



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**IMOBILIZAÇÃO DE ÍONS FERRICIANETO SOBRE
ELETRODO DE OURO E DESENVOLVIMENTO DE UM
SISTEMA DIP-COATING PARA ELABORAÇÃO DE
ELETRODOS MODIFICADOS**

Pedro Lemos de Almeida Júnior

**Recife
Março/2014**

Pedro Lemos de Almeida Júnior

**IMOBILIZAÇÃO DE ÍONS FERRICIANETO SOBRE
ELETRODO DE OURO E DESENVOLVIMENTO DE UM
SISTEMA DIP-COATING PARA ELABORAÇÃO DE
ELETRODOS MODIFICADOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Valberes Bernardo do Nascimento

Co-Orientador: Severino Carlos Bezerra de Oliveira

*** Bolsista CAPES**

Recife

Março/2014

À meu pai Pedro Lemos e
minha mãe Laudénice Costa.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**.

Ào meu pai, **Pedro Lemos**, ao qual tenho imenso orgulho de ter o mesmo nome, me honraria ser 10% da pessoa que ele é. A minha mãe, **Laudenice Costa**, que me motiva a sempre fazer o meu melhor. A meu irmão **Felipe Costa** pelo apoio e sabedoria em diversos momentos;

À **Lidiane Lima**, pela paciência, companheirismo e apoio ao longo desse último ano, me dando a paz de espírito e o suporte necessário nos momentos em que dela necessitei.

Ao professor **Valberes Nascimento** pelos diversos exemplos de liderança e caráter, além da orientação prestada durante esses últimos anos;

Ao professor **Carlos Oliveira** pela significativa ajuda ao longo destes anos de trabalho;

Ao **Carlos Mendes** pela amizade e fundamental ajuda na realização deste trabalho;

Ao professor **Christopher Brett**, ao **Ricardo Carvalho** e ao **Prathish**; pelo profissionalismo, paciência e por terem me acolhido tão bem durante meu estágio na Universidade de Coimbra;

Aos professores **Wagner Eduardo**, **Claudete Fernandes** e **André Lavorante**, pelo suporte e pelas palavras de incentivo em diversos momentos, especialmente a professora **Mônica Belian** que sempre me incentivou a concluir rapidamente esse trabalho e sumir da vida dela;

À todos do **Laboratório de Análise Química, Inorgânica e Sensores** que de alguma forma colaboraram com esse trabalho. Em especial as pessoas que além de contribuírem cientificamente contribuíram tornando esse ambiente de trabalho mais acolhedor, vale citar: **Thiago Selva**, **Aécio Vasconcelos**, **Ana Gabriela**, **Nattany de Paula**, **Heliana Nascimento**, **Carine Lagrange**, **Artur Mota**, **Jamerson Henrique**, **Jéssica Alves**, **Franklin**, **Catarine Alves**, **Nayara Cely**, **Renê Gomes** e **Rômulo Augusto**, **Amanda Katielly**, **Aline Girlaine**, dentre outros.

Ao **LAQIS** pelo apoio instrumental;

À **Universidade de Coimbra**, em especial ao Laboratório de Electroquímica, pelo apoio estrutural;

Ao **CETENE**, em especial ao **Raphael Fonseca** pelo suporte na realização das análises de microscopia;

À **FACEPE** pelo apoio financeiro para durante o estágio em Portugal;

À **CAPES** pela bolsa ao longo de todo o mestrado.

“Não sou nada.

Nunca serei nada.

Não posso querer ser nada.

À parte isso, tenho em mim todos os sonhos do mundo(...)”

Tabacaria - Álvaro de Campos (heterônimo de Fernando Pessoa)

RESUMO

A elaboração de filmes contendo multicamadas automontadas utilizando a técnica camada sobre camada (LbL, do inglês “*Layer by Layer*”) tem se mostrado um método eficaz para a fabricação de filmes ultrafinos. Filmes LbL vêm sendo crescentemente empregados com sucesso na elaboração de novas arquiteturas para imobilização de enzimas, catalisadores, mediadores de elétrons e outras espécies na superfície de eletrodos sólidos convencionais para elaboração de sensores e biossensores eletroquímicos. Neste trabalho foram propostas duas vertentes. Primeiramente se descreve a fabricação e aplicação de um equipamento microcontrolado, denominado Sistema LbL, para a obtenção de filmes finos multicamadas sobre eletrodos sólidos. Em seguida se propõe um novo método para a modificação de eletrodo de ouro pela imobilização de íons ferricianeto em rede de sílica, com aplicação para determinação de íons nitrito. O Sistema LbL desenvolvido é automatizado e traz consigo um microcontrolador, que simplifica significativamente seu *hardware e software*, além de possibilitar sua miniaturização. O Sistema permite que todo o processo de modificação da superfície de eletrodos sólidos seja realizado automaticamente e sem requerer assistência durante a operação, cabendo ao usuário apenas a definição prévia de determinados parâmetros. O desenvolvimento do equipamento fundamentou-se em uma nova concepção de sistema *dip-coating*, em que ao invés de introduzir o eletrodo nas soluções, como realizado nos equipamentos comerciais, leva-se as soluções até o eletrodo, tendo como resultado um método de modificação que utiliza microvolumes de reagentes e soluções, com elevada reprodutibilidade do processo de modificação. O novo método, desenvolvido para imobilização de íons ferricianeto em eletrodo de ouro, baseou-se na afinidade dos íons ferricianeto por uma rede de sílica modificada com um espaçador contendo grupamentos amina terminais ancorado no eletrodo via grupos silanóis do terminal oposto, sendo este previamente fixado no eletrodo por condensação com grupos silanóis de uma monocamada automontada na superfície do ouro. Após a modificação, o eletrodo de ouro passa a apresentar o sinal voltamétrico reversível característico do par redox Fe(III)/Fe(II), demonstrando que a atividade redox é mantida na arquitetura molecular montada sobre a superfície do metal. O eletrodo modificado apresentou atividade eletrocatalítica para a redução de íons nitrito e foi

aplicado com sucesso num sistema de análise por injeção em fluxo para análises de águas naturais, apresentando resposta linear na faixa de 1×10^{-6} a 4×10^{-5} mol L⁻¹ ($r = 0,9995$), com limite de detecção de $0,53 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

Palavras Chave: Filmes multicamadas, filmes automontados, rede de sílica, ferricianeto, nitrito, eletrocatalise, automação, dip-coating, análise por injeção em fluxo.

ABSTRACT

The development of multilayer self-assembled films using the Layer Layer (LbL) approach has showed a high efficiency on the fabrication o ultrathin films. The LbL technique have been successfully and increasingly employed on developing new architectures for immobilization of enzymes, catalysts, electron mediators and other chemicals on conventional solid electrode surfaces for the development of electrochemical sensors and biosensors. This work followed two main paths: it was proposed the development and application of a new miniaturized dip-coating equipment, named LbL System, for the preparation of multilayers thin films on solid electrodes, and also a new method for the modification of gold electrodes for the immobilization of ferricyanide ions into a silica network, with application for the determination of nitrite ions. The proposed LbL System is automatic and has an embedded microcontroller that simplifies its hardware and software, and also favors its miniaturization. The system makes it possible all the modification process of being carried out automatically without attendance during the operation, only requiring the definition of some parameters by the user. The development of the equipment was based on a new concept of dip-coating, where, the solution flows to a fixed electrode instead of dipping the electrode in the solution, as it happens at all the commercial equipments, making possible to work with microvolumes of reagents and solutions keeping a high reproducibility of the modification process. The proposed new method for immobilization of ferricyanide ions on gold electrodes was based on its affinity with a silica network modified with a spacer containing amine terminal groups, anchored on the surface via silanol groups of the opposite terminal bound to other silanol groups of a self-assembled monolayer previously deposited on the metal. The gold modified electrode presents the voltammetric characteristic reversible signal of the redox pair Fe(III)/Fe(II), showing the maintenance of the Fe(III)/Fe(II) in the molecular arquitetura mounted on the metal surface. The modified electrode presented electrocatalytic activity for the reduction of nitrite ions and was successfully applied on a flow injection analysis system for analyses of natural waters, presenting a linear response range of 1×10^{-6} to $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($r = 0.9995$), with a detection limit of $0,53 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Keywords: Multilayer films, self-assembled films, sol-gel, ferricyanide, nitrite, electrocatalysis, automation, dip-coating, flow-batch, flow injection analysis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Eletrodos Quimicamente Modificados (EQM)	18
1.1.1 <i>Filmes finos obtidos por dip-coating</i>	19
1.1.2 <i>Filmes finos de monocamadas automontadas</i>	20
1.1.3 <i>Filmes com múltiplas camadas sobrepostas</i>	23
1.1.4 <i>Filmes obtidos via sol-gel eletroquímico</i>	25
1.2 Sistemas Automáticos	27
1.2.1 <i>Sistemas automáticos de análise</i>	28
1.2.1.2 <i>Sistemas de análise por injeção em fluxo</i>	29
1.2.3 <i>Sistemas de análise em fluxo-batelada</i>	30
1.3 Equipamentos Microcontrolados	32
1.4 Equipamentos Comerciais de <i>Dip-Coating</i>	35
1.5 Determinação de Nitrito	39
2 Objetivos	18
1.6.1 <i>Objetivos gerais</i>	18
1.6.2 <i>Objetivos específicos</i>	18
3 EXPERIMENTAL	19
2.1 Reagentes	19
2.2 Soluções e Amostras	20
2.3 Instrumentação Analítica	21
2.4 Modificação do Eletrodo de Ouro	22
2.4.1 <i>Limpeza da superfície do eletrodo de ouro</i>	22
2.4.2 <i>Modificação da superfície do eletrodo de ouro</i>	22
2.4.2.1 <i>Formação da SAM</i>	24

2.4.2.2	Deposição de filme de sílica	24
2.4.2.3	Imobilização do mediador ferricianeto na rede de sílica	24
2.5	Sistema FIA.....	25
2.5.1	<i>Procedimento Analítico.....</i>	26
2.6	Modificação do GCE.....	26
2.6.1	<i>Limpeza da superfície do GCE.....</i>	26
2.6.2	<i>Modificação da superfície do GCE.....</i>	26
2.7	Materiais e Componentes Eletrônicos	26
2.8	Sistema LbL.....	28
2.8.1	<i>Display de comunicação com o usuário.....</i>	28
2.8.1.1	Botões de controle do sistema LbL	28
2.8.1.2	Display LCD alfanumérico	29
2.8.2	<i>Sistema de controle</i>	31
2.8.2.1	Fonte de alimentação	33
2.8.3	<i>Sistema de propulsão</i>	33
2.8.4	<i>Câmara de mistura</i>	35
2.8.5	<i>Microcontrolador</i>	36
2.8.6	<i>Software.....</i>	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
3.1	Sistema LbL.....	41
3.1.1	<i>Aplicação do Sistema LbL para modificação de GCE com sucessivas camadas de PEI e POM (GCE/PEI/POM)</i>	42
3.1.1.1	Estudo voltamétrico do GCE/PEI/POM.....	42
3.1.1.2	Estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica.....	46
3.2	Eletrodo de Ouro Modificado com Ferricianeto Aprisionado em Rede de Sílica (AuSiFc)	49
3.2.1	<i>Modificação da superfície do eletrodo de ouro</i>	49
3.2.1.1	Tempo de formação da monocamada	50
3.2.1.2	Fatores que afetam a etapa de eletrodeposição da sílica	51
3.2.1.3	Potencial de eletrodeposição e pH	51

3.2.1.4 Tempo de eletrodeposição	52
3.2.1.5 Solução precursora do processo sol-gel.....	56
3.2.1.6 Aprisionamento do ferricianeto na rede de sílica	56
3.2.2 <i>Estudo da estabilidade do eletrodo AuSiFc em diferentes pHs</i>	59
3.2.3 <i>Comportamento voltamétrico do sensor AuSiFc</i>	60
3.2.4 <i>Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	62
3.2.5 <i>Comportamento voltamétrico do AuSiFc na presença de íons nitrito</i>	64
3.2.6 <i>Aplicação analítica do eletrodo AuSiFc</i>	65
3.2.7 <i>Interferentes</i>	68
5 CONCLUSÕES	70
6 PERSPECTIVAS FUTURAS	71
REFERÊNCIAS	72
ANEXO: Código do programa em linguagem C	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Publicações no portal <i>Web of Science</i> contendo as palavras chaves “ <i>chemically modified electrodes</i> ” nos últimos 40 anos (Fonte: base de dados do portal Science Direct).....	18
Figura 02. Processo dip-coating para a formação de filmes finos.	20
Figura 03. Partes dos adsorbatos surfactantes (adaptado: JASTY et al., 2006).	22
Figura 04. Organização das moléculas adsorvidas no substrato de Au com o passar do tempo (NANAYAKKARA, BONNELL, 2014).	22
Figura 05. Multicamadas automontadas com polieletrólitos: em (a) o procedimento de deposição; em (b) uma representação do filme sobre o substrato. (DECHER, 1997).....	24
Figura 06. Etapas de hidrólise e condensação do processo sol-gel.....	26
Figura 07. Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. (a) Exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos; (b) Exemplos de sistemas de injeção; (c) Exemplos de sistemas de mistura; (d) Exemplos de detectores. (LIMA, 2013).....	30
Figura 08. Esquema ilustrativo dos principais componentes do FBA. (a) Bomba peristáltica, (b) acionador de válvulas, (c) microcomputador, (d) válvulas solenoides, (e) câmara de mistura, (f) agitador magnético, e (g) detector. (DINIZ, et al., 2012).....	31
Figura 09. Microcontroladores.	33
Figura 10. Equipamentos comerciais utilizados para modificação de substratos via <i>dip-coating</i> , utilizando a técnica de elevação.....	35
Figura 11. Equipamento comercial dip-coating que possui controle de temperatura.	36
Figura 12. Equipamentos comerciais utilizados para modificação de substratos via dip-coating, utilizando múltiplas soluções.	37
Figura 13. Equipamento Dip-coating proposto por Carvalho e Varela (1999): (a) Esquema, (b) Imagem.	38
Figura 14. Equipamento Dip-coating proposto por Oliveira e Zarbin (2005): (a) Imagem, (b) Esquema.	38

Figura 15. Imagem do potenciostato/galvanostato Eco Chemie da Autolab.	21
Figura 16. Etapas envolvidas no processo de modificação do eletrodo de ouro.	23
Figura 17. Diagrama do sistema FIA. A, amostra; ES, eletrólito suporte, AA, alça de amostragem (20 cm); IP, injetor proporcional; D, detector; RE, resíduos. Taxa de fluxo de 1,0 mL min ⁻¹	25
Figura 18. (a) Representação dos botões presentes no equipamento, bem como o (b) respectivo circuito eletrônico de cada botão.	28
Figura 19. Terminais do circuito de um Display LCD.....	30
Figura 20. Módulo LCD alfanumérico	31
Figura 21. Circuito eletrônico do sistema de controle das micro-bombas (S01 a S04, D e H2O) e do circuito que liga o agitador magnético (AM), utilizando um circuito integrado do tipo ULN2803.	32
Figura 22. Esquema do circuito eletrônico da fonte de alimentação.	33
Figura 23. Representação esquemática do Sistema LbL.	34
Figura 24. Microbomba solenóide (Metering Pumps, MCP 50).	35
Figura 25. (a) Câmara de mistura. (b) Corte transversal com a presença do eletrodo no interior da câmara.	36
Figura 26. Pinagem do PIC16F877.	37
Figura 27. Circuito eletrônico completo do Electrode Maker.	39
Figura 28. Sistema LbL desenvolvido.....	41
Figura 29. Voltamogramas cíclicos em tampão acetato pH 4,0, para diferentes eletrodos de carbono vítreo, contendo (A) 1-3 e (B) 1-4 bicamadas de PEI (0,12 mol L ⁻¹) e POM (1 mMol L ⁻¹); em 50 mV s ⁻¹	43
Figura 30. Voltamogramas cíclicos, em tampão acetato pH 4,0, para GCE modificados com 3 bicamadas de PEI (0,12 mol L ⁻¹) e POM (1 mmol L ⁻¹) obtidas pela mudança de substrato manualmente (com e sem secagem entre camadas), e automaticamente pelo uso do Sistema LbL.	44
Figura 31. (a) Voltamogramas cíclicos nas velocidades de varredura 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80 e 100 mV/s em tampão acetato pH 4,0. (b) Curva relacionando a corrente de pico catódica e a velocidade de varredura.	45

Figura 32. Espectro de impedância no plano complexo a 250 mV para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 3 mmol L ⁻¹ em 1,0 M de KCl, para 1 e 6 bicamadas automontadas de PEI/POM adsorvidas sobre o GCE.....	46
Figura 33. Circuito elétrico equivalente utilizado.	47
Figura 34. Gráfico do Rct vs número de bicamadas (PEI/POM) em 3 mmol L ⁻¹ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	48
Figura 35. Esquema representando o estudo sistemático realizado durante a formação do eletrodo AuSiFc.	49
Figura 36. Voltamogramas Cíclicos com o eletrodo modificado com diferentes tempos de imersão na S-SAM.....	50
Figura 37. Voltamogramas cíclicos (A) obtidos durante o crescimento do filme de sílica na presença do ferricianeto. (B) VC com o eletrodo (a) antes e (b) após o processo de modificação no eletrólito suporte HNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹	53
Figura 38. Voltamogramas cíclicos no eletrólito suporte HNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹ , do eletrodo modificado pela eletrodeposição da sílica por 60 segundos contínuos ou por 12 passos consecutivos de 5 segundos, intercalados pela obtenção de um voltamograma cíclico.	55
Figura 39. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado com diferentes tempos de eletrodeposição.	56
Figura 40. Voltamogramas Cíclicos com (a) eletrodo nu, (b) modificado com o aprisionamento do mediador durante a eletrodeposição e (c) com o aprisionamento após a deposição.	57
Figura 41. Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado, com a etapa de absorção em soluções de ferricianeto 10 mmol L ⁻¹ em diferentes soluções, na presença do eletrólito de suporte.	58
Figura 42. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado, com diferentes tempos de absorção, na presença do eletrólito suporte KNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹	59
Figura 43. Voltamogramas cíclicos do sensor proposto em diferentes pHs.	60
Figura 44. Voltamogramas cíclicos obtidos após a formação do filme de sílica (a) na ausência do ferricianeto, (b) após a imersão do eletrodo na solução do ferricianeto sob agitação magnética.	61
Figura 45. (A) Voltamogramas cíclicos nas velocidades de varredura 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400 e 600 mV s ⁻¹ na presença de HNO ₃ 0,1 mol L ⁻¹ . (B) Curva relacionando a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura.	62

- Figura 46.** Imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura com o eletrodo limpo **(a)**, após a formação da rede de sílica **(b)** e após a etapa de aprisionamento **(c)** e **(d)**. Imagens obtidas com aumento de 5000 vezes, a exceção de **(b)** que possui aumento de 2400 vezes. **63**
- Figura 47.** Voltamogramas cíclicos com **(A)** eletrodo de ouro, **(a)** na ausência e **(b)** na presença de 10^{-2} mol L⁻¹ de NaNO₂. Em **(B)** o eletrodo modificado **(a)** na ausência e **(b)** na presença de 10^{-2} mol L⁻¹ de NaNO₂. Ambos em HNO₃ 0,1 mol L⁻¹ e com velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. **64**
- Figura 48. (A)** Curva amperométrica em 0,0 V para adições sucessivas de nitrito; **(B)** Curva analítica correspondente. **66**
- Figura 49. (A)** Sinais analíticos de FIA para soluções padrões de 1×10^{-6} a 4×10^{-5} mol L⁻¹ e amostras de águas naturais: AM01 – Água de Chuva, AM02 – Água de Rio, AM03 – Água do Poço, AM04 – Água Mineral. **(B)** Curva analítica correspondente a queda de corrente pelas adições de soluções padrão e amostras. **67**
- Figura 50.** Curva amperométrica para o sensor de AuSiFc, em 0,1 mol L⁻¹ de HNO₃, para adições de NO₂⁻ e de diferentes íons metálicos, nas concentrações expostas na Tabela 06, demonstrando a seletividade do sensor proposto..... **68**
-

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Reagentes.....	19
Tabela 02. Soluções utilizadas	20
Tabela 03. Dispositivos e componentes eletrônicos do sistema LbL.....	27
Tabela 04. Funções dos pinos dos módulos LCD do tipo alfanuméricos.....	29
Tabela 05. Dados do Teste de Recuperação.....	68
Tabela 06. Faixa de concentração dos íons analisados como possíveis interferentes.	69

LISTA DE ABREVIATURAS

Ag/AgCl	Eletrodo de Referência de Prata / Cloreto de Prata
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AuSiFc	Eletrodo de Ouro com Ferrocianeto Aprisionado em Rede de Sílica
CPU	Central Única de Processamento
CETENE	Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste
ECS	Eletrodo de referência de Calomelano Saturado
EIS	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
EQM	Eletrodos Quimicamente Modificados
FBA	Flow Batch Analysis
FC	Solução de ferricianeto de potássio
FIA	Flow Injection Analysis
GCE	Glassy carbon electrode
GCE/PEI/POM	GCE com Sucessivas Camadas de PEI e POM
GPES	General Purpose Electrochemical System
LbL	Layer by Layer
LCD	Liquid Crystal Display
LED	Diodo emissor de luz
MPTMS	(3-Mercaptopropyl)-trimethoxysilane
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
OMS	Organização Mundial da Saúde

PEI	Polietilenimina
PIC	Programmable Controller of Interruption
POM	Polioxometalatos
RAM	Random Access Memory
RISC	Reduced Instruction Set Computer
ROM	Read-Only Memory
SAM	Self-Assembled Monolayers
S-SAM	Solução empregada na formação da monocamada
S-SOL	Solução contendo precursores do processo Sol-Gel
TAPTS	3-[2-(2-Aminoethylamino)ethylamino]propil-trimetoxisilane
TEOS	Tetraethyl ortossilicate
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency

1 INTRODUÇÃO

1.1 Eletrodos Quimicamente Modificados (EQM)

Apontados como os mais adequados para fins comerciais, eletrodos sólidos são amplamente empregados em diversas determinações analíticas por apresentarem atributos como sensibilidade, seletividade, estabilidade, precisão, resposta rápida, facilidade de uso, custo baixo e robustez (NASCIMENTO; ANGNES, 1998). Até meados da década de 70, grande parte dos estudos eletroquímicos e eletroanalíticos utilizavam apenas eletrodos inertes tais como ouro, platina, mercúrio e carbono (CONCEIÇÃO, 2004), quando se percebeu que a modificação dessas superfícies pelo acoplamento de espécies quimicamente ativas poderiam lhes atribuir novas e importantes propriedades físico-químicas, o que acarretou o surgimento de um imenso número de novos sensores eletroquímicos, como ilustrado na **Figura 01**.

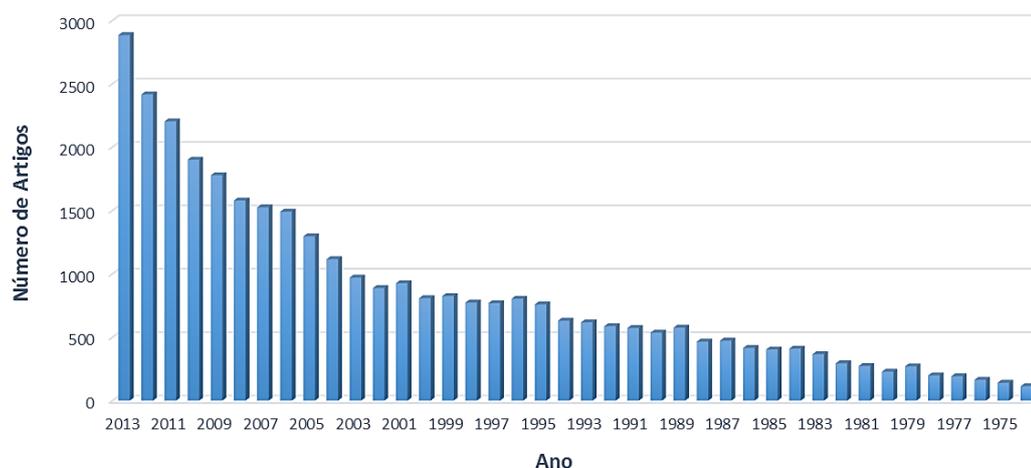


Figura 01. Publicações no portal *Web of Science* contendo as palavras chaves “*chemically modified electrodes*” nos últimos 40 anos (Fonte: base de dados do portal Science Direct).

Filmes finos em monocamada ou em multicamadas vêm sendo crescentemente empregados com sucesso na elaboração de novas arquiteturas para imobilização de enzimas, catalisadores, mediadores de elétrons e outras espécies na superfície de eletrodos sólidos convencionais (SZAMOCKI; *et al.*, 2009; WALCARIUS, 2001; WALCARIUS; COLLINSON, 2009; COLLINSON, 2007).

1.1.1 Filmes finos obtidos por *dip-coating*

A obtenção de filmes finos sobre superfícies condutoras pode ocorrer de diversas formas, de acordo com o estado físico de seus precursores (OLIVEIRA; ZARBIN; 2005). Não sendo escopo deste trabalho uma discussão sobre todas essas tecnologias, focalizar-se-ão apenas métodos que utilizam precursores em fase líquida. Dentre as vantagens apresentadas pelas técnicas em fase líquida, pode-se elencar: a grande variedade de precursores disponíveis; a possibilidade do uso de estruturas complexas, facilmente obtidas em solução; e o menor investimento em termos de instrumentação.

O sucesso das principais técnicas de obtenção de filmes finos em fase líquida exige um grande aprofundamento sobre todos os parâmetros que envolvem o processo, como viscosidade, tensão superficial e capacidade de evaporação do solvente, uma vez que esses fatores são fundamentais para que se possa obter uniformidade e estabilidade dos mesmos, o que afeta diretamente suas propriedades (VEST, 1998). Sendo assim, todas as técnicas utilizadas para esse fim buscam oferecer elevada estabilidade e uniformidade em todo o processo. Destacam-se as técnicas de *spin-coating*, na qual a solução é espalhada sobre o substrato e este é rotacionado em torno do seu próprio eixo espalhando uniformemente a solução sobre sua superfície, formando o filme. Outra técnica que utiliza precursores em fase líquida é a *spray pyrolysis*, onde a solução é borrifada sobre a superfície do substrato. Já na deposição por *dip-coating* o substrato é mergulhado na solução em um movimento vertical, diversas vezes com velocidade controlada, **Figura 02**. (GALEMBECK, 1998)

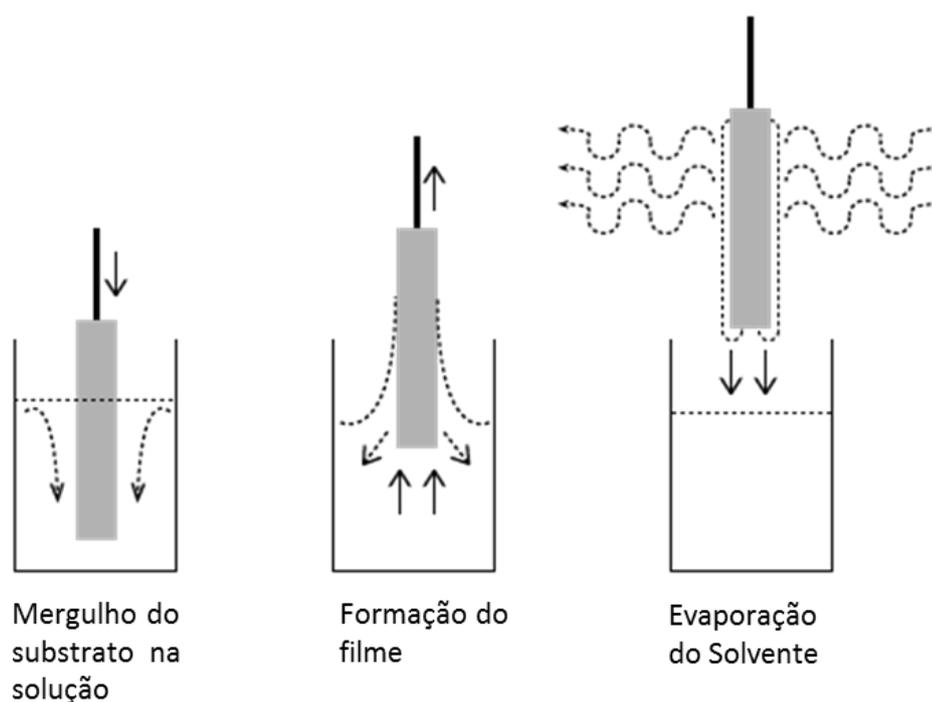


Figura 02. Processo dip-coating para a formação de filmes finos.

Dentre as principais formas de utilizar os princípios da técnica de dip-coating, destacam-se a formação de filmes de monocamada e de multicamadas automontadas e os filmes obtidos via sol-gel.

1.1.2 Filmes finos de monocamadas automontadas

O processo natural de aglomeração de partículas que se organizam espontaneamente para a formação de uma estrutura mais complexa, denominado automontagem, vem ganhando notoriedade no meio científico, principalmente após o advento da nanotecnologia e dos estudos em nível molecular. Essa técnica tem sido especialmente explorada devido ao seu potencial para construção de diversas estruturas estáveis em nível molecular, sendo aplicada como ferramenta para o estudo de interfaces, revestimento de superfícies para proteção contra a corrosão, síntese de materiais e novos sensores (LOVE *et al.*, 2005; ULMAN, 1996), bem como no desenvolvimento de componentes eletrônicos com dimensões moleculares e flexíveis (BAO, 2006). Como exemplo, a deposição de filmes finos com longas cadeias

tem sido bastante utilizada para estudar fenômenos superficiais como molhabilidade (POMERANTZ *et al.*, 1985), corrosão (JENNINGS *et al.*, 2003), adesão (HOUSTON; KIM; HYUN I, 2002), fricção e lubrificação (HOUSTON; KIM; HYUN I, 2002; LIO *et al.*, 1997), processos de transferência de carga (THUO *et al.*, 2011), adsorção e fixação de biomoléculas e bioestruturas como grupos terminais (TOKSÖZ; GULER, 2009).

Dentre as técnicas de automontagem destaca-se a formação de monocamadas automontadas, as SAMs (do inglês *Self-Assembled Monolayers*). Trata-se de camadas monomoleculares organizadas que se formam quando moléculas adsorventes, dispersas em solução líquida ou em uma fase gasosa, adsorvem espontaneamente sobre substratos sólidos (CARVALHAL, 2005; LOVE *et al.*, 2005; ULMAN, 1996). Este processo geralmente envolve interações não covalentes como ligações de hidrogênio, interações de Van der Waals, interações π , metal-ligante, eletrostáticas, hidrofóbicas, etc. (TOKSÖZ; GULER, 2009).

SAMs de compostos organossulfurados em substratos de ouro, propostas inicialmente em 1983 (NUZZO; ALLARA, 1983), são as monocamadas mais estudadas e difundidas em termos de utilização em pesquisa (ULMAN, 1996). Tal sucesso advém da grande afinidade entre os átomos de enxofre e ouro, que proporciona a formação de interações fortes entre os mesmos e conseqüentemente monocamadas quimissorvidas estáveis, **Figura 03**. Estas SAMs podem ser formadas pelos adsorbatos n-alcanotióis (BAIN; WHITESIDES, 1988), tioéteres (LI; WEAVER, 1984), di-n-alquil-dissulfetos (NUZZO; ALLARA, 1983), tiofenóis e mecaptopiridinas (BRYANT *et al.*, 1992), tiofenos (LI, *et al.*, 1984), cisteína (SIRÉS *et al.*, 2009), xantatos (IHS *et al.*, 1993), etc.

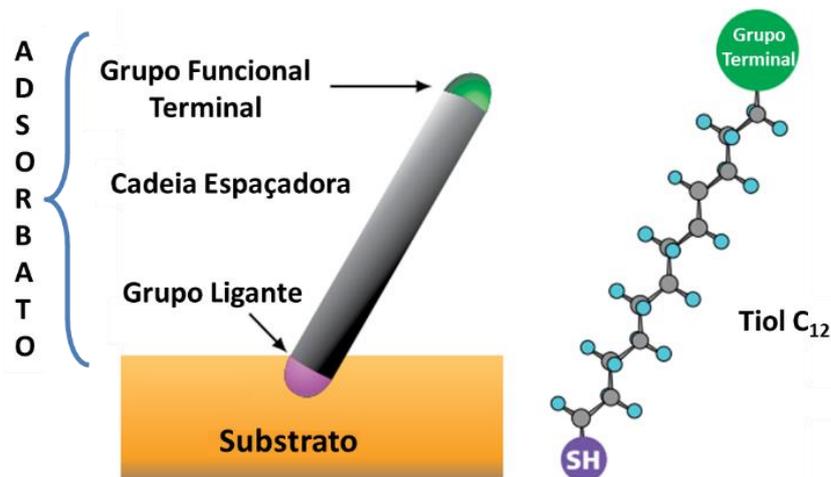


Figura 03. Partes dos adsorbatos surfactantes (adaptado: JASTY et al., 2006).

A formação das SAMs sobre substrato de ouro se dá de forma instantânea, com o desenvolvimento da monocamada rapidamente, em cerca de alguns segundos ou poucos minutos. Porém, como ilustrado na **Figura 04**, a monocamada formada inicialmente nos segundos iniciais não é muito ordenada e possui diversos defeitos de formação e organização, como espaços não preenchidos na superfície do substrato, desorientação das cadeias carbônicas, dentre outros. Todavia, com o passar do tempo tem-se uma organização natural das moléculas que compõem esta monocamada, suprimindo e minimizando cada vez mais as falhas na formação, bem como formando uma camada mais rígida e estável. (JASTY; BOECKL; GRAHAM, 2006; BAIN; TROUGHTON; *et al.*, 1989; ULMAN, 1996).

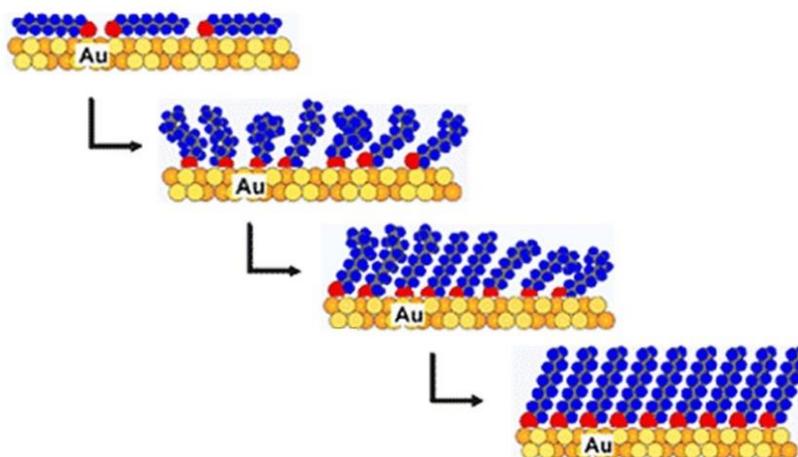


Figura 04. Organização das moléculas adsorvidas no substrato de Au com o passar do tempo (NANAYAKKARA; BONNELL, 2014).

1.1.3 Filmes com múltiplas camadas sobrepostas

O interesse pela deposição de multicamadas automontadas reside principalmente na possibilidade de incorporação de grupos funcionais, moléculas ou imobilização de outras estruturas que não podem ser ligadas diretamente ao substrato, como também na criação de ambientes químicos mistos (arquiteturas moleculares) de forma controlada. A elaboração de filmes contendo multicamadas automontadas sobrepostas consecutivamente (LbL, do inglês “*Layer by Layer*”) tem se mostrado um método eficaz para a fabricação de filmes ultrafinos. O método é baseado na adsorção alternada de espécies de cargas opostas sobre a superfície de um substrato a partir de uma solução diluída, sendo a formação do filme atribuída primariamente a interações eletrostáticas e forças de van der Waals (CRESPILHO; et al., 2012).

Dado o grande número de materiais que podem ser facilmente incorporados e/ou imobilizados a partir da deposição de um filme multicamada, a deposição LbL tornou-se um procedimento geral para elaboração de recobrimentos complexos de superfícies. A grande versatilidade do método está associada à vasta possibilidade de controle dos parâmetros envolvidos, tais como concentração, tempo de adsorção, força iônica, temperatura e pH, permitindo o domínio da espessura em nível nanométrico, podendo ser facilmente adaptado para fabricação automatizada e aplicável a qualquer forma de substrato, além de permitir a co-montagem com diferentes componentes (LIU, et al., 2002; DECHER; SCHLENOFF, 2003).

A técnica de deposição de filmes finos LbL possui diversas aplicações, que vão desde a imobilização de compostos biológicos como enzimas, proteínas, DNA e membrana celular, até determinados vírus, além de possuir espaço de destaque na eletrônica molecular, na engenharia de materiais, em aplicações óticas, na liberação controlada de fármacos e em estudos eletroquímicos. (CRESPILHO; et al., 2012).

A formação de diversas camadas sobrepostas sobre a superfície de um determinado substrato pode ser realizada mediante sua imersão consecutiva em diferentes meios. A **Figura 05** ilustra um processo geral de deposição multicamadas, onde o substrato é imerso inicialmente em uma solução que irá interagir com o mesmo modificando sua superfície. Após a lavagem da superfície modificada, há uma

mudança do meio, fazendo com que o substrato interaja agora com uma segunda solução composta por outra espécie química, geralmente de carga oposta a espécie química previamente adsorvida, que forma uma nova camada sobreposta à anterior. Com a mudança sucessiva de meio tem-se a formação de diversas camadas.

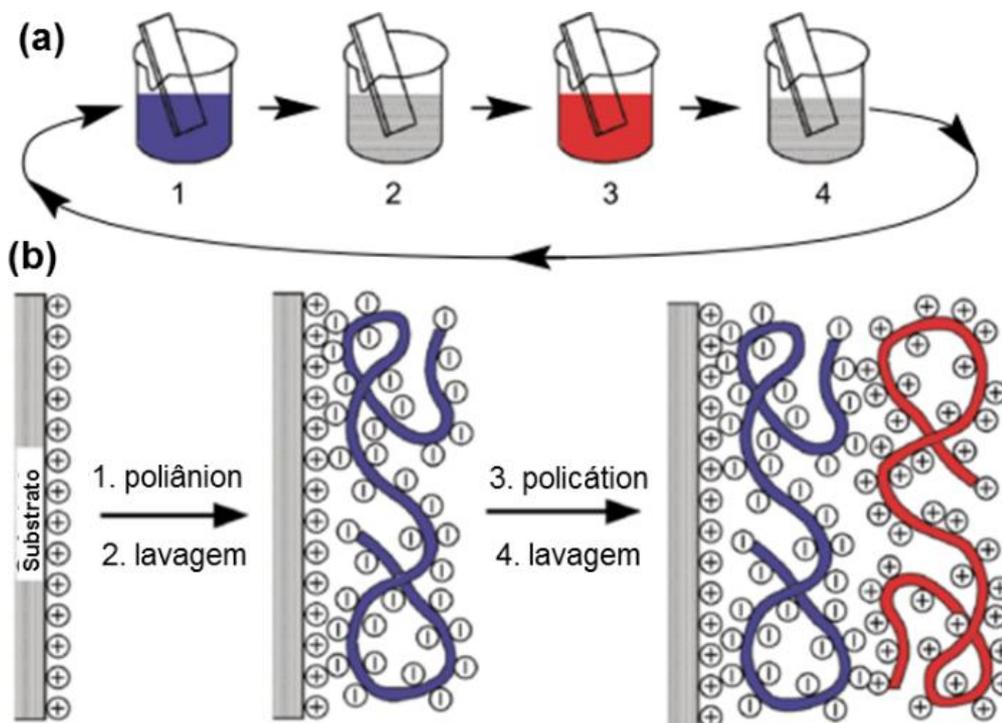


Figura 05. Multicamadas automontadas com polieletrólitos: em (a) o procedimento de deposição; em (b) uma representação do filme sobre o substrato. (DECHER, 1997).

Dentre as principais aplicações da elaboração de filmes utilizando a técnica LbL, destaca-se a obtenção de sensores eletroquímicos. Uma interessante classe de sensores eletroquímicos elaborados através da técnica LbL é baseada na obtenção de multicamadas contendo polioxometalatos (POMs).

POMs representam uma classe bem conhecida de *clusters* de polióxidos metálicos com notável variação estrutural, composição e propriedades, que desempenham importante papel na área de catálise (HILL, 2007; KEITA, NADJO, 2007), medicina (RHULE, 1998) e ciência de materiais (POPE, MÜLLER, 1991). POMs do tipo Keggin, de fórmula geral $[XM_{12}O_{40}]^{m-}$, onde M é usualmente Tungstênio (W) ou Molibdênio (Mo), formam um importante grupo de poliânions. Em geral o heteroátomo X pode ser Silício (Si) Fósforo (P), entre outros. Espécies monolacunares

(fórmula geral $[XM_{11}O_{39}]^{m-}$), estruturalmente relacionadas ao ânion original pela remoção de um grupo MO são bem conhecidas. Heteropoliânions do tipo Keggin podem ser modificados pela substituição de um dos átomos M por outro íon metálico M' formando complexos de fórmula geral $[XM_{11}M'(H_2O)O_{39}]^{m-}$, os quais apresentam propriedades adicionais (HILL, 2007). Entre suas principais propriedades, a habilidade de sofrer processos reversíveis de transferência multieletrônica, torna-os muito importantes para a confecção de eletrodos quimicamente modificados e para eletrocatalise (SADAKANE; STECKHAN, 1998).

1.1.4 Filmes obtidos via sol-gel eletroquímico

Eletrodos quimicamente modificados por silicatos vêm atraindo recentemente a atenção do meio científico, especialmente na área da química eletroanalítica (ETIENNE; BESSIERE; WALCARIUS, 2001), devido à versatilidade do processo sol-gel eletroquímico que possibilita a eletrogeração de uma ampla faixa de materiais de sílica e organo-sílicas com controle de estrutura, composição, morfologia e porosidade.

A química do processo sol-gel é baseada na hidrólise seguida da condensação de precursores moleculares como os alcóxidos metálicos $M(OR)_n$ (R = metil, etil, propil, isopropil, butil, terc-butil, etc.). A alta eletronegatividade dos grupos alcóxidos (OR) fazem com que a espécie ligada a esses grupos seja susceptível a ataques nucleofílicos oriundos do meio reacional. A etapa de hidrólise dos alcóxidos ocorre basicamente pela reação deste com água, gerando um hidróxi-grupo M-OH. Essa reação ocorre via substituição nucleofílica bimolecular onde a água atua no processo como nucleófilo e o grupo alcóxido participa como grupo abandonador. A segunda etapa do processo sol-gel consiste na condensação das espécies M-OH, segundo reações de desidratação, levando à formação de ligações -M-O-M-, que irão resultar, após várias etapas de condensação, uma rede $(MO)_n$, Figura 06. A variedade estrutural de agentes sililantes (alcóxidos de silício modificados organicamente) pode desencadear propriedades físico-químicas específicas do hospedeiro modificado (matriz de sílica), sugerindo uma aplicação desse material através da escolha

sensores óticos e eletroquímicos, técnicas de impressão molecular e biossensores (WALCARIUS; COLLINSON, 2009).

Neste trabalho desenvolveu-se uma arquitetura molecular de sílica sobre eletrodo de ouro para imobilizar íons ferricianeto e manter a atividade eletroquímica redox mediadora de elétrons destes íons. A montagem da arquitetura molecular envolveu uma combinação de SAM e processo sol-gel eletroquímico.

1.2 Sistemas Automáticos

A capacidade humana de produzir ferramentas que venham a facilitar a realização de diversas tarefas necessárias para a sua sobrevivência foi fundamental para a formação da sociedade como se conhece. A competência humana na concepção dos chamados “avanços tecnológicos” tem ocasionado no último século uma revolução na forma como se vive. Desde o surgimento do telégrafo até o uso de sistemas de comunicação via satélite, se passaram cerca de 120 anos, e toda a sociedade absorveu esse avanço e suas aplicações de forma tão natural que não chegou a perceber a mudança ocasionada no seu modo de viver. No meio científico não foi diferente, os avanços na tecnologia resultaram avanços significativos na forma de se “fazer ciência”. Tomando-se como parâmetro a química analítica, partiu-se de sistemas de análise laboriosos, complicados, repletos de especificidades e dispendiosos para métodos cada vez mais simples, rápidos, precisos e intuitivos.

Procedimentos analíticos convencionais ainda são largamente aplicados em diversas análises químicas de rotina, mesmo que grande parte destes apresente múltiplos inconvenientes, como o elevado consumo de reagentes, transferência manual de soluções, elevada susceptibilidade a erros, baixa frequência analítica, exposição do analista a reagentes tóxicos e/ou radioativos, dentre outros (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009). A elevada demanda de análises em indústrias e laboratórios clínicos inviabiliza o uso destas técnicas, o que demanda desenvolvimento de novos métodos de análise.

Os métodos automáticos de análise surgiram para suprir a demanda acima descrita e sanar os inconvenientes das técnicas clássicas. Buscando sempre a

redução da intervenção humana e o aprimoramento dos métodos clássicos de análise, causando melhorias de parâmetros como sensibilidade, reprodutibilidade, frequência e confiabilidade, além de uma melhor gestão dos reagentes utilizados, reduzindo a produção de resíduos e do custo da análise (ANDRADE, 2011). Hoje, grande parte das análises químicas e bioquímicas de rotina e a demanda de laboratórios industriais, governamentais, ambientais, farmacêuticos, forenses e acadêmicos demandam sistemas parcialmente ou totalmente automáticos. (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009; LIMA, 2010)

1.2.1 Sistemas automáticos de análise

Sistemas automáticos de análise são organizados em dois grandes grupos, os analisadores em batelada e/ou robotizados e os analisadores automáticos em fluxo (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

1.2.1.1 Sistemas automáticos de análise em batelada

Analisadores automáticos em batelada são conhecidos há mais de 100 anos e ainda são objetos de estudo (ZIEGEL, 1914, CUNHA; PASQUINI, 1992). Caracterizam-se pelo uso de dispositivos mecânicos para controle do processo de transporte da amostra e dos reagentes, utilizando bureta, seringas e sistemas de agitação automáticos. Há também casos em que todo o processo analítico é realizado por braços robóticos, viabilizando análises que exigem o uso de substâncias tóxicas, radioativas e/ou explosivas. Em suma, os analisadores em batelada e/ou robotizados cumprem função importante na automação de determinados métodos, porém tornam-se impróprios para uso em laboratórios de rotina ou de pequeno porte, por apresentarem baixa frequência analítica e principalmente elevado custo de aquisição e manutenção.

1.2.1.2 Sistemas de análise por injeção em fluxo

Sistemas de análise em fluxo têm sido utilizados extensivamente para o desenvolvimento de métodos automáticos de análise química.

Análise por injeção em fluxo, (FIA, do inglês Flow Injection Analysis), tem se destacado entre os métodos de análise em fluxo, especialmente pela elevada frequência analítica, alta sensibilidade, baixo consumo e descarte de reagentes e amostra, bem como facilidade de automação. Sistemas FIA caracterizam-se pela injeção controlada da solução da amostra e dos reagentes em um fluxo carregador contínuo com vazão regulada. O uso de sistemas deste tipo foi proposto inicialmente em 1975 (RUZICKA, HANSEM, 1975) e foram sofrendo diversas inovações ao longo dos anos, sendo adaptados aos mais diversos tipos de análises. (TROJANOWICZ, 2008).

A maior limitação dos sistemas FIA ainda reside em sua baixa universalidade, que requer um *design* específico para cada tipo de aplicação. No entanto, como podem ser observados na Figura 07, os mais distintos sistemas FIA se caracterizam pelo uso de elementos comuns. A propulsão de fluidos geralmente é realizada por bombas peristálticas, e o controle desses é realizado por válvulas solenóides, rotatórias ou injetores proporcionais. É comum também o uso de bobinas de reação, para etapas específicas como a digestão de amostras e reações com cinética lenta, podendo a detecção ser implementada de diversas formas, sendo definida de acordo com o método utilizado (LIMA, 2010).

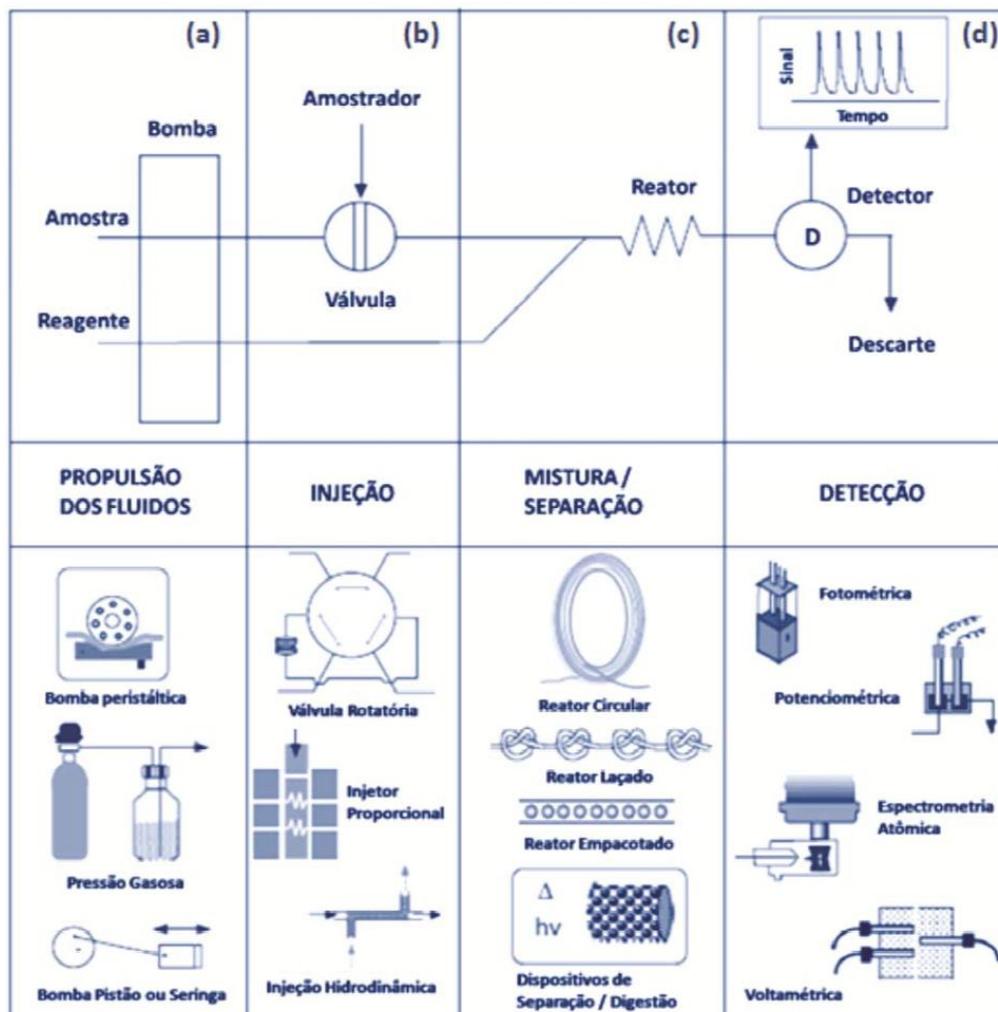


Figura 07. Diagrama esquemático de um sistema de análise em fluxo simples. (a) Exemplos de sistemas para propulsão dos fluidos; (b) Exemplos de sistemas de injeção; (c) Exemplos de sistemas de mistura; (d) Exemplos de detectores. (LIMA, 2013)

1.2.3 Sistemas de análise em fluxo-batelada

Sistemas de análise em fluxo-batelada (FBA, do inglês “*Flow Batch Analysis*”) têm se mostrado uma importante ferramenta em química analítica (DINIZ, *et al.*, 2012). A principal razão do sucesso dos sistemas FBA reside no sinergismo alcançado ao se combinar as melhores características dos sistemas de análise em fluxo com as bem estabelecidas características dos métodos clássicos de análise em batelada. Em linhas gerais, uma câmara de reação ou de mistura, contendo uma barra magnética, é inserida num sistema de análise em fluxo para possibilitar uma completa mistura dos reagentes, similarmente aos métodos clássicos, antes da mistura fluir para o

detector, **Figura 08**. Assim, uma mistura eficiente e diluição de reagentes, amostra e quaisquer outras soluções numa escala de microlitros pode ser facilmente controlada via *software*.

Um sistema FBA pode ser visto como um acessório universal que pode ser facilmente acoplado a qualquer equipamento convencional espectroquímico ou eletroquímico. No entanto, parece que a maior vantagem do sistema FBA reside no fato da maioria dos métodos clássicos de análise poder ser incrementada para adquirir maior precisão e velocidade quando realizados num sistema FBA. Isto significa manter a confiabilidade dos métodos clássicos de análise e ao mesmo tempo realizá-los num moderno sistema miniaturizado automático controlado por computador, que substitui o uso de grandes quantidades de soluções por microvolumes de amostras e reagentes, tipicamente utilizados nos sistemas de análise em fluxo. Outra importante vantagem é poder trabalhar facilmente com substâncias instáveis que não são muito adequadas para os métodos clássicos. Talvez a principal característica do sistema FBA seja a possibilidade de desenvolvimento de métodos analíticos via *software*.

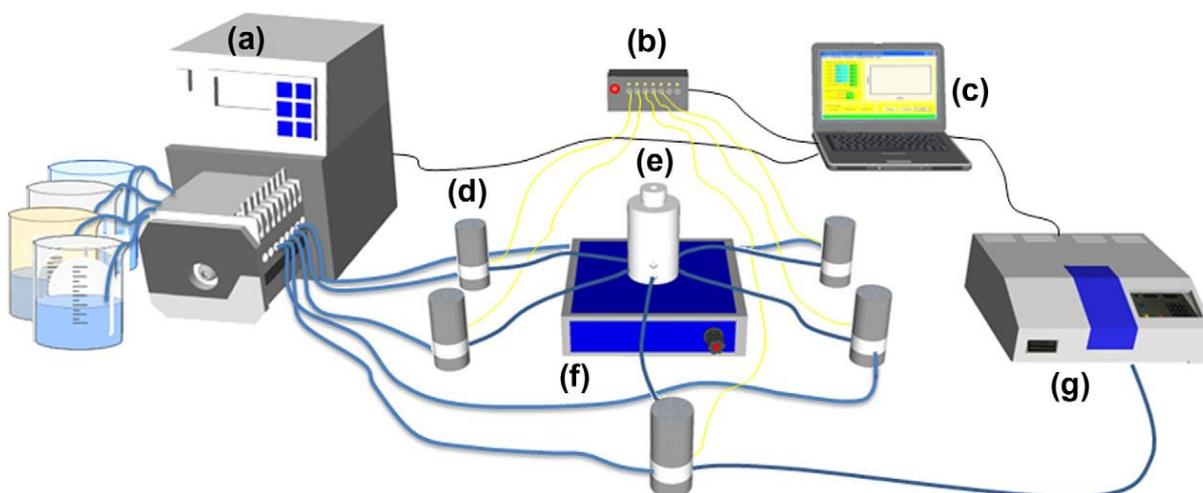


Figura 08. Esquema ilustrativo dos principais componentes do FBA. (a) Bomba peristáltica, (b) acionador de válvulas, (c) microcomputador, (d) válvulas solenoides, (e) câmara de mistura, (f) agitador magnético, e (g) detector. (DINIZ, *et al.*, 2012)

Sistemas FBA têm sido utilizados em diversos procedimentos analíticos, desde titulações (HONORATO, *et al.*, 2000; LIMA, *et al.*, 2004), determinações eletroanalíticas (NASCIMENTO, *et al.*, 2010; PASQUINI, *et al.*, 2007), pré-tratamento de amostras (HONORATO, *et al.*, 2001; CARNEIRO, *et al.*, 2002; ALMEIDA, *et al.*,

2003), adição de padrão (ALMEIDA, *et al.*, 2003), preparo de amostras e misturas para calibração univariada ou multivariada (ALMEIDA, 2007; CUNHA, 2010), sistemas que utilizam detecção por imagens digitais (ANDRADE, *et al.*, 2013; LIMA, *et al.*, 2013), até equipamentos completos que se utilizam desta técnica de automatização (ANDRADE, *et al.*, 2013).

1.3 Equipamentos Microcontrolados

Mesmo que não se perceba, microcontroladores estão cada vez mais presentes na vida cotidiana e desempenham papel fundamental em nosso dia-a-dia. Estes componentes, aliados a outros que os antecederam, são responsáveis por diversas mudanças na forma de se viver.

Como simples usuários de novas tecnologias, observa-se uma infinidade de novidades tecnológicas que muitas vezes nem se tem ciência da potencialidade destes produtos, muito menos de como eles funcionam e de toda a tecnologia envolvida. Os microcontroladores foram o advento da tecnologia que cada vez mais uniu *software* e *hardware* de forma quase indiscriminável, reduzindo significativamente o uso de componentes eletrônicos e trazendo diversos benefícios para as empresas e usuários em geral.

Antes de uma abordagem mais aprofundada sobre microcontroladores, é importante conhecer um pouco mais sobre estes componentes, sua história e principalmente sua distinção do seu precursor, o microprocessador. Essa história tem início em 1971, quando a Intel produziu um revolucionário microprocessador de 4 bits para equipar calculadoras portáteis (CORTELLETTI, 2006). O minúsculo componente continha poder de processamento semelhante aos obtidos pelos primeiros computadores, porém com um custo e dimensão milhares de vezes menor. Com o tempo esses componentes foram tornando-se gradativamente menores e mais velozes, embora exigindo uma série de componentes externos para a realização de suas funções, tais como memória RAM (*Random Access Memory*), memória ROM (*Read-Only Memory*), conversores de sinal analógico/digital, *timers*, entre outros. Paralelamente, os fabricantes observaram que a demanda de microprocessadores

estava sempre associada a estes componentes externos a eles associados, exigindo um processo de integralização do microprocessador, as memórias e alguns circuitos de apoio, em um único componente, todos integrados de forma programável. Surgem assim os microcontroladores, **Figura 09**, um pequeno componente eletrônico, dotado de uma “inteligência” programável, utilizada no controle de processos lógicos (SOUZA, 2005). Trata-se de um único componente composto internamente de memória de programa, memória de dados, portas de entrada, saída, timers, contadores, comunicação serial, comunicação USB, conversores analógico-digitais dentre outros.

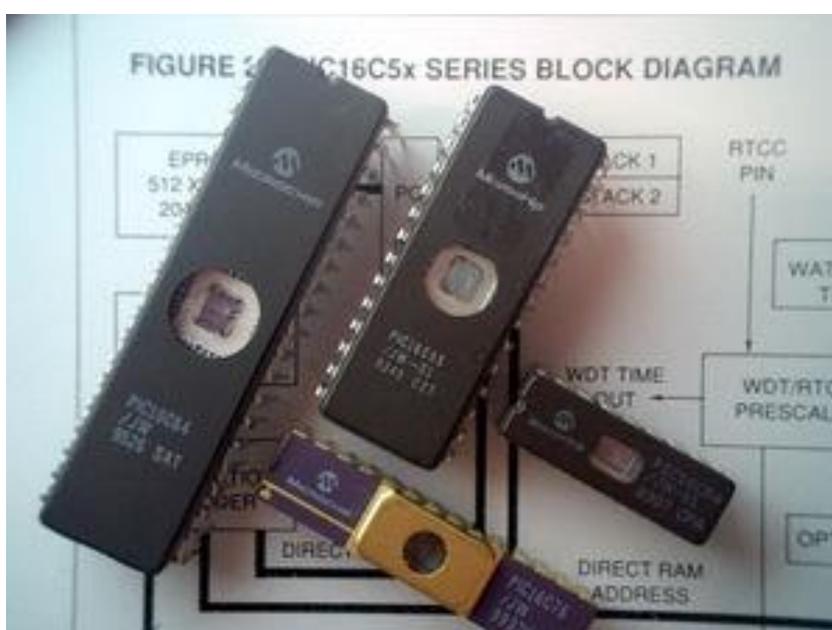


Figura 09. Microcontroladores.

As aplicações dos microcontroladores não se restringiram apenas a indústrias de computação e a grandes projetos eletrônicos. Os microcontroladores estão presentes em, praticamente, todos os aparelhos eletrônicos, desde aparelhos para automação industrial, automação comercial, automação predial, automação residencial, área automobilística, agrícola, produtos manufaturados, eletrodomésticos, telecomunicações, etc. Um exemplo comum da aplicação destes componentes é na área automobilística. Estima-se que cada carro produzido no mundo hoje contenha de 30 a 70 microcontroladores, a depender das características do modelo. Estes componentes são responsáveis por conferir aos carros atributos como freio ABS, direção eletrônica, controle de tração, injeção eletrônica de combustível, controle de

suspensão, acionamento inteligente de vidros e travas elétricas, acionamento de air-bags, redes internas, aquisição e tratamento de informações colhidas por sensores, controles de aceleração, entre outros. (CORTELLETI, 2006)

Os microcontroladores são revolucionários desde o seu surgimento e se tornaram vitais na vida moderna pela sua capacidade de integração de *software* e *hardware*. O uso adequado de um microcontrolador reduz drasticamente o número de componentes necessários para montagem de um determinado circuito, muitas vezes substituindo o circuito inteiro, acarretando assim na miniaturização de todo e qualquer sistema que faz uso destes componentes, além de causar uma redução considerável no custo.

Devido às características acima elencadas, naturalmente houve uma popularização do uso de microcontroladores na instrumentação química. Projetos de equipamentos portáteis e com custo de fabricação reduzido foram se propagando ao longo do tempo e podem ser observados nos diversos meios de divulgação científica. Relatam-se casos de usos de microcontroladores em sistemas de controle de sensores voltamétricos em um “nariz” eletrônico (BATALLE *et al.*, 2013), onde o microcontrolador é responsável por fazer a conversão dos dados e a comunicação com um microcomputador. Sistemas de detecção eletroquímica, potenciostatos, onde o uso do microcontrolador, responsável primordialmente pela aquisição de dados e comunicação com usuário por meio de um display de cristal líquido, o que resultou em um equipamento portátil e de baixo custo (KWAKYE, BAEUMNER, 2007; AVDIKOS, PRODROMIDIS, EFSTATHIOU, 2005). Sistemas microcontrolados são comumente utilizados para controle de equipamentos espectrofotométricos, equipamentos que trabalham na região do infravermelho próximo (GAIAO *et al.*, 2008) e do UV-VIS (VERAS *et al.*, 2009), fluorímetro (NG *et al.*, 2013) e até mesmo equipamentos óticos de refractância (JIMÉNEZ-MÁRQUEZ *et al.*, 2013), onde o uso do microcontrolador é vital para todo o funcionamento do equipamento, já que estes, ditos portáteis, dispensam completamente o uso de um microcomputador.

Sistemas mais complexos associam, por meio do uso de microcontroladores, sistemas de injeção em fluxo a sistemas de detecção como os descritos acima (SHAMSIPUR *et al.*, 2011), resultando em um instrumento mais completo e robusto para a análise desejada.

1.4 Equipamentos Comerciais de *Dip-Coating*

Sistemas automáticos para produção de filmes finos via *dip-coating* encontram-se comercialmente em diversas formas e tamanhos, atendendo a diversas demandas de laboratórios de pesquisa até processos industriais. Variam drasticamente no aspecto tamanho, existindo equipamentos com até dois metros de altura e outros com cerca de trinta centímetros. Em uma análise minuciosa dos equipamentos comerciais de *dip-coating*, percebe-se que a maior parte destes equipamentos, **Figura 10**, segue um modelo de funcionamento semelhante, utilizando um método chamado elevação, onde o substrato é mergulhado e recolhido de dentro de uma determinada solução diversas vezes, por um movimento vertical.

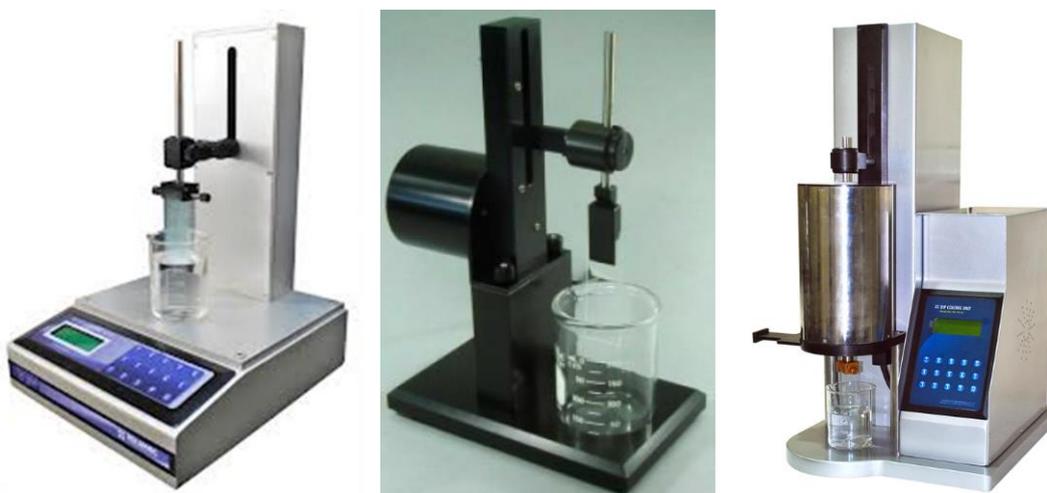


Figura 10. Equipamentos comerciais utilizados para modificação de substratos via *dip-coating*, utilizando a técnica de elevação.

Utilizando motores e polias os equipamentos comerciais de *dip-coating* se destacam pela estabilidade oferecida, garantida pelo uso de servo-motores, além de apresentar uma frequência de imersão reprodutível e confiável, possuem um sistema de programação que faz com que o processo de modificação da superfície condutora possa durar de minutos até horas. Pode-se inferir sobre suas limitações o fato de que alguns equipamentos se atêm a apenas uma solução, necessitando da interferência do usuário para a mudança da solução. Outro ponto relevante nesse tipo de equipamento é o uso de diversas peças mecânicas, motores, polias e/ou rolamentos, que requerem manutenção constante e são susceptíveis a diversos problemas

mecânicos. Outros aparelhos funcionam exatamente da mesma maneira, mas possuem algumas especificidades para atender determinadas demandas. Um exemplo pode ser observado na **Figura 11**, onde tem-se um dip-coating que possui como característica peculiar o uso da solução a uma temperatura controlada, o que pode melhorar o processo de deposição, além de acelerar etapa de vaporização do solvente.



Figura 11. Equipamento comercial dip-coating que possui controle de temperatura.

Há equipamentos comerciais, **Figura 12**, que suprem uma das principais deficiências dos citados acima, a limitação de uso de apenas uma solução. Em técnicas que realizam a formação de camadas mistas, exigindo que o substrato seja mergulhado em diversas soluções, se faz necessário que os usuários de equipamentos como os descritos acima façam manualmente a mudança da solução ao longo de todo o processo, o que é um inconveniente. O método de funcionamento do equipamento durante a etapa de modificação da superfície do substrato por dip-coating segue o mesmo princípio dos outros equipamentos comerciais acima descritos. Tendo como principal diferencial a possibilidade do uso de diversas soluções para a modificação do substrato, esses equipamentos somam aos atributos dos anteriores uma maior facilidade para elaboração de camadas mistas. O modo de mudança da solução reside, usualmente, em dois métodos, o primeiro faz uso de um braço mecânico para transportar o substrato para as soluções, em movimentos verticais e horizontais, já o segundo usa uma base giratória que faz com que as soluções mudem de lugar e fiquem sob o substrato, que continuam em um movimento

vertical como nos equipamentos de uma única solução. Mesmo com esse avanço considerável, esses equipamentos apresentam algumas limitações como os anteriores, o sistema mecânico é ainda mais complicado que os anteriores, o que exige manutenção contínua e traz consigo a possibilidade de diversos problemas em suas peças.

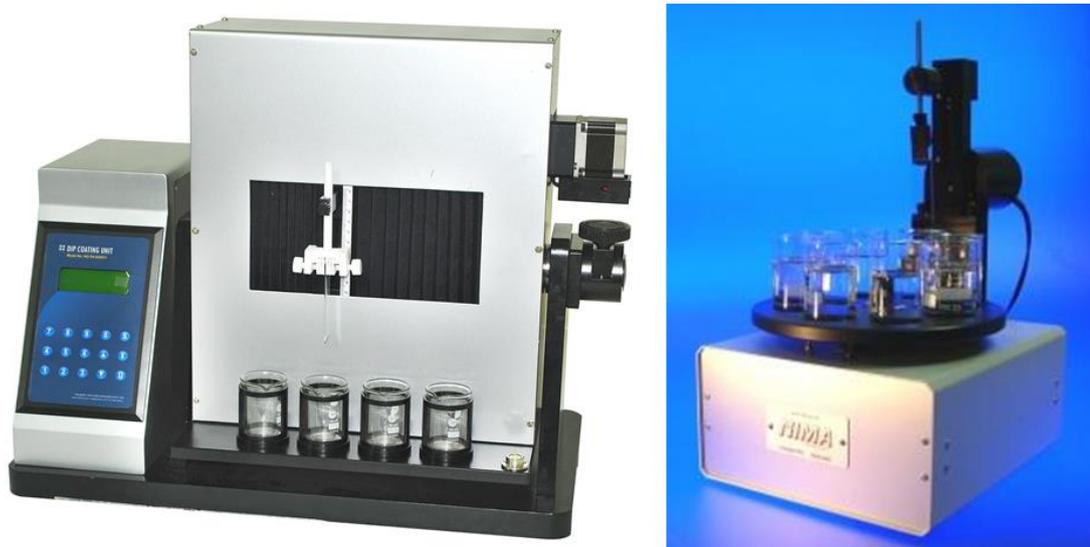


Figura 12. Equipamentos comerciais utilizados para modificação de substratos via dip-coating, utilizando múltiplas soluções.

Na literatura encontram-se relatos de equipamentos que foram construídos buscando suprir algumas demandas com custo de aquisição e manutenção reduzido. Um dos equipamentos desenvolvidos para este fim (CARVALHO, VARELA, 1999), **Figura 13**, faz uso de motores para movimentar um sistema de elevação, onde o substrato é elevado e abaixado na solução ao longo do procedimento, apresentando como vantagens o custo reduzido, a fácil instrumentação e, segundo os autores, versatilidade de mudança da frequência dos mergulhos. Em contraponto, o uso de motores e polias traz consigo diversas limitações mecânicas, o que vai de encontro inclusive ao que é afirmado pelos autores em termos de versatilidade e, além de ser susceptível a diversos problemas mecânicos, o uso de motores DC faz com que o processo de mergulho seja sujeito de vibrações, o que deve ser evitado em um equipamento deste tipo. Limita-se também ao uso de uma única solução de deposição, que necessariamente precisa ser inserida pelo usuário.

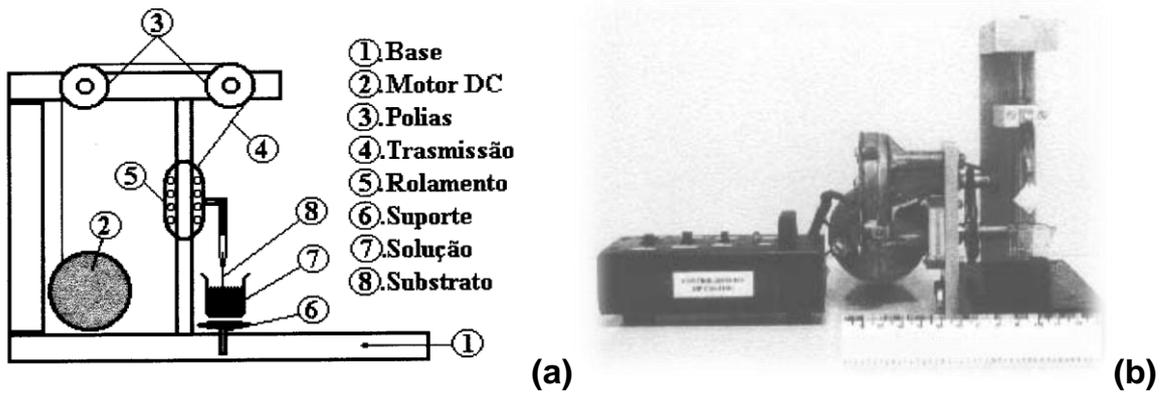


Figura 13. Equipamento Dip-coating proposto por Carvalho e Varela (1999): (a) Esquema, (b) Imagem.

Outro dip-coating construído em laboratório (OLIVEIRA, ZARBIN, 2005) se assemelha ao anterior, porém com a implementação de um sistema de motores de passo controlado por meio de um microcomputador, **Figura 14**. Diversas vantagens são apresentadas por essa simples melhoria. O processo de mergulho da solução irá ocorrer de forma muito mais suave e controlada, ao mesmo tempo em que o uso de um controlador via microcomputador acrescenta uma versatilidade maior na mudança da frequência dos mergulhos.

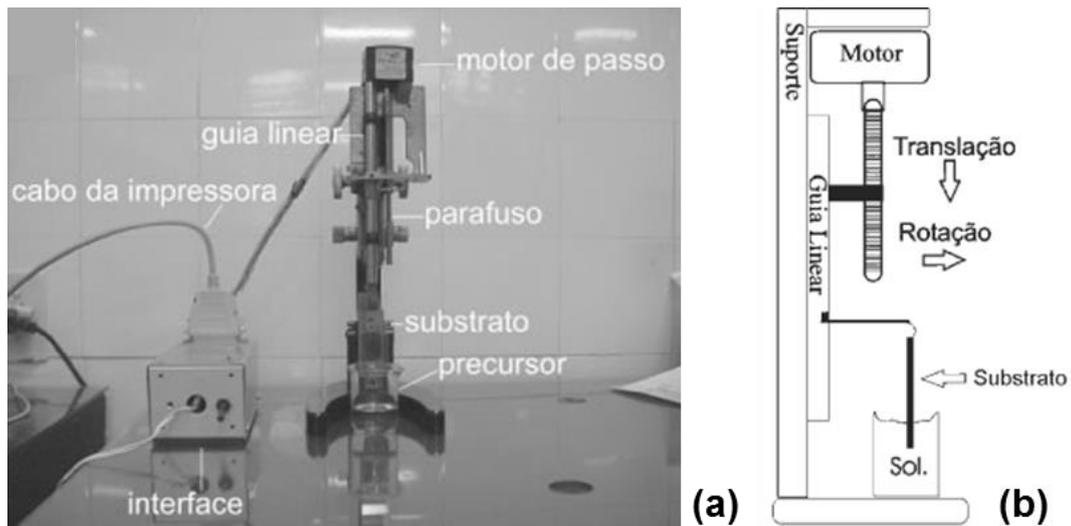


Figura 14. Equipamento Dip-coating proposto por Oliveira e Zarbin (2005): (a) Imagem, (b) Esquema.

Mesmo com essas implementações certas deficiências permanecem presentes no sistema, como o uso de motores e parafusos, que requer manutenção contínua e o torna muito susceptível a problemas mecânicos, necessitando ainda do operador para inserir a solução no sistema, além de ser limitado ao uso de apenas uma solução.

Neste trabalho utilizou-se uma nova concepção de sistema dip-coating para elaborar um equipamento microcontrolado programável miniaturizado que possibilita o uso de microvolumes de soluções e dispensa a utilização de peças móveis, braços mecânicos ou motores, além de ser de fácil operação. A ideia consiste em manter o substrato sólido fixo, ao passo que as soluções são introduzidas e retiradas do sistema na sequencia desejada, utilizando-se para isso um sistema FBA.

1.5 Determinação de Nitrito

Devido a sua toxicidade, o uso de compostos de nitrito em fertilizantes e como aditivo em alimentos o tornou um poluente em potencial para o meio ambiente e para a saúde humana (LI; LIN, 2007). Tal fato fez com que órgãos governamentais de diversos países, determinassem normas para controle do uso desses compostos. A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) na portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998 ratifica que o Nitrito e o Nitrato de Sódio não podem ser utilizados como aditivos para alimentos na categoria de carne fresca. Em produtos de carne embutidos, aditivos baseados em nitrito e nitrato são utilizados para evitar o escurecimento da carne, mantendo assim seu aspecto “fresco” (SOUZA, *et al.*, 1990). A Organização Mundial da Saúde (OMS) e os Ministérios da Saúde e da Agricultura permitem um limite máximo de 200 ppm para nitrito em amostras de embutidos de carne.

A U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) trata da toxicidade e exposição de crianças a compostos de nitrito com preocupação, devido aos problemas causados a saúde, elencando como principal causa de exposição a contaminação por fertilizantes, que afeta desde a água potável, vegetais e materiais em conserva, até o leite de animais contaminados. Dentre os principais problemas causados à saúde pela exposição a nitritos e nitratos acima de determinados níveis, destaca-se, segundo a U.S. EPA, a metemoglobinemia, conhecida como a síndrome

do bebê azul. Trata-se de uma enfermidade causada pela interação entre compostos desse tipo e a hemoglobina resultando a oxidação do Fe (II) para Fe (III) no seu interior, fazendo com que sejam perdidas suas funções fisiológicas (DREYSE, *et al.*, 2011). O principal sintoma é a mudança da coloração da pele para um tom azulado e em casos mais severos pode levar ao coma e até a morte. A exposição a altas concentrações dos compostos em debate é associada também a casos de câncer em adultos, tumores no cérebro e leucemia (U.S. EPA, 2006).

A determinação quantitativa de nitrito em amostras de bebidas e alimentos possui significativa importância. Tradicionalmente a determinação de nitrito é realizada por espectrofotometria, baseado na reação do nitrito com a sulfanilamida e o N-(1-naftil)etilenodiamina, proposta no método de Griess. Mesmo se tratando de um método padrão bastante prático, o fato de utilizar reagentes carcinogênicos (GAMBOA, *et al.*, 2010) e possuir limitações quanto a efeitos de interferentes em amostras complexas (LIU, *et al.*, 2009) tem estimulado a busca por métodos alternativos mais sensíveis, seletivos e que apresentem economia de amostra e reagentes.

Diversos métodos têm sido propostos para determinação de nitrito, com destaque para os que se baseiam em técnicas espectrofotométricas (NAGARAJA, *et al.*, 2010), cromatografia líquida (JEDLICKOVA, PALUCH, ALUSIK, 2002; BUTT, *et al.*, 2001; WANG, WANG, ZHU; 2012), técnicas fluorimétricas (JE, NG, MENG, 1993; LIU, *et al.*, 2009) e injeção em fluxo (PASQUALI, *et al.*, 2010; ARGÜELLES, 2004). Tem-se entre os métodos citados, determinações com limites de detecção baixíssimos, chegando a determinações de traços até mesmo $0,06 \mu\text{mol L}^{-1}$ (LIU; JU, 2003).

Recentemente, novos métodos eletroanalíticos passaram a ser mais empregados para a quantificação de nitrito a fim de suprir demandas como alta seletividade e sensibilidade, além do desuso de reagentes cancerígenos (ASSAN; MARZOUK; SAYOUR, 2003), baixo consumo de amostras, instrumentação com características de portabilidade, baixo custo, possibilidade de miniaturização (GAMBOA, *et al.*, 2010) e fácil operação (GE, *et al.*, 2011).

A detecção eletroquímica de nitrito baseia-se tanto em sua oxidação quanto em sua redução. Métodos catódicos são geralmente pobres em sensibilidade e

susceptíveis a interferências de íons nitrato e oxigênio molecular, ao passo que a eletrooxidação do nitrito em eletrodos convencionais requer elevado sobrepotencial, inviabilizando métodos anódicos devido ao envenenamento da superfície do eletrodo, exigindo o uso de eletrodos quimicamente modificados (OJANI; RAOOF; ZAREI; 2006). Para a determinação eletroanalítica de nitrito se empregam técnicas como potenciometria (ASSAN; MARZOUK; SAYOUR, 2003), amperometria (LIU; GU, 2008), voltametria (CUI, *et al.*, 2013), etc.

Dentre os eletrodos quimicamente modificados mais utilizados destacam-se os obtidos pelo uso da técnica LbL. Tem-se na literatura relatos da formação de filmes sobre a superfície de eletrodo de carbono vítreo, (GCE, do inglês Glassy Carbon Electrode), com camadas mistas de Ftalocianina de cobalto II (CoPC) e grafeno, utilizado para a determinação oxidativa do nitrito (CUI, *et al.*, 2007). Filmes de polioxomolibdatos sobre superfícies de eletrodos de ouro foram propostos para a redução eletrocatalítica do nitrito (VOLKER; CALVO; WILLIAMS, 2012). Para a redução eletrocatalítica tem-se relatos também da modificação da superfície do GCE com nanotubos de carbono combinado com óxido de zinco e partículas de ouro (LIN, *et al.*, 2011), ósmio-bipiridina (LIU; HU, 2002). Relata-se também a modificação da superfície de eletrodo de ouro com cobre, contendo um complexo que mimetiza a nitrito redutase, enzima que realiza a redução do nitrito (HIRATSU; SUZUKI; YAMAGUCHI, 2005).

Eletropolimerização tem sido também empregada com sucesso na elaboração de eletrodos modificados através da formação de camadas de polímeros condutores na superfície do eletrodo. Obteve-se a redução eletrocatalítica do nitrito utilizando GCE modificado com filme polimérico de tetrapiridilporfirina coordenado com $[\text{Ru}(\text{5-NO}_2\text{-phen})_2\text{Cl}]^+$ e Ni (II), onde se alcançou um limite de detecção de $9,37 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (DREYSE, *et al.*, 2011). Uma modificação distinta obteve um GCE modificado ainda mais sensível, utilizando-se nanoredes de polypyrrole e nanopartículas de Pt, se obteve um limite de detecção em $1,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ (LI; LIN, 2007).

Devido à importância da determinação de nitrito e as peculiaridades dos métodos convencionais torna-se relevante o desenvolvimento de novos métodos de determinação, com destaque para o uso de técnicas eletroanalíticas e eletrodos modificados, que proporcionam elevada seletividade e sensibilidade.

O eletrodo modificado desenvolvido neste trabalho mostrou-se adequado para determinação amperométrica de íons nitrito. O sensor foi aplicado com sucesso na determinação de nitrito em águas naturais utilizando um sistema FIA.

2 Objetivos

2.1 Objetivos gerais

- Desenvolvimento e aplicação de um eletrodo de ouro quimicamente modificado com íons ferricianeto;
- Desenvolvimento e aplicação de um equipamento dip-coating microcontrolado miniaturizado.

2.2 Objetivos específicos

- Modificação de um eletrodo de ouro através da síntese via sol-gel eletroquímico de uma rede de sílica sobre sua superfície para aprisionamento de ferricianeto;
- Otimização dos parâmetros envolvidos durante o processo de modificação do eletrodo: tempo de formação da monocamada, potencial de eletrodeposição, tempo de eletrodeposição e estabilidade em diferentes pHs;
- Caracterização do do sensor eletroquímico desenvolvido via Microscopia Eletrônica de Varredura e Voltametria Cíclica;
- Investigação da potencialidade analítica do do sensor eletroquímico desenvolvido na determinação de nitrito em águas naturais;
- Aplicação do equipamento dip-coating desenvolvido na modificação da superfície de um eletrodo de carbono vítreo com polioxometalatos;
- Caracterização do sensor eletroquímico de polioxometalatos obtido por Espectroscopia de Impedância Eletroquímica e por Voltametria Cíclica.

3 EXPERIMENTAL

2.1 Reagentes

O **Tabela 01** apresenta os reagentes utilizados neste trabalho. Todos os compostos foram utilizados sem purificação adicional.

Tabela 01. Reagentes

Reagente	Procedência
(3-Mercaptopropil)-trimetoxisilano (95%) (MPTMS)	Sigma-Aldrich
3-[2-(2-Aminoetilamino)etilamino]propil-trimethoxisilano (TAPTS)	Acros Organics
Acetato de Sódio	Carlo Erba
Ácido Acético	Pronalab
Ácido Bórico	Mallinckrodt Baker B.V.
Ácido Clorídrico (37%)	Química Moderna
Ácido Nítrico (65%)	Química Moderna
Cloreto de Potássio	Merck Darmstadt
Etanol (99,35%)	F. Maia
Ferricianeto de Potássio	Merck Darmstadt
Nitrato de Potássio	Nuclear
Nitrito de Sódio (99%)	Vetec Química Fina
Polietilenimina 50 % (m/v) em solução aquosa	Sigma-Aldrich
Tetraborato de sódio	Analas
Tetraetilortosilicato (98%) (TEOS)	Sigma-Aldrich

Os polioxometalatos (POMs, $K_5[SiW_{11}Fe^{III}(H_2O)O_{39}] \cdot 13H_2O$ e $K_5[PW_{11}Fe^{III}(H_2O)O_{39}] \cdot 6H_2O$) utilizados foram previamente sintetizados como descrito na literatura e caracterizados por análise térmica e elementar, espectroscopia no infravermelho e difração de raio X (FERNANDES, *et al.*; 2011).

2.2 Soluções e Amostras

Composições de várias soluções empregadas neste trabalho e respectivas siglas encontram-se descritas na **Tabela 02**. Procurou-se optar por siglas sugestivas como “S-SAM” para a solução empregada na formação da monocamada automontada; “S-SOL” para a solução contendo precursores do processo Sol-Gel; e “FC” para a solução de ferricianeto de potássio.

Tabela 02. Soluções utilizadas

Solução	Composição
FC 01	$K_3[Fe(CN)_6]$ (0,0132 g) + H_2O (20 mL)
FC 02	$K_3[Fe(CN)_6]$ (0,0132g) + H_2O (10 mL) + Etanol (10 mL)
FC 03	$K_3[Fe(CN)_6]$ (0,0132 g) + HNO_3 0,1 mol L ⁻¹ (20 mL)
NO ₂ 10 ⁻²	HNO_3 0,1 mol L ⁻¹ (20 mL) + $NaNO_2$ 2,0 mol L ⁻¹ (0,1 mL)
NO ₂ 10 ⁻⁴	HNO_3 0,1 mol L ⁻¹ (20 mL) + $NaNO_2$ 0,02 mol L ⁻¹ (0,1 mL)
PEI	Polietilenimina 5 mg mL ⁻¹ em tampão pH 9,1.
pH 1,3	HNO_3 0,1 mol L ⁻¹ (20 mL)
pH 4,5	HAc 0,2 mol L ⁻¹ (62,5 mL) + NaAc 0,2 mol L ⁻¹ (36 mL)
pH 7,0	Na_2HPO_4 0,2 mol L ⁻¹ (30,5 mL) + $Na_2H_2PO_4$ 0,2 mol L ⁻¹ (19,5 mL)
pH 9,1	NaOH 0,1 mol L ⁻¹ (3 mL) + $Na_2B_4O_7$ 0,025 mol L ⁻¹ (50 mL)
POM	$K_5[SiW_{11}Fe^{III}(H_2O)O_{39}] \cdot 13H_2O$ e $K_5[PW_{11}Fe^{III}(H_2O)O_{39}] \cdot 6H_2O$ 1.0 mM em pH 4,5.
S-SAM	Etanol (25 mL) + MPTMS (0,097 mL)
S-SOL 01	Etanol (20 mL) + KNO_3 0,1 mol L ⁻¹ (20 mL) + TAPTS (0,175 mL) + TEOS (2,863 mL)
S-SOL 02	Etanol (20 mL) + KNO_3 0,1 mol L ⁻¹ (20 mL) + TAPTS (0,175 mL) + TEOS (2,863 mL) + Ferricianeto de Potássio (0,0132 g)
S-SOL 03	Etanol (20 mL) + HNO_3 0,1 mol L ⁻¹ (20 mL) + TAPTS (0,175 mL) + TEOS (2,863 mL)

O processo de preparo da S-SOL requer ainda uma etapa de hidrólise em ultrassom por 60 minutos a 40°C. Um estudo sistemático foi realizado previamente para estabelecer as composições das soluções S-SOL.

2.3 Instrumentação Analítica

Os estudos eletroquímicos utilizaram um potenciostato/galvanostato Eco Chemie da Autolab (Modelo PGSTAT302N), **Figura 15**. O controle dos parâmetros voltamétricos, a aquisição e o tratamento dos dados obtidos, foram efetuados por intermédio do software GPES (General Purpose Electrochemical System) versão 4.9, da Echo-Chemie, Utrecht, Holanda.



Figura 15. Imagem do potenciostato/galvanostato Eco Chemie da Autolab.

Nos experimentos eletroquímicos empregou-se o sistema convencional de três eletrodos. Como eletrodos de trabalho foram utilizados eletrodos de ouro e carbono vítreo, ambos com 3 mm de diâmetro. O sistema foi completado com um eletrodo auxiliar de Pt e utilizou-se como eletrodo de referência eletrodos de Ag/AgCl (KCl, 3,0 mol L⁻¹) ou calomelano saturado (ECS) em uma célula convencional de 20 mL ou uma célula do tipo *Wall-Jet*, para os experimentos de análise em fluxo. Durante as medidas voltamétricas, realizadas por voltametria cíclica, foi sempre empregado um degrau de potencial $\Delta E_s = 2$ mV.

As medidas de pH foram efetuadas utilizando o medidor de pH Metrohm pHLab 827, Metrohm AG, Herisau, Switzerland, com um eletrodo de vidro combinado Metrohm.

As análises de microscopia eletrônica de veredura foram realizadas em um MEV-Quanta 200FEG: EDS alto vácuo do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE).

O desenvolvimento do “Sistema LbL” proposto neste trabalho, desde o protótipo até o equipamento final, utilizou ferramentas e equipamentos convencionais encontrados comumente em oficinas eletrônicas. Todos os materiais e componentes eletrônicos empregados serão descritos mais adiante.

2.4 Modificação do Eletrodo de Ouro

2.4.1 Limpeza da superfície do eletrodo de ouro

Antes do processo de modificação, o eletrodo de ouro era imerso por cerca de 20 minutos numa solução aquosa de HF 1:1 seguido de um polimento com suspensão de alumina ($0,05 \mu\text{m}$) em água por cerca de 5 minutos. A solução de HF é vital para o processo de limpeza, uma vez que a superfície de ouro pode conter resquícios de sílica de ensaios anteriores, que certamente não serão retirados apenas com o polimento mecânico. Vale destacar que foram realizados testes com limpeza química em meios fortemente básico, pH 9, e utilizando solução de H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, nenhuma das duas técnicas de limpeza se mostrou tão eficiente quanto utilizando a solução de HF. Em seguida, o eletrodo era lavado em abundância com água destilada e a eficiência da limpeza era atestada eletroquimicamente por voltametria cíclica com uma solução 10 mmol L^{-1} de ferricianeto de potássio, utilizada como sonda padrão eletroquímica.

2.4.2 Modificação da superfície do eletrodo de ouro

A modificação da superfície do eletrodo de ouro envolveu três etapas distintas (**Figura 16**): a formação da monocamada automontada, baseada na grande afinidade dos grupos sulfidril pelo ouro, que resulta uma superfície rica em grupos Si-OH, que servem de base para ancorar uma rede de sílica; a eletrodeposição da rede de sílica, baseada numa geração de pH alcalino apenas na superfície do sensor; e o aprisionamento do mediador de elétrons na rede, baseado na atração eletrostática entre os íons ferricianeto e a rede de sílica.

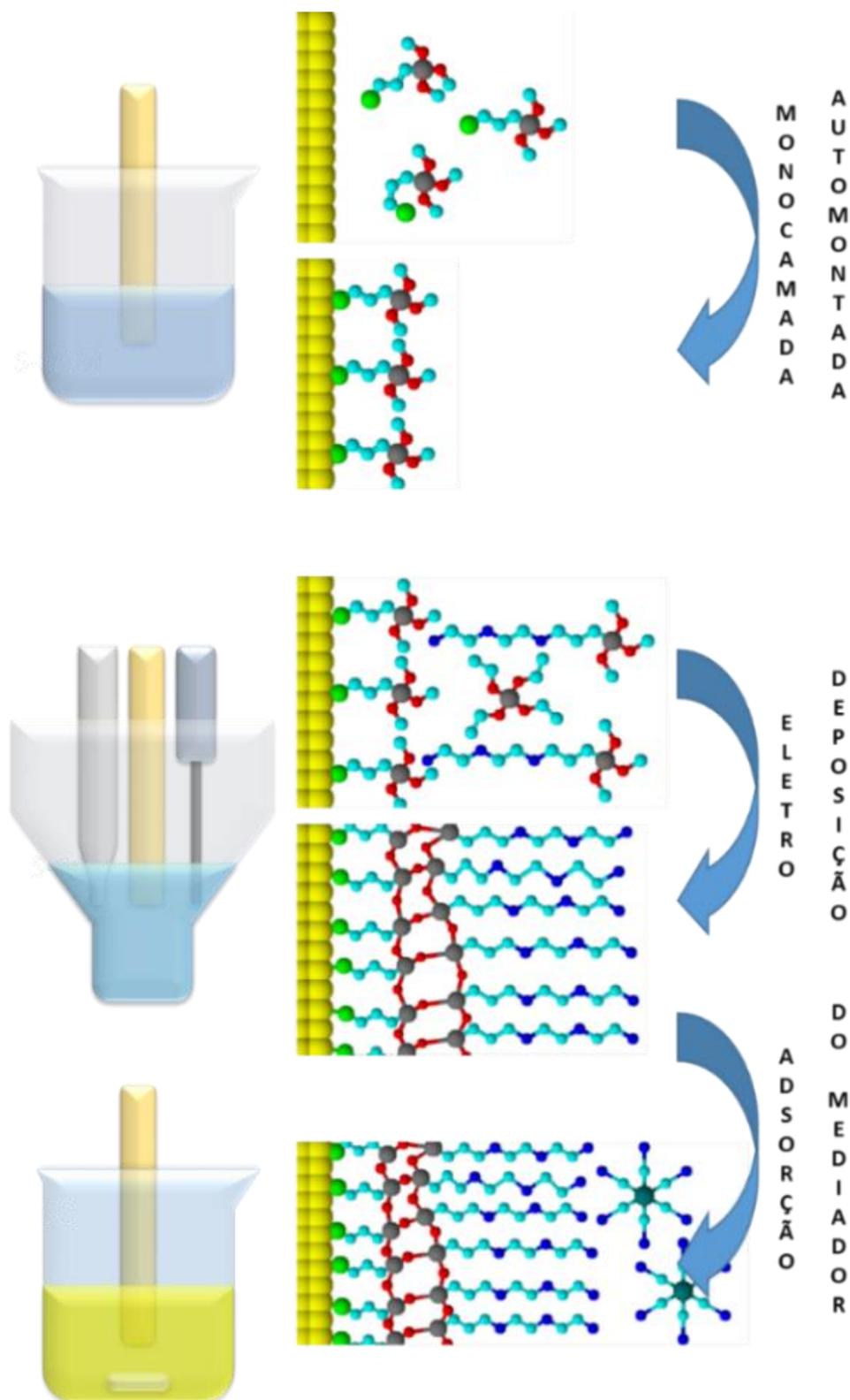


Figura 16. Etapas envolvidas no processo de modificação do eletrodo de ouro.

2.4.2.1 Formação da SAM

A formação da SAM era realizada pela imersão do eletrodo de ouro limpo, numa solução quiescente de S-SAM por X minutos ($X = 10, 30, 60, 240$ e 1440). Em seguida, o eletrodo era lavado em abundância com água deionizada.

2.4.2.2 Deposição de filme de sílica

Após ser recoberto com a SAM, o eletrodo de ouro era imerso numa solução S-SOL de pH próximo a 3,0, para receber a deposição da rede de sílica.

A rede de sílica responsável pelo aprisionamento do mediador é rapidamente depositada na superfície do eletrodo via sol-gel eletroquímico. Sendo aplicado um potencial de $-1,1$ V vs. Ag/AgCl em meio quiescente, causando a redução de íons H^+ e de moléculas de oxigênio presentes na superfície do eletrodo, resultando na elevação localizada do pH e na condensação dos grupos silanóis. (ETIENNE, BESSIERE, WALCARIUS; 2001). O processo de eletrodeposição foi amplamente estudado para otimização dessa etapa. Buscou-se estimar, paralelamente, a capacidade da rede de sílica aprisionar íons ferricianeto. Para isso foi avaliado o sinal voltamétrico do eletrodo com o mediador presente na S-SOL ao longo da etapa de eletrodeposição, sendo aplicado um potencial de $-1,1$ V durante tempos consecutivos (10, 20, 30, 40, 50, 60 segundos) com intervalo de 5 segundos e homogeneização do meio entre as deposições.

2.4.2.3 Imobilização do mediador ferricianeto na rede de sílica

A deposição da rede de sílica era realizada na presença ou ausência de íons ferricianeto. No primeiro caso, íons ferricianeto eram automaticamente aprisionados na rede durante a deposição. No segundo caso, o eletrodo era posteriormente imerso numa solução 10 mmol L^{-1} de ferricianeto de potássio por algumas horas, buscando determinar qual o método mais eficiente de aprisionamento.

Uma vez concluído o processo de modificação do eletrodo, o mesmo era lavado com água deionizada em abundância e submetido a varreduras consecutivas de potencial por voltametria cíclica ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$, HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), de $-0,2 \text{ V}$ a $0,65 \text{ V}$, até ser observada a estabilização do seu sinal voltamétrico (tipicamente 3 varreduras).

2.5 Sistema FIA

Experimentos amperométricos empregando sistema FIA foram realizados utilizando um sistema de linha única com célula Wall-Jet (LIMA, *et al.*, 1997), posicionando o eletrodo AuSiFc a 1 mm de distância do fluxo de entrada da solução carregadora e utilizando um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl , 3 mol L^{-1}) e um fio de platina como eletrodo auxiliar. Uma bomba peristáltica Ismatec (Modelo IPC-8) e um injetor proporcional manual foram empregados na montagem do sistema FIA. Todos os experimentos foram realizados à temperatura ambiente. Um esquema da montagem do sistema FIA é apresentado na **Figura 17**.

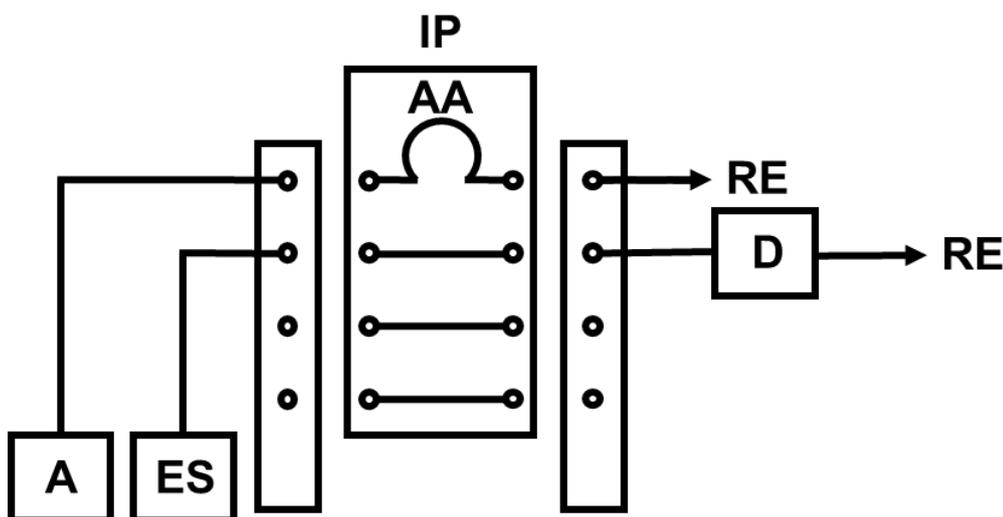


Figura 17. Diagrama do sistema FIA. **A**, amostra; **ES**, eletrólito suporte, **AA**, alça de amostragem (20 cm); **IP**, injetor proporcional; **D**, detector; **RE**, resíduos. Taxa de fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$.

2.5.1 Procedimento Analítico

Polarizando-se o eletrodo de trabalho em 0,0 V e utilizando-se uma vazão de 1,0 mL min⁻¹, alíquotas de 100 µL da amostra ou de soluções-padrão eram injetadas e os sinais transientes prontamente registrados. Tanto as amostras quanto as soluções-padrão continham o eletrólito suporte.

2.6 Modificação do GCE

2.6.1 Limpeza da superfície do GCE

O processo de modificação da superfície do eletrodo era iniciado com o procedimento de limpeza e polimento do mesmo utilizando suspensão de alumina de 0,3 µm e “spray” de diamante de 1 µm, seguido de lavagem com água deionizada em abundância.

2.6.2 Modificação da superfície do GCE

O eletrodo era inicialmente condicionado numa solução 5 mg mL⁻¹ de PEI (em tampão pH 9,0) durante 20 minutos e lavado com água deionizada em abundância. Em seguida, o eletrodo era imerso numa solução 1,0 mmol L⁻¹ do POM (em tampão acetato pH 4) por outros 20 minutos, seguido do mesmo procedimento de lavagem. As soluções de PEI e POM sempre eram preparadas na hora do uso. O processo era repetido de acordo com o número de camadas que se pretendia obter, sendo realizado manualmente ou automaticamente.

2.7 Materiais e Componentes Eletrônicos

Os dispositivos e componentes eletrônicos utilizados na confecção do Sistema LbL encontram-se listados na **Tabela 03**.

Tabela 03. Dispositivos e componentes eletrônicos do sistema LbL.

Quantidade	Dispositivo/Componente
01	LCD (Liquid Crystal Display) 20 x 2
01	Microcontrolador PIC16F877A
01	Circuito Integrado ULN2803
01	LED (diodo emissor de luz) auto brilho vermelho
05	Resistor 1 K
04	Resistor 10 K
01	Trimpot 10 K
01	Transistor TIP31
01	Buzzer 12V
06	Capacitores Cerâmicos de 10 uF
01	Relê 12 V
02	Transformadores 12 + 12 V
06	Diodos 1N4007
03	Capacitores Eletrolíticos 4700 uF
06	Capacitores Eletrolíticos 1 uF
01	Transistor regulador de tensão 7812
01	Transistor regulador de tensão 7805
01	Transistor regulador de tensão 7905
01	Cristal Oscilador de 4 MHz
01	Caixa plástica de 18 x 10,5 x 26,5 cm
02	Placas de cobre e fibra de vidro com 10 x 15 cm
04	Botões Eletromecânicos
01	Chave Liga/Desliga
01	Conector Macho 220 V
01	Agitador Magnético IKA (modelo LAB DISC)
01	Conector Fêmea 220 V
01	Câmara de Mistura de Teflon®
06	Microbomba solenóide (Metering Pumps, MCP 50)
	Tubos de Teflon com 0,8 mm de diâmetro

2.8 Sistema LbL

O equipamento de *dip-coating* desenvolvido neste trabalho, intitulado “Sistema LbL”, foi estruturado em três blocos principais: display de comunicação com o usuário, controle e propulsão.

2.8.1 Display de comunicação com o usuário

A comunicação usuário-equipamento é realizada através de quatro botões, enquanto a comunicação equipamento-usuário é realizada através de um display de cristal líquido.

2.8.1.1 Botões de controle do sistema LbL

Os botões de controle, **Figura 18**, possibilitam controlar o número de camadas, o número de soluções e tempo de imersão do eletrodo em cada solução, sendo representados por setas que simbolizam o acréscimo/diminuição do tempo (\blacktriangle , \blacktriangledown). Há um terceiro botão para confirmar (\checkmark) a opção. Por fim, há um quarto botão que permite interromper o procedimento em qualquer momento (\blacksquare).

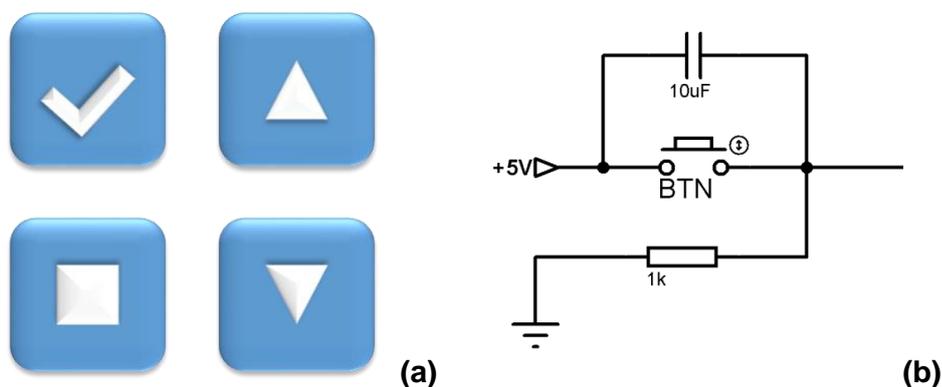


Figura 18. (a) Representação dos botões presentes no equipamento, bem como o (b) respectivo circuito eletrônico de cada botão.

A comunicação usuário-equipamento é realizada através de quatro botões. O acionamento do botão eleva seu nível lógico de sinal de 0 V para 5 V, valores discretos que são interpretados pelo *software* e transformados em comandos. Para certificar o acionamento eficaz de um botão, o equipamento emite um sinal sonoro (bip) característico, utilizando para isso um componente eletrônico denominado buzzer.

2.8.1.2 Display LCD alfanumérico

O interfaceamento de um display LCD em um circuito eletrônico segue um procedimento padrão, onde se tem 14 pinos de acesso, para os LCD's sem iluminação de fundo (*black-light*), e 16 para os que possuem iluminação de fundo. A função de cada pino encontra-se descrita na **Tabela 04**.

Tabela 04. Funções dos pinos dos módulos LCD do tipo alfanuméricos.

Pino	Nome	Função
1	Vss	Terra
2	Vdd	Positivo (normalmente 5 V)
3	V _o	Contraste do LCD. Às vezes também é chamado de Vee
4	RS	Seletor de Registro
5	R/W	Read/Write
6	E	Enable
7	D0	Bit 0 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
8	D1	Bit 1 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
9	D2	Bit 2 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
10	D3	Bit 3 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
11	D4	Bit 4 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
12	D5	Bit 5 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
13	D6	Bit 6 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
14	D7	Bit 7 do dado a ser escrito no LCD (ou lido dele).
15	A	Anodo do back-light (se existir back-light).
16	K	Catodo do back-light (se existir back-light).

Quanto a pinagem, **Figura 19**, os pinos 1 e 2, Vss e Vdd respectivamente, são pinos de alimentação, normalmente 0 V e 5 V, respectivamente. O pino 3, Vo, é responsável pelo contraste dos caracteres que aparecem no display, se encontra conectado a um potenciômetro de 10 K, na forma de divisor de tensão. Os pinos 4, 5 e 6 são pinos de controle que definem se os dados serão escritos ou lidos pelo LCD, sendo, respectivamente, ligados aos pinos 20, 21 e 19 do microcontrolador. Os pinos 7 a 14 são chamados pinos de barramento de dados, responsáveis pela transferência de dados, podendo ser utilizados na forma de 8 ou 4 vias. No presente caso se optou por uma interface de 4 vias para minimizar o uso de pinos de comunicação entre o microcontrolador e o LCD, então os pinos 11 a 14 do LCD foram ligados aos pinos 27 a 30 do PIC. Os pinos 15 e 16 são utilizados para controle da iluminação de fundo, para facilitar o uso destes componentes em lugares com pouca luminosidade, sendo ligados ao terra e à alimentação de 5 V.

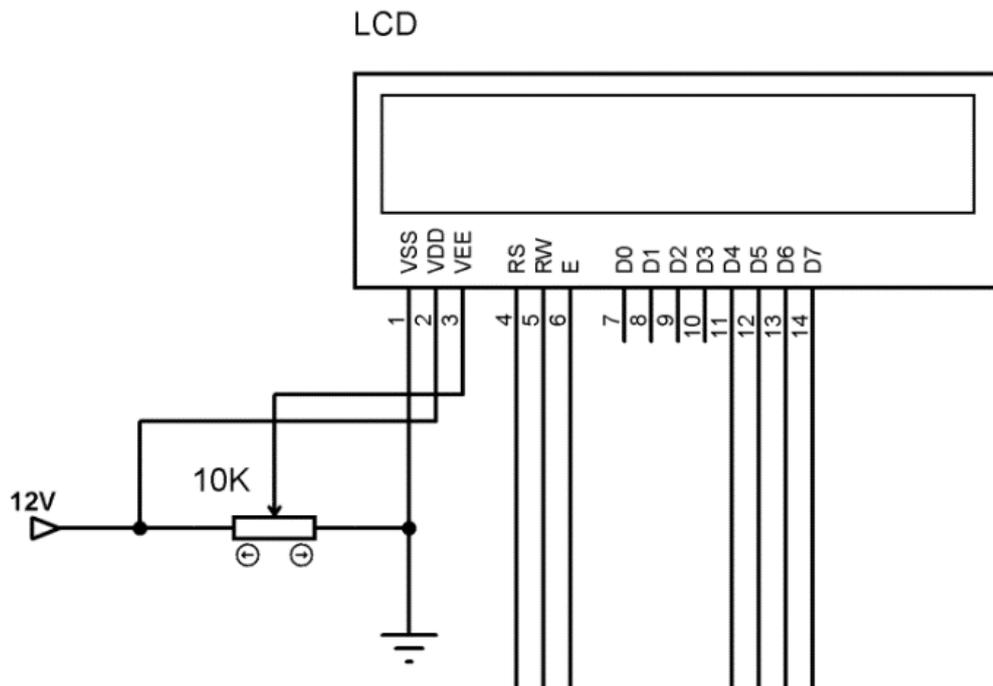


Figura 19. Terminais do circuito de um Display LCD.

O uso de componentes visuais como lâmpadas, LED's, displays, monitores, entre outros, são fundamentais, tanto para a saída de dados do equipamento, quanto para facilitar seu controle pelo usuário. Módulos do tipo LCD são bastante utilizados em diversos componentes eletrônicos, desde calculadoras e celulares até televisores.

Os LCDs são preferíveis a outros periféricos do tipo pelas suas dimensões reduzidas, em relação aos demais, e pela sua eficiência energética (consumo de corrente inferior ao de um LED). Os LCD's do tipo alfanumérico são de simples interfaceamento e bastante utilizados em equipamentos eletrônicos, por já possuírem em seu *drive* próprio os caracteres referentes a letras do alfabeto e os números, **Figura 20**, facilitando sua programação e leitura.



Figura 20. Módulo LCD alfanumérico

O modelo do LCD determina, dentre outras variáveis, o número de caracteres disponíveis em seu mostrador, sendo este apontado por um fator que relaciona o número de colunas e o número de linhas, podendo ser utilizados componentes que variam desde 8 colunas e 1 linha, LCD 08X01, até 40 colunas e 4 linhas, LCD 40X04, geralmente utilizando a mesma quantidade de pinos de comunicação. Por tanto, quando se define a utilização neste trabalho um display LCD 20X02, se indica que este possui 20 colunas e 2 linhas de caracteres em seu mostrador.

2.8.2 Sistema de controle

Sistemas *flow-batch* utilizam geralmente válvulas solenoides de três vias acionadas por um acionador de válvulas controlado por um microcomputador para o gerenciamento da entrada e saída dos líquidos na câmara de mistura. No presente Sistema LbL um microcontrolador é utilizado para controlar o acionamento das microbombas solenóide e do agitador magnético.

A alimentação de todos os componentes do sistema é realizada por uma fonte de tensão contínua integrada ao próprio equipamento, projetada para fornecer tensões precisas e estáveis de +5, -5 e 12 V.

O circuito eletrônico do acionador é baseado num CI ULN2803, cuja configuração pode ser observado na **Figura 21**.

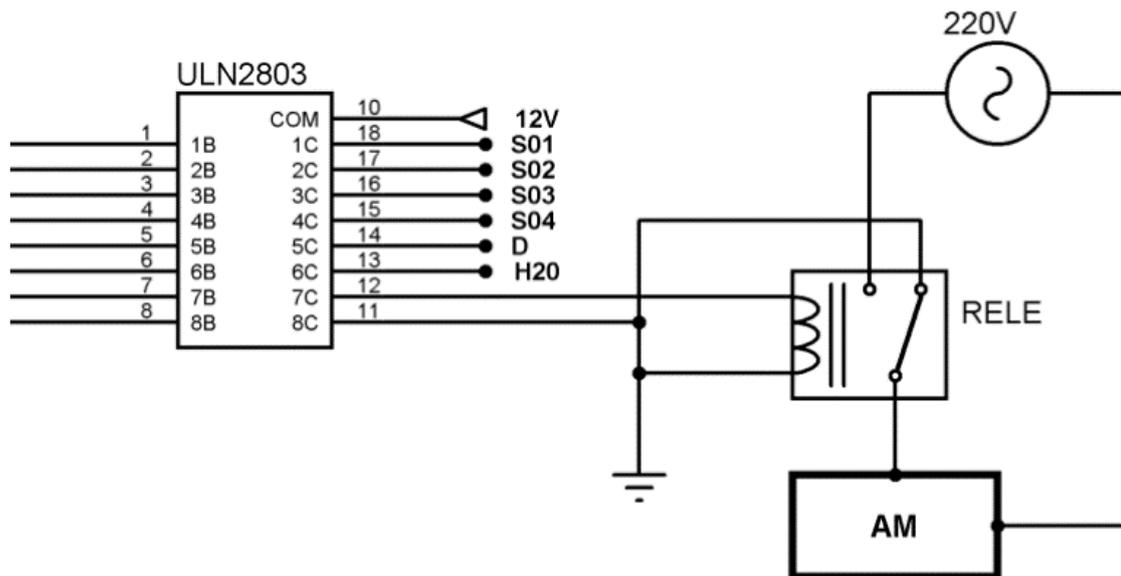


Figura 21. Circuito eletrônico do sistema de controle das micro-bombas (S01 a S04, D e H2O) e do circuito que liga o agitador magnético (AM), utilizando um circuito integrado do tipo ULN2803.

O uso do CI ULN2803 atribui ao equipamento a capacidade de controlar até oito canais de forma simultânea e independente por meio de um arranjo interno de transistores. Neste CI a aplicação de uma tensão superior a 3,8 V em uma de suas entradas, pinos 1 a 8, resulta uma corrente de até 500 mA em uma de suas saídas, pinos 12 a 18, fornecendo potência suficiente para acionar as microbombas solenóides e o relé de acionamento do agitador magnético. Os pinos de entrada são conectados diretamente ao microcontrolador para serem ativados via software, permitindo o controle automático do acionamento das microbombas e do agitador magnético.

2.8.2.1 Fonte de alimentação

Para alimentação do sistema uma fonte de alimentação simétrica estabilizada, utilizando dois transformadores de 12 + 12 V, com tensões de saída de +12, +5 e -5 V, foi implementada. O esquema do circuito da fonte encontra-se na **Figura 22**.

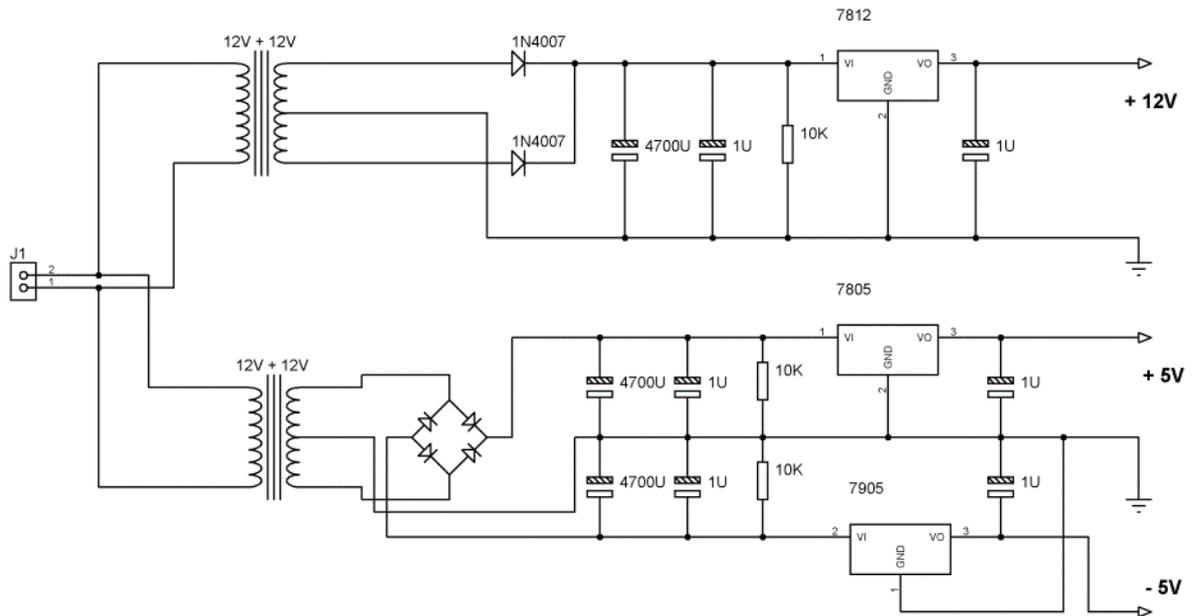


Figura 22. Esquema do circuito eletrônico da fonte de alimentação.

2.8.3 Sistema de propulsão

A propulsão e comutação dos fluídos é realizada no equipamento por meio do uso de microbombas solenóides e de uma câmara de mistura, seguindo o esquema apresentado na **Figura 23**. Sendo utilizadas seis microbombas MB01 a MB06, tornando possível se trabalhar com 4 soluções, S1 a S4, água e descarte.

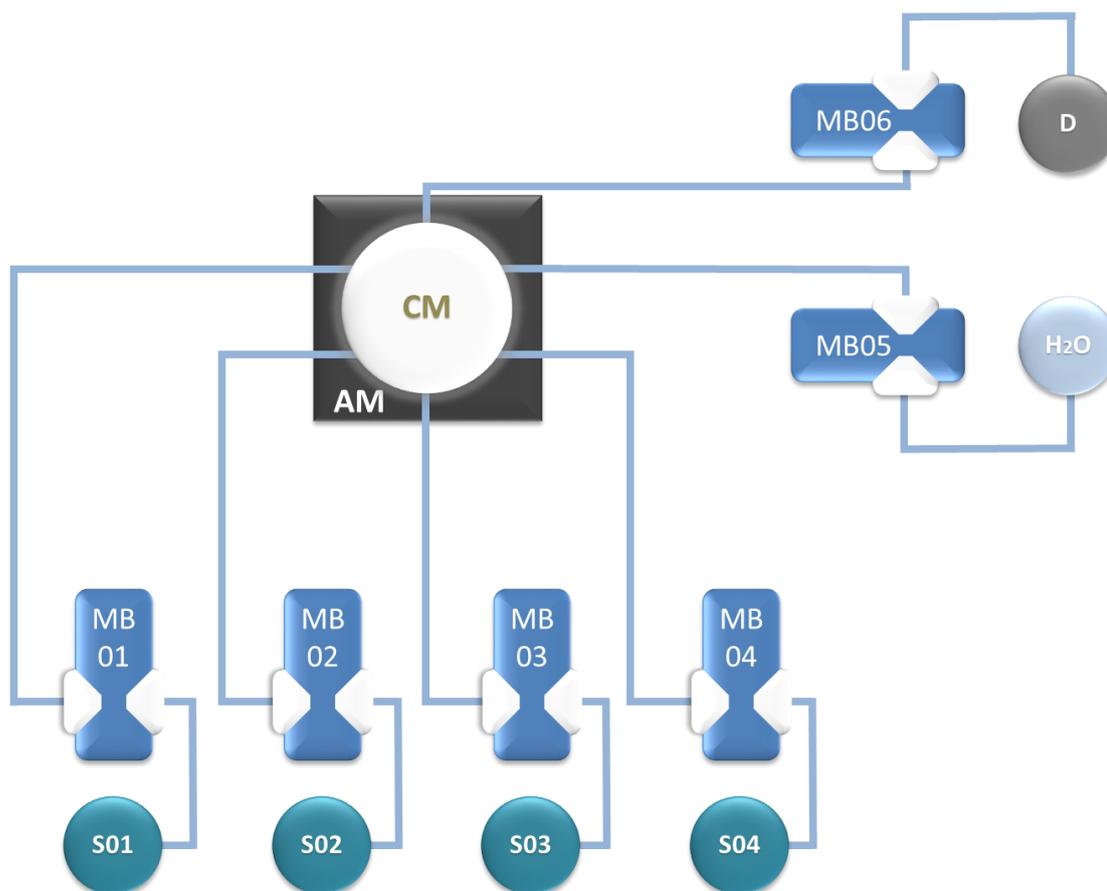


Figura 23. Representação esquemática do Sistema LbL.

Para a propulsão dos líquidos se utilizou microbombas solenóide do tipo Metering Pumps, MCP 50, **Figura 24**, com volume em uma faixa de 5 μL a 50 μL por pulso, sendo ajustadas para trabalhar na faixa máxima de volume, em uma frequência de cinco pulsos por minuto, controlada pelo sistema de controle ligado ao microcontrolador. Para o transporte das soluções foram utilizados tubos de Teflon[®] com 0,8 mm de diâmetro interno.



Figura 24. Microbomba solenóide (Metering Pumps, MCP 50).

Como descrito anteriormente, sistemas automáticos híbridos utilizam bombas peristálticas e válvulas solenóides para a propulsão e comutação dos fluídos, respectivamente. O custo destes componentes, além do seu peso e dimensão elevada, principalmente a bomba peristáltica, faz com que esses se tornem indevidos para a miniaturização de sistemas *flow-batch*. Para superar os obstáculos citados, se destaca o uso de microbombas solenóides (LIMA, *et al.*, 2012) que cumprem individualmente as funções de bombeamento e comutação.

2.8.4 Câmara de mistura

A câmara de mistura foi confeccionada em Teflon®, contendo cinco canais de entrada e um canal de saída, com diâmetro interno de 7 mm e um correspondente volume máximo de 2 mL (**Figura 25**).

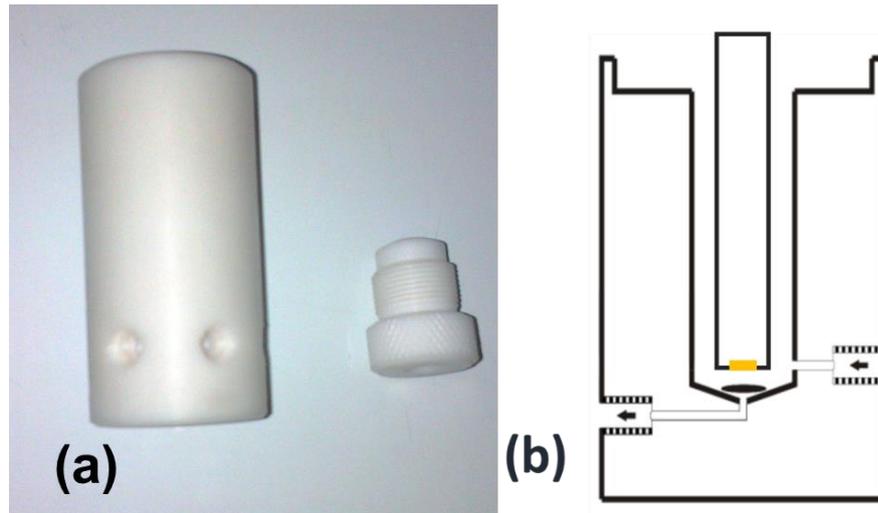


Figura 25. (a) Câmara de mistura. (b) Corte transversal com a presença do eletrodo no interior da câmara.

Um agitador magnético embutido no equipamento proporciona a agitação da solução no interior da câmara de mistura, que contém uma barra magnética. No interior da câmara é inserido o eletrodo, para que, com a inserção consecutiva dos fluidos, seja realizado o processo de modificação de sua superfície.

2.8.5 Microcontrolador

O microcontrolador empregado é do tipo PIC (*Programmable Controller of Interruption*), microchip específico para controlar determinados componentes eletrônicos, além de realizar cálculos e armazenar dados. O microcontrolador utilizado é da série 16F877a, fabricado pela Microchip Co, de 40 pinos, **Figura 26**, sendo sete deles utilizados para alimentação e controle do mesmo. Este PIC possui uma Central Única de Processamento, CPU, responsável por coordenar e executar todas as instruções do microcontrolador, desde a realização de operações lógicas ou matemáticas até a comunicação e controle de componentes externos.

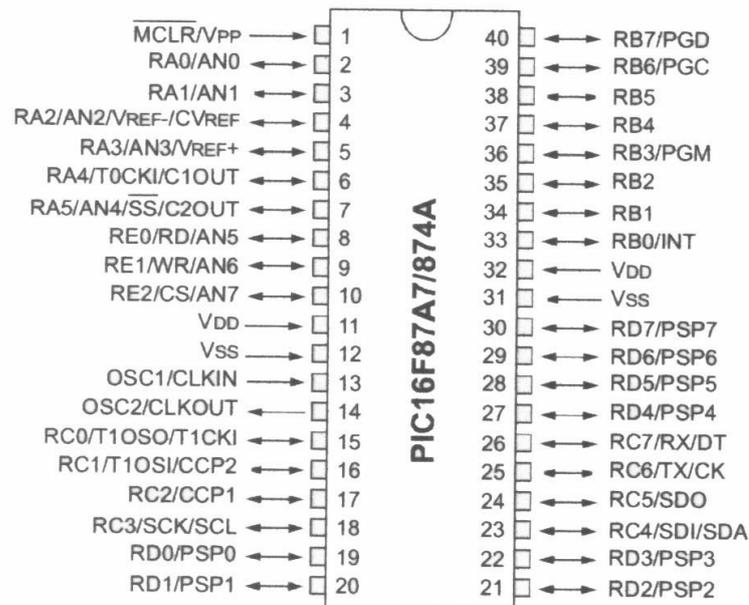


Figura 26. Pinagem do PIC16F877.

O circuito do microcontrolador soma a si, além do circuito necessário para seu funcionamento, os circuitos dos botões, do LCD e do CI ULN2803 (Figura 27, circuito completo do equipamento). Vale destacar nesse circuito o uso de um cristal de quartzo de 4 MHz, responsável por determinar a frequência de funcionamento do PIC, conectado aos pinos 13 e 14, específicos para este fim. Pode ser observada também a presença de um LED (diodo emissor de luz) no pino 03, utilizado para informar que o procedimento se encontra em execução. Os pinos 5, 6 e 7, são conectados aos circuitos dos botões, previamente descritos, sendo interligados aos pinos 5 e 7 os botões de acréscimo e diminuição, e, ao pino 6, o botão de confirmação.

O PIC funciona seguindo comandos de um software previamente desenvolvido em uma linguagem específica, normalmente “C” ou Assembly. O software é responsável por ordenar e comandar as funções que serão controladas pelo PIC. A gravação deste código é feita eletronicamente na memória EEPROM do PIC, que neste caso é de 256 Bytes. A memória EEPROM é um tipo de memória somente leitura, onde seus dados e comandos não são modificados. Por possuir uma arquitetura RISC (*Reduced Instruction Set Computer*) os dados salvos no PIC vão para a sua memória volátil (memória RAM), que, para a série 16F877a, o valor da memória RAM é de 368 Bytes. O controle da memória RAM é realizado pelo código

programado na memória EEPROM, sendo importante destacar que a leitura dos dados salvos na memória RAM não é destrutiva, por isso estes dados podem ficar armazenados desde que o código não prescreva o contrário. Vale ressaltar que este tipo de microcontrolador possui uma memória de programa do tipo FLASH, ou seja, reprogramável, podendo assim o *software* ser modificado e regravado diversas vezes.

Todos os comandos realizados no microcontrolador obedecem a frequência determinada pelo *clock* empregado no circuito, responsável por sincronizar todas as operações dentro deste componente. Essa propriedade também é utilizada para a contagem de tempo no interior do PIC. Este microchip ainda possui oito portas lógicas responsáveis pela comunicação do PIC com o seu usuário, as quais normalmente assumem valores lógicos como 0 ou 1, que correspondem as tensões de 0 V e 5 V respectivamente. Pode-se, pois, associar seu uso a componentes de entrada como botões ou componentes de saída como displays, além de outras portas de saída como a PWM e a Serial, que neste projeto não foram utilizadas.

Uma propriedade inerente ao PIC empregado é que o seu pino 01, quando aterrado, reinicia o software. O pino 10 está ligado a um circuito que quando ativado emite um som característico, sendo utilizado para confirmar que um determinado botão foi pressionado ou alertar o fim do procedimento em execução. Os pinos 33 a 40 são utilizados para comandar o sistema de controle, ativando as microbombas e/ou o agitador, com o auxílio do CI ULN2803 e de um relê. Os pinos 19 a 21 e 27 a 30, são os responsáveis pela comunicação com o LCD, definidos pelo seu *driver*.

2.8.6 Software

Procurou-se desenvolver um *software* visando tornar o equipamento “de uso amigável”, ou seja, que permita que usuários com pouca ou nenhuma experiência no uso de sistemas automáticos desta natureza o utilize sem dificuldades. Para tanto, o programa foi desenvolvido na linguagem de programação C (Vide anexo), cabendo ao usuário apenas definir parâmetros como número de camadas, número de soluções e o tempo de permanência de cada solução no interior da câmara de mistura. Durante todo o procedimento o usuário é informado sobre qual etapa encontra-se em andamento, recebendo estas informações pelo LCD.

No *software* se define parâmetros como a frequência de trabalho das microbombas em 5 pulsos por segundo (um total de 16 pulsos para 800 μ L, volume capaz de preencher a câmara o suficiente para entrar em contato com a superfície do eletrodo). O processo de lavagem é realizado com a inserção de aproximadamente 1,6 mL de água na câmara de mistura, com agitação branda por 5 segundos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Sistema LbL

Uma fotografia do Sistema LbL desenvolvido neste trabalho é apresentada na **Figura 28**. Todos os elementos do equipamento foram acondicionados em um corpo plástico de 18 x 10,5 x 26,5 cm, ficando expostos apenas as entradas e saídas dos fluídos nas microbombas, a câmara de mistura, o display LCD e os botões.



Figura 28. Sistema LbL desenvolvido.

A operação do sistema exige do usuário apenas a definição dos parâmetros: número de camadas, número de soluções e tempos de pré-concentração.

Diferentemente dos equipamentos comerciais disponíveis no mercado, nos quais o substrato sólido é inserido consecutivamente em diferentes soluções, no

sistema proposto o substrato sólido permanece imóvel dentro câmara de mistura onde as soluções são inseridas e removidas consecutivamente. Todo o processo é precisamente controlado via *software* e dispensa a presença do usuário durante a operação, exigindo apenas a predefinição dos parâmetros. As soluções entram em contato com o eletrodo presente no interior da câmara de mistura e lá permanecem pelo tempo predefinido; é realizada a lavagem do eletrodo e da câmara com a inserção de água destilada sob agitação branda e o processo é repetido para cada solução predefinida pelo usuário.

3.1.1 Aplicação do Sistema LbL para modificação de GCE com sucessivas camadas de PEI e POM (GCE/PEI/POM)

Buscando avaliar e otimizar o desempenho do Sistema LbL foi realizada a modificação de um GCE utilizando PEI e POM, seguindo procedimento previamente descrito na literatura (FERNANDES, *et al.*, 2011).

3.1.1.1 Estudo voltamétrico do GCE/PEI/POM

Os estudos voltamétricos ilustram bem o processo de modificação do eletrodo pela obtenção de multicamadas automontadas de polioxometalatos. Podemos observar nos voltamogramas, **Figura 29**, o sinal característico dos polioxometalatos aumentando ao longo da formação das multicamadas, indicando que há formação de bicamadas sucessivas de PEI/POM.

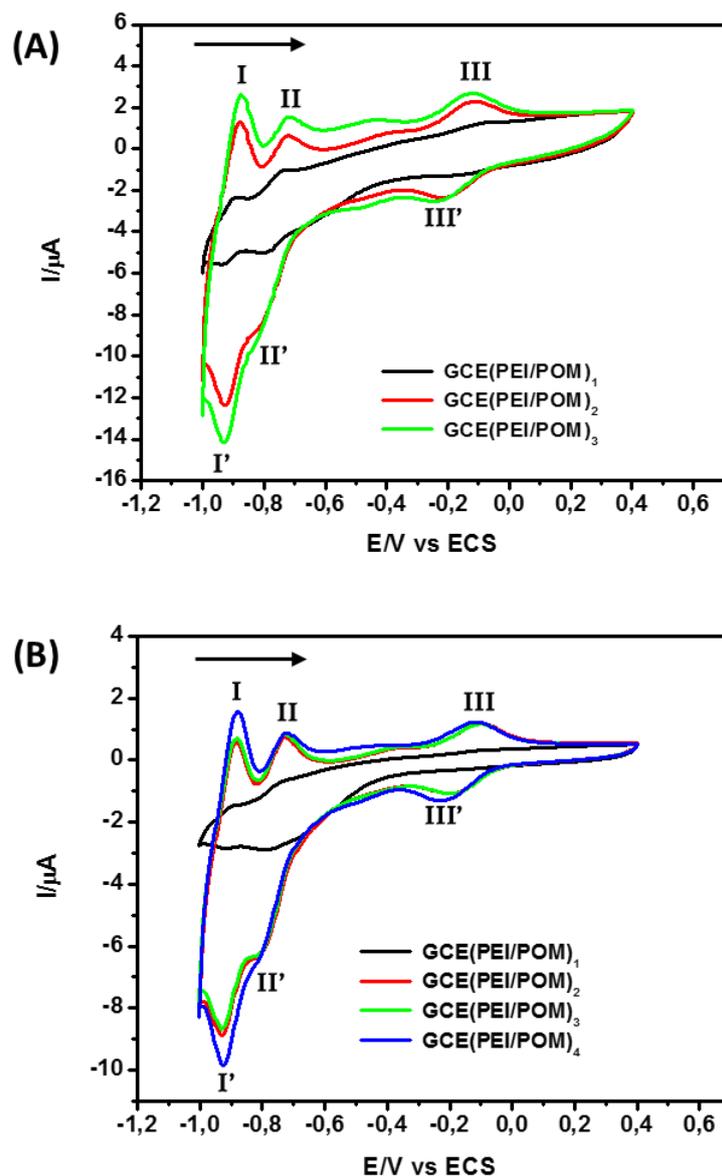


Figura 29. Voltamogramas cíclicos em tampão acetato pH 4,0, para diferentes eletrodos de carbono vítreo, contendo (A) 1-3 e (B) 1-4 bicamadas de PEI ($0,12 \text{ mol L}^{-1}$) e POM (1 mMol L^{-1}); em 50 mV s^{-1} .

Como pode ser previsto se analisando as fórmulas químicas dos polioxometalatos, $\text{K}_5[\text{SiW}_{11}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{O}_{39}] \cdot 13\text{H}_2\text{O}$ e $\text{K}_5[\text{PW}_{11}\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})\text{O}_{39}] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, os voltamogramas cíclicos apresentam três picos catódicos e três anódicos. Em potenciais mais negativos, -838 mV e -680 mV , pode-se observar os picos do processo quase reversível característico do tungstênio (picos I, II e I', II') já em potenciais mais próximos de zero pode-se observar claramente os picos do processo redox reversível

Fe(III)/Fe(II), picos III e III'. Os experimentos acima foram realizados com multicamadas obtidas manualmente.

Nos experimentos seguintes, **Figura 30**, foram obtidas 3 bicamadas consecutivas utilizando três diferentes procedimentos de adsorção. No primeiro, 3 bicamadas de PEI (5 mg mL^{-1}) e POM (1 mmol L^{-1}) foram adsorvidas pela mudança de meio manualmente. Já no segundo procedimento as bicamadas também foram adsorvidas pela mudança do substrato manualmente, mas uma secagem com nitrogênio entre cada bicamada de PEI/POM foi realizada. No último procedimento o filme foi confeccionado automaticamente pelo uso do Sistema LbL, **Figura 3030**.

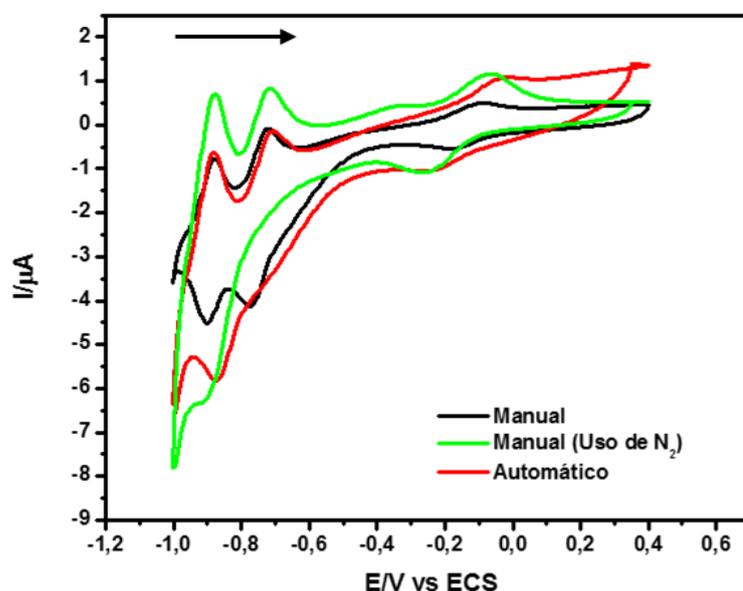


Figura 30. Voltamogramas cíclicos, em tampão acetato pH 4,0, para GCE modificados com 3 bicamadas de PEI ($0,12 \text{ mol L}^{-1}$) e POM (1 mmol L^{-1}) obtidas pela mudança de substrato manualmente (com e sem secagem entre camadas), e automaticamente pelo uso do Sistema LbL.

Pode-se observar que as multicamadas automontadas obtidas pelo sistema LbL apresentam um sinal voltamétrico maior que as obtidas pela modificação manual das soluções, e contraponto, apresentam um sinal voltamétrico inferior quando comparado ao processo manual que incluía uma etapa de secagem entre cada bicamada. Observa-se que a etapa de secagem com N_2 resulta um notório aumento do sinal voltamétrico, que merece uma posterior investigação. Ainda nos estudos voltamétricos pode-se observar, **Figura 3131**, que com a variação da velocidade de varredura em uma faixa de 10 a 100 mV s^{-1} em eletrodo obtido com uso do Sistema

LbL, há uma dependência linear das correntes de pico catódicas e da velocidade de varredura, demonstrando assim que o processo de transferência de massa é controlado por adsorção.

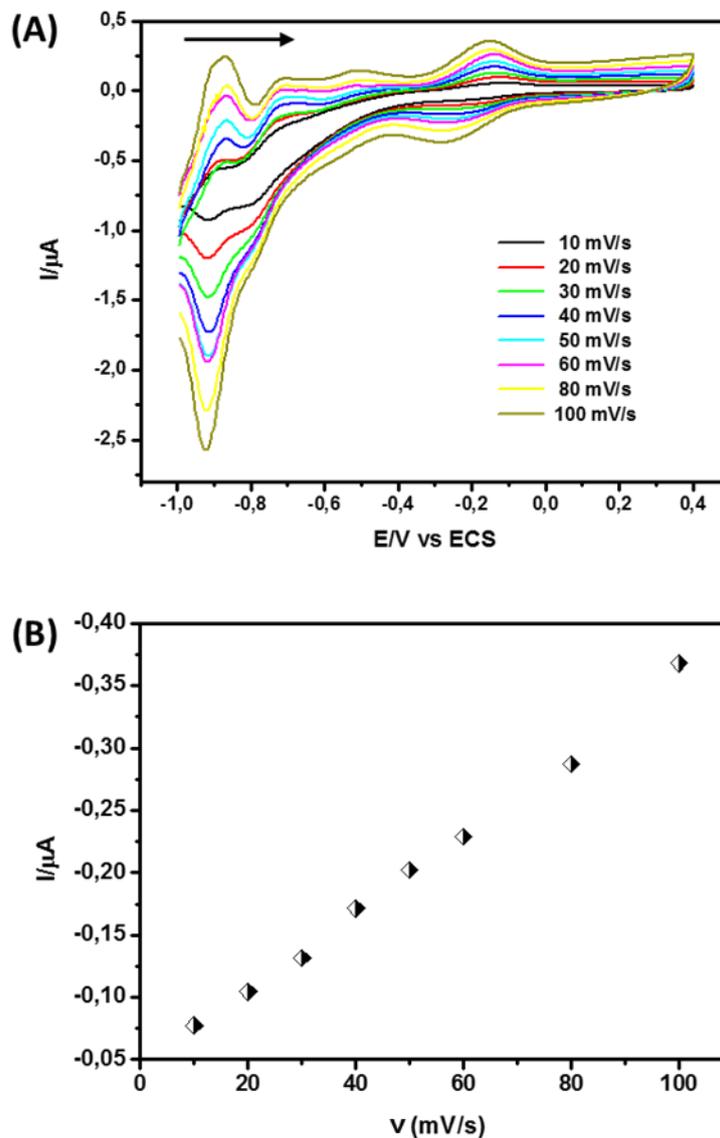


Figura 31. (a) Voltamogramas cíclicos nas velocidades de varredura 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80 e 100 mV/s em tampão acetato pH 4,0. **(b)** Curva relacionando a corrente de pico catódica e a velocidade de varredura.

Os resultados corroboram a afirmação de que o POM está sendo adsorvido a cada nova camada formada. Em complemento aos estudos voltamétricos foram realizados estudos de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS), para investigar as propriedades elétricas das camadas obtidas.

3.1.1.2 Estudo de espectroscopia de impedância eletroquímica

Pressupõe-se que as propriedades elétricas, tais como resistência e capacitância, devem variar ao longo da formação das camadas. Foram então realizados estudos de espectroscopia de impedância eletroquímica ao término da formação das bicamadas automontadas, **Figura 32**, buscando-se avaliar a estrutura e espessura das camadas automontadas e propriedades interfaciais, para eletrodos modificados com 1 e com 6 bicamadas de PEI e POM. Os experimentos foram realizados na presença de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 3 mmol L^{-1} como sonda redox, tendo como eletrólito de suporte KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e aplicando um potencial de 250 mV vs. ECS .

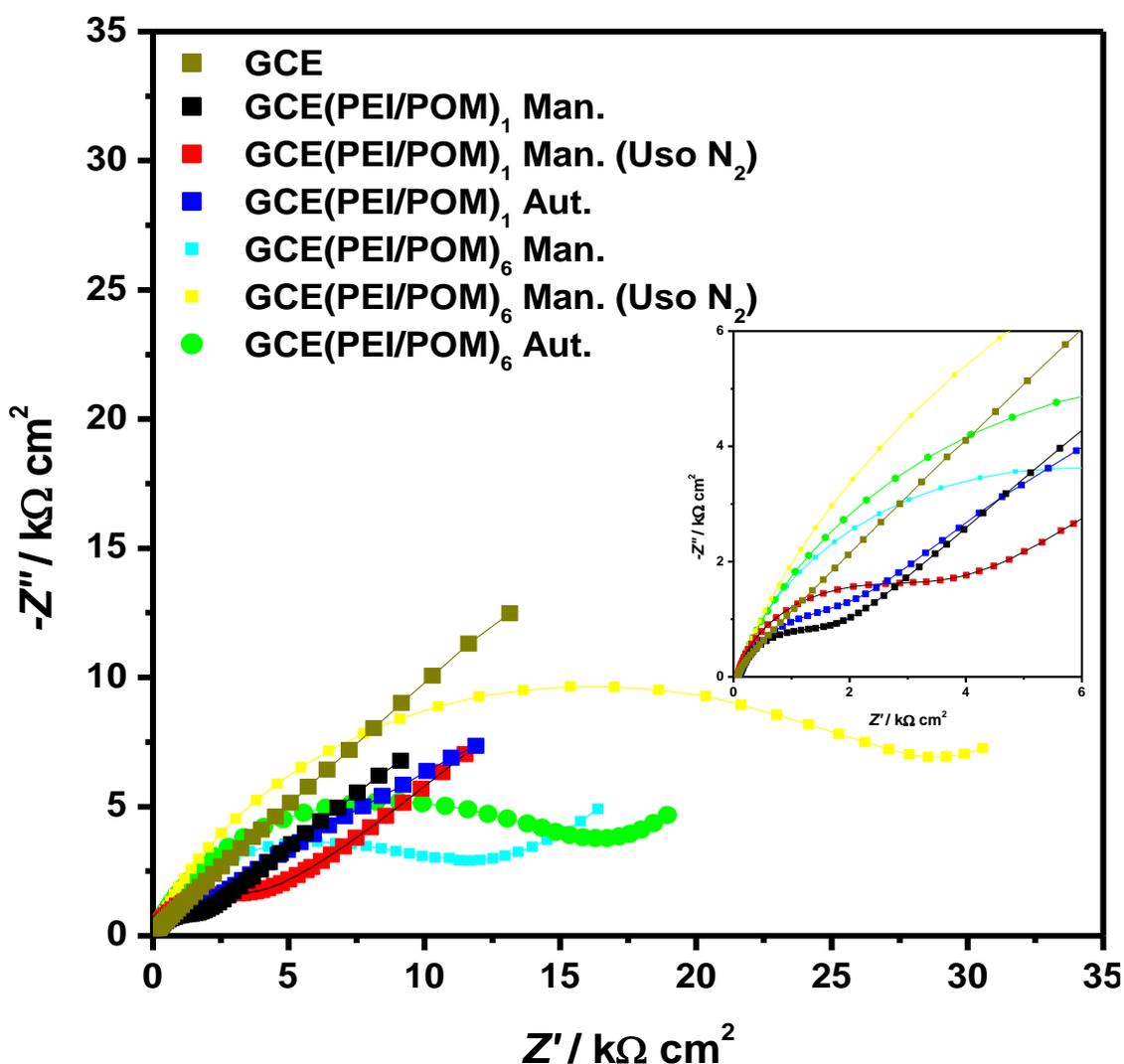


Figura 32. Espectro de impedância no plano complexo a 250 mV para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 3 mmol L^{-1} em $1,0 \text{ M}$ de KCl , para 1 e 6 bicamadas automontadas de PEI/POM adsorvidas sobre o GCE.

A **Figura 3232** permite comparar os espectros de impedância no plano complexo do eletrodo de carbono vítreo modificado com as multicamadas obtidas a partir de três procedimentos distintos, manualmente, com e sem o uso do gás nitrogênio para secagem, e automaticamente. Para todas as superfícies investigada foi obtida a típica forma de um espectro de impedância faradaico para uma espécie redox e uma excelente modelagem destes espectros foi feita utilizando o circuito elétrico de Randles, **Figura 3333** (FERNANDES, *et al.*; 2011). O circuito de Randles é composto pela resistência da célula, R_{Ω} , em série com uma combinação em paralelo composto do elemento de fase constante, CPE, e uma resistência de transferência de carga, R_{ct} , em conjunto com o elemento de impedância de Warburg, Z_w , representando a difusão.

Puderam-se observar mudanças significativas nos espectros, tanto no que diz respeito ao aumento do número de camadas, como em relação aos procedimentos de obtenção das camadas utilizado. O semicírculo aumentou consideravelmente com o número de bicamadas PEI/POM, o que pode ser atribuído ao aumento da espessura do filme, atrelado à alteração da resistência a transferência de carga. Foi também detectado que o procedimento utilizado para a modificação da superfície do eletrodo influenciou consideravelmente os resultados de impedância, indicando que o procedimento que utiliza a secagem com o gás nitrogênio, apresenta uma resistência maior de transferência de carga que os demais, indicando que o filme assim obtido apresenta uma espessura superior ao obtido automaticamente e ao obtido manualmente sem a etapa de secagem. Atestando assim a eficiência do sistema para desempenhar tal tarefa.

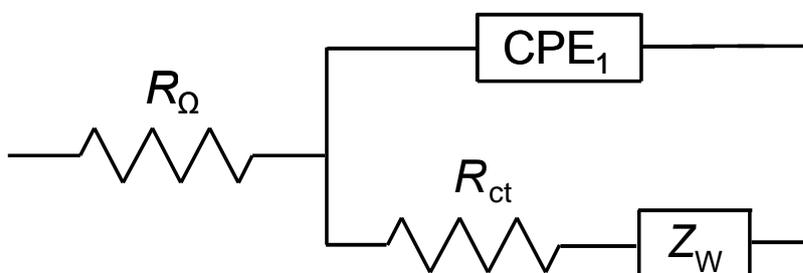


Figura 33. Circuito elétrico equivalente utilizado.

Buscando obter uma relação entre o número de camadas e a transferência de cargas foi realizado um estudo mais minucioso, no qual se analisa os valores das resistências de transferência de carga após a formação de 1 a 6 bicamadas (PEI/POM), exposto na **Figura 34**. O elemento de maior interesse é o R_{ct} , pois está relacionado diretamente com o aumento do número de bicamadas existentes e a espessura das mesmas.

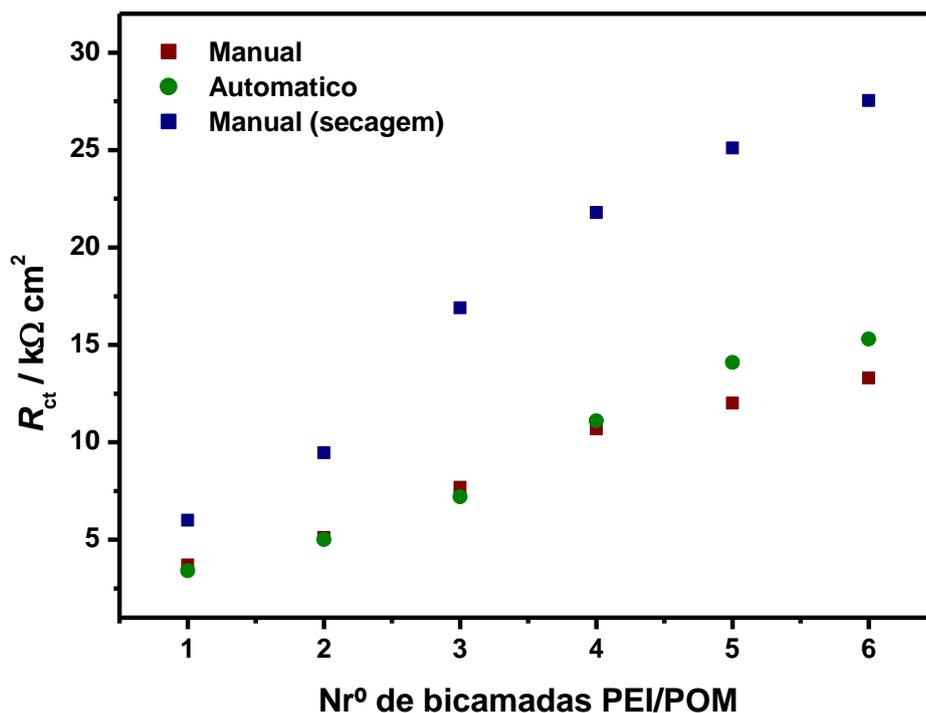


Figura 34. Gráfico do R_{ct} vs número de bicamadas (PEI/POM) em $3 \text{ mmol L}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$

Pode-se observar que possuindo apenas uma camada o R_{ct} é praticamente o mesmo para a camada obtida pelo uso do equipamento ou manualmente, observou-se também um acréscimo deste valor quando fazemos uso da etapa de secagem. O fenômeno se repete ao longo da formação das camadas, mesmo íon hexacianoferrato(II) em solução sendo capaz de se movimentar entre as camadas e realizar a transferência de carga na superfície do eletrodo. Há um aumento da R_{ct} de acordo com o aumento do número de camadas e conseqüentemente da espessura do filme, havendo uma diminuição da porosidade do filme. Vale salientar que esse modelo não apresenta uma relação linear do valor de R_{ct} em relação ao aumento do número de bicamadas. Pode ser observada a tendência do menor aumento da R_{ct}

após 4 bicamadas. Pode-se observar que para o filme obtido com o uso do Sistema LbL temos uma linearidade entre os valores de R_{ct} e o número de camadas superior ao observado com a obtenção do eletrodo manualmente sem a etapa de secagem e com a etapa de secagem, corroborando assim para a eficiência do processo de obtenção dos filmes automaticamente, sua reprodutibilidade a cada nova camada, em relação a sua obtenção manual.

3.2 Eletrodo de Ouro Modificado com Ferricianeto Aprisionado em Rede de Sílica (AuSiFc)

3.2.1 Modificação da superfície do eletrodo de ouro

Um estudo minucioso dos fatores que afetam cada etapa do processo, **Figura 35**, de modificação do eletrodo foi realizado buscando otimizar o processo de preparação do sensor.



Figura 35. Esquema representando o estudo sistemático realizado durante a formação do eletrodo AuSiFc.

3.2.1.1 Tempo de formação da monocamada

Para a otimização do processo de formação da monocamada automontada com MPTMS sobre o substrato de ouro, foi realizado um estudo do tempo de imersão, a fim de se obter uma monocamada suficientemente estruturada para ancorar a rede de sílica. Ressalte-se que o papel da SAM é se comportar como uma “cola molecular” para unir firmemente o filme de sílica à superfície do eletrodo. Como citado no item 1.1.2, na literatura há estudos indicando que a monocamada inicial se forma em alguns segundos, ou no máximo poucos minutos, porém, se apresenta de forma desordenada e contendo defeitos estruturais (JASTY, BOECKL, GRAHAM; 2006). Tal fenômeno pode explicar o resultado ilustrado na **Figura 36**, onde o tempo de 10 minutos não se mostra efetivo quando comparado aos tempos superiores a 30 minutos, nos quais o sinal voltamétrico do par redox do ferricianeto se mostra estável. Portanto, se definiu que o tempo de imersão do eletrodo necessário para a formação da monocamada seria 30 min.

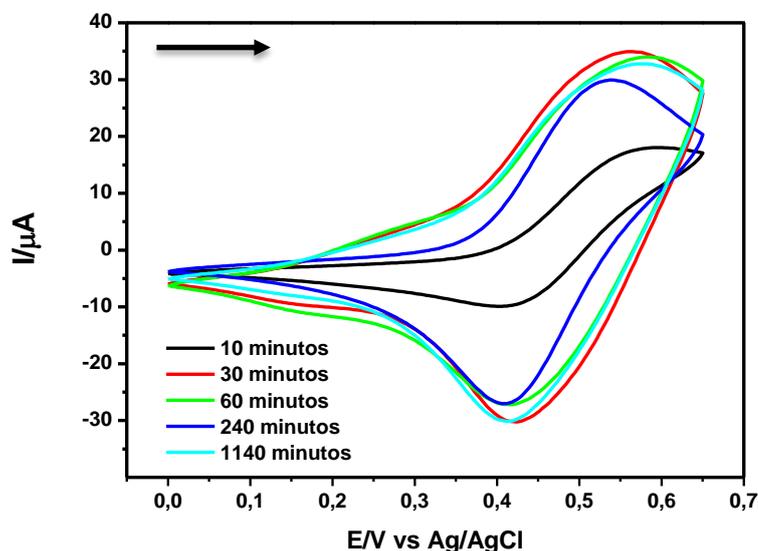


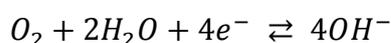
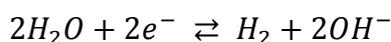
Figura 36. Voltamogramas Cíclicos com o eletrodo modificado com diferentes tempos de imersão na S-SAM.

3.2.1.2 Fatores que afetam a etapa de eletrodeposição da sílica

A implantação de grupos silanóis na superfície do eletrodo de ouro, através da formação da SAM é essencial para a eletrodeposição do filme de sílica via processo sol-gel eletroquímico, que também é fortemente influenciada pelo potencial de polarização do eletrodo, o tempo de eletrodeposição e o pH do meio, além da composição da solução precursora do processo sol-gel.

3.2.1.3 Potencial de eletrodeposição e pH

A polarização catódica visa promover a redução de íons H^+ e/ou moléculas de oxigênio, seguindo as reações abaixo descritas, a fim de causar uma elevação do pH justamente na superfície do eletrodo para catalisar a formação da sílica via processo sol-gel.



Estudos sistemáticos revelaram resultados concordantes com a literatura, que aponta potenciais da ordem de -1,1 V vs. $Ag/AgCl_{(sat.)}$ em solução de pH 3 como excelente condição de compromisso para o crescimento da rede de sílica em meio quiescente (WALCARIUS, SIBOTTIER; 2005). Em suma, é fundamental que a solução contendo os precursores da rede de sílica se encontre em pH ácido, normalmente pH 3, para que ocorra a hidrólise dos silanóis e em seguida a condensação ocorra em pH alcalino, obtido pela redução de íons H^+ e/ou moléculas de oxigênio em potenciais catódicos.

3.2.1.4 Tempo de eletrodeposição

Na

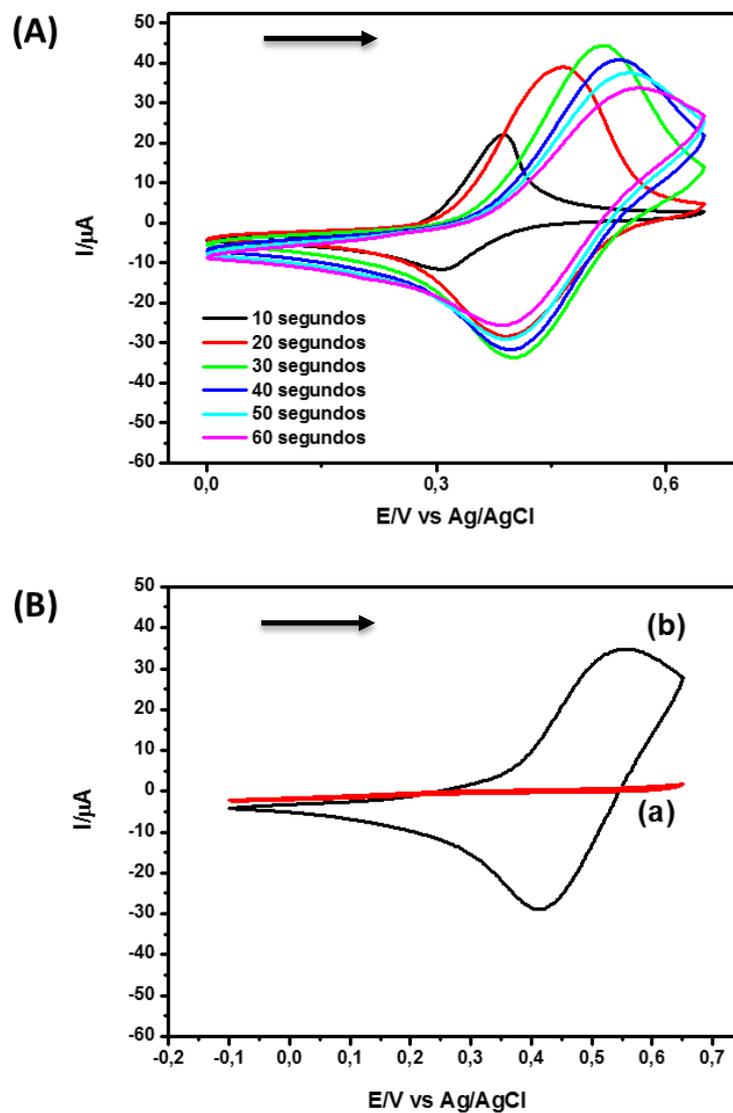


Figura 37(A) são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos durante o

crescimento da rede de sílica com o potencial de $-1,1$ V sendo aplicado por 60 segundos, intercalando a cada 10 s um voltamograma cíclico.

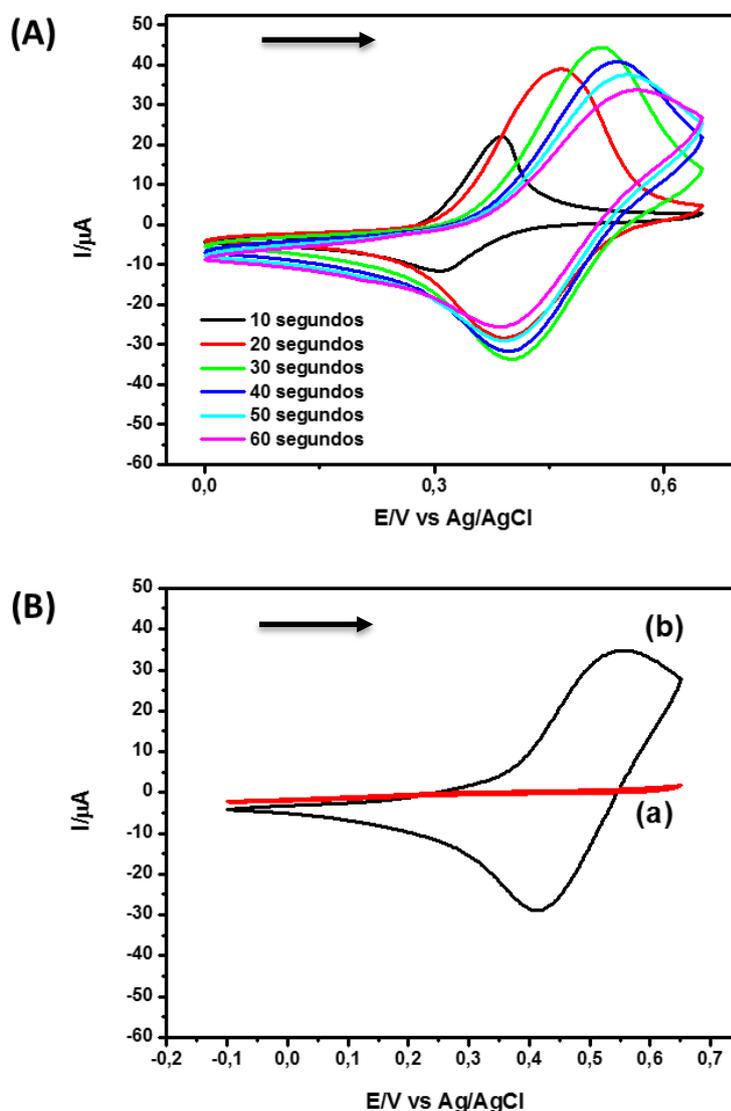


Figura 37. Voltamogramas cíclicos (A) obtidos durante o crescimento do filme de sílica na presença do ferricianeto. (B) VC com o eletrodo (a) antes e (b) após o processo de modificação no eletrólito suporte HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Observa-se a resposta voltamétrica reversível característica do mediador em todas as etapas. Uma mudança de meio para uma solução contendo apenas o eletrólito suporte indica que o mediador se encontra aprisionado na rede de sílica, uma vez que os picos redox característicos do par Fe(II)/Fe(III) permanecem nos

voltamogramas após a mudança de meio

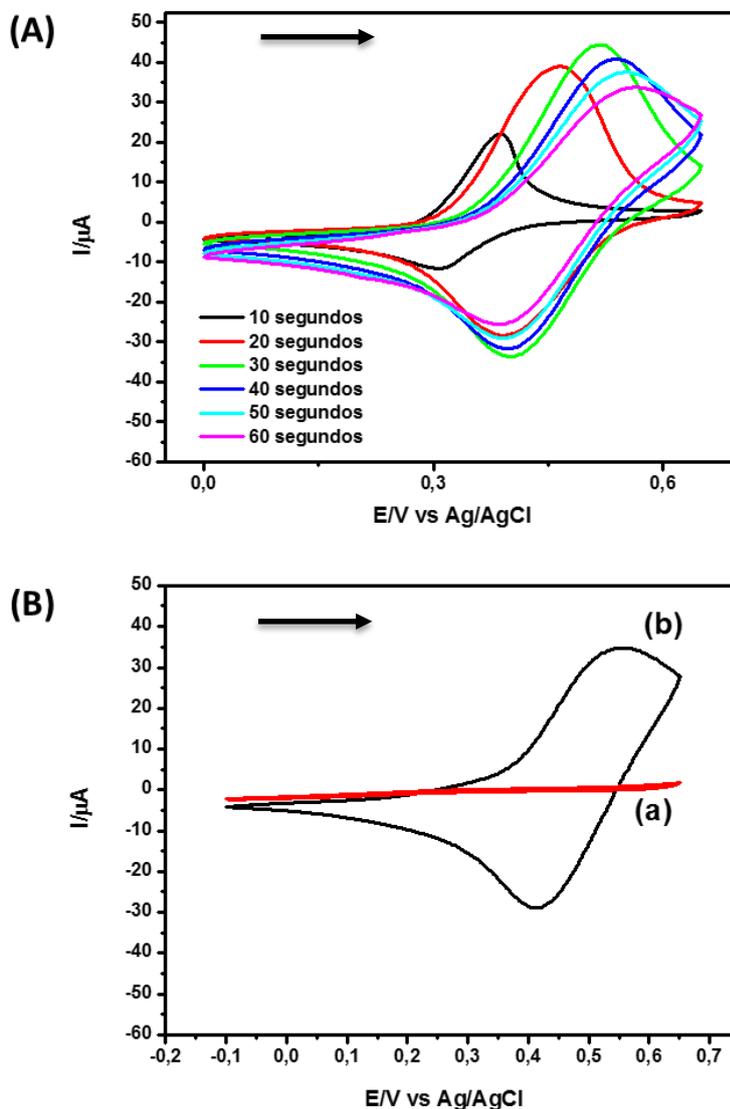


Figura 3737(B).

Uma vez confirmada a capacidade de imobilização do mediador pela rede de sílica, comparou-se a eficiência da eletrodeposição em uma única etapa de 60 segundos ou em 12 etapas consecutivas de 5 segundos, intercalando-se a obtenção de um voltamograma cíclico entre os intervalos. A deposição em uma única etapa mostrou-se mais eficiente como exposto na **Figura 3838**.

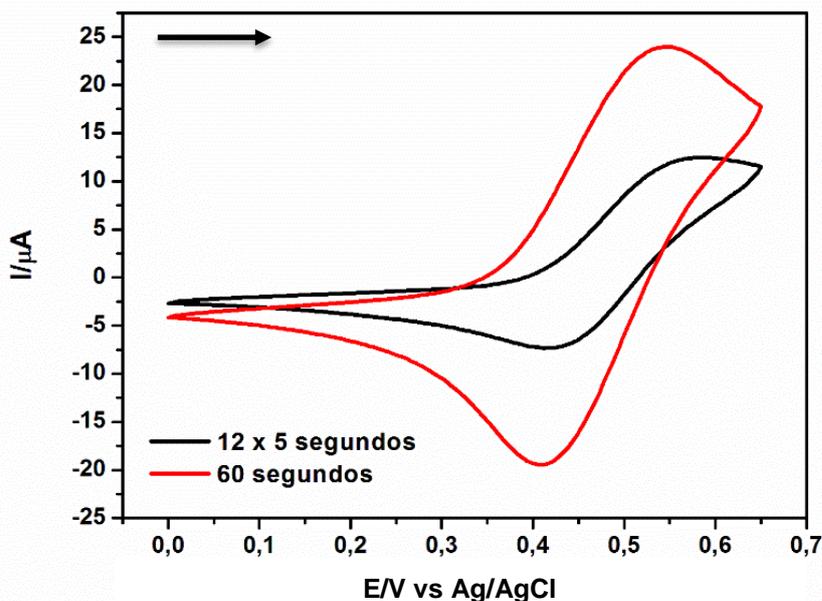


Figura 38. Voltamogramas cíclicos no eletrólito suporte HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, do eletrodo modificado pela eletrodeposição da sílica por 60 segundos contínuos ou por 12 passos consecutivos de 5 segundos, intercalados pela obtenção de um voltamograma cíclico.

Por ser uma etapa crucial no processo, efetuou-se um estudo sistemático do tempo de aplicação do potencial catódico de $-1,1 \text{ V}$, responsável pela elevação do pH na superfície do eletrodo. Como pode ser observado pelos resultados apresentados na **Figura 3939**, tem-se um sinal voltamétrico crescente até 30 segundos, seguido de uma diminuição em tempos maiores, o que pode ser explicado pela baixa condutividade elétrica da sílica e pela diminuição da porosidade do filme resultante do seu espessamento, em concordância com o observado em estudo encontrado na literatura (WALCARIUS, SIBOTTIER; 2005). Assim, optou-se por uma eletrodeposição realizada com a aplicação do potencial de -1.1 V por 30 segundos.

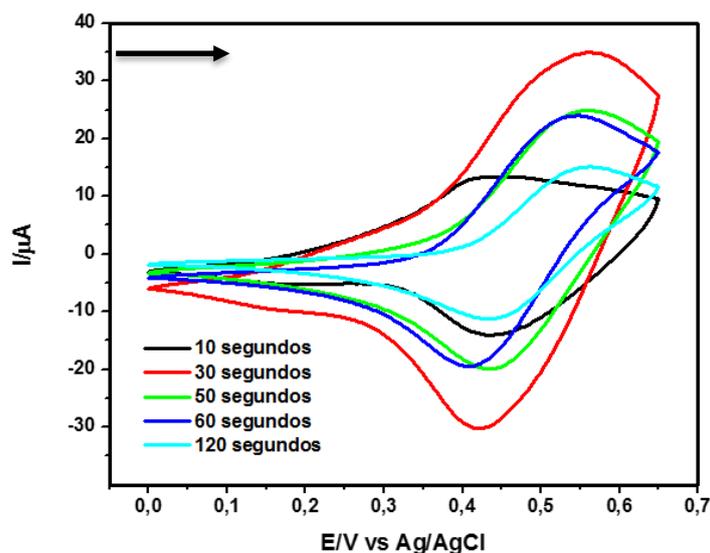


Figura 39. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado com diferentes tempos de eletrodeposição.

3.2.1.5 Solução precursora do processo sol-gel

A solução S-SOL, precursora do processo sol-gel, requer um tratamento prévio para hidrolisar os monômeros de TAPTS e TEOS. A hidrólise pode ser acelerada por tratamento do sistema com ultrassom. Para tanto, avaliou-se qualitativamente que o tempo mínimo de tratamento ultrassom necessário, ficando estabelecido um tratamento de 60 minutos em ultrassom a uma temperatura de 40°C. Tempos inferiores se mostraram ineficientes e tempos superiores repetiram os resultados de 60 minutos. Outro fator relevante é o tempo de vida útil da S-SOL. Após 24 horas se detecta visualmente a condensação dos precursores na superfície do recipiente que o contém, tornando a solução ineficaz para o processo desejado, sendo fundamental sempre preparar a solução poucas horas antes da sua utilização.

3.2.1.6 Aprisionamento do ferricianeto na rede de sílica

A eficiência do aprisionamento do mediador de elétrons é de fundamental importância para a estabilidade do sensor, especialmente para sua utilização como detector em sistemas em fluxo. Verificou-se que o ferricianeto pode ser aprisionado na rede de sílica de duas maneiras: pode-se adicioná-lo à solução S-SOL, causando seu aprisionamento durante a formação da rede de sílica, ou depositar a sílica sobre o eletrodo na ausência do mediador para, em seguida, imergir o eletrodo numa solução de ferricianeto dissolvido em HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Nos dois casos o ferricianeto se encontrava no sistema em uma concentração de 10 mmol L^{-1} . Esse último procedimento mostrou-se muito mais eficaz, conforme apresentado na **Figura 40**. Tal eficiência deve estar associada a uma deposição mais uniforme da rede de sílica na ausência de íons ferricianeto. O processo de absorção de íons ferricianeto é reversível e dependente do pH. Em meio fortemente ácido, no qual a sílica deve estar fortemente protonada, verifica-se uma intensa atração eletrostática da rede de sílica por íons ferricianeto, que são aprisionados e mantidos firmemente no filme.

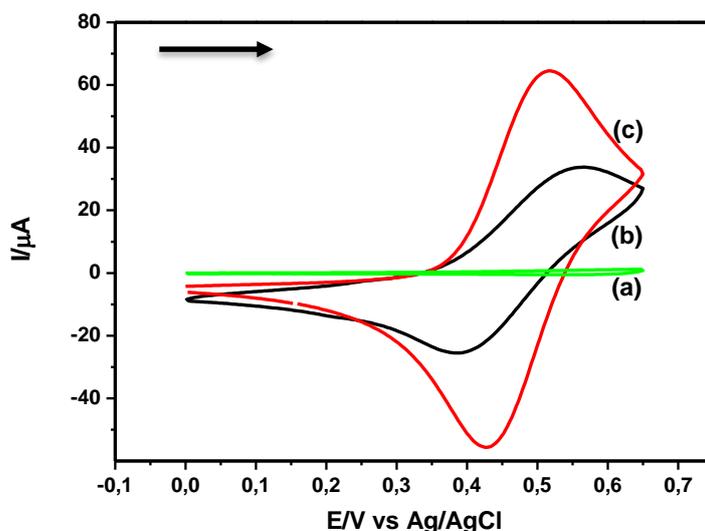


Figura 40. Voltamogramas Cíclicos com (a) eletrodo nu, (b) modificado com o aprisionamento do mediador durante a eletrodeposição e (c) com o aprisionamento após a deposição.

Um ensaio comparativo da eficiência da etapa de aprisionamento de íons ferricianeto em diferentes meios reacionais, demonstrou a maior eficácia da utilização de um pH fortemente ácido, em solução de HNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, não havendo nenhum ganho com a presença de etanol, **Figura 4141**.

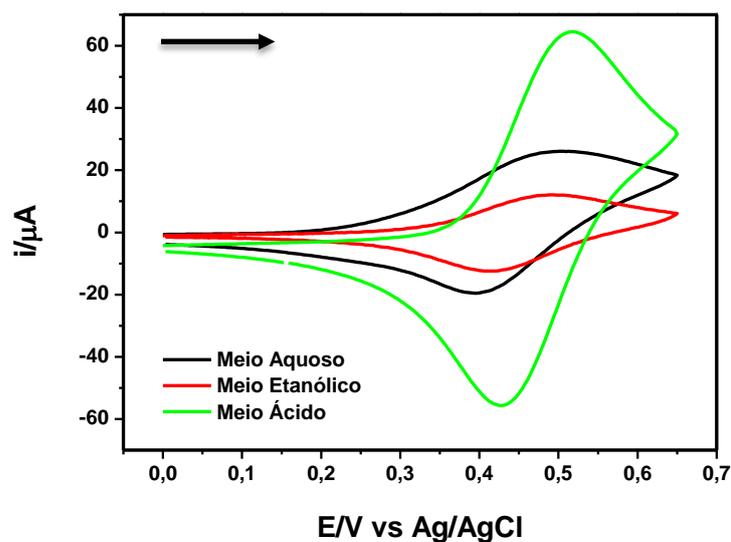


Figura 41. Voltamogramas cíclicos do eletrodo modificado, com a etapa de absorção em soluções de ferricianeto 10 mmol L^{-1} em diferentes soluções, na presença do eletrólito de suporte.

Uma vez definido que a etapa de aprisionamento do ferricianeto seria realizada após a formação da rede de sílica e em meio ácido, investigou-se a influência do tempo no processo. Como pode ser visto na **Figura 4242**, a etapa de aprisionamento foi estudada em diferentes intervalos de tempo, de 1 a 20 horas, se observando que o tempo ideal seria de 4 horas. Em tempos superiores a 4 horas observa-se uma diminuição do sinal característico do par redox do mediador, ocasionado, provavelmente, pela degradação da rede de sílica.

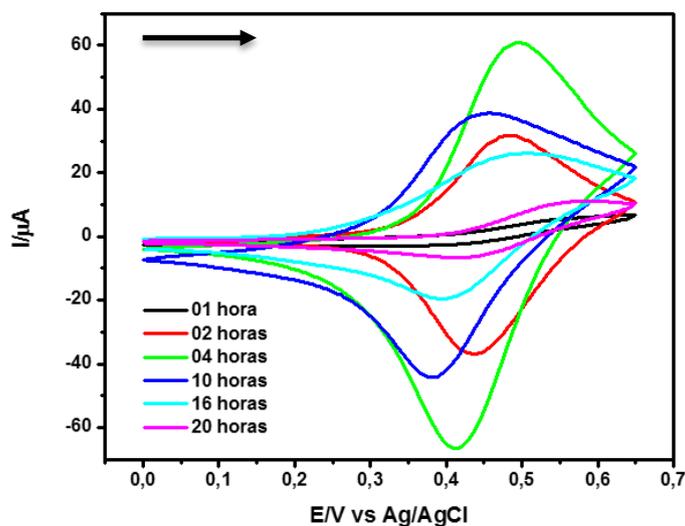


Figura 42. Voltamogramas cíclicos para o eletrodo modificado, com diferentes tempos de absorção, na presença do eletrólito suporte KNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

3.2.2 Estudo da estabilidade do eletrodo AuSiFc em diferentes pHs

A estabilidade do eletrodo modificado varia drasticamente com a mudança do pH. O sinal característico do par redox $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ é gradativamente suprimido em pHs superiores a 3, **Figura 43**. Relata-se que a sílica formada na superfície do eletrodo permanece estável em pH inferior a 9 (WALCARIUS, ETIENNE, DELACOTE, 2004). No entanto, soluções alcalinas ou fracamente ácidas podem precipitar o ferro presente na rede de sílica com formação do hidróxido de ferro, uma base pouco solúvel. Optou-se, pois, por empregar pH 1,3 (HNO_3 , $0,1 \text{ mol L}^{-1}$), que como pode ser observado na **Figura 43** apresenta um sinal voltamétrico superior aos demais pHs estudados.

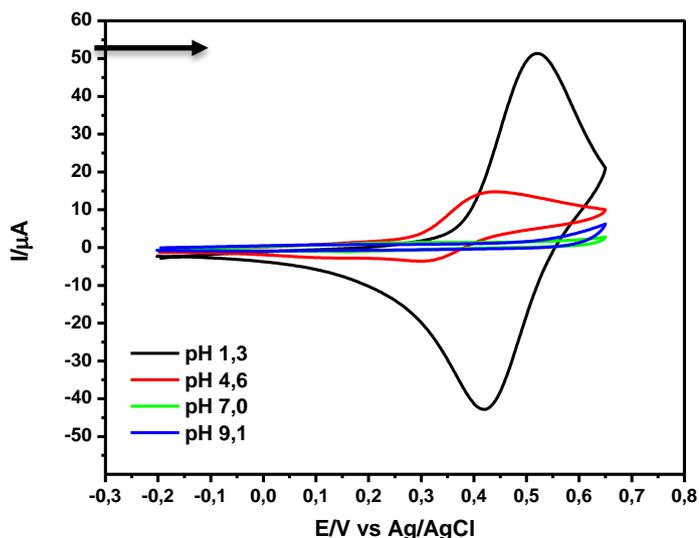


Figura 43. Voltamogramas cíclicos do sensor proposto em diferentes pHs.

3.2.3 Comportamento voltamétrico do sensor AuSiFc

Uma vez otimizados todos os parâmetros necessários para o eficiente aprisionamento do mediador ferricianeto na rede de sílica: 30 minutos na S-SAM, eletrodeposição com aplicação de -1,1 V por 30 segundos ininterruptos e absorção do ferricianeto na rede de sílica pela imersão do eletrodo em solução 10 mmol L⁻¹ de ferricianeto em HNO₃ 0,1 mol L⁻¹ por 4 horas; foram realizados estudos do comportamento voltamétrico do sensor desenvolvido.

O comportamento eletroquímico foi investigado por voltametria cíclica em uma solução de ácido nítrico 0,1 mol L⁻¹, com varreduras de 100 mV s⁻¹. Na **Figura 4444** tem-se a resposta voltamétrica do eletrodo antes (a) e após (b) sua modificação. Observa-se o processo eletroquímico reversível característico do par redox Fe(III)/Fe(II), atestando o sucesso de sua imobilização.

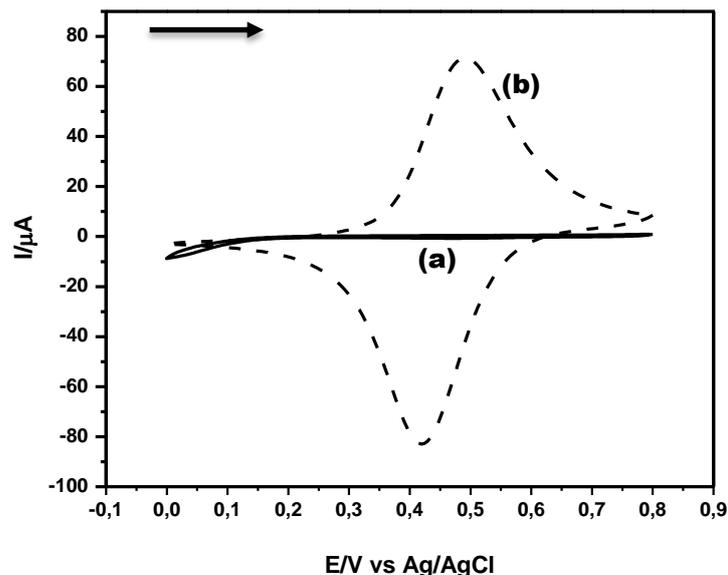


Figura 44. Voltamogramas cíclicos obtidos após a formação do filme de sílica **(a)** na ausência do ferricianeto, **(b)** após a imersão do eletrodo na solução do ferricianeto sob agitação magnética.

Como pode ser observado na **Figura 4545**, há uma dependência linear entre a corrente de pico anódica e o quadrado da velocidade de varredura ($r = 0,9985$). Assim, considerando a equação de Randles-Sevcik para sistemas reversíveis, foi determinado que o processo de transferência de massa é controlado predominantemente via difusão (BRETT, BRETT; 1996), permitindo concluir que o ferricianeto não se encontra adsorvido na rede de sílica, mas sim aprisionado, estando livre em relação ao eletrodo e a rede de sílica.

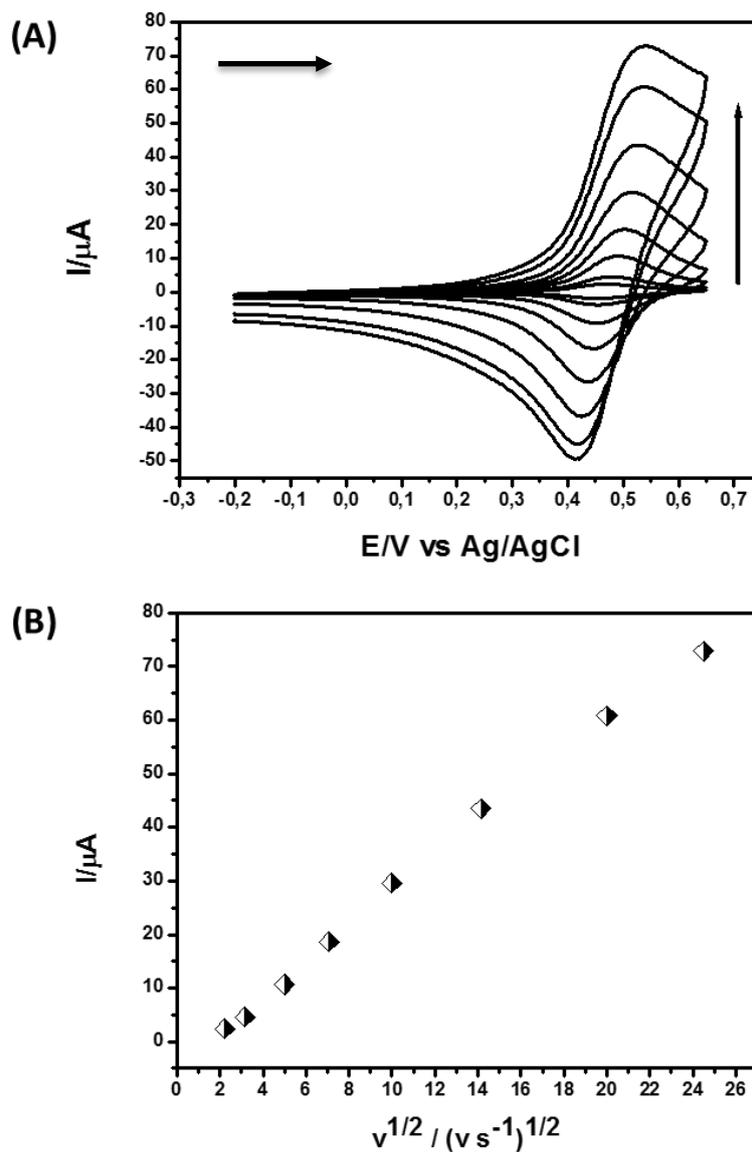


Figura 45. (A) Voltamogramas cíclicos nas velocidades de varredura 5, 10, 25, 50, 100, 200, 400 e 600 mV s^{-1} na presença de HNO_3 0,1 mol L^{-1} . (B) Curva relacionando a corrente de pico e a raiz quadrada da velocidade de varredura.

3.2.4 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada com a finalidade de observar a morfologia ao longo do processo de formação das camadas na superfície do eletrodo. A **Figura 46** apresenta as imagens de MEV com um aumento

de 5000 vezes, a exceção da **Figura 46(b)**, ampliada 2400 vezes. Na **Figura 46(a)**, temos o eletrodo antes do processo de modificação, onde se pode observar um aspecto uniforme e liso, característico do eletrodo após o processo de polimento e limpeza. Na **Figura 46(b)** ilustra-se a imagem de MEV obtida após a formação da rede de sílica, observa-se um material de aspecto granular e poroso, semelhante ao obtido em trabalhos anteriores utilizando a obtenção de sílica via sol-gel eletroquímico (WALCARIUS, SIBOTTIER; 2005). Na **Figura 46(c)** e **Figura 46(d)** tem-se as imagens da microscopia após a etapa de aprisionamento do ferricaneto. Percebe-se que parte dos poros observados anteriormente se apresentam fechados ou foram degradados ao longo da etapa de aprisionamento.

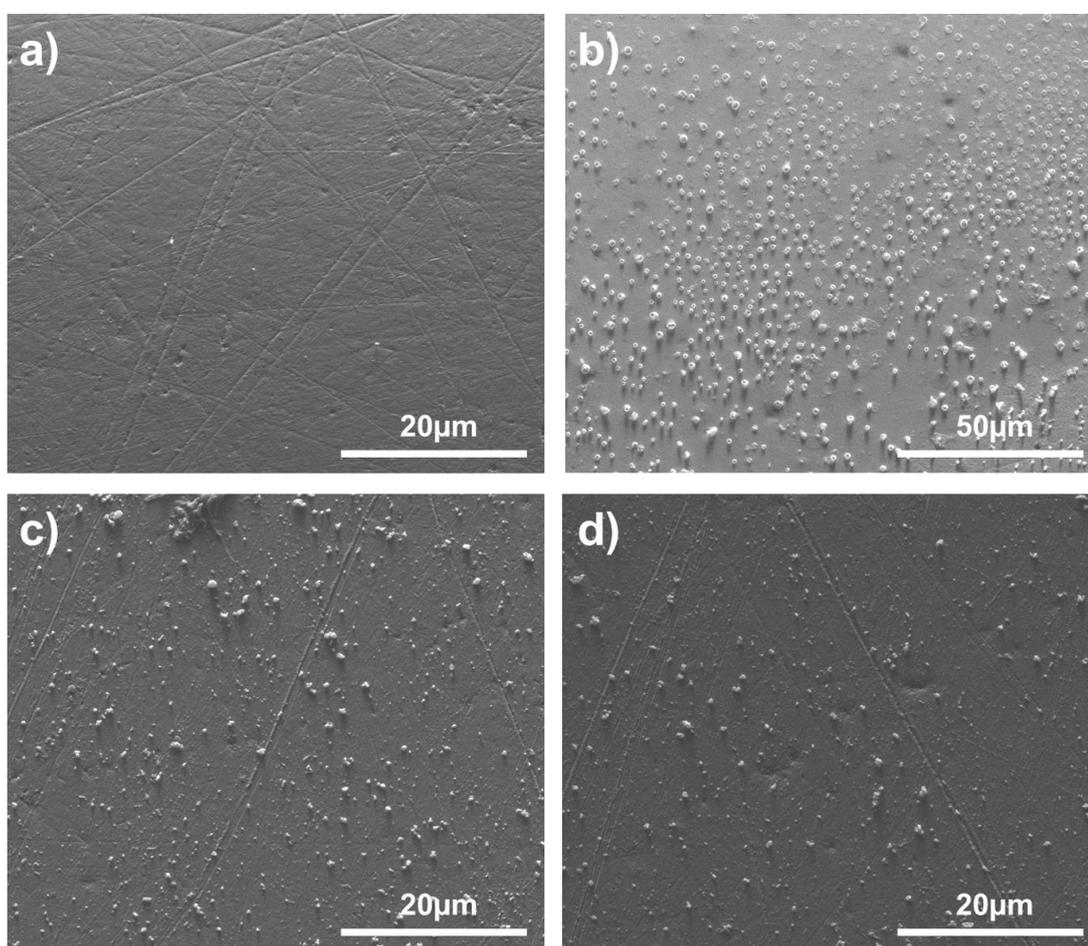


Figura 46. Imagens obtidas pela microscopia eletrônica de varredura com o eletrodo limpo **(a)**, após a formação da rede de sílica **(b)** e após a etapa de aprisionamento **(c)** e **(d)**. Imagens obtidas com aumento de 5000 vezes, a exceção de **(b)** que possui aumento de 2400 vezes.

3.2.5 Comportamento voltamétrico do AuSiFc na presença de íons nitrito

Como enfatizado em discussão anterior, o nitrito não é eletroativo na janela de potencial do eletrodo de ouro, o que pode ser observado na **Figura 4747 (A)**. Por outro lado, para o eletrodo modificado AuSiFc foi detectado uma mudança significativa na intensidade de corrente do par redox ferri/ferro a partir da adição de íons nitrito, **Figura 4747 (B)**.

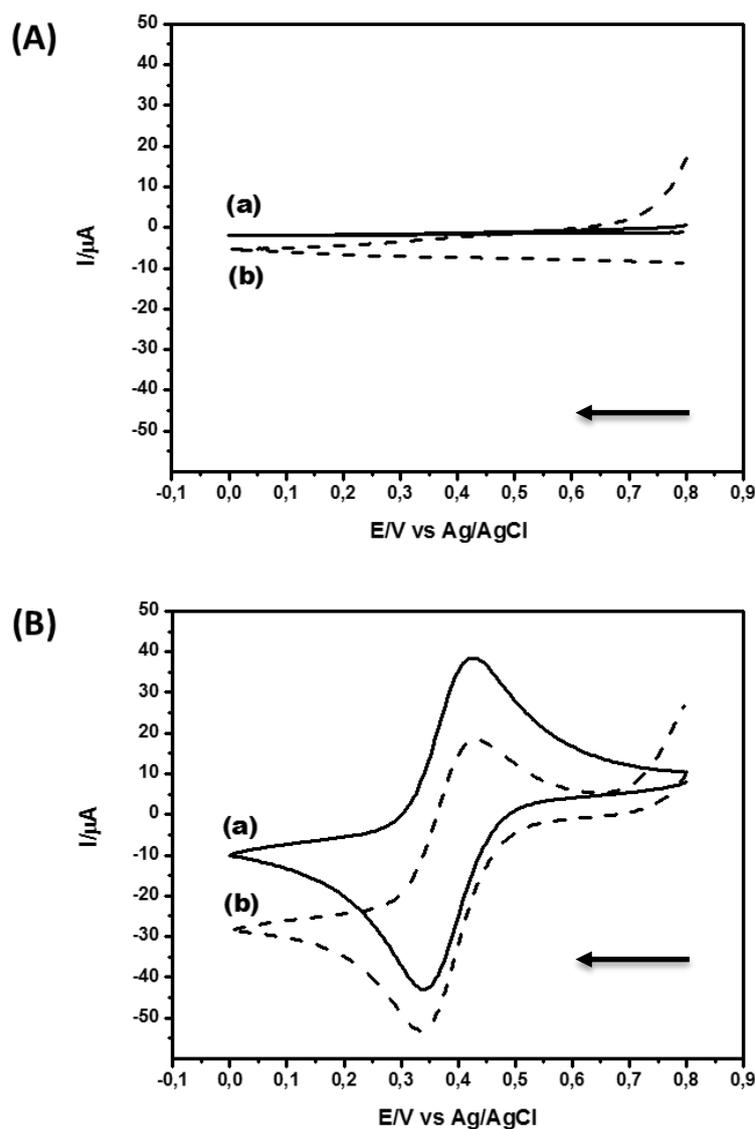
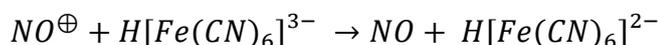
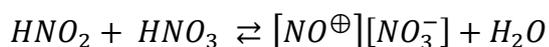
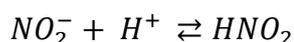


Figura 47. Voltamogramas cíclicos com **(A)** eletrodo de ouro, **(a)** na ausência e **(b)** na presença de 10^{-2} mol L $^{-1}$ de NaNO $_2$. Em **(B)** o eletrodo modificado **(a)** na ausência e **(b)** na presença de 10^{-2} mol L $^{-1}$ de NaNO $_2$. Ambos em HNO $_3$ 0,1 mol L $^{-1}$ e com velocidade de varredura de 100 mV s $^{-1}$.

Para o AuSiFc, **Figura 4747 (B)**, pode-se observar os picos característicos do processo redox reversível do mediador, caracterizado pelos picos de corrente anódica e catódica. Com a adição de nitrito verifica-se um acréscimo na corrente de pico catódica e simultaneamente uma diminuição da corrente de pico anódica. Este fenômeno se deve a eletrocatalise promovida pela presença de nitrito em meio ácido, descrito pelas equações a seguir (MILCZAREK, 2007).



O mecanismo de reação envolve um ciclo catalítico na superfície do sensor. O ferrocianeto eletrogerado em potenciais catódicos (**Figura 4747**) é reoxidado quimicamente a ferricianeto pelos íons nitrito em solução na vizinhança do eletrodo. Esta regeneração química dos íons ferricianeto resulta em um aumento da corrente de redução. Em contrapartida, há uma diminuição da corrente de oxidação de íons ferrocianeto, devido ao consumo destes íons pelos íons nitrito. Em suma, o nitrito reage com o ferrocianeto formando ferricianeto, convertendo Fe(II) em Fe(III), o que fica evidenciado pelo aumento da corrente de pico catódica em detrimento a diminuição da corrente de pico anódica. Vale ressaltar que o nitrito em meio ácido se degrada lentamente ao longo do tempo. Porém, por se tratar de uma reação de cinética lenta (MILCZAREK, 2007), isso não inviabiliza o processo de determinação deste íon em meio ácido.

3.2.6 Aplicação analítica do eletrodo AuSiFc

Considerando que o eletrodo modificado AuSiFc apresenta considerável estabilidade em meio ácido e resposta eletrocatalítica para íons nitrito, avaliou-se seu desempenho para determinação amperométrica deste íon. A **Figura 4848(A)** apresenta um amperograma de experimento realizado em batelada, para adições de

sucessivas de nitrito 1×10^{-5} mol L⁻¹, onde se observa uma excelente linearidade de resposta ($r = 0,9993$), **Figura 4848(B)**.

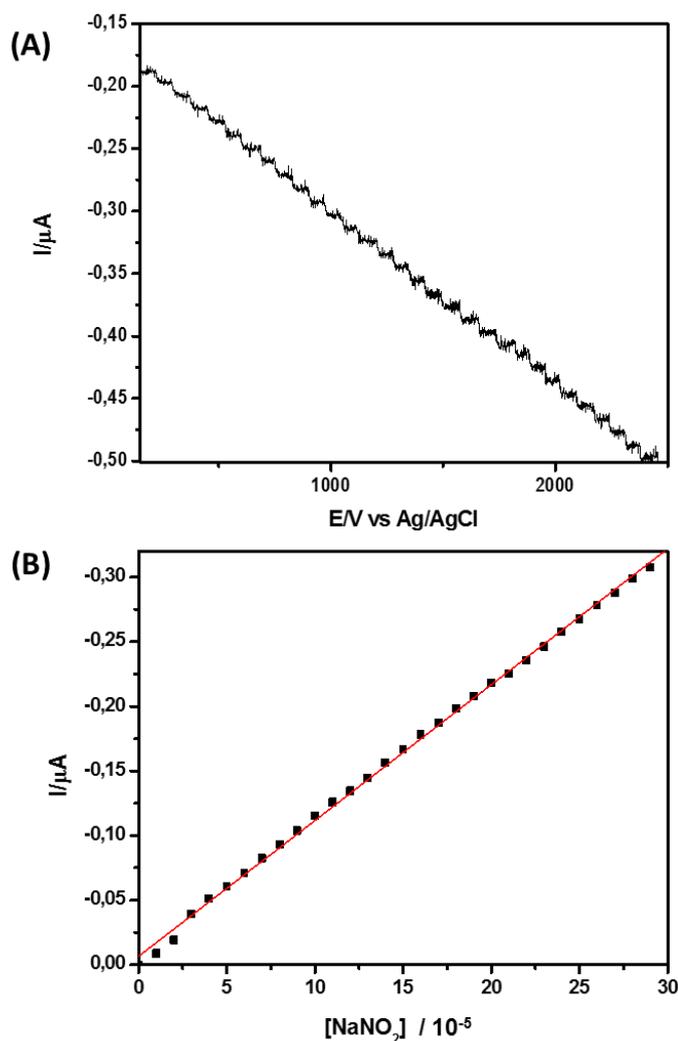


Figura 48. (A) Curva amperométrica em 0,0 V para adições sucessivas de nitrito; **(B)** Curva analítica correspondente.

O desempenho analítico do eletrodo modificado foi também avaliado para detecção de nitrito em amostras reais, através de testes de recuperação em amostras de água da chuva, água de rio, água de poço e água mineral utilizando-se um sistema FIA com célula wall-jet, buscando ampliar a frequência analítica e a sensibilidade.

A **Figura 4949 (A)** apresenta um diagrama com adições sucessivas de soluções-padrão de nitrito, nas concentrações de 1×10^{-6} a 4×10^{-5} mol L⁻¹ de NO₂⁻,

seguidas de adições de quatro amostras de águas naturais (AM01 – Água de Chuva, AM02 – Água de Rio, AM03 – Água do Poço, AM04 – Água Mineral), nas quais foram adicionados $2,5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$, $1,15 \text{ mg L}^{-1}$, de nitrito. A **Figura 4949 (B)** apresenta a curva analítica correspondente, descrito pela equação: $\Delta I(\text{NO}_2^-) = 1,83 \times 10^{-4} (\pm 1,70 \times 10^{-4}) + 585,35 (\pm 8,21) * [\text{NO}_2^-]$, com limite de quantificação de $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, e com coeficiente de correlação $r = 0,9995$.

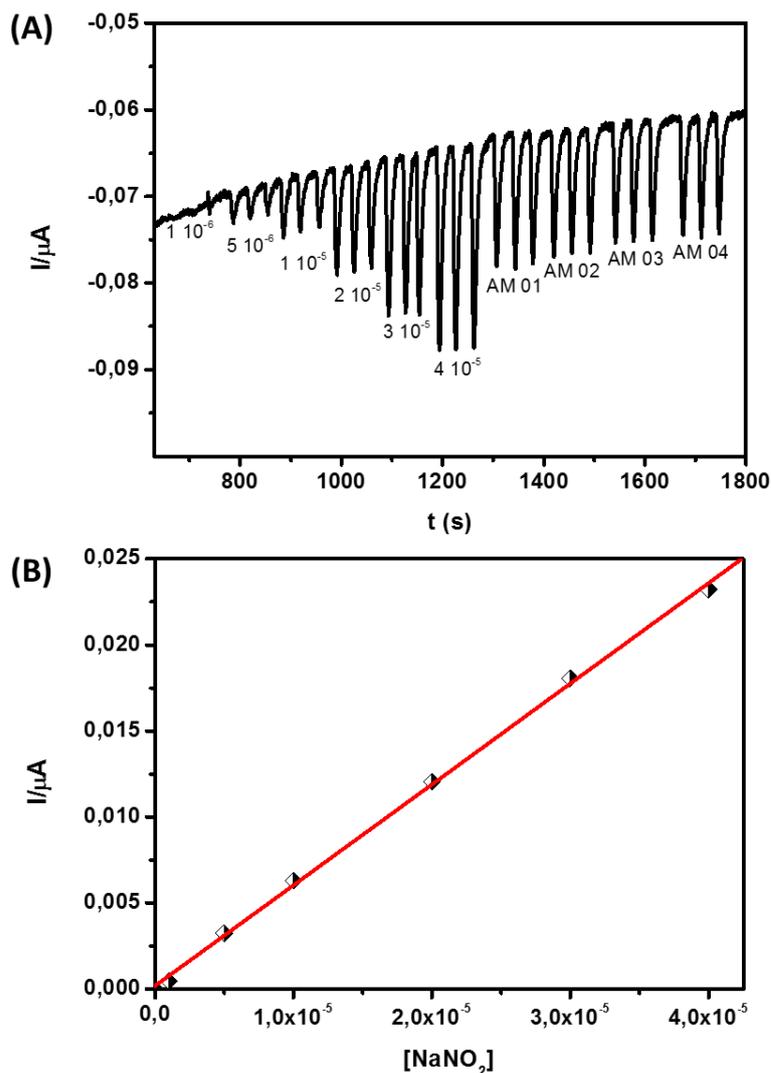


Figura 49. (A) Sinais analíticos de FIA para soluções padrões de 1×10^{-6} a $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ e amostras de águas naturais: AM01 – Água de Chuva, AM02 – Água de Rio, AM03 – Água do Poço, AM04 – Água Mineral. **(B)** Curva analítica correspondente a queda de corrente pelas adições de soluções padrão e amostras.

A **Tabela 05** apresenta os resultados dos testes de recuperação, os quais variaram de 95,69 a 101,16%, atestando o bom desempenho do sensor.

Tabela 05. Dados do Teste de Recuperação.

Amostra	Adicionado (mg L^{-1})	Detectado (mg L^{-1})	Recuperado (%)
Água Rio	1,150	1,154 \pm (0,012)	100,33 \pm (0,010)
Água Chuva	1,150	1,163 \pm (0,019)	101,16 \pm (0,016)
Água Poço	1,150	1,101 \pm (0,005)	95,69 \pm (0,004)
Água Mineral	1,150	1,111 \pm (0,022)	96,58 \pm (0,015)

3.2.7 Interferentes

Apontados como alguns dos principais interferentes para determinações eletroanalíticas de nitrito em amostras de águas naturais (ZAO, *et al* 2004; LIU, JU, 2003), a resposta do sensor foi investigada para os íons metálicos: Fe^{+3} , Al^{+3} , Mn^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Cr^{+3} , Mg^{+2} e Cu^{+2} . A **Figura 5050** apresenta a detecção amperométrica obtida para sucessivas adições de $0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ de NO_2^- e para adições de $0,1$ a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ dos íons citados. Na **Tabela 06** podemos observar a faixa de concentração de cada íon avaliado, em destaque os íons que apresentam alguma interferência no sinal amperométrico do eletrodo proposto.

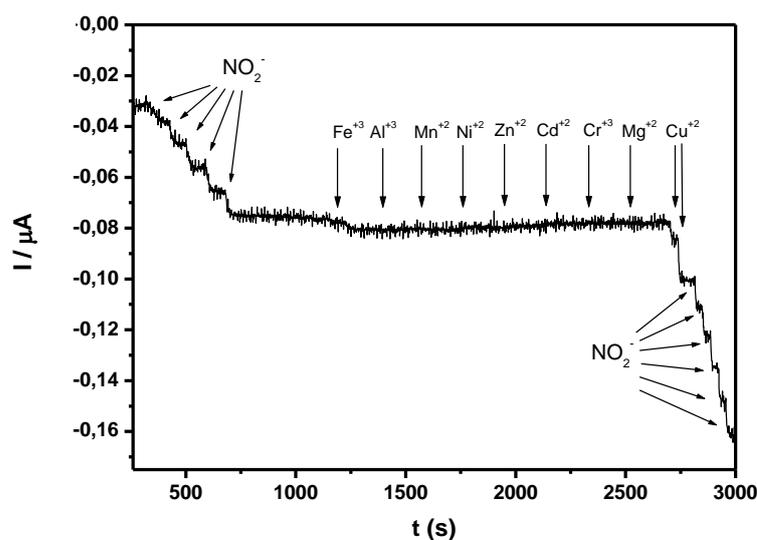


Figura 50. Curva amperométrica para o sensor de AuSiFc, em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 , para adições de NO_2^- e de diferentes íons metálicos, nas concentrações expostas na **Tabela 06**, demonstrando a seletividade do sensor proposto.

A exceção dos íons de cobre(II) e ferro(III), percebe-se que os demais íons não apresentaram interferência no sinal eletroquímico do sensor, mesmo em concentrações até 30 vezes maior que as concentrações de nitrito adicionadas, $1 - 5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Como é realizada a adição de nitrito em dois momentos distintos, no início do experimento e ao seu término, observamos que mesmo com a solução contendo todos os íons metálicos a resposta do sensor ao nitrito continua linear e seletiva, não sofrendo considerável efeito de matriz.

Tabela 06. Faixa de concentração dos íons analisados como possíveis interferentes.

Íon	Concentração (mol L^{-1})	Concentração (ppm)
Fe³⁺	0,7 – 7,2x10⁻⁶	0,04 – 0,40
Al ³⁺	0,03 – 3,2x10 ⁻⁴	0,09 – 8,5
Mn ⁺²	0,02 – 1,7x10 ⁻⁴	0,09 – 9,5
Ni ⁺²	0,02 – 1,6x10 ⁻⁴	0,09 – 9,5
Zn ⁺²	0,01 – 1,4x10 ⁻⁴	0,09 – 9,5
Cd ⁺²	0,01 – 0,8x10 ⁻⁴	0,09 – 9,5
Cr ⁺³	0,02 – 1,8x10 ⁻⁴	0,09 – 9,5
Mg ⁺²	0,04 – 3,9x10 ⁻⁴	0,09 – 9,5
Cu⁺²	0,08x10⁻⁷	0,05

5 CONCLUSÕES

O mediador de elétrons ferricianeto foi eficientemente imobilizado sobre a superfície do eletrodo de ouro mantendo sua atividade eletroquímica redox característica. Vale ressaltar a dificuldade da imobilização de um íon como o ferricianeto devido a sua elevada solubilidade. A imobilização foi efetuada pela deposição de uma rede de sílica sobre uma monocamada automontada de MPTMS, vital para ancorar o crescimento da rede de sílica, funcionando como uma cola química. A rede foi obtida via sol-gel eletroquímico e devido as suas propriedades adsorptivas e hospedeiras, se mostrou efetiva no aprisionamento dos íons ferricianeto. O sensor apresenta atividade eletrocatalítica para redução de nitrito em meio ácido, bem como potencialidade analítica e sensibilidade para a determinação de nitrito na faixa de $\mu\text{mol L}^{-1}$, tendo sido aplicado em amostras reais de águas naturais, onde apresentou recuperações médias de 95 a 101%.

O Sistema LbL traz consigo uma concepção distinta dos equipamentos comerciais, que facilita notoriamente o desenvolvimento de filmes multicamadas pela modificação automática de superfícies condutoras de eletrodos sólidos através da automontagem de filmes finos. O uso do microcontrolador, substituindo o microcomputador, atribuiu ao equipamento portabilidade e flexibilidade de uso não encontrada em outros equipamentos do tipo. Acrescente-se a isso a universalidade do equipamento, por se tratar de um sistema flow-batch e pela possibilidade de implementar diversos sistemas de detecção no próprio equipamento.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Investigar novas aplicações do sensor AuSiFc para outros analitos;
- Investigar a aplicabilidade do filme de sílica eletrogerado para aprisionar outros mediadores de elétrons;
- Investigar novas rotas para aprisionamento de mediadores de elétrons ou outras espécies químicas na superfície do eletrodo recoberta com o filme de sílica;
- Investigar a aplicabilidade dos filmes de sílica eletrodepositados sobre outros eletrodos para elaboração de eletrodos modificados;
- Otimizar o Sistema LbL proposto para permitir o reaproveitamento das soluções utilizadas na elaboração dos filmes;
- Otimizar o Sistema LbL proposto para permitir a secagem do eletrodo com um fluxo de gás;
- Otimizar o Sistema LbL proposto através do desenvolvimento de uma câmara de mistura flow-batch que possibilite a realização de ensaios espectroeletroquímicos simultaneamente a produção dos filmes;
- Otimizar o Sistema LbL proposto para que este possua um controle de temperatura.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. F. Um analisador fluxo-batelada com bomba pistão aplicado à preparação de soluções de calibração e microemulsões: determinação de metais em água mineral e gasolina por GF AAS. Recife, **Tese de doutorado**, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPE, 2007.

ALMEIDA, L. F.; *et al.*. An automatic flow-batch standard-addition method for sodium in alcohol fuel by flame photometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. 14: 249, 2003.

ALMEIDA, L. F.; *et al.*. Implementation of an automatic standard addition method in a flow-batch system: application to copper determination in an alcoholic beverage by atomic absorption spectrometry. **Analytica chimica Acta**. 486: 143, 2003.

ANDRADE, R.A.N. Um Luminômetro Fluxo-Batelada para determinação Quimiluminescente de Vitamina B12 em Medicamentos. João Pessoa, **Dissertação de Mestrado**, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 2011.

ANDRADE, R.A.N., *et al.*. A flow-batch luminometer. **Microchemical Journal**, v. 108, p. 151–155, 2013.

ANDRADE, S.I.E., *et al.*. A digital image-based flow-batch analyzer for determining Al(III) and Cr(VI) in water. **Microchemica Journal**, v. 109, p. 106-111, 2013.

ANVISA. **Portaria nº 1004**, de 11 de dezembro de 1998. Disponível em < <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assuntos+de+Interesse/Legislacao/Aditivos+Alimentares+e+Coadjuvantes+de+Tecnologia> > acesso em 23.ago.2013.

ARGÜELLES, M.T.F.; CAÑABATE, B.; FERNÁNDEZ, J.M.C.; PEREIRO, R.; MEDEL, M.S.; Flow injection determination of nitrite by fluorescence quenching. **Talanta**, v. 62, p. 991-995, 2004.

ASSAN, S.S.M., MARZOUK S.A.M.; SAYOUR, H.E.M.; Selective potentiometric determination of nitrite ion using a novel (4-sulphophenylazo-)1-naphthylamine membrane sensor. **Talanta**, v. 59, p. 1237-1244. 2003.

AVDIKOS, E.M.; PRODROMIDIS, M.I.; EFSTATHIOU, C.E. Construction and analytical applications of a palm-sized microcontroller-based amperometric analyzer. **Sensors and Actuators B Chemical**, v. 107, p. 372-378, 2005.

BAIN, C. D.; TROUGHTON, E. B.; TAO, Y. T.; EVALL, J.; WHITESIDES, G. M.; NUZZO, R. G. Formation of monolayer films by the spontaneous assembly of organic thiols from solution onto gold. **Journal of the American Chemical Society**, v. 111, p. 321-335, 1989.

- BAIN, C. D.; WHITESIDES, G. M. Correlations between wettability and structure in monolayers of alkanethiols adsorbed on gold. **Journal of the American Chemical Society**, v. 110, p. 3665-3666, 1988.
- BAO, Z. Self-Assembly In Organic Thin Film Transistors For Flexible Electronic Devices. **Material Matters**, v. 1, n. 2, p. 11-13, 2006.
- BATALLE, R.; CAMPOSA, I.; ALCANIZ, M.; GIL-SÁNCHEZA, L.; GARCÍA-BREIJO, E.; MARTÍNEZ-MÁNEZ, R.; PASCUAL, L.; SOTO, J.; VIVANCOS, J. A humid electronic nose based on pulse voltammetry: A proof-of-concept design. **Sensors and Actuators B: Chemical**. v. 186, p. 666-673, 2013.
- BRASIL. Leis Decretos, etc. Resolução Normativa nº 08/79 da Câmara Técnica de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde. **Diário Oficial**, Brasília, 01 jun. 1979.
- BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. **Eletroquímica princípios, métodos, e aplicações**. Coimbra: Livraria Almedina, 1996.
- BRYANT, M. A.; JOA, S. L.; PEMBERTON, J. E. Raman scattering from monolayer films of thiophenol and 4-mercaptopyridine at Pt surfaces. **Langmuir**, v. 8, p. 753-756, 1992.
- BUTT, S.B.; RIAZ, M.; IQBAL, M.Z.; Simultaneous determination of nitrite and nitrate by normal phase ion-pair liquid chromatography. **Talanta**, v. 55, p. 789-797, 2001.
- CARNEIRO, J. M. T.; DIAS, A. C. B.; ZAGATTO, E. A. G.; HONORATO, R. S. Spectrophotometric catalytic determination of Fe(III) in estuarine waters using a flow-batch system. **Analytica chimica Acta**. 455: 327, 2002.
- CARVALHAL, R. F. Desenvolvimento de sensor biomimético empregando monocamadas auto-organizadas. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual de Campinas, 2005.
- CARVALHO, C.L.; VARELA, J.A. Construção e Caracterização de um Equipamento para Deposição de Filmes pela Técnica de "Dip Coating". **Revista de Física Aplicada e Instrumentação**, v.14, p.115-119, 1999.
- COLLINSON, M.M. Electrochemistry: An Important Tool To Study and Create New Sol-Gel-Derived Materials. **Accounts of Chemical Research**, v. 40, p. 777-783, 2007.
- CONCEIÇÃO, C.D.C.; Construção e aplicação analítica de eletrodos de pasta de carbono modificada com ftalocianina de cobalto para determinação de analitos de interesse. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal de São Carlos-SP, 2004.
- CORRIU, R.J.P.; LECLERCQ, D. Recent developments of molecular chemistry for sol-gel processes. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 35, p. 1420-1436, 1996.

CORTELLETI, D. Dossiê Técnico: Introdução à programação de microcontroladores Microchip PIC. Centro Tecnológico de Mecatrônica. **SENAI** – RS, 2006.

CRESPILHO, F.N.; GHICA, M.E.; GOUVEIA-CARIDADE, C.; OLIVEIRA JR., O.N.; BRETT, C. M. A.. Formation, characterization and electrocatalytic activity of layer-by-layer self-assembled films containing polyoxomolybdate over Au surfaces. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 673, p.1-7, 2012.

CUI, L.; PU, T.; LIU, T.; HE, X. Layer-by-layer construction of graphene/cobalt phthalocyanine composite film on activated GCE for application as a nitrite sensor. **Electrochimica Acta**, v. 88, p. 559-564, 2013.

CUI, Y.; YANG, C.; ZENG, W.; OYAMA, M.; PU, W.; ZHANG, J.; Electrochemical Determination of Nitrite Using a Gold Nanoparticles-modified Glassy Carbon Electrode Prepared by the Seed-mediated Growth Technique. **Analytical Sciences**, v. 23, p. 1421-1426, 2007.

CUNHA, F. A. S. Uma metodologia automatizada por fluxo-bataleda para a preparação de microemulsões de gasolina e de nafta para determinação de íons metálicos por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. João Pessoa, **Dissertação de Mestrado**, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 2010.

CUNHA, I. B. S.; PASQUINI, C.; Automated gravimetric management of solutions. Part 1: High-performance microcomputer-controlled gravimetric burette. **Analyst**. v.117, p.905-911, 1992.

DECHER, G.; SCHLENOFF, J.B. Multilayer Thin Films, **Wiley–VCH**, 2003.

DINIZ, P.H.G.D., ALMEIDA, L.F., HARDING, D.P., ARAUJO, M.C.U. **Flow-batch analysis**. Trends in Analytical Chemistry, v. 35, p. 39-49, 2012.

DREYSE, P. *et al.*. Electrochemical reduction of nitrite at poly-[Ru(5-NO₂-phen)₂Cl] tetrapyrrolylporphyrin glassy carbon modified electrode. **Electrochimica Acta**, v.56, p. 5230–5237, 2011.

ETIENNE, M.; BESSIERE, J.; WALCARIUS, A. Voltametric detection of copper(II) at a carbon paste electrode containing an organically modified silica. **Sensors and Actuators B**. v. 76, p. 531-538, 2001.

FERNANDES, D.M.; GHICA, E.M.; CAVALEIRO, A.M.V., BRETT, C.M.A.; Electrochemical impedance study of self-assembled layer-by-layer iron–silicotungstate/poly(ethylenimine) modified electrodes. **Electrochimica Acta**. v. 56, p7940-7945, 2011.

GAIÃO, E.N.; SANTOS, S.R.B.; SANTOS, V. B.; NASCIMENTO, E.C.L.; LIMA, R. S.; ARAÚJO, M.C.U. An inexpensive, portable and microcontrolled near infrared LED-photometer for screening analysis of gasoline. **Talanta**, v. 75, p. 792–796, 2008.

GALEMBECK, A. Aplicação da Técnica de Decomposição de Precursores Metalorgânicos (MOD) à Obtenção de Filmes Finos de Óxidos e Heteroestruturas Planares Óxido/Polímero Condutor. **Tese de doutorado**, Campinas, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 1998.

- GAMBOA J.C.M.; *et al.*. Activated Copper Cathodes as Sensors for Nitrite Analysis. **Electroanalysis**, v. 22, p. 2627-2632, 2010.
- GE, X.; WANG, L.; LIU, Z.; DING, Y. Nanoporous Gold Leaf for Amperometric Determination of Nitrite. **Electroanalysis**, v. 23, p. 381 – 386, 2011.
- HILL, C.L. Progress and challenges in polyoxometalate-based catalysis and catalytic materials chemistry. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. v. 262, p 2–6, 2007.
- HIRATSU,T.; SUZUKI,S.; YAMAGUCHI, K.; Electroreduction of nitrite on gold electrode modified with Cu-containing nitrite reductase model complex. **Chem. Comm**, p. 4534-4535, 2005.
- HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. Princípios de análise instrumental, 6ª ed., Porto Alegre, **Bookman**, 2009.
- HONORATO, R. S.; CARNEIRO, J. M.T.; ZAGATTO, E. A. G. Spectrophotometric flow-batch determination of aluminum in plant tissues exploiting a feedback mechanism. **Analytica Chimica Acta**. 441: 309, 2001.
- HONORATO, R. S.; ZAGATTO, E. A. G.; LIMA, R. A. C.; ARAÚJO, M. C. U. Prior assay as an approach to flow titrations. Spectrophotometric determination of iron in allows and ores. **Analytica Chimica Acta**, v.416, p. 231, 2000.
- HOUSTON, J. E.; KIM, HYUN I. Adhesion, friction, and mechanical properties of functionalized alkanethiol self-assembled monolayers. **Accounts of chemical research**, v. 35, n. 7, p. 547-553, 2002.
- IHS, A.; UVDAL, K.; LIEDBERG, B. Infrared and photoelectron spectroscopic studies of ethyl and octyl xanthate ions adsorbed on metallic and sulfidized gold surfaces. **Langmuir**, v. 9, p. 733-739, 1993.
- JASTY, S.; BOECKL, M.; GRAHAM, D. Molecular self-assembly. **Material Matters**, v. 1, n. 2, p. 3-5, 2006.
- JE, N.; NG, J.; MENG, F.; Fluorimetric determination of nitrite. **Talanta**, v. 40, p. 1009 -1011, 1993.
- JEDLICKOVA, V.; PALUCH, Z.; ALUSIK, S.; Determination of nitrate and nitrite by high-performance liquid chromatography in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 780, p. 193-197, 2002.
- JENNINGS, G. K.; YONG, T.-H.; MUNRO, J. C.; LAIBINIS, P. E. Structural effects on the barrier properties of self-assembled monolayers formed from long-chain omega-alkoxy-n-alkanethiols on copper. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 10, p. 2950-2957, 2003.
- JIMÉNEZ-MÁRQUEZ, F.; VÁZQUEZ, J.; ÚBEDAB, J.; SÁNCHEZ-ROJAS, J.L. Low-cost and portable refractive optoelectronic device for measuring wine fermentation kinetics. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 178, p. 316-323, 2013.

KEITA, B.; NADJO, L. Polyoxometalate-based homogeneous catalysis of electrode reactions: Recent achievements. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**. v. 262, p 190–215, 2007.

KWAKYE, S; BAEUMNER, A. An embedded system for portable electrochemical detection. **Sensors and Actuators B: Chemical**. v. 123, p.336-343, 2007.

LI, J.; LIN, X.; Electrocatalytic reduction of nitrite at polypyrrole nanowire–platinum nanocluster modified glassy carbon electrode. **Microchemical Journal**. v. 87, p. 41-46. 2007.

LI, T. T.; LIU, H. Y.; WEAVER, M. J. Intramolecular electron transfer at metal surfaces. 3: influence of bond conjugation on reduction kinetics. **Journal of the American Chemical Society**, n. 3, p. 1233-1239, 1984.

LI, T. T.; WEAVER, M. J. Intramolecular electron transfer at metal surfaces 4: dependence of tunneling probability upon donor-acceptor separation distance. **Journal of the American Chemical Society**, v. 106, p. 6107-6108, 1984.

LIMA, A. W. O.; NASCIMENTO, V. B.; PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L. Coconut-based plant tissue reactor for biosensing of catechol in flow injection analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 354, n. 1-3, p. 325-331, 1997.

LIMA, M. B. Um micro flow-batch para determinação fotométrica e turbidimétrica de taninos em amostras de chás. João Pessoa, **Dissertação de Mestrado**, Programa de Pós-Graduação em Química, UFPB, 2010.

LIMA, M.B. *et al.*. A micro-flow-batch analyzer with solenoid micro-pumps for the photometric determination of iodate in table salt. **Talanta**, v. 100, p. 308-312, 2012.

LIMA, M.B., *et al.*. A digital image-based micro-flow-batch analyzer. **Microchemica Journal**, v. 106, p. 238-243, 2013.

LIMA, R.A.C., *et al.*. Hardness screening of water using a flow-batch photometric system. **Analytica Chimica Acta**, v. 518, p. 25-30, 2004.

LIN, A.J.; WEN, J.; ZHANG, L.Z.; LU, B.; LI,Y.; JIAO, Y.Z.; YANG, H.F.; Layer-by-layer construction of multi-walled carbon nanotubes, zinc oxide, and gold nanoparticles integrated composite electrode for nitrite detection. **Electrochimica Acta**, v. 56, p. 1030-1036, 2011.

LIO, A.; CHARYCH, D. H.; SALMERON, M. Comparative Atomic Force Microscopy study of the chain length dependence of frictional properties of alkanethiols on gold and alkylsilanes on mica. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 101, n. 19, p. 3800-3805, 1997.

LIU, P.; HU, J.; Nitrite reduction in acidic solution at a GC/Eastman-AQ-Os(bpy)₃²⁺-PVP composite modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 566, p. 423-432, 2002.

- LIU, Q.H.; YAN, X.L.; GUO, J.C.; HUAWANG, D.; LI, L.; YAN, F.Y.; CHEN, L.G.; Spectrofluorimetric determination of trace nitrite with a novel fluorescent probe. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 73, p. 789-793. 2009.
- LIU, S.; JU, H. Nitrite reduction and detection at a carbon paste electrode containing hemoglobin and colloidal gold. **The Analyst**, v. 128, p. 1420-1424, 2003.
- LIU, S.; KURTH, D.G.; BREDENKOTTER, B.; VOLKMER, D. The Structure of Self-Assembled Multilayers with Polyoxometalate Nanoclusters. **Journal of the American Chemical Society**. v. 124, 12279–12287, 2002.
- LIU, T.S.; *et al.* Au–Fe(III) nanoparticle modified glassy carbon electrode for electrochemical nitrite sensor. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 632, p. 197-200, 2009.
- LIU, Y.; GU, H.Y. Amperometric detection of nitrite using a nanometer-sized gold colloid modified pretreated glassy carbon electrode. **Microchim Acta**, v. 162, p. 101–106, 2008.
- LOVE, J. C.; ESTROFF, L. A.; KRIEBEL, J. K.; NUZZO, R. G.; WHITESIDES, G. M. Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology. **Chemical Reviews**, v. 105, p. 1103-1169, 2005.
- MILCZAREK, G. Selective and sensitive detection of nitrite based on NO sensing on a polymer-coated rotating disc electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 610, p. 199-204, 2007.
- NAGARAJA, P.; AL-TAYAR, N. G. S. ; SHIVAKUMAR, A.; SHRESTHA, A. K.; GOWDA, A. K. A simple and sensitive spectrophotometric method for the determination of trace amounts of nitrite in environmental and biological samples using 4-amino-5-hydroxynaphthalene-2,7-disulphonic acid monosodium salt. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, v. 75, p. 1411-1416, 2010.
- NANAYAKKARA, BONNELL, Penn Engineering, Disponível em <
http://www.seas.upenn.edu/~bonnell/research/Single_Molecule_Properties_07_preparation_routes.html > acesso em 28.AGO.2014
- NASCIMENTO, V.B.; ANGNES, L. Eletrodos Fabricados por Silk-Screen. **Química Nova**, v. 21, n. 5, p. 614-629, 1998.
- NASCIMENTO, V.B.; *et al.* Automatic determination of chlorine without standard solutions using a biamperometric flow-batch analysis system. **Talanta**, v. 81, p. 609-613, 2010.
- NG, S.M.; WONG, D.S.N.; PHUNG, J.H.C.; CHUA, H.S. Integrated miniature fluorescent probe to leverage the sensing potential of ZnO quantum dots for the detection of copper (II) ions. **Talanta**, v. 116, p. 514-519, 2013.
- NUZZO, R. G.; ALLARA, D. L. Adsorption of bifunctional organic disulfides on gold surfaces. **Journal of the American Chemical Society**, v. 105, p. 4481-4483, 1983.

OJANI, R.; RAOOF, J.; ZAREI, E. Electrocatalytic reduction of nitrite using ferricyanide; Application for its simple and selective determination. **Electrochimica Acta**, v. 52, p. 753-759, 2006.

OLIVEIRA, A.R.M.; ZARBIN, A.J.G. Um procedimento simples e barato para a construção de um equipamento "dip-coating" para deposição de filmes em laboratório. **Quím. Nova**, v. 28, n.1, p. 141-144, 2005.

PASQUALI, C.E.L; PICÓ, A.G.; HERNANDO, P.F.; VELASCO, M.; ALEGRIA, J.D.S.; Two rapid and sensitive automated methods for the determination of nitrite and nitrate in soil samples. **Microchemical Journal**, v.94, p. 79-82, 2010.

PASQUINI, C.; AQUINO, E. V.; REBOUÇAS, M. V.; GONZAGA, F. B. Robust flow–batch coulometric/biamperometric titration system: Determination of bromine index and bromine number of petrochemicals. **Analytica Chimica Acta**. 600: 84, 2007.

POMERANTZ, M.; SEGMULLER, A.; NETZER, L.; SAGIV, J. Coverage of Si substrates by self-assembling monolayers and multilayers as measured by IR wettability and x-ray diffraction. **Thin Solid Films**, v. 132, p. 153-162, 1985.

POPE M.T.; MÜLLER A. Polyoxometalate Chemistry: An Old Field with New Dimensions in Several Disciplines. **Angewandte Chemie International Edition in English**. v. 30, p. 34–48, 1991.

RHULE, J. T.; HILL, C.L.; JUDD D.A. Polyoxometalates in Medicine. **Chemical Reviews**. v. 98, p. 327–357, 1998.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**. 1975, Vol. 78.

SADAKANE, M.; STECKHAN, M.E. Electrochemical Properties of Polyoxometalates as Electrocatalysts. **Chemical Reviews**. v. 98, p. 219-238, 1998.

SCHUBERT, U.; HUSING, N.; LORENZ, A. Hybrid Inorganic-Organic Materials by Sol-Gel Processing of Organofunctional Metal Alkoxides, **Chemistry of Materials**, v. 7, p. 2010-2027, 1995.

SHACHAM, R.; AVNIR, D.; MANDLER, D. Electrodeposition of Methylated Sol-Gel Films on Conducting Surfaces, **Advanced Materials**, v. 11, p. 384-388, 1999.

SHAMSIPUR, M.; ZAHEDI, M.M.; FILIPPO, G.; LIPPOLIS, V. Development of a novel flow injection liquid–liquid microextraction method for the on-line separation and preconcentration for determination of zinc(II) using 5-(8-hydroxy-2-quinolinylmethyl)-2,8-dithia-5-aza-2,6-pyridinophane as a sensitive and selective fluorescent chemosensor. **Talanta**, v. 85, p. 687-693, 2011.

SIRÉS, I.; DELUCCHI, M.; PANIZZA, M.; RICOTTI, R.; CERISOLA, G. Electrochemical study of self-assembled cysteine monolayers on polycrystalline gold electrodes and functionalization with microperoxidase MP-11. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 39, p. 2275-2284, 2009.

- SOUZA, D. J. Desbravando o PIC: Ampliado e Atualizado para PIC 16F628A. 8ª ed. São Paulo, SP, Brasil: **Érica**, 2005.
- SOUZA, P. A.; FALEIROS, R.R.S.; SOUZA, H.B.A. Dosagem de Nitrito e Nitrato em Produtos Embutidos de Carne. **Alim. Nutr.**, v 2, p. 27-34, 1990.
- SZAMOCKI, R.; FLEXER, V.; LEVIN, L.; FORCHIASIN, F.; CALVO, E.J. Oxygen Cathode Based on a Layer-by-Layer Self-Assembled Laccase and Osmium Redox Mediator. **Electrochimica Acta**, v. 54, p. 1970–1977, 2009.
- THUO, M. M.; REUS, W. F.; NIJHUIS, C. A.; BARBER, J. R.; KIM, C.; SCHULZ, M. D.; WHITESIDES, G. M. Odd-Even Effects in Charge Transport across Self-Assembled Monolayers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, p. 2962-2975, 2011.
- TOKSÖZ, S.; GULER, M. O. Self-assembled peptidic nanostructures. **Nano Today**, v. 4, p. 458-469, 2009.
- TROJANOWICZ, M. Advances in Flow Analysis. **Weinheim** : Wiley-VCH, 2008.
- U.S. EPA. **Nitrates and Nitrites**. Disponível em <
http://www.epa.gov/teach/chem_summ/Nitrates_summary.pdf > acesso em 23.ago.2013.
- ULMAN, A. Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 4, p. 1533-1554, 1996.
- VERAS, G.; SILVA, E.C.; LYRA, W.S.; SOARES, S.F.C.; GUERREIRO, T.B.; SANTOS, S.R.B. A portable, inexpensive and microcontrolled spectrophotometer based on white LED as light source and CD media as diffraction grid. **Talanta**, v. 77, p. 1155-1159, 2009.
- VEST, R.W. Metallo-organic decomposition (MOD) processing of ferroelectric and electro-optic films: A review. **Ferroelectrics**, v. 102, p. 53-58, 1998.
- VÖLKER, E.; CALVO, E.J.; WILLIAMS F.J. Formation, characterization and electrocatalytic activity of layer-by-layer self-assembled films containing polyoxomolybdate over Au surfaces. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 673, p. 1-7, 2012.
- WALCARIUS, A. Electrochemical Applications of Silica-Based Organic-Inorganic Hybrid Materials. **Chemistry of Materials**, v. 13, p. 3351-3372, 2001.
- WALCARIUS, A.; SIBOTTIER, E. Electrochemically-induced deposition of amine-functionalized silica films on gold electrodes and application to Cu(II) detection in (hydro)alcoholic medium. **Electroanalysis**, v. 17, n. 19, p. 1716-1726, 2005.
- WALCARIUS, A; COLLINSON, M.M. Analytical Chemistry with Silica Sol-Gels: Traditional Routes to New Materials for Chemical Analysis. **Annual Review of Analytical Chemistry**, v. 2, p. 121-143, 2009.

WALCARIUS, A; ETIENNE, M; DELACOTE, C. Uptake of inorganic HgII by organically modified silicates: influence of pH and chloride concentration on the binding pathways and electrochemical monitoring of the processes. **Analytica Chimica Acta**, v. 508, p. 87–98, 2004.

WANG, N.; WANG, R.Q.; ZHU, Y.; A novel ion chromatography cycling-column-switching system for the determination of low-level chlorate and nitrite in high salt matrices. **Journal of Hazardous Materials**, v. 235-236, p. 123-127, 2012.

YUAN, Y; WANG, P; ZHU, G. Sol-gel derived carbon ceramic electrode containing methylene blue-intercalated α -zirconium phosphate micro particles. **Anal Bioanal Chem**, v. 372, p. 712–717, 2002.

ZIEGEL, H.; Automatic electrometric titration of dichromate and ferrous iron, Z. **Analytical Chemistry**. v.53, p.755-762, 19

ANEXO: Código do programa em linguagem C

```
#include <LCD.C>

//VARIÁVEIS
long int cont_tempo=0, tempo[5], variavel=0, seg = 0;
int camadas=1, btn=0, pulsos = 16, e = 0,i = 0, menu=0, limp=1, solucoes = 1, solFeitas = 0, temp = 0, vol = 0, cam = 0, lav = 0, sol = 0;

//CONTADOR DE TEMPO
#int_timer0
//Função para contar o tempo
void cont_seg()
{
    static int cont=0;
    set_timer0(131-get_timer0());//programa a interrupcao para 125 hz (256-125)=131
    cont++;
    if (cont==125)//necessitamos de 125 interrupcoes para 1Hz
    {
        cont=0;
        cont_tempo+=1;
    }
}

//FUNÇÃO DE LAVAGEM
void lavagem()
{
    for(e=0; e<3; e++){
        //Esvaziando
        for(i=0; i<(pulsos*2); i++){
            output_high(PIN_B5);
            delay_ms(200);
            output_low(PIN_B5);
```

```

    delay_ms(200);
}

//Enchendo
for(i=0; i<(pulsos + 10); i++){
    output_high(PIN_B6);
    delay_ms(200);
    output_low(PIN_B6);
    delay_ms(200);
}
delay_ms(200);
output_high(PIN_B7);//Iniciando o Agitador
//Aguardando a Lavagem
delay_ms(5000);
output_low(PIN_B7);//Desligando o Agitador
//Esvaziando
for(i=0; i<(pulsos*2); i++){
    output_high(PIN_B5);
    delay_ms(200);
    output_low(PIN_B5);
    delay_ms(200);
}
}
}

```

//FUNÇÕES PARA ADIÇÃO DE SOLUÇÕES

//SOLUÇÃO 01

```

void sol01()
{
    for(i=0;i<= pulsos;i++){
        output_high(PIN_B0);
    }
}

```

```
    delay_ms(200);
    output_low(PIN_B0);
    delay_ms(200);
}
}
```

//SOLUÇÃO 02

```
void sol02()
{
    for(i=0;i<=pulsos;i++){
        output_high(PIN_B1);
        delay_ms(200);
        output_low(PIN_B1);
        delay_ms(200);
    }
}
```

//SOLUÇÃO 03

```
void sol03()
{
    for(i=0;i<=pulsos;i++){
        output_high(PIN_B2);
        delay_ms(200);
        output_low(PIN_B2);
        delay_ms(200);
    }
}
```

//SOLUÇÃO 04

```
void sol04()
{
    for(i=0;i<=pulsos;i++){
```

```

    output_high(PIN_B3);
    delay_ms(200);
    output_low(PIN_B3);
    delay_ms(200);
}
}

//FUNÇÃO BUZZER
void buzzer()
{
    output_high(PIN_E2);
    delay_ms(100);
    output_low(PIN_E2);
}

void reset()
{
    if(input(PIN_E1)){
        delay_ms(500);
        if(!input(PIN_E1)){
            }else{
                reset_cpu();
            }
        }
    }
}

void main()
{
    setup_adc_ports(NO_ANALOGS);
    setup_adc(ADC_OFF);
    setup_psp(PSP_DISABLED);
    setup_spi(SPI_SS_DISABLED);

```

```

setup_timer_0(RTCC_INTERNAL|RTCC_DIV_1);
setup_timer_1(T1_DISABLED);
setup_timer_2(T2_DISABLED,0,1);
setup_comparator(NC_NC_NC_NC);
setup_vref(FALSE);
lcd_init();

// TODO: USER CODE!!

setup_timer_0(RTCC_INTERNAL|RTCC_DIV_64);
set_timer0(131);
enable_interrupts(global | int_timer0);

// INICIAR E ESTABILIZAR O SISTEMA
printf(LCD_PUTC, "\f LbL System "); //Imagem de boas vindas
printf(LCD_PUTC, "\n          2.0"); //Mostra que esta estabilizando
output_high(PIN_A1); // Liga o LED mostrando que ligou
delay_ms(15000); // Aguarda 5 segundos (tempo da estabilizaçã*)

//Entrada de dados
printf(LCD_PUTC, "\f Set the number of ");
printf(LCD_PUTC, "\n Layer(s): %02u ", camadas);
delay_ms(200);
variavel = camadas;
tempo[1]=0;
menu=1;

while(true){

    reset();

    // MENU 01 - NÚMERO DE CAMADAS

```

```

if(input(PIN_A4)&&menu==1){
    buzzer();
    delay_ms(200);
    btn=1;
//Limitando o máximo de camadas em 10
    if(variavel<10){
        variavel+=1;
    }
    btn=0;
    printf(LCD_PUTC, "\n Layer(s): %02Lu    ", variavel);
}
if(input(PIN_E0)&&menu==1){
    buzzer();
    delay_ms(200);
    btn=2;
//Limitando o mínimo de camadas em 0
    if(variavel>1){
        variavel-=1;
    }
    btn=0;
    printf(LCD_PUTC, "\n Layer(s): %02Lu    ", variavel);
}
if(input(PIN_A5)){
    btn=3;
}if(!input(PIN_A5)&&btn == 3&&menu==1){
    buzzer();
    btn=3;
    camadas = variavel;
    variavel = solucoes;
    btn=0;

```

```

    menu = 2;
    printf(LCD_PUTC, "\n Solutions: %02u    ", solucoes);
}

// MENU 02 - NÚMERO DE SOLUÇÕES

while(menu==2){
    delay_ms(200);
    reset();

    if(input(PIN_A4)){
        buzzer();
        delay_ms(200);
        btn=1;
        //Limitando o máximo de soluções em 5
        if(variavel<4){
            variavel+=1;
        }
        btn=0;
        printf(LCD_PUTC, "\n Solutions: %02Lu ", variavel);
    }
    if(input(PIN_E0)){
        buzzer();
        delay_ms(200);
        btn=2;
        //Limitando o mínimo de soluções em 0
        if(variavel>0){
            variavel-=1;
        }
        btn=0;
        printf(LCD_PUTC, "\n Solutions: %02Lu ", variavel);
    }
}

```

```

if(input(PIN_A5)){
    buzzer();
    btn=3;
}if(!input(PIN_A5)&&btn == 3){
    solucoes = variavel;
    variavel = tempo[0];
    temp=1;
    vol=0;
    btn=0;
    menu = 3;
    printf(LCD_PUTC, "\f Set the length of ");
    printf(LCD_PUTC, "\n Stay in ");
    delay_ms(2000);
    printf(LCD_PUTC, "\f Solution %02u ", solFeitas+1);
    printf(LCD_PUTC, "\n Time: %02Luh %02Lumin ", tempo[solFeitas]/60,
tempo[solFeitas]%60);
}
}

```

// MENU 03 - RESIDÊNCIA E BOMBEAMENTO

```

while(menu==3){
    delay_ms(200);
    reset();

    if(input(PIN_A4)&&solFeitas<solucoes){
        buzzer();
        delay_ms(200);
        btn=1;
        if(variavel<120){
            variavel+=1;
        }
        btn=0;
    }
}

```

```

    printf(LCD_PUTC, "\n Time: %02Luh %02Lumin    ", variavel/60, variavel%60);
}
if(input(PIN_E0)&&solFeitas<solucoes){
    buzzer();
    delay_ms(200);
    btn=2;
    if(variavel>0){
        variavel-=1;
    }
    btn=0;
    printf(LCD_PUTC, "\n Time: %02Luh %02Lumin    ", variavel/60, variavel%60);
}
if(input(PIN_A5)&&solFeitas<solucoes){
    btn=3;
    delay_ms(200);
}if(!input(PIN_A5)&&btn == 3&&solFeitas<solucoes){
    buzzer();
    tempo[solFeitas] = variavel;
    solFeitas+=1;
    printf(LCD_PUTC, "\f Solution: %02u    ", solFeitas+1);
    printf(LCD_PUTC, "\n Time: %02Luh %02Lumin    ", tempo[solFeitas]/60,
tempo[solFeitas]%60);
    variavel = tempo[solFeitas];
    btn = 2;
    if(solFeitas==solucoes){
        btn=1;
        menu = 4;
        variavel = 1;

        printf(LCD_PUTC, "\f Insert the Tubes ");
        printf(LCD_PUTC, "\n in Solutions    ");
        delay_ms(1000);
    }
}

```

```

    }
}

//MENU 04 - ESTABILIZAÇÃO DO SISTEMA E FORMAÇÃO DO ELETRODO
while(menu==4){
    delay_ms(200);
    reset();

    if(input(PIN_A5) && variavel == 1){
        btn=3;
    }if(!input(PIN_A5)&&btn == 3){
        buzzer();
        printf(LCD_PUTC, "\f Stabilizing the ");
        printf(LCD_PUTC, "\n System ");
        delay_ms(2000);
        variavel=0;

        delay_ms(2000);
        sol = solucoes;

        //Preencher os tubos e lavar a câmara
        while(sol>0){

            reset();

            while(sol==1){ //01 solução
                sol01();
                sol-=1;
            }
            while(sol==2){ //02 soluções
                sol02();
                sol-=1;
            }
        }
    }
}

```

```

}
while(sol==3){ //03 soluções
    sol03();
    sol-=1;
}
while(sol==4){ //04 soluções
    sol04();
    sol-=1;
}

//Lavar

lavagem();
}

//Iniciar a Formação de Camadas

printf(LCD_PUTC, "\f Place the Electrode");
printf(LCD_PUTC, "\n in Mixing Chamber ");
delay_ms(2000);

lav=0;
while(lav==0){

    reset();

    if(input(PIN_A5)){

        buzzer();

        //Verificar o Número de Camadas

```

```

while(camadas>cam){

    reset();

    //Verificar o Número de Soluções
    variavel = 0;
    printf(LCD_PUTC, "\f Starting Deposition ");
    printf(LCD_PUTC, "\n of the Layer %02u   ", cam+1);
    delay_ms(5000);
    while(solucoes > variavel){

        reset();

        printf(LCD_PUTC, "\fInserting Solution %02Lu ", variavel+1);
        printf(LCD_PUTC, "\nin Mixing Chamber   ");
        variavel+=1;
        limp=0;
        //SOLUÇÕES
        switch(variavel){
            case 1:
                sol01();
                break;
            case 2:
                sol02();
                break;
            case 3:
                sol03();
                break;
            case 4:
                sol04();
                break;
        }
    }
}

```

```

cont_tempo=0;
seg = tempo[variavel-1]*60;
printf(LCD_PUTC, "\f Preconcentrating ");
while(seg>0){

    reset();

    seg = tempo[variavel-1]*60 - cont_tempo;
    printf(LCD_PUTC, "\n Time: %02Lu:%02Lu:%02Lu  ", seg/3600, seg/60 -
(seg/3600)*60, seg%60);
    //SOLUÇÕES
}
delay_ms(2000);
printf(LCD_PUTC, "\f Washing Electrode ");
printf(LCD_PUTC, "\n and Mixing Chamber ");

//ORGANIZAR DELAY DE ACORDO COM O TEMPO DE VAZÃO
for(i=0;i<(pulsos*2);i++){
    output_high(PIN_B5);
    delay_ms(200);
    output_low(PIN_B5);
    delay_ms(200);
}
limp=1;
lavagem();
}
cam+=1;
lav=1;
}
}
}
printf(LCD_PUTC, "\f Process ");

```

```
printf(LCD_PUTC, "\n Completed ");  
buzzer();  
buzzer();  
buzzer();  
buzzer();  
buzzer();  
}  
}  
}  
}
```