



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**Programa de Pós Graduação em Química**

**Construção e caracterização de micro-células voltamétricas  
para análises em volumes reduzidos**

**RODRIGO AMORIM BEZERRA DA SILVA**

**Uberlândia**  
**Fevereiro/2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**Programa de Pós Graduação em Química**

**Construção e caracterização de micro-células voltamétricas  
para análises em volumes reduzidos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

**Aluno: Rodrigo Amorim Bezerra da Silva**

**Orientador: Eduardo Mathias Richter**

**Co-orientador: Sebastião de Paula Eiras**

**Área de concentração: Química Analítica**

**Uberlândia**  
**Fevereiro/2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

---

- S586c Silva, Rodrigo Amorim Bezerra da, 1983-  
Construção e caracterização de micro-células voltamétricas para análises em volumes reduzidos / Rodrigo Amorim Bezerra da Silva. - 2009.  
65 f. : il.
- Orientador: Eduardo Mathias Richter.  
Co-orientador: Sebastião de Paula Eiras.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.  
Inclui bibliografia.
1. Química analítica - Teses I. Richter, Eduardo Mathias. II. Eiras, Sebastião de Paula. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 543



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
Instituto de Química  
Programa de Pós Graduação em Química- MESTRADO  
E-mail: [epgquimica@ufu.br](mailto:epgquimica@ufu.br) - Fone: 3239-4385



**ALUNO(A): RODRIGO AMORIM BEZERRA DA SILVA**

**NÚMERO DE MATRÍCULA: 86341**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA**

**PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA: NÍVEL MESTRADO**

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:**

***“Construção e caracterização de micro-células voltamétricas para análises em volumes reduzidos”***

**ORIENTADOR:**

**PROF. DR. EDUARDO MATHIAS RICHTER**

A Dissertação foi **APROVADA** em apresentação pública realizada no Anfiteatro da Biblioteca, no Campus Santa Mônica, no dia 20 de fevereiro de 2009, às 14:00 horas, tendo como Banca Examinadora:

**NOME:**

**ASSINATURA:**

Prof. Dr. Eduardo Mathias Richter

(Instituto de Química / UFU)

Prof<sup>a</sup> Dra. Yaico Dirce Tanimoto de Albuquerque

(Instituto de Química / UFU)

Prof. Dra Thiago Regis Longo César da Paixão

(Universidade Federal do ABC)

Uberlândia, 20 de fevereiro de 2009.

## **AGRADECIMENTOS**

- *A Deus, por estar presente e me dando forças para o início e término dos vários passos que compõem a minha vida.*
- *A toda a minha família (de Uberlândia e Monte Alegre) pela motivação, carinho e força sempre dados em todos os momentos necessários. Efigênia, Rubens, Alessandro, Diego, Edson, Vanda e Guilherme, muito obrigado por tudo. Sempre terão meu amor e respeito.*
- *A minha namorada Fabiângela, por sempre acreditar no meu potencial e que sempre foi e será a razão da minha motivação para a busca de um futuro melhor. Também a toda a sua família: Joel, Alzira, Fernando, Rubbiane, Natália, Fabiano e Priscila.*
- *Ao meu orientador prof. Dr. Eduardo Mathias Richter, pelos ensinamentos, amizade, confiança, incentivo, paciência e respeito sempre oferecidos em todos os momentos.*
- *Ao meu co-orientador prof. Dr. Sebastião de Paula Eiras, pelas enormes contribuições e ensinamentos dados desde a iniciação científica, além do apoio e amizade.*
- *A todos os amigos dos laboratórios de pesquisa, pela amizade, respeito, e pelos incontáveis momentos de descontração, discussão, ajuda e troca de experiências. Denise, Abílio, Rafael, Thiago, Moacir, Geandre, Daniel, Carla, Alisson, Bárbara, Júlia, Diego, Lucas, Sabrina, Douglas, Leandro e Leandra. Desejo toda a felicidade, além de uma realização pessoal e profissional para todos vocês.*
- *Em especial aos amigos de laboratório Adriano e Walans, pela amizade, ensinamentos, discussões, que me ajudaram com muita paciência e humildade neste meu novo desafio, que foi a pesquisa na área de eletroanalítica. Minha eterna gratidão e respeito.*
- *Aos amigos de longa data, que sempre torceram pelo meu sucesso: Túlio, Hugo, Moacir, Felipe e Renato. A todos vocês minha eterna gratidão, amizade e respeito.*
- *Ao prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Munoz, à prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Yaico Dirce Tanimoto de Albuquerque e ao prof. Dr. Thiago Regis Longo da Paixão, pelas enormes contribuições dadas para a conclusão deste trabalho.*
- *À FAPEMIG, pela bolsa de mestrado concedida e auxílios nos congressos.*
- *À CAPES, pelo livre acesso ao portal de Periódicos.*
- *Ao Instituto de Química pelo espaço concedido e aos seus funcionários pela paciência, colaboração e grande demonstração de amizade.*

## ÍNDICE

Resumo .....	i
Abstract .....	iii
Lista de Abreviações .....	v
Trabalhos provenientes desta dissertação .....	vi
<b>CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Considerações gerais .....	1
1.2. Teoria .....	2
1.2.1. Química Eletroanalítica .....	2
1.2.2. A célula eletroquímica .....	3
1.2.3. Técnicas voltamétricas .....	4
1.2.3.1. Voltametria cíclica .....	5
1.2.3.2. Técnicas voltamétricas de pulso .....	6
1.2.3.3. Voltametria de onda quadrada .....	8
1.2.4. Voltametria de redissolução .....	10
1.3. Revisão Bibliográfica .....	12
1.3.1. Dispositivos eletroquímicos alternativos para medidas em vol.reduzidos .....	12
1.3.2. Eletrodos compósitos .....	14
1.3.2.1. Compósitos de grafite .....	14
1.4. Objetivos .....	17
<b>CAPÍTULO 2 – PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>18</b>
2.1. Instrumentação .....	18
2.2. Materiais, reagentes e soluções .....	19
2.3. Produção do compósito condutor de grafite e adesivo epóxi .....	19
2.4. Construção dos microdispositivos para análises em volumes reduzidos .....	20
2.4.1. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de ouro .....	20
2.4.2. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de compósito de grafite .....	22

2.4.3. Célula microfluídica de camada delgada contendo ET e EA de compósito de grafite e EPR de compósito de prata (3 eletrodos no microcanal) .....	24
2.5. Preparação das microcélulas para uso em medidas eletroquímicas .....	26
2.5.1. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de ouro .....	26
2.5.2. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de compósito de grafite .....	26
2.5.3. Célula microfluídica de camada delgada contendo ET e EA de compósito de grafite e EPR de compósito de prata (3 eletrodos no microcanal).....	26
2.6. Caracterização dos compósitos de grafite .....	27
2.6.1. Investigação da condutividade elétrica dos compósitos de grafite e AE .....	27
2.6.1.1. Construção das placas de cobre para as medidas de condutividade .....	28
2.7. Caracterização eletroquímica das microcélulas .....	29
2.7.1. Avaliação do desempenho dos EPR a base de compósitos .....	29
2.7.2. Avaliação do desempenho de EA e EPR à base de materiais compósitos.....	29
2.7.3. Medidas eletroquímicas comparativas em macro e micro volumes .....	29
2.7.4. Microcélula com suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de ouro ...	30
2.7.4.1. Estudo da estabilidade da resposta eletroquímica .....	30
2.7.4.2. Estudos da microcélula em FIA .....	30
2.7.4.3. Estudos da mudança na velocidade de varredura .....	30
2.7.5. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de compósito de grafite .....	31
2.7.5.1. Estudo da estabilidade eletroquímica .....	31
2.7.5.2. Investigação do comportamento eletroquímico de ferrocianeto de potássio sobre diferentes materiais de ET .....	31
2.7.5.3. Estudo da área efetiva do ET de compósito de grafite .....	31
2.7.6. Célula microfluídica (com 3 eletrodos no interior do microcanal) .....	31
2.7.6.1. Estudos da estabilidade da resposta da célula eletroquímica .....	31
<b>CAPÍTULO 3 – RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>32</b>
3.1. Caracterização dos compósitos de grafite e AE na presença de solvente .....	32
3.1.1. Investigação da condutividade elétrica dos compósitos de grafite .....	32
3.1.2. Uso dos compósitos para a junção de materiais condutores .....	36
3.1.3. Durabilidade dos eletrodos de compósito de grafite .....	38

3.2. Otimizações nas construções das microcélulas .....	39
3.2.1. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de ouro .....	39
3.2.2. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de compósito de grafite .....	42
3.3. Caracterização eletroquímica das microcélulas .....	44
3.3.1. Avaliação dos EPRs à base de compósitos .....	44
3.3.2. Comparação do desempenho dos EA e EPR à base de compósitos .....	45
3.3.3. Voltamogramas cíclicos em macro e micro-volumes .....	47
3.3.4. Microcélula contendo ET de ouro em ponteira de micropipeta .....	48
3.3.4.1. Estudo da estabilidade do sinal .....	48
3.3.4.2. Estudos do efeito da velocidade de varredura .....	49
3.3.4.3. Uso da microcélula em FIA .....	51
3.3.5. Microcélula contendo ET de compósito de grafite (em ponteira de micropipeta) .....	53
3.3.5.1. Estudo da estabilidade .....	53
3.3.5.2. Comportamento eletroquímico de ferrocianeto de potássio sobre diferentes ET de carbono .....	55
3.3.5.3. Avaliação da área efetiva do ET de compósito de grafite .....	56
3.3.6. Célula microfluídica com os 3 eletrodos de compósito no microcanal .....	58
3.3.6.1. Estudos da estabilidade de sinal.....	58
<b>CAPÍTULO 4 – CONCLUSÕES .....</b>	<b>61</b>
<b>CAPÍTULO 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>62</b>

## **RESUMO**

SILVA, Rodrigo Amorim Bezerra. *Construção e caracterização de micro-células voltamétricas para análises em volumes reduzidos*. Uberlândia: Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2009. Dissertação de Mestrado.

Neste trabalho é apresentada a construção e a caracterização de microcélulas voltamétricas alternativas para a análise em volumes reduzidos. Dois arranjos de eletrodos são propostos: em um, os três eletrodos se encontram na extremidade de ponteiros e no outro, no interior de microcanais (camada delgada). Para as suas construções foram utilizados materiais de baixo custo e/ou reaproveitados como bases de policarbonato (de CD-Rs), ponteiros de micropipetas, compósitos de grafite e prata, fios metálicos, dentre outros.

Nesta perspectiva, foi desenvolvido um compósito de grafite e adesivo epóxi na presença do solvente ciclohexanona. Este compósito, após a otimização das proporções de seus componentes, é útil tanto como material para eletrodos de pseudo-referência (EPR), auxiliar (EA) e de trabalho (ET), como para contato elétrico. Voltamogramas cíclicos obtidos em solução de ferrocianeto de potássio mostraram que eletrodos construídos com este material apresentam alta durabilidade, além de boa reprodutibilidade inter-eletrodo (desvio padrão relativo = 4 %; n = 5). Uma boa estabilidade foi observada quando os compósitos foram inseridos numa microcélula onde os três eletrodos estão posicionados em uma ponteira (DPR = 1,82 %; n = 10) e quando são inseridos numa célula de camada delgada (DPR < 1%; n = 8; Cd e Pb). Ótimos coeficientes de correlação foram obtidos para amperogramas de concentrações crescentes de ferrocianeto de potássio em meio básico (R = 0,999), e voltamogramas para concentrações crescentes de Pb<sup>2+</sup> e Cd<sup>2+</sup> em meio ácido, tanto para a microcélula construída na ponteira de micropipeta (R = 0,998 e 0,997), como na microcélula de camada delgada (R = 0,996 e 0,996).

Estudos comprovaram que desvios padrões relativos similares foram obtidos (repetibilidade e reprodutibilidade) quando experimentos são realizados usando materiais compósitos como eletrodo de pseudo-referência e auxiliar são comparados aos obtidos usando eletrodos de referência (Ag/AgCl/KCl sat.) e auxiliar (Pt) comerciais. Estes resultados independem do pH e do eletrólito usado.

Um melhor desempenho foi observado para microcélulas construídas em ponteiros contendo eletrodos de trabalho de ouro (em escala micrométrica) quando estes eram previamente imersos em soluções de PVC e posteriormente inseridos no interior da ponteira (usando adesivo epóxi). No caso dos ET de compósito de grafite, uma sensível melhora foi obtida no desempenho dos mesmos quando a superfície interna da ponteira era previamente pincelada com adesivo epóxi e o compósito introduzido posteriormente. Supõe-se que, em ambos os casos, este artifício impede ou retarda a infiltração de água.

Estudos comparativos usando volumes reduzidos (até 3  $\mu\text{L}$ ) e volumes utilizados em células convencionais ( $\sim 5 \text{ mL}$ ) por voltametria cíclica com a microcélula construída em uma ponteira de micropipeta apresentaram uma igualdade no perfil das medidas.

As microcélulas desenvolvidas neste trabalho apresentam praticidade, pois não é necessário um suporte específico para o posicionamento dos três eletrodos em uma célula, como acontece com células e eletrodos comerciais. Além disso, com o mesmo arranjo de eletrodos é possível trabalhar em diferentes condições experimentais, tanto em medidas estacionárias como em fluxo.

**Palavras chave:** micro-célula voltamétrica, volumes reduzidos, materiais alternativos, ponteira de micropipeta, CD-R, tinta de grafite epóxi.

## ABSTRACT

SILVA, Rodrigo Amorim Bezerra. *Construction and characterization of voltammetric micro-cells to analyses in reduced volumes*. Uberlândia: Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, 2009. Dissertação de Mestrado.

In this work the construction and characterization of alternative voltammetric microcells for the analysis of small volumes are presented. Two electrode arrangements are proposed. In the first arrangement three electrodes were incorporated into micropipette tips and, in the second one, the three electrodes were inserted at the interior of microchannels (thin layer cells). For their constructions, it was used cheap and/or reusable (disposable) materials such as polycarbonate basis (from CD-Rs), micropipette tips, silver and graphite composites, metallic wires, etc.

According to this view, it was developed a graphite composite containing epoxy adhesive in the presence of cyclohexanone solvent. This composite, after the optimization of the proportions of its constituent parts, can be used as material for electrodes, such as pseudo-reference, auxiliary and working electrodes and for electrical contact. Cyclic voltammograms obtained in solution of potassium ferrocyanide has showed that electrodes constructed with this material have high durability, good inter-electrode reproducibility (relative standard deviation = 4%; n=5), stability in a microcell where the three electrodes are situated in a micropipette tip (RSD = 1.82 %; n=10) and when the electrodes are inserted in a thin layer cell (RSD = 1%; n = 8; Cd e Pb). Good correlation coefficients were obtained for amperograms of increasing concentrations of potassium ferrocyanide in basic medium ( $R = 0.999$ ), and voltammograms for increasing concentrations of Pb and Cd in acid medium, as much for the microcell constructed in micropipette tip ( $R=0,998$  and  $0,997$ ) as for the thin layer microcell ( $R = 0.996$  and  $0.996$ ).

Studies proved that similar relative standard deviations are obtained (repeatability and reproducibility) in case of experiments carried out using composite materials as pseudo-reference and auxiliary electrodes are compared to those obtained using commercial reference (Ag/AgCl/KCl sat.) and auxiliary (platinum) electrodes. These results are independent of pH and electrolyte.

A better performance was observed for microcells constructed on micropipette tips containing gold as working electrode (in micrometric scale) if the gold wire was

previously immersed in a PVC solution and after immobilized in the interior of the micropipette tip (using epoxy adhesive). When the graphite composite was used as working electrode, a sensitive improvement was obtained by their performance when the internal surface of the micropipette tip was previously covered with epoxy adhesive and the composite introduced subsequently. It is supposed that in both cases, this ability inhibited or delayed water infiltration.

Similar cyclic voltammetric responses were obtained for comparative studies between small volumes (up to 3  $\mu\text{L}$ ) and large volumes ( $\sim 5 \text{ mL}$ ), used in conventional electrochemical cells, on the micropipette tip arrangement.

The microcells developed in this work are practical because it is not necessary a specific support for the positioning of the three electrodes in a cell as it occurs with commercial approaches. Moreover, using the same electrodes arrangements is possible to work in different experimental conditions (stationary and flow rate mode).

**Keywords:** voltammetric micro-cell, reduced volumes, alternative materials, micropipette tips, CD-R, graphite-epoxy ink.

## ÍNDICE DE ABREVIACÕES

**PE:** Polietileno

**AE:** Adesivo Epóxi Araldite<sup>®</sup> 24 horas

**PVC:** Policloreto de vinila

**THF:** Tetrahidrofurano

**Ch:** Ciclohexanona

**Gr:** Grafite

**VC:** Voltametria Cíclica

**ER:** Eletrodo de referência

**EA:** Eletrodo auxiliar

**ET:** Eletrodo de trabalho

**EPR:** Eletrodo de pseudo-referência

**Ipa:** Corrente de pico anódico

**Ipc:** Corrente de pico catódico

**Epa:** Potencial de pico anódico

**Epc:** Potencial de pico catódico

**$\Delta E_p$ :** Diferença (em módulo) entre Epc e Epa

**DPR:** Desvio padrão relativo

**FIA:** Análise por injeção em fluxo

## **TRABALHOS PROVENIENTES DESTA DISSERTAÇÃO**

1. Rodrigo A. B. da Silva, Edimar G. N. de Almeida, Adriano C. Rabelo, Abílio T. C. da Silva, Lucas F. Ferreira, Eduardo M. Richter. **Electrochemical microfluidic cell with three inserted electrodes: construction and characterization.** Journal of the Brazilian Chemical Society (JBACS), **2009**. Aceito para publicação.
2. Rodrigo A. B. da Silva, Adriano C. Rabelo, Eduardo M. Richter. **Construção e caracterização de um compósito de grafite para utilização como eletrodos em análises eletroquímicas e junção entre condutores.** Resumo aceito para apresentação no XVII Sibeex, Fortaleza, Brasil, **2009**.
3. Rodrigo A. B. da Silva, Abílio T.C da Silva, Rafael R. Cunha, Adriano C. Rabelo, Eduardo M. Richter. **Construção e caracterização de um sensor eletroquímico alternativo com eletrodos de compósitos de grafite em ponteiros de micropipetas.** CD de Resumos do XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Belo Horizonte, Brasil, **2008**.
4. Rafael R. Cunha; Rodrigo A. B. da Silva; Foued S. Espindola; Leonardo G. Peixoto; Eduardo M. Richter. **Monitoramento da atividade da enzima alfa-amilase salivar antes e após exercício físico com detecção amperométrica.** CD de Resumos do XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Belo Horizonte, Brasil, **2008**.
5. Abílio T. C. da Silva, Rodrigo A.B. da Silva, Eduardo M. Richter. **Análise de metais pesados em saliva em níveis de traços como indicador da presença destes em ambientes urbanos.** CD de resumos do XXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Belo Horizonte-MG, Brasil, **2008**.
6. Humberto E. A. Ferreira, Rodrigo A.B. da Silva, Adriano C. Rabelo, Edimar G. N. Almeida, Eduardo M. Richter. **Construção de uma micro-célula voltamétrica em fluxo com a inserção dos três eletrodos no interior do micro-canal.** CD de resumos do XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Uberlândia-MG, Brasil, **2007**.

7. Rodrigo A.B. da Silva, Adriano C. Rabelo, Eduardo M. Richter, Otávio L. Bottecchia. **Construção e caracterização de um microdispositivo que contém os três eletrodos que compõem uma célula eletroquímica.** CD de resumos do 14º Encontro Nacional de Química Analítica (ENQA), João Pessoa, Brasil, **2007.**

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Considerações gerais

Atualmente, uma das tendências da química analítica está associada ao tema Química Verde ou “Green Chemistry”, ou seja, desenvolvimento de metodologias que substituam reagentes tóxicos ou evitem ou minimizem os resíduos gerados por análise<sup>1</sup>. Outro desafio está em tornar possível a análise de componentes de amostras com pequena disponibilidade no ambiente, como por exemplo, amostras de conteúdos celulares<sup>2-4</sup>, lágrima<sup>5</sup> e saliva<sup>6,7</sup>.

Para suprir essas novas necessidades, a miniaturização dos dispositivos de análise tem ganhado uma posição de destaque na química analítica, onde cada vez mais se intensifica a pesquisa para a adaptação de metodologias já desenvolvidas ao uso de detectores miniaturizados, avaliando vantagens e desvantagens inerentes ao uso dos mesmos comparados com os tradicionais.

Nesse contexto, destaca-se a química eletroanalítica, devido a algumas características vantajosas, como: portabilidade, custo moderado, elevada sensibilidade nas determinações<sup>8,9</sup>, possibilidade de miniaturização dos eletrodos e uso de diferentes materiais atuando como eletrodos e suportes, ambos podendo ser de baixo custo e/ou reaproveitáveis. Como materiais utilizados para a análise de pequenos volumes podemos citar o uso de eletrodos de películas metálicas como ouro ou prata aproveitados de CD-Rs<sup>10-12</sup>, fios de ouro<sup>13,14</sup>, prata<sup>15</sup>, platina<sup>16</sup> ou cobre<sup>17</sup> com diâmetro de até 200  $\mu\text{m}$ , eletrodos de pasta de carbono<sup>18</sup> e compósitos de grafite<sup>19</sup> ou prata<sup>20</sup> e materiais suporte como agulhas de aço inoxidável<sup>21,22</sup>, policarbonato de CD-Rs<sup>23</sup>, ponteiros de micropipetas, dentre outros.

A grande maioria dos trabalhos encontrados na literatura que descrevem a construção de detectores em escala miniaturizada focam-se em análises de volumes muito pequenos, da ordem de nL ou pL, com o uso de recursos que requerem a utilização de dispendiosas tecnologias, como a fotolitografia de alta resolução<sup>24</sup>. Além disso, volumes dessas grandezas podem ser um problema, devido à evaporação parcial do solvente, concentrando a espécie de interesse durante a análise, a depleção do analito próximo ao eletrodo devido à restrita configuração da célula<sup>25</sup>, além de uma maior dificuldade operacional.

Vale ressaltar que a miniaturização de dispositivos eletroquímicos não implica necessariamente na fabricação de microeletrodos (ou ultramicroeletrodos), que possuem diâmetro de 1 a 50  $\mu\text{m}$ <sup>9</sup>. Suas propriedades, vantagens e usos já foram descritas anteriormente<sup>26-28</sup>. É possível também miniaturizar as células eletroquímicas mantendo dimensões e propriedades dos eletrodos na escala macro (macroeletrodos). Esta estratégia possibilita a análise de volumes da ordem de microlitros usando macroeletrodos, o que pode facilitar a construção e a operação das microcélulas em análises químicas.

## **1.2. Teoria**

### **1.2.1. Química eletroanalítica**

A química eletroanalítica compreende um conjunto de métodos analíticos quantitativos baseados nas propriedades elétricas de uma solução do analito quando ele está tomando parte de uma célula eletroquímica.<sup>29</sup> Elas possibilitam o estabelecimento de relações diretas entre a concentração do analito e alguma propriedade elétrica como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga. Como as medidas destas propriedades são facilmente acessíveis experimentalmente, as técnicas eletroanalíticas são adequadamente utilizadas na quantificação de espécies de interesse nas diferentes áreas de estudo.<sup>30</sup>

Uma grande vantagem destas técnicas consiste na possibilidade, muitas vezes, da medida ser realizada diretamente na amostra sem necessidade de etapas de pré-purificações ou de separações prévias. Além disso, é desnecessária a adição de reagentes para a análise, podendo o analito interagir diretamente com a superfície do eletrodo. Estas técnicas também tornam possível a análise de materiais coloridos ou amostras contendo partículas sólidas dispersas.<sup>9</sup>

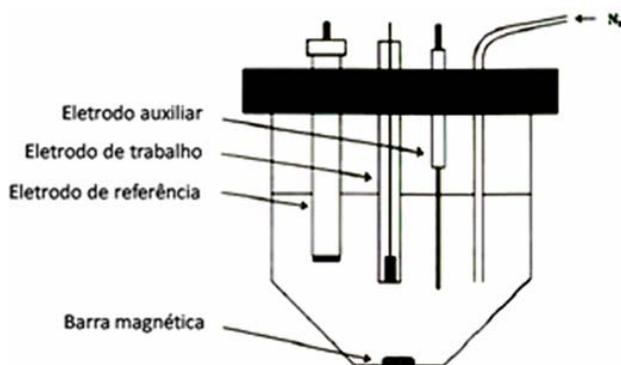
Essas vantagens, aliadas ao curto tempo na realização das análises, ao baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, se comparadas às técnicas cromatográficas e espectroscópicas, e à baixa sensibilidade que as técnicas eletroanalíticas apresentam em relação à presença de interferentes, fizeram com que elas sejam cada vez mais utilizadas. Sua crescente importância levou ao desenvolvimento de técnicas cada vez mais sensíveis às espécies em estudo, algumas inclusive com limites de detecção tão baixos que já podem ser comparados aos das técnicas tradicionais

utilizadas na análise de compostos orgânicos e inorgânicos em matrizes ambientais, biológicas e em alimentos.<sup>30</sup>

### 1.2.2. A célula eletroquímica

Aplicações envolvendo processos eletroquímicos tiveram início em 1922 com o advento da polarografia, que utilizava uma célula com dois eletrodos. Nesta célula, o ET era de mercúrio (gotejante), e o segundo eletrodo fazia simultaneamente o papel de ER e EA.<sup>9</sup> Pelo fato de o ET ser bem menor que o ER, as variações de potenciais do mesmo eram pouco significativas.

Com a evolução da instrumentação, foi desenvolvido o potenciostato, que utiliza uma célula com três eletrodos (Figura 1.1). Este instrumento é construído de forma a possibilitar a medição do potencial aplicado entre o ET e o ER, sem permitir a passagem significativa de corrente entre estes eletrodos, evitando assim a polarização do ER (e consequentemente alteração do seu potencial). Durante o processo redox, que ocorre junto aos ET e EA, alterações do potencial do ET são compensadas pela alteração do potencial do EA, de forma que o mesmo potencial “medido” pelo ER em relação ao ET seja mantido. Esta operação é controlada pelo potenciostato. Na Figura 1.1 observa-se também a presença de dois componentes opcionais, a barra magnética e a entrada de nitrogênio na solução. O primeiro sendo usado em experimentos hidrodinâmicos e/ou que envolvam etapas de pré-concentração. Já o segundo é usado nos experimentos em que seja necessária a remoção de oxigênio da solução de trabalho (desaeração da solução), devido a uma possível interferência na região catódica.



**Figura 1.1.** Célula típica para análises eletroquímicas (volume de trabalho de 2 a 5 mL)

Os outros componentes necessários para as medidas são a solução contendo o eletrólito suporte e o analito. O eletrólito suporte é adicionado em uma concentração de

pelo menos cem vezes mais concentrada do que as espécies eletroativas e é a principal fonte de espécies iônicas eletricamente condutoras.<sup>9</sup> Nestas condições, ele impede o fenômeno da migração e diminui a resistência da solução. O eletrólito suporte pode ser um sal inorgânico ou orgânico, um ácido ou uma base, ou uma solução tampão tal como citrato, fosfato ou acetato, desde que seja inerte a substância eletroativa e aos produtos de eletrólise.<sup>9</sup> A escolha também deve ser feita de acordo com as propriedades do solvente empregado. A zona de potencial utilizável está limitada pela decomposição do solvente e/ou eletrólito de suporte e pelo material do eletrodo.<sup>9</sup>

Existem vários tipos de materiais que são utilizados como ET, como os metálicos (ouro, prata, platina, paládio, cobre, irídio, etc) que tem a vantagem de possuírem uma condutividade elevada (que resultam em baixas correntes de fundo), simplicidade na construção do suporte de eletrodo e facilidade no polimento<sup>9</sup>. Os eletrodos metálicos possuem a desvantagem de sofrer corrosão ou passivação, formação de filmes na superfície (adsorção da espécie eletroativa ou produtos de reação) e outras reações, dependendo do meio e condições experimentais<sup>9</sup>. Outros tipos de eletrodo são os de carbono em várias formas condutoras, como o carbono vítreo, fibras de carbono, filme de diamante, grafite e pasta de carbono. Estes eletrodos têm uma cinética de transferência eletrônica mais lenta do que nos eletrodos metálicos, e esta depende fortemente da estrutura e preparação da superfície. O carbono tem uma área superficial ativa elevada, levando à desvantagem de susceptibilidade para o envenenamento por compostos orgânicos. As superfícies dos eletrodos de carbono são atacadas facilmente por ligações com hidrogênio, grupos hidroxila, carboxila e quinonas. Esta presença de grupos funcionais tem sido usada intencionalmente para modificar a superfície do eletrodo, com o objetivo de obter novas propriedades de eletrodo<sup>9</sup>.

### **1.2.3. Técnicas voltamétricas**

As técnicas voltamétricas compreendem um grupo de técnicas onde se monitora a corrente entre o ET e o EA oriunda da aplicação de potenciais no ET em relação ao ER, sendo que o potencial pode ser fixo (amperometria) ou variável. No último caso, a mudança do valor de potencial aplicado pode ser: linear (voltametria linear e voltametria cíclica) ou por pulsos (voltametria de onda quadrada, pulso normal, pulso diferencial, etc.).

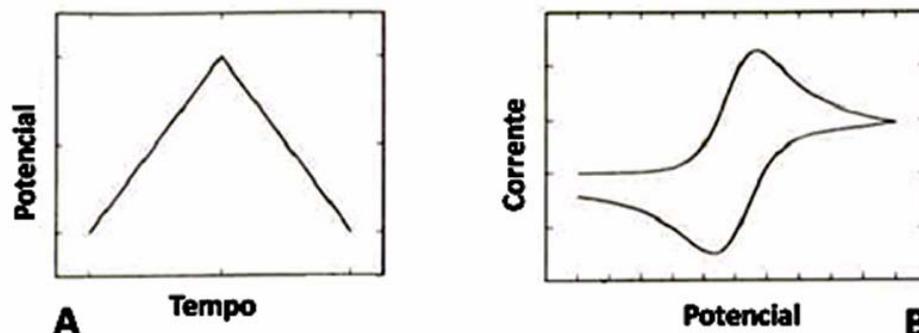
A reação eletroquímica de interesse acontece no ET em uma região de alguns  $\mu\text{m}$ , denominada camada de Nernst<sup>31</sup>. Esta região é criada por um gradiente de concentração próximo à superfície do eletrodo, gerado pelo consumo ou origem de espécies eletroativas nesta área, sendo esta concentração diferente da existente no seio da solução. O tamanho desta camada é dependente da velocidade de varredura do experimento, além da concentração do eletrólito suporte.<sup>31</sup> O EA (ou contra eletrodo) serve para completar o processo faradaico para o ET com a transferência do elétron na direção oposta (por exemplo, com a redução acontecendo no ET, a oxidação acontece no EA).<sup>31</sup> O processo no EA não é tipicamente de interesse, e na maior parte dos experimentos as baixas correntes observadas significam que os produtos de eletrólise no EA não tem influência nos processos do ET.

Num experimento voltamétrico, observa-se dois tipos de corrente: a faradaica, devido à transferência eletrônica entre o ET e as espécies eletroativas, e a capacitiva, gerada pelo carregamento do eletrodo em função da aplicação de um salto de potencial, originando uma dupla camada elétrica na interface eletrodo/solução. Quando o ET é submetido a um potencial, este fica carregado de cargas, e então outras de sinais opostos (principalmente do eletrólito suporte) ficam mais próximas a superfície do eletrodo, formando um arranjo análogo a um capacitor. A contribuição da corrente capacitiva é mais pronunciada quando se trabalha com macroeletrodos em velocidades de varredura maiores ou quando aplica-se grandes saltos de potencial.

A seguir é descrito um resumo sobre as técnicas voltamétricas utilizadas neste trabalho, bem como alguns fenômenos importantes para o entendimento das mesmas.

### **1.2.3.1. Voltametria cíclica (VC)**

Um potenciostato acoplado a um computador e um software adequado ajusta os parâmetros de controle do experimento. O objetivo é impor no ET uma varredura de potencial cíclico e linear (Figura 1.2A) e monitorar a respectiva corrente produzida. A resposta é uma curva de corrente x potencial (Figura 1.2B). Esta varredura é descrita em geral pelo potencial inicial ( $E_i$ ), potencial de inversão ( $E_s$ ) e potencial final ( $E_f$ ), e velocidade de varredura (em  $\text{V s}^{-1}$ ).<sup>31</sup>



**Figura 1.2.** Experimento de voltametria cíclica. (A) Esquema da varredura do potencial em função do tempo. (B) Voltamograma obtido: Gráfico potencial (E) x corrente (i).

A VC é uma das técnicas mais utilizadas para adquirir informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos, pois apesar de nem sempre fornecer resultados com elevada sensibilidade, permite que se obtenha rapidamente informações sobre um sistema eletroquímico. A causa de sua menor sensibilidade (comparada com outras técnicas voltamétricas) é a variação contínua do potencial aplicado. O potencial ao ser variado gera corrente capacitiva, que vai se somar à corrente faradaica. Em baixas concentrações do analito, a contribuição da corrente capacitiva se torna significativa e como geralmente não pode ser distinguida da faradaica, inviabiliza a análise.

Um voltamograma cíclico indica em que região de potencial determinada reação de oxidação ou redução (compostos eletroativos) irá ocorrer. A técnica também fornece outras informações a respeito de um sistema, como: reversibilidade do processo, número de elétrons envolvidos no processo, formação de espécies intermediárias, processo difusional ou adsortivo, área efetiva do eletrodo, etc.

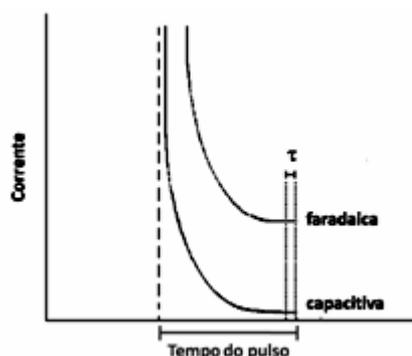
O transporte de massa da espécie eletroativa para a superfície do eletrodo, na presença de excesso de eletrólito inerte pode ser feito através de duas formas: difusão criada pela diferença de concentração entre as espécies eletroativas próximas a superfície do eletrodo e no seio da solução (VC estacionária) ou pela convecção criada por uma agitação magnética ou fluxo direcionado à superfície do eletrodo de trabalho (VC hidrodinâmica).

### 1.2.3.2. Técnicas voltamétricas de pulso

O desenvolvimento de várias técnicas eletroanalíticas deve-se, principalmente, à viabilização da instrumentação eletroquímica alcançada com o avanço tecnológico

resultante da evolução da informática. A possibilidade de interfaceamento com equipamentos eletroquímicos para o controle digital da perturbação imposta ao ET, assim como da medida do sinal resultante, possibilitou o desenvolvimento das técnicas voltamétricas, em especial das técnicas de pulso que, na década de 50, começaram a substituir as técnicas polarográficas até então utilizadas<sup>32</sup>.

As técnicas de pulso são baseadas na cronoamperometria, ou seja, na medida da corrente elétrica em função do tempo de aplicação de um determinado pulso de potencial. As características da corrente medida estão relacionadas tanto com a largura do pulso quanto com o degrau de potencial que é aplicado no eletrodo para promover o processo faradaico<sup>33</sup>. A idéia principal dos métodos voltamétricos de pulso é medir a corrente no momento em que a diferença entre a curva da corrente faradaica desejada e a curva da corrente capacitiva interferente é grande.<sup>29</sup> Em todas estas técnicas, como a corrente capacitiva é proporcional a  $e^{-t/RC}$  (onde  $t$  é o tempo,  $R$  a resistência da solução e  $C$  a capacitância da dupla camada) e a corrente faradaica é proporcional a  $t^{-1/2}$ , o decaimento da primeira, após a aplicação do pulso de potencial, é muito mais rápida que o da última. Assim, as medidas de corrente somente são realizadas após a contribuição da corrente capacitiva ter sido minimizada. A Figura 1.3 apresenta as dependências das correntes faradaica e capacitiva em relação ao tempo após a aplicação de um pulso de potencial. A corrente é medida no final da aplicação do pulso de potencial em uma fração de tempo fixa chamada de período ( $\tau$ ).



**Figura 1.3.** Decaimento da corrente faradaica e capacitiva com o tempo após a aplicação de um pulso de potencial.

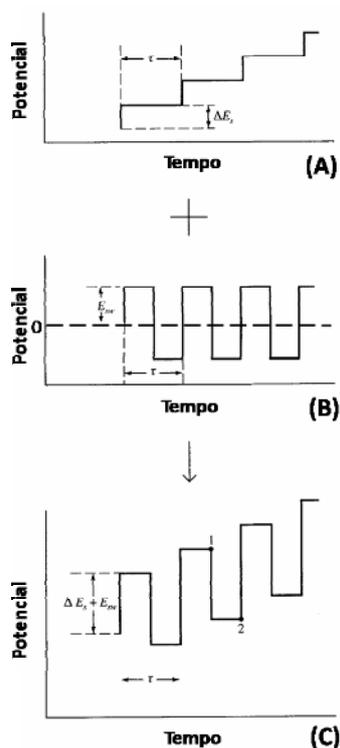
Nas técnicas voltamétricas de pulso, a perturbação do potencial do eletrodo não é uma função linear do tempo do experimento, sendo que a sistemática para a variação de potencial segue uma seqüência de pulsos de potenciais, cujas respostas de corrente obtidas dependem de como estes pulsos são aplicados. Exatamente a diferença na

maneira de aplicar os pulsos de potencial é que define as características básicas de cada uma destas técnicas<sup>34</sup>. As técnicas voltamétricas de pulso mais utilizadas são a voltametria de pulso normal, voltametria de pulso diferencial e a voltametria de onda quadrada. Dentre estas técnicas de pulso, no trabalho utilizou-se apenas a voltametria de onda quadrada, que será a única a ser discutida.

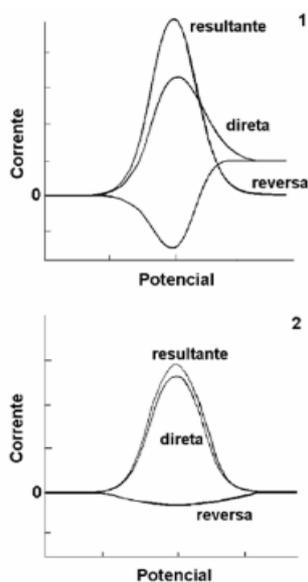
### 1.2.3.3. Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada (SWV, do inglês "Square Wave Voltammetry") é uma das técnicas voltamétricas de pulso mais rápidas, sensíveis e atualmente mais utilizadas. Os limites de detecção podem ser comparados aos das técnicas espectroscópicas. Além disso, a análise dos parâmetros característicos desta técnica também possibilita a avaliação cinética e mecanística do processo eletrodico em estudo.<sup>9</sup>

A Figura 1.4.C mostra o sinal de excitação aplicado na voltametria de onda quadrada, que é obtido pela superposição de uma onda quadrada simétrica à uma rampa de potencial na forma de trem (Figura 1.4.B) e degrau (1.4.A). A duração de cada degrau e o período dos pulsos ( $\tau$ ) são idênticos e comumente da ordem de 5 ms. O passo de potencial de cada degrau  $\Delta E_{sw}$  é tipicamente de 10 mV. Operando nessas condições, o que corresponde a uma frequência de pulso de 200 Hz, uma varredura de 1 V requer 0,5 s. Para uma reação de redução reversível, o tamanho do pulso é grande o suficiente para que a oxidação do produto formado durante a aplicação do pulso direto seja detectado durante a aplicação do pulso reverso. A somatória das correntes é obtida no final da aplicação dos pulsos direto e reverso. Assim, como mostrado na Figura 1.5.1 (sistema reversível) e 1.5.2 (sistema não-reversível), o pulso direto produz uma corrente catódica  $i_1$  e o pulso reverso produz uma corrente anódica  $i_2$ . Normalmente, a soma dessas correntes (em módulo)  $\Delta i$  é lançada em gráfico gerando os voltamogramas resultantes e é diretamente proporcional à concentração.<sup>29</sup>



**Figura 1.4.** (A) Potencial na forma de degrau; (B) Potencial em forma de trem; (C) Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada.  $E_{sw}$ : Amplitude da onda B;  $\Delta E_s$ : Amplitude da onda A.  $\tau$  = Tempo de ciclo de uma onda quadrada.



**Figura 1.5.** Voltamogramas esquemáticos de onda quadrada. (1) Sistema reversível e (2) sistema irreversível.

Do ponto de vista prático, a maior vantagem da voltametria de onda quadrada é a possibilidade de se obter correntes de pico bem definidas em experimentos executados em alta velocidade de varredura, melhorando, assim, a seletividade da técnica.<sup>30</sup>

Enquanto na voltametria de pulso diferencial a velocidade de varredura varia de 1 a 10  $\text{mV s}^{-1}$ , na voltametria de onda quadrada esta velocidade pode variar de 100 a 1000  $\text{mV s}^{-1}$ , e isto diminui o tempo de análise de cerca de 3 a 5 minutos para alguns poucos segundos (3 a 10 s) sem haver perda da resolução nos picos. Além disto, por tratar-se de uma técnica de pulso, a corrente faradaica pode ser coletada em um intervalo de tempo adequado para que a contribuição da corrente capacitiva seja minimizada.<sup>30</sup>

Uma outra vantagem apresentada pela voltametria de onda quadrada é a redução no ruído de fundo por meio de varreduras repetitivas. Além disso, ainda é possível, pela observação dos sinais das varreduras direta e inversa, se obter as informações análogas àquelas obtidas utilizando-se a VC, porém com uma sensibilidade maior devido à minimização da contribuição da corrente capacitiva.<sup>30</sup>

Uma revisão da literatura realizada a partir de 1995 mostra o intenso crescimento na utilização desta técnica para fins analíticos, para os mais diversos compostos e em diferentes condições voltamétricas.<sup>35</sup> Dentre as metodologias, observa-se a análise de pesticidas, fármacos e moléculas de interesse biológico. Ela é bastante atrativa para essas classes de compostos, pois apresenta as vantagens da não necessidade de etapas de pré-tratamento de amostras e rapidez de análise em relação às técnicas cromatográficas.<sup>35</sup> A voltametria de onda quadrada tem se mostrado uma técnica muito conveniente para a análise de metais, seja na determinação de suas respostas eletroquímicas diretas, como modelos experimentais<sup>36</sup>, seja na formação de complexos com outras substâncias de interesse, como as metaloproteínas.

Geralmente, aplicações quantitativas estão baseadas em curvas de calibração nas quais as alturas dos máximos ou as áreas dos picos são lançadas em gráfico em função da concentração do analito. Quando as condições da matriz de interesse são bem diferentes dos padrões, é mais apropriado o uso do método de adição de padrão no lugar de curvas de calibração. Em ambos os casos, é essencial que a composição dos padrões seja o mais próxima possível da composição da amostra com relação às concentrações de eletrólitos e pH. Quando isto é feito, podem ser atingidas precisões e exatidões relativas no intervalo de 1 a 3 %.<sup>29</sup>

#### **1.2.4. Voltametria de redissolução**

Os métodos de redissolução compreendem uma variedade de procedimentos eletroquímicos que têm em comum uma etapa inicial característica. Em todos esses

procedimentos, o analito é eletrodepositado sobre o eletrodo de trabalho, usualmente a partir de uma solução sob agitação. Depois de um dado período de tempo, a eletrólise é interrompida, cessa-se a agitação e o analito depositado é determinado através de algum procedimento voltamétrico ou potenciométrico (segunda etapa). Durante a segunda etapa de análise, o analito é redissolvido ou retirado do eletrodo, daí o nome métodos de redissolução. Nos métodos de redissolução anódica, o eletrodo comporta-se como o catodo durante a etapa de deposição e como ânodo na etapa de redissolução. A etapa de deposição eletroquímica equivale a uma pré-concentração do analito, isto é, a concentração do analito na superfície do eletrodo adquire valor muito maior do que no restante da solução. Devido a esta etapa, os métodos de redissolução alcançam limites de detecção muito mais baixos que os demais procedimentos voltamétricos.<sup>29</sup> Normalmente, apenas uma fração do analito é depositada na etapa de eletrodeposição. Assim, o resultado quantitativo depende não apenas do controle do potencial do eletrodo, mas também de fatores como o tamanho do eletrodo, a duração da deposição e a velocidade de agitação da amostra e das soluções padrão empregadas na calibração.<sup>29</sup> Numa análise, todos estes parâmetros devem ser mantidos constantes, com exceção da concentração da espécie de interesse.

Estas técnicas de pré-concentração têm sido usadas para cátions e alguns ânions e espécies neutras complexantes, sendo o limite de detecção da ordem de  $10^{-10}$  mol L<sup>-1</sup>. São, portanto técnicas excelentes para a determinação de espécies químicas em níveis de traços e também para estudos de especiação. A estes níveis, a pureza da água e dos reagentes usados na preparação do eletrólito de suporte são de extrema importância.<sup>9</sup>

O uso de soluções sob convecção constante nestes experimentos tem sido muito importante dado que aumentam a sensibilidade devido ao maior transporte de massa, asseguram boa reprodutibilidade, e às vezes fornecendo melhor resolução para soluções de misturas. O uso de células como a de jato impingente (“wall jet”) em sistemas de fluxo é particularmente útil, porque a resposta é rápida e é fácil introduzi-las em qualquer ponto do sistema de fluxo.<sup>9</sup>

Um outro fator importante é o material do eletrodo. Muitas aplicações das técnicas de pré-concentração são para metais pesados que são reduzidos ao metal correspondente em potenciais razoavelmente negativos. Para estes valores de potencial, a corrente de fundo para muitos materiais de eletrodo é apreciável, o que reduz a utilidade da experiência. O mercúrio é o melhor material de eletrodo para este fim, tendo uma corrente de fundo muito baixa devido ao seu alto sobrepotencial para o

hidrogênio.<sup>9</sup> Na voltametria de redissolução anódica o filme de mercúrio e o íon metálico a serem determinados são muitas vezes co-depositados (deposição de filme de mercúrio in situ). O mercúrio traz as desvantagens de ter elevada toxicidade e de ser líquido, então os metais a serem analisados podem difundir para dentro do filme, formando ligações Hg-M, ou formar compostos intermetálicos (entre os metais de análise), se houver mais que um metal dissolvido. A reoxidação destas espécies pode gerar picos compostos (mais de um metal) ou pode estar fora da zona de potenciais úteis, inviabilizando a análise.

Outros materiais têm sido propostos recentemente para a substituição do mercúrio, como os eletrodos modificados quimicamente<sup>37</sup>, eletrodo de diamante dopado com boro<sup>38</sup>, eletrodos screen-printed<sup>39</sup> e de filmes finos de bismuto depositados em um substrato de carbono, que tem mostrado um desempenho comparável com os eletrodos de filmes de mercúrio usando técnica de voltametria de redissolução anódica.<sup>40, 41</sup> Enquanto é conhecido que a utilidade do mercúrio como um material de eletrodo em voltametria de redissolução anódica é baseado na sua habilidade de formar amálgamas com muitos metais pesados, a do bismuto pode ser atribuída com sua propriedade de formar ligas com diferentes metais.

### **1.3. Revisão bibliográfica**

#### **1.3.1. Dispositivos eletroquímicos alternativos para medidas em volumes reduzidos**

No atual panorama da eletroanalítica se destaca a miniaturização dos dispositivos de análise pelo uso de materiais alternativos, devido à possibilidade de leituras em pequenos volumes com custos relativamente baixos. A miniaturização envolve a redução do tamanho total do dispositivo de análise, utilizando menos materiais na construção, gerando um volume menor de resíduos vindos de análises de pequenos volumes ou análises de múltiplas amostras em um pequeno espaço de tempo<sup>42</sup>. Especialmente em análises voltamétricas, o sinal analítico é independente do volume da análise, porque a conversão eletroquímica ocorre na camada de Nernst, logo a sensibilidade não é comprometida (desde que o volume de trabalho não tenha dimensões similares à camada de Nernst). Além disso, a miniaturização dos componentes eletroquímicos não afeta o limite de detecção e quantificação, visto que a

relação sinal/ruído permanece constante<sup>25</sup> (exceto quando utiliza-se microeletrodos nas determinações, onde observa-se uma maior relação sinal/ruído).

Obviamente, a implementação destes sistemas de micro análises (micro total analysis systems –  $\mu$ TAS) eletroquímicas dependem do formato da microcélula e de tecnologias de construção. A literatura mostra uma larga variedade de exemplos, frequentemente baseada em microfotolitografia<sup>43</sup>, processos de deposição de metais por vaporização catódica (ou pulverização catódica) sobre bases de diferentes metais<sup>44, 45</sup> ou tecnologias mais complexas para a produção de sensores<sup>46</sup> ou sistemas de análise de injeção em fluxo (FIA)<sup>23, 47</sup>. A maioria dos laboratórios de eletroquímica, no entanto, não tem o equipamento requerido para a construção destas microcélulas, por exemplo, por processos litográficos, e uma aproximação mais simples é altamente desejada<sup>23</sup>.

Neste contexto, a química eletroanalítica recebe uma posição de destaque devido à grande variedade de materiais que podem ser utilizados como eletrodos/suportes e as chamadas tecnologias alternativas de micro-fabricação, que reduzem o custo final dos dispositivos de análise. Isto possibilita a fabricação e utilização de novos dispositivos de análise e incentiva toda uma linha de pesquisa que engloba também a ciência dos materiais, estudando novos materiais (ou o aproveitamento de materiais já conhecidos) e novas tecnologias.

O uso de material alternativo e de baixo custo para a fabricação de eletrodos sólidos é uma opção empregada por diversos pesquisadores para a construção de dispositivos. O mais conhecido meio de construir eletrodos com materiais alternativos utiliza grafite de lápis. Vários trabalhos, mesmo nos dias atuais, descrevem resultados obtidos onde este tipo de material é utilizado como eletrodo<sup>48, 49</sup>. Outra forma alternativa para a construção de eletrodos de carbono explora filmes finos de resistências empregadas em circuitos eletrônicos<sup>50, 51</sup>. Também foi demonstrada a possibilidade de utilização de lâminas de cobre, originalmente destinadas à construção de circuitos impressos<sup>52</sup>.

Outras possibilidades são o uso de fios de ouro originalmente encapsulados em chips de computadores<sup>53-55</sup> e a utilização de bases metálicas de ouro e mais recentemente de prata, oriundas de discos compactos graváveis (CD-Rs). Esse tipo de substrato, além de alta pureza da película metálica presente e de seu baixo custo, apresenta grande versatilidade, pois a partir deste material é possível obter eletrodos com variadas geometrias, que podem ser adaptados a diferentes células como: macroeletrodos comuns para a utilização em células em “batch”<sup>10, 11, 56</sup> ou adaptados

em células amperométricas em fluxo<sup>10, 11, 57-59</sup>, sistema gerador-coletor em fluxo<sup>60</sup>, células em fluxo para espectroeletroanalítica<sup>61, 62</sup>, bases descartáveis para estudos de modificação de superfície<sup>63, 64</sup>, células microfluídicas com eletrodos interdigitados<sup>23</sup>, detecção amperométrica para sistemas de eletroforese capilar convencionais<sup>12</sup> e para micro-sistemas de separação<sup>65</sup>, redes de microeletrodos<sup>66</sup>, eletrodos descartáveis de área reprodutível<sup>67</sup> e eletrodos inseridos em micro-canais<sup>68</sup>.

Microcélulas compostas por microeletrodos de finos fios comerciais de metais como o ouro<sup>13, 14</sup>, prata<sup>15, 69</sup>, platina<sup>16, 69</sup>, ou cobre<sup>17, 69</sup> são também descritas na literatura. Podemos citar também alguns materiais baratos e/ou reaproveitáveis que servem como suporte para a confecção de micro-células eletroquímicas, como policarbonato de CD-Rs<sup>23, 68</sup>, agulhas de aço inoxidável<sup>21, 22</sup> e ponteiros de micropipetas<sup>70, 71</sup>. Outra importante classe de materiais utilizados para a confecção de eletrodos em micro-células são os materiais compósitos, que serão discutidos nos próximos itens.

### **1.3.2. Eletrodos compósitos**

Um compósito resulta da combinação de dois ou mais materiais diferentes. Cada componente individual possui uma característica original enquanto o material compósito distingue em suas características químicas, mecânicas e físicas das apresentadas pelos componentes individuais.<sup>72</sup>

As propriedades elétricas do compósito dependem da natureza de cada componente, suas quantidades relativas e sua distribuição. A resistência elétrica é determinada pela conectividade das partículas condutoras na matriz polimérica. Isto significa que essas frações podem ser estudadas para determinar a ótima composição. Já quando um material isolante age somente como um aglutinante (para agregar as partículas do condutor, como na pasta de carbono), o compósito pode ser classificado pela natureza do material condutor (platina, ouro, carbono, etc), tamanho e o arranjo de suas partículas.

#### **1.3.2.1. Compósitos de grafite**

Na literatura tem-se encontrado vários trabalhos onde materiais condutores como o carbono em suas várias formas alotrópicas e granulares são misturados a alguns

polímeros orgânicos isolantes como o PVC<sup>73, 74</sup>, Teflon<sup>75, 76</sup>, polietileno<sup>77</sup>, poliestireno<sup>78</sup>, adesivo epóxi<sup>79, 80</sup>, Nafion<sup>81</sup>, entre outros. Eletrodos de compósitos de grafite e adesivo epóxi apresentam como fase condutora o grafite e como fase polimérica um polímero orgânico isolante. Em geral, estes compósitos apresentam uma alta estabilidade mecânica e química, além de um baixo custo. Compósitos mistos de carbono com metais (em escala micro e nanométrica) e o polímero isolante são também relatados<sup>82</sup>.

O grafite é um alótropo do carbono, composto de extensas camadas de átomos de carbono  $sp^2$ , que formam folhas com anéis unidos. Entre os planos das folhas existem elétrons  $\pi$  deslocalizados, o que lhe confere uma boa condutividade<sup>9</sup>, mas limitada quando comparada a condutividade dos metais.

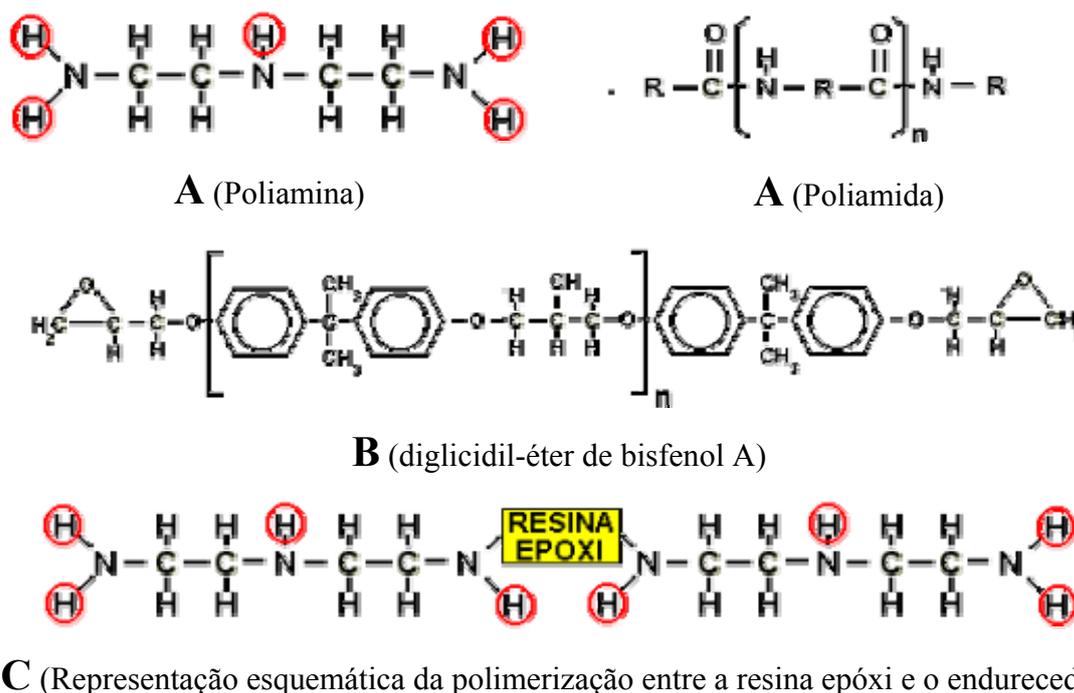
O adesivo epóxi (Araldite<sup>®</sup> Profissional 24 h, Brascola LTDA) é composto pela resina epóxi (líquido branco acinzentado) e pelo endurecedor (líquido amarelado)<sup>83</sup>. A mistura desses dois componentes é feita pela relação 1:1, sendo possível manuseá-la durante aproximadamente 90 minutos e o tempo total de cura da mistura é de 24 horas à temperatura ambiente, quando isenta de solventes. Depois de curado, este adesivo resiste a uma temperatura de 80°C.<sup>83</sup>

As resinas tipo epóxi são polímeros constituídos por monômeros ou pré-polímeros que reagem com agentes de cura produzindo plásticos termoresistentes e de alta eficiência. Os agentes de cura (endurecedores) mais utilizados, para converter epóxidos em termoplásticos, são os anidridos, as polimercaptanas, as aminas, as poliamidas (Figura 1.6A), entre outros.<sup>84</sup>

A primeira resina comercial foi a diglicidil-éter de bisfenol A (Figura 1.6B), que tem como polímero o bisfenol A, é até hoje a mais comum e mais barata conhecida. No entanto têm sido comercializadas resinas epóxi com base em vários outros polímeros, como por exemplo o Bisfenol F, a Epícloridrina, o Tetrabromobisfenol A e o Poliglicol. Conforme a composição da resina epóxi (que pode também ser uma mistura entre resinas), pode-se obter características desejáveis como resistência mecânica (rigidez ou flexibilidade), química (reatividade ou inércia) e térmica.<sup>84</sup> Via de regra, quanto maior a massa molecular do polímero, mais sólida se torna a resina.

Convencionalmente, após a mistura com o endurecedor (durante a cura), os adesivos epóxi transformam-se de líquidos de baixa viscosidade em resinas sólidas bem rígidas, devido à formação de ligações cruzadas entre os sítios do polímero da resina epóxi e as cadeias terminais dos endurecedores, conforme mostrado de maneira esquemática na Figura 1.6C. A estrutura da resina epóxi, além da proporção da mistura

com o endurecedor, define o número de ligações cruzadas entre eles.<sup>84</sup> Quanto maior o número destas ligações, maior a resistência mecânica do polímero resultante.



**Figura 1.6.** Estruturas dos componentes básicos do adesivo epóxi (A e B) e representação das suas ligações cruzadas (C).

Sobre o adesivo epóxi (AE) utilizado no trabalho (Araldite<sup>®</sup> Profissional 24 h, Brascola LTDA), o fabricante<sup>83</sup> informa somente a composição do endurecedor, que é de poliaminoamida. Na literatura encontrou-se que estes agentes de cura são provenientes de uma reação de poliamida com excesso de amina, o que faz com que o produto tenha características entre uma poliamida e uma amina alifática. Ela é adequada para casos onde se queira maior tenacidade e adesividade com melhor fluidez e maior reatividade.<sup>84</sup>

Nos compósitos de grafite e AE, as partículas de grafite preenchem os espaços entre as ligações. O tempo de cura dos componentes do adesivo e a distribuição das partículas de grafite são dependentes da velocidade de secagem do solvente.

Informações detalhadas sobre eletrodos compósitos de grafite, como preparação, uso e propriedades estão disponíveis na literatura. Merece destaque as contribuições de Alegret e colaboradores<sup>72, 79, 85, 86</sup>. Segundo estes, há uma série de vantagens no uso de compósitos como materiais de eletrodo, tais como: facilidade de preparação e

regeneração da superfície, preparação de um eletrodo com resistência mecânica e a solventes não aquosos, relativo baixo custo de produção, bem como durabilidade.

Na literatura, tem-se observado o crescente uso de compósitos de grafite e adesivo epóxi para diversas finalidades analíticas, como na fabricação de eletrodos convencionais para análise de amostras de fármacos e drogas<sup>87</sup>, dispositivos com arranjo de micro-eletrodos de grafite para a análise de amostras reais<sup>19, 79</sup>, suporte para a formação de filmes metálicos “in situ” para análise de metais a níveis de traço<sup>80, 88</sup>, suporte para modificações da superfície na fabricação de biossensores específicos para amostras de interesse biológico<sup>89</sup>, entre outros.

#### 1.4. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho foi a construção de microdispositivos eletroquímicos alternativos para a análise em volumes reduzidos e com baixo custo de produção. Duas configurações de eletrodos foram propostas: em uma delas, os três eletrodos se encontram na extremidade de ponteiros de micropipetas, sendo que o ET se encontra no interior da ponteira e os EA e ER se encontram na extremidade externa da ponteira, em lados diametralmente opostos. Na outra, os eletrodos se encontram em microcanais, fabricados entre placas de policarbonato (obtidos de CD-Rs), sendo que a altura destes é delimitada pela termotransferência de máscaras de toner sobrepostas. Nestas microcélulas, o ET pode ser de ouro ou compósito de grafite, o EA de compósito de grafite e o ER é de compósito de prata ou grafite.

Outro objetivo foi a caracterização dos microdispositivos propostos através de medidas eletroquímicas comparativas entre estes e eletrodos comerciais. Além disso, alterações na estrutura dos mesmos foram feitas, para a obtenção de microcélulas com durabilidade e comportamento reprodutível. Na caracterização foram utilizadas somente técnicas voltamétricas, como a voltametria cíclica, a voltametria de onda quadrada, a amperometria e a amperometria de múltiplos pulsos.

Ao longo do trabalho, objetivamos também o desenvolvimento e a caracterização de compósitos de grafite e adesivo epóxi, preparados na presença de solvente orgânico, para substituir o uso dos dispendiosos adesivos condutores comerciais e facilitar no processo de microfabricação.

## CAPÍTULO 2 - PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. Instrumentação

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas utilizando-se um Potenciostato/Galvanostato marca Autolab modelo  $\mu$ AUTOLAB tipo III, interfaceado a um computador contendo o software GPES 4.9 para o controle das técnicas eletroquímicas e respectivas variáveis. Este potenciostato também é interfaceado a um sistema de agitação magnética (agitador modelo 728, Metrohm), utilizados nos métodos envolvendo pré-concentração com as microcélulas da ponteira de micropipeta. Além dos eletrodos e microcélulas descritos no itens 2.1.1 a 2.1.3, usou-se também o ET de pasta de carbono ou os comerciais adquiridos da empresa Metrohm (Ouro de 2 e 3 mm de diâmetro e carbono vítreo de 2 e 3 mm de diâmetro), o EA de Platina e ER de Ag/AgCl/KCl sat.

Nas medidas eletroquímicas estacionárias utilizou-se uma célula convencional em acrílico de 7,0 mL e outras células menores construídas em laboratório (até 100  $\mu$ L). Nas medidas em fluxo, a vazão foi controlada pela pressão constante gerada por um mini-compressor de ar acoplado a uma coluna d'água, a qual permite um controle preciso de vazão<sup>90</sup>. No caso da célula microfluídica, a pressão gerada pelo sistema é inserida num mini-frasco por meio de um orifício na tampa (com rosca) e a solução é impulsionada até a micro-célula através de tubos de sílica fundida com 250  $\mu$ m de diâmetro interno. Na substituição de uma solução por outra, o mini-frasco era trocado. No sistema FIA com os eletrodos da ponteira de micropipeta, utilizou-se o mesmo sistema de propulsão, mas somente com solução de eletrólito no frasco (reservatório), sendo as soluções de análise inseridas por injetor de acrílico do tipo comutador. Tubos de polietileno ( $\phi$  interno = 1 mm) foram utilizados para a condução das soluções e preenchimento da alça de amostragem.

Na fabricação das células microfluídicas utilizou-se uma impressora HP LaserJet 1160 e Prensa térmica modelo Prima (Ferragini Design) para a impressão e transferência das máscaras de toner, respectivamente.

As imagens dos eletrodos foram obtidas por um microscópio óptico Olympus modelo BX41M.

Na caracterização dos compósitos de grafite, AE e ciclohexanona, utilizou-se um Multímetro digital marca Minipa e um paquímetro digital Instrutemp.

## **2.2. Materiais, reagentes e soluções**

Os materiais utilizados na construção dos microdispositivos foram adquiridos no comércio local ou reaproveitados. Os comerciais são: cola Araldite® 24 h profissional Brascola, PVC de tubulações Tigre®, adesivo plástico para PVC Tigre®, polímero termomoldável, grafite Sigma-Aldrich de partículas até 2 µm, fios de ouro de diâmetro 63 µm Sigma-Aldrich, compósito de prata (PC 9045) da Joint Metal Comercio Ltda (Diadema/SP), tinta comercial de grafite Acheson tipo Electrodag® 423 SS, Teflon®. Os materiais reaproveitados são: fios de cobre de circuitos de computador, fios de ouro obtidos pelo corte de uma fina chapa metálica de ouro de alta pureza, ponteiros de micropipetas de 10 e 100 µL, bases de policarbonato de CD-Rs e borrachas para isolamento de fios de cobre, que foram usadas para construção dos anéis de fixação.

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada (18 MΩ – cm 25° C) obtida de sistema de purificação Milli-Q plus (Millipore) e os reagentes utilizados na preparação das soluções são de grau analítico (Merck ou Sigma Aldrich). As soluções de trabalho de chumbo, cádmio e bismuto foram obtidas pela diluição das respectivas soluções padrão 1000 mg L<sup>-1</sup> em meio ácido, preparadas a partir de reagentes de grau analítico (Synth). As demais soluções aquosas foram preparadas a partir da dissolução de reagentes sólidos (PA) e diluição de soluções de ácidos concentrados (PA).

As soluções de ferrocianeto de potássio, chumbo e cádmio foram preparadas na hora do uso. Todas as outras soluções foram armazenadas em frascos de polipropileno.

## **2.3. Preparação do compósito condutor de grafite e adesivo epóxi**

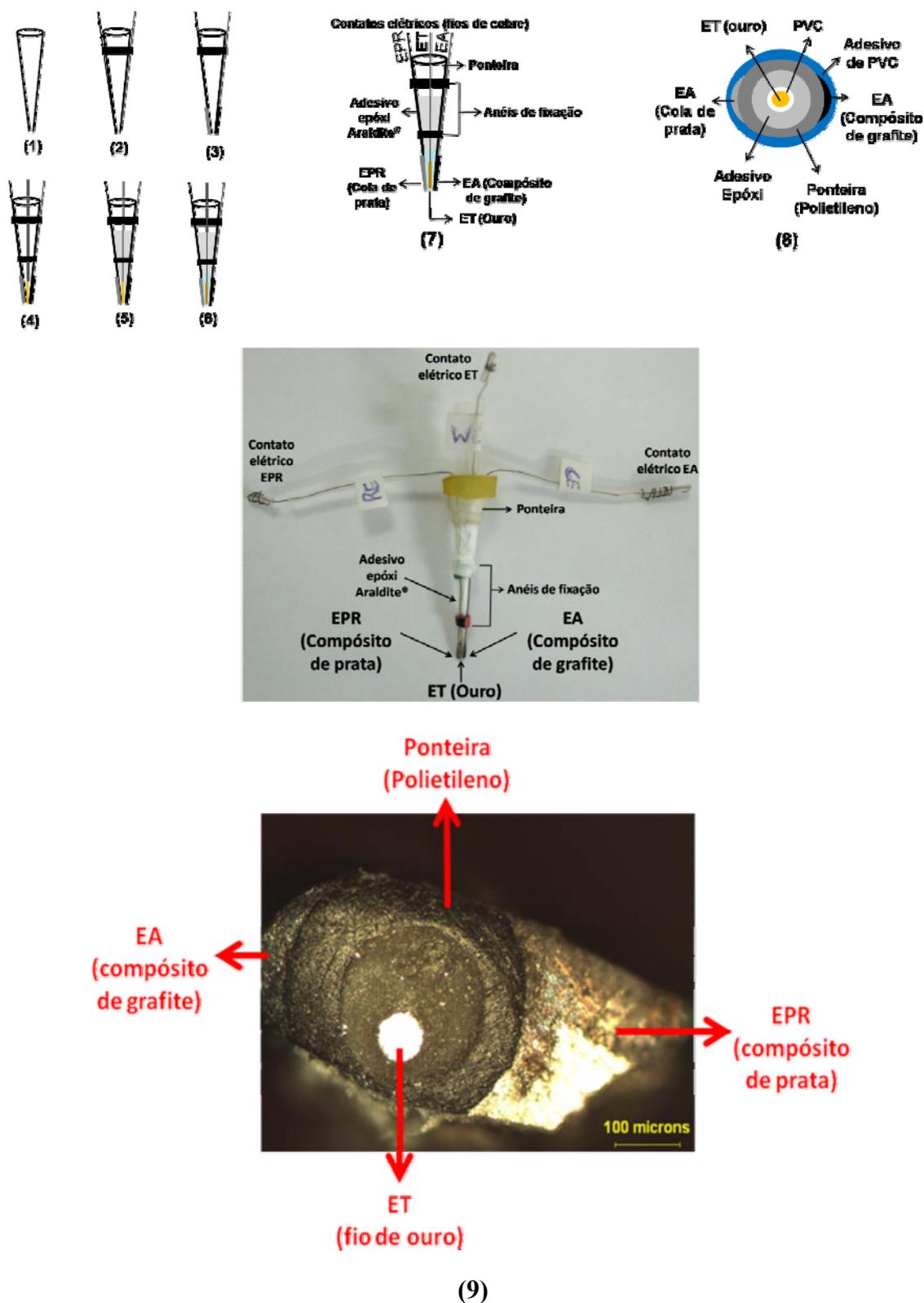
Para a preparação dos compósitos condutores de grafite, adotou-se o seguinte procedimento: (1) Adicionou-se 0,1 g de resina epóxi (Araldite® 24 h, Brascola) à 3 mL de ciclohexanona sob agitação magnética por 5 minutos; (2) Posteriormente, acrescentou-se 0,1 g de poliaminoamida (endurecedor), mantendo a agitação por mais 10 minutos; (3) Em seguida, adicionou-se lentamente 2,0 g de grafite (diâmetro até 2 µm), mantendo-se o sistema em agitação por 24 h. Após este período, o compósito pode

ser transferido (por pincelamento) para a superfície de interesse. Para sua cura, o compósito deve ser mantido à temperatura ambiente por 24 h. Recomenda-se o uso deste compósito em até duas semanas após o seu preparo, para evitar uma polimerização *in situ* (no interior do frasco) e a secagem do solvente.

## **2.4. Construção dos microdispositivos para análises em volumes reduzidos**

### **2.4.1. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de ouro**

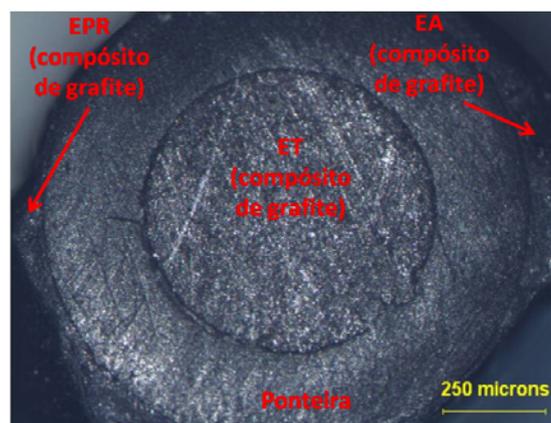
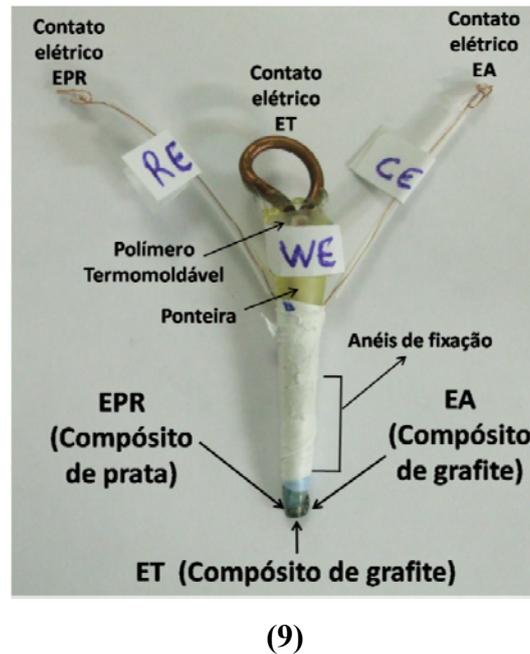
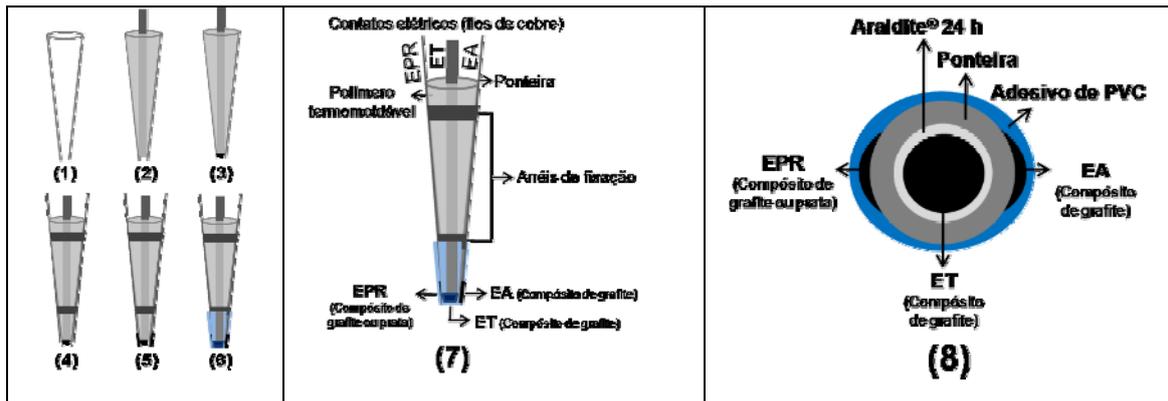
A Figura 2.1 apresenta as etapas envolvidas na construção da microcélula contendo os três eletrodos em uma ponteira de micropipeta, sendo o ET de ouro, o EA de compósito de grafite e o EPR de compósito de grafite ou de prata. Numa ponteira de micropipeta de 0,5-10  $\mu\text{L}$  ( $\Phi$  interno  $\approx$  0,3 mm) ou de 10-100  $\mu\text{L}$  ( $\Phi$  interno  $\approx$  1 mm) (1), com um anel de fixação, imobilizou-se externamente dois fios de cobre em lados diametralmente opostos (2). Na extremidade de um dos fios, pincelou-se cola de prata comercial ou compósito de grafite (EPR) e na extremidade do outro (EA), compósito de grafite (3). Após 24 h (tempo de cura) introduziu-se um fio de ouro ( $\phi = 60\text{-}200 \mu\text{m}$ ) recoberto com filme de PVC e previamente soldado a um fio de cobre na parte interna da ponteira (4). O filme de PVC é formado pela exposição do fio de ouro a uma solução de PVC dissolvido em THF (18 g PVC/100 mL THF). Após 6 horas, o conjunto foi mergulhado numa mistura contendo adesivo epóxi (AE) diluído em THF (0,1 g de AE/ 1 mL THF) (5). Após a volatilização do solvente, mergulhou-se o microdispositivo até uma altura de 1 cm aproximadamente, em um adesivo de PVC, para aumentar a resistência mecânica e impedir o rompimento ou descolamento dos EPR e EA pela água da solução (6). Após a secagem do solvente do adesivo, lixou-se a superfície da ponteira com lixa d'água 1000 e 2000 na presença de água, para a remoção do filme de PVC. Em (7), tem-se o microdispositivo contendo os três eletrodos na extremidade da ponteira de micropipeta, ouro como ET, cola de prata comercial como EPR e compósito de grafite como EA. Em (8) tem-se a vista frontal do microdispositivo, após a remoção do filme de PVC.



**Figura 2.1.** Etapas da construção do microdispositivo em uma ponta com ET de ouro EA de compósito de grafite e EPR de compósito de grafite ou prata (1-5) e vista microdispositivo em perspectiva (6) e frontal (7). Foto lateral (8) e frontal (9) de um microdispositivo numa ponta de 0,5-10  $\mu$ L.

#### **2.4.2. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de compósito de grafite**

A Figura 2.2 apresenta as etapas envolvidas na construção da microcélula contendo os três eletrodos em uma ponteira, sendo o ET e EA de compósito de grafite e o EPR de compósito de grafite ou prata. Inicialmente, com o auxílio de um polímero termomoldável, fixou-se um fio de cobre ( $\Phi \approx 1,5$  mm) no interior de uma ponteira de micropipeta de polietileno de 10-100  $\mu$ L ( $\Phi$  interno  $\approx 2$  mm) (1) a 1 mm da extremidade inferior, de modo a produzir uma pequena cavidade. Nas paredes internas da ponteira pincelou-se adesivo epóxi Araldite® 24 h. (2). Em seguida, introduziu-se o compósito de grafite na cavidade (3) e após o seu tempo de cura (24 h), dois fios de cobre são fixados na parte externa da ponteira em lados opostos (4). Na extremidade da ponteira pincelou-se compósito de grafite em um fio e compósito de grafite ou prata no outro (5). Depois de 24 h mergulhou-se a extremidade do microdispositivo num adesivo de PVC, para reforço mecânico (6). Após 6 h, tem-se o microdispositivo contendo os EPR de compósito de prata (ou de grafite) e o EA de compósito de grafite em lados opostos na parte externa da ponteira, e o ET de compósito de grafite no interior da ponteira (6). Em (7), tem-se a descrição do microdispositivo com seus componentes e sua exposição frontal encontra-se em (8). Em (9) e (10), tem-se a foto lateral e frontal, respectivamente.



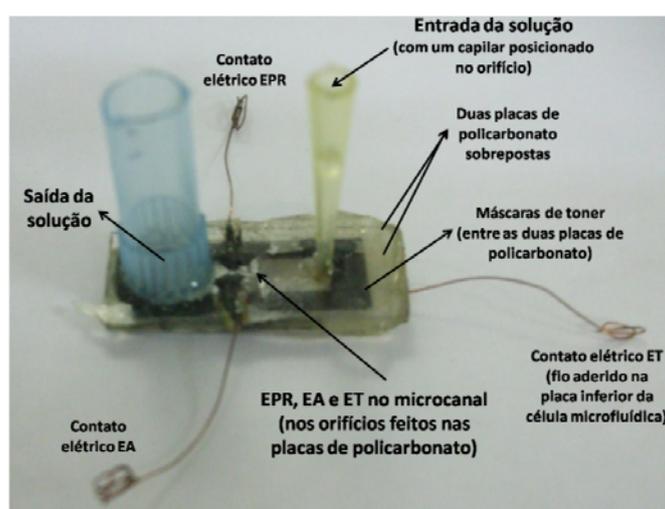
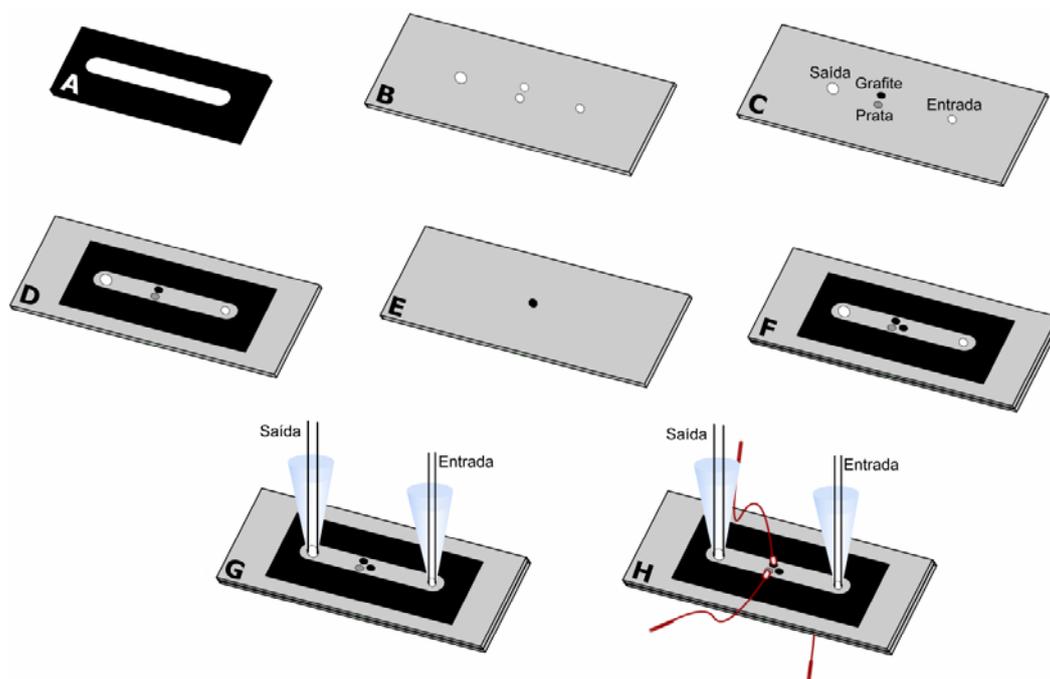
**Figura 2.2.** Etapas da construção do microdispositivo com ET de compósito de grafite, EA de compósito de grafite e EPR de compósito de grafite ou prata (1-5). Vista do microdispositivo em perspectiva (6) e frontal (7). Foto lateral (8) e frontal (9) do microdispositivo numa ponteira de 100  $\mu$ L.

### **2.4.3. Célula microfluídica de camada delgada contendo o ET e o EA de compósito de grafite e EPR de compósito de prata (3 eletrodos no microcanal)**

As etapas envolvidas na construção da microcélula são apresentadas na Figura 2.3. Inicialmente, com auxílio de um software gráfico (Power Point), uma máscara de toner que define a altura e largura do microcanal foi delineada. Posteriormente, esta máscara é impressa (sobre papel parafinado) usando uma impressora LaserJet (A). A largura (5 mm) é definida pela região sem impressão ao centro da máscara e a altura pela espessura do toner. A altura do microcanal é controlada da seguinte forma: uma máscara  $\approx 6 \mu\text{m}$ ; duas máscaras sobrepostas  $\approx 12 \mu\text{m}$ ; três máscaras  $\approx 17 \mu\text{m}$ ; quatro máscaras  $\approx 22 \mu\text{m}$ . Usando-se o mesmo procedimento descrito em (A), uma máscara que define o posicionamento dos EA e EPR, assim como do orifício de entrada e saída da solução foi delineada. Esta máscara após a impressão é termo-transferida sobre uma base de policarbonato obtida a partir de um CD-R comum (após abrasão em lixa d'água 150, para a remoção da película de prata) (B). Em seguida, os orifícios foram efetuados nas posições indicadas pela máscara, sendo de 0,9 mm de diâmetro para a entrada da solução e para os EPR e EA. Para a saída, o diâmetro do orifício é de 2 mm. Posteriormente, poliu-se a base de policarbonato com os orifícios com lixa d'água 600 para remoção de possíveis saliências (rebarbas) geradas pelas brocas. Em seguida, os orifícios intermediários foram preenchidos, um com compósito de grafite e outro com compósito de prata comercial, para funcionarem, respectivamente, como EA e EPR (C). Estes compósitos necessitam de secagem à temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, com auxílio de uma lixa d'água 600 um novo polimento é necessário para obtenção de uma superfície uniforme (sem relevo). Em seguida a máscara descrita no item (A) foi termo-transferida para a base de policarbonato descrito no item C (D).

Obteve-se então, uma segunda base de policarbonato, fazendo-se um orifício na parte central de 0,9 mm de diâmetro, o qual foi preenchido com compósito de grafite. Esta base, após 24 horas para a cura do compósito, foi lixada com lixa d'água 600. As bases de policarbonato D e E foram acopladas por aquecimento, de forma que o ET de compósito de grafite ficasse posicionado do lado da entrada da solução e os EPR de compósito de prata e EA de compósito de grafite do lado da saída da solução (F). Para maior resistência mecânica, um adesivo epóxi (Araldite<sup>®</sup> 10 min) foi usado por toda a lateral do microdispositivo e, com o auxílio do mesmo, ponteiras foram fixadas nos orifícios de entrada e saída de solução da célula microfluídica(G). No interior da

ponteira, posicionada na entrada do dispositivo foi fixado um tubo de sílica fundida com diâmetro interno igual ou inferior a 250  $\mu\text{m}$ . No interior da ponteira localizada na saída da solução, tubos com diâmetros internos maiores podem ser utilizados. Após a secagem do adesivo epóxi, fios de cobre foram fixados usando o composto condutor de prata ou grafite para possibilitar o contato elétrico entre os eletrodos e o potenciostato (H).



(I)

**Figura 2.3.** Etapas envolvidas na construção da célula microfluídica com ET e EA de composto de grafite e EPR de composto de grafite ou prata (A-G); Vista da célula microfluídica em perspectiva (H). Foto com vista superior da célula microfluídica (I).

## **2.5. Preparação das microcélulas para uso em medidas eletroquímicas**

### **2.5.1. Microcélula com ET de ouro (no suporte de ponteira de micropipeta)**

A limpeza mecânica da superfície dos ET, EA e EPR, suportados em ponteira de micropipeta, foi feita pelo polimento com lixa d'água 1000 e 2000, respectivamente, na presença de água, por aproximadamente 10 minutos.

Quando a limpeza mecânica não era suficiente, efetuava-se uma limpeza eletroquímica, por meio de varreduras cíclicas sucessivas em ácido perclórico 0,1 mol L<sup>-1</sup> na faixa de potencial entre 0 V e 1,5 V a 20 mV s<sup>-1</sup>. O tempo necessário para uma boa limpeza da superfície do ET de ouro é variável, mas comumente, 30 varreduras eram suficientes.

### **2.5.2. Microcélula com ET de compósito de grafite**

Realizou-se a limpeza mecânica da superfície dos três eletrodos suportados na extremidade da ponteira de micropipeta pelo polimento em lixa d'água 400, 600 e 1000, respectivamente, na presença de água deionizada. O polimento era cessado quando as superfícies da ponteira e do eletrodo compósito apresentavam uma uniformidade (mesmo nível). As lixas mais grossas (400 e 600) são capazes de lixar a ponteira também, logo, pode-se ajustar a espessura do compósito em relação ao fio de cobre responsável pelo contato elétrico entre o eletrodo e o potenciostato. Estudos posteriores mostraram que espessuras de 1 mm do compósito de grafite apresentam os melhores resultados. As superfícies dos eletrodos de compósito de grafite são facilmente regeneradas entre polimentos sucessivos, logo uma limpeza eletroquímica torna-se desnecessária.

### **2.5.3. Célula microfluídica de camada delgada contendo o ET e o EA de compósito de grafite e EPR de compósito de prata (3 eletrodos no microcanal)**

A limpeza mecânica das placas de policarbonato contendo os eletrodos de compósitos é feita pela sua abrasão em lixa d'água 400, 600 e 1000, respectivamente, na presença de água. Este polimento é feito até as superfícies do policarbonato e do

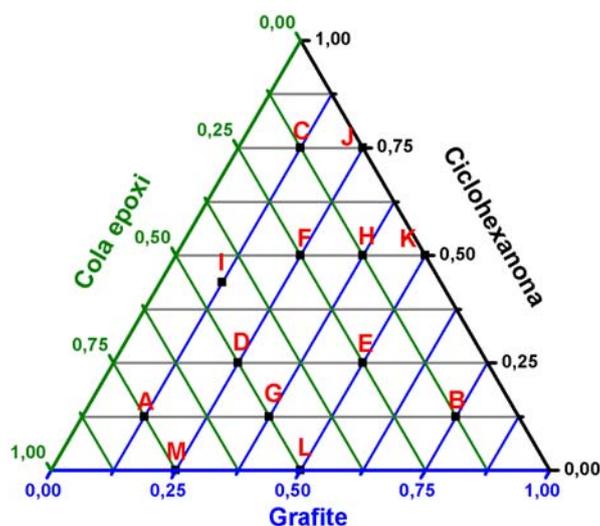
compósito de grafite ficarem niveladas. Além disso, a superfície do compósito de grafite não pode apresentar falhas.

É importante lembrar que a limpeza mecânica destes microdispositivos é possível somente na etapa de fabricação, antes da junção das duas placas de policarbonato por aquecimento da máscara de toner, visto que nestes microdispositivos, os eletrodos se encontram no interior de um microcanal. Neste caso, somente é possível utilizar a limpeza eletroquímica, que é feita com a técnica de VC variando os potenciais entre 0 V e 0,8 V usando uma solução de ácido sulfúrico de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  a uma vazão de até  $100 \mu\text{L min}^{-1}$ .

## 2.6. Caracterização dos compósitos de grafite

### 2.6.1. Investigação da condutividade elétrica dos compósitos de grafite

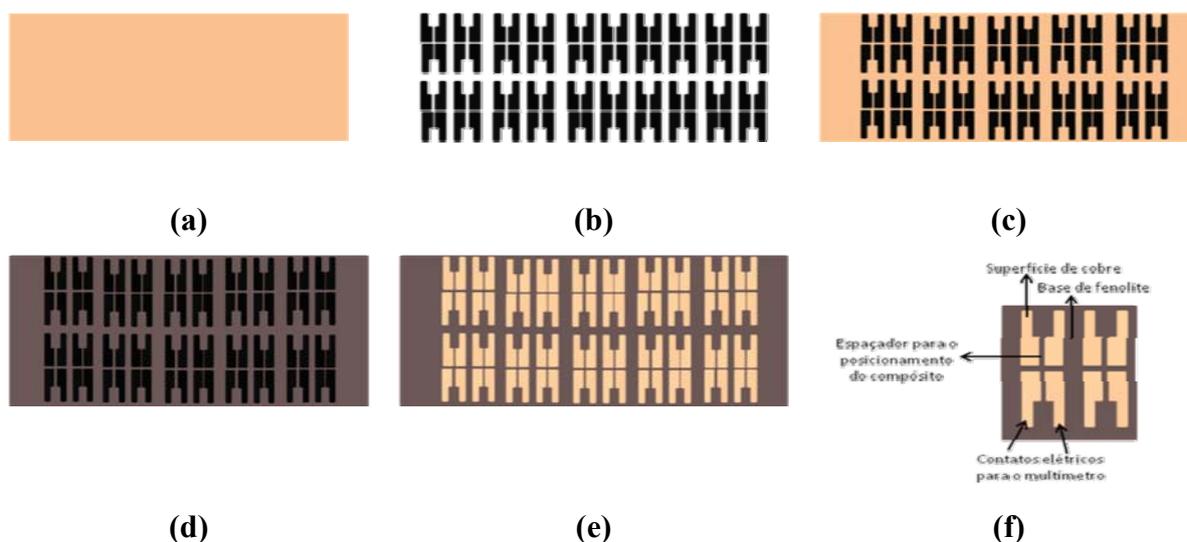
Para a investigação da condutividade elétrica dos compósitos, efetuamos misturas em diferentes proporções de grafite, adesivo epóxi e ciclohexanona e mediu-se a resistência ( $\Omega$ ) de cada composição com um multímetro. Para tal, inseriu-se os diferentes compósitos entre placas de cobre de 5,0 mm espaçadas de aproximadamente 0,6 mm (Figura 2.5). Com as dimensões das placas de cobre (medidas com um paquímetro) e as medidas de resistência, a condutividade ( $\sigma$ ) foi calculada. Os pontos do planejamento de misturas (Figura 2.4) com os respectivos resultados experimentais de condutividade foram inseridos em um programa estatístico (Statistica 7) e então, obteve-se uma equação e uma superfície de resposta em função da fração mássica de cada componente.



**Figura 2.4.** Pontos do planejamento experimental (A a M) para as medidas de condutividade dos compósitos de grafite, AE e ciclohexanona.

### 2.6.1.1. Construção das placas de cobre para as medidas de condutividade

Para a construção das placas de cobre utilizadas nas medidas de condutividade, utilizou-se uma placa de fenolite de dimensões 5x10 cm com 40  $\mu\text{m}$  de cobre depositados em sua superfície (Figura 2.5a). Em um software gráfico, 10 máscaras de toner idênticas foram desenhadas (Figura 2.5b), as quais foram impressas com uma impressora LaserJet sobre papel parafinado. Posteriormente, as máscaras foram termo-transferidas sobre a placa de cobre (Figura 2.5c) com o auxílio de uma prensa térmica. Após 10 minutos (retorno a temperatura ambiente), a placa de cobre foi submetida a um banho em solução de cloreto férrico 700  $\text{g L}^{-1}$  por 30 minutos. Nesta etapa, o cobre não coberto pelo toner é removido da placa (corrosão química). Em seguida, o excesso de solução de cloreto férrico é removida da placa com água deionizada (Figura 5d) e o toner é removido com um papel previamente umedecido com acetona (Figura 2.5e). Desta maneira, existe cobre somente nos lugares antes cobertos pelas máscaras de toner, e os compósitos são, então, depositados entre as duas placas de cobre (figura 2.5f). As medidas de resistência dos compósitos foram medidas com multímetro em quadruplicata. A resistência média foi levada em conta no cálculo da condutividade.



**Figura 2.5.** Etapas da construção dos dispositivos para as medidas de condutividade dos compósitos.

## **2.7. Caracterização eletroquímica das microcélulas**

### **2.7.1. Avaliação do desempenho dos EPRs à base de compósitos**

O comportamento eletroquímico dos eletrodos de pseudo-referência preparados a partir de diferentes materiais foi investigado usando a técnica de voltametria cíclica (VC). Ferrocianeto de potássio em meio de eletrólito KCl foi usado como analito modelo e os eletrodos de Carbono Vítreo e Platina como ET e EA, respectivamente. Nestes estudos, o eletrodo de trabalho e auxiliar foram mantidos e variou-se apenas o material a ser usado como ER. Foram realizadas medidas com EPR de compósito de prata, EPR de compósito de grafite e ER de Ag/AgCl/KCl sat. Os deslocamentos de  $E_{pc}$  e  $E_{pa}$  após 80 voltamogramas foram registrados.

### **2.7.2. Avaliação do desempenho do EA e EPR à base de materiais compósitos**

O desempenho do microdispositivo contendo o ET de ouro, EA de compósito de grafite e EPR de compósito de prata foi avaliado por meio de voltamogramas cíclicos obtidos das soluções de nitrito de sódio ( $1,67 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), dipirona ( $2,86 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) e dicromato de potássio ( $2,47 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) em meio dos tampões acetato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,70), fosfato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 7,20), citrato  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,10) e borato  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 9,10). Nestas condições, o parâmetro repetibilidade (estabilidade) foi avaliado através de voltamogramas cíclicos sucessivos (registrando-se as varreduras 5, 10, 15 e 20;  $n=4$ ) e a reprodutibilidade, através de medidas ( $n = 4$ ) feitas em diferentes momentos. As medidas foram realizadas, ora usando o conjunto contendo os três eletrodos do microdispositivo, ora substituindo os EA e EPR pelos eletrodos comerciais de platina (auxiliar) e de Ag/AgCl/KCl sat. (referência), mantendo em comum somente o ET de ouro na ponteira. O DPR das medidas de  $i_{pa}$  dos dois conjuntos de eletrodos (EPR e EA de compósitos ou ER e EA comerciais) foi o parâmetro utilizado para a comparação entre os sistemas.

### **2.7.3. Medidas eletroquímicas comparativas em macro e micro-volumes**

Para este estudo, o microdispositivo da ponteira de micropipeta tendo ET de ouro ( $\varnothing = 100 \mu\text{m}$ ) (em ponteira de micropipeta) foi testado utilizando-se solução de

ferrocianeto de potássio  $7,2 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em eletrólito suporte KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  e soluções de concentrações crescentes de nitrito de sódio em KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . O EPR nestes estudos foi de compósito de prata. A velocidade de varredura em todos os experimentos foi de  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . Todos os experimentos foram realizados em volumes da ordem de mL (células eletroquímicas convencionais) e  $\mu\text{L}$  (micro-células).

## **2.7.4. Microcélula com suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de ouro**

### **2.7.4.1. Estudo da estabilidade da resposta eletroquímica**

Para verificar a estabilidade da resposta do microdispositivo, efetuou-se 85 varreduras cíclicas em solução de ferrocianeto de potássio  $10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em eletrólito suporte KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

### **2.7.4.2. Estudos da microcélula em FIA**

A potencialidade da aplicação destas microcélulas em sistemas de análises por injeção em fluxo foi verificada através de medidas por amperometria a potencial constante e amperometria de múltiplos pulsos. Com a primeira técnica realizou-se medidas repetitivas com sucessivas injeções de uma solução de ferrocianeto de potássio  $4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  com aplicação de um potencial constante de  $+0,6 \text{ V}$ . Com a segunda técnica fez-se adições de concentrações crescentes de ferrocianeto de potássio, com a aplicação de três pulsos de potencial,  $0,4$ ,  $0,5$  e  $0,6 \text{ V}$ , respectivamente. Uma curva de calibração foi construída com estes resultados.

### **2.7.4.3. Estudos da mudança da velocidade de varredura**

O efeito da velocidade de varredura sobre a resposta voltamétrica do eletrodo de ouro do microdispositivo em comparação com o comercial foi investigado em solução  $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  em meio de KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . As velocidades de varredura foram variadas de  $10$  a  $150 \text{ mV s}^{-1}$ .

### **2.7.5. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de compósito de grafite**

#### **2.7.5.1. Estudo da estabilidade**

Nestes estudos, realizou-se medidas sucessivas com a técnica VC em uma solução de ferrocianeto de potássio  $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . Foram realizados estudos de repetibilidade (medidas sucessivas com a mesma microcélula) e também de reprodutibilidade inter-eletrodo (5 diferentes microcélulas). Nestes estudos, o EA e o ER eram de compósito de grafite e prata, respectivamente.

#### **2.7.5.2. Investigação do comportamento eletroquímico de ferrocianeto de potássio sobre diferentes materiais do ET**

As mesmas medidas do item 2.7.5.1 foram realizadas com três diferentes ET: Compósito de grafite, carbono vítreo Metrohm ( $\varnothing = 3 \text{ mm}$ ) e pasta de carbono.

#### **2.7.5.3. Estudo da área efetiva do ET de compósito de grafite**

Neste estudo, usando ferricianeto de potássio  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em meio de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e a técnica de voltametria cíclica, medidas sob diferentes velocidades de varredura (10, 20, 30, 50, 75 e  $100 \text{ mV s}^{-1}$ ) foram realizadas. Este experimento permite calcular a área efetiva do eletrodo, a qual pode ser comparada com a área geométrica, obtida pela imagem da superfície do ET de compósito num microscópio óptico.

### **2.7.6. Célula microfluídica (com 3 eletrodos no interior de um microcanal)**

#### **2.7.6.1. Estudos da estabilidade de resposta da célula microfluídica**

Para avaliar a estabilidade da célula microfluídica, soluções contendo concentrações crescentes de  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$  (10, 16, 20, 30, 50 e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) na presença de  $\text{Bi}^{2+}$  ( $1 \text{ mg L}^{-1}$ ) e tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  foram analisadas usando a técnica eletroquímica de redissolução voltamétrica por onda quadrada. Além disto, estudos de repetibilidade de sinal e variação de vazão e sensibilidade foram também realizados.

## CAPÍTULO 3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1. Caracterização dos compósitos de grafite e AE na presença de solvente

#### 3.1.1. Investigação da condutividade elétrica dos compósitos

Nesta investigação procurou-se conhecer a condutividade dos compósitos de grafite (preparados pelas diferentes misturas possíveis entre grafite, adesivo epóxi e ciclohexanona). Este estudo torna-se necessário, pois somente algumas proporções entre estes componentes fornecem respostas eletroquímicas satisfatórias. Esta investigação pode ser feita de maneira mais rápida e eficiente por meio do procedimento quimiométrico da metodologia da superfície de resposta<sup>91</sup>, que fornece os efeitos individuais de cada componente, além dos efeitos de interação entre estes sobre a resposta de condutividade. Esta técnica é dividida em duas etapas: Planejamento dos pontos experimentais e análise da superfície de resposta.

A Tabela 3.1 apresenta os pontos do planejamento de mistura (A a M) com as distâncias entre as placas de cobre (onde os compósitos foram aderidos) com as respectivas medidas de resistência dos compósitos (feita em quadruplicata), além da condutividade média, calculada através da Equação 1.

$$\sigma = \frac{L}{R.A} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

$\sigma$  é a condutividade ( $S \text{ mm}^{-1}$ )

R é a resistência, medida no multímetro ( $\Omega$ )

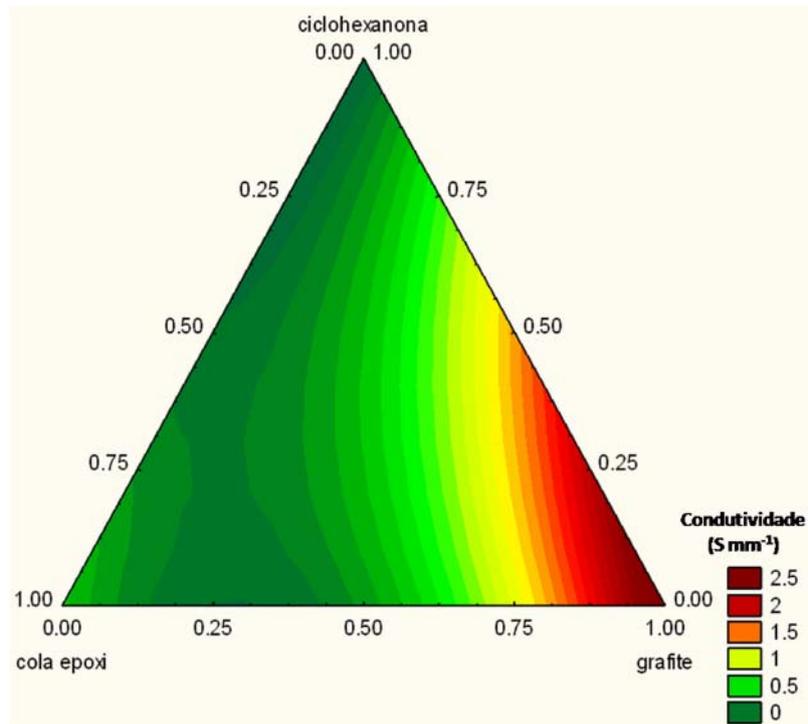
A é a área da seção transversal entre as placas (H: 0,04 mm; L: 0,5 mm. A: 0,02 mm<sup>2</sup>)

L é a distância entre as placas de cobre onde são posicionados os compósitos (mm)

**Tabela 3.1.** Valores dos comprimentos das placas e resistências elétricas com as respectivas condutividades médias calculadas nos diferentes compósitos.

Ponto	L / mm				R / $\Omega$				$\sigma$ / S mm <sup>-1</sup>
	1	2	3	4	1	2	3	4	
<b>A</b>	0,74	0,56	0,47	0,47	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	<b>0</b>
<b>B</b>	0,60	0,60	0,60	0,60	—	—	—	—	—
<b>C</b>	0,38	0,30	0,38	0,38	170	120	129	128	<b>0,133</b>
<b>D</b>	0,40	0,40	0,40	0,40	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	<b>0</b>
<b>E</b>	0,39	0,47	0,67	0,59	25	23	20	25	<b>1,017</b>
<b>F</b>	0,58	0,54	0,47	0,39	110	122	112	125	<b>0,213</b>
<b>G</b>	0,65	0,67	0,64	0,77	$7 \times 10^4$	$6 \times 10^4$	$3 \times 10^4$	$6 \times 10^4$	<b><math>6,833 \times 10^{-4}</math></b>
<b>H</b>	0,71	0,64	0,66	0,67	45	44	38	36	<b>0,829</b>
<b>I</b>	0,56	0,66	0,52	0,68	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	<b>0</b>
<b>J</b>	0,74	0,75	0,75	0,75	47	52	83	55	<b>0,661</b>
<b>K</b>	0,75	0,75	0,75	0,75	40	28	30	35	<b>1,15</b>
<b>L</b>	0,75	0,75	0,70	0,70	$4 \times 10^3$	$3 \times 10^3$	$9 \times 10^3$	$6 \times 10^3$	<b><math>7,021 \times 10^{-3}</math></b>
<b>M</b>	0,75	0,75	0,75	0,75	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	<b>0</b>

As composições dos pontos A a M com as respectivas condutividades médias foram adicionadas em um software gráfico (STATISTICA 7), que gerou uma superfície de resposta (Figura 3.1) e uma equação (Equação 2). Estas respostas fornecem uma aproximação do comportamento de condutividade elétrica dos compósitos em função da proporção de cada um de seus componentes.



**Figura 3.1.** Superfície de resposta gerada pelo software Statistica 7 relacionando condutividade em função da fração mássica de cada componente do compósito

$$\sigma \text{ (S mm}^{-1}\text{)} = -0,3287 \text{ AE} + 2,5766 \text{ Gr} - 0,2076 \text{ Ch} - 5,2947 \text{ AE} \times \text{Gr} - 0,5887 \text{ AE} \times \text{Ch} + 0,6309 \text{ Gr} \times \text{Ch}$$

### Equação 2

Onde:

$\sigma \text{ (S mm}^{-1}\text{)}$ : condutividade, em Siemens por milímetro;

AE: fração mássica do adesivo epóxi;

Gr: fração mássica de grafite;

Ch: fração mássica de ciclohexanona.

Nota-se que os efeitos individuais dos componentes AE e ciclohexanona são negativos, ou seja, apresentam uma influência negativa na condutividade da mistura, o que está de acordo com as propriedades individuais de cada um deles. O polímero de AE apresenta propriedades de isolamento elétrico<sup>83</sup> e o solvente contribui para o afastamento das partículas condutoras de grafite, tornando pior a condutividade elétrica. Já o grafite tem um efeito positivo na medida de condutividade elétrica, o que confere com as suas propriedades condutoras.

Neste estudo observaram-se várias aparências para os diferentes compósitos estudados, o que depende muito da fração de cada componente na mistura final. Por exemplo, os compósitos que apresentaram uma grande porcentagem de adesivo epóxi, mostravam-se bastante rígidos, mas pouco condutores ou isolantes (compósitos A, D, G, I, L e M) da Figura 2.4.; já os compósitos com grande porcentagem de grafite apresentam aspecto seco, com boa condutividade, mas com baixíssima adesividade (por exemplo, não foi possível medir a resistividade do compósito B e do grafite puro da Figura 2.4, visto a sua não adesividade na superfície de fenolite). Já os compósitos com alta porcentagem de solvente apresentam-se bastante fluídos e pouco rígidos. Logo, é necessário adotar uma composição que alie as propriedades condutoras do grafite, para servir como eletrodos e contato elétrico, as adesivas do adesivo epóxi, para uma boa aderência em diferentes superfícies, e uma fluidez razoável, para facilitar o processo de construção de microdispositivos. Essas condições são satisfeitas na composição 0,04/0,4/0,56 (% m/m) (Otimizada), que corresponde às frações de AE/grafite/ciclohexanona, respectivamente. Todas as medidas eletroquímicas realizadas no trabalho com compósitos de grafite foram feitas com esta composição, tanto os usados como ER, EA ou ET.

Com as mesmas placas de cobre utilizadas no estudo da composição, mediu-se a condutividade do compósito de grafite e AE na composição otimizada no momento em que foi feito e após 4 meses preparado (armazenado em frasco fechado). Além disso, medimos também a condutividade de um compósito comercial de grafite (Acheson Tipo Electrodag® 423 SS) e de um compósito comercial de prata (Joint Metal Comercio Ltda tipo PC9540) (Tabela 3.2).

**Tabela 3.2.** Medidas de condutividade dos compósitos otimizados e comerciais

<b>Materiais</b>	<b>Condutividade S mm<sup>-1</sup></b>
Compósito otimizado	0,920
Compósito otimizado após 4 meses de preparo	0,0068
Compósito comercial de grafite	21,300
Compósito comercial de prata	∞

Pela Tabela 3.2, observa-se que o compósito otimizado diminui bastante a sua condutividade depois de estocado por 4 meses, apesar de sua aparência física não se

alterar muito. A idéia inicial era preparar um compósito de grafite que tivesse certa durabilidade, quando armazenado em frasco fechado, daí uma das razões de se utilizar o solvente. Os resultados obtidos indicam que o solvente retarda a polimerização do adesivo epóxi, mas após um tempo relativamente longo (4 meses), a condutividade diminui mais de 100 vezes. Longos tempos de armazenamento, tais como os submetidos aos adesivos comerciais são impraticáveis nos compósitos desenvolvidos. Vale ressaltar, porém, que os compósitos comerciais apresentam propriedades de adesão nas superfícies utilizadas neste trabalho (policarbonato e polietileno) muito inferiores ao compósito otimizado. Informações a respeito da composição dos compósitos comerciais, bem como o procedimento de montagem estão protegidas em patentes, o que justifica o alto preço destes adesivos.

Na literatura verificou-se que a fabricação dos compósitos de grafite e AE não é feita na presença de solvente. Nestes casos, a construção de dispositivos com este compósito é sempre acompanhada da etapa de pré-moldagem (etapa de cura) antes da inserção no suporte. Além disso, o contato elétrico com o fio condutor é feito com os dispendiosos adesivos condutores comerciais. Utilizando o solvente, encontrou-se na literatura, alguns protocolos para a preparação de tintas condutoras de grafite utilizadas para a confecção de eletrodos “silk-screen”. Nessa pesquisa bibliográfica não foi encontrado AE como componente destas misturas. Um protocolo típico foi apresentado por Wring et al<sup>92</sup> e consiste na mistura de acetato de celulose, ciclohexanona, acetona e pó de grafite. Em outro trabalho, encontrou-se a hidroxietilcelulose como aglutinante<sup>93</sup>. De qualquer maneira, nenhum destes fornecem propriedades mecânicas tão boas quanto a do adesivo epóxi.

O uso de solventes na confecção de microdispositivos facilita sua construção, pois ele possibilita a moldagem do eletrodo no formato desejado (pois o compósito com solvente é fluído). Além disso, o compósito final (após a cura) tem uma superfície mais homogênea, visto que a mistura entre seus componentes na etapa de fabricação pode ser feita sob agitação magnética.

### **3.1.2. Uso dos compósitos para a junção de materiais condutores**

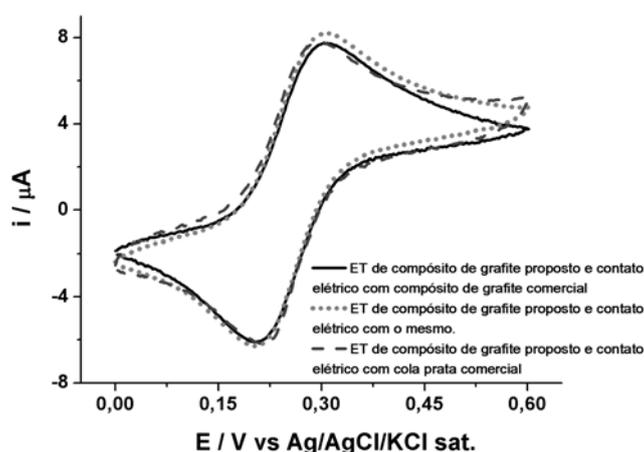
Investigou-se também a resistência elétrica do compósito de grafite desenvolvido e dos compósitos comerciais quando utilizados como contato elétrico entre o eletrodo de compósito de grafite e fios de cobre. Para tal, mergulhou-se um

eletrodo de compósito de grafite na composição otimizada e um eletrodo de platina em uma poça de mercúrio e com auxílio de um multímetro, a resistência entre ambos era obtida. Mediu-se então, a resistência elétrica de três dispositivos, cada um contendo um adesivo condutor diferente: o compósito otimizado, o compósito de grafite comercial e o compósito de prata comercial (Tabela 3.3).

Apesar dos compósitos de grafite desenvolvidos apresentarem uma menor condutividade elétrica (Tabela 3.2), observa-se que os três materiais compósitos quando utilizados como adesivo condutor (para fazer a junção entre o material do eletrodo e o fio de cobre) apresentam resistências elétricas de mesma magnitude (Tabela 3.3). Na prática, observa-se que o eletrodo de compósito de grafite proposto no presente trabalho apresenta o mesmo comportamento eletroquímico, independente do material usado para fazer o contato elétrico (Figura 3.2).

**Tabela 3.3.** Medidas de resistência elétrica de eletrodos de compósito de grafite (composição otimizada) com diferentes compósitos servindo como adesivo condutor

Contato elétrico	Resistência ( $\Omega$ )
Compósito de grafite na composição otimizada	23,10
Compósito de grafite comercial	12,90
Compósito de prata comercial	6,70
Platina	0,003

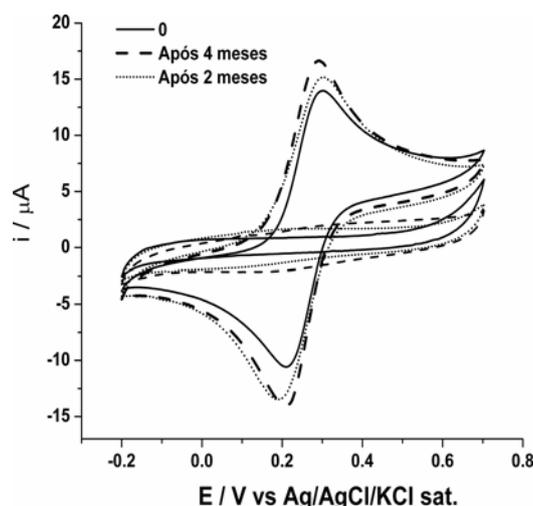


**Figura 3.2.** Voltamogramas cíclicos obtidos com  $K_4Fe(CN)_6$   $5 \text{ mmol L}^{-1}$  em eletrólito suporte  $KCl$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  com ET de compósito de grafite otimizado imobilizado no orifício de uma superfície de policarbonato (Diâmetro  $\approx 1 \text{ mm}$ ). EA: Pt, ER: Ag/AgCl/KCl sat.

Logo, na construção do microdispositivo contendo compósito de grafite como ET na ponteira é desnecessária a etapa de adesão dos compósitos no fio de cobre com os dispendiosos adesivos condutores comerciais, frequentemente utilizados. Como o compósito é fluído e o perfil eletroquímico é independente do tipo de adesivo utilizado, é necessário somente colocar o compósito no espaçamento da extremidade inferior da ponteira e esperar o tempo de cura de 24 horas. Na célula microfluídica também foi possível utilizar o compósito condutor de grafite desenvolvido, mas a etapa de confecção do eletrodo de compósito é diferente da etapa do contato elétrico, como foi descrito no procedimento experimental.

### **3.1.3. Durabilidade dos eletrodos de compósitos de grafite**

Como descrito anteriormente (3.1.1), os compósitos de grafite quando armazenados em frascos fechados têm a sua condutividade diminuída em aproximadamente duas ordens de grandeza após 4 meses. Diante disto, um estudo foi realizado para testar a durabilidade dos ET de compósito de grafite em função do tempo após sua cura. Neste estudo, o eletrodo de trabalho de compósito de grafite foi montado no interior de uma ponteira com o contato elétrico via fio de cobre. Experimentos usando VC foram realizados com ferrocianeto de potássio como analito modelo com a mesma microcélula após 2 e 4 meses de sua construção (Figura 3.3). Conforme pode ser observado, a área eletroquimicamente ativa do ET permaneceu praticamente inalterada neste período. Notou-se um pequeno aumento de  $I_{pa}$  e de  $I_{pc}$ , o que demonstra um suave aumento da área do ET, consequência dos polimentos com as lixas d'água, principalmente das mais grossas (400 ou 600) que atacam também a ponteira.



**Figura 3.3.** Medidas feitas com o mesmo ET de composto de grafite no momento em que foi feito e após 2 e 4 meses exposto ao ar. Linhas espessas: voltamogramas cíclicos obtidos em meio de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$   $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e eletrólito suporte  $\text{KCl}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . Linhas rarefeitas: respectivos brancos. EA: Pt, ER: Ag/AgCl/KCl sat..

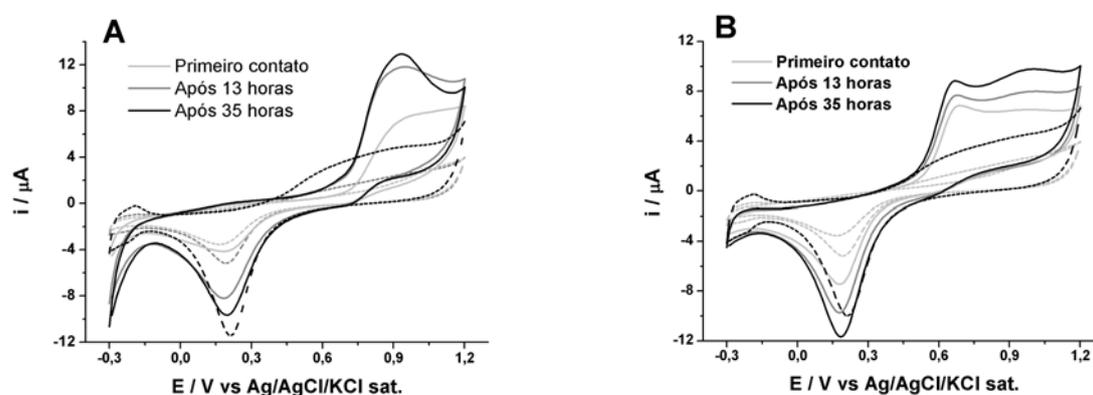
### 3.2. Otimizações nas construções das microcélulas

#### 3.2.1. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de ouro

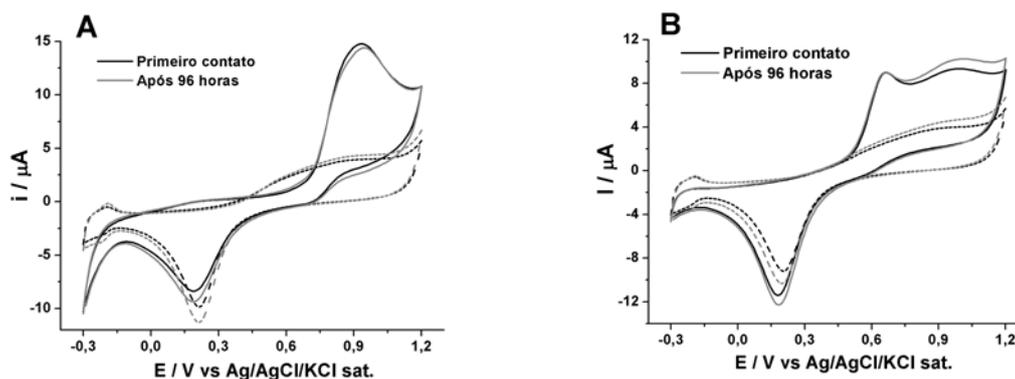
Durante os testes iniciais das microcélulas construídas, observou-se que quando a solução de análise entrava em contato com os compostos de prata e de grafite, os mesmos facilmente desprendiam-se da ponteira. Para contornar o problema, foi lixada a extremidade externa da ponteira com lixa d'água 400 para aumentar a rugosidade da superfície, antes de aderir externamente os eletrodos de compostos (grafite e prata). Além disto, após a secagem destes compostos e fixação dos contatos elétricos, o microdispositivo era mergulhado em um adesivo a base de PVC (oriundo de tubos de PVC dissolvidos com THF) a uma altura de aproximadamente 1 cm. Este adesivo de PVC aumenta a resistência mecânica do microdispositivo e impede que a água entre em contato com os fios de cobre responsáveis pelo contato elétrico dos EA e EPR com o potenciostato.

Os anéis de fixação dos fios de cobre foram colocados para evitar que os contatos elétricos do potenciostato rompessem os fios de cobre do microdispositivo, que têm resistência mecânica menor do que os contatos dos eletrodos comerciais.

Nos primeiros microdispositivos construídos utilizou-se AE dissolvido em THF para fixar o eletrodo de fio de ouro na parte interna da ponteira. Posteriormente, observamos que no decorrer de medidas com o mesmo eletrodo, a corrente tendia a aumentar, caracterizando um aumento da área do eletrodo, comprometendo assim, a reprodutibilidade e repetibilidade dos resultados. Para contornar o problema, passou-se a utilizar um adesivo à base de PVC para recobrir lateralmente os fios de ouro antes de sua introdução no interior da ponteira, substituindo então, o AE diluído. Os voltamogramas cíclicos obtidos com um eletrodo de platina ( $\varnothing = 1,5$  mm) recoberto com AE e com PVC, ambos mergulhados em uma solução de tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  por um tempo de até aproximadamente 3 dias são apresentados nas Figuras 3.4 e 3.5, respectivamente.



**Figura 3.4.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de nitrito de sódio  $1,67 \text{ mmol L}^{-1}$  (A) e para uma solução de paracetamol  $1,67 \text{ mmol L}^{-1}$  (B) com um ET de platina recoberto lateralmente por adesivo epóxi em diferentes tempos mergulhados em solução de tampão acetato. EA: Platina; ER: Ag/AgCl/KCl sat.; Linhas tracejadas: respectivos brancos; Linhas sólidas: soluções dos analitos; Eletrólito: tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Velocidade de varredura:  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .



**Figura 3.5.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de nitrito de sódio 1,67 mmol L<sup>-1</sup> (A) e para uma solução de paracetamol 1,67 mmol L<sup>-1</sup> (B) com o ET de platina recoberto lateralmente por filme de PVC em diferentes tempos mergulhados em solução de tampão acetato. EA: Platina; ER: Ag/AgCl/KCl sat.; Linhas sólidas: soluções dos analitos; Linhas tracejadas: respectivos brancos; Eletrólito: tampão acetato 0,1 mol L<sup>-1</sup>; Velocidade de varredura: 100 mV s<sup>-1</sup>.

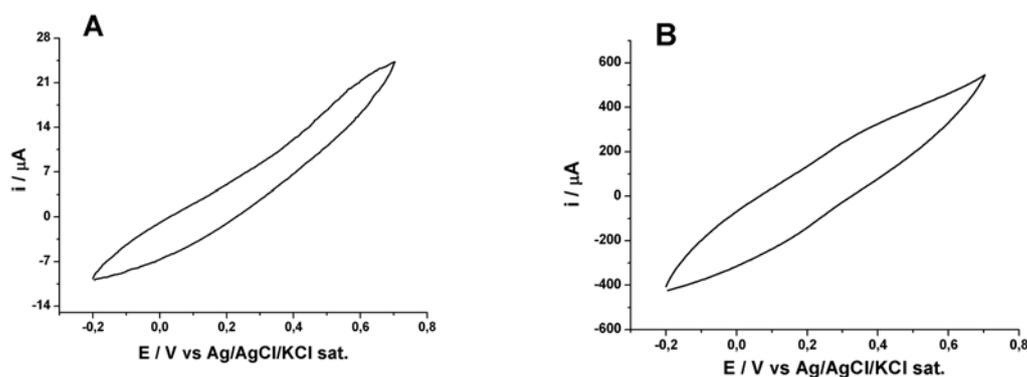
Comparando-se os resultados apresentados nas Figuras 3.4 e 3.5, observa-se que no primeiro caso existe um aumento da  $i_{pa}$  (após 36 h) de 77,3 % para nitrito e 49,9 % para paracetamol, e no segundo caso, um aumento de 2,6 % para nitrito e 9,8 % para paracetamol. Vale ressaltar que o tempo de exposição do eletrodo de platina (recoberto lateralmente com PVC) à solução de tampão de acetato foi em torno de três vezes maior do que o do eletrodo de Pt recoberto com AE. Apesar disto, a variação do sinal de corrente foi aproximadamente cinco vezes menor para o paracetamol e trinta vezes menor para o nitrito. O aumento de sinal de corrente, após a exposição à solução aquosa, sugere o aumento da área do eletrodo, ou seja, a solução entra em contato com o ET de platina, provavelmente, também nas partes laterais do eletrodo (infiltração) e não somente na superfície frontal. Isto pode ser explicado através de características dos materiais utilizados, pois o PVC dissolve-se muito menos na água do que o AE, o que é uma vantagem quando se pretende usar este material como um delimitador da área superficial.

Porém, apesar de o PVC ser mais inerte do que o AE, ele não possui propriedades adesivas satisfatórias com o polietileno da ponteira. Logo, para deixar o ET imobilizado no interior da ponteira e evitar que as soluções aquosas entrem no interior da ponteira ou haja um descolamento, construímos o microdispositivo com o ET

envolto por um filme fino de PVC. Entre este filme e o polietileno da ponteira preenche-se com AE, assim como descrito no procedimento experimental (2.4.1).

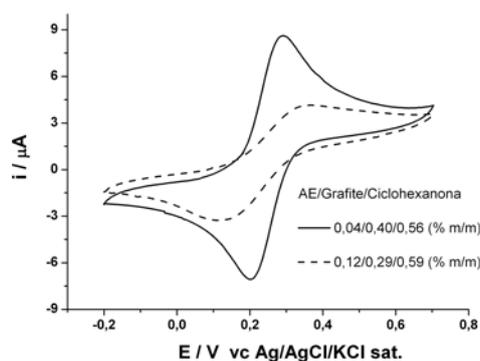
### 3.2.2. Microcélula no suporte de ponteira de micropipeta contendo ET de compósito de grafite

Para a fabricação deste microdispositivo, o ET de compósito de grafite é construído antes dos outros eletrodos, ao contrário do microdispositivo contendo os fios metálicos condutores. Nesta construção, observamos que o compósito condutor de grafite não adere diretamente na superfície interna do polietileno da ponteira, como pode ser observado pela alta resistência e irreprodutibilidade dos voltamogramas cíclicos da Figura 3.6.



**Figura 3.6.** Voltamogramas cíclicos de  $K_4Fe(CN)_6$   $5 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$  em eletrólito suporte KCl  $0,5$  mol  $L^{-1}$  com compósito de grafite inserido diretamente no orifício na extremidade da ponteira. ET de compósito de grafite contendo 0,12/0,29/0,59 (A) ou 0,04/0,4/0,56 (B) (fração mássica de AE/Grafite/Ciclohexanona, respectivamente)

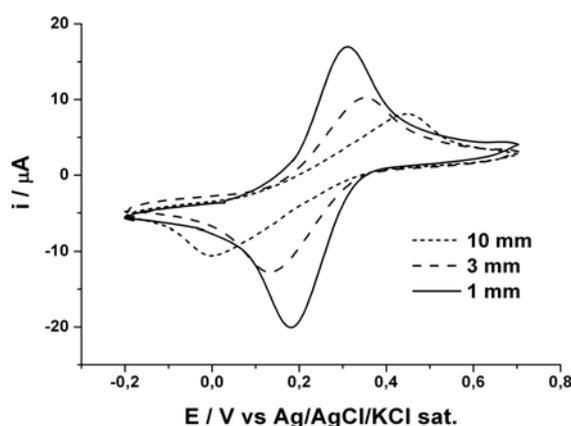
Para melhorar a adesividade do compósito de grafite na ponteira, adotamos a estratégia de pincelar o AE (24 h) na superfície interna do orifício da ponteira, antes de introduzir o compósito no mesmo. Deste modo, ocorre uma polimerização simultânea entre AE presente no compósito e o AE previamente pincelado na parede interna da ponteira. Após o tempo de cura, foram obtidos voltamogramas cíclicos de ferrocianeto de potássio com estes dispositivos (Figura 3.7).



**Figura 3.7.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de  $K_4Fe(CN)_6$   $5 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$  em eletrólito suporte KCl  $0,5$  mol  $L^{-1}$  com ET de compósito de grafite tendo AE 24 h pincelado nas bordas internas da ponteira. EA: Pt, ER: Ag/AgCl/KCl sat.

Outro estudo realizado está relacionado com a espessura da camada de compósito de grafite. Na Figura 3.8 observa-se que, quanto menor a espessura do compósito de grafite, menor a diferença entre os  $E_{pc}$  e  $E_{pa}$ , além do aumento nos valores de corrente, indicando, provavelmente, uma menor resistência elétrica do ET. O aumento dessas correntes também pode ser atribuído a um aumento da área eletroativa do ET, pois, quanto mais lixa-se a ponteira (formato cônico), maior o diâmetro do ET.

Vale ressaltar que o tamanho da camada de compósito de grafite influi na resistência à transferência eletrônica na interface eletrodo solução devido a uma menor condutividade do compósito de grafite em relação aos eletrodos metálicos. Como a condutividade elétrica dos últimos é muito maior, o tamanho da camada destes não influencia em nada no perfil dos voltamogramas cíclicos.

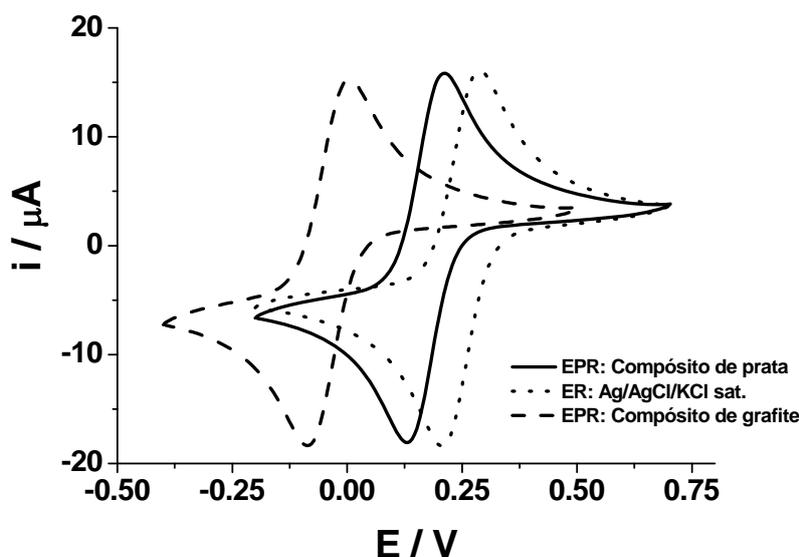


**Figura 3.8.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de  $K_4Fe(CN)_6$   $5 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$  em eletrólito suporte KCl  $0,5$  mol  $L^{-1}$  com o microdispositivo com diferentes alturas da camada de compósito de grafite. EA: Pt, ER: Ag/AgCl/KCl sat. e ET: Compósito de grafite na composição otimizada

### 3.3. Caracterização eletroquímica das microcélulas

#### 3.3.1. Avaliação dos EPRs à base de compósitos

A Figura 3.9 apresenta os perfis dos voltamogramas cíclicos para ferrocianeto de potássio em meio de KCl com eletrodos de referência compostos de diferentes materiais. A Tabela 3.4 apresenta os deslocamentos de potencial após 48 min de varredura cíclica (80 voltamogramas a  $50 \text{ mV s}^{-1}$ ).



**Figura 3.9.** Voltamogramas cíclicos de solução de ferrocianeto de potássio  $3,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  no eletrólito suporte KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  utilizando três diferentes materiais como eletrodo de referência. ET: Carbono Vítreo; EA: Platina; Velocidade:  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

**Tabela 3.4.** Deslocamentos dos  $E_{pa}$  e  $E_{pc}$  referentes ao par  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  sobre o ET de Carbono vítreo após 80 voltamogramas cíclicos sucessivos com três diferentes ER (ou EPR). EA: Platina.

Eletrodo de referência	$E_{pc}$ s1*	$E_{pc}$ s80**	$\Delta E_{pc}$	$E_{pa}$ s1*	$E_{pa}$ s80**	$\Delta E_{pa}$
Ag/AgCl/KCl sat.	0,215	0,210	0,005	0,288	0,280	0,008
Compósito de prata	0,137	0,132	0,005	0,220	0,210	0,010
Compósito de grafite	-0,059	-0,078	0,019	0,020	0,005	0,015

\*S1: Varredura 1; \*\*S80: Varredura 80.

Pela Figura 3.9, observa-se que os EPR de compósitos de prata e de grafite apresentam um deslocamento no  $E_{pa}$  e  $E_{pc}$  para regiões mais negativas de aproximadamente 100 mV e 300 mV, respectivamente, em relação ao ER de

Ag/AgCl/KCl sat.. Na Tabela 3.4 observa-se que os três materiais apresentaram pequenos deslocamentos do potencial em direção a potenciais mais negativos no decorrer das medidas, o que é aceitável para análises eletroquímicas. Além disso, a diferença entre os  $E_{pa}$  e  $E_{pc}$  para cada material manteve-se constante em aproximadamente 75 mV, mostrando uma boa reversibilidade do par ferri/ferro, o que é consequência de uma baixa resistência à transferência eletrônica entre o analito e os eletrodos. Logo, os dois materiais propostos como eletrodo de pseudo-referência (compósito de prata e compósito de grafite) podem ser utilizados para medidas eletroquímicas em substituição ao eletrodo comercial de Ag/AgCl. A vantagem que estes oferecem é a possibilidade de serem arrançados em células mais compactas, para a leitura em volumes menores do que as células eletroquímicas convencionais.

### 3.3.2. Comparação do desempenho dos EA e EPR à base de compósitos

Nestes estudos, os desvios padrão relativos (DPR) das medidas de corrente de pico de oxidação ( $i_{pa}$ ) para analitos nos diferentes tampões de estudo para os dois conjuntos eletródicos (EA e EPR de compósito de grafite e prata ou EA e ER comerciais de Platina e Ag/AgCl/KCl sat.) são comparados. A Tabela 3.5 apresenta a comparação destes EPR considerando o parâmetro repetibilidade e a Tabela 3.6 apresenta os EPR comparativos considerando o parâmetro reprodutibilidade.

Considerou-se como repetibilidade os voltamogramas sucessivos do mesmo analito (20 medidas, mas registradas somente de 5 em 5) e reprodutibilidade como sendo 4 conjuntos de medidas distintos do mesmo analito, ou seja, medidas iniciadas em diferentes momentos.

**Tabela 3.5.** DPR (%) de  $i_{pa}$  em voltamogramas sucessivos utilizando o ET de ouro ( $d \approx 100 \mu\text{m}$ ) com os ER e EA comerciais (ER/EA com) ou com os EPR de compósito de prata e EA de compósito de grafite na microcélula (ER/EA comp).

Tampão	Nitrito		Dipirona		Dicromato	
	ER/EA com	ER/EA comp	ER/EA com	ER/EA comp	ER/EA com	ER/EA comp
<b>Acetato</b>	0,87	0,52	5,22	5,15	2,08	0,97
<b>Fosfato</b>	2,23	0,58	3,20	1,92	5,85	1,56
<b>Citrato</b>	0,93	0,41	0,88	0,42	3,95	4,36
<b>Borato</b>	0,50	0,35	0,52	0,51	0,19	0,10

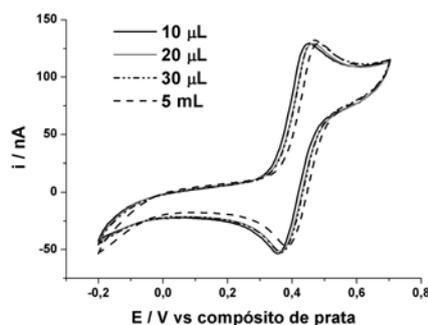
**Tabela 3.6.** DPR (%) de  $i_{pa}$  em diferentes conjuntos de voltamogramas utilizando o ET de ouro ( $d \approx 100 \mu\text{m}$ ) com os ER e EA comerciais (ER/EA com) ou com os EPR de compósito de prata e EA de compósito de grafite na microcélula (ER/EA micro).

Tampão	Nitrito		Dipirona		Dicromato	
	ER/EA com	ER/EA micro	ER/EA com	ER/EA micro	ER/EA com	ER/EA micro
<b>Acetato</b>	0,27	0,21	2,75	2,49	1,34	1,17
<b>Fosfato</b>	2,65	1,61	5,22	1,86	1,31	0,20
<b>Citrato</b>	0,358	0,28	0,42	0,41	2,16	1,30
<b>Borato</b>	1,79	0,21	0,61	0,51	0,11	0,10

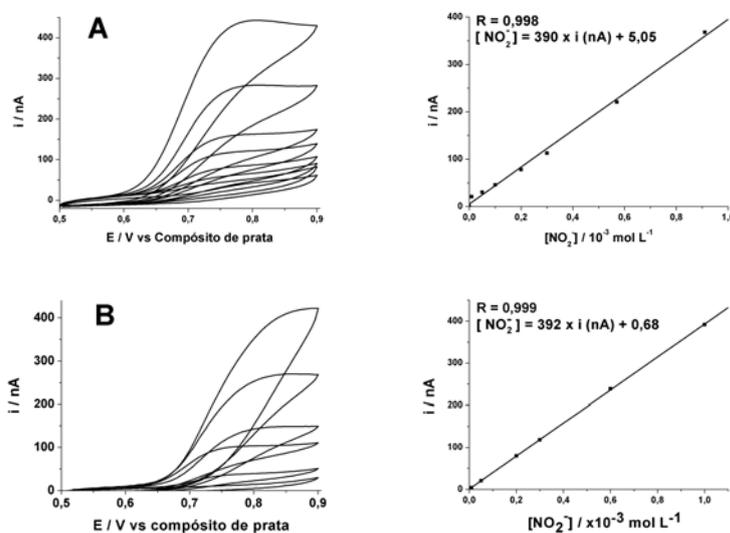
Pelas tabelas 3.5 e 3.6, observa-se que os DPRs de repetibilidade e reprodutibilidade são menores quando o conjunto dos três eletrodos contidos na ponteira (microdispositivo) são utilizados, o que pode ser atribuído a uma menor distância entre os eletrodos e provavelmente a um posicionamento fixo dos 3 eletrodos quando comparados às medidas feitas com os 3 eletrodos separados (sem suporte). Os baixos valores de desvios padrão encontrados indicam que as mudanças de pH e de composição do meio não afetam a repetibilidade e reprodutibilidade de resposta do microdispositivo, sugerindo uma relativa inércia química dos eletrodos de compósitos nos variados tampões de estudo.

### 3.3.3. Voltamogramas cíclicos em macro e micro volumes

Neste estudo, procurou-se investigar as diferenças nos perfis de voltamogramas cíclicos de soluções de ferrocianeto de potássio em volumes de células convencionais ( $\approx 5$  mL) e micro-células (10-100  $\mu\text{L}$ ). A Figura 3.10 apresenta os voltamogramas cíclicos do ferricianeto de potássio em diferentes volumes de análise. A Figura 3.11 apresenta uma curva de calibração para nitrito em um volume de 5 mL e outra em 10  $\mu\text{L}$ .



**Figura 3.10.** Voltamogramas cíclicos obtidos para ferrocianeto de potássio  $7,2 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$  em KCl  $0,5$  mol  $\text{L}^{-1}$ , sobre ET de ouro ( $d = 63$   $\mu\text{m}$ ) em diferentes volumes de solução; EA: composto de grafite e EPR: composto de prata; Velocidade :  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ .



**Figura 3.11.** Voltamogramas para concentrações crescentes de nitrito em KCl  $0,5$  mol  $\text{L}^{-1}$  com suas respectivas curvas de calibração. (A): Volume de medida de  $5,0$  mL;  $[\text{NO}_2^-] = 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,57$  e  $0,91 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$ . (B): Volume de medida de  $10$   $\mu\text{L}$ ;  $[\text{NO}_2^-] = 0; 0,05; 0,2; 0,3; 0,6$  e  $1 \times 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$ . Microcélula com os eletrodos na extremidade de uma ponteira com ET de ouro ( $d = 100$   $\mu\text{m}$ ), EA: Compósito de grafite; ER: Compósito de prata; Velocidade :  $50$   $\text{mV s}^{-1}$ .

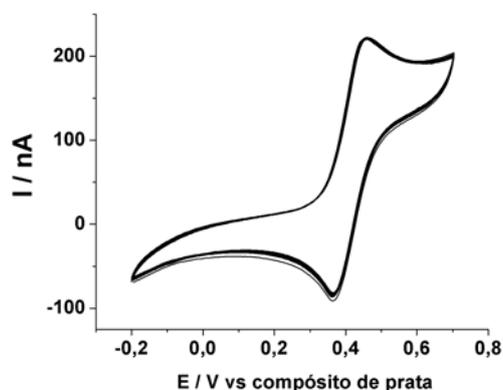
Na Figura 3.10 observa-se que o perfil dos voltamogramas cíclicos de ferrocianeto de potássio e paracetamol são os mesmos, independente do volume de análise. Com esta microcélula é possível fazer medidas em volumes da ordem de até 3  $\mu\text{L}$ . Além disso, a sensibilidade não é afetada pelo volume de análise, como pode ser observado nas inclinações das retas das curvas de calibração em A (390) e B (392) da Figura 3.11.

A independência do sinal analítico com o volume de análise é um comportamento esperado em medidas voltamétricas, visto que a conversão faradaica do analito de interesse ocorre somente na camada de Nernst, localizada na região interfacial eletrodo/solução e de espessura muito pequena (10 a 100  $\mu\text{m}$ , em condições estacionárias).<sup>29</sup>

### 3.3.4. Microcélula contendo ET de ouro em ponteira de micropipeta

#### 3.3.4.1. Estudo da estabilidade de sinal

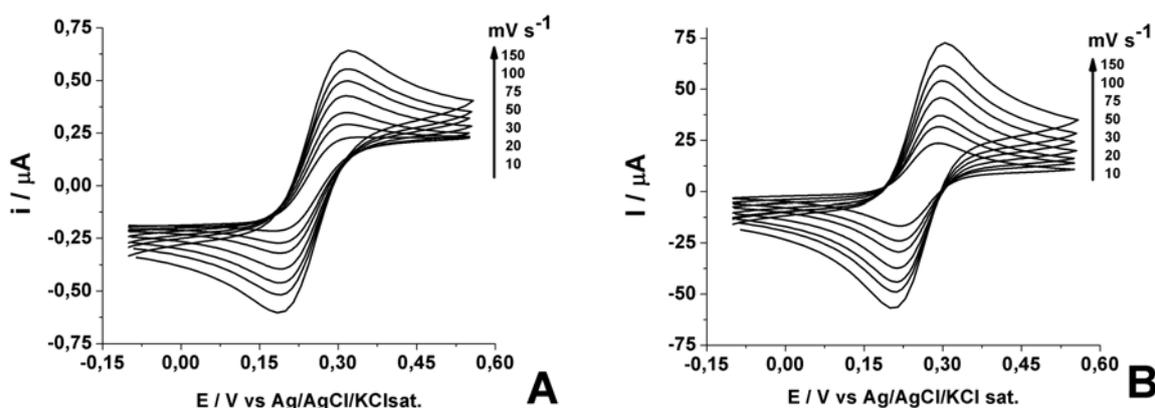
O microdispositivo contendo ET de ouro apresenta uma alta estabilidade, conforme pode ser observado pelas baixas variações das correntes de pico de oxidação (DPR = 1 %) após aproximadamente 50 minutos de análise (85 varreduras cíclicas a 50  $\text{mV s}^{-1}$ ), apresentadas na Figura 3.12. Esta estabilidade pode ser atribuída à camada de PVC que contorna a face lateral do ET, produzindo um efetivo isolamento desta face, permitindo que a solução entre em contato com o ET somente pela sua superfície exposta frontalmente. Estes resultados não são possíveis sem o uso do PVC.



**Figura 3.12.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de ferrocianeto de potássio  $10 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em eletrólito suporte  $\text{KCl } 0,5 \text{ mol L}^{-1}$  com o microdispositivo contendo ET de ouro ( $\Phi = 63 \mu\text{m}$ ). EA: Compósito de grafite; EPR: compósito de prata.

### 3.3.4.2. Estudos do efeito da velocidade de varredura

Os voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes velocidades de varredura com o ET de ouro ( $\Phi \approx 100 \mu\text{m}$ ) e de ouro comercial são apresentados na Figura 3.13A e 3.13B, respectivamente. Estes resultados mostram que, com o aumento da velocidade de varredura, ocorre um aumento na intensidade de corrente. Além disso, observa-se uma corrente muito maior no eletrodo B, correspondente à diferença de área de cada eletrodo.



**Figura 3.13.** Efeito da velocidade de varredura usando a técnica de voltametria cíclica para ferrocianeto de potássio  $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ . (A) Eletrodo de ouro posicionado na ponta ( $\Phi \approx 100 \mu\text{m}$ ); (B) Eletrodo de ouro comercial ( $\Phi = 3 \text{ mm}$ ).

Segundo a equação de Randles-Sevcik<sup>8, 31, 94</sup> (equação 3), existe uma relação linear entre as correntes de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura, em sistemas reversíveis com transferência de massa controlada por difusão.

$$i_p = \pm 2,686 \times 10^5 n^{3/2} C_0 D^{1/2} v^{1/2} A \quad \text{Equação 3}$$

Sendo,

$i_p$  – corrente de pico (Ampere).

$n$  – número de elétrons envolvidos na reação redox (constante adimensional).

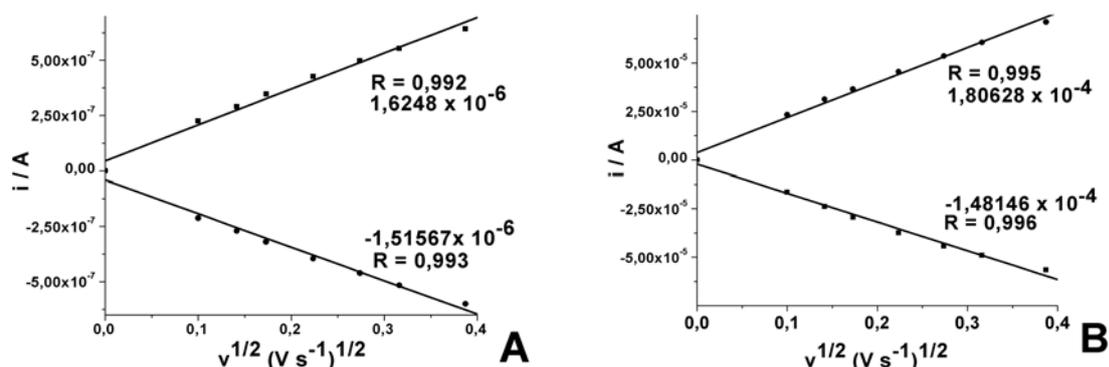
$A$  – área do eletrodo ( $\text{cm}^2$ )

$D$  – coeficiente de difusão ( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ )

$C_0$  – concentração das espécies reduzidas ou oxidadas ( $\text{mol cm}^{-3}$ )

$v$  – velocidade de varredura ( $\text{V s}^{-1}$ )

No caso dos eletrodos de ouro comercial e do microdispositivo, a variação das correntes de pico anódico e catódico em função da raiz quadrada da velocidade de varredura, indica uma transferência de massa controlada por difusão. Isto pode ser melhor visualizado na Figura 3.14, que apresenta uma relação linear entre essas duas variáveis, bem como os respectivos índices de correlação e coeficientes angulares. As correntes de pico foram obtidas a partir dos voltamogramas da Figura 3.13.



**Figura 3.14.** Dependência linear das correntes de pico (Amperes) em função da raiz quadrada da velocidade de varredura  $[(V s^{-1})^{1/2}]$  com o ET de ouro ( $\Phi \approx 100 \mu m$ ) (A) e ET de ouro comercial ( $\Phi \approx 3 mm$ ) (B).

Se rearranjarmos a equação de Randles-Sevcik, isolando-se a área na equação 3 (equação 4), podemos obter informações a respeito da área efetiva do eletrodo.

$$A = \frac{ip}{v^{1/2}} \times \frac{1}{2,686 \times 10^5 \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot C_0} \quad \text{Equação 4}$$

Observe que o primeiro termo da equação se refere ao coeficiente angular das retas obtidas em 3.14A e 3.14B [Ampères /  $(V s^{-1})^{1/2}$ ]. As outras variáveis são:  $n = 1$ ,  $C_0 = 5 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$ , e o coeficiente de difusão do ferrocianeto de potássio em meio de KCl  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , que é igual a  $6,39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ <sup>95</sup>. Conforme pode ser observado na Figura 3.14, o coeficiente angular (das correntes de pico anódicas) do ET de ouro ( $\Phi \approx 100 \mu m$ ) é de  $1,6248 \times 10^{-6}$  e do eletrodo de ouro comercial é de  $1,8063 \times 10^{-4}$ .

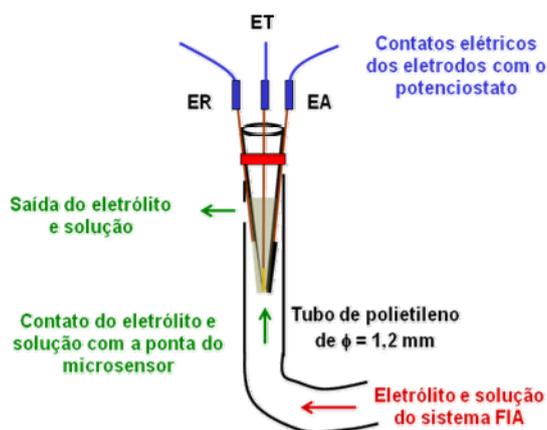
Desenvolvendo-se as equações, chegamos a um valor de área efetiva do ET de ouro ( $d \approx 100 \mu m$ ) de  $4,786 \times 10^{-4} \text{ cm}^2$  e para o ET de ouro comercial de  $5,321 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ . Estes valores demonstram uma área efetiva 111 vezes menor do ET de ouro da

microcélula em relação ao eletrodo comercial. Podemos também representar estas diferenças em função do raio efetivo de cada eletrodo, utilizando a fórmula da área da circunferência ( $A = \pi.R^2$ ). Obteve-se então um raio efetivo de 123  $\mu\text{m}$  para o eletrodo de ouro da microcélula e 1,3 mm para o eletrodo de ouro comercial.

Como foi mencionado no procedimento experimental, alguns microdispositivos contendo ouro como ET foram construídos cortando-se uma fina chapa de ouro manualmente. Logo, nem todos os microdispositivos utilizados neste trabalho podem apresentar estes valores de área.

### 3.3.4.3. Uso da microcélula em FIA

Além da proposta de se construir um dispositivo para a análise de volumes reduzidos de soluções de interesse, investigou-se também o uso deste dispositivo como detector em sistemas de fluxo, como mostra a Figura 3.15.



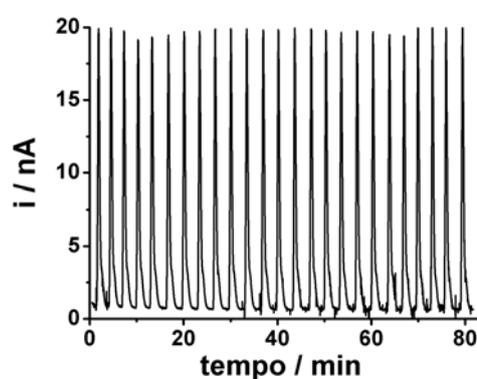
**Figura 3.15.** Esquema representativo da adaptação da microcélula em sistemas FIA.

O uso destes microdispositivos como detector em FIA pode facilitar a implementação do sistema, visto que dispensa a confecção de compartimentos específicos para o posicionamento dos eletrodos, uma vez que o microdispositivo já contém os três eletrodos fixos na superfície do suporte de ponteira de micropipeta.

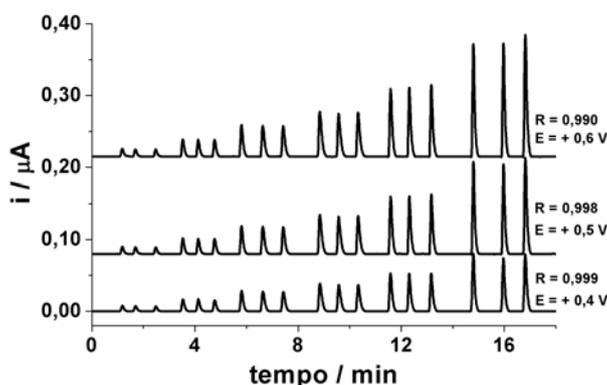
Além dessas vantagens, o microdispositivo pode também corrigir o problema do volume morto, que é frequentemente encontrado em células maiores (construídas para o posicionamento dos eletrodos). O volume morto não afeta a resposta da análise, e representa o volume de solução que entra na célula, fora da região dos eletrodos (oriundo do volume repellido do fluxo que vai de encontro na superfície do eletrodo de

trabalho em células “wall-jet”). Como o microdispositivo já se encontra na tubulação do sistema FIA, o fluxo de solução repellido pela superfície do microdispositivo (de área reduzida) é bem menor, e o fluxo contínuo rapidamente o expulsa da tubulação, na saída localizada acima dos eletrodos do microdispositivo. Logo, o volume efetivo nesta microcélula é bem maior.

Em sistemas FIA, observa-se uma boa estabilidade da resposta do sensor através do pequeno DPR encontrado nas medidas de repetibilidade (1,92 %) apresentados na Figura 3.16 e pelos ótimos índices de correlação (R) encontrados nos amperogramas de múltiplos pulsos para concentrações crescentes de ferrocianeto de potássio (Figura 3.17). Logo, nota-se a viabilidade da inserção destes microdispositivos nesses sistemas.



**Figura 3.16.** Amperograma obtido para sucessivas injeções de uma solução de  $K_4Fe(CN)_6$   $4 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em sistema FIA de linha única. Solução transportadora: KCl  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ . Potencial aplicado:  $+0,6 \text{ V}$ . Fluxo de  $0,35 \text{ mL min}^{-1}$ . Microcélula contendo ET de ouro ( $\Phi \approx 63 \mu\text{m}$ ), EA de compósito de grafite e EPR de compósito de prata.

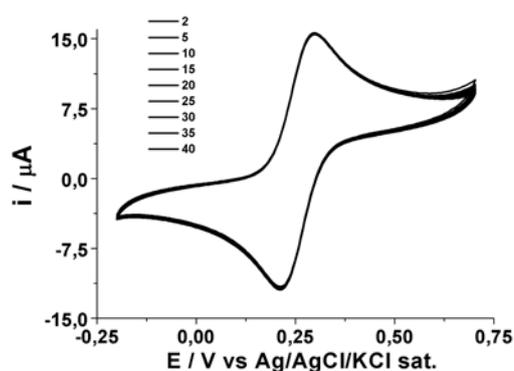


**Figura 3.17.** Amperogramas obtidos para injeção de soluções de concentração crescente de  $K_4Fe(CN)_6$  ( $0,04, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4$  e  $0,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ). Eletrólito: KCl  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ . Vazão:  $2,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Microdispositivo contendo ET de ouro ( $\Phi \approx 63 \mu\text{m}$ ), EA de compósito de grafite e EPR de Compósito de prata.

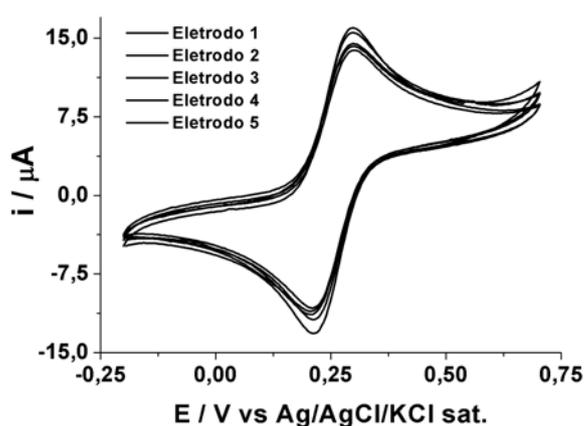
### 3.3.5. Microcélula contendo ET de compósito de grafite em ponteira de micropipeta

#### 3.3.5.1. Estudo da estabilidade

A estabilidade do eletrodo de compósito de grafite foi testada através de sucessivas medidas por VC usando ferrocianeto de potássio em meio de cloreto de potássio (Figura 3.18). Na Figura 3.19 apresentamos os sinais sobrepostos para 5 eletrodos diferentes de compósito de grafite fabricados usando o mesmo procedimento.



**Figura 3.18.** Voltamogramas cíclicos sucessivos obtidos para uma solução de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$   $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em eletrólito suporte  $\text{KCl}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  com um ET de compósito de grafite, EA de Platina e ER de  $\text{Ag/AgCl/KCl sat.}$  Varredura 2 a 40. Velocidade de varredura :  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

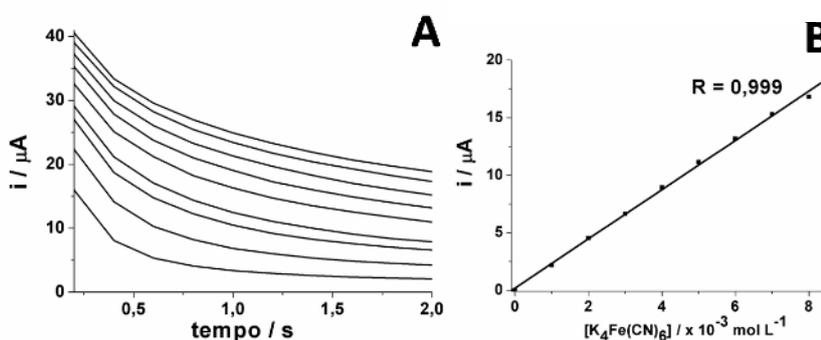


**Figura 3.19.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$   $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em eletrólito suporte  $\text{KCl}$   $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  com cinco diferentes ET de compósito de grafite. EA: Pt, ER:  $\text{Ag/AgCl/KCl sat.}$  Velocidade de varredura :  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

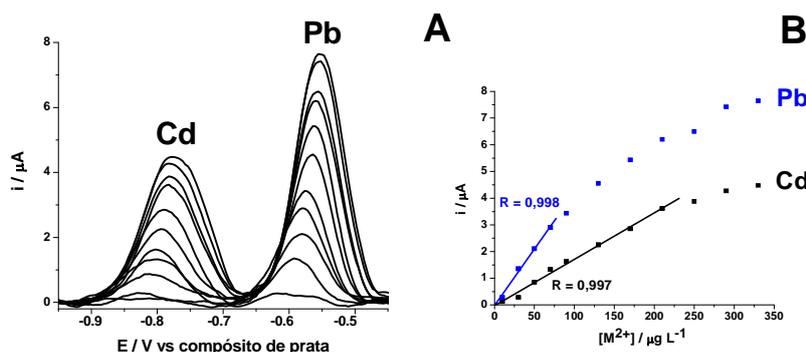
Na Figura 3.19, observa-se um pequeno DPR para as medidas de  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  (3,97 %), o que indica que o procedimento de construção dos microdispositivos é uniforme. O DPR das medidas de  $i_{pa}$  e  $i_{pc}$  para medidas sucessivas (Figura 3.18) também apresentou um pequeno desvio padrão (1,82 %), o que mostra uma alta estabilidade eletroquímica de cada ET.

Outra investigação foi a avaliação do desempenho destes microdispositivos em diferentes técnicas e condições da solução aquosa. Primeiramente, realizou-se uma curva de calibração para ferrocianeto de potássio realizada em NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 11) usando a técnica de cronoamperometria (Figura 3.20).

Posteriormente, realizou-se uma curva de calibração para Cd<sup>2+</sup> e Pb<sup>2+</sup> na presença de Bi<sup>2+</sup> em meio de tampão acetato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 4,7) com a técnica voltametria de onda quadrada com agitação magnética na etapa de pré-concentração (célula em “batch”) (Figura 3.21). Nesta técnica, tem-se a formação de um filme de bismuto “in situ” sobre o substrato de carbono e a eletrodeposição dos metais alvo sobre e o filme, durante a aplicação de um potencial de deposição (em torno de - 1,0 V) num intervalo de tempo fixo (tempo de deposição). Após a etapa de eletrodeposição (pré-concentração eletroquímica), ocorre a redissolução dos metais Pb e Cd depositados (“stripping”), a qual é feita por voltamétrie anódica por onda quadrada, ou seja, com a varredura de potencial executada em direção a potenciais mais positivos. Um potencial de condicionamento (ao redor de 0 V) é usado para remover os metais alvo e o bismuto, entre uma varredura e outra.<sup>41, 96</sup> A existência da etapa de eletrodeposição anterior à etapa de determinação permite o aumento da sensibilidade e a diminuição dos limites de detecção, devido à concentração das espécies eletroativas nas proximidades do ET.



**Figura 3.20.** Cronoamperogramas para soluções de concentrações crescentes de ferrocianeto de potássio (1 a  $8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) em meio de NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> (A) com sua respectiva curva de calibração (B). Potencial aplicado: +0,4 V por 2 segundos (vs composto de prata). EA: Compósito de grafite e EPR: Compósito de prata.



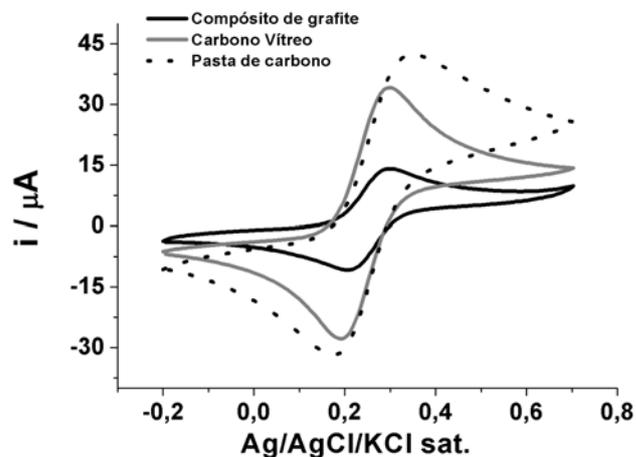
**Figura 3.21.** Voltamogramas obtidos com a técnica de redissolução voltamétrica por onda quadrada em meio de tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,7) e  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Bi}^{2+}$  para concentrações crescentes de  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$  ( $10, 30, 50, 70, 90, 130, 170, 210, 250, 290$  e  $330 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) (A) e suas respectivas curvas de calibração (B); Potencial de pré-tratamento:  $0 \text{ V}$  por  $60 \text{ s}$ ; Potencial de deposição:  $-1,1 \text{ V}$  por  $90 \text{ s}$ ; Frequência:  $25 \text{ Hz}$ ; Amplitude:  $40 \text{ mV}$ ; Incremento de potencial:  $4 \text{ mV}$ . EPR de compósito de grafite.

Os resultados apresentados nas Figuras 3.20 e 3.21 demonstram que o microdispositivo tem um comportamento estável. As curvas de calibração possuem boa linearidade (aproximadamente até  $75 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para o Pb e até  $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para o Cd) e pequenos desvios no potencial de pico, o que demonstra que o EPR de compósito de prata apresenta boa estabilidade. Desta forma, podemos concluir que este dispositivo é estável em vários meios aquosos (soluções ácidas e básicas), mostrando a versatilidade dos materiais compósitos, em função de uma inércia química.

### 3.3.5.2. Comportamento eletroquímico de ferrocianeto de potássio sobre diferentes ET de carbono

Na Figura 3.22, tem-se a comparação entre os voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de ferrocianeto de potássio usando o compósito de grafite ( $\phi = 1,4 \text{ mm}$ ), carbono vítreo ( $\phi = 3,0 \text{ mm}$ ) e pasta de carbono ( $\phi = 2,0 \text{ mm}$ ). Observamos uma  $i_{pa}$  de  $14,2 \text{ } \mu\text{A}$  para o ET de compósito de grafite,  $34,2 \text{ } \mu\text{A}$  para o eletrodo de carbono vítreo e  $42,3 \text{ } \mu\text{A}$  para o ET de pasta de carbono. O ET de compósito de grafite e o ET de carbono vítreo apresentaram resultados semelhantes em relação a  $\Delta E_p$ , que foi aproximadamente  $80 \text{ mV}$ ). Já o eletrodo de pasta de carbono apresentou maior

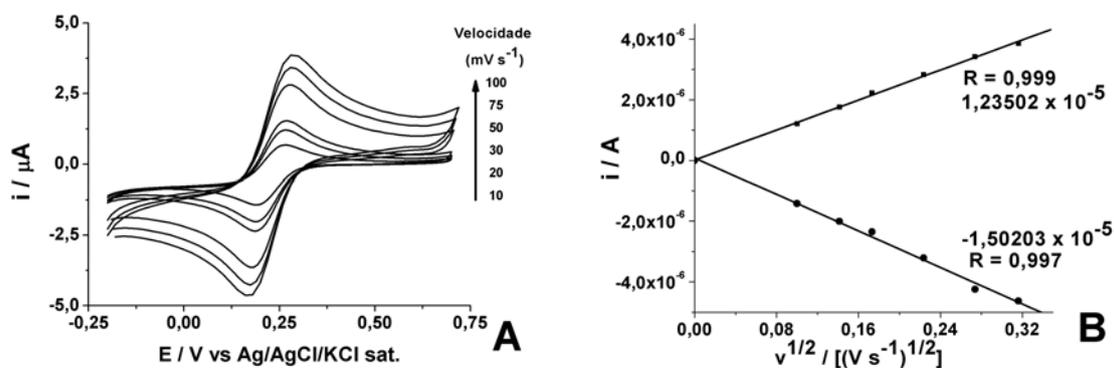
sensibilidade, além de uma maior resistência ( $\Delta E_p = 180$  mV), devido, provavelmente, à sua maior área superficial.



**Figura 3.22.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de  $K_4Fe(CN)_6$   $5 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$  em eletrólito suporte KCl  $0,5$  mol  $L^{-1}$ . ET: Compósito de grafite, carbono vítreo ou pasta de carbono; EA: Platina; ER: Ag/AgCl/KCl sat.. Velocidade :  $50$   $mV s^{-1}$ .

### 3.3.5.3. Avaliação da área efetiva do ET de compósito de grafite

Este estudo torna-se bastante importante no estudo de compósitos, por se tratar de um eletrodo composto de uma mistura de diferentes materiais. Este estudo foi feito utilizando-se a equação de Randles Sevcik, onde a razão linear no gráfico da  $I_{pc}$  e  $I_{pa}$  em função da raiz quadrada da velocidade de varredura é utilizado no cálculo da área efetiva do eletrodo. Na Figura 3.23 são apresentados os voltamogramas cíclicos de soluções de ferricianeto de potássio e as suas respectivas  $i_{pa}$  e  $i_{pc}$  em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.



**Figura 3.23.** Voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução de ferricianeto de potássio  $1 \times 10^{-3}$  mol  $L^{-1}$  em KCl  $0,1$  mol  $L^{-1}$  em diferentes velocidades de varredura

com o ET de compósito de grafite e adesivo epóxi (composição otimizada) (A) com suas respectivas  $I_{pa}$  e  $I_{pc}$  em função da raiz quadrada da velocidade de varredura (B).

Como já foi descrito anteriormente (Item 3.3.4.2), com a equação de Randles-Sevcik é possível encontrar a área efetiva do eletrodo de compósito de grafite e adesivo epóxi (equação 4). Os dados para o desenvolvimento desta equação são:  $n = 1$ ,  $D = 7,63 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ <sup>95</sup>,  $C_0 = 1 \times 10^{-6} \text{ mol cm}^{-3}$  e o coeficiente angular é -1,50203. A área efetiva do compósito de grafite e adesivo epóxi encontrada foi de  $0,0202 \text{ cm}^2$ .

Na Figura 3.24 é apresentada uma imagem (ampliada cinco vezes) da superfície do ET de compósito de grafite e adesivo epóxi. Nesta imagem é possível encontrar o diâmetro geométrico, que foi de  $696 \mu\text{m}$ . Logo, o raio geométrico sendo a metade do diâmetro, encontramos o valor de  $348 \mu\text{m}$ . Através da equação da área da circunferência ( $A = \pi.r^2$ ), encontramos um valor da área geométrica igual a  $0,0381 \text{ cm}^2$ .



**Figura 3.24.** Imagem ampliada cinco vezes do microdispositivo contendo ET de compósito de grafite na composição otimizada (circunferência interna). A circunferência externa é a ponta de micropipeta.

Avaliando a composição do compósito após a cura (desprezando a massa do solvente), esperaríamos uma área efetiva de 77% (v/v). Fazendo-se uma razão entre área efetiva e área geométrica, chegamos a um valor de 0,53, o que sugere que 53 % da superfície deste eletrodo de compósito de grafite e adesivo epóxi é composta pelo componente responsável pela transferência eletrônica nas medidas voltamétricas, ou seja, o grafite. Como o valor calculado é menor do que o esperado, concluímos que a polimerização da resina epóxi e da poliaminoamida (componentes do adesivo epóxi) resultou em um produto de volume maior do que o dos componentes iniciais, ou a quantidade de grafite exposto é menor.

Esses resultados estão de acordo com Ramirez-Garcia et al,<sup>85</sup> onde, com a mesma equação (Equação 4), encontraram uma razão área efetiva/área geométrica de 35

% para um compósito de grafite com uma resina epóxi M 73 % (v/v). Em outro trabalho publicado pelo mesmo autor<sup>79</sup>, encontraram uma razão área efetiva/área geométrica de 60 %, equivalente a um compósito de grafite com uma resina epóxi Araldite-PY302-2/HY943 60 % (v/v, correspondente a Grafite/AE). Neste último, encontrou-se uma área efetiva igual à área efetiva esperada. Em todos esses exemplos, observa-se que as áreas efetivas reais e esperadas estão relacionadas com características da resina utilizada. Comportamento oposto é observado em eletrodos de pasta de carbono e carbono vítreo.

### **3.3.6. Célula microfluídica (3 eletrodos de compósito no microcanal)**

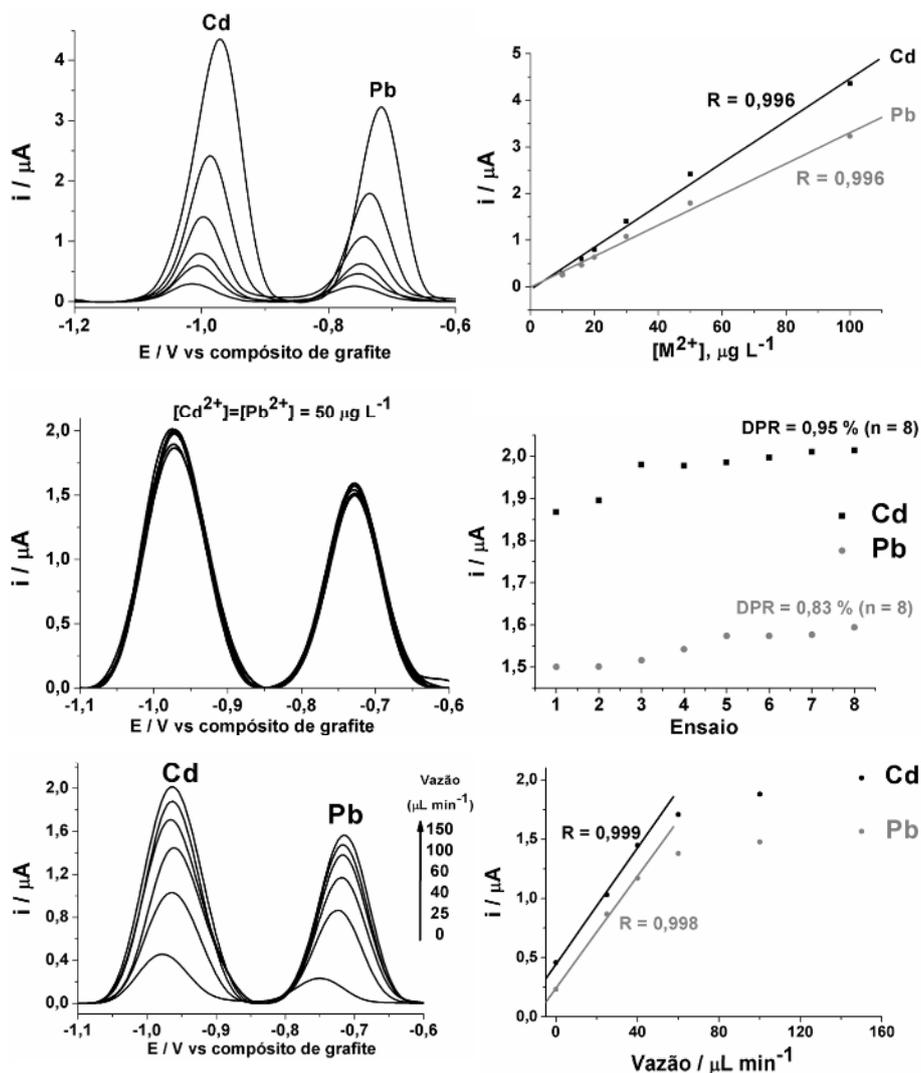
O planejamento da célula microfluídica sugerida neste trabalho, contendo os três eletrodos em microcanais, foi baseado em um procedimento alternativo de microfabricação proposto em 2003 por Daniel e Gutz<sup>23</sup>. Eles demonstraram a possibilidade de construção de eletrodos de ouro (obtidos a partir de CD-Rs<sup>10</sup>) de diferentes dimensões utilizando a transferência, por aquecimento, de toner sobre o ouro e posterior corrosão do metal exposto com solução oxidante (KI/I<sub>2</sub>). A remoção do toner usado como máscara resulta no eletrodo antes desenhado em software gráfico. Os eletrodos de ouro produzidos por este procedimento são posteriormente inseridos em microcanais com espessura de alguns micrometros (~20), com o posicionamento dos eletrodos de referência e auxiliar externamente a microcélula.

Em um trabalho recém publicado pelo nosso grupo de pesquisa<sup>97</sup>, utilizando uma célula similar à proposta por Daniel e Gutz, demonstramos um alto ganho de sensibilidade em função da diminuição da resistência por queda ôhmica. Este comportamento é proporcionado pela substituição dos ER e EA externos pelos EPR e EA de compósitos de prata e grafite, respectivamente, posicionados no interior do microcanal, ou seja, próximos ao ET de ouro.

#### **3.3.6.1. Estudos de estabilidade de sinal**

Para demonstrar a potencialidade da célula microfluídica com a inserção dos três eletrodos de compósito no interior do microcanal, uma opção foi trabalhar com a análise de metais pesados usando o compósito de grafite como base para formação “in situ” de um filme de bismuto, conforme relatado na literatura<sup>40, 41</sup>. Os resultados obtidos com a

técnica de redissolução voltamétrica por onda quadrada com esta célula microfluídica são apresentadas na Figura 3.25.



**Figura 3.25.** Sinais obtidos usando a técnica de redissolução voltamétrica por onda quadrada em meio de tampão acetato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 4,7 e de  $\text{Bi}^{2+}$   $1 \text{ mg L}^{-1}$ ; Potencial de pré-tratamento: 0 V; Potencial de deposição:  $-1,4 \text{ V}$  por 180 s; Frequência: 50 Hz; Amplitude: 40 mV; Incremento de potencial 4 mV; Vazão (A e B) de  $60 \mu\text{L min}^{-1}$ ; (A) Voltamogramas para concentrações crescentes de cádmio e chumbo ( $10, 16, 20, 30, 50$  e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ ); (B) Voltamogramas para análises sucessivas de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Cd}^{2+}$  e  $\text{Pb}^{2+}$ ; (C) Voltamogramas obtidos para análises de uma solução contendo  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  de ambos os metais sob diferentes vazões da solução amostra. As curvas à direita representam as correntes de pico em função do respectivo parâmetro estudado.

Os resultados obtidos com a célula microfluídica foram satisfatórios. A célula apresentou boa estabilidade, com um baixo desvio padrão relativo para medidas de repetibilidade (Figura 3.25B) e para o deslocamento do potencial de pico (máximo de 10 mV) para os dois analitos, comprovando que o EPR de compósito de grafite em meio de tampão acetato (pH 4,7) mantém um potencial constante em função do tempo. Observou-se também uma linearidade satisfatória entre a corrente adquirida e a concentração dos analitos estudados, conforme o índice de correlação calculado (Figura 3.25A). Pelos resultados apresentados na Figura 3.25C, observamos que a célula mostrou-se robusta o suficiente para trabalhar em diferentes vazões da solução de análise e que a sensibilidade da célula é máxima a uma vazão de próxima a  $60 \mu\text{L min}^{-1}$ .

Ao contrário da microcélula contendo ET de compósito de grafite, esta não necessitou da etapa de pincelamento do adesivo epóxi nas bordas internas do suporte. Isto demonstra que o adesivo epóxi do compósito possui uma adesividade melhor em superfícies de policarbonato (do CD-R) do que de polipropileno (da ponteira).

Comparando os resultados obtidos com a célula microfluídica aos obtidos com uma célula de camada delgada convencional<sup>98</sup>, pode-se afirmar que a sensibilidade de ambas é semelhante, porém, a vazão usada na célula convencional para atingir tal condição deve ser superior a  $3,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Isto demonstrou que o uso da microcélula permite uma economia de reagentes e amostras na ordem de 50 vezes (vazão de  $60 \mu\text{L min}^{-1}$ ), com diminuição na geração de resíduos na mesma magnitude. Esta performance equivalente ocorre devido à alta velocidade com que a solução atravessa o microcanal, devido às dimensões reduzidas do mesmo (altura de  $\sim 22 \mu\text{m}$ ).

## CAPÍTULO 4 - CONCLUSÕES

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram que a utilização de materiais baratos e/ou reaproveitáveis é viável para a construção de micro-células eletroquímicas com desempenho comparável à células convencionais. Materiais como policarbonato (de CD-R), ponteiras de micropipetas, PVC (de tubulações), Araldite<sup>®</sup>, fios de cobre, compósitos de grafite e prata, fios de ouro e de platina foram utilizados.

Os compósitos desenvolvidos de grafite e Araldite<sup>®</sup> na presença de ciclohexanona se mostraram úteis para a utilização como um adesivo condutor e como material para EPR, EA e ET. Estes materiais apresentaram uma durabilidade apreciável quando utilizados após o seu tempo de cura, mas limitada quando armazenados (antes da cura), além de uma boa resistência mecânica, em comparação aos adesivos condutores comerciais. As microcélulas que utilizaram este material como ET apresentaram repetibilidade e reprodutibilidade nas medidas.

Nas microcélulas construídas em ponteiras de micropipetas contendo ET de fio de ouro, um melhor desempenho foi obtido quando o metal era previamente mergulhado (recoberto) em PVC. Nas microcélulas contendo ET de compósito de grafite observou-se uma melhora significativa quando as bordas internas da ponteira eram previamente pinceladas com AE. Esta configuração de micro-célula permite análises em volumes reduzidos de até 3  $\mu\text{L}$ , com a obtenção de resultados semelhantes aos obtidos com células consideradas convencionais ( $\sim 5\text{mL}$ ).

Nas microcélulas onde os três eletrodos são inseridos em um microcanal (microfluídicas) é possível fazer análises com um desempenho comparável à de células em fluxo convencionais, mas com um gasto de reagentes cerca de 50 vezes menor. Além disso, o posicionamento próximo dos eletrodos no interior do microcanal diminuiu consideravelmente a resistência entre os eletrodos. Estas células apresentaram boa reprodutibilidade e repetibilidade de sinal, comparável a eletrodos posicionados em células convencionais.

Todas as microcélulas desenvolvidas neste trabalho são bastante versáteis, pois é possível trabalhar em diversas condições, como em medidas estacionárias e sob fluxo. As análises já previamente conhecidas usando macroeletrodos comerciais de ouro ou carbono são possíveis nestas microcélulas, com a vantagem da grande redução da escala volumétrica, diminuindo assim, o consumo de reagentes e resíduos gerados por análise.

## CAPÍTULO 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Prado, A. G. S.; *Quim. Nova* **2003**, 26, 738-744.
- (2) Prado, C.; Flechsig, G. U.; Grundler, P.; Foord, J. S.; Marken, F.; Compton, R. G.; *Analyst* **2002**, 127, 329-332.
- (3) Dremel, B. A. A.; Li, S. Y.; Schmid, R. D.; *Biosens. Bioelectron.* **1992**, 7, 133-139.
- (4) Gerlach, A.; Knebel, G.; Guber, A. E.; Hecke, M.; Herrmann, D.; Muslija, A.; Schaller, T.; *Micro. Tech.* **2002**, 7, 265-268.
- (5) Filik, J.; Stone, N.; *Anal. Chim. Acta* **2008**, 616, 177-184.
- (6) Walz, A.; Stuhler, K.; Wattenberg, A.; Hawranke, E.; Meyer, H. E.; Schmalz, G.; Bluggel, M.; Ruhl, S.; *Proteomics* **2006**, 6, 1631-1639.
- (7) Cohen, F.; Burdairon, G.; Rouelle, F.; Chemla, M.; *Electroanalysis* **1989**, 1, 523-527.
- (8) Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; *Electrochemical Methods - Fundamentals and Applications*; John Wiley & Sons: New York, **1980**.
- (9) Brett, C. M. A. Brett, A. M. O.; *Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações*; Oxford University Press: New York, **1993**.
- (10) Angnes, L.; Richter, E. M.; Augelli, M. A.; Kume, G. H.; *Anal. Chem.* **2000**, 72, 5503-5506.
- (11) Richter, E. M.; de Jesus, D. P.; Neves, C. A.; do Lago, C. L.; Angnes, L.; *Quim. Nova* **2003**, 26, 839-843.
- (12) Richter, E. M.; da Silva, J. A. F.; Gutz, I. G. R.; do Lago, C. L.; Angnes, L.; *Electrophoresis* **2004**, 25, 2965-2969.
- (13) Wang, J.; Grundler, P.; *Electroanalysis* **2003**, 15, 1756-1761.
- (14) Wang, J.; Grundler, P.; *J. Electroanal. Chem.* **2003**, 540, 153-157.
- (15) Dobcnik, D.; Gomiscek, S.; Stergulec, J.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* **1989**, 334, 621-621.
- (16) Li, Q. S.; Ye, B. C.; Liu, B. X.; Zhong, J. J.; *Biosens. Bioelectron.* **1999**, 14, 327-334.
- (17) Ardakani, M. M.; Salavati-Niasari, M.; Pourhakkak, P.; *Bull. Electrochem.* **2004**, 20, 213-217.
- (18) Oni, J.; Westbroek, P.; Nyokong, T.; *Electroanalysis* **2003**, 15, 847-854.
- (19) O'Hare, D.; Macpherson, J. V.; Willows, A.; *Electrochem. Commun.* **2002**, 4, 245-250.
- (20) Ferreira, H.E.A.; Daniel, D.; Bertotti M.; Richter E. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, 19, 8, 1538-1545.
- (21) Yang, Q. L.; Atanasov, P.; Wilkins, E.; *Electroanalysis* **1998**, 10, 752-757.
- (22) Yang, Q. L.; Atanasov, P.; Wilkins, E.; *Sens. Actuators, B* **1998**, 46, 249-256.
- (23) Daniel, D.; Gutz, I. G. R.; *Electrochem. Commun.* **2003**, 5, 782-786.
- (24) Henry, C. S.; Fritsch, I.; *Anal. Chem.* **1999**, 71, 550-556.
- (25) Matysik, F. M.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 375, 33-35.
- (26) Silva, S. M.; Alves, C. R.; Correia, A. N.; Martins, R. M.; Nobre, A. L. R.; Machado, S. A. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; *Quim. Nova* **1998**, 21, 78-85.
- (27) Medeiros, M. J.; Montenegro, M. I.; Pletcher, D.; *J. Electroanal. Chem.* **1990**, 290, 155-161.
- (28) Gesteland, R. C.; Howland, B.; Lettvin, J. Y.; Pitts, W. H.; *Proc. Inst. Radio Eng.* **1959**, 47, 1856-1862.

- (29) Skoog, D. A.; Nieman, T. A.; Holler F. J.; *Princípios de Análise Instrumental*, 2002.
- (30) de Souza, D.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 81-89.
- (31) Grosser, D. K.; *Cyclic voltammetry : simulation and analysis of reaction mechanisms*; VCH: New York, **1993**.
- (32) Caudill, W. L.; Howell, J. O.; Wightman, R. M.; *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 2532-2535.
- (33) Odea, J.; Wojciechowski, M.; Osteryoung, J.; Aoki, K.; *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 954-955.
- (34) Osteryoung, J.; *Meth. Enz.* **1988**, *158*, 243-267.
- (35) de Souza, D.; Codognoto, L.; Malagutti, A. R.; Toledo, R. A.; Pedrosa, V. A.; Oliveira, R. T. S.; Mazo, L. H.; Avaca, L. A.; Machado, S. A. S.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 790-797.
- (36) Lovric, M.; Branica, M. J.; *Electroanal. Chem.* **1987**, *226*, 239-251.
- (37) Arrigan, D. W. M.; *Analyst* **1994**, *119*, 1953-1966.
- (38) Tsai, Y. C.; Coles, B. A.; Holt, K.; Foord, J. S.; Marken, F.; Compton, R. G.; *Electroanalysis* **2001**, *13*, 831-835.
- (39) Wang, J.; Lu, J. M.; Tian, B. M.; Yarnitzky, C.; *J. Electroanal. Chem.* **1993**, *361*, 77-83.
- (40) Wang, J.; Lu, J. M.; Hocevar, S. B.; Farias, P. A. M.; Ogorevc, B.; *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 3218-3222.
- (41) Wang, J.; Lu, J. M.; Kirgoz, U. A.; Hocevar, S. B.; Ogorevc, B.; *Anal. Chim. Acta* **2001**, *434*, 29-34.
- (42) Vandaveer, W. R.; Fritsch, I.; *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 3575-3578.
- (43) Schultze, J. W.; Bressel, A.; *Electrochim. Acta* **2001**, *47*, 3-21.
- (44) Brett, A. M. O.; Matysik, F. M.; Vieira, M. T.; *Electroanalysis* **1997**, *9*, 209-212.
- (45) Brett, C. M. A.; Kresak, S.; Hianik, T.; Brett, A. M. O.; *Electroanalysis* **2003**, *15*, 557-565.
- (46) Hierlemann, A.; Brand, O.; Hagleitner, C.; Baltes, H.; *Proc. Ieee* **2003**, *91*, 839-863.
- (47) Blankenstein, G.; Larsen, U. D.; *Biosens. Bioelectron.* **1998**, *13*, 427-438.
- (48) Ozsoz, M.; Erdem, A.; Kerman, K.; Ozkan, D.; Tugrul, B.; Topcuoglu, N.; Ekren, H.; Taylan, M.; *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 2181-2187.
- (49) Demetriades, D.; Economou, A.; Voulgaropoulos, A.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *519*, 167-172.
- (50) Brett, C. M. A.; Angnes, L.; Liess, H. D.; *Electroanalysis* **2001**, *13*, 765-769.
- (51) Filipe, O. M. S.; Brett, C. M. A.; *Electroanalysis* **2004**, *16*, 994-1001.
- (52) Paixao, T. R. L. C.; Corbo, D.; Bertotti, M.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *472*, 123-131.
- (53) Augelli, M. A.; Nascimento, V. B.; Pedrotti, J. J.; Gutz, I. G. R.; Angnes, L.; *Analyst* **1997**, *122*, 843-847.
- (54) Nascimento, V. B.; Augelli, M. A.; Pedrotti, J. J.; Gutz, I. G. R.; Angnes, L.; *Electroanalysis* **1997**, *9*, 335-339.
- (55) Matos, R. C.; Augelli, M. A.; Lago, C. L.; Angnes, L.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, *404*, 151-157.
- (56) Richter, E. M.; Augelli, M. A.; Magarotto, S.; Angnes, L.; *Electroanalysis* **2001**, *13*, 760-764.
- (57) Richter, E. M.; Augelli, M. A.; Kume, G. H.; Mioshi, R. N.; Angnes, L.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* **2000**, *366*, 444-448.
- (58) Munoz, R. A. A.; Matos, R. C.; Angnes, L.; *Talanta* **2001**, *55*, 855-860.
- (59) Munoz, R. A. A.; Matos, R. C.; Angnes, L.; *J. Pharm. Sci.* **2001**, *90*, 1972-1977.

- (60) Paixao, T. R. L. C.; Matos, R. C.; Bertotti, M.; *Talanta* **2003**, *61*, 725-732.
- (61) Daniel, D.; Gutz, I. G. R.; *Electroanalysis* **2001**, *13*, 681-685.
- (62) Daniel, D.; Gutz, I. G. R.; *Anal. Chim. Acta* **2003**, *494*, 215-224.
- (63) Yu, H. Z.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 4743-4747.
- (64) Yu, H. Z.; Rowe, A. W.; Waugh, D. M.; *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 5742-5747.
- (65) Coltro, W. K. T.; da Silva, J. A. F.; da Silva, H. D. T.; Richter, E. M.; Furlan, R.; Angnes, L.; do Lago, C. L.; Mazo, L. H.; Carrilho, E.; *Electrophoresis* **2004**, *25*, 3832-3839.
- (66) Richter, E. M.; Munoz, R. A. A.; Bertotti, M.; Angnes, L.; *Electrochem. Commun.* **2007**, *9*, 1091-1096.
- (67) Lowinsohn, D.; Richter, E. M.; Angnes, L.; Bertotti, M.; *Electroanalysis* **2006**, *18*, 89-94.
- (68) Ferreira, H. E. A.; de Almeida, E. G. N.; Rabelo, A. C.; da Silva, R. A. B.; Richter, E. M.; *XXI Encontro Nacional da SBQ-MG*. Uberlândia-MG, **2007**.
- (69) Kozan, J. V. B.; Dissertação de mestrado, USP, São Paulo, **2007**.
- (70) da Silva, R. A. B.; Rabelo, A. C.; Richter, E. M.; Bottechia, O. L.; *14 ° Encontro Nacional de Química Analítica*, **2007**, João Pessoa- PB.
- (71) da Silva, R. A. B.; da Silva, A. T. C.; Cunha, R. R.; Rabelo, A. C.; Richter, *XXII Encontro Regional da SBQ/MG 2008*, Belo Horizonte-MG.
- (72) Cespedes, F.; MartinezFabregas, E.; Alegret, S.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **1996**, *15*, 296-304.
- (73) Albertus, F.; Llerena, A.; Alpizar, J.; Cerda, V.; Luque, M.; Rios, A.; Valcarcel, M.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *355*, 23-32.
- (74) Aguilar, R.; Davila, M. M.; Elizalde, M. P.; Mattusch, J.; Wennrich, R.; *Electrochim. Acta* **2004**, *49*, 851-859.
- (75) Klatt, L. N.; Connell, D. R.; Adams, R. E.; Honigberg, I. L.; Price, J. C.; *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 2470-2472.
- (76) Pena, N.; Ruiz, G.; Reviejo, A. J.; Pingarron, J. M.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 1190-1195.
- (77) Armentrout, D. N.; McLean, J. D.; Long, M. W.; *Anal. Chem.* **1979**, *51*, 1039-1045.
- (78) Park, J.; Shaw, B. R.; *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 848-852.
- (79) Ramirez-Garcia, S.; Alegret, S.; Cespedes, F.; Forster, R. J.; *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 503-512.
- (80) Moreno-Baron, L.; Merkoci, A.; Alegret, S.; *Electrochim. Acta* **2003**, *48*, 2599-2605.
- (81) Barroso-Fernandez, B.; Lee-Alvarez, M. T.; Seliskar, C. J.; Heineman, W. R.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *370*, 221-230.
- (82) Dai, X.; Wildgoose, G. G.; Salter, C.; Crossley, A.; Compton, R. G.; *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 6102-6108.
- (83) website - [http://www.brascola.com.br/pdf/araldite\\_professional.pdf](http://www.brascola.com.br/pdf/araldite_professional.pdf) - acessado no dia 07 de janeiro de 2009.
- (84) website - <http://www.silaex.com.br/conteúdo.htm> - acessado no dia 28 de dezembro de 2009.
- (85) Ramirez- Garcia, S.; Alegret, S.; Cespedes, F.; Forster, R. J.; *Analyst* **2002**, *127*, 1512-1519.
- (86) Alegret, S.; *Analyst* **1996**, *121*, 1751-1758.
- (87) Calixto, C. M. F.; *Dissertação de Mestrado* - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, **2008**.

- (88) Kirgoz, U. A.; Marin, S.; Pumera, M.; Merkoci, A.; Alegret, S.; *Electroanalysis* **2005**, *17*, 881-886.
- (89) Kirgoz, U. A.; Odaci, D.; Timur, S.; Merkoci, A.; Alegret, S.; Besun, N.; Telefoncu, A. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *570*, 165-169.
- (90) dos Santos, W. T. P.; Ceolin, M. P.; de Albuquerque, Y. D. T.; Richter, E. M. *Quim. Nova* **2007**, *30*, 1754-1758.
- (91) Barros Neto, B. d.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; *Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria* **2001**, Campinas-SP, 251-265.
- (92) Wring, S. A.; Hart, J. P.; Bracey, L.; Birch, B. J.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *231*, 203-212.
- (93) Newman, J. D.; White, S. F.; Tothill, I. E.; Turner, A. P. F.; *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 4594-4599.
- (94) Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R.; *Fundamentos de Química Analítica*; Pioneira, **2006**, São Paulo-SP, Ed. Thomsom Learning.
- (95) Zoski, C. G.; *Handbook of Electrochemistry* **2007**, Las Cruces-New Mexico, Ed Thomsom.
- (96) Kefala, G.; Economou, A.; Voulgaropoulos, A.; Sofoniou, M.; *Talanta* **2003**, *61*, 603-610.
- (97) da Silva, R. A. B.; de Almeida, E. G. N.; Rabelo, A. C.; da Silva, A. T. C.; Ferreira, L. F.; Richter, E. M.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2009**, artigo aceito.
- (98) Richter, E. M.; *Tese de doutorado-Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2004.*

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)