

Figura 5.3.5.5-1. Imatges SEM del compòsit d'Araldite-PY302-2/HY943-60% grafit emmagatzemat en acetona (esquerra) i acetonitril (dreta) durant 10 dies. Les imatges es van obtenir aplicant 20 keV com a potencial d'acceleració.

5.4. Microscòpia electroquímica

5.4.1. Visualització de les zones electroactives d'un material compòsit conductor rígid

Un sensor basat en un compòsit conductor format per un polímer i material conductor presenta característiques electroquímiques diferents a les corresponents a un macroelèctrode amb la mateixa superfície física. Aquest fet s'ha atribuït a una estructura del compòsit equivalent a un conjunt de microelèctrodes connectats en paral·lel. Una de les característiques electroquímiques que porten a aquesta conclusió és l'observada mitjançant voltamperometria cíclica. S'observa que quan la velocitat d'escombrat és prou baixa s'obté un voltamperograma que presenta «plateaux» enlloc de pics, és a dir, l'elèctrode opera en estat estacionari (*steady state*) en el qual predomina una difusió radial (també anomenada difusió esfèrica) dels reactius cap a la superfície dels microelèctrodes². Aquest fenomen s'ha estudiat amb més detall en el capítol 4.

Oldham³ va demostrar matemàticament que la intensitat registrada per un elèctrode no segueix estrictament l'equació de Cottrell, equació (5.4.1-1)

$$i(t) = \frac{n \cdot F \cdot A \cdot D_0^{1/2} \cdot C_0}{\pi^{1/2} \cdot t^{1/2}} \quad (5.4.1-1)$$

on n és el nombre d'electrons transferits, F és la constant de Faraday, D_0 és el coeficient de difusió i C_0 és la concentració de l'espècie electroactiva, sinó que es veu augmentada per un terme que depèn del perímetre de l'elèctrode, tal com es mostra a l'equació (5.4.1-2)

$$i(t) = n \cdot F \cdot D_0 \cdot C_0 \cdot \left[\frac{A}{(\pi \cdot D_0 \cdot t)^{1/2}} + \frac{P}{2} + \dots \right] \quad (5.4.1-2)$$

on P és el perímetre de l'elèctrode i A és la superfície.

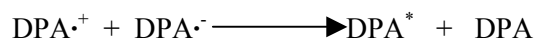
Aquest terme és pràcticament negligible respecte el terme dependent del temps en els macroelèctrodes, però té un pes molt important en els microelèctrodes i en la resposta obtinguda per feixos de microelèctrodes. Aquest és l'anomenat efecte de les vores o *edge effect*.

Assumint que un compòsit, doncs, es comporta com un feix de microelèctrodes, es podria demostrar que la intensitat registrada segueix l'equació d'Oldham. De fet, alguns autors han realitzat càlculs matemàtics a partir de mesures electroquímiques per comprovar l'efecte de les vores en un compòsit conductor, assumint, però, que les zones actives de la superfície del compòsit tenen geometries i distribucions uniformes, per tant aquestes teories no aporten informació sobre la geometria i distribució real de les zones electroactives al compòsit⁴⁻¹¹.

Per tant, per obtenir informació sobre la distribució i geometria real de les zones electroactives d'un compòsit cal emprar altres tècniques. Engstrom *et al.*¹²⁻¹³ van desenvolupar un mètode basat en una tècnica iontoforètica així com el mètode de la quimioluminescència electrogenerada, ECL (*Electrogenerated ChemiLuminescence*) que permeten visualitzar únicament les zones conductores d'un elèctrode.

Mitjançant tècniques òptiques tals com la microscòpia electrònica (SEM) s'obté informació sobre la morfologia del compòsit, però no és possible determinar quines són les zones realment electroactives¹⁴, tal com s'ha vist a §5.3.3.

