potencial com 7 ciclos; $Z = 350 \text{ nm}$.

Participação iónica na conversão redox do P(3-MeT)

Os processos de dopagem/de-dopagem de filmes de P(3-MeT) crescidos com diferentes cargas de crescimento ($Q_g = 15,2$ e $37,5 \text{ mC cm}^{-2}$) foram acompanhados por EQCM. Na figura 4.11 (a e b) mostram-se os voltamogramas cíclicos obtidos (2 ciclos de potencial após descarga dos filmes ao $E_{lc} = 0 \text{ V}$, durante 300 s) e as variações de frequência, Δf , correspondentes. No primeiro ciclo de potencial, a frequência permanece constante até cerca de $E = 0,46 \text{ V}$, após o que uma diminuição acentuada evidencia a entrada de contra-íões para compensação da carga positiva gerada no polímero. O decréscimo de frequência ocorre cerca de $0,12$ - $0,22 \text{ V}$ após o início da oxidação e esse desvio para valores de potencial mais positivos aumenta com a carga de crescimento, indicando que a entrada dos contra-íões, requerida para manter a electroneutralidade do filme, sucede a formação de cargas positivas no polímero e é dificultada nos filmes mais espessos. Após o pico de corrente, a variação de frequência ocorre mais lentamente até ao $E_{la} = 1,0 \text{ V}$. No varrimento inverso a expulsão de contra-íões, confirmada na figura 4.11 pelo aumento de frequência, prolonga-se por todo o intervalo de potencial, podendo distinguir-se duas zonas principais, uma entre $E: [1,0 - 0,38 \text{ V}]$ e outra a $E < 0,38 \text{ V}$ ($\approx 0,42 \text{ V}$ nos filmes mais espessos), que

acompanham os processos de redução 1 e 2, respectivamente. Aparentemente a velocidade de de-dopagem da camada mais externa do filme (pico de redução a valores de potencial mais positivo) ocorre mais lentamente do que a da camada interna. Porém, tendo em conta que este processo é acompanhado pela reinserção de moléculas de solvente no filme, é de esperar que a variação de frequência nesta gama de valores de potencial seja inferior ao esperado.

A histerese observada entre o varrimento anódico e catódico, igualmente detectada em filmes de poli(3-octiltiofeno) [34], indica complexidade dos processos de dopagem/de-dopagem e simultâneo movimento de solvente. A diferença de Δf registada ao $E_{lc} = 0$ V, após um ciclo de potencial, aumenta com a carga de crescimento dos filmes e traduz a redução incompleta do polímero no varrimento catódico. O movimento de catiões, observado por efeito de miragem durante a conversão redox de filmes de P(3-MeT) na presença de LiClO_4 [21], não é esperado neste caso, uma vez que o catião do electrólito de suporte em solução (tetrabutylamónio) é muito mais volumoso do que o lítio.

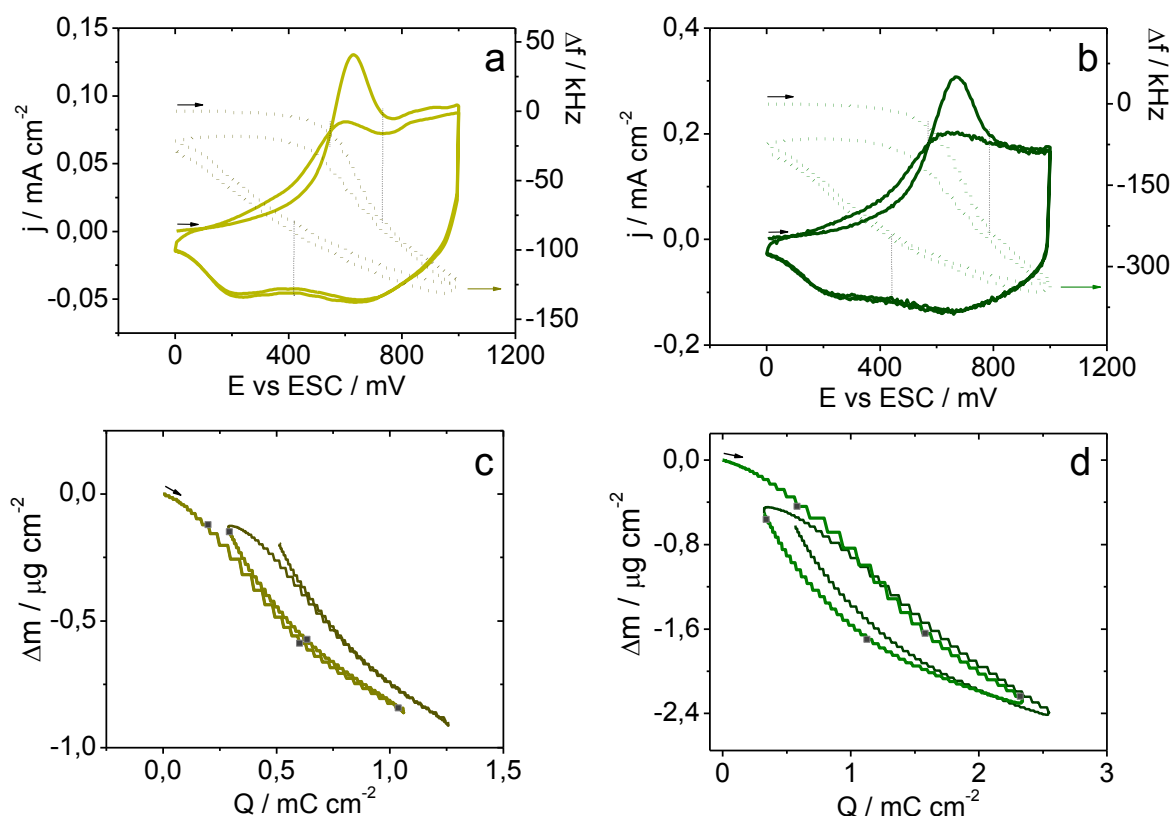


Figura 4.11 - Voltamogramas cíclicos (—) e respectiva variação de frequência (- - -) em função do potencial da caracterização dos filmes P(3-MeT) com diferentes cargas de crescimento (a) (—) $Q_g = 15,2 \text{ mC cm}^{-2}$ e (b) (—) $Q_g = 37,5 \text{ mC cm}^{-2}$, (c e d) variação de massa em função da carga; $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ de TBAClO_4 em ACN, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Na tabela 4.3 encontram-se os dados obtidos a partir dos voltamogramas cíclicos e da variação de frequência incluídos na figura 4.11. Os valores de carga de oxidação, $Q_{ox.}$, dos filmes analisados são inferiores ao valor máximo referido por Hillman *et al.* [26] para os quais os filmes de P(3-MeT) não apresentam efeitos de viscoelasticidade (comportamento de camada fina). Nestas condições, usando a anteriormente citada equação de Sauerbrey são estimados os valores de variação de massa envolvida nos processos de oxidação e redução, Δm , e estes são contrastados com os valores calculados, $\Delta m_{calc.}$, com base na carga de oxidação dos filmes. Assume-se que por cada carga positiva desenvolvida na estrutura do polímero é requerido um contra-íão (neste caso ClO_4^-) para a sua compensação, de acordo com o esquema da conversão redox do P(3-MeT) proposta na literatura e ilustrada na figura 4.9.

Tabela 4.3 - Valores de carga, Q , variação de frequência, Δf , variação de massa, Δm , e massa molecular das espécies móveis nos filmes de P(3-MeT).

Q_g / $mC\ cm^{-2}$	$Q_{ox.}$ / $mC\ cm^{-2}$	$Q_{red.}$ / $mC\ cm^{-2}$	$\Delta f_{ox.}$ / kHz	$\Delta f_{red.}$ / kHz	$\Delta m_{ox.}$ / $\mu g\ cm^{-2}$	$\Delta m_{red.}$ / $\mu g\ cm^{-2}$	$\Delta m_{ox.}\ Calc.$ / $\mu g\ cm^{-2}$	M_M / $g\ mol^{-1}$
15,2	1,0	0,8	-0,122	0,103	0,8	-0,7	1,1	77,2
37,5	2,3	2,0	-0,322	0,259	2,2	-1,8	2,4	93,2

Q – carga de crescimento (g), oxidação (ox.) e redução (red.); Δf - variação de frequência durante a oxidação (ox.) e redução (red.); Δm - variação de massa estimada na oxidação (ox.) e redução (red.) e variação de massa calculada a partir da $Q_{ox.}$ (ox.calc.), M_M – massa molecular das espécies móveis que entram/saem do filme.

Da análise dos valores de variação de massa ($\Delta m_{ox.}$ e $\Delta m_{ox.calc.}$), verifica-se que a quantidade de massa incorporada no filme durante a oxidação se afasta do valor calculado, que apenas tem em conta a electroneutralidade do filme. Este balanço de massa negativo mostra que o processo de dopagem é acompanhado pela expulsão de solvente do interior do filme, igualmente observado para o octiltiofeno [34]. A massa molecular, M_M , das espécies móveis por unidade de carga de oxidação, $Q_{ox.}$, é estimada usando a equação 4.1 [34]:

$$\Delta m_{ox.} = M_M \frac{Q_{ox.}}{nF} \quad \text{Eq. 4.1}$$

onde $\Delta m_{ox.}$ é a variação de massa estimada durante a oxidação ($g\ cm^{-2}$), M_M a massa molecular das espécies móveis ($g\ mol^{-1}$), $Q_{ox.}$ é a carga de oxidação do filme ($C\ cm^{-2}$), n é o número de electrões e F a constante da Faraday ($96485\ C\ mol^{-1}$).

Embora com o filme mais grosso a massa molecular das espécies móveis seja mais próxima da do contra-íon do electrólito de suporte ($M_M \text{ClO}_4^- = 99,45 \text{ g mol}^{-1}$), o espessamento do polímero introduz problemas de cálculo devido à complexidade dos fluxos de espécies que acompanham os processos de dopagem e de-dopagem. Uma análise mais detalhada da variação de massa por unidade de carga representada pela equação 4.1 e ilustrada na figura 4.11 (c e d) mostra que o processo de dopagem/de-dopagem é complexo. No filme mais fino ($Q_g = 15,2 \text{ mC cm}^{-2}$), essencialmente constituído pela camada compacta depositada na fase inicial do crescimento do P(3-MeT), o primeiro segmento linear que acompanha o pico de oxidação, tem um declive de $1,16 \text{ mg C}^{-1}$, que corresponde a uma M_M efectiva de espécies móveis de 112 g mol^{-1} , e indica que ocorre entrada de solvente em simultâneo com a inclusão de aniões, para a compensação da carga induzida no interior do filme denso. Após o pico de oxidação a dopagem prossegue com rearranjos na camada polimérica. Fluxos de massa em sentido oposto resultam num balanço ($M_M = 56 \text{ g mol}^{-1}$) inferior à do ClO_4^- , possivelmente devido a dificuldade de acomodar simultaneamente no interior do filme os aniões dopantes e o solvente. Na gama de valores de potencial a que ocorre o primeiro pico de redução, a de-dopagem é acompanhada da diminuição de massa, correspondente a espécies móveis com cerca de 60 g mol^{-1} . A saída de iões dopantes e de solvente durante o segundo pico de redução é reflectida na M_M das espécies móveis que deixam do filme (127 g mol^{-1}). A ausência de histerese entre a oxidação e redução do P(3-MeT) mostra que os processos envolvidos na dopagem do filme encontram a sua contra-partida nos dois picos de redução. No filme mais espesso, onde provavelmente haverá a formação de uma segunda camada, observa-se um comportamento semelhante embora seja observada histerese. Neste caso, possivelmente devido à espessura do polímero a de-dopagem é retardada. A maior porosidade e rugosidade dos filmes crescidos a potencial constante evidenciada pelos resultados electroquímicos e microscópicos anteriormente discutidos e o conseqüente decréscimo da densidade do polímero com o aumento da espessura, permite acomodar mais facilmente os contra-íões do electrólito de suporte e moléculas de solvente no seu interior.

Poli(3,4-etilenodioxitiofeno)

Tal como para o P(3-MeT), a formação de filmes com diferentes morfologias tem também sido reportada para o poli(3,4-etilenodioxitiofeno) (PEDOT), nomeadamente pela variação das condições de electropolimerização como o electrólito de suporte na solução de polimerização, número de ciclos de potencial, potencial de limite anódico e carga de crescimento [14, 22, 29, 35-37].

No presente estudo, a electropolimerização do 3,4-etilenodioxitiofeno (EDOT), derivado do tiofeno com um substituinte 3,4-dioxietileno (anel heterocíclico) nas posições 3 e 4 (figura 4.12), seguiu as condições estabelecidas no Grupo de Electroquímica Interfacial, onde este trabalho foi realizado, e que se encontram reportadas na tese de doutoramento de Ana Melato [38] e na literatura [29, 39].

Neste caso, usa-se uma solução contendo $0,020 \text{ mol dm}^{-3}$ de EDOT e $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TBAClO_4 em ACN, $E_g = 1,20 \text{ V}$, $Q_g = 30 \text{ mC cm}^{-2}$ (crescimento a potencial constante) e E entre $-0,8 \text{ V}$ e $E_{\text{la}} (1) = 1,18 \text{ V}$ (5 ciclos), $E_{\text{la}} (2) = 1,16 \text{ V}$ (3 ciclos) e $E_{\text{la}} (3) = 1,15 \text{ V}$ (22 ciclos) a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$ (varrimentos cíclicos de potencial).

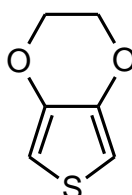


Figura 4.12 - Representação esquemática da molécula de monómero: 3,4-etilenodioxitiofeno.

O mecanismo de electropolimerização do EDOT é semelhante ao de outros monómeros derivados do tiofeno com anéis heterocíclicos como o 3-MeT [15, 19]. A oxidação do monómero tem lugar a valores de potencial elevados ($E > 0,9 \text{ V}$). Nos perfis corrente-potencial da polimerização potenciodinâmica, é detectado, ao E_{la} , o cruzamento de corrente característico do primeiro ciclo [14-, 15, 16], e com o número de ciclos de potencial, aumenta a intensidade de corrente de oxidação ao E_{la} que evidencia um crescimento catalisado pelo próprio polímero [15, 16]. Este processo auto-catalítico, traduzido pelo aumento da densidade de corrente ao E_{la} , detectado na electropolimerização potenciodinâmica do 3-MeT, é igualmente observado para o EDOT

por Aubert *et al.* [18], na presença de diversos aniões (ClO_4^- , BF_4^- , PF_6^- , CF_3SO_3^-). Na electropolimerização a potencial constante são observadas zonas distintas de nucleação e crescimento [22, 40], que podem ser correlacionadas com as referidas para o 3-MeT [20, 21].

À semelhança do verificado para o P(3-MeT), através do controlo das condições de síntese é possível obter filmes, preparados sob diferentes regimes de electropolimerização (por ciclos de potencial e a potencial constante), com electroactividade semelhante e morfologia distinta. A resposta electroquímica dos filmes de PEDOT em solução isenta de monómero apresenta um pico anódico e duas ondas catódicas, que correspondem aos processos de oxidação (dopagem) e redução (de-dopagem) do filme [22, 29]. A origem da assimetria (histerese) dos processos redox no PEDOT (e noutros polímeros condutores) não se encontra perfeitamente estabelecida. Estudos realizados por *AFM (in-situ)* e elipsometria [29, 41], demonstram que o crescimento do filme de PEDOT compreende a formação de uma primeira camada mais densa e homogénea, seguida da deposição de uma segunda, menos densa e porosa. Assim, é geralmente aceite que a primeira onda catódica, corresponde à redução e saída de aniões da camada mais externa do filme, que sendo mais porosa facilita o movimento dos iões e a segunda, com origem na redução da camada mais interna - mais compacta - é desviada para valores de potencial mais negativos. A maior intensidade de corrente registada para a onda de redução a valores de potencial mais negativos no filme obtido a potencial constante, revela maior impedimento ao processo de de-dopagem da camada mais interna (compacta) deste polímero [29]. De facto, a caracterização morfológica por *AFM ex situ* dos filmes de PEDOT, confirma a presença de um filme polimérico mais compacto, obtido a potencial constante, do que o formado por varrimentos cíclicos de potencial [39].

Em oposição ao detectado para o P(3-MeT), o PEDOT apresenta superfícies rugosas [29, 35, 37]. No filme preparado potenciodinamicamente são observadas estruturas fibrilares, enquanto aquele obtido a potencial constante é caracterizado pela formação de agregados de pequenos grãos [39]. Valores reportados de rugosidade *rms* de $R_q = 100$ e 55 nm, reforçam as distintas morfologias superficiais destes filmes, muito mais porosos que o

P(3-MeT) e, portanto, a capacidade de deposição de polímeros condutores que mostrando comportamentos electroquímicos comparáveis apresentam áreas superficiais distintas.

4.3. Imobilização de nanopartículas metálicas em polímeros condutores

Politionina

A inserção em filmes poliméricos de nanopartículas metálicas, pré-sintetizadas, tem sido efectuada pela incorporação durante a electropolimerização [42-45] ou através da interacção polímero/NPs [46]. No caso dos polímeros com átomos de enxofre na sua estrutura, como a politionina, é possível, à semelhança do anteriormente discutido para as SAMs funcionalizadas com grupos tiol na interface SAM/solução, tirar partido da presença de S no anel heterocíclico central de cada unidade monomérica na PTN e da interacção Au-S entre o polímero e as nanopartículas. As imagens de SEM da figura 4.13 mostram o electrodo modificado com PTN 80/20 (descarregado a -0,4 V durante 300 s, em solução 0,1 mol dm⁻³ de TF) após imersão numa suspensão coloidal de Au-NPs da amostra A durante 17 horas, onde se observa um pequeno número de Au-NPs imobilizadas (≈ 1 Au-NP μm^{-2}), assinaladas na figura.

A interacção entre o polímero e moléculas de monómero da solução através de ligações S-S, anteriormente referida, conduz ao bloqueio dos átomos de S na estrutura da PTN e reduz o número de locais de interacção com as Au-NPs.

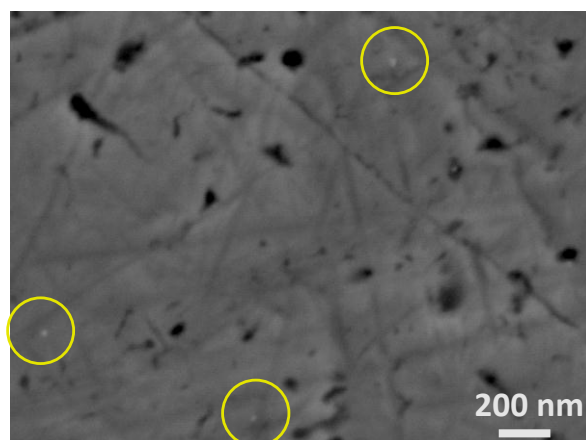


Figura 4.13 - Imagem de SEM do filme PTN 80/20 após imersão na suspensão coloidal de Au-NPs da amostra A, $t_{\text{imersão}} = 17$ h.

Poli(3-metiltiofeno) e Poli(3,4-etilenodioxitiofeno)

No caso dos derivados do tiofeno, a imobilização de Pt-NPs pré-sintetizadas na superfície dos EMs é monitorizada por microbalança de cristal de quartzo (*QCM*). A variação de frequência registada durante o período de imersão do eléctrodo modificado, por P(3-MeT) ($E_g = 1,42 \text{ V}$, $Q_g = 15 \text{ mC cm}^{-2}$, $Q_{ox.} = 1,0 \text{ mC cm}^{-2}$) ou PEDOT ($E_g = 1,20 \text{ V}$, $Q_g = 5 \text{ mC cm}^{-2}$, $Q_{ox.} = 1,3 \text{ mC cm}^{-2}$), na suspensão coloidal de Pt-NPs da amostra B, representada na figura 4.14, é analisada através da equação de Sauerbrey (equação 5.8, capítulo 5). Tendo em conta que a uma variação negativa de frequência de 1 kHz corresponde uma quantidade de massa depositada na superfície do eléctrodo de $7 \mu\text{g cm}^{-2}$, a partir dos dados da figura 4.14, é possível estimar a quantidade de partículas imobilizadas. Assumindo o tamanho médio das Pt-NPs de 3 nm, a massa molecular e o volume da célula unitária da Pt no sistema *fcc* ($V_{fcc}^{Pt} = 0,061 \text{ nm}^3$) e que as nanopartículas se encontram envolvidas por uma camada de iões citrato adsorvidos (considerando cerca de 3 iões por nm^2 e para simplificação de cálculo, que estes se mantêm adsorvidos após imobilização no filme), estima-se que a massa de cada Pt-NP seja cerca de $m_{Pt-NPs} = 3,4 \times 10^{-19} \text{ g}$; da relação entre a área ocupada por cada partícula e a sua massa obtém-se o valor máximo de variação de massa $\Delta m_{max.} = 1,2 \mu\text{g cm}^{-2}$. Após 45 minutos de imersão, o aumento de massa sobre os eléctrodos modificados por P(3-MeT) e PEDOT é respectivamente $0,30$ e $0,39 \mu\text{g cm}^{-2}$, a que corresponde uma cobertura superficial de Pt-NPs de 26 e 35 %.

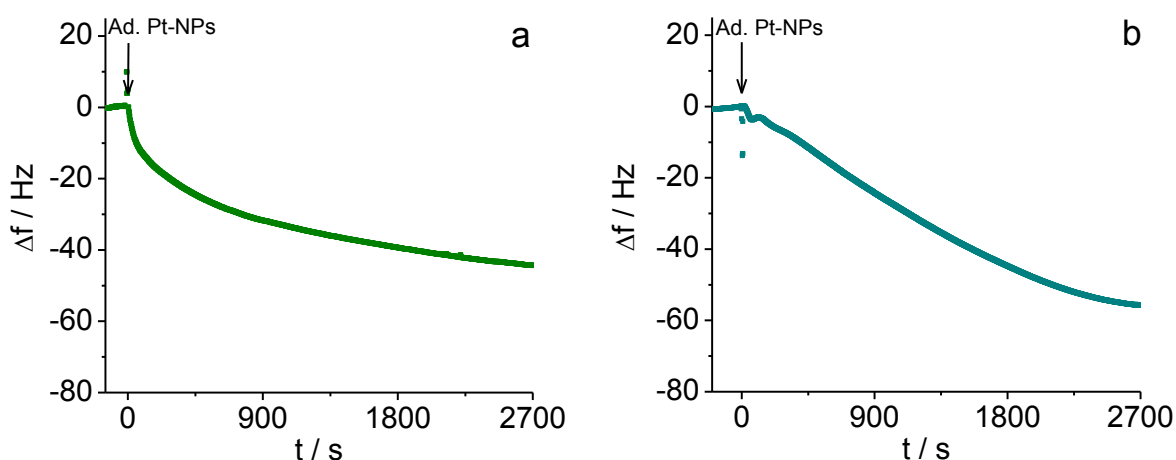


Figura 4.14 - Variação da frequência de oscilação do cristal de quartzo durante a imobilização de Pt-NPs da amostra B nos eléctrodos modificados por (a) P(3-MeT) ($E_g = 1,42 \text{ V}$, $Q_g = 15 \text{ mC cm}^{-2}$, $Q_{ox.} = 1,0 \text{ mC cm}^{-2}$) e (b) PEDOT ($E_g = 1,20 \text{ V}$, $Q_g = 5 \text{ mC cm}^{-2}$, $Q_{ox.} = 1,3 \text{ mC cm}^{-2}$).

Devido às restrições experimentais da *QCM* anteriormente referidas, os filmes usados neste estudo são significativamente mais finos do que os empregues no restante estudo e portanto as distintas morfologia e área superficial activa devem ser tidas em conta na análise dos resultados. No entanto a caracterização por *AFM* dos filmes de P(3-MeT) (figura 4.10) e de PEDOT [29, 35, 37, 39] com electroactividade semelhante ($Q_{ox} \approx 8 \text{ mC cm}^{-2}$) mostra que o PEDOT é mais rugoso do que o P(3-MeT), pelo que é de esperar que os filmes mais finos usados na *QCM* ($Q_{ox} \approx 1 \text{ mC cm}^{-2}$) apresentem idênticas características. Esta hipótese é suportada pela maior quantidade de Pt-NPs imobilizada no PEDOT do que no P(3-MeT) após os 45 minutos de imersão, embora a cinética do processo de adsorção seja significativamente distinta nos dois filmes (no PEDOT ocorre um aumento linear de massa até cerca de 1800 s, enquanto no P(3-MeT) observa-se um aumento inicial acentuado até cerca de 200 s).

Devido às reduzidas dimensões das Pt-NPs da amostra B ($\varnothing \approx 3 \text{ nm}$) não foi possível detectar a sua deposição nos eléctrodos modificados por P(3-MeT) e PEDOT nas imagens de *SEM*. Pelo mesmo motivo também não foi possível observar as Au-NPs pré-sintetizadas com $\varnothing \approx 5 \text{ nm}$ (amostra B) imobilizadas naqueles filmes. A evidência da imobilização das Pt- e Au-NPs ($\varnothing \approx 3\text{-}5 \text{ nm}$) é ilustrada para o filme de PEDOT nos voltamogramas cíclicos da figura 4.15.