En canvi, mitjançant la quimioluminescència electrogenerada, es pot visualitzar únicament aquelles zones de l'elèctrode que siguin electroactives, ja que consisteix en la generació electroquímica de productes en estat excitat singlet o triplet de manera que la relaxació d'aquests productes es produeix mitjançant l'emissió de llum^{15,16}. Aquests productes, com que són generats electroquímicament, únicament apareixeran en les zones electroactives de la superfície de l'elèctrode. Un experiment típic seria l'aplicació d'un esglao de potencial a l'elèctrode en un medi que conté DPA (9,10-difenilantracè), de manera que a la superfície de l'elèctrode es genera primer el radical anió i després el radical catió, de manera que quan aquestes dues espècies reaccionen, es forma una molècula neutra no excitada i una altra d'excitada:



La iontoforesi també permet generar mapes de les zones conductores. Es basa en la intensitat faradaica registrada a cada punt de l'elèctrode en bombardejar la seva superfície amb espècies electroactives emprant una micropipeta, dins la qual hi ha un fil conductor al qual se li aplica una certa intensitat (la intensitat d'ejecció) durant un cert període de temps. Aplicant un potencial adequat entre l'elèctrode de treball i un elèctrode de referència, es llegeix la intensitat faradaica de la reacció redox a la superfície de l'elèctrode de treball i d'aquesta manera es poden generar mapes de l'activitat

electroquímica de l'elèctrode^{12,17}. Aquesta intensitat faradaica, és molt dependent de la distància entre la micropipeta i la superfície de l'elèctrode, de l'amplitud del corrent d'ejecció i del temps que s'aplica el corrent d'ejecció, per tant aquests paràmetres s'hauran d'optimitzar prèviament. Aquesta tècnica permet, a més, distingir la diferent activitat electroquímica entre les zones actives, i com es produeix la transició entre zones electroactives.

Amb totes dues tècniques (iontoforesi i ECL) es va observar que un compòsit conductor presenta una distribució heterogènia de les zones electroactives, així com mides i geometries irregulars. A més, la tècnica de la quimioluminescència electrogenerada també va fer possible visualitzar l'efecte de les vores².

Engstrom *et al.*¹³, van desenvolupar tres sistemes químics diferents per aplicar la tècnica de la ECL a un compòsit conductor basat en «carbon paste». Un dels sistemes es basa en Ru(bpy)₃²⁺, oxalat de sodi i tampó oxalat, però la luminescència generada no és prou estable com per ser mesurada (possiblement degut a un efecte «fouling» de l'elèctrode). Un segon sistema es basa en solvents orgànics, i tot i que aquest sistema presenta bons resultats no va resultar compatible amb el compòsit que ells van emprar. Aquest sistema consisteix en una solució de DMF amb rubrè (5,6,11,12-tetrafenilnaftalè) 0.43 mM, peròxid de benzoil 0.41 mM i perclorat de tetraetilamoni 0.1 M. El tercer sistema es basa en una solució aquosa de luminol i és aquest sistema el que es va emprar per caracteritzar el sensor. Però aquest sistema és incompatible amb els compòsits desenvolupats en el present treball.

Akins i Birke¹⁸ van realitzar estudis de la quimioluminescència electrogenerada de diverses substàncies aromàtiques en dimetilformamida (DMF) com a solvent. També van emprar mescles de DMF amb altres solvents hidrocarburs, observant que s'aconsegueix generar una quimioluminescència molt intensa, però amb el problema que els reactius en aquests medis descomponen en uns pocs dies. Mitjançant aquests estudis, van determinar el mecanisme de les reaccions involucrades, i van descobrir que barrejant dues substàncies aromàtiques es podia generar quimioluminescència electroquímicament treballant en estat estacionari, és a dir, a potencial constant, no aplicant un esglao de potencial.

El principal problema de la tècnica de ECL és que el nombre de substàncies que es poden emprar són limitades i els reactius electroquímics més àmpliament emprats per mesurar la cinètica dels elèctrodes no acostumen a presentar el fenomen de quimioluminescència electrogenerada. A més, els mecanismes que segueixen les reaccions que involucren quimioluminescència electrogenerada són complicades i fan difícil la interpretació dels resultats obtinguts.