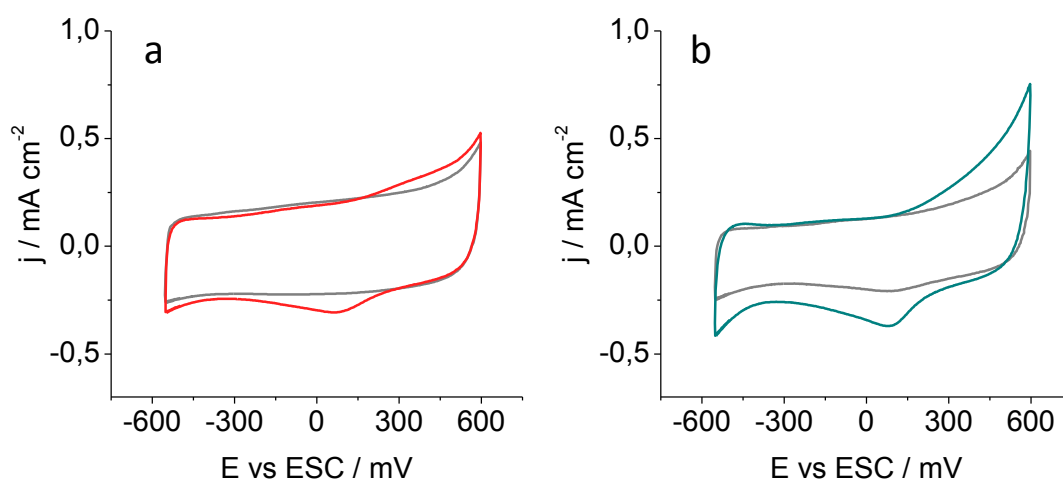


Figura 4.15 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos eléctrodos modificados (a) PEDOT/Au-NPs - amostra B e (b) PEDOT/Pt-NPs - amostra B após imersão durante 5 h; solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7) e $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A figura 4.16 ilustra o resultado da análise por DRX (Difracção de raios-X), que mostra o confinamento das nanopartículas de Au ($\varnothing \approx 15$ nm, amostra A) no P(3-MeT). Neste caso o filme usado é espesso ($E_g = 1,42$ V e $Q_g = 160$ mC cm⁻²) para minimizar a contribuição do substrato. Após imersão numa suspensão coloidal de Au-NPs da amostra A durante 17 horas, o pico de difracção a cerca de 77,62° correspondente ao plano (311) é muito menos intenso do que o detectado para as Au-NPs da amostra A sobre silício (figura 2.6 (a), capítulo 2), e o pico de difracção do plano (220), embora seja detectado na ficha de resultados a 64,79°, não é visível no difractograma, muito possivelmente devido à intensa contribuição do substrato de platina. O sinal do plano (200) também não se observa, o que pode estar relacionado com a orientação das Au-NPs quando imobilizadas na matriz polimérica. O pico a cerca de 38,14°, intenso e bem definido, confirma que a superfície das Au-NPs no compósito é preferencialmente orientada segundo o plano cristalográfico (111). No filme de PEDOT o resultado é semelhante [39].

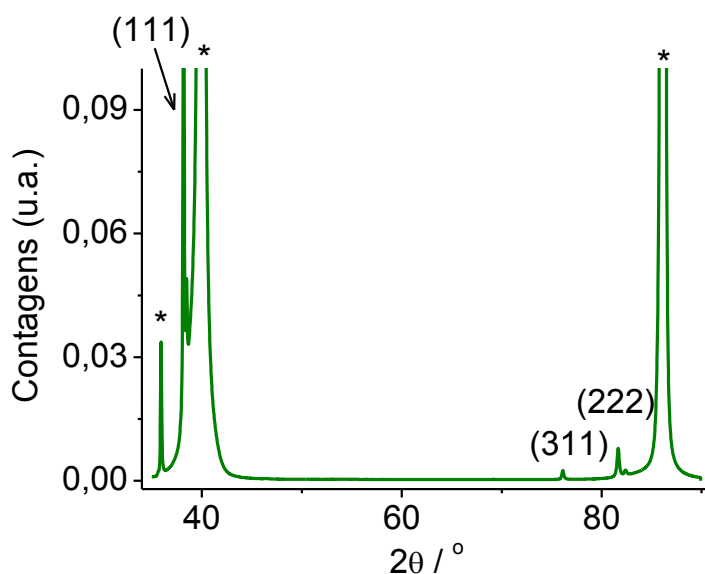


Figura 4.16 - Diffractograma de raios-X do EM com P(3-MeT)/Au-NPs. Polímero formado a potencial constante com $E_g = 1,42$ V, $Q_g = 160$ mC cm⁻² e imerso na suspensão coloidal de Au-NPs da amostra A ($\varnothing \approx 15$ nm) durante 17 h; linhas de difracção do substrato indicadas com asterisco; tempo por degrau 5,000 s e degrau de $2\theta = 0,010^\circ$.

No sentido de verificar o efeito da morfologia do polímero na quantidade e distribuição das nanopartículas, analisam-se por SEM os filmes de P(3-MeT), crescidos potencioestática e potenciodinamicamente, com Au-NPs da amostra A. As imagens representadas na figura 4.17 (a e b) revelam que após 5 horas de imersão há uma maior quantidade de partículas

dispersas na superfície do P(3-MeT) obtido a potencial constante ($\approx 11 \text{ Au-NPs } \mu\text{m}^{-2}$) do que naquele formado por ciclos de potencial ($\approx 3 \text{ Au-NPs } \mu\text{m}^{-2}$), o que está de acordo com a menor rugosidade do segundo filme observada por *AFM* (figura 4.10). No entanto, para além de efeitos morfológicos, a diferente quantidade de Au-NPs depositadas deve-se à presença de átomos de enxofre à superfície do filme; aparentemente durante os ciclos de potencial na preparação do P(3-MeT) os rearranjos estruturais conduzem a uma menor disponibilidade dos átomos de S. A figura 4.17 (c) mostra o confinamento das Au-NPs na superfície do PEDOT; neste filme observa-se uma grande quantidade de partículas ($> 700 \text{ Au-NPs } \mu\text{m}^{-2}$), homogeneamente distribuídas, após cerca de 2 horas de imersão. Apesar das distintas morfologias reportadas para os filmes de PEDOT preparados sob condições potencioestáticas e potenciodinâmicas [29], a quantidade e distribuição de Au-NPs não é afectada; estas depositam-se tanto sobre as fibras mais finas como sobre os grãos de maiores dimensões. Estes resultados mostram que o P(3-MeT) apresenta menor capacidade para a imobilização de partículas do que o PEDOT. Neste caso, desde que átomos de enxofre estejam disponíveis à superfície dos filmes não se observa qualquer efeito significativo da morfologia do PEDOT.

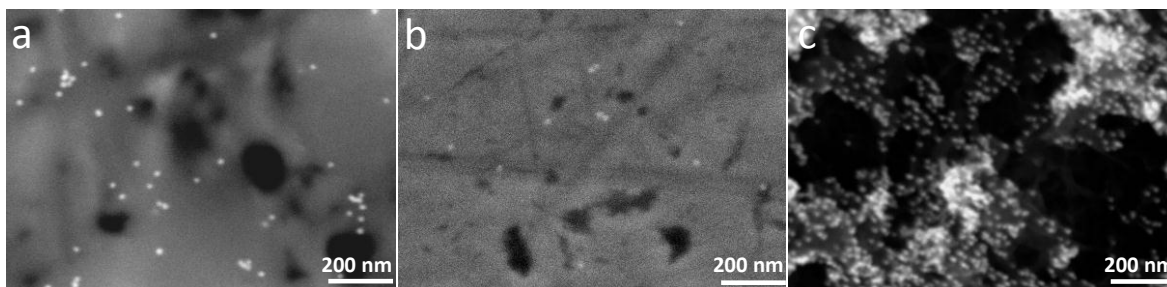


Figura 4.17 - Imagens de *SEM* dos electrodos modificados por filmes de P(3-MeT) crescidos (a) a potencial constante ($E_g = 1,42 \text{ V}$ e $Q_g = 90 \text{ mC cm}^{-2}$) e (b) por ciclos de potencial ($E_{la} = 1,45 \text{ V}$, 7 ciclos a 50 mV s^{-1}) e (c) PEDOT formado a potencial constante ($E_g = 1,2 \text{ V}$ e $Q_g = 30 \text{ mC cm}^{-2}$), após imersão na suspensão coloidal de Au-NPs da amostra A durante (a) 5 h e (b) 2 h.

Como se ilustra nas imagens de *SEM* da figura 4.18, a presença de surfactante adsorvido na superfície das Au-NPs afecta a quantidade e distribuição na superfície do P(3-MeT). Na presença de CTAB, as Au-NPs cúbicas da amostra C, imobilizam-se no filme juntamente com uma grande quantidade de surfactante, em aglomerados depositados sobre o polímero (figura 4.18 (a e a')) e não se distinguem partículas individualizadas em contacto

directo com a superfície do polímero. Com a adição de NaOH ($0,03 \text{ mol dm}^{-3}$) à suspensão coloidal observam-se partículas distribuídas sobre o filme (figura 4.18 (b e b')); embora ainda seja detectável a presença de CTAB. A remoção do surfactante da suspensão coloidal e consequente agregação das Au-NPs conduz à imobilização das partículas da amostra C' na forma de pequenos agregados, figura 4.18 (c e c').

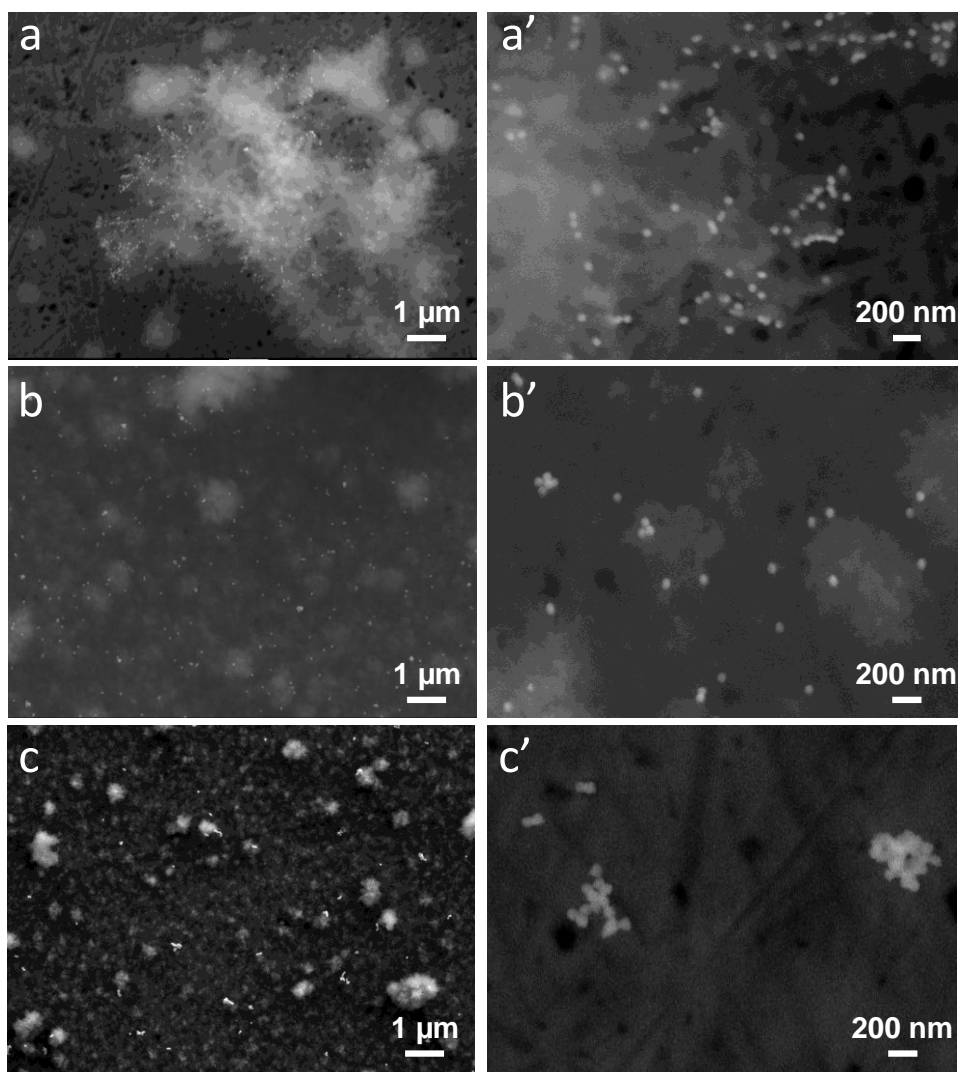


Figura 4.18 - Imagens de SEM dos eléctrodos modificados (a e a') P(3-MeT)/Au-NPs amostra C, (b e b') P(3-MeT)/Au-NPs amostra C com NaOH $0,03 \text{ mol dm}^{-3}$ e (c e c') P(3-MeT)/Au-NPs amostra C' (sem surfactante), $t_{\text{imersão}} = 17 \text{ h}$; barra de escala (a-c) $1 \mu\text{m}$ e (a'-c') 200 nm .

4.4. Aplicações dos electrodos modificados

4.4.1. Avaliação do desempenho como sensores electroquímicos

Em soluções pouco concentradas de ácido L-(+)ascórbico (AA, $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$), a sua oxidação em EM com PTN 80/20, ilustrada na figura 4.19 (a), tem início a valores de potencial superiores a cerca de $0,10 \text{ V}$. O uso de soluções mais concentradas de AA (10 mmol dm^{-3}) mostra um aumento da corrente de oxidação a cerca de 0 V . No entanto, a electroactividade da PTN é significativamente afectada; a corrente anódica correspondente á oxidação do filme é bloqueada e a resposta do polímero na solução de electrólito, após contacto com a solução mais concentrada de AA, apresenta num perfil muito distinto daquele obtido após polimerização, no qual não se detectam os processos de oxidação nem de redução do filme, figura 4.19 (a). A presença das poucas nanopartículas imobilizadas por imersão na suspensão contendo as Au-NPs da amostra A, não favorece a resposta electroquímica; pelo contrário, a corrente de oxidação do AA e a electroactividade do filme diminuem com o tempo de imersão.

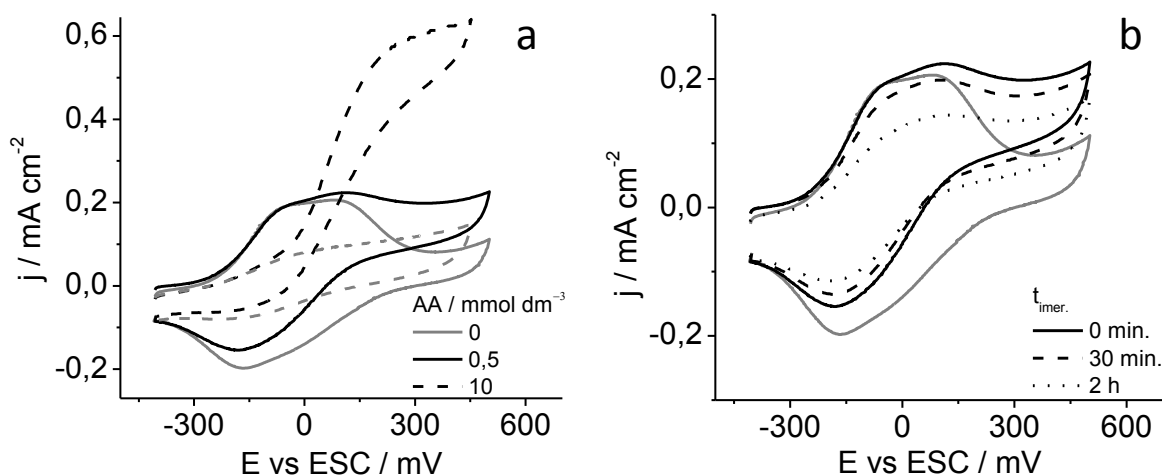


Figura 4.19 - Voltamogramas cíclicos da caracterização de (a) PTN 80/20 em solução de electrólito ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF) antes (—) e após (---) caracterização em solução com AA 10 mmol dm^{-3} , e em soluções contendo AA: $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ (—) e 10 mmol dm^{-3} (---) e (b) PTN 80/20/Au-NPs (A) em AA $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$, imersão durante 0 min. (—), 30 min. (---) e 2 h (---); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Após imersão numa suspensão contendo as Au-NPs da amostra G(2), estabilizadas por CTAB, a caracterização em meio neutro ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF) na ausência e na presença de AA $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$, revela que o filme perde a sua electroactividade, figura 4.20 (a). A ausência dos processos de oxidação e redução da PTN, indica que o contacto com a suspensão contendo CTAB afecta a resposta electroquímica do filme, muito possivelmente devido à compensação de carga pelos iões brometo (pequenos e com elevada densidade de carga) que inibem os processos de conversão redox do filme. No entanto este efeito é reversível como se ilustra na figura 4.20 (b); após cerca de 25 ciclos de potencial numa solução $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 , o perfil voltamétrico característico da PTN neste meio é parcialmente recuperado.

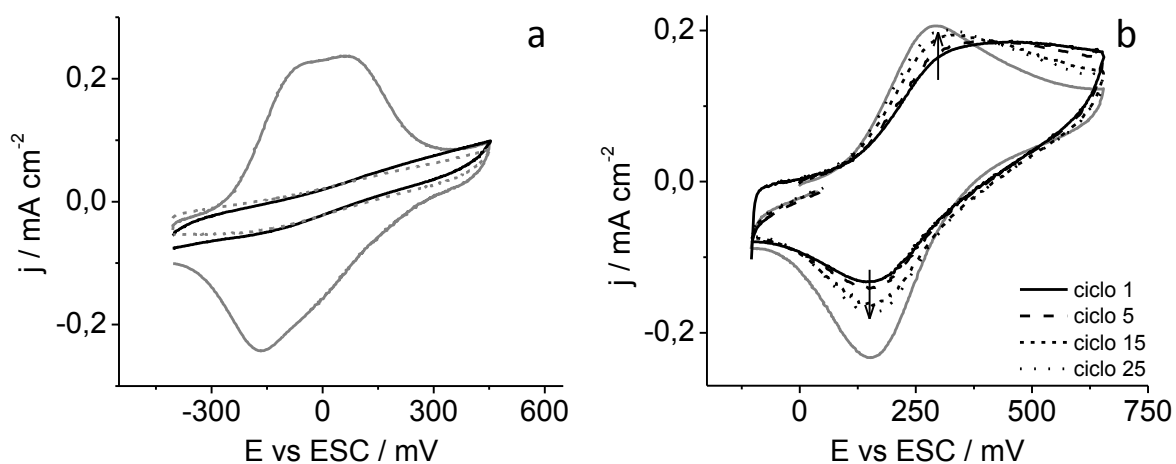


Figura 4.20 - Voltamogramas cíclicos da caracterização do EM PTN 80/20 / Au-NPs amostra G(2) em solução de electrólito (a) $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF: antes (—) e após (---) imersão na suspensão de CTAB/Au-NPs amostra G(2) e AA $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ (—) e (b) $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 antes (—) e após (—) imersão na suspensão de CTAB/Au-NPs ao fim de vários ciclos de potencial; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Os resultados obtidos, usando Au-NPs estabilizadas por iões citrato ou CTAB, mostram que este polímero não se adequa à posterior modificação com Au-NPs pré-formadas, nem à avaliação do efeito das Au-NPs nas propriedades dos eléctrodos modificados por polímeros contendo átomos de S na sua estrutura, nem ao estudo da oxidação do AA nestes eléctrodos modificados.

O P(3-MeT) na presença das espécies electroactivas AA e dopamina (DA) em solução apresenta as respostas electroquímicas ilustradas pelos voltamogramas da figura 4.21. No P(3-MeT), o início da oxidação do AA e o pico anódico ocorrem cerca de 25 e 60 mV, respectivamente, desviados para valores de potencial mais negativos em relação ao

observado no eléctrodo de platina, e o pico é mais intenso no EM com o polímero, possivelmente devido ao aumento da área superficial, figura 4.21 (a); no EM por P(3-MeT)/Pt-NPs (amostra B), o início da oxidação e o pico anódico são deslocados para valores de potencial mais positivos (≈ 60 - 70 mV em relação à resposta no P(3-MeT)). A presença de Pt-NPs da amostra B depositadas na superfície da matriz polimérica não favorece a resposta electroquímica.

O comportamento do P(3-MeT)/Pt-NPs em solução contendo DA, ilustrada na figura 4.21 (b), mostra que a oxidação tem início a cerca de 90 mV com o pico de oxidação a 215 mV; uma resposta semelhante observa-se nos eléctrodos de platina e no P(3-MeT). Assim, os EMs com o composto P(3-MeT)/Pt-NPs não demonstram apresentar vantagens para a aplicação como sensores destas espécies.

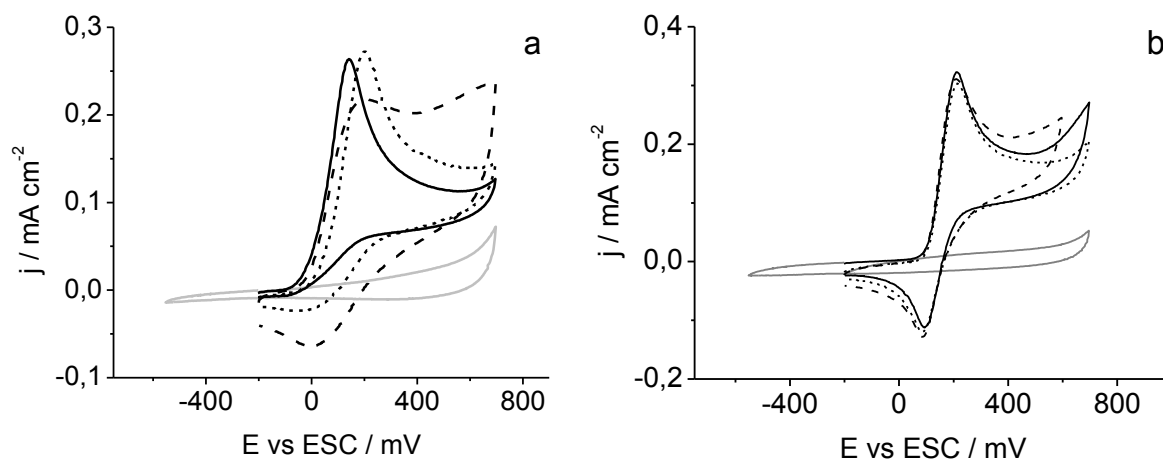
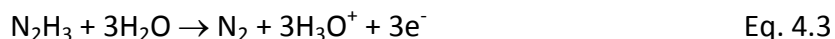


Figura 4.21 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos EMs com P(3-MeT) em solução com (a) $0,5 \text{ mmol dm}^{-3}$ de AA, antes (—) e (---) após imobilização de Pt-NPs da amostra B e (b) 1 mmol dm^{-3} de DA, antes (—) e (---) após imobilização de Pt-NPs da amostra B, e comparação com resposta da Pt no mesmo meio (---) e com a do filme (—) na solução de electrólito $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

4.4.2. Avaliação da actividade electrocatalítica para a oxidação da Hidrazina

As propriedades electrocatalíticas de materiais compósito formados com base em polímeros condutores e partículas metálicas é reconhecida [47, 48]. A actividade electrocatalítica para a oxidação da hidrazina (HZ) nos EMs por P(3-MeT)/NPs e PEDOT/NPs é relevante nomeadamente devido à importância desta molécula para a indústria química e farmacêutica [49, 50]. É geralmente aceite que na gama de valores de pH entre 5 e 10 a

oxidação irreversível da HZ ($pK_a = 7,9$ [49]) ocorre em dois passos [49, 50] de acordo com as equações 4.2 e 4.3; o primeiro passo, determinante da velocidade da reacção, envolve a transferência de um electrão e o segundo três electrões, de que resulta o N_2 como produto final.



A figura 4.22 ilustra a resposta voltamétrica dos eléctrodos limpos e dos polímeros P(3-MeT) e PEDOT na presença de HZ em meio aquoso ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF, pH 7).

A significativa actividade electrocatalítica da platina reportada na literatura [51] é igualmente verificada quando comparada com a resposta do eléctrodo de ouro (figura 4.22 (a)); o início da oxidação ocorre a valores de potencial mais negativos e maior densidade de corrente é obtida no eléctrodo de Pt. No EM com PEDOT observa-se um comportamento semelhante e o filme preparado sob condições potencioestáticas apresenta melhor resposta electroquímica (figura 4.22 (b)). Por outro lado, o P(3-MeT) é inactivo para a reacção em estudo até cerca de 0,6 V (figura 4.22 (b)), o que o torna adequado para a análise por voltametria cíclica da resposta electrocatalítica dos compósitos e a sua dependência dos parâmetros experimentais.

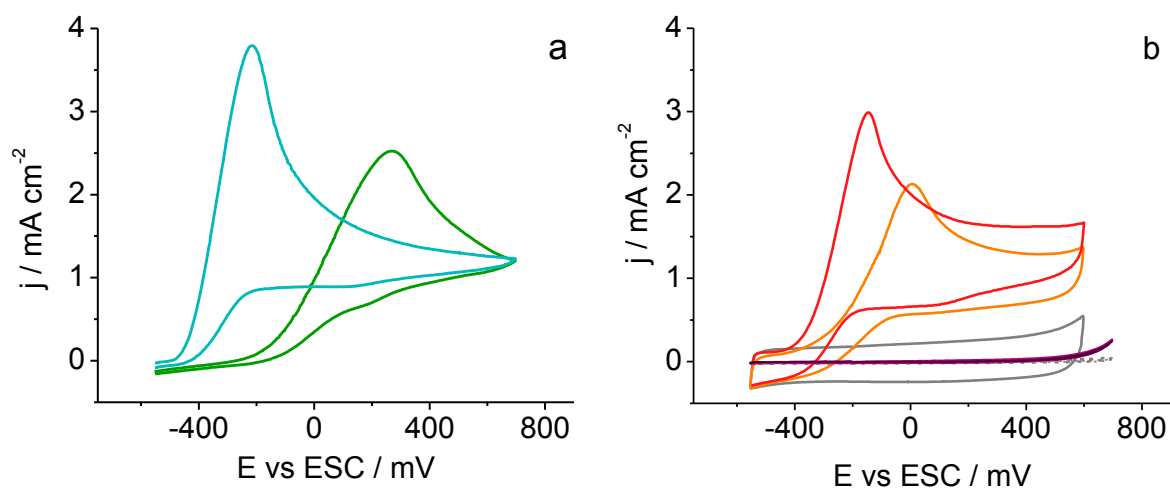


Figura 4.22 - Voltamogramas cíclicos dos eléctrodos policristalinos (a) de Au (—) e Pt (—) e dos EMs (b) com PEDOT (preparado potencioestaticamente, $E_g = 1,20 \text{ V}$, $Q_g \approx 28 \text{ mC cm}^{-2}$) (—); PEDOT (crescido potenciodinamicamente, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, 30 ciclos) (—); P(3-MeT) (depositado a potencial constante, $E_g = 1,42 \text{ V}$, $Q_g \approx 90 \text{ mC cm}^{-2}$) (—); P(3-MeT) (preparado potenciodinamicamente, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, 7 ciclos) (—), a $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$, numa solução contendo 6 mmol dm^{-3} de HZ e (—) comparação com a resposta dos filmes em solução de electrólito ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF).

Após imersão dos eléctrodos modificados com P(3-MeT), preparado sob condições potencioestáticas ($E_g = 1,42$ V e $Q_g = 90$ mC cm⁻²), numa suspensão coloidal de Au-NPs da amostra B durante 5 horas, a resposta electroquímica, apresentada na figura 4.23, mostra as distintas propriedades do material compósito em relação às do polímero na presença de hidrazina. A oxidação da HZ tem início a cerca de -60 mV e o pico de oxidação intenso ocorre a 0,23 V, ou seja, cerca de 0,04 V deslocado para valores de potencial menos positivos do que no eléctrodo de Au policristalino (figura 4.22 (a)). O sobrepotencial para a oxidação da HZ no compósito P(3-MeT)/Au-NPs (amostra B), quando o filme é crescido a potencial constante, é cerca de 0,30 mV inferior ao observado no filme formado por ciclos de potencial ($E_{la} = 1,45$ V, 7 ciclos a 50 mV s⁻¹) (figura 4.23). A maior rugosidade do filme de P(3-MeT) preparado a potencial constante (figura 4.10) e a quantidade de partículas de Au depositadas, demonstrada pelas imagens de SEM (figura 4.17) para as Au-NPs da amostra A, são responsáveis pelo comportamento electroquímico distinto destes EMs.

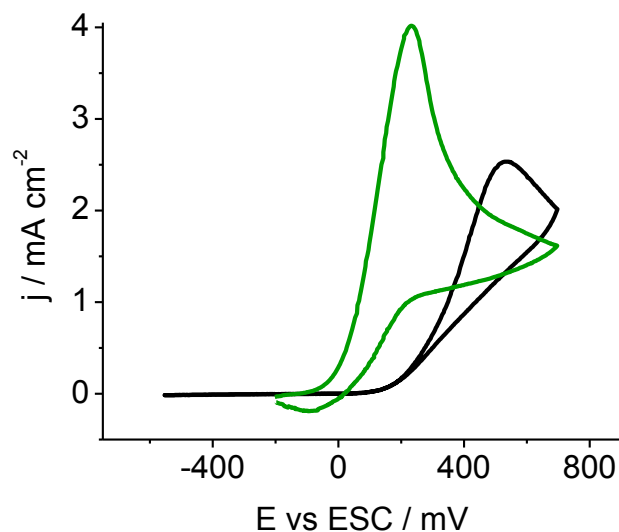


Figura 4.23 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos EMs P(3-MeT)/Au-NPs da amostra B ($\varnothing = 5$ nm) obtidos por imersão em suspensões coloidais recentemente preparadas durante 5 h; os filmes de P(3-MeTh) preparados a potencial constante com $E_g = 1,42$ V e $Q_g \approx 90$ mC cm⁻² (—) e por ciclos de potencial com $E_{la} = 1,45$ V, 7 ciclos a 50 mV s⁻¹ (—), em solução 6 mmol dm⁻³ de HZ em $0,1$ mol dm⁻³ de TF, a $\nu = 50$ mV s⁻¹.

A figura 4.24 ilustra o efeito do tamanho e natureza das partículas (figura 4.24 (a) e (b)), da cobertura superficial, considerando que esta aumenta com o tempo de imersão na suspensão coloidal (figura 4.24 (c)) e do uso de partículas recentemente preparadas ou com mais de 3 semanas (figura 4.24 (d)).

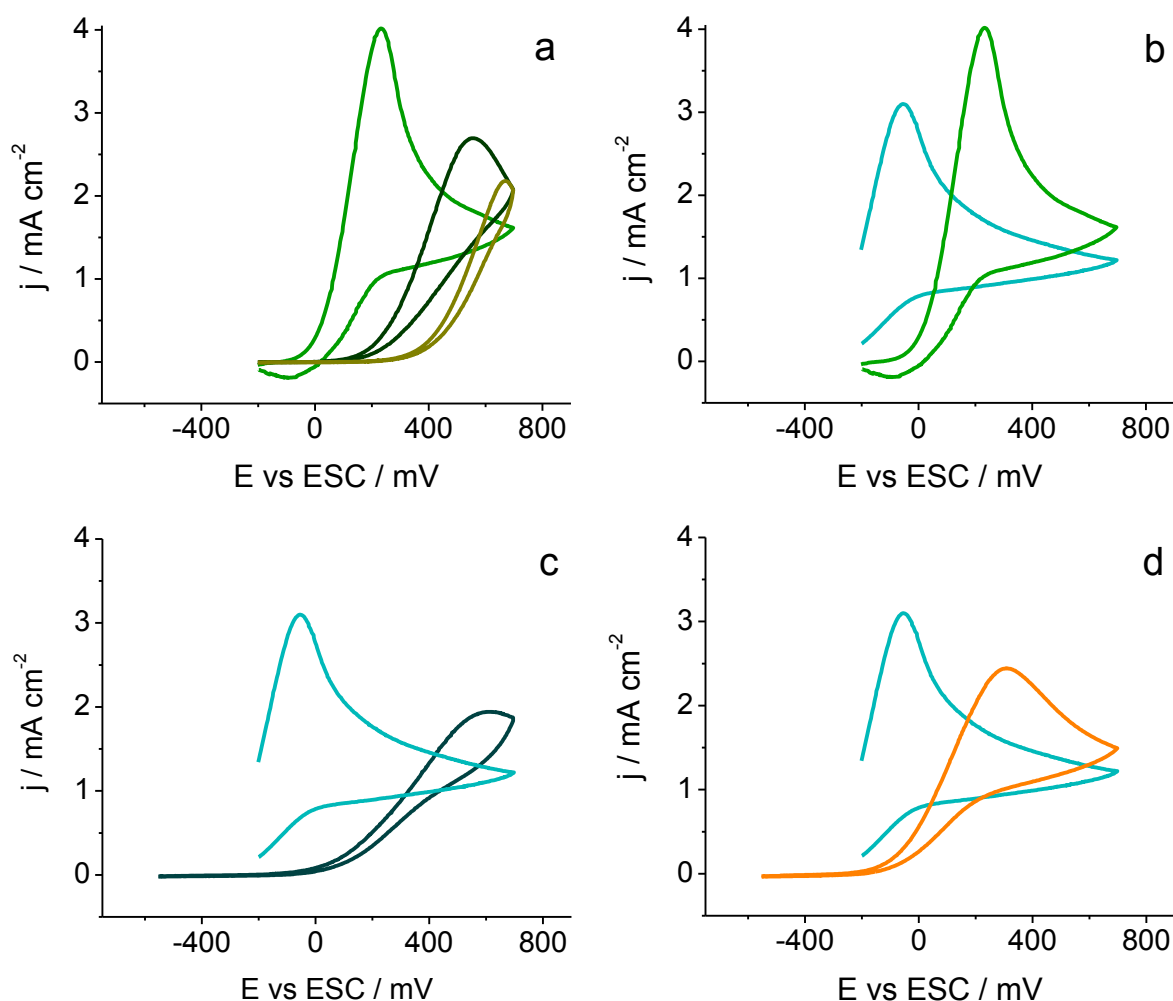


Figura 4.24 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos EMs P(3-MeT)/NPs obtidos por imersão em suspensões coloidais recentemente preparadas de: Au-NPs esféricas das amostras (—) A ($\varnothing = 15$ nm, 5h) e (—) B ($\varnothing = 5$ nm, 5h), cúbicas da amostra C' ($\varnothing_{\text{cubos}} = 42$ nm, 17h) (—), Pt-NPs da amostra B com $\varnothing = 3$ nm (—) (5h), (—) (25 min.) e (—) Pt-NPs envelhecidas (5h), em solução 6 mmol dm^{-3} de HZ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF, a $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Os filmes de P(3-MeT) preparados a potencial constante com $E_g = 1,42 \text{ V}$ e $Q_g \approx 90 \text{ mC cm}^{-2}$.

Os dados da tabela 4.4, obtidos a partir dos voltamogramas das figuras 4.22 (a) e 4.24, permitem inferir as condições adequadas para a preparação destes eléctrodos modificados:

(i) a diminuição do tamanho das Au-NPs de cubos de 42 nm (amostra C') para esferas de 15 nm (amostra A) leva à diminuição do sobrepotencial de cerca de 0,115 V e a um incremento de corrente de 20 %;

(ii) a substituição das Au-NPs esféricas da amostra A (15 nm) pelas de 5 nm da amostra B conduz ao deslocamento do potencial do pico de oxidação para menos de metade e ao

aumento da corrente do pico para cerca do dobro, revelando o efeito favorável das Au-NPs de pequenas dimensões, em concordância com o observado na oxidação do AA em matrizes de sol-gel com Au-NPs [52];

(iii) usando nanopartículas de Pt de pequenas dimensões ($\phi = 3$ nm) observa-se um decréscimo muito significativo do potencial de oxidação, aproximadamente 0,285 V, em relação ao obtido com as de Au (5 nm);

(iv) o controlo do tempo de imersão é fundamental, pois de acordo com os resultados da variação de frequência na QCM durante a imobilização das Pt-NPs (figura 4.14 (a)) baixo $t_{\text{imersão}}$ (25 minutos) não garante o máximo de partículas depositadas e não conduz a uma boa resposta electrocatalítica;

(v) o uso de suspensões coloidais recentemente preparadas é importante, visto que aquelas com mais de 3 semanas devem sofrer aglomeração e/ou degradação dos agentes estabilizadores, resultando uma interacção não-específica com os átomos de enxofre do polímero;

(vi) o surfactante que estabiliza as Au-NPs (amostra C), afecta a quantidade e dispersão das partículas imobilizadas (figura 4.18) e a resposta electroquímica do EM, P(3-MeT)/Au-NPs (figura 4.25). Embora maior quantidade de Au-NPs da amostra C sejam imobilizadas no filme na presença de surfactante, o bloqueio da superfície pelo CTAB e o impedimento à formação de interacções Au-S com o polímero conduz a uma fraca resposta electroquímica; o início da oxidação da HZ ocorre a valores de potencial superiores a 0,35 V e observa-se baixa corrente de oxidação sem pico definido até 0,6 V.

Tabela 4.4 - Valores de potencial, E_p , e densidade de corrente, j_{ox} , do pico de oxidação da HZ nos electrodos de Au, Pt e modificados com P(3-MeT)/NPs.

Eléctrodo	Partículas	ϕ / nm	$t_{\text{imersão}}$ / h	E_p / mV	j_{ox} / mA cm ⁻²
Au	---	---	---	270	2,5
Pt	---	---	---	-216	3,8
P(3-MeT) ^o	Au-NPs A	15	5	554	2,7
	Au-NPs B	5	5	232	4,0
	Au-NPs C'	42	17	670	2,2
	Pt-NPs B	3	5	-54	3,1
	Pt-NPs B	3	25 min.	220	2,5
	Pt-NPs B*	3	5	613	1,9

^o - P(3-MeT) crescido a potencial constante ($E_g = 1,42$ V e $Q_g = 90$ mC cm⁻²);

* - Pt-NPs 3 semanas após a sua síntese.

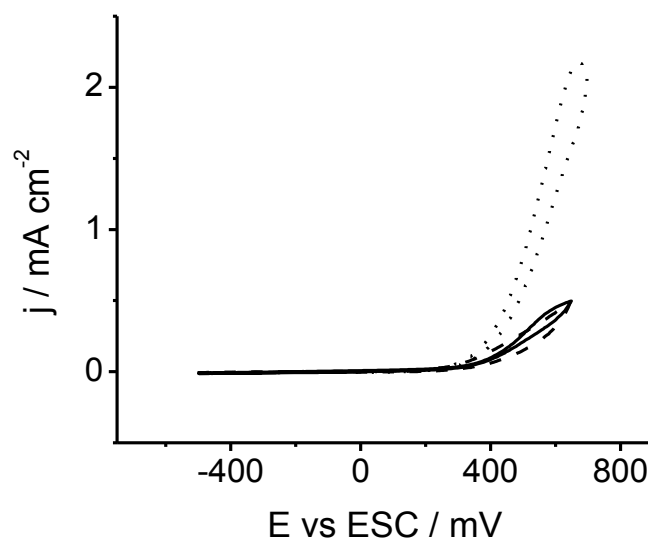


Figura 4.25 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos EMs P(3-MeT)/Au-NPs obtidos por imersão em suspensões coloidais Au-NPs cúbicas da amostra C ($\varnothing_{\text{cubos}} = 42 \text{ nm}$) durante 17 h: (---) estabilizadas com CTAB, (—) com adição de NaOH ($0,03 \text{ mol dm}^{-3}$) e (· · ·) sem surfactante (amostra C'), em solução 6 mmol dm^{-3} de HZ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF, a $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$. Os filmes de P(3-MeT) preparados a potencial constante com $E_g = 1,42 \text{ V}$ e $Q_g \approx 90 \text{ mC cm}^{-2}$.

Estudo cinético da oxidação da HZ em EM por P(3-MeT)/Pt-NPs

No eléctrodo de platina o desvio de potencial do pico de oxidação da HZ, para valores menos negativos com o aumento da concentração (cerca de 225 mV entre 0,2 e 6 mmol dm^{-3}) (figura 4.26 (a)), indica que a formação de maior quantidade de azoto molecular bloqueia a superfície. Em solução $0,2 \text{ mmol dm}^{-3}$ de HZ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7), o deslocamento do pico de oxidação para valores menos positivos com a velocidade de varrimento, para $\nu > 50 \text{ mV s}^{-1}$, e a relação linear entre a corrente anódica e a velocidade de varrimento indicam que é controlada por transferência de massa (figura 4.26 (b)).

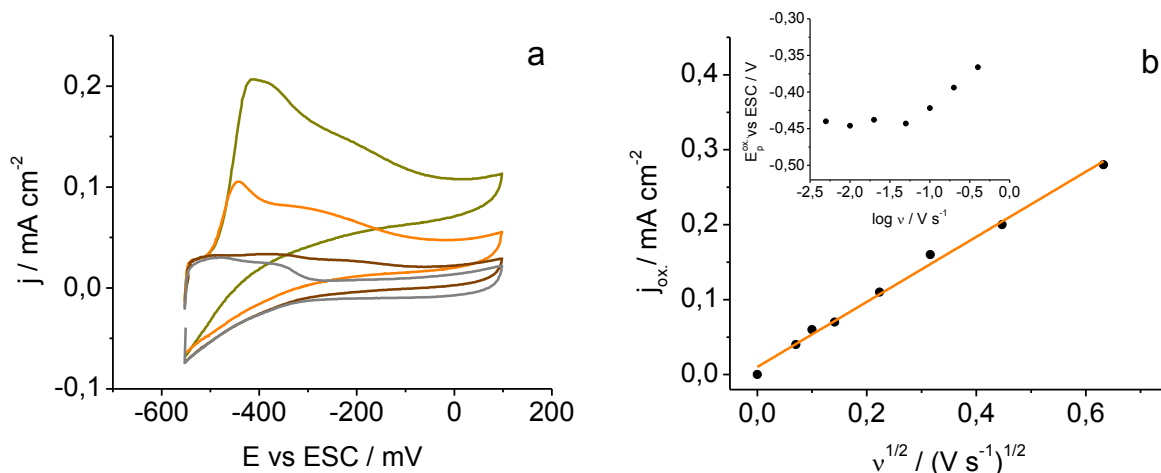


Figura 4.26 - (a) Voltamogramas cíclicos do eléctrodo de Pt em soluções com diferentes concentrações de HZ: (—) 0,1 mmol dm⁻³, (—) 0,2 mmol dm⁻³, (—) 0,5 mmol dm⁻³, em 0,1 mol dm⁻³ de TF (pH 7), e comparação com a resposta da Pt na solução de electrólito; $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Representação de j_{ox} vs. $v^{1/2}$ construída com base nos valores obtidos em solução 0,2 mmol dm⁻³ de HZ a diferentes velocidades de varrimento; detalhe incluído na figura (b): variação do potencial de pico de oxidação da HZ, $E_{p,ox}$, com a velocidade de varrimento, nas mesmas condições.

Devido à formação de N₂, que bloqueia a superfície do eléctrodo [53] usa-se o eléctrodo de disco rotativo (*Rotating disc electrode, RDE*), no qual a convecção forçada favorece a remoção do gás formado da superfície. Na figura 4.27 (a) o desvio da linearidade da relação entre a densidade de corrente limite de oxidação, $j_{ox}^{lim.}$, e a velocidade de rotação do eléctrodo, $\omega^{1/2}$, de acordo com a equação de Levich (equação 5.3, capítulo 5), deve-se ao controlo por transferência de massa da reacção de oxidação da HZ em substratos de platina. A figura 4.27 (b) ilustra a relação entre o inverso da corrente limite de oxidação, $1/j_{ox}^{lim.}$, e o inverso da raiz quadrada da velocidade de rotação do eléctrodo, $\omega^{-1/2}$; de acordo com a equação de Koutecky-Levich (equação 5.4, capítulo 5) é possível estimar os valores do coeficiente de difusão, D , da HZ e da constante de velocidade da reacção, k . O valor do coeficiente de difusão obtido ($D = 3,8 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) é da mesma ordem de grandeza do tabelado [54] e a constante de velocidade ($k = 7,7 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$) aproxima-se do observado noutras superfícies [55].

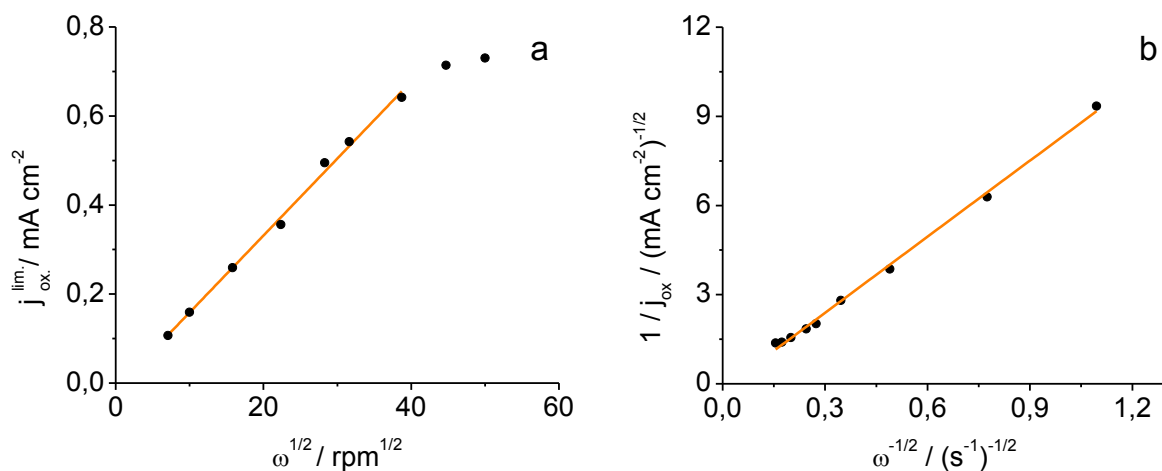


Figura 4.27 - Representações de Levich (a) e Koutecky-Levich (b) obtidas a partir dos resultados de RDE para o eléctrodo de platina em solução $0,2 \text{ mmol dm}^{-3}$ de HZ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7) a diferentes velocidades de rotação (50-2500 rpm); $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$.

Para a determinação dos parâmetros cinéticos da oxidação da HZ no eléctrodo modificado usam-se as condições que permitem obter melhor desempenho electrocatalítico, isto é, o filme de P(3-MeT) crescido a potencial constante ($E_g = 1,42 \text{ V}$ e $Q_g \approx 90 \text{ mC cm}^{-2}$) e modificado com Pt-NPs da amostra B, por imersão durante 5 h numa suspensão coloidal de partículas recentemente preparadas, em solução $0,2 \text{ mmol dm}^{-3}$ de HZ e a velocidade de varrimento de 20 mV s^{-1} . A figura 4.28 ilustra os voltamogramas de varrimento linear obtidos a diferentes velocidades de rotação do RDE e a correspondente representação de Koutecky-Levich de acordo com a equação 5.4 (capítulo 5).

Na tabela 4.5 comparam-se os valores de coeficiente de difusão da HZ e da constante de velocidade da reacção nos eléctrodos de platina e no EM. Neste o valor de coeficiente de difusão é da mesma ordem de grandeza do estimado no eléctrodo de platina; a constante de velocidade é inferior ($k = 1,1 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$) devido à reacção na superfície das partículas no EM com o polímero implicar a transferência electrónica para o substrato através do filme.

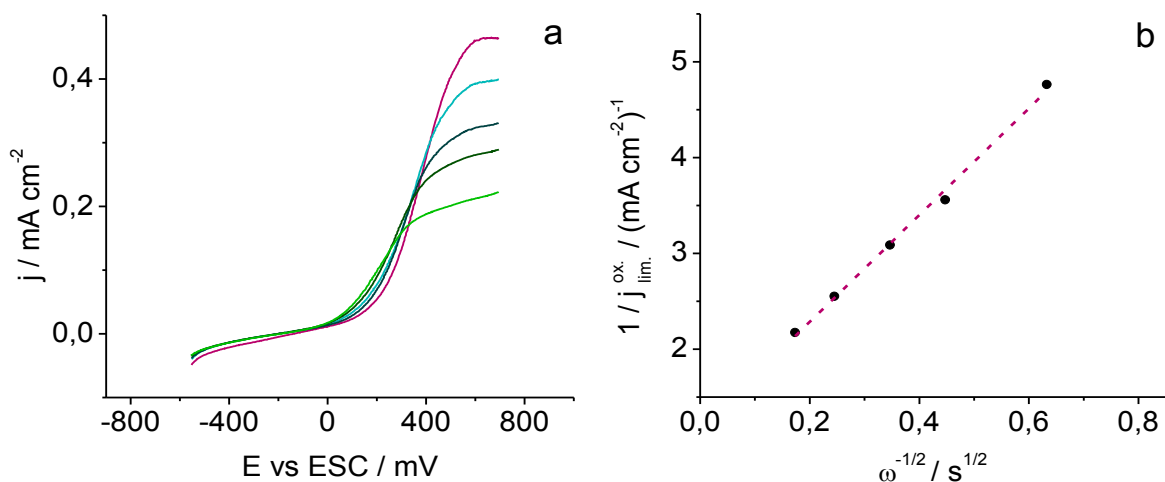


Figura 4.28 - (a) Voltamogramas lineares do eléctrodo de disco rotativo modificado com P(3-MeT)/Pt-NPs (amostra B) a diferentes velocidades de rotação: (—) 150, (—) 300, (—) 500, (—) 1000 e (—) 2000 rpm numa solução $0,2 \text{ mmol dm}^{-3}$ de HZ em $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de TF (pH 7); $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$. (b) Representação de Koutecky-Levich obtida a partir dos dados dos voltamogramas de varrimento linear.

Tabela 4.5 - Valores de coeficiente de difusão, D , e da constante de velocidade, k , da oxidação da HZ em eléctrodos de Pt e modificado com P(3-MeT)/Pt-NPs.

Eléctrodo	$D / \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$	$k / \text{cm s}^{-1}$
Pt	$3,8 \times 10^{-5}$	$7,7 \times 10^{-2}$
P(3-MeT) ^a / Pt-NPs B	$7,2 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-2}$

^a - P(3-MeT) crescido a potencial constante ($E_g = 1,42 \text{ V}$; $Q_g = 90 \text{ mC cm}^{-2}$).

A imobilização de Pt-NPs da amostra B na superfície de filmes de PEDOT permite obter EMs por compósitos que apresentam actividade electrocatalítica notável para a reacção de oxidação da HZ. A figura 4.29 (a) e os dados da tabela 4.6 ilustram essas propriedades para os filmes crescidos sob condições potenciostáticas e potenciodinâmicas. A oxidação tem início a valores de potencial significativamente mais negativos do que nos EMs com P(3-MeT)/Pt-NPs e registam-se correntes anódicas mais elevadas. No PEDOT obtido potenciodinamicamente, o início da oxidação e o pico de corrente ocorrem a valores de potencial ligeiramente inferiores embora com menor intensidade, em relação aquele obtido a potencial constante. Quando o PEDOT é modificado com partículas de Au da amostra A observam-se dois picos de corrente anódica, figura 4.29 (b); o que ocorre a valores de potencial mais negativo sugere que a presença das Au-NPs melhora a resposta

electrocatalítica do filme enquanto aquele a valores de potencial mais positivo se deve à oxidação da HZ na superfície de Au das Au-NPs.

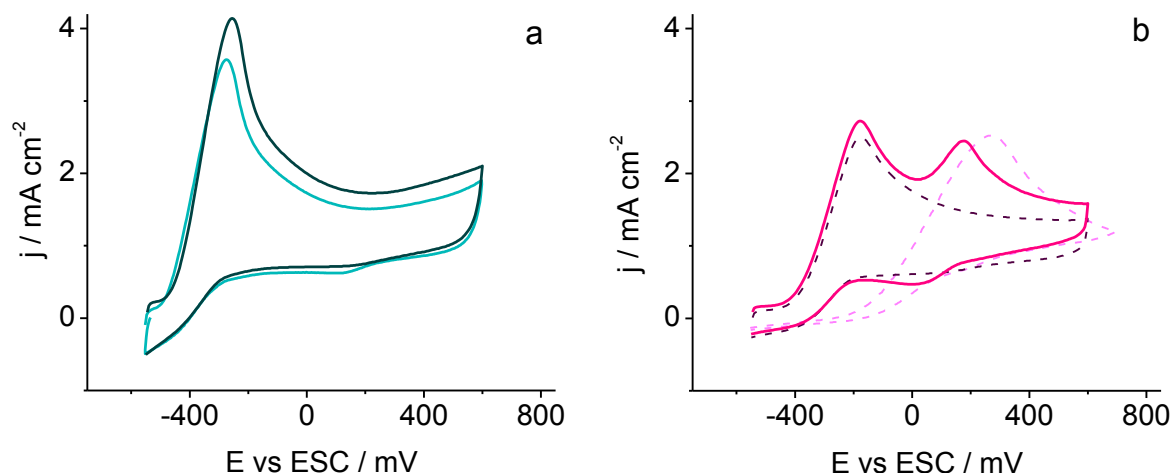


Figura 4.29 - Voltamogramas cíclicos da caracterização dos EMs PEDOT/NPs obtidos por imersão em suspensões coloidais recentemente preparadas durante 5 h; (a) PEDOT/Pt-NPs amostra B ($\varnothing = 3$ nm) formado sob condições potenciodinâmicas (30 ciclos a $v = 50$ mV s^{-1}) (—) e potenciostáticas ($E_g = 1,2$ V e $Q_g \approx 28$ mC cm^{-2}) (—) e (b) PEDOT/Au-NPs amostra B ($\varnothing = 5$ nm) crescido a potencial constante (—) e comparação com resposta do filme (- - -) e do eléctrodo de Au (—) no mesmo meio (solução 6 mmol dm^{-3} de HZ em 0,1 mol dm^{-3} de TF); $v = 50$ mV s^{-1} .

Tabela 4.6 - Valores de potencial, E_p , e densidade de corrente, j_{ox} , do pico de oxidação da HZ nos eléctrodos modificados com PEDOT e PEDOT/NPs ($t_{imersão} = 5$ h).

Eléctrodo	Partículas	j_{ox} / mA cm^{-2}	E_p / mV
PEDOT ^a	---	2,0	6
PEDOT ^b	---	3,0	-148
PEDOT ^a	Pt-NPs B	3,6	-275
PEDOT ^b	Pt-NPs B	4,1	-255
	Au-NPs B	2,7	-175
		2,4	175

^a - PEDOT preparado por ciclos de potencial (30 ciclos a 50 mV s^{-1}); ^b - PEDOT crescido a potencial constante ($E_g = 1,2$ V e $Q_g \approx 28$ mC cm^{-2}).

4.4.3. Resultados preliminares do desempenho dos EM como biosensores de ADN

A figura 4.30 ilustra a abordagem usada no desenvolvimento do transdutor electroquímico e piezoeléctrico para a detecção da imobilização e hibridação de sequências de ADN. A arquitectura baseia-se na utilização das Pt-NPs, depositadas por imersão durante 16 horas

no EM com P(3-MeT) crescido a potencial constante ($Q_g \approx 15,0 \text{ mC cm}^{-2}$ e $E_g = 1,42 \text{ V}$), como substrato para a auto-montagem de oligonucleótidos tiolados (HS-ON (1)). A detecção da hibridação com a sequência complementar é efectuada electroquímica e piezoelectricamente na *EQCM*; neste caso, devido às limitações da *EQCM* referidas anteriormente, usam-se filmes finos de P(3-MeT) ($Q_{ox.} \approx 1,0 \text{ mC cm}^{-2}$).

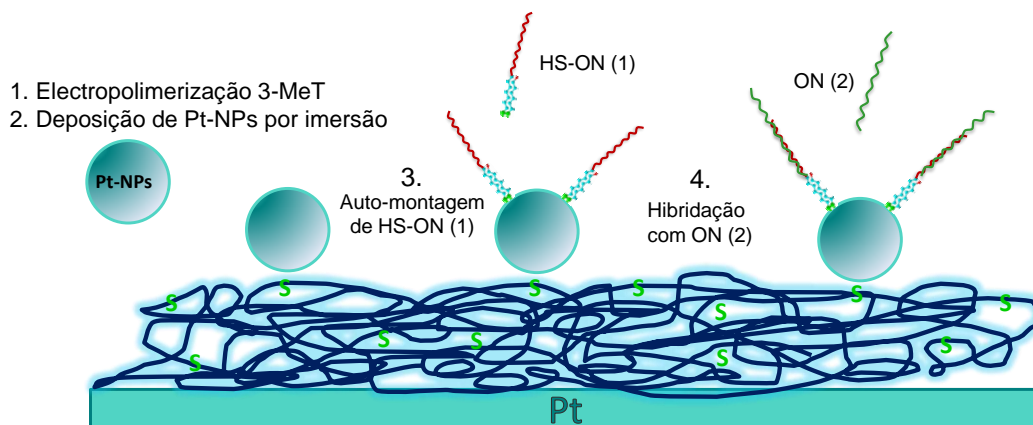


Figura 4.30 - Esquema da estratégia usada na construção do biosensor de ADN.

A variação de frequência de oscilação do cristal de quartzo na *QCM* representada na figura 4.31, a partir da qual foram obtidos os dados da tabela 4.7, mostra que nas condições experimentais usadas o EM é adequado para o desenvolvimento de biosensores piezoelectrónicos de ADN. A quantidade de massa de HS-ON (1) imobilizada, Δm , estimada a partir de Δf e da equação de Sauerbrey (equação 5.8, capítulo 5), permite obter valores de cobertura superficial de moléculas de HS-ON (1), imobilizadas através de interacção Pt-S, da ordem dos $4,7 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$, que é próximo dos obtidos por dessorção redutiva e *QCM* em superfícies de Au ($\Gamma \approx 2,2 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$, capítulo 3) e superior ao reportado na literatura [56]. A adsorção física do oligonucleótido tiolado observada na superfície do P(3-MeT) corresponde a cerca de 21 % da variação total. O valor mais elevado de Γ obtido no eléctrodo modificado com P(3-MeT)/Pt-NPs do que no eléctrodo de Au limpo, deverá estar relacionado com a maior área superficial do primeiro devido à rugosidade do filme e à elevada área das Pt-NPs de pequenas dimensões.

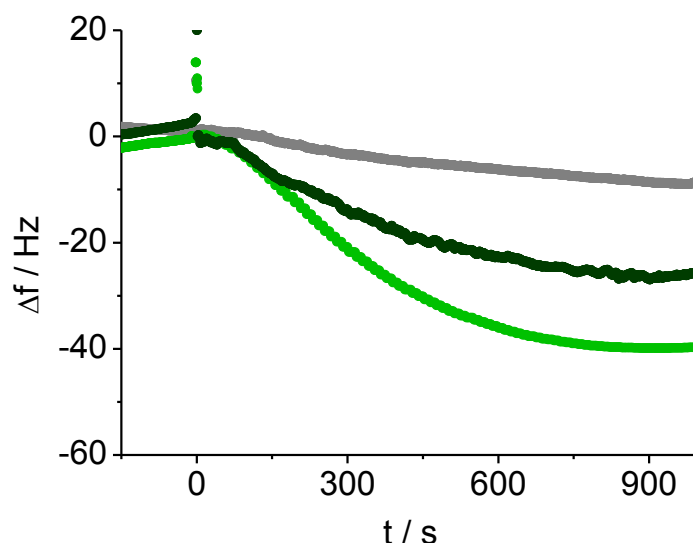


Figura 4.31 - Variação da frequência de oscilação do cristal de quartzo na QCM durante a adsorção não-específica de HS-ON (1) em P(3-MeT) (•), a auto-montagem de HS-ON (1) em P(3-MeT)/Pt-NPs da amostra B (●), e a hibridação com a sequência complementar ON (2) (◐). Filme de P(3-MeT) crescido a potencial constante ($Q_g \approx 15,0 \text{ mC cm}^{-2}$ e $E_g = 1,42 \text{ V}$); Pt-NPs da amostra B depositadas por imersão durante 16 h; solução de HS-ON (1) $0,2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (10 mmol dm^{-3} de Tris-HCl (pH 7) + $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl) e de ON (2) $1,0 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (10 mmol dm^{-3} de TF (pH 7,4) + $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl).

Tabela 4.7 - Valores de variação de frequência de oscilação do cristal de quartzo na QCM, Δf , variação de massa, Δm , e cobertura superficial de moléculas adsorvidas, Γ , correspondentes à imobilização do HS-ON (1) e hibridação com a sequência complementar, ON (2); $t = 900 \text{ s}$.

Substrato	HS-ON (1)			ON (2)		
	Δf / Hz	Δm / ng cm^{-2}	$10^{11} \Gamma$ / mol cm^{-2}	Δf / Hz	Δm / ng cm^{-2}	$10^{11} \Gamma$ / mol cm^{-2}
P(3-MeT)/Pt-NPs	-39,9	276,0	6,0 (4,7)*	-26,7	184,7	1,6
P(3-MeT)	-8,6	59,7	1,3	---	---	---

* - valor de $\Gamma_{\text{P(3-MeT)/Pt-NPs}} - \Gamma_{\text{P(3-MeT)}}$.

Assumindo que todas as moléculas de HS-ON (1), não-especificamente adsorvidas, são removidas da superfície após lavagem com solução de electrólito, a resposta da frequência durante a hibridação corresponde à captura de $1,3 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$ da sequência complementar ON (2), considerando que no máximo 21 % da variação observada poderá corresponder a adsorção física.

A resposta electroquímica do biosensor obtida na presença da espécie electroactiva $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ ($50 \mu\text{mol dm}^{-3}$) em solução 10 mmol dm^{-3} de Tris-HCl (pH 7,4), ilustrada na

figura 4.32 (a), mostra que, após imobilização do oligonucleótido tiolado ($t_{\text{imersão}} \approx 30$ min. em $0,2 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de HS-ON (1)), ocorre um ligeiro bloqueio da superfície e regista-se um decréscimo de corrente catódica; quando a sequência imobilizada é hibridada com a sua complementar ($t_{\text{imersão}} \approx 2$ h em $1,0 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de ON (2)) observa-se um aumento de corrente de redução para valores comparáveis com aqueles registados no eléctrodo modificado com P(3-MeT)/Pt-NPs. O efeito da atracção electrostática dos grupos fosfato negativamente carregados nos oligonucleótidos, não se observa.

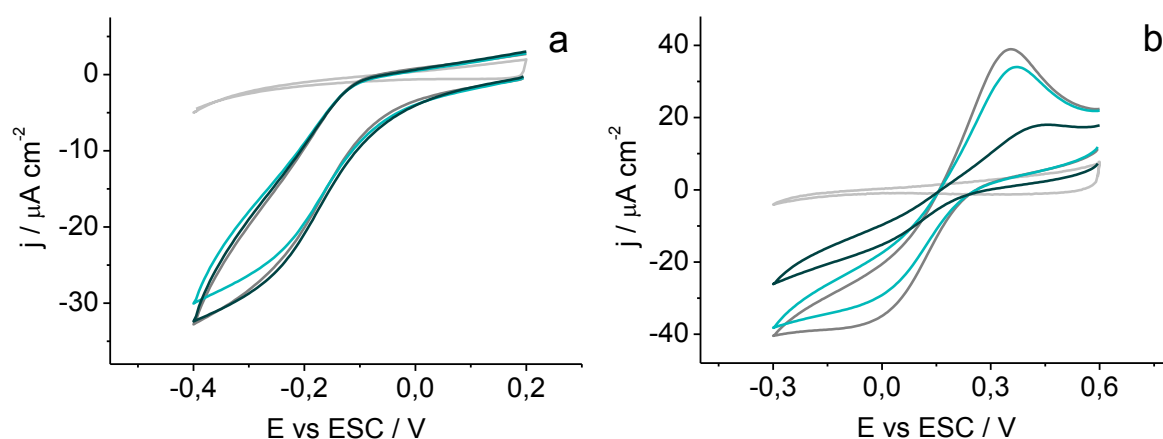


Figura 4.32 - Voltamogramas cíclicos do EM com P(3-MeT)/Pt-NPs da amostra B, antes (—) e após (—) imobilização de HS-ON (1) e após hibridação com a sequência complementar ON (2) (—), (a) $50 \mu\text{mol dm}^{-3}$ de $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ e (b) 1 mmol dm^{-3} de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, em solução 10 mmol dm^{-3} de Tris-HCl (pH 7,4) e comparação com resposta do EM em solução de electrólito (—); $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Por outro lado, na presença de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (1 mmol dm^{-3}) em solução, figura 4.32 (b), a imobilização de HS-ON (1) nas partículas de platina conduz a uma diminuição da corrente de oxidação e de redução da espécie electroactiva em solução devido à repulsão electrostática exercida pelos grupos fosfato no oligonucleótido; um comportamento semelhante é observado nas SAMs de HS-ON (1) em Au. Nestas condições a detecção electroquímica da hibridação é possível; as correntes anódica e catódica diminuem de intensidade e o processo de transferência electrónica perde reversibilidade após hibridação com a sequência complementar ON (2), com o aumento da quantidade de grupos carregados negativamente, imobilizados na superfície do eléctrodo.

4.5. Conclusões

Os filmes de politionina crescidos com 80 ciclos de potencial são electroactivos em meio ácido e neutro. No entanto, apesar da presença de átomos de enxofre na sua estrutura, a sua morfologia formada por domínios compactos e a possibilidade de formação de ligações dissulfureto entre o polímero e unidades monoméricas em solução conduz ao bloqueio destas posições no anel heteromático central que impossibilita a imobilização de Au-NPs através de interações Au-S. Nestas condições a baixa quantidade de partículas depositadas no filme (mesmo após longos períodos de imersão) não favorece o desempenho do eléctrodo modificado na detecção de espécies electroactivas (AA) em solução. Para além disso, a electroactividade do próprio polímero é afectada tanto pelo contacto com o AA como com suspensões coloidais de Au-NPs estabilizadas com CTAB, pelo que a PTN não se mostra adequada para aplicação como (bio)sensor.

A electropolimerização do 3-MeT a potencial constante ocorre em diferentes fases correlacionáveis com a nucleação (igualmente observada no primeiro ciclo da polimerização potenciodinâmica), deposição de uma primeira camada compacta e crescimento do polímero numa estrutura mais rugosa e menos densa. O estudo da electropolimerização e caracterização do P(3-MeT) por *EQCM* permite estimar a quantidade de material depositado, a eficiência da electropolimerização e a quantidade de iões e solvente envolvidos na conversão redox, embora apresente limitações devido às propriedades viscoelásticas do material depositado, especialmente para filmes espessos. Os filmes com electroactividade semelhante ($Q_{ox.} \approx 8 \text{ mC cm}^{-2}$) formados sob diferentes condições, potenciodinâmicas e potencioestáticas, apresentam morfologias distintas; o segundo é mais rugoso do que o primeiro, e apresenta maior área superficial numa estrutura porosa. Os processos de dopagem/de-dopagem do P(3-MeT) dependem das propriedades dos filmes; naqueles com electroactividade semelhante, a maior rugosidade favorece a dopagem e o pico de oxidação ocorre a valores de potencial menos positivos no depositado a potencial constante do que no crescido por ciclos de potencial; com o espessamento a dopagem/de-dopagem é facilitada (potencial do pico deslocado para valores menos positivos). No entanto a dificuldade de movimento de espécies móveis na

camada densa no filme mais compacto e menos rugoso, é evidenciada pelo afastamento dos picos de redução.

A *EQCM* permite observar o efeito da espessura dos filmes na entrada/saída de espécies (iões e solvente) do P(3-MeT). O desvio da variação de frequência em relação ao início da oxidação mostra que a dopagem sucede a formação de cargas no interior do polímero e é dificultada nos mais espessos. Tanto na oxidação como na redução distinguem-se duas zonas de variação de frequência correlacionadas com o processo de oxidação e subsequentes rearranjos na estrutura dos filme e com os dois processos de redução, num processo complexo que envolve o movimento simultâneo de solvente. O sentido do fluxo de solvente depende da capacidade do filme para acomodar no seu interior iões e solvente.

O PEDOT apresenta um comportamento electroquímico semelhante ao do P(3-MeT) e permite obter superfícies modificadas com maior área superficial, pois embora com electroactividade semelhante à do P(3-MeT), os filmes são mais rugosos; no caso do PEDOT são os filmes formados por ciclos de potencial que conduzem a maior rugosidade.

Com base na forte interacção entre partículas metálicas de metais nobres e átomos de enxofre de derivados do tiofeno, é possível preparar electrodos modificados com polímeros e Au- e Pt-NPs dispersas na sua superfície. A simples imersão dos electrodos modificados por P(3-MeT) e PEDOT, crescidos electroquimicamente, nas suspensões coloidais de Au e Pt-NPs estabilizadas por iões citrato pré-sintetizadas (amostras A e/ou B) conduz à deposição de NPs individualizadas e uniformemente distribuídas na superfície dos polímeros. A imobilização de Au-NPs (15 nm) nos filmes de derivados do tiofeno através de interacções Au-S é confirmada por *SEM* e DRX; verifica-se que a maior área superficial do PEDOT conduz a uma maior disponibilidade dos átomos de enxofre na estrutura do polímero para estabelecer interacções com as NPs, pois neste filme é imobilizada uma maior quantidade de partículas após 2 horas de imersão (independentemente do modo de crescimento do filme) do que no P(3-MeT) após 5 horas. A dimensão das Au-NPs de 5 nm não permite a sua detecção por *SEM*, no entanto a sua imobilização é confirmada electroquimicamente.

A interacção Pt-S entre as Pt-NPs (3 nm) e os polímeros (P(3-MeT) e PEDOT) permite igualmente imobilizar estas NPs nos electrodos modificados. Embora a quantidade de NPs

imobilizadas seja dependente da natureza e tamanho das partículas e da morfologia do polímero, conferida pelas condições de electropolimerização, após 45 minutos de imersão é possível obter uma cobertura superficial de Pt-NPs de cerca de 30 % em filmes de PEDOT crescidos potenciostaticamente, que é superior à depositada no P(3-MeT).

A resposta voltamétrica dos EMs com o compósito (polímero/NPs) para a oxidação da HZ em meio neutro mostra um melhor desempenho electrocatalítico quando comparados com os das superfícies policristalinas de Au e Pt e dos polímeros. A selecção adequada das condições de preparação dos compósitos é fundamental e determina a actividade electrocatalítica dos EMs. Embora o próprio filme de PEDOT e a superfície de platina apresentem bom desempenho, outros parâmetros revelam-se fundamentais. A inactividade do P(3-MeT) para a oxidação da HZ permite avaliar o efeito daqueles parâmetros; a área superficial e a disponibilidade de átomos de enxofre à superfície do polímero (maior no crescido a potencial constante do que no formado por ciclos de potencial) influenciam a quantidade de NPs depositadas; aumento do tamanho das NPs conduz a uma diminuição da intensidade de corrente de oxidação e ao deslocamento do pico para valores de potencial mais positivos; as suspensões coloidais recentemente preparadas evitam a aglomeração das NPs e/ou modificação das espécies adsorvidas na sua superfície; o tempo de imersão permite controlar a cobertura superficial de NPs imobilizadas. Contrariamente ao observado com Au-NPs estabilizadas com iões citrato, as NPs cúbicas envolvidas por uma bicamada de CTAB depositam-se em aglomerados juntamente com o surfactante (em excesso na suspensão) ou em agregados dispersos sem surfactante, quando este é removido da suspensão. Estas NPs, embora com forma definida e orientação cristalográfica superficial específica, não apresentam propriedades electrocatalíticas para a oxidação da HZ devido ao tamanho, agregação e à presença de surfactante adsorvido que inibe a interacção com o polímero e bloqueia o acesso da HZ à superfície de Au.

A reacção de oxidação da HZ em superfícies de platina, em que ocorre a formação de N_2 , é controlada por transferência de massa. Nesta superfície e no eléctrodo modificado P(3-MeT)/Pt-NPs obedece á equação de Koutecky-Levich, a partir da qual se obtiveram valores de coeficiente de difusão e de constante de velocidade da reacção da ordem de $7,2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ e $1,1 \times 10^{-2} \text{ cm s}^{-1}$, respectivamente.

A deposição de Au-NPs de pequenas dimensões em filmes de PEDOT favorece a actividade electrocatalítica; o pico de oxidação é deslocado cerca de 27 mV para valores mais negativos comparativamente com o observado no polímero. No entanto a contribuição das Au-NPs ocorre num pico adicional a potencial mais positivo, comparável com o detectado na superfície de Au policristalina. A imobilização de Pt-NPs em filmes de PEDOT conduzem à formação de compósitos que apresentam propriedades electrocatalíticas muito interessantes; naqueles formados com filmes de PEDOT crescidos potenciodinamicamente a oxidação da HZ ocorre a valores cerca de 60 mV mais negativos do que no eléctrodo policristalino de platina.

Os resultados preliminares do desempenho do eléctrodo modificado com P(3-MeT)/Pt-NPs como biosensor de ADN mostram que estas arquitecturas permitem a imobilização de oligonucleótidos tiolados na superfície das NPs (interacção Pt-S) e a detecção da hibridação por métodos piezoeléctricos e electroquímicos. Esta abordagem tira partido da condutividade do filme e da elevada área superficial do polímero e das Pt-NPs depositadas.

4.6. Referências

- [1] V. Ferreira, A. Tenreiro, L.M. Abrantes, *Sens. Actuat. B-Chem.* **119** (2006) 632.
- [2] L.T. Kubota, L. Gorton, *Electroanalysis* **11** (1999) 719.
- [3] B.D. Jones, J.D. Ingle Jr, *Talanta* **55** (2001) 699.
- [4] D.D. Schlereth, W. Schuhmann, H.-L. Schmidt, *J. Electroanal. Chem.* **381** (1995) 63.
- [5] D.D. Schlereth, A.A. Karyakin, *J. Electroanal. Chem.* **395** (1995) 221.
- [6] A.A. Karyakin, E.E. Karyakina, H.-L. Schmidt, *Electroanalysis* **11** (1999) 149.
- [7] E.I. Sáez, R.M. Corn, *Electrochim. Acta* **38** (1993) 1619.
- [8] V. Ferreira, A. Tenreiro, L.M. Abrantes, *Sens. Actuat. B-Chem.* **119** (2006) 632.
- [9] D. Benito, J.J. García-Jareno, J. Navarro-Laboulais, F. Vicente, *J. Electroanal. Chem.* **446** (1998) 47.
- [10] C.-X. Cai, K.-H. Xue, *J. Electroanal. Chem.* **427** (1997) 147.
- [11] A. Hamnett, A.R. Hillman, *J. Electroanal. Chem.* **233** (1987) 125.
- [12] V. Ferreira, A.C. Cascalheira, L.M. Abrantes, *Thin Solid Films* **516** (2008) 3996.

- [13] A.A. Karyakin, A.K. Strakhova, E.E. Karyakina, S.D. Varfolomeyev, A.K. Yatsimirsky, *Bioelectrochem. Bioenerg.* **32** (1993) 35.
- [14] A.I. Melato, M.H. Mendonça, L.M. Abrantes, *J. Solid State Electr.* **13** (2009) 417.
- [15] J. Heinze, B.A. Frontana-Urbe, S. Ludwigs, *Chem. Rev.* **110** (2010) 4724.
- [16] J. Heinze, A. Rasche, M. Pagels, B. Geschke, *J. Phys. Chem. B* **111** (2007) 989.
- [17] G.P. Evans, *The Electrochemistry of Conducting Polymers* em *Advances in Electrochemical Science and Engineering*, vol. 1, Heinz Gerischer e Charles W. Tobias ed., VCH, Weinheim, Germany, **1990**.
- [18] P.-H. Aubert, L. Groenendaal, F. Louwet, L. Lutsen, D. Vanderzande, G. Zotti, *Synth. Met.* **126** (2002) 193.
- [19] J. Roncali, *Chem. Rev.* **92** (1992) 711.
- [20] F. Chao, M. Costa, C. Tian, *Synth. Met.* **52** (1993) 127.
- [21] L.M. Abrantes, J.P. Correia, *Electrochim. Acta* **44** (1999) 1901.
- [22] A.I. Melato, A.S. Viana, L.M. Abrantes, *Electrochim. Acta* **54** (2008) 590.
- [23] L.M. Abrantes, J.P. Correia, G. Jin, *Electrochim. Acta* **46** (2001) 3993.
- [24] J.P. Correia, L.M. Abrantes, *Synth. Met.* **156** (2006) 287.
- [25] M. Skompska, A. Jackson, A.R. Hillman, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2** (2000) 4748.
- [26] A.R. Hillman, A. Jackson, S.J. Martin, *Anal. Chem.* **73** (2001) 540.
- [27] N. Leventis, A. Dass, N. Chandrasekaran, *J. Solid State Electr.* **11** (2007) 727.
- [28] J.P. Correia, E. Vieil, L.M. Abrantes, *J. Electroanal. Chem.* **573** (2004) 299.
- [29] A.I. Melato, A.S. Viana, L.M. Abrantes, *J. Solid State Electr.* **14** (2010) 523.
- [30] M. Skompska, *Electrochim. Acta* **44** (1998) 357.
- [31] M. Skompska, A. Jackson, A.R. Hillman, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2** (2000) 4748.
- [32] A. Mourato, A.S. Viana, J.P. Correia, H. Siegenthaler, L.M. Abrantes *Electrochim. Acta* **49** (2004) 2249.
- [33] H.J. Lee, S.-M. Park, *J. Phys. Chem. B* **108** (2004) 16365.
- [34] V.V. Kurdakova, N.G. Antonov, V.V. Malev, V.V. Kondrat'ev, *Russ. J. Electrochem.* **42** (2006) 299.
- [35] F. Blanchard, B. Carré, F. Bonhomme, P. Biensan, H. Pagès, D. Lemordant, *J. Electroanal. Chem.* **569** (2004) 203.
- [36] A.I. Melato, L.M. Abrantes, A.M. Botelho do Rego, *Thin Solid Films* **518** (2010) 1947.

- [37] L. Niu, C. Kvarnstrom, K. Froberg, A. Ivaska, *Synth. Met.* **122** (2001) 425.
- [38] A.I. Melato, *Síntese, Caracterização e Estudo das Propriedades Electrocatalíticas de Eléctrodos Modificados por Filmes de Poli(3,4-etilenodioxitiofeno)*, Dissertação de Doutoramento, Universidade de Lisboa (2009).
- [39] V.C. Ferreira, A.I. Melato, A.F. Silva, L.M. Abrantes, *Electrochim. Acta* **56** (2011) 3567.
- [40] H. Randriamahazaka, V. Noel, C. Chevrot, *J. Electroanal. Chem.* **472** (1999) 103.
- [41] L.M. Abrantes, J.P. Correia, A.I. Melato, *J. Electroanal. Chem.* **646** (2010) 75.
- [42] C.R.K. Rao, D.C. Trivedi, *Catal. Commun.* **7** (2006) 662.
- [43] C. Zanardi, F. Terzi, L. Pigani, A. Heras, A. Colina, J. Lopez-Palacios, R. Seeber, *Electrochim. Acta* **53** (2008) 3916.
- [44] F. Terzi, C. Zanardi, V. Martina, L. Pigani, R. Seeber, *J. Electroanal. Chem.* **619-620** (2008) 75.
- [45] L. Pigani, G. Foca, K. Ionescu, V. Martina, A. Ulrici, F. Terzi, M. Vignali, C. Zanardi, R. Seeber, *Anal. Chim. Acta* **614** (2008) 213.
- [46] S.H. Cho, S.-M. Park, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 25656.
- [47] X. Huang, Y. Li, Y. Chen, L. Wang, *Sens. Actuat. B-Chem.* **134** (2008) 780.
- [48] V. Selvaraj, M. Alagar, I. Hamerton, *J. Power Sources* **160** (2006) 940.
- [49] J. Li, X. Lin, *Sens. Actuat. B-Chem.* **126** (2007) 527.
- [50] S.M. Golabi, H.R. Zare, *J. Electroanal. Chem.* **465** (1999) 168.
- [51] V. Rosca, M.T.M. Koper, *Electrochim. Acta* **53** (2008) 5199.
- [52] P. Kalimuthu, S.A. John, *J. Electroanal. Chem.* **617** (2008) 164.
- [53] A.J. Bard, *Anal. Chem.* **35** (1963) 1602.
- [54] *Handbook of Chemistry and Physics*, 78th Edition, David R. Lide ed., CRC Press, New York (1997/1998).
- [55] A. Abbaspour, M.A. Kamyabi, *J. Electroanal. Chem.* **576** (2005) 73.
- [56] J. Zhang, S. Song, L. Zhang, L. Wang, H. Wu, D. Pan, C. Fan, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 8575.

Capítulo 5

Técnicas e Instrumentação

5. Técnicas e Instrumentação

5.1. Detalhes experimentais

5.1.1. Reagentes

Os reagentes usados neste trabalho foram os seguintes:

- 1-Butanotiol (C_4), $CH_3(CH_2)_3SH$, Alfa Aesar, 98 %.
- 1-Hexanotiol (C_6), $CH_3(CH_2)_5SH$, Alfa Aesar, 97%.
- 1-Nonanotiol (C_9), $CH_3(CH_2)_8SH$, Alfa Aesar, 98%.
- 1-Decanotiol (C_{10}), $CH_3(CH_2)_9SH$, Alfa Aesar, 96%.
- 1,6-Hexanoditiol (C_6 -SH), $HS(CH_2)_6SH$, Alfa Aesar, 97%.
- 1,9-Nonanoditiol (C_9 -SH), $HS(CH_2)_9SH$, Alfa Aesar, 97%.
- 1,10-Decanoditiol (C_{10} -SH), $HS(CH_2)_{10}SH$, Alfa Aesar, 95%.
- Acetato de Tionina, $C_{12}H_9N_3S \cdot C_2H_4O_2$, Fluka.
- 3-Metiltiofeno, C_5H_6S , Aldrich, 98%.
- 3,4-Etilenodioxítiofeno, $C_6H_6O_2S$, Aldrich.
- Oligonucleótidos, Friz Biochem:
 - $HOC_6SSC_6-5'-TCGTACCATCTATCC-3'$ (HS-ON (1))
 - $5'-TATCCTGAGACCGCGTTTTTTTTTTT-3'-C_6SSC_6OH$ (HS-ON (3))
 - $5'-CGCGGTCTCAGGATATTTTTTTTGGATAGATGGTACGA-3'$ (ON (2))
- Acetonitrilo, CH_3CN , HPLC grade, Aldrich, 99.93%.
- Ácido L(+)-Ascórbico (AA), $C_6H_8O_6$, Riedel-de-Haen, p.a. > 99,7%.
- Cloridrato de Dopamina, $(HO)_2C_6H_3CH_2CH_2NH_2 \cdot HCl$, Sigma.
- Bicloridrato de Hidrazina, $NH_2NH_2 \cdot 2HCl$, Carlo Erba, $\geq 99\%$.
- Ácido tetracloroaurico(III) tri-hidratado, $HAuCl_4 \cdot 3H_2O$, Alfa Aesar, 99,99%.
- Hexacloroplatinato(IV) de potássio, K_2PtCl_6 , BDH Chemicals.
- Borohidreto de sódio, $NaBH_4$, Merck, p.a. $\geq 95\%$.
- Nitrato de prata, $AgNO_3$, Merck, p.a. $\geq 99,8\%$.

- Citrato de Sódio dihidratado, $\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Alfa Aesar, > 99,0%.
- Brometo de Hexadeciltrimetilamónio (CTAB), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}(\text{Br})(\text{CH}_3)_3$, Riedel-de Haen, 98%, ou SigmaUltra, 99%.
- Cloridrato de Tris(hidroxi metil)aminoetano (Tris-HCl), $\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3 \cdot \text{HCl}$, Sigma, $\geq 99,0\%$.
- Perclorato de tetrabutilamónio, TBAClO_4 , $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{ClO}_4)$, Fluka puriss. $\geq 99\%$.
- Perclorato de lítio, LiClO_4 , Fluka, p.a. $\geq 99\%$.
- Cloreto de ruténio(III) hexamina (RuHex), $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$, Aldrich, 98%.
- Hexacianoferrato(II) de potássio, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Merck, p.a. $\geq 99\%$.
- Hexacianoferrato(III) de potássio, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Merck, p.a. $\geq 99\%$.
- Nitrato de potássio, KNO_3 , Merck, p.a. $\geq 99,5\%$.
- Cloreto de sódio, NaCl , Merck, p.a. $\geq 99,5\%$.
- Dihidrogenofosfato de sódio monohidratado, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Merck, p.a. $\geq 99\%$.
- Hidrogenofosfato de dissódio, Na_2HPO_4 , Merck, p.a. $\geq 99\%$.
- Hidróxido de sódio, NaOH , Panreac, p.a. $\geq 98,0\%$.
- Nitrato de chumbo, PbNO_3 , Sigma, 99%.
- Ácido sulfúrico, H_2SO_4 , Fluka, p.a. 95-97%.
- Peróxido de hidrogénio, H_2O_2 , Fluka, puriss p.a. 30% v/v.
- Etanol Absoluto, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, Panreac, HPLC.
- Pentóxido de di-fósforo, P_2O_5 , Merck, p.a. $\geq 98\%$.
- Hidreto de cálcio, H_2Ca , Fluka, purum p.a. $\geq 97\%$.
- Azoto, N_2 , Air Liquid, $\geq 99,999\%$.

Os reagentes foram usados sem purificação prévia, com excepção do electrólito perclorato de tetrabutilamónio que foi purificado por recristalização, do acetonitrilo, que previamente seco em hidreto de cálcio, foi destilado em ambiente de azoto com pentóxido de fósforo e dos monómeros 3-metiltofeno e 3,4-etilenodioxitofeno que foram destilados a pressão reduzida, após o que foram mantidos sob atmosfera de N_2 , a 4°C .

Todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultra-pura (resistividade $\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ a 25°C).

A solução tampão fosfato (TF) foi preparada a partir de soluções $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de dihidrogenofosfato de sódio monohidratado e hidrogenofosfato de dissódio.

Todas as soluções usadas nos ensaios electroquímicos foram previamente desoxigenadas fazendo passar uma corrente de azoto durante 20 minutos, excepto a solução de hidróxido de sódio que foi desoxigenada durante 1 hora.

5.1.2. Eléctrodos e células

Células Electroquímicas

No decorrer do trabalho foram utilizadas células electroquímicas diversas. Nos ensaios electroquímicos convencionais utilizaram-se células de 1, 2 ou 3 compartimentos, figura 5.1, constituídas por eléctrodo de referência (ER), o eléctrodo saturado de calomelanos, Hg/Hg₂Cl₂ saturado em KCl (ESC) ou o eléctrodo normal de hidrogénio (ENH), eléctrodo auxiliar (EA), uma folha ou um fio de platina e eléctrodo de trabalho (ET).

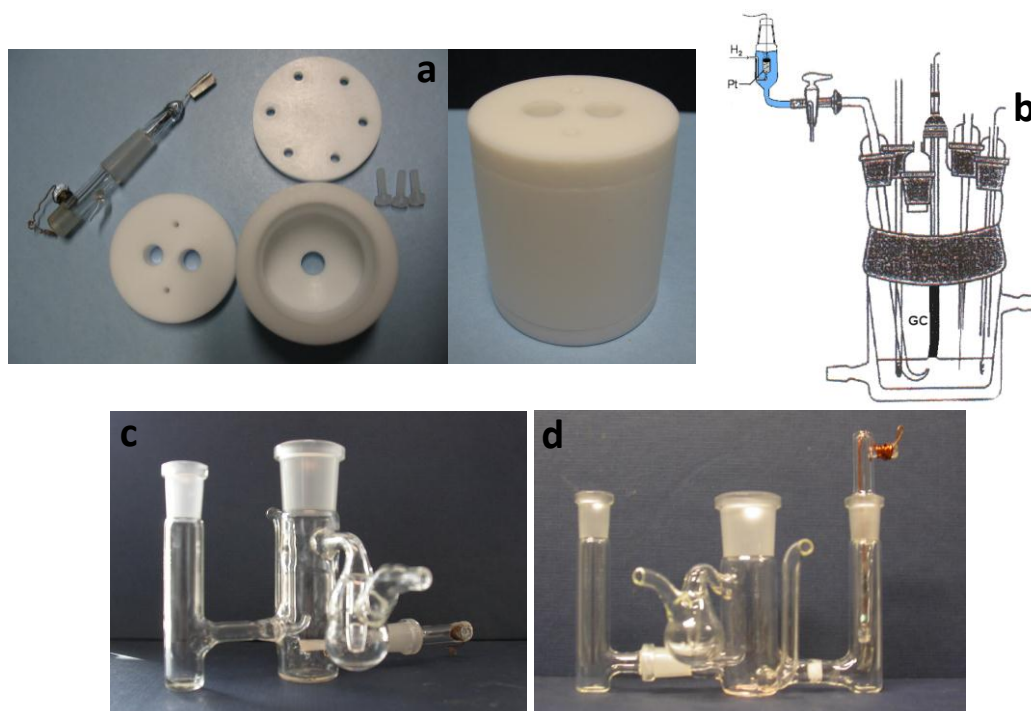


Figura 5.1 – (a) Célula de teflon de 1 compartimento e células de vidro de 2 (b e c) e 3 (d) compartimentos.

A célula electroquímica usada na microbalança electroquímica de cristal de quartzo (*Electrochemical Quartz Crystal Microbalance, EQCM*) foi de teflon (CHI Instruments, CHI), constituída por um único compartimento, figura 5.2 (a), específica para a utilização dos ET de cristal de quartzo. No microscópio electroquímico de varrimento (*Scanning*

Electrochemical Microscope, SECM) utilizou-se uma célula de um compartimento e quatro eléctrodos, μ TriCell (Uniscan Instruments, UI), figura 5.2 (b).

Todas a experiências foram conduzidas numa caixa de Faraday.

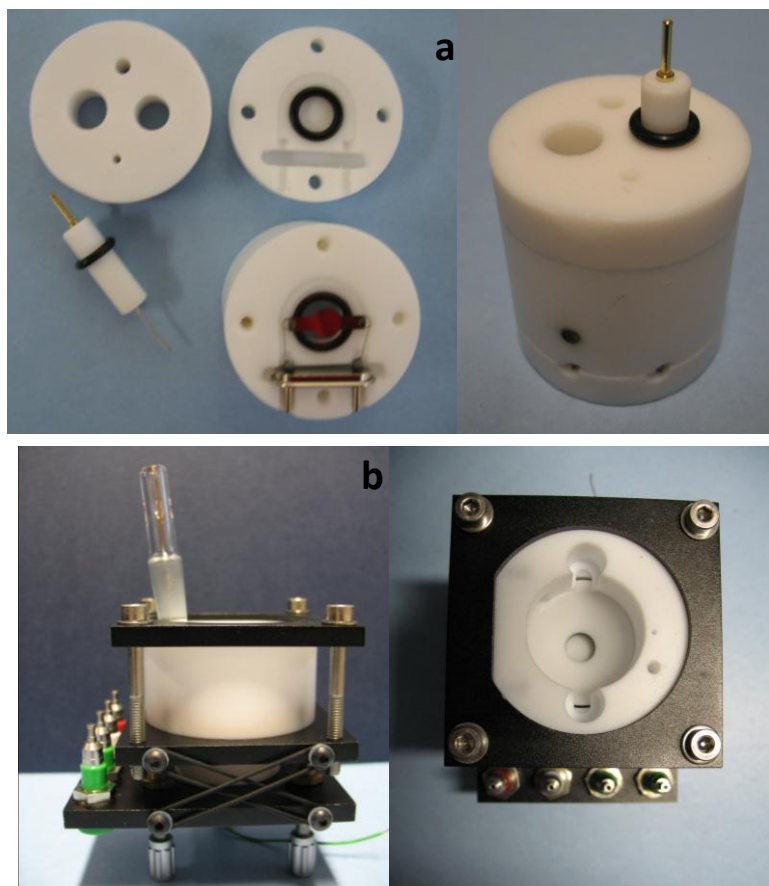


Figura 5.2 - Células electroquímicas (a) da EQCM e (b) do SECM.

Eléctrodos de Trabalho

No decorrer do trabalho foram usados diferentes eléctrodos de trabalho. Como ET de ouro, empregaram-se placas de vidro (borosilicato) recobertas de uma camada de ouro 250 ± 50 nm depositado sobre uma camada de crómio $2,5 \pm 1,5$ nm ($1,1 \times 1,1$ cm², Gold Arrandee, Alemanha), figura 5.3 (a); as superfícies foram previamente limpas em solução piranha (3 H₂SO₄ : 1 H₂O₂), lavadas com água ultra-pura e etanol e sujeitas a tratamento à chama oxidante, originando uma superfície com orientação cristalográfica preferencial (111) e uma rugosidade superficial de $R = 1,2$, estimada através da carga envolvida na redução (varrimento catódico) de uma camada de óxido de Au formado no varrimento

anódico numa solução $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 a $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$. A área geométrica exposta na célula electroquímica é de $0,57 \text{ cm}^2$.

Como ET de platina foi usado um disco de Pt policristalino, figura 5.3 (b), com área geométrica $0,181 \text{ cm}^2$. Este foi montado num suporte de teflon com o disco de Pt em contacto eléctrico com uma base de latão por meio de cola de prata (CircuitWorks®), e o espaço circundante preenchido com resina epoxídica (Araldite®) e o contacto eléctrico com o equipamento efectuado através de um varão metálico envolvido por teflon, figura 5.3 (b). A superfície do ET foi polida manualmente em pano de polimento usando suspensões de alumina (Buehler, USA) de granulidade decrescente ($5, 1, 0,3$ e $0,05 \text{ }\mu\text{m}$) até uma superfície espelhada ser obtida, lavada com água ultra-pura e limpa electroquimicamente por varrimento de potencial entre $-0,25$ e $+1,05 \text{ mV}$, $v = 0,5 \text{ V s}^{-1}$, numa solução $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 .



Figura 5.3 - Eléctrodos de trabalho (a) de ouro, (b) de platina e respectivo suporte para contacto eléctrico e (c) superfície de ITO.

Em ensaios específicos foram também usadas superfícies de óxido de índio e estanho (*Indium Tin Oxide, ITO*) (figura 5.3 (c)) com área geométrica exposta nos ensaios electroquímicos $\sim 1 \text{ cm}^2$. Estas foram limpas por imersão sucessiva em acetona, etanol e água ultra-pura, num banho de ultra-sons por 10 minutos em cada solvente. Após utilização, as nanopartículas depositadas foram removidas com uma solução diluída (1:3) de água-régia ($3 \text{ HCl} : 1 \text{ HNO}_3$) e com o auxílio de uma zaragatoa durante cerca de 2 minutos, após o que foram lavadas com água ultra-pura em abundância e secas sob uma corrente de N_2 . A confirmação da remoção dos resíduos metálicos foi efectuada por comparação dos valores de resistência de uma superfície limpa, antes de qualquer

modificação, e após limpeza, pelo procedimento descrito acima, e por voltametria cíclica numa solução $0,05 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 .

Na *EQCM* os ET usados são constituídos por um cristal de quartzo a 8 MHz (AT-cut), com uma camada de 1000 Å de ouro ou platina sobre uma camada de 100 Å de titânio depositada por evaporação térmica do metal (CHI Instruments, USA) e uma área geométrica de $0,2 \text{ cm}^2$, figura 5.4 (a). Estes são limpos electroquimicamente por voltametria cíclica no intervalo de potencial entre $-0,25$ e $+1,40 \text{ mV}$, $v = 200 \text{ mV s}^{-1}$, numa solução $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ de H_2SO_4 .

No microscópio electroquímico de varrimento o eléctrodo-ponta de platina ($\varnothing = 100 \mu\text{m}$), figura 5.4 (b) foi limpo por polimento manual de modo semelhante ao aplicado ao macro-eléctrodo policristalino de platina; como eléctrodo-substrato foram usadas placas de ouro acima referidas.

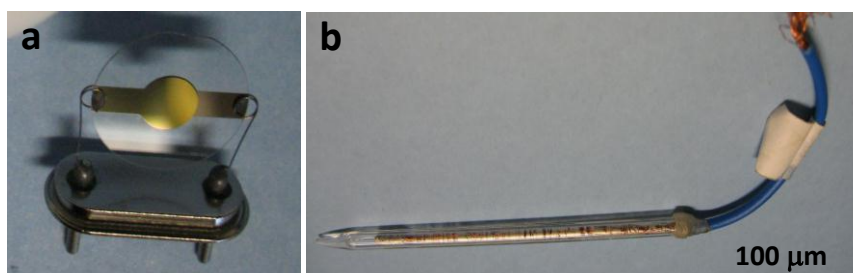


Figura 5.4 - (a) Eléctrodo de trabalho de ouro usado na *EQCM* e (b) eléctrodo-ponta usado na *SECM*.

5.1.3. Preparação de nanopartículas e modificação e caracterização de superfícies

- Métodos de síntese de Au- e Pt-NPs

1. Redução por citrato de sódio a T elevada - Método de Turkevich [1-3] - Amostra A

À solução de HAuCl_4 ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol}$ em $19 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}$) num Erlenmeyer à ebulição ($\approx 100 \text{ }^\circ\text{C}$) e com agitação forte, foi adicionada a solução de citrato de sódio (0,5 % em H_2O , 2 cm^3) (razão $\text{Au}_{(\text{III})}/\text{reduzidor} \approx 0,15$). Esta solução foi deixada sob agitação e em ebulição durante 5 minutos, após o que o aquecimento foi desligado, mantendo a agitação por 30 minutos. A solução mudou de cor com a adição do citrato de sódio entre cinza, púrpura e vermelho. Obtêm-se Au-NPs estabilizadas por uma monocamadas de iões citrato adsorvidos.

Igual procedimento e razão $Pt_{(IV)}/\text{reductor} \approx 0,15$, foi usado na preparação de Pt-NPs; neste caso usou-se o sal de platina, K_2PtCl_6 .

2. Redução por borohidreto à $T_{amb.}$ em meio aquoso [4, 5] – Amostra B

A 20 cm^3 de uma solução $1,25 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de $HAuCl_4$ e $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de citrato de sódio, á temperatura ambiente num Erlenmeyer foram adicionados $0,3 \text{ cm}^3$ de uma solução $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ de $NaBH_4$ (arrefecida em gelo e imediatamente após preparação), sob forte agitação; (razão $Au_{(III)}/\text{reductor} \approx 0,83$). A agitação da solução foi reduzida após 30-60 s e mantida durante cerca de 15 minutos, a $40-45 \text{ }^\circ\text{C}$, para eliminação do excesso de $NaBH_4$. As Au-NPs obtidas por esta via também são estabilizadas por iões citrato adsorvidos.

Igual procedimento foi usado na preparação de Pt-NPs usando K_2PtCl_6 .

3. Crescimento de Au-NPs a partir de sementes de pequenas dimensões

a. Amostra C - partículas de Au preparadas pelo método descrito em [6]

Preparação das sementes: A $7,5 \text{ cm}^3$ de uma solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB (Sigma Ultra, 99%) foram adicionados $0,25 \text{ cm}^3$ de solução $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ de $HAuCl_4$ e $0,6 \text{ cm}^3$ de $NaBH_4$ ($0,01 \text{ mol dm}^{-3}$, solução arrefecida). A mistura foi agitada durante cerca de 2 minutos, após o que foi deixada em repouso por 2 horas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. As sementes resultantes encontram-se protegidas por surfactante adsorvido na sua superfície.

Crescimento das Au-NPs: A uma solução de crescimento contendo 8 cm^3 de CTAB $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, 40 cm^3 de H_2O ($25 \text{ }^\circ\text{C}$), 1 cm^3 de $HAuCl_4$ ($0,01 \text{ mol dm}^{-3}$) e $4,25 \text{ cm}^3$ de AA ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) foram adicionados $0,025 \text{ cm}^3$ de uma suspensão coloidal diluída de sementes (1 cm^3 de sementes diluído em 9 cm^3 de H_2O a $25 \text{ }^\circ\text{C}$) e a mistura resultante agitada para homogeneização. Após 1 hora a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ o excesso de surfactante foi removido por centrifugação (6000 rpm/20 min.) e lavagem com água ultra-pura. O produto resultante foi ressuspensão em água ultra-pura.

b. Amostra D - partículas de Au preparadas pelo método descrito em [4, 7, 8]

Preparação das sementes: A 10 cm^3 de solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB (Sigma Ultra, 99%) e $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de $HAuCl_4$ ($25-27 \text{ }^\circ\text{C}$) foram adicionados $0,6 \text{ cm}^3$ de solução

0,01 mol dm⁻³ de NaBH₄ (solução arrefecida). A solução resultante foi agitada durante cerca de 2 minutos, após o que foi mantida em repouso durante 3 horas a 25-30 °C.

Crescimento das Au-NPs: à solução de crescimento, 100 cm³ de 0,1 mol dm⁻³ de CTAB e 2,5 x 10⁻⁴ mol dm⁻³ de HAuCl₄ (25-30 °C) foram adicionados 0,06 cm³ de solução 0,1 mol dm⁻³ de AgNO₃ e 0,55 cm³ de AA 0,1 mol dm⁻³, foram também adicionados 0,125 cm³ de suspensão coloidal de sementes. A solução foi agitada durante 2 minutos e mantida em repouso por 1 hora à mesma temperatura. A suspensão foi deixada entre 12-24 horas para crescimento das partículas cúbicas; o excesso de surfactante removido por centrifugação (6000 rpm/45 min.) e as partículas resultantes lavadas com água ultra-pura.

c. Amostra E - partículas de Au preparadas pelo método descrito em [9]

Preparação das sementes: As sementes para o crescimento das Au-NPs da amostra E foram obtidas pelo procedimento descrito para as partículas da amostra D, descrito no ponto (b).

Crescimento das Au-NPs: Neste caso as partículas foram obtidas por um procedimento envolvendo três passos, sendo que o produto de interesse resulta no recipiente 3. A dois recipientes 1 e 2 contendo 9 cm³ de solução 0,1 mol dm⁻³ de CTAB (Sigma Ultra, 99%) e 2,5 x 10⁻⁴ mol dm⁻³ de HAuCl₄, foram adicionados 0,05 cm³ de AA (0,1 mol dm⁻³); ao recipiente 3 contendo 45 cm³ de uma solução 0,1 mol dm⁻³ de CTAB e 2,5 x 10⁻⁴ mol dm⁻³ de HAuCl₄, foram adicionados 0,25 cm³ de AA (0,1 mol dm⁻³). À solução contida em 1 foi adicionado 1 cm³ de suspensão coloidal de sementes, após 15 s, 1 cm³ da suspensão 1 foi transferida para o recipiente 2 e 30 s depois 5 cm³ desta suspensão foi adicionada à solução 3. Foi permitido que as partículas resultantes crescessem durante 16 horas a 25 °C; o excesso de surfactante removido por centrifugação (2000 rpm/2 min.) e lavagem e o produto resultante ressuspensão em água ultra-pura.

d. Amostra F – partículas de Au preparadas pelo método descrito em [10]

Preparação das sementes: Neste caso, as sementes foram preparadas de modo semelhante às Au-NPs obtidas por redução por borohidreto à T_{amb.} mas foi usada diferente proporção Au_(III)/reduzidor. A 18 cm³ de água ultra-pura foram adicionados 0,5 cm³ de solução 0,01 mol dm⁻³ de HAuCl₄ e 0,5 cm³ de outra contendo 0,01 mol dm⁻³ de citrato de sódio. Sob agitação, foram adicionados 0,5 cm³ de NaBH₄ (0,1 mol dm⁻³) à mistura

($\text{Au}_{(\text{III})}$ /reductor = 0,1); a agitação foi interrompida e a suspensão coloidal deixada em repouso por 2 horas.

Crescimento das Au-NPs: O crescimento foi efectuado em 3 passos, sendo as partículas de interesse obtidas no último passo. Foram preparados 3 recipientes (1, 2 e 3), contendo (1 e 2) 9 cm^3 de uma solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB (Riedel-de Haen, 98%), à qual foram adicionados $0,25 \text{ cm}^3$ de solução $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ de HAuCl_4 , $0,05 \text{ cm}^3$ de AA ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) e $0,05 \text{ cm}^3$ de NaOH ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) e (3) a mesma concentração final de cada reagente em 90 cm^3 de solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB. Seguidamente, 1 cm^3 da suspensão coloidal de sementes foi adicionada ao recipiente 1, que foi agitado durante 3-5 s, após o que 1 cm^3 foi retirado e adicionado ao recipiente 2; passados 3-5 s de agitação, todo o conteúdo em 2 foi adicionado ao recipiente 3. Após repouso durante cerca de 16 horas, a separação das partículas e a remoção do excesso de surfactante foi efectuada por centrifugação ($1500 \text{ rpm}/20 \text{ min.}$) e lavagem com água ultra-pura (repetido 2x), o sobrenadante foi rejeitada e o precipitado final ressuspensado em água $0,1 \text{ cm}^3$ de ultra-pura.

e. Amostra G - partículas de Au preparadas pelo método descrito em [11]

Preparação das sementes: A 20 cm^3 de uma solução $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de HAuCl_4 e $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de citrato de sódio foram adicionados $0,6 \text{ cm}^3$ de uma solução $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaBH_4 (solução arrefecida), sob agitação.

Crescimento das Au-NPs: O crescimento é efectuado em 3 passos, obtendo-se em cada recipiente (1-3) partículas com tamanhos distintos. Aos recipientes 1-3 contendo 9 cm^3 de uma solução composta por $2,5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ de HAuCl_4 e $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ de CTAB (Riedel-de Haen, 98%), foram adicionados $0,05 \text{ cm}^3$ de solução aquosa de AA ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) seguida de agitação para homogeneização. Ao recipiente A foi adicionado $1,0 \text{ cm}^3$ de suspensão coloidal de sementes, que foi agitado e após 10 s, $1,0 \text{ cm}^3$ desta suspensão em 1 foi adicionada ao recipiente 2; após homogeneização e 10 s, $1,0 \text{ cm}^3$ da suspensão em 2 foi adicionada ao recipiente 3. Os recipientes reaccionais foram mantidos a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e após 24 h o excesso de surfactante foi removido por centrifugação e lavagem com água ultra-pura e as Au-NPs ressuspensas em água.

As Au-NPs das amostras A e B são estabilizadas por iões citrato e as das amostras C a G por CTAB. As Pt-NPs das amostras A e B são estabilizadas por iões citrato.

As Au-NPs das amostras B, C, D e E foram purificadas pela remoção do agente estabilizador e as Au-NPs “limpas” resultantes são designadas por amostras B', C', D' e E', respectivamente. A sua limpeza foi efectuada pela adição de NaOH(s) directamente à suspensão coloidal das Au-NPs, o precipitado resultante (agregados de Au-NPs) foi lavado com H₂O para remover o surfactante em solução (citrato de sódio no caso da amostra B) e o NaOH e ressuspenso em água ultra-pura.

- Preparação e caracterização de monocamadas auto-montadas

As monocamadas auto-montadas de *n*-alcanotióis e α,ω -alcanoditióis foram preparadas em superfícies de ouro, previamente limpas conforme mencionado no ponto 5.1.2, por imersão dos substratos em soluções etanólicas (previamente desoxigenadas) contendo 1 ou 10 mmol dm⁻³ das moléculas a adsorver, por diferentes períodos de tempo ($t = 22 - 64$ h) à temperatura ambiente. Após formação das SAMs as placas de ouro foram lavadas com etanol (para remover moléculas não-especificamente ligadas ao substrato) e água em abundância e secas numa corrente de azoto antes de transferidas para a célula electroquímica. As SAMs foram caracterizadas electroquimicamente por dessorção redutiva (ciclos de potencial a $v = 10$ ou 20 mV s⁻¹ entre 0 e -1,20 ou -1,25 V) numa solução 0,1 mol dm⁻³ de NaOH e na presença da espécie electroactiva: 1 mmol dm⁻³ de K₃Fe(CN)₆ em solução 0,1 mol dm⁻³ de KNO₃ ou 1 mmol dm⁻³ de K₄Fe(CN)₆ + 1 mmol dm⁻³ de K₃Fe(CN)₆ em solução 0,1 mol dm⁻³ de TF (SECM), ambas com pH 7.

- Imobilização de oligonucleótidos tiolados e hibridação

A imobilização dos oligonucleótidos tiolados foi efectuada por imersão dos eléctrodos (Au(111) ou eléctrodo de Pt modificado com P(3-MeT)/Pt-NPs da amostra B) nas soluções 0,2 ou 2,0 μ mol dm⁻³ de HS-ON (1), em solução 10 mmol dm⁻³ de Tris-HCl (pH 7) com 0,1 mol dm⁻³ de NaCl, durante 30 minutos e 1 hora, respectivamente; a hibridação foi realizada numa solução 1 μ mol dm⁻³ de ON (2), em 10 mmol dm⁻³ de TF (pH 7,4) com 0,25 mol dm⁻³ de NaCl ($t = 1$ h). A modificação das Au-NPs da amostra A com o oligonucleótido HS-ON (3) foi realizada numa solução 3 μ mol dm⁻³ de HS-ON (3) e 1,2 nmol dm⁻³ de Au-NPs, durante cerca de 16 horas, seguida de estabilização numa solução de 0,1 mol dm⁻³ de TF (pH 7) com 0,1 mol dm⁻³ de NaCl ($t = 40$ h), e separação dos

oligonucleótidos não imobilizados por centrifugação (14k rpm/30 min.) e ressuspensão numa solução 10 mmol dm^{-3} de TF (pH 7) com $0,25 \text{ mol dm}^{-3}$ de NaCl.

5.2. Técnicas electroquímicas

5.2.1. Convencionais

As técnicas electroquímica convencionais usadas, voltametria cíclica e cronoamperometria, são bem conhecidas e portanto serão apenas brevemente referidas [12-14].

As células electroquímicas utilizadas são constituídas por 3 eléctrodos imersos numa solução de electrólito; o eléctrodo de trabalho, ET, onde a reacção em estudo ocorre, o eléctrodo de referência, ER, que permite manter um potencial constante ao longo da experiência e o eléctrodo auxiliar, EA, que é responsável pelo fornecimento de electrões requerida pelo ET, sendo que a reacção que nele ocorre não deve interferir com a reacção em estudo. O eléctrodo de referência é, em geral, mantido num compartimento separado do eléctrodo de trabalho, estando em contacto por meio de um capilar de Luggin posicionado muito próximo do ET, que permite diminuir a resistência não compensada da solução electrolítica. Esta é composta por solvente e electrólito suporte e podendo conter espécies electroactivas.

5.2.1.1. Voltametria cíclica

Na voltametria cíclica, VC, é aplicada uma perturbação/onda triangular, partindo de um potencial inicial, E_i , e varrendo o potencial a uma velocidade constante, v , até ao valor de potencial, E_2 , no qual o sentido do varrimento de potencial é invertido, terminando num valor de potencial E_f , igual ou diferente do E_i , figura 5.5. Regista-se a resposta de corrente em função do potencial aplicado.

A corrente registada pode ser capacitiva, que corresponde à carga da dupla camada electrolítica na interface eléctrodo|solução electrolítica, ou faradaica, que provém dos processos de transferência de electrónica entre a superfície do eléctrodo e espécies em

solução ou depositadas na sua superfície [13]. A partir dos perfis voltamétricos, geralmente em forma de pico, podem retirar-se os seguintes parâmetros: potencial de pico, $E_{p,ox.}$ (oxidação) e $E_{p,red.}$ (redução) e corrente de pico, $i_{p,a}$ e $i_{p,c}$, anódico e catódico, respectivamente. A análise da relação de proporcionalidade destes parâmetros, como por exemplo a separação entre os processos, ΔE_p , a razão entre as correntes dos picos, $i_{p,a} / i_{p,c}$ ou a relação com a velocidade de varrimento de potencial aplicada, constitui um modo de diagnóstico dos processos envolvidos, que se encontra amplamente reportado na literatura [12-14].

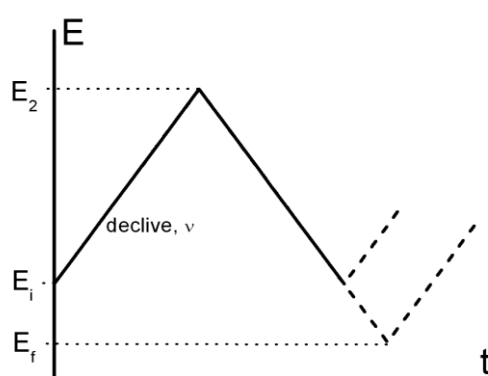


Figura 5.5 - Perfil de variação do potencial no tempo na voltametria cíclica.

A carga, Q , envolvida nos processos faradaicos, obtida por integração da corrente, permite estimar o valor de recobrimento superficial, Γ , através da equação 5.1:

$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \quad \text{Eq. 5.1}$$

onde n é o número de electrões envolvidos na reacção, F a constante de Faraday ($F = 96485 \text{ C mol}^{-1}$) e A a área geométrica do eléctrodo de ouro (cm^2).

5.2.1.2. Cronoamperometria

Na cronoamperometria, CA, ao eléctrodo de trabalho é aplicado um potencial inicial, E_i , ao qual não há reacção, seguido de um potencial final, E_f , ao qual a reacção de interesse ocorre a uma velocidade controlada por difusão e o perfil corrente-tempo, $i-t$, é registado, figura 5.6.

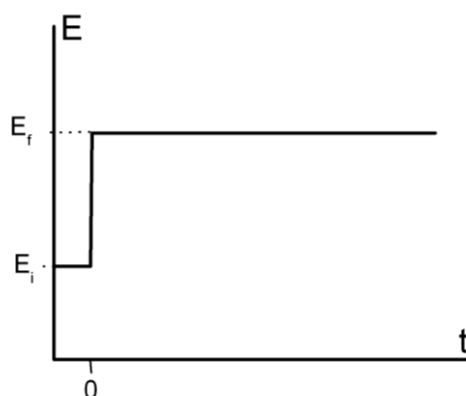


Figura 5.6 – Perfil de variação do potencial no tempo na cronoamperometria.

A equação de Cottrell, equação 5.2, descreve os perfis i - t e, para um processo reversível, permite estimar valores de coeficientes de difusão das espécies em solução através da representação linear de i vs. $t^{-1/2}$ [12].

$$|i| = \frac{nFA D^{1/2} C_O^\infty}{\pi^{1/2} t^{1/2}} \quad \text{Eq. 5.2}$$

onde n é o número de electrões envolvido na reacção por molécula, F a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), A a área do eléctrodo (cm^2), D o coeficiente de difusão da espécie ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$) e C^∞ a concentração da espécie no seio da solução (mol cm^3).

5.2.1.3. Eléctrodo de disco rotativo, *RDE*

O eléctrodo de disco rotativo (*Rotating Disc Electrode, RDE*), inclui-se no conjunto mais alargado dos designados eléctrodos hidrodinâmicos [12, 13]. Estes funcionando em modo de convecção forçada apresentam como vantagem fulcral um maior transporte de espécies para o eléctrodo, que se traduz num aumento de corrente e maior sensibilidade, figura 5.7.

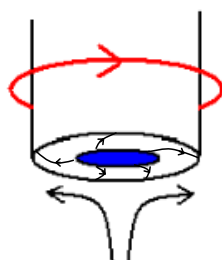


Figura 5.7 – Representação esquemática do *RDE*; setas indicam direcção do fluxo de espécies para e no eléctrodo.

Fazendo variar a velocidade angular, ω , os perfis i - E e i - t podem ser registados. A ω imposta e a corrente limite medida relacionam-se através da equação de Levich:

$$i_{\text{lim.}} = i_{\text{Lev}} = 0,62 n F A D^{2/3} C_0^\infty \nu^{-1/6} \omega^{1/2} \quad \text{Eq. 5.3}$$

onde n é número de electrões por molécula, F a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), A a área do eléctrodo (cm^2), D o coeficiente de difusão da espécie ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$), C_0^∞ a concentração da espécie no seio da solução (mol cm^{-3}), ν a viscosidade cinemática ($0,01 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para a água a 25°C) e ω a velocidade angular (s^{-1}).

No caso de processos de transferência electrónica lentos a ocorrer na superfície do eléctrodo - reacções irreversíveis, a relação é obtida através da equação de Koutecky-Levich [12]:

$$\frac{1}{i_{\text{lim.}}} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{i_{\text{Lev}}} = \frac{1}{n F A C_0^\infty k} + \frac{1}{0.62 n F A D^{2/3} C_0^\infty \nu^{-1/6} \omega^{1/2}} \quad \text{Eq. 5.4}$$

onde k é a constante de velocidade da reacção (cm s^{-1}) e os outros parâmetros têm o significado descrito acima.

Instrumentação

Nos ensaios electroquímicos convencionais foram utilizados os seguintes equipamentos: (1) sistema constituído por uma interface electroquímica, IMT 102, e um analisador electroquímico digital, potenciostato, DEA 332, da Radiometer Copenhagen ligado a um computador para aquisição de dados através do programa Volta Master 2, VM 2, figura 5.8 (a); (2) sistema Autolab para controlo de potencial, também ligado a um computador para aquisição de dados; (3) sistema de rotação do eléctrodo de disco rotativo, EG&G PARC, modelo 616 RDE e adaptador para uso do eléctrodo policristalino de platina referidos anteriormente, figura 5.8 (b).



Figura 5.8 - (a) Imagem do equipamento electroquímico usado na maioria dos ensaios e respectiva caixa de Faraday e (b) sistema de rotação do *RDE* e adaptador para eléctrodos.

5.2.2. Avançadas

5.2.2.1. Microscopia de varrimento electroquímico, *SECM*

A microscopia de varrimento electroquímico (*Scanning Electrochemical Microscopy, SECM*), é usada para a caracterização de sistemas à escala microscópica. Utiliza um ultramicroeléctrodo (UME), colocado numa posição fixa ou movendo-se na proximidade do substrato de interesse, em contacto com uma solução contendo as espécies electroactivas [15], figura 5.9. A posição do UME em relação ao substrato é controlada por um posicionador xyz piezoeléctrico. A reacção de eléctrodo no UME (eléctrodo–ponta) dá origem a uma corrente, i_T , que é perturbada pelo substrato em análise (substrato-amostra) permitindo obter informação acerca da sua natureza, propriedades eléctricas e químicas e da topografia [16].

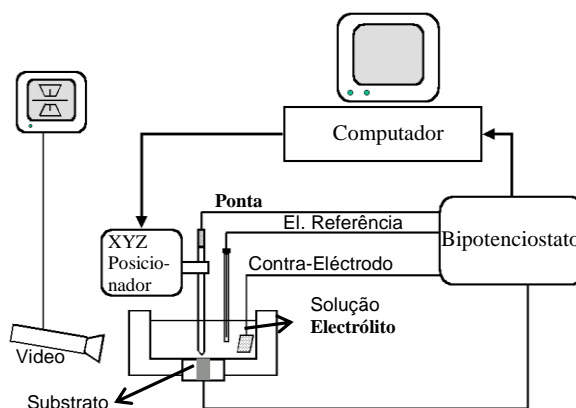


Figura 5.9 – Representação esquemática da montagem experimental do *SECM* (Adaptado de [15]).

A resolução das imagens de *SECM* depende fortemente do tamanho da ponta e da sua distância ao substrato [17]; a utilização de UME em forma de disco permite obter maior sensibilidade e uma corrente relativamente independente do raio do material isolador envolvente, r_g [18]. O uso de UME em que a corrente limite é controlada por difusão e, portanto, o fluxo de espécies para o eléctrodo-ponta é elevado, permite que fenómenos convectivos originados pelo deslocamento do UME na solução não afectem a sua resposta. Estando o eléctrodo-ponta afastado do substrato a corrente que nele flui é descrita pela equação:

$$i_{T,\infty} = 4nFDCa \quad \text{Eq. 5.5}$$

onde n é o número de electrões envolvidos na reacção por molécula, F a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}), a o raio do UME (cm^2), D o coeficiente de difusão da espécie ($\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$) e C a concentração dessa no seio da solução (mol cm^{-3}).

Nas proximidades do substrato, a corrente, i_T , é controlada pelas reacções electroquímicas no eléctrodo-ponta e no substrato-amostra e é função da condutividade e natureza química do último e da distância ponta/substrato, d , como se ilustra na figura 5.10.

Existem, fundamentalmente, três modos de operação [15, 19]: (1) Geração na ponta/Recolha no substrato - GP/RS (*Tip generation/Substrate collection - TG/SC*), caso em que a ponta é usada para gerar as espécies detectadas no eléctrodo-substrato; este modo é similar ao que ocorre no eléctrodo rotativo de disco e anel e é geralmente usado para o estudo de reacções homogéneas (a diminuição de corrente no substrato deve-se ao facto de as espécies electroactivas terem que se deslocar da ponta para o substrato). (2) Geração no substrato/Recolha na ponta - GS/RP (*Substrate generation/Tip collection - SG/TC*), modo em que a ponta detecta as espécies geradas no substrato; em geral é usado para o estudo de reacções na superfície do substrato. (3) “*Feedback*”, que é o modo de operação mais frequentemente usado e onde apenas é monitorizada a corrente na ponta; como se ilustra na figura 5.10, estando a ponta afastada da superfície do substrato, a corrente, $i_{T,\infty}$, é controlada pelo fluxo hemisférico de espécies da solução para a ponta. À medida que a ponta se aproxima de um substrato electricamente isolador, este bloqueia parte da difusão de espécies para a ponta e conseqüentemente a corrente diminui quando comparada com $i_{T,\infty}$. No limite, quando a distância, d , tende para zero, i_T , também tende

para zero – *Feedback Negativo*. Quando a ponta se aproxima de um substrato electricamente condutor, embora o substrato bloqueie a difusão (perturbação do fluxo hemisférico) de espécies O para a ponta (considerando a reacção na ponta: $O + ne^- \rightarrow R$), ocorre a reconversão de R em O no substrato. As espécies O geradas no substrato, difundem para a ponta, o que leva a um aumento do fluxo quando comparado com $i_{T,\infty}$. No limite, quando a distância, d, tende para zero, a ponta passa a um regime em que a transferência de electrões por efeito de túnel pode ocorrer e a corrente i_T aumenta significativamente – *Feedback Positivo*.

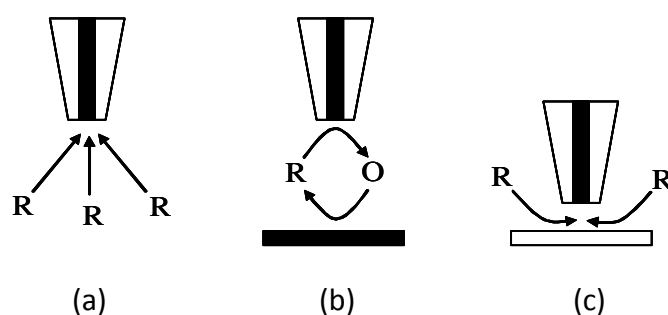


Figura 5.10 - Operação do SECM em modo *feedback*; (a) ponta afastada do substrato, (b) aproximação a substrato condutor e (c) aproximação a substrato isolador [15].

As curvas corrente-distância, ou curvas de aproximação, teóricas em modo *feedback* podem ser descritas pelas equações 5.6 e 5.7 para a aproximação a um substrato condutor e isolador, respectivamente [17, 20].

$$\text{Substrato condutor} \quad \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = k_1 + \frac{k_2}{L} + k_3 \exp\left(\frac{k_4}{L}\right) \quad \text{Eq. 5.6}$$

$$\text{Substrato isolador} \quad \frac{i_T}{i_{T,\infty}} = \frac{1}{k_1 + \frac{k_2}{L} + k_3 \exp\left(\frac{k_4}{L}\right)} \quad \text{Eq. 5.7}$$

onde L é a razão entre d e a (raio do UME) e os valores dos parâmetros k_1 a k_4 , dependem de RG ($RG = r_g/a$), que é a razão entre o raio do UME e do material isolador envolvente.

As imagens obtidas por SECM através de varrimentos no plano x-y, a distância constante do substrato (x-y vs. i_T ; z = constante) ou a corrente constante (x-y vs. d(z); $i_T = \text{constante}$),

permitted observing differences in chemical and electrochemical reactivity between surface details and obtain topographic images of conductive and insulating substrates.

In various applications of *SECM* one finds the study of conductive polymer films, self-assembled monolayers, application in biosensors and studies of electrocatalysis [4, 21-23].

Detalhes experimentais

For the Electrochemical Scanning Tunneling Microscopy (SECM) experiments, an electrochemical microscope: SECM 270 (Uniscan Instruments - UI) consisting of two potentiostat-galvanostats PG580R and a control unit SCV 100, interfaced with a computer for data acquisition with the SECM (UI) program and control of the xyz positioning system, figure 5.11.



Figura 5.11 - Imagem do SECM usado neste trabalho.

5.2.2.2. Microbalança electroquímica de cristal de quartzo, EQCM

The electrochemical quartz crystal microbalance (EQCM), based on the piezoelectric properties of quartz, has a platinum layer deposited on a titanium layer by thermal evaporation of the metal (*sputtering*), constituting the electrode, as shown in figure 5.12. One of the electrodes acts as part of the oscillator circuit, exposed to the air, and the other as the working electrode of the electrochemical cell, in contact with the solution.

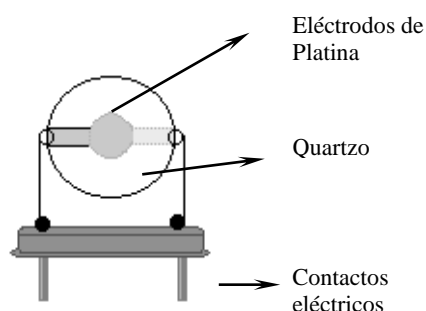


Figura 5.12 - Representação esquemática do eléctrodo usado na EQCM (Adaptado de [24]).

A relação entre as variações de massa na interface e de frequência de oscilação do cristal, é descrita pela equação de Sauerbrey [25, 26]:

$$\Delta f = \frac{-2 \Delta m n f_0^2}{A \sqrt{\rho_q \mu_q}} \quad \text{Eq. 5.8}$$

onde Δf é a variação da frequência de oscilação (Hz), Δm a variação da massa interfacial (g), A a área activa do eléctrodo (cm^2), f_0 a frequência de oscilação fundamental da microbalança (Hz), μ_q o módulo de deformação do quartzo ($\text{g cm}^{-1} \text{s}^{-2}$) e ρ_q a densidade do quartzo (g cm^{-3}) indicando que uma diminuição de frequência é proporcional a um aumento de massa na interface. Para uma frequência fundamental de 5 MHz é possível obter uma sensibilidade de $18 \text{ ng cm}^{-2} \text{ Hz}^{-1}$.

A aplicação da equação de Sauerbrey pressupõe que a massa adicionada ou perdida na superfície do oscilador não sofre qualquer deformação durante a oscilação, o que se aplica a filmes finos e rígidos.

A EQCM, tem sido usada para diferentes estudos, nomeadamente deposição de metais [27], adsorção [28], deposição e conversão redox de filmes poliméricos (politionina [29-31], polianilina [32], polipirrolo [32, 33]), imobilização de moléculas biológicas [31, 33] e nanopartículas metálicas [34].

A aplicação da EQCM ao estudo do crescimento de filmes finos sobre a superfície do eléctrodo permite a determinação da massa depositada, do número de electrões transferidos durante o crescimento, e da velocidade de crescimento, e diferenciar possíveis mecanismos. Na caracterização da conversão redox desses filmes, é possível

identificar o ganho e a perda de espécies (iões e solvente) e assim caracterizar o transporte de massa no filme [31]. Esta técnica tem também permitido quantificar outros processos a ocorrer na interface eléctrodo (ou eléctrodo modificado)/solução como fenómenos de adsorção, ligação covalente, imobilização de nanopartículas, etc. [31, 34-36].

Detalhes experimentais

Os estudos por Microbalança Electroquímica de Cristal de Quartzo foram realizados num sistema constituído por um Oscilador e um Analisador Electroquímico (CH Instruments, Inc. - USA), figura 5.13, acoplado a um computador para aquisição de dados com o auxílio do programa Chi 420.



Figura 5.13 – Ilustração do equipamento de EQCM usado e detalhe da ligação célula/oscilador.

5.3. Microscopia electrónica

A Microscopia Electrónica, ME, permite obter informação topográfica (detalhes e textura da superfície da amostra), morfológica (tamanho e forma dos detalhes da superfície da amostra), composicional (elementar e abundância relativa) e cristalográfica (arranjo atómico nos componentes da amostra). Esta técnica usa um feixe de electrões de alta energia, focado e monocromático, que é acelerado através de um campo eléctrico positivo, antes de incidir na amostra a analisar. É a interacção do feixe de electrões incidente com a amostra e os seus efeitos que tornam possível a análise por ME.

Os electrões incidentes podem interagir com a amostra de forma diversa, como ilustrado na figura 5.14, dando origem, nomeadamente, a electrões retro-difundidos, secundários, Auger e Raios-X, e transmitidos, dependendo da espessura da amostra.

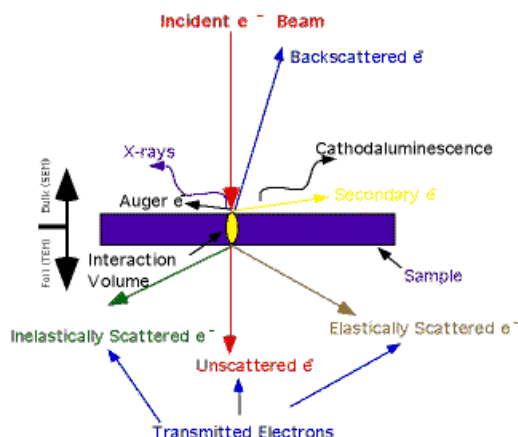


Figura 5.14 - Efeitos produzidos pelo bombardeamento de electrões numa amostra.

O microscópio electrónico de transmissão foi o primeiro tipo de microscópio electrónico a ser desenvolvido, por Max Knoll e Ernst Ruska em 1931. O primeiro microscópio electrónico de varrimento surgiu em 1942.

5.3.1. Microscopia Electrónica de Varrimento, SEM

Um microscópio electrónico de varrimento (*Scanning Electron Microscope, SEM*) é constituído por uma fonte monocromática de electrões de elevada energia, que são condensados por um sistema de lentes, condensadores e objectiva que permite focar o feixe na amostra, colocada num porta-amostras, sobre a qual se efectuam varrimentos; detectores para os sinais de interesse e sistemas de vácuo e arrefecimento [37]. Quando o feixe atinge a amostra ocorre interacção entre os electrões incidentes e os átomos da amostra que pode ser detectada através dos electrões retro-difundidos ou dos electrões secundários [37]. Os primeiros resultam da colisão de um electrão incidente com um átomo da amostra (colisão elástica, interacção electrão-núcleo), sendo aquele disperso. A quantidade é proporcional ao número atómico na amostra, pelo que os elementos mais pesados apresentam-se mais brilhantes do que os de menor número atómico numa imagem de microscopia electrónica de varrimento, SEM. Os segundos são produzidos quando um electrão incidente se aproxima de um átomo da amostra o suficiente para alguma da sua energia seja transferida para os electrões menos energéticos (normalmente na camada K), causando perda de energia e desvio da trajectória do electrão incidente e ionização do electrão no átomo da amostra, que deixa o átomo com uma energia cinética

muito baixa (5 eV) e é designado como “electrão secundário”. A produção destes electrões relaciona-se com a topografia da amostra; devido à sua baixa energia só os que existem próximo da superfície da amostra podem ser analisados (<10 nm). A sua detecção necessita do uso de um colector (que atrai os electrões secundários negativamente carregados antes de chegarem ao detector) juntamente com o detector de electrões secundários.

A microscopia electrónica de varrimento é uma técnica não-destrutiva que permite nomeadamente obter imagens de elevada resolução de detalhes da superfície da amostra (electrões secundários), mapear elementos numa amostra ou obter análise química de pontos na superfície (sistema acoplado de espectroscopia de Raios-X de dispersão de energias) e discriminação de fases com base no número atómico (electrões retro-difundidos) [37].

As amostras devem ser sólidas e ter dimensões compatíveis com as da câmara do microscópio, terem alguma condutibilidade e serem estáveis em vácuo (pressão na ordem dos 10^{-4} Pa), embora alguns tipos de microscópios permitam operar a baixo vácuo e em condições ambientais. Para amostras não-condutoras e equipamentos convencionais é, geralmente, necessária a aplicação de uma fina camada de um material condutor sobre a amostra, que pode ser nomeadamente de carbono ou ouro.

Detalhes experimentais

A caracterização morfológica de filmes poliméricos e superfícies de ITO modificadas foi efectuada num microscópio electrónico de varrimento *Field Emission Gun - Scanning Electron Microscope, FEG-SEM*, JEOL modelo 7001F. Dependendo da amostra, a tensão de aceleração usada foi de 10 ou 15 kV, e as imagens obtidas em modo de electrões secundários ou retro-difundidos, sem deposição de camada condutora.

5.3.2. Microscopia Electrónica de Transmissão

No microscópio electrónico de transmissão (*Transmission Electron Microscopy, TEM*) é também constituído por uma fonte de electrões num feixe monocromático que é focado por um sistema de lentes e condensadores que permite controlar o tamanho do feixe que incide na amostra, colocada num porta-amostras [38]. A parte do feixe que é transmitido

através da amostra, é então focado por uma lente objectiva numa imagem, que é ampliada por um sistema de lentes antes de chegar ao ecrã. As zonas escuras (mais espessas ou mais densas) e claras (mais finas ou menos densas) da imagem obtida correspondem a partes da amostra através das quais foram transmitidos maior e menor quantidade de electrões, respectivamente.

Esta técnica permite analisar o tamanho, forma e arranjo de partículas que constituem a amostra e dependendo do sistema até á escala dos diâmetros atómicos, incluindo o arranjo atómico (organização e defeitos) na gama de poucos nanómetros.

A possibilidade de acoplar diferentes detectores ao *TEM*, nomeadamente para a detecção da emissão de raios-X característicos dos elementos presentes na amostra, pode ser usada para a análise composicional e estrutural. Os electrões transmitidos, deflectidos do seu percurso original por átomos da amostra sem perda de energia, obedecem à lei de Bragg e portanto são difractados de acordo com: $\lambda = 2d \sin\theta$. O ângulo de difracção, θ , depende da distância interatómica, d , ou seja da natureza dos átomos na amostra; assim os electrões difractados segundo o mesmo ângulo podem ser usados para a formação de padrões de pontos em que cada um corresponde a uma distância interatómica específica (um plano de difracção) permitindo obter informação acerca da orientação, arranjos atómicos e fases presentes na amostra.

Esta técnica tem por desvantagens, nomeadamente, a morosidade na preparação de amostras complexas e a reduzida área de análise que pode não ser representativa do todo.

Detalhes experimentais

Neste trabalho, as amostras para análise por *TEM* foram preparadas colocando uma ou várias gotas da amostra sobre uma rede de cobre recoberta por um polímero (*formvar*), ilustrada na figura 5.15, deixando-se secar. Estas análises foram efectuadas num equipamento *Hitachi H8100 Electron Microscope* acoplado com um espectrofotometro de raios-x de dispersão de energias operando a uma voltagem de aceleração de 200 kV.

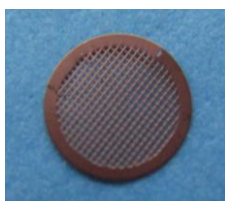


Figura 5.15 - Ilustração das grelhas para preparação de amostras para análise por *TEM*.

5.4. Microscopia de varrimento de sonda

A microscopia de varrimento de sonda (*Scanning Probe Microscopy, SPM*), inclui uma vasta gama de técnicas, que através de varrimentos lineares sucessivos de uma sonda física sobre a superfície da amostra cria imagens que traduzem as interações sonda/amostra. Inclui nomeadamente a microscopia de varrimento por efeito de túnel (*Scanning Tunneling Microscopy, STM*), a microscopia de força atómica (*Atomic Force Microscopy, AFM*) e a microscopia de varrimento electroquímico (*Scanning Electrochemical Microscopy, SECM*). A *AFM* surgiu com o desenvolvimento do primeiro microscópio de varrimento por efeito de túnel em 1981 por Gerd Binnig e Heinrich Rohrer, galardoados com o Prémio Nobel da Física em 1986 [39, 40].

A resolução depende da técnica escolhida podendo atingir a resolução atómica. As sondas, geralmente uma ponta muito aguçada, mais usadas são as de platina/irídio, nitreto de silício e ouro.

A elevada resolução e a possibilidade de operação em condições ambientais, tanto *ex-situ* como *in-situ* são vantagens destas técnicas.

5.4.1. Microscopia de Força Atómica

Princípios da Técnica

A técnica de Microscopia de Força Atómica baseia-se no varrimento de uma ponta muito aguçada (sonda) sobre a superfície de uma amostra (ou da amostra sob a ponta) através de um transdutor piezoeléctrico, registando-se um sinal em cada ponto da área analisada, resultante da interacção estabelecida entre a sonda e a amostra. Na grande maioria das situações, o sinal medido é convertido em distância entre a sonda e amostra em cada ponto, obtendo-se informação topográfica da superfície analisada [41].

No caso da *AFM* a ponta é montada num braço (*cantilever*), que funciona como uma mola e é sensível a pequenas variações de forças resultantes da interacção da ponta com a amostra. A deflexão do *cantilever* é proporcional à variação de força e depende da sua constante de mola (Lei de Hooke). Aquela é geralmente detectada por técnicas ópticas (figura 5.16). Um feixe laser é incidido no *cantilever* e a sua reflexão é direccionada para

um fotodíodo. Deste modo, os deslocamentos verticais da ponta, e portanto a topografia da amostra são analisados com base nas diferentes intensidades recolhidas pelo fotodíodo.

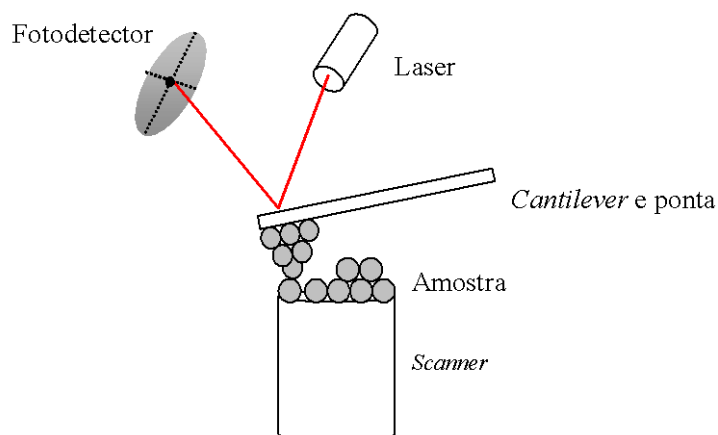


Figura 5.16 - Esquema de deflexão do feixe laser em *AFM*.

Em *AFM* é comum considerar três modos distintos de funcionamento: modo de contacto, modo intermitente (*tapping*) e modo de não-contacto. O modo de contacto consiste no contacto permanente entre a sonda e a amostra, permitindo medir forças interatómicas repulsivas, o que conduz à obtenção de imagens de elevada resolução em superfícies lisas e com alguma rigidez. No entanto, quando se pretende analisar materiais mais maleáveis e que são facilmente deformáveis pela ponta, utiliza-se muito frequentemente o modo intermitente. Neste caso, a ponta oscila a uma dada frequência (da ordem de kHz) com uma grande amplitude e contacta a superfície da amostra ao fim de um ciclo de oscilação. Quando se estabelecem as forças de interacção (ou gradientes de força) a amplitude da oscilação é atenuada. Este modo apresenta a possibilidade de fornecer informação adicional à topográfica, através das variações de fase do *cantilever* oscilante, devido à presença de materiais com propriedades distintas, tais como dureza e viscoelasticidade [86]. O modo de não-contacto implica também oscilação da ponta, a baixa amplitude e a uma certa distância (dezenas de nm) da amostra, evitando-se o contacto. A ponta é sensível a forças de longo alcance, tais como interacções de Van der Waals, magnéticas, eléctricas que se reflecte na alteração da amplitude, fase ou frequência da oscilação e é utilizada para seguir a topografia da superfície em simultâneo com o registo de domínios magnéticos, eléctricos, etc., consoante o tipo de interacção.

Esta técnica aplica-se a amostras condutoras e isoladoras, permite obter imagens tridimensionais com informação topográfica das áreas analisadas da amostra, estimar a

rugosidade através do factor de rugosidade *rms* (*root mean square*) dado equação 5.9, e tem elevada resolução.

$$rms = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N Z_i^2} \quad \text{Eq. 5.9}$$

onde sendo *N* é o número de pontos analisados e *Z_i* a distância do ponto *i* ao nível médio superficial.

Tem sido usada, nomeadamente, na caracterização morfológica de eléctrodos modificados por polímeros condutores [42, 43] e monocamadas auto-montadas [44, 45].

Detalhes experimentais

A caracterização morfológica dos eléctrodos modificados, efectuada por Microscopia de Força Atómica, foi realizada num microscópio de força atómica: Multimode AFM/STM acoplado a um controlador Nanoscope IIIa (Digital Instruments, Veeco), figura 5.17. Todas as imagens de *AFM* foram obtidas *ex situ* em modo intermitente (*tapping*) com pontas de silício (RTESP7, Veeco), com uma frequência de oscilação de aproximadamente 300 kHz.



Figura 5.17 - Ilustração do equipamento de *AFM* usado.

5.4.2. Microscopia de varrimento por efeito de túnel

Princípios da Técnica

Baseia-se no princípio de que quando uma ponta condutora muito aguçada é colocada muito próxima da superfície de uma amostra a uma distância *d* (na ordem 9 Å), a aplicação de um potencial (*bias*) entre a ponta e a amostra permite a passagem de electrões através

do espaço d entre eles (barreira de energia potencial), resultando numa corrente de túnel, i_T , cujo sentido depende da polaridade do potencial aplicado, figura 5.18 (a).

A corrente de túnel depende da distância ponta-amostra, diferença de potencial aplicado e altura da barreira de potencial [39]. Em sistemas reais, em que a ponta aguçada e tridimensional (de forma semi-hemisférica de raio R) e a amostra não são do mesmo metal, é necessário ter em conta a densidade de estados electrónicos, figura 5.18 (b).

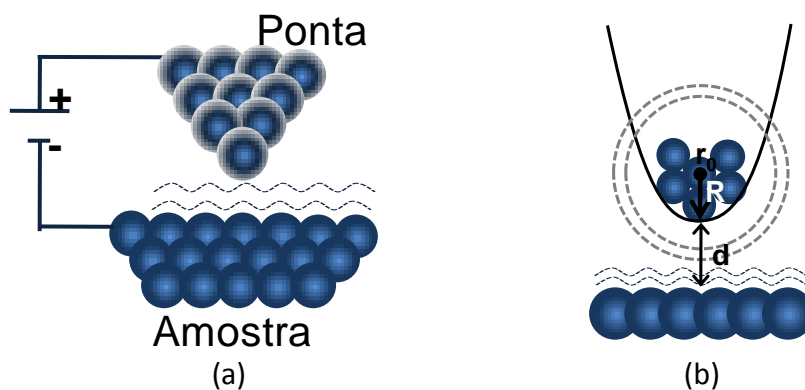


Figura 5.18 - Representação esquemática do princípio de funcionamento do microscópio de varrimento por efeito de túnel (a) e densidade local de estados na superfície da amostra e electrões livres na ponta (b) (Adaptado de [39]).

Neste caso, a corrente de túnel pode ser descrita pela equação:

$$i_T = C^* V \rho_d(r_0, E_F) \quad \text{Eq. 5.10}$$

onde C^* é constante e $\rho(r_0, E_F)$ é a densidade local de estados dos electrões da amostra no nível de Fermi (não na superfície da amostra) na posição r_0 (centro de curvatura da ponta), ou seja, à distância $(d+R)$ da amostra.

Esta corrente, monitorizada em cada ponto ao longo de varrimentos lineares sucessivos da ponta sobre a amostra, depende da posição da ponta, potencial aplicado e das propriedades da amostra (densidade de estados electrónicos). Como requisitos principais encontram-se a necessidade de amostras muito planas, limpas e estáveis, pontas muito aguçadas (idealmente com apenas um átomo na sua extremidade), isolamento de vibrações ambientais e um sistema electrónico muito sofisticado. Movimentos da ponta (controlado por um sistema piezoeléctrico) sobre a amostra no plano x-y permitem monitorizar diferenças de altura (eixo dos z) e densidade de estados, o que se traduz em

alteração da resposta em termos de corrente de túnel. Existem dois modos de operação fundamentais, varrimentos a distância constante (*constant height mode*) e varrimentos a corrente constante (*constant current mode*) [46]. No primeiro, os varrimentos no plano x-y efectuados a voltagem e distância ponta-amostra (posição da amostra no eixo dos zz) constantes, variando a corrente de túnel que se traduz em imagens com informação de densidade de carga na superfície. No segundo, para garantir que a corrente de túnel é mantida constante, o sistema de posicionamento ajusta a distância ponta-amostra em cada ponto dando origem a imagens que reflectem a distância da ponta em relação à amostra numa superfície com densidade de carga constante [46].

Esta técnica tem sido amplamente usada para a caracterização de monocamadas auto-montadas com resolução molecular [47, 48].

Detalhes experimentais

A caracterização dos eléctrodos modificados foi efectuada por *STM* no microscópio usado para obter imagens de *AFM*, figura 5.17. Todas as imagens foram obtidas *ex situ* em modo de sinal constante com pontas de platina/irídio mecanicamente cortadas; ao longo das experiências foi aplicada uma corrente média de 150 pA e cerca de 800 mV de potencial (*bias*)..

5.5. Espectroscopia de Ultra-violeta visível, UV-vis

Esta técnica utiliza luz com comprimentos de onda na gama da luz visível, entre 400 e 800 nm, e ultra-violeta, entre 200 e 400 nm. Nesta gama, moléculas sofrem transições electrónicas moleculares e partículas em suspensão são afectadas pela onda electromagnética incidente, sendo possível estudar a absorção da luz por moléculas em solução e por suspensões coloidais de nanopartículas ao longo do intervalo de valores de comprimento de onda.

Princípios da Técnica

A radiação electromagnética pode ser considerada como uma onda, sendo caracterizada por um frequência, f , e um comprimento de onda, λ . O espectro electromagnético

compreende uma gama muito alargada de valores de λ , desde os raios- γ e X (comprimento de onda muito curto) às micro-ondas e ondas de rádio (comprimentos de onda longos), figura 5.19.

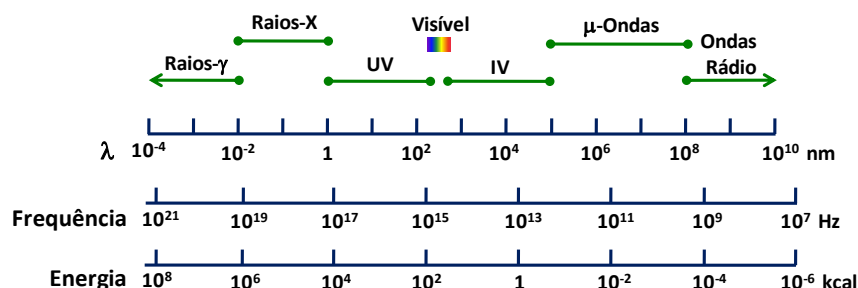


Figura 5.19 – Representação esquemática da gama de comprimentos de onda, frequência e energia do espectro electromagnético.

A radiação usada, fotões com energia na gama entre 36 e 72 kcal/mol (visível) e 143 kcal/mol (ultravioleta-próximo), tem energia suficiente para excitar electrões moleculares de uma orbital molecular ocupada de maior energia (HOMO) a uma orbital molecular desocupada de menor energia (LUMO), transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$, como ilustrado na figura 5.20.

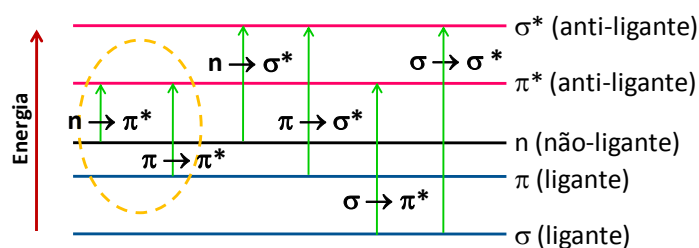


Figura 5.20 - Representação esquemática das transições moleculares possíveis numa molécula.

Numa montagem convencional, um feixe monocromático é dividido em dois feixes, de igual intensidade, que atravessam a amostra e uma referência (normalmente o solvente), contidos em cuvetes de um material transparente à radiação. A intensidade medida na referência, i_0 , é subtraída ao valor, i , medido na amostra. Um espectro de UV-vis é obtido varrendo uma gama de valores de comprimento de onda, sendo a intensidade (absorvida ou transmitida) registada. Os resultados podem ser apresentados na forma de transmitância ($T = i/i_0$) ou absorvância ($A = \log i_0/i$) e o comprimento de onda ao qual a

absorvância é máxima, $\lambda_{\max.}$ é um valor característico da amostra. De acordo com a lei de Beer ($A = \varepsilon b c$) a absorvância é directamente proporcional à concentração da amostra, c , e ao passo óptico, b ; o parâmetro absorvidade molar, ε , de um composto permite comparar diferentes compostos.

Os solventes a usar devem ser não-absorventes para não interferir com as medições.

Suspensões coloidais de partículas nanométricas apresentam frequentemente bandas de absorção na região do ultra-violeta e visível que correspondem a oscilações colectivas dos electrões na banda de condução das partículas em ressonância com a onda electromagnética da luz, nestas condições a radiação é absorvida. A penetração da onda electromagnética (da ordem dos 50 nm para a Ag e o Au) cria um campo eléctrico que induz um dipolo eléctrico na partícula metálica e a oscilação dos electrões da superfície - plasmões de superfície, e a interacção com a radiação visível é designada de Ressonância Plasmónica de Superfície (*Surface Plasmon Resonance, SPR*) [49-51] como ilustrado na figura 5.21. Os espectros de absorção de nanopartículas, nomeadamente as dos metais Ag, Au e Cu têm sido extensivamente investigados, incluindo o efeito no espectro da variação do tamanho e forma da partícula [52-55]. Esta interacção (posição, intensidade e largura da banda de plasmão) tem sido descrita pela teoria de Mie para partículas esféricas de pequenas dimensões (muito menores do que o comprimento de onda da radiação incidente) [56-59]; outras teorias têm sido também desenvolvidas para partículas de maiores dimensões (por exemplo para o Au com $2R > 25$ nm) e com formas diferentes (elipsóides, bastonetes, prismas triangulares, etc.), cujas características dos plasmões de superfície são significativamente diferentes [58, 60-62].

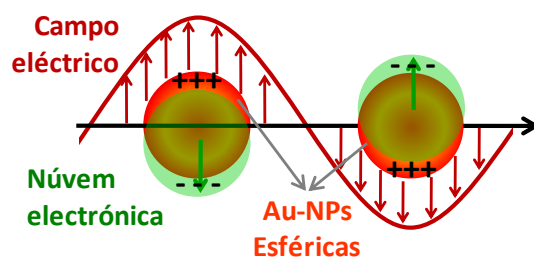


Figura 5.21 - Representação esquemática da oscilação colectiva dos electrões livres numa nanopartícula metálica sob o efeito da onda electromagnética da luz (Adaptado de [58]).

O espectro de absorção de suspensões coloidais de partículas metálicas é afectado por vários factores, nomeadamente a posição e a intensidade da banda de absorção variam com o tamanho e forma das partículas, são também afectadas pelo solvente usado e pela presença de estabilizadores [59, 61, 63].

Detalhes Experimentais

As medidas espectroscópicas de UV-Vis, para este trabalho, foram realizadas num espectrofotómetro Jasco V-560 de feixe duplo operando a uma resolução de 2 nm na gama de comprimentos de onda 200-900 nm. Para as leituras em solução foram utilizadas células de quartzo de 3 mL com passo óptico de 1 cm. Leituras através de superfícies transparentes de ITO modificadas foram efectuadas sobre as amostras secas colocadas no compartimento de amostra usando como referência uma superfície não modificada.

5.6. Difracção de raios-X, XRD

Os raios-X foram descobertos por Wilhelm Conrad Rontgen em 1895 e são radiação electromagnética de elevada energia (~100 eV – 1 MeV), situando-se entre a radiação dos raios- γ e os ultra-violeta (UV) no espectro electromagnético [64-67].

A difracção de raios-X, DRX (*X-ray Diffraction, XRD*) é uma técnica analítica não-destrutiva e pode ser usada para caracterizar a “impressão digital” de materiais cristalinos e para a determinação da sua estrutura (por ex. o tipo de empacotamento no estado cristalino, tamanho e forma da célula unitária) por comparação dos parâmetros obtidos com os das fichas publicadas pelo *JCPDS-ICDD (Joint Committee on Powder Diffraction Standards, International Centre for Diffraction Data)*.

Princípios da técnica

Os raios-X são obtidos através da interacção de um feixe externo de electrões e os electrões no átomo. O comprimento de onda, λ , dos raios-X, entre 10 nm e 1 pm (gama útil entre os 0,05 – 0,25 nm), é adequado para “observar” a estrutura cristalina a nível

atómico, uma vez que é comensurável tanto com o tamanho atômico como com a distância inter-atômica nos materiais cristalinos, tipicamente 0,2 nm [66].

Existem principalmente 3 métodos de difração: método de Laue (o mais antigo, permite obter padrões de difração), método do cristal em rotação (permite obter padrões de difração de monocristais, usa um feixe monocromático e o cristal a analisar é rodado relativamente ao feixe incidente) e o método de difração de pós [64-67]. O último permite analisar domínios cristalinos aleatoriamente orientados na amostra, misturas de diversos componentes com variadas orientações e dimensões (macroscópicos ou materiais em filme fino) e partículas em suspensões líquidas. A possibilidade de identificação de fases do mesmo material torna-se importante quando as propriedades dos materiais dependem da sua estrutura. Na difração de pós, de acordo com a lei de Bragg, equação 5.11, a difração de uma amostra cristalina pode ser comparada com a reflexão num espelho; um feixe de radiação X incidente, λ_0 , numa amostra é difractado segundo um ângulo θ_{hkl} (ângulo de difração ou de Bragg) por uma série de planos reticulares, todos com o mesmo índice de Miller (hkl), paralelos entre si e igualmente espaçados (distância inter-planar d_{hkl}), figura 5.22.

$$n \lambda = 2 d_{hkl} \sin(\theta_{hkl}) \quad \text{Eq. 5.11}$$

onde n é o número inteiro que exprime a ordem de difração.

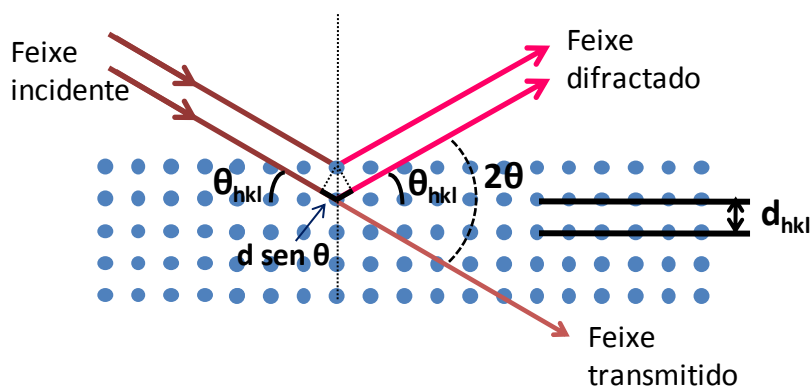


Figura 5.22 - Representação esquemática da geometria da difração de raios-X monocromáticos por uma família de planos reticulares paralelos, que permite verificar a lei de Bragg.

A lei de Bragg também é válida para moléculas ou conjuntos de moléculas (colóides, polímeros, proteínas e partículas de vírus).

De um difractograma típico (intensidade vs 2θ) podem retirar-se os seguintes parâmetros: posição, intensidade, largura a meia altura e formas dos picos, que estão relacionados com a composição e estrutura do material em análise.

No caso de amostras compostas por cristalites de pequenas dimensões, < 100 nm, como é o caso das nanopartículas metálicas, os picos de difracção de raios-X tendem a aparecer com formas alargadas. Nestes casos, aplica-se a equação de Scherrer [68]:

$$t = \frac{K \lambda}{B \cos\theta} \quad \text{Eq. 5.12}$$

onde t é o tamanho médio dos domínios ordenados da cristalite (que é menor ou igual ao tamanho do grão da amostra, nm), K o factor de forma (geralmente 0,9), λ o comprimento de onda dos raios-X (0,15418 nm), B é a largura a meia altura do pico de difracção (grau) e θ o ângulo de Bragg (grau).

Um difractómetro de raios-X é, geralmente, constituído por uma fonte de radiação; um porta-amostras colocado no eixo de um goniómetro; um detector da radiação difractada que a converte em impulsos eléctricos, e por um sistema de registo. Os raios-X são, geralmente, produzidos quer por tubos de raios-X quer por radiação de sincrotrão. Em instrumentos de laboratório, a primeira é a mais usada. Neste caso, os raios-X, gerados quando um feixe focado de electrões acelerados (geralmente provenientes de um filamento de tungsténio aquecido), através de um campo de elevada voltagem, atingem um alvo (ânodo). Da colisão resulta um abrandamento dos electrões e um espectro contínuo de radiação-X é emitido sobreposto com picos de raios-X intensos (K_α e K_β), cujas frequências são características desse material. Os electrões de maior energia ejectam electrões das camadas electrónicas mais internas dos átomos K (ionização). Quando um electrão livre preenche essa camada (decaimento), um fóton de raios-X com energia característica do material, é emitido na forma de radiação (electrões da camada L dão origem a linhas K_α). Esta pode ser obtida a partir de, por exemplo, Cobre, Cobalto ou Molibdénio. A mais geralmente usada é a emitida pelo Cobre que tem um comprimento de onda para a radiação K_α característico, $\lambda_{Cu} = 0,15418$ nm. Um difractómetro convencional utiliza a geometria Bragg-Brentano em que o porta amostras e o detector estão rigidamente ligados ao goniómetro, sendo a rotação do detector de 2θ automaticamente

acompanhada de uma rotação da amostra de θ . Neste caso, os ângulos de incidência e de reflexão são iguais entre si e iguais a metade do ângulo de difracção. Esta geometria apenas permite a análise dos planos cristalográficos paralelos à superfície e devido ao grande poder de penetração dos raios-X leva a que informação relativa ao substrato possa adicionar-se e ou sobrepor-se à de camadas finas de amostra [69].

Detalhes experimentais

Ao longo deste trabalho a técnica de difracção de raios-X usada foi a de difracção de pós na geometria Bragg-Brentano. Os difractogramas foram adquiridos num difractómetro *Phillips* modelo *PW 1710*, entre os valores de 2θ de 30 a 80°, com passo de 0,010° e tempo por passo de 5,000 s. O controlo do difractómetro e a aquisição de dados foi efectuada automaticamente através de um computador acoplado ao equipamento e do *software Phillips PC – APD* versão 3.5B. O equipamento foi previamente calibrado através da aquisição do difractograma de um padrão de silício e comparação da posição do pico correspondente ao plano (220) com o valor registado na ficha *JCPDS* nº 27-1402 do Si ($2\theta = 47,304^\circ$).

As análises foram sempre efectuadas utilizando a radiação $k_{\alpha 1}$ de uma ampola de cobre ($\lambda = 0,15405$ nm) e o equipamento a operar a 30 mA e 40 kV.

As amostras a analisar (suspensões coloidais de nanopartículas) foram depositadas num disco de silício amorfo, figura 5.23, colocando gotas da suspensão sobre a superfície e deixando secar, durante 2 dias; os filmes poliméricos finos modificados por nanopartículas foram depositados em superfícies de platina e estas adaptadas usando lâminas de vidro para colocação no porta-amostras.



Figura 5.23 - Ilustração do disco de silício amorfo usado como suporte para a análise de nanopartículas por difracção de Raios-X.

5.7. Referências

- [1] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, *J. Phys. Chem. B* **110** (2006) 15700.
- [2] M. Chirea, V. García-Morales, J.A. Manzanares, C. Pereira, R. Gulaboski, F. Silva, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 21808.
- [3] J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hiller, *Discuss. Faraday Soc.* **11** (1951) 55.
- [4] C.M. Sánchez-Sánchez, F.J. Vidal-Iglesias, J. Solla-Gullón, V. Montiel, A. Aldaz, J.M. Feliu, E. Herrero, *Electrochim. Acta* **55** (2010) 8252.
- [5] J. Pérez-Juste, L.M. Liz-Marzán, S. Carnie, D.Y.C. Chan, P. Mulvaney, *Adv. Funct. Mater.* **14** (2004) 571.
- [6] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 14078.
- [7] N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy, *Langmuir* **17** (2001) 6782.
- [8] A. Gole, C.J. Murphy, *Chem. Mater.* **16** (2004) 3633.
- [9] J. Hernández, J. Solla-Gullón, E. Herrero, A. Aldaz, J.M. Feliu, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 12651.
- [10] B.D. Busbee, S.O. Obare, C.J. Murphy, *Adv. Mater.* **15** (2003) 414.
- [11] K. Kwon, K.Y. Lee, Y.W. Lee, M. Kim, J. Heo, S.J. Ahn, S.W. Han, *J. Phys. Chem. C* **111** (2007) 1161.
- [12] Southampton Electrochemistry Group, *Instrumental Methods in Electrochemistry*, Ellis Horwood Limited, U.K., **1990**.
- [13] A.M.O. Brett, C.M.A. Brett, *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*, Livraria Almedina, Coimbra, Portugal, **1996**.
- [14] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2ª Ed., John Wiley, New York, USA, **2001**.
- [15] A.J. Bard, M.V. Mirkin, *Scanning Electrochemical Microscopy*, Marcel Dekker, New York, USA, **2001**.
- [16] J. Kwak, A.J. Bard, *Anal. Chem.* **61** (1989) 1794.
- [17] L. Rajendran, S.P. Ananthi, *J. Electroanal. Chem.* **561** (2004) 113.

- [18] M.V. Mirkin, B.R. Horrocks, *Anal. Chim. Acta* **406** (2000) 119.
- [19] P.Sun, F.O. Laforge, M.V. Mirkin, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **9** (2007) 802.
- [20] J. Amphlett, G. Denuault, *J. Phys. Chem. B* **102** (1998) 9946.
- [21] J. Wang, F. Song, F. Zhou, *Langmuir* **18** (2002) 6653.
- [22] B. Liu, A.J. Bard, C.-Z. Li, H.-B. Kraatz, *J. Phys. Chem. B* **109** (2005) 5193
- [23] P. Liljeroth, B.M. Quinn, *J. Am. Chem. Soc.* **128** (2006) 4922.
- [24] G.G. Guilbault, C.K. O'Sullivan, *Biosens. Bioelectron.* **14** (1999) 663.
- [25] M.R. Deakin, D.A. Buttry, *Anal. Chem.* **61** (1989) 1147A.
- [26] S. Bruckenstein, M. Shay, *Electrochim. Acta* **30** (1985) 1295.
- [27] M. Grden, K. Klimek, A. Czerwinski, *Electrochim. Acta* **51** (2006) 2221.
- [28] H.M. French, M.J. Henderson, A.R. Hillman, E. Vieil, *J. Electroanal. Chem.* **500** (2001) 192.
- [29] A.R. Hillman, D.C. Loveday, M.J. Swann, R.M. Eales, A. Hamnett, S.J. Higgins, S. Bruckenstein, C.P. Wilde, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **88** (1989) 151.
- [30] S. Bruckenstein, C.P. Wilde, M. Shay, A.R. Hillman, *J. Phys. Chem.* **94** (1990) 787.
- [31] V. Ferreira, A. Tenreiro, L.M. Abrantes, *Sens. Actuat. B-Chem.* **119** (2006) 632.
- [32] N. Oyama, T. Ohsaka, *Progr. Polym. Sci.* **20** (1995) 761.
- [33] L.M. Abrantes, C.M. Cordas, E. Vieil, *Electrochim. Acta* **47** (2002) 1481.
- [34] M. Yang, Z. Zhang, *Electrochim. Acta* **49** (2004) 5089.
- [35] W. Paik, S. Eu, K. Lee, S. Chon, M. Kim, *Langmuir* **16** (2000) 10198.
- [36] H.Q. Zhao, L. Lin, J.R. Li, J.A. Tang, M.X. Duan, L. Jiang, *J. Nanopart. Res.* **3** (2001) 321.
- [37] B. L. Gabriel, *SEM: A User's Manual for Materials Science*, Ed. American Society for Metals, USA, **1985**.
- [38] Marc De Graef, *Introduction to conventional Transmission Electron Microscopy*, Cambridge University Press, Cambridge, U.K., **2003**.
- [39] Chunli Bai, *Springer Series in Surface Science: Scanning Tunneling Microscopy and its applications*, Springer, Germany, **2000**.
- [40] Press Release: *The 1986 Nobel Prize in Physics*, Nobelprize.org. (16 Nov 2010) http://nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1986/press.html
- [41] G. Friedbacher, H. Fuchs, *Pure Appl. Chem.* **71** (1999) 1337.

- [42] A. Mourato, A.S. Viana, J.P. Correia, H. Siegenthaler, L.M. Abrantes, *Electrochim. Acta* **49** (2004) 2249.
- [43] M. Innocenti, F. Loglio, L. Pigani, R. Seeber, F. Terzi, R. Udisti, *Electrochim. Acta* **50** (2005) 1497.
- [44] A. Kathrena, A. Aliganga, A.-S. Duwez, S. Mittler, *Org. Electron.* **7** (2006) 337.
- [45] A. Tlili, A. Abdelghani, K. Aguir, M. Gillet, N. Jaffrezic-Renault, *Mat. Sci. Eng. C-Solid* **27** (2007) 620.
- [46] J.A. Stroscio, W.J. Kaiser, *Methods of Experimental Physics - Scanning Tunneling Microscopy*, vol. 27, Academic Press Inc., USA, **1993**.
- [47] W. Jiang, N. Zhitenev, Z. Bao, H. Meng, D. Abusch-Magder, D. Tennant, E. Garfunkel, *Langmuir* **21** (2005) 8751.
- [48] R.K. Smith, P.A. Lewis, P.S. Weiss, *Prog. Surf. Sci.* **75** (2004) 1.
- [49] A. Moores, F. Goettmann, *New J. Chem.* **30** (2006) 1121.
- [50] J.M. Pitark, V.M. Silkin, E.V. Chulkov, P.M. Echenique, *J. Opt. A-Pure Appl. Op.* **7** (2005) S73.
- [51] P. Mulvaney, *Langmuir* **12** (1996) 788.
- [52] Y. Chen, X. Gu, C.-G. Nie, Z.-Y. Jiang, Z.-X. Xie, C.-J. Lin, *Chem. Commun.* (2005) 4181.
- [53] N.R. Jana, L. Gearheart, C.J. Murphy, *Adv. Mater.* **13** (2001) 1389.
- [54] H. Chen, X. Kou, Z. Yang, W. Ni, J. Wang, *Langmuir* **24** (2008) 5233.
- [55] D.K. Bhui, H. Bar, P. Sarkar, G.P. Sahoo, S.P. De, A. Misra, *J. Mol. Liq.* **145** (2009) 33.
- [56] G. Mie, *Ann. Physik.* **25** (1908) 377.
- [57] H. Horvath, *J. Quant. Spectrosc. Ra.* **110** (2009) 787.
- [58] K.L. Kelly, E. Coronado, L.L. Zhao, G.C. Schatz, *J. Phys. Chem. B* **107** (2003) 668.
- [59] - P.K. Jain, I.H. El-Sayed, M.A. El-Sayed, *Nano Today* **2** (2007) 18.
- [60] S.W. Prescott, P. Mulvaney, *J. Appl. Phys.* **99** (2006) 123504.
- [61] J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L.M. Liz-Marzán, P. Mulvaney, *Coord. Chem. Rev.* **249** (2005) 1870.
- [62] A. Jillavenkatesa, S.J. Dapkunas, L.-S.H. Lum, *NIST recommended practice guide – Particle Size Characterization*, 960-1, NIST, USA, 2001.
- [63] V. Myroshnychenko, J. Rodríguez-Fernández, I. Pastoriza-Santos, A.M. Funston, C. Novo, P. Mulvaney, L.M. Liz-Marzán, F.J. García de Abajo, *Chem. Soc. Rev.* **37** (2008) 1792.

- [64] Lesley Smart, Elaine Moore, *Solid state chemistry – an introduction*, Nelson Thornes Ltd., U.K., **2001**.
- [65] Vitali K. Pecharsky, Peter Y. Zavalij, *Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials*, Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, USA , **2003**.
- [66] C. Suryanarayana, M. Grant Norton, *X-Ray diffraction: a practical approach*, Plenum Press, New York, USA, **1998**.
- [67]Anthony R. West, *Basic solid state chemistry*, John Willey and Sons Ltd., Chichester, England, **1999**.
- [68] K. Punyawudhoa, D.A. Blomb, J.W. Van Zeec, J.R. Monnier, *Electrochim. Acta* **55** (2010) 5349.
- [69] R.D. Tarey, R.S. Rastogi, K.L. Chopra, *Rigaku J.* **4** (1987) 11.

Capítulo 6

Conclusões Finais

6. Conclusões Finais

A combinação de técnicas espectroscópicas, microscópicas e electroquímicas permitiu caracterizar NPs de ouro e de platina formadas, controlando as condições de síntese, quanto ao tamanho, à forma, à orientação cristalográfica superficial, à estabilidade e à actividade electroquímica. A resposta electroquímica das Au-NPs em reacções sensíveis à superfície foi usada para a sua caracterização e avaliação do efeito de espécies adsorvidas; a contribuição dos domínios cristalinos da superfície das Au-NPs foi discriminada usando a deposição a sub-potencial de chumbo; o efeito da natureza das Au-NPs e do surfactante adsorvido foi evidenciado através da resposta electroquímica para a reacção de oxidação do ácido ascórbico (AA). A força de interacção distinta, entre o CTAB e os domínios cristalográficos existentes na superfície das Au-NPs, afecta a resposta electrocatalítica para a reacção usada e permitiu controlar a acessibilidade do AA à superfície de Au das NPs. Nas Au-NPs com forma de bastonetes, com domínios cristalinos na superfície orientados segundo os planos (111) e (110), a interacção fraca do CTAB com os primeiros conduziu a um a resposta electroquímica com dois picos de oxidação a 110 e 440 mV, relacionáveis com os obtidos em Au(111) após imersão em solução de CTAB ($E_p = 155$ e 370 mV), que resultam da reacção ocorrer nos domínios com orientação (111). Por outro lado, nas Au-NPs cúbicas, com orientação cristalográfica superficial preferencial (100) (com a qual o CTAB interage fortemente), nas Au-NPs sem surfactante (cubos e bastonetes) e nas esféricas (poliorientadas e estabilizadas por iões citrato fracamente adsorvidos), somente um processo de oxidação foi detectado nos perfis voltamétricos. Este, a valores de potencial superiores a 400 mV, resulta da contribuição das arestas poliorientadas, nas Au-NPs cúbicas, e da média da superfície nas partículas sem surfactante e nas esféricas.

A imobilização das Au-NPs esféricas em superfícies de Au(111) modificadas por monocamadas auto-montadas (SAMs), funcionalizadas com grupos tiol livres na interface com a solução, por imersão na suspensão coloidal, foi demonstrada por técnicas microscópicas, microgravimétricas e electroquímicas. Os resultados electroquímicos e microscópicos mostraram que a presença de grupos -SH na interface SAM/solução em

monocamadas de α,ω -alcanoditióis introduziu perturbações ao empacotamento que resultaram numa diminuição da organização, da estabilidade e do bloqueio à transferência electrónica da SAM, entre espécies electroactivas em solução e a superfície do eléctrodo. A adsorção de ditióis sob potencial aplicado poderá ser uma via para a formação de SAMs funcionalizadas mais organizadas. A inserção de moléculas de *n*-alcanotiol, com igual comprimento de cadeia alquilo, nas SAMs de ditiol permitiu ultrapassar parcialmente os problemas de organização. As SAMs mistas, têm a vantagem adicional de permitir controlar a quantidade de grupos funcionais na interface com a solução e consequentemente a quantidade de Au-NPs ($\varnothing = 15$ nm) imobilizadas através de interacção específica Au-S. A quantidade determinada por microbalança de cristal de quartzo (QCM) foi de $2,49 \times 10^{10}$ e $0,15 \times 10^{10}$ partículas cm^{-2} , nas SAMs simples e mista com 1,6-hexanoditiol, respectivamente; naquelas com 1,10-decanoditiol depositaram-se $5,18 \times 10^{10}$ (simples) e $1,28 \times 10^{10}$ partículas cm^{-2} (mista). O confinamento das Au-NPs na SAM de 1,10-decanoditiol foi também confirmada pelo aumento do contraste na imagem de fase obtida por AFM e pelo aumento do valor de rugosidade *rms*, nas imagens topográficas, de 0,31 nm, antes da imobilização, para 0,55 nm, com as Au-NPs. As superfícies modificadas com monocamadas contendo moléculas de ditiol mostraram que os grupos tiol, adequadamente orientados na interface com a solução, podem ser usados para o desenvolvimento de arquitecturas formadas por Au-NPs e SAMs com ditióis. Nestas, as propriedades electroquímicas são controladas pelo número de camadas dos componentes: para a camada de ditiol exposta na interface com a solução a t.e. é mais bloqueada, quando comparada com a camada seguinte de Au-NPs e os perfis voltamétricos tendem para um comportamento do tipo-microeléctrodo após 4 camadas (ditiol/Au-NPs). Uma abordagem promissora para a aplicação de superfícies de eléctrodos modificadas por SAMs funcionalizadas (com grupos tiol livres na interface com a solução) no desenvolvimento de sensores electroquímicos, poderá aliar as propriedades de SAMs de R-SH (R = aromáticos ou alifáticos com ligações duplas conjugadas), que facilitam a t.e., com as M-NPs imobilizadas por interacções específicas Metal-S.

A modificação de superfícies de platina, por electropolimerização de derivados do tiofeno, i.e. com átomos de enxofre à superfície do filme, permitiu a imobilização de nanopartículas pré-sintetizadas de ouro e de platina através de interacções M-S.

No caso do poli(3-metiltiofeno) - P(3-MeT) - o estudo detalhado da electropolimerização e caracterização do comportamento redox e da morfologia confirmou que a formação do polímero ocorre em etapas distintas envolvendo a formação de uma primeira camada compacta sobre a qual cresce uma menos densa e mais porosa e que os filmes com electroactividade semelhante ($Q_{ox.} \approx 8 \text{ mC cm}^{-2}$) formados potenciostaticamente são mais rugosos ($R_q = 31 \text{ nm}$) que os crescidos potenciodinamicamente ($R_q = 17 \text{ nm}$). Os dados obtidos por *EQCM* permitiram estimar a eficiência da electropolimerização entre 44 e 54 %. Em filmes finos, crescidos com uma carga de $15,2 \text{ mC cm}^{-2}$, a variação de massa que acompanha a oxidação ($0,8 \mu\text{g cm}^{-2}$), foi inferior à esperada ($1,1 \mu\text{g cm}^{-2}$) atendendo apenas aos requisitos da electroneutralidade do polímero (com $Q_{ox.} = 1,0 \text{ mC cm}^{-2}$). O processo de dopagem (e de-dopagem) é complexo; na gama de valores de potencial do pico de oxidação, a massa molecular das espécies móveis superior às dos contra-íões do electrólito ($M_M = 112 \text{ g mol}^{-1}$; $M_{ClO_4^-} = 99,45 \text{ g mol}^{-1}$) indicia a entrada de íões e solvente. Com o espessamento dos filmes a histerese observada nas curvas de Δm vs Q indicou dificuldades de movimento das espécies móveis.

Na imobilização de NPs em matrizes poliméricas, a disponibilidade dos átomos de S na interface com a solução mostrou ser um factor importante. No caso da politionina (PTN) o bloqueio do átomo de S no anel heterocíclico central devido a adsorção de moléculas de monómero conduziu à imobilização de um número muito reduzido ($\approx 1 \text{ Au-NP } \mu\text{m}^{-2}$) de Au-NPs ($\varnothing = 15 \text{ nm}$), detectadas nas imagens de microscopia electrónica de varrimento (*SEM*). Por outro lado, nos derivados do politiofeno (P(3-MeT) e poli(3,4-etilenodioxítiofeno) - PEDOT), a elevada área superficial (PEDOT com maior rugosidade do que o P(3-MeT)) permitiu a imobilização de maior quantidade de partículas detectadas por *SEM* e difracção de raios-X, $\approx 11 \text{ Au-NPs } \mu\text{m}^{-2}$ e mais que $700 \text{ Au-NPs } \mu\text{m}^{-2}$ ($\varnothing = 15 \text{ nm}$), nos filmes de P(3-MeT) e PEDOT crescidos a potencial constante, respectivamente. Embora as Au-NPs e Pt-NPs esféricas de pequenas dimensões (3-5 nm) não tenham sido detectadas por *SEM*, a caracterização electroquímica (voltametria cíclica) mostrou o confinamento destas NPs nos polímeros condutores e por *QCM* estimou-se a quantidade de Pt-NPs ($\varnothing = 3 \text{ nm}$) imobilizada de 26 e 35% no P(3-MeT) e PEDOT, respectivamente.

Foi estudada a aplicação dos materiais compósitos formados por polímeros dos derivados do tiofeno e M-NPs, no desenvolvimento de sensores electroquímicos e o seu

desempenho em electrocatálise. Os resultados mostraram que o eléctrodo modificado com PTN/Au-NPs não é adequado para a utilização como sensor electroquímico para a detecção do AA nem para a interacção com nanopartículas estabilizadas por CTAB, pois estes afectam a sua resposta electroquímica; o eléctrodo modificado P(3-MeT)/Au-NPs não apresentou vantagens, para a detecção de espécies como o AA e a dopamina, em relação à resposta do polímero. As Au-NPs cúbicas estabilizadas por CTAB não se mostraram adequadas para imobilização em filmes de P(3-MeT) devido à co-deposição do surfactante e/ou à agregação das NPs após remoção do CTAB. O desempenho dos eléctrodos modificados como sensores electroquímicos requer ainda um estudo mais aprofundado, em particular, no que respeita ao efeito do surfactante e à agregação das NPs, na sua distribuição na superfície dos polímeros e às espécies a detectar.

Os materiais compósitos de derivados do tiofeno e M-NPs apresentaram propriedades electrocatalíticas interessantes para a oxidação da hidrazina (HZ), que dependem em particular da natureza do polímero (P(3-MeT) ou PEDOT, modo de preparação e área superficial), da quantidade de NPs imobilizadas e da natureza das NPs (Au ou Pt, tamanho e envelhecimento). A inactividade do P(3-MeT) para a reacção em estudo torna-o interessante; as NPs recentemente sintetizadas e o uso de longos tempos de imersão (5 h) na suspensão coloidal conduziram ao melhor desempenho electrocatalítico neste compósito; a diminuição do tamanho das Au-NPs (42-5 nm) levou a uma diminuição do sobrepotencial de 40 mV para a oxidação de HZ, em relação ao observado no eléctrodo de Au(111); o pico de oxidação ocorre a valores de potencial mais negativos, cerca de 285 mV, com Pt-NPs pequenas (3 nm, $E_p = -54$ mV) do que com Au-NPs (5 nm, $E_p = 232$ mV), contudo no eléctrodo de platina policristalina a oxidação ocorre a cerca de -216 mV. Apesar da actividade electrocatalítica do PEDOT para a reacção de oxidação da HZ ($E_p = -148$ mV), o compósito PEDOT/Pt-NPs, com o filme crescido potenciodinamicamente, modificado com Pt-NPs, apresentou a melhor resposta electrocatalítica, com o pico de oxidação a um valor de potencial inferior ($E_p = -275$ mV) ao detectado no eléctrodo de Pt policristalina ($E_p = -216$ mV).

Em superfícies de Au(111), foi possível quantificar a quantidade de oligonucleótidos, modificados com grupos dialquildissulfureto, imobilizados por adsorção específica na superfície quer por métodos electroquímicos como por microgravimétricos. O desempenho do eléctrodo modificado para a detecção da hibridação com a sequência

complementar apresentou algumas dificuldades, em particular na detecção electroquímica usando espécies electroactivas em solução, devido a não terem sido observadas diferenças nos perfis voltamétricos antes e após hibridação, e as propriedades viscoelásticas do material depositado limitaram a detecção por *QCM*. Embora uma investigação mais aprofundada seja necessária, o desenvolvimento de biosensores de ADN com base em superfícies modificadas por polímeros condutores e Pt-NPs mostrou-se promissora: usando o compósito P(3-MeT)/Pt-NPs para imobilização de oligonucleótidos tiolados na superfície de Pt das NPs, foi possível detectar, electroquimicamente por voltametria cíclica, a hibridação na presença de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ e por *QCM* foi quantificada a quantidade hibridada ($1,6 \times 10^{-11} \text{ mol cm}^{-2}$).

Anexos

Fichas JCPDS

- Ouro - 4-0784

4-0784 MINOR CORRECTION

d 4-0784	2.36	2.04	1.23	2.36	Au	★					
I/I ₁ 4-0784	100	52	36	100	GOLD						
Rad. CuKα λ 1.5405 Filter Ni Dia. Cut off Coll. I/I ₁ G. C. DIFFRACTOMETER d corr. abs.? Ref. SWANSON AND TATGE, JC FEL. REPORTS, NBS (1950)						d Å	I/I ₁	hkl	d Å	I/I ₁	hkl
Sys. CUBIC S.G. O _H ⁵ - Fm3m a ₀ 4.0786 b ₀ c ₀ A C α β γ Z 4						2.355	100	111			
Ref. IBID.						2.039	52	200			
2V n ω β φ γ Sign D _X 19.302mp Color Ref.						1.442	32	220			
						1.230	36	311			
						1.1774	12	222			
						1.0196	6	400			
SAMPLE PURIFIED AT NBS LABORATORY AND IS ABOUT 99.997% Au. AT 26°C TO REPLACE 1-1172, 1-1174, 2-1095						C.9358	23	331			
						.9120	22	420			
						.8325	23	422			

- Platina - 4-0802

4-0802 MINOR CORRECTION

d 4-0802	2.27	1.96	1.18	2.27	Pt	★					
I/I ₁ 4-0802	100	53	33	100	PLATINUM						
Rad. CuKα λ 1.5405 Filter Ni Dia. Cut off Coll. I/I ₁ G. C. DIFFRACTOMETER d corr. abs.? Ref. SWANSON AND TATGE, JC FEL. REPORTS, NBS 1950						d Å	I/I ₁	hkl	d Å	I/I ₁	hkl
Sys. CUBIC (F.C.) S.G. O _H ⁵ - Fm3m a ₀ 3.9231 b ₀ c ₀ A C α β γ Z 4						2.265	100	111			
Ref. IBID.						1.962	53	200			
2V n ω β φ γ Sign D _X 21.472mp Color Ref. IBID.						1.387	31	220			
						1.1826	33	311			
						1.1325	12	222			
						0.9808	6	400			
SAMPLE ESTIMATED BY NBS CHEM. LAB. TO BE GREATER THAN 99.99% PURE. AT 26°C TO REPLACE 1-1190, 1-1194, 1-1311						.9000	22	331			
						.8773	20	420			
						.8008	29	422			

- NaCl - 5-0628

5-0628 MINOR CORRECTION

d	2.82	1.99	1.63	3.258	NaCl	★					
I/I ₁	100	55	15	13	SODIUM CHLORIDE (HALITE)						
Rad. CuKα	λ 1.5405	Filter Ni				d Å	I/I ₁	hkl	d Å	I/I ₁	hkl
Dia.	Cut off	Coll.				3.258	13	111			
I/I ₁ G. C. DIFFRACTOMETER	d corr. abs.?				2.921	100	200				
Ref. SWANSON AND FUYAT, NBS CIRCULAR 539, VOL. II, 41 (1953)					1.994	55	220				
Sys. CUBIC	S.G. O _H ⁵ - Fm3m				1.701	2	311				
a ₀ 5.6402	b ₀	c ₀	A	C	1.628	15	222				
α	β	γ	Z 4		1.410	6	400				
Ref. Ibid.					1.294	1	331				
δ a	n ω β 1.542 t γ	Sign				1.261	11	420			
2V	D _x 2.164 mp	Color COLORLESS				1.1515	7	422			
Ref. Ibid.					1.0855	1	511				
AN ACS REAGENT GRADE SAMPLE RECRYSTALLIZED TWICE FROM HYDROCHLORIC ACID. X-RAY PATTERN AT 26°C.					0.9969	2	440				
					.9533	1	531				
					.9401	3	600				
					.8917	4	620				
					.8601	1	533				
					.8503	3	622				
					.8141	2	444				
REPLACES 1-0993, 1-0994, 2-0818											

- Silício - 27-1402

27-1402

Si				d Å	Int	hkl	d Å	Int	hkl
Silicon	Silicon, syn			3.1355	100	111			
				1.9201	55	220			
				1.6375	30	311			
Rad. CuKα ₁	λ 1.540598	Filter Mono.	d-sp Calculated	1.3577	6	400			
Cut off	Int. Diffractometer	I/I _{cor.} 4.70		1.2459	11	331			
Ref. Nat. Bur. Stand. (U.S.) Monogr., 13 35 (1976)				1.1086	12	422			
Sys. Cubic	S.G. Fd3m (227)			1.0452	6	511			
a 5.43088(4)	b	c	A	C	0.9600	3	440		
α	β	γ	Z 8		0.9180	7	531		
Ref. Ibid.				0.8587	8	620			
D _x 2.33	D _m	mp		0.8282	3	533			
Color Gray	Pattern at 25(1) C. This sample is NBS Standard Reference Material No. 640. d's calculated from precision measurement of a ₀ . a ₀ uncorrected for refraction. F ₁₁ = 999.9(-.0003,13). Tungsten used as internal standard. PSC: cF8. To replace 26-1481.								