Una tècnica més nova és la microscòpia d'escombrat electroquímic. El microscopi electroquímic és un instrument capaç de detectar reaccions electroquímiques amb elevada resolució prop de les interfases. Es basa en reaccions que tenen lloc en un ultramicroelèctrode (punta) a mida que es fa passar per tota la superfície d'un altre elèctrode (substrat) a una distància molt curta del mateix. Aquesta tècnica es pot emprar, doncs, per generar imatges de l'activitat electroquímica de la

superfície d'un elèctrode, així com per obtenir mesures quantitatives de les velocitats de reaccions, tal com es descriu amb més detall a §5.4.2.

El 1986 van aparèixer diversos treballs on es començaven a desenvolupar els principis d'aquesta tècnica. Liu *et al.*¹⁹ desenvolupen un primer prototipus de microscopi electroquímic, destacant com a avantatges respecte la tècnica de SEM (microscopi electrònic) el fet que no es requereix treballar al buit i respecte la tècnica de STM (microscòpia per efecte túnel) que permet treballar en solució. Engstrom *et al.*²⁰ també desenvolupen un prototipus de microscopi electroquímic i demostren la capacitat d'aquesta nova tècnica de determinar el perfil de concentracions d'espècies redox dins de la capa de difusió d'un macroelèctrode, de proporcionar mapes de la reactivitat de les diferents zones d'aquest macroelèctrode i de detectar intermedis de reacció de temps de vida molt curts. La microscòpia electroquímica es basa en uns principis semblants a la iontoforesi, però permet una major resolució i el rang de materials analitzables és major. Però no és fins al 1989 que Bard *et al.*²¹ desenvolupen completament i patenten aquest instrument, i publiquen treballs on comproven la capacitat d'aquesta tècnica d'obtenir mesures topogràfiques, així com mesurar distàncies entre punta (ultramicroelèctrode) i substrat (elèctrode estudiat), tant quan aquest és conductor com no conductor, sent la seva capacitat de realitzar estudis amb substrats no conductors una característica exclusiva d'aquesta tècnica. Alguns reviews i articles explicant els principis d'aquesta tècnica han aparegut des del 1989, com el publicat per Engstrom i Pharr²² i més recentment el publicat per Mirkin²³, Bard *et al.*²⁴ i Mirkin i Horrocks²⁵.

Recentment s'han fet estudis on es combinen aquestes dues darreres tècniques, la quimioluminescència electrogenerada i la microscòpia electroquímica, realitzant el que s'anomena microscòpia d'escombrat òptic²⁶.

Per últim, cal esmentar una altra tècnica relacionada amb les ja esmentades, basada en el transport de càrrega per efecte túnel. Aquest mètode, igual que el mètode de SECM, consisteix en escombrar la superfície de l'elèctrode emprant un ultramicroelèctrode (en el cas òptim amb una punta de diàmetre atòmic). Aquest ultramicroelèctrode passa molt proper a la superfície de l'elèctrode i la seva distància respecte la superfície estudiada es va modificant amb la fi de mantenir una intensitat de corrent per efecte túnel constant. D'aquesta manera es pot aconseguir una imatge del relleu de la superfície de l'elèctrode estudiat amb una resolució atòmica. Aquesta tècnica, normalment s'aplica en mostres seques, però per poder realitzar la caracterització de la superfície d'un elèctrode s'ha de portar a terme en solució¹⁹, cosa que implica una elevada puresa dels solvents i dels reactius. Per tant, degut als inconvenients d'emprar aquesta tècnica en solució, no s'emprarà en el present treball. Enlloc d'aquesta tècnica, s'emprarà SEM (microscòpia d'escombrat electrònic) per aconseguir imatges de les característiques físiques del compòsit, i SECM per obtenir imatges de l'activitat electroquímica de la superfície del compòsit.

5.4.2. Scanning Electrochemical Microscopy (SECM)

La microscòpia d'escombrat electroquímic (SECM) és una tècnica que permet determinar les característiques físiques i els paràmetres electroquímics a diferents microzones d'un elèctrode, emprant un ultramicroelèctrode (de diàmetre igual o inferior a 10 μm), com el que es mostra a la figura 5.4.2-1, tot i que en alguns casos, enlloc d'utilitzar elèctrodes amb forma de microdiscs, s'han emprat elèctrodes amb forma de microcilindres o microcons. El microelèctrode es pot mantenir a la mateixa posició x-y i es pot modificar la seva distància respecte el substrat a mida que es registra la seva intensitat o es pot fer passar per tota la superfície de l'elèctrode estudiat o substrat generant, així, imatges topogràfiques i mapes de reactivitat electroquímica. Aquest microelèctrode, al qual es referirà com a punta, es pot moure perpendicularment al substrat (eix z) o al llarg dels eixos x i y emprant un microposicionador amb resolució de l'ordre dels nanòmetres, basat en un mecanisme on s'empren cristalls piezoelèctrics²³.

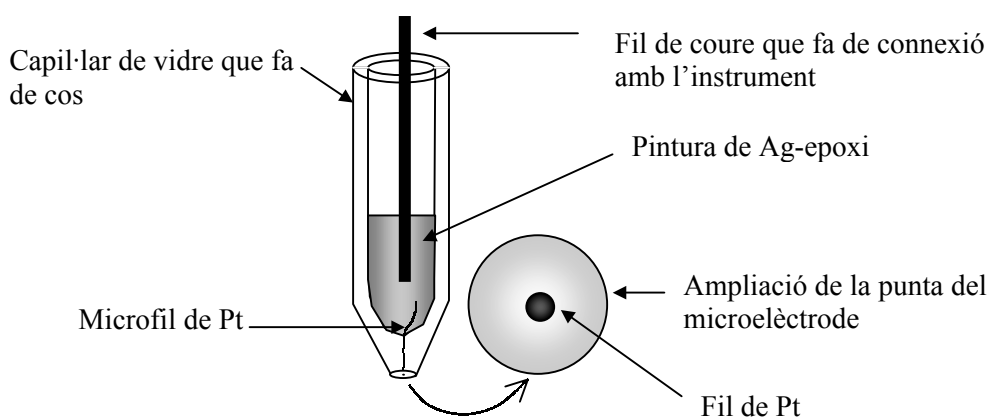


Figura 5.4.2-1. Esquema de l'ultramicroelèctrode que actua de punta en els experiments de SECM

Per tant, es podria dir que es tracta d'un “microscopi químic” on enlloc d'analitzar interaccions entre radiacions electromagnètiques i la mostra, s'estudien reaccions electroquímiques, de manera que no només s'obté informació topogràfica, sinó també electroquímica. A la figura 5.4.2-2 es mostra l'aspecte extern d'aquest instrument²⁷.

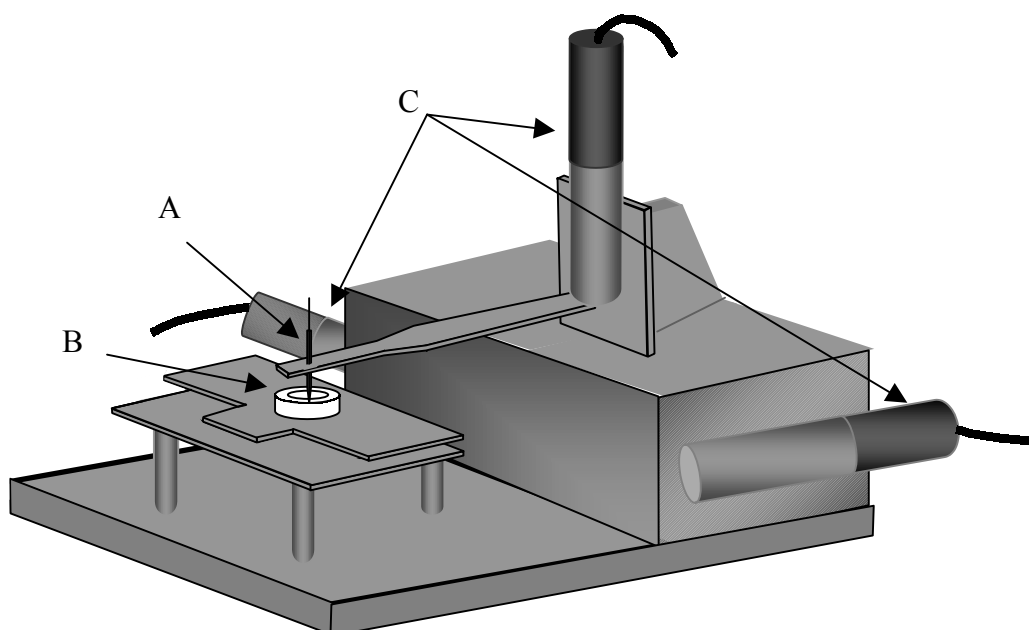


Figura 5.4.2-2. Esquema de l'instrument per realitzar SECM. A. Ultramicroelèctrode o punta, B. cel·la de mesura on es col·loca el substrat i la solució, C. motor microposicionador, permet posicionar el microelèctrode als diferents punts del substrat amb una precisió de l'ordre dels micròmetres.

La resolució lateral obtinguda amb aquesta tècnica depèn en gran mesura del radi de l'ultramicroelèctrode emprat com a punta, sent millor com més petit sigui aquest radi. És per això que s'han realitzat diversos treballs amb l'objectiu de minimitzar al màxim el radi de la punta^{28,33}, i en alguns casos s'empra la mateixa tècnica SECM per caracteritzar-los. Els materials més freqüents emprats per construir les puntes són fibra de carboni, platí i aleacions Pt-Ir. En treballs més recents, també s'han desenvolupat puntes modificades per tal d'obtenir respostes selectives, tals com ultramicroelèctrodes enzimàtics per monitoritzar la formació de peròxid d'hidrogen a diferents superfícies durant la reducció d'oxigen³⁴. Per últim, un cas interessant de puntes és la desenvolupada per Solomon i Bard³⁵, basada en una micropipeta plena d'una solució aquosa amb elevada concentració de mediador i d'electròlit suport emprada en medis orgànics, que continguin una concentració de mediador molt inferior. Solomon i Bard demostren la similitud en la resposta i resolució obtingudes amb aquesta micropipeta i una punta basada en un metall, i els avantatges que presenta tals com facilitat de construcció i intensitats registrades superiors. El desavantatge principal de les micropipetes és una major caiguda òhmica deguda a una elevada resistència que deforma lleugerament els voltamperogrames cíclics obtinguts. La utilització de filtres matemàtics pot millorar la resolució de les imatges preses amb puntes relativament grans. Així, Lee *et al.*³⁶ han desenvolupat un mètode matemàtic basat en filtres de Laplace i Gaussians per tal de millorar la resolució de les imatges preses amb puntes de diferents mides. Mitjançant aquest filtre aconseguixen millorar imatges preses amb puntes de radi relativament gran fent-les equivalents a les preses amb puntes de radis més

petits. Tot i així, aquesta tècnica està limitada en certa mesura pel radi de la punta, ja que emprant puntes de 2 μm de radi o més petites, s'aconsegueix poca millora en aplicar aquests filtres. Combinant aquests filtres amb puntes petites i treballant a distàncies de l'ordre del radi de la punta es calcula que es podria arribar a una resolució de l'ordre dels 100Å, però en aquest cas caldria millorar la precisió dels microposicionadors existents.

Les dades obtingudes amb microscòpia electroquímica són de tipus electroquímic i per tant també es requerirà un elèctrode de referència i un auxiliar (en cas de realitzar-se mesures amperomètriques), que estaran submergits junt amb el substrat i la punta dins d'una solució amb electròlit suport i una substància electroactiva, tal com es mostra a l'esquema de la figura 5.4.2-3.

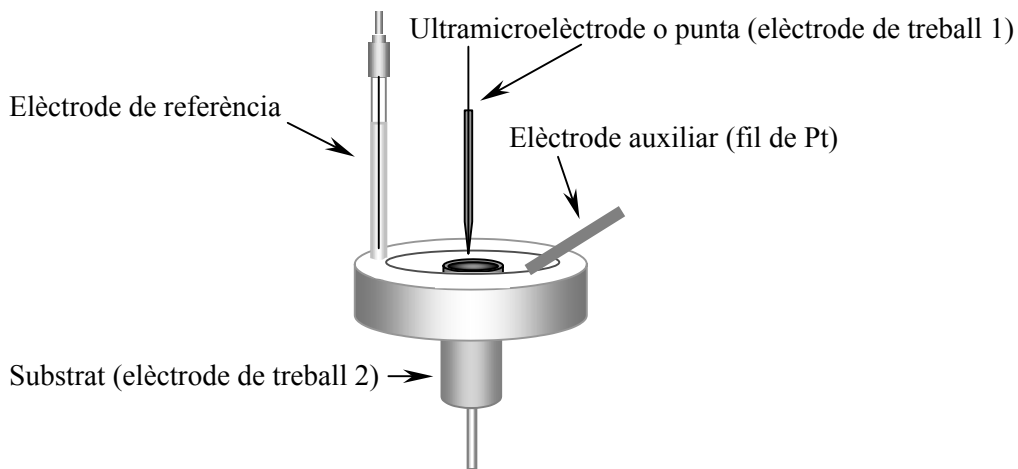


Figura 5.4.2-3. Esquema de la cel·la de mesura en un equip SECM

La punta sempre està connectada a la cel·la, el substrat també hi pot estar connectat tot i que depèn del mode amb el que es treballi, per exemple, no s'acostuma a connectar quan es tracta d'un substrat no conductor o de tipus biològic, com es veurà més endavant. A més de permetre realitzar mesures electroquímiques, aquesta tècnica també permet la microfabricació, tals com la dissolució o deposició de metalls^{37,38} i polímers conductors^{39,40} en microzones d'un substrat.

A diferència de la tècnica STM (*scanning tunnelling microscopy*), amb la tècnica SECM es registren corrents faradaiques degudes a processos redox, per tant està controlada per velocitats de transferència de càrrega, transport de massa, etc. Així doncs, es poden realitzar mesures relativament lluny del substrat, entre 1nm i 10 μm (mentre que amb STM la distància màxima és 1nm) i per tant es podran mesurar paràmetres de la capa de difusió del substrat. En aquesta tècnica, doncs, la intensitat registrada a la punta està relacionada amb el potencial al qual se sotmet la punta i amb el potencial al qual se sotmet el substrat. A la figura 5.4.2-4²⁷ es mostra un esquema del funcionament d'aquest instrument, on es pot observar que tant el microposicionador com el bipotenciostat estan controlats mitjançant un ordinador, que també registrarà les intensitats a la punta, i_p , en funció de la seva posició

en el pla x-y, generant-se, així, la imatge de SECM. Wittstock *et al.*⁴¹ van publicar un exemple de construcció de l'instrument així com del desenvolupament del software necessari per controlar-lo. Caracteritzaren l'instrument i determinaren la seva resolució, reproductibilitat, paràmetres de calibrat i el seu límit de detecció.

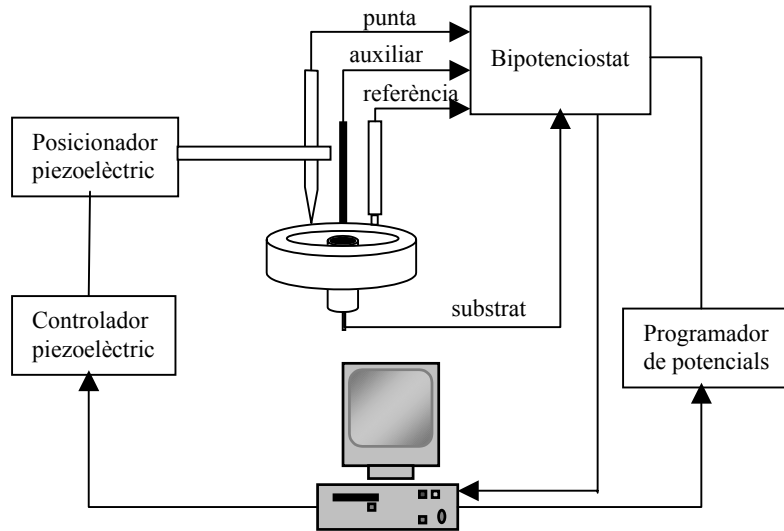


Figura 5.4.2-4. Esquema d'un instrument SECM

La resolució d'aquesta tècnica depèn en gran mesura de la mida i la forma de la punta, tal com s'ha dit anteriorment, però quan es realitzen mapes en el pla x-y la resolució acostuma a estar al voltant dels 20 μm , mentre que quan es realitzen experiments en la direcció y (per caracteritzar capes de difusió, espècies de vida molt curta, etc) la resolució pot arribar a ser de 2-3 μm .

Segons la forma de la punta, hi ha diferents expressions que prediuen la intensitat que s'hi registrarà²⁴. Per una punta en forma de microdisc, es té:

$$i_p = \frac{nFADC^*}{d} \quad (5.4.2-3)$$

on d és la distància entre la punta i el substrat i C^* és la suma de les concentracions de l'espècie oxidada i la reduïda. Per una punta amb forma esfèrica o semiesfèrica es té:

$$i_p = 2\pi nFD_0 C^* r \cdot \ln[1 + (r/d)] \quad (5.4.2-4)$$

on r és el radi de l'esfera i D_0 és el coeficient de difusió del mediador, i per una punta amb forma de con, es té:

$$i_p = 2\pi nFD_0 C^* a^* (1 + \alpha^2)^{1/2} \cdot [1 - \gamma' \cdot \ln(1 + 1/\gamma')] \quad (5.4.2-5)$$

on $\alpha = a^*/H$, a^* és el radi de la base del con i H és l'alçada, i $\gamma' = d/H$. La limitació de la punta amb forma cònica és que a mida que la distància es fa petita, arriba un punt que la intensitat registrada és independent d'aquesta distància. Les puntes amb forma de disc i d'esfera tenen comportaments semblants entre si, i són les puntes amb forma de disc les que s'empren amb més freqüència. La

intensitat registrada a la punta, i_p , deguda al procés redox pertinent es caracteritza per presentar en primer lloc un corrent transitori que decau fins arribar a l'estat estacionari. El corrent en aquest estat estacionari quan la punta es troba a una distància del substrat equivalent a diverses vegades el disc del microelèctrode (considerada infinita), $i_{p,\infty}$, bé donat per l'equació⁴²:

$$i_{p,\infty} = nFCD_0a \quad (5.4.2-6)$$

La tècnica de SECM permet realitzar totes les tècniques electroquímiques tals com la voltamperometria cíclica, cronoamperometria o potenciometria, a més de permetre l'obtenció d'imatges tant de la topografia com de la reactivitat de la superfície. Per tant es pot emprar per obtenir imatges de la topografia i diferent reactivitat electroquímica a diferents punts d'un substrat^{24,43,44}, però també per obtenir coeficients de difusió^{45,46}, constants cinètiques⁴⁷, isoterms d'adsorció⁴⁸⁻⁵³, estudis de la dissolució de cristalls iònics immobilitzats en una superfície⁵⁴⁻⁶⁰, estudis de la transferència de càrrega durant el creixement dels cristalls⁶¹ i estudis de corrosió⁶², caracterització de microelèctrodes^{31,32,63}, mesura del gruix de microfilms^{45,64}, processos de transferència de càrrega a diverses interfícies^{45,65} i estudis de l'activitat catalítica d'enzims i l'activitat de cèl·lules vives immobilitzades en un substrat conductor o no conductor^{43,66-69}, entre d'altres.

Segons el tipus de microelèctrode emprat, però, també es poden portar a terme mesures potenciomètriques, de manera que serà possible l'anàlisi de substàncies no electroactives, com per exemple la detecció de flux i perfils de concentracions d'ions de metalls alcalins emprant un ISE (elèctrode selectiu a ions) adequat. Horrocks *et al.* desenvoluparen els models necessaris per aplicar puntes potenciomètriques a la microscòpia electroquímica⁷⁰. Desenvoluparen puntes potenciomètriques per escombrar superfícies determinant concentracions d'espècies no electroactives, en aquest cas H^+ . Empraren aquestes puntes sensibles a pH per estudiar processos de generació de gasos sobre elèctrodes de Pt durant la reducció d'aigua, la corrosió de substrats de Ag submergits en solucions de cianur potàssic, l'activitat catalítica de la ureassa immobilitzada al substrat i l'activitat de certs llevats quan es troben en un medi amb glucosa. Altres exemples de puntes potenciomètriques es troben al treball desenvolupat per Gyurcsányi *et al.*⁷¹ on es construeix un microelèctrode selectiu a ions basat en una membrana de polipirrole per la detecció de K^+ , un dels cations més importants en l'activitat cel·lular.

A continuació es parlarà dels modes d'operació més freqüents en SECM i de com s'aplicarà aquesta tècnica en la visualització dels compòsits.

MODES MÉS FREQÜENTS D'OPERACIÓ DEL SECM

Hi ha diferents modes d'operació del SECM²⁵ Els experiments bàsics són els de col·lecció, els de corrent altern i els de *feedback*, tot i que existeixen d'altres modes (com els experiments de penetració, el mode de *feedback* de transferència iònica o el mode de pertorbació de l'equilibri) que no es tractaran al present treball degut a la seva poca rellevància en aquest estudi.

Mode de col·lecció

Els experiments de col·lecció es poden portar a terme amb diferents condicions instrumentals, sent la més freqüent l'anomenada "generació transitòria/col·lecció a potencial constant" o TG/CPC (*transient generation/constant potential collection*), que consisteix en l'aplicació d'un esglaió de potencial al substrat, de manera que es produeix una reacció redox del material electroactiu dissolt, per exemple si és una substància reduïda es produiria la reacció $R \rightarrow O + ne^-$. La punta, en canvi, es manté a un potencial constant, E_p , de manera que la substància O produïda és reduïda de nou cap a R, generant-se així una intensitat a la punta, i_p , que és la que es registra. Mesurant el temps que triga O en arribar a la punta es pot mesurar la distància entre la punta i el substrat. Els experiments de col·lecció també es poden classificar segons si O es genera al substrat o a la punta, de manera que es tenen els modes de "generació a la punta/col·lecció al substrat" o TG/SC (*tip generation/substrate collection*) i el de "generació al substrat/col·lecció a la punta" o SG/TC (*substrate generation/tip collection*), sent aquest darrer el més comú.

Els experiments de col·lecció permeten determinar el perfil de concentració de les espècies oxidades prop del substrat al llarg d'un temps inferior als 4 segons i ignorant qualsevol distorsió de la capa de difusió deguda a la presència de la punta. El mode SG/TC presenta com a avantatges principals la possibilitat de determinar el perfil dels fluxos de substàncies electroquímicament inactives (realitzant mesures potenciomètriques^{70,71}) o d'espècies que pateixen reaccions d'oxidació o de reducció irreversibles, així com determinar l'activitat catalítica d'enzims immobilitzats al substrat, ja que, a diferència del mode de *feedback* (que es veurà a l'apartat següent) on sempre es registra un corrent a la punta que podria emascarar l'existència de fluxos generats en el substrat, en aquest mode el corrent registrat a la punta és zero quan no es produeix la reacció d'interès al substrat. Tot i que el mode de *feedback* és el més recomanable per l'estudi de reaccions heterogènies, el mode de SG/TC també es pot emprar en l'estudi d'algunes reaccions heterogènies com processos de corrosió o reaccions enzimàtiques.

Una limitació important d'aquest mètode és que al substrat es genera un corrent faradaic i un de no faradaic i tots dos es transmeten a la punta mitjançant la resistència i la capacitat generada entre els dos elèctrodes, produint un corrent transitori a la punta que interfereix amb la mesura del corrent faradaic i_p , especialment quan el temps de mesura és curt, ja que a temps curts és quan el corrent no faradaic és major. Aquest corrent no faradaic augmenta també quan la mida del substrat augmenta.

Un altre mode dins dels experiments de col·lecció és realitzar voltamperogrames cíclics a la punta. Aquest mètode és l'anomenat «*generation/cyclic voltammetric collection*» (G/CVC) i és especialment útil per identificar espècies o determinar paràmetres cinètics d'espècies inestables dissoltes provinents del substrat.

Mode de «feedback» amperomètric

Per una altra banda, es tenen els experiments de retroalimentació (*feedback*), on la punta, la qual se sotmet a un potencial constant, actua de font i de detector al mateix temps. En aquest cas, la intensitat registrada a la punta, i_p , és funció de la naturalesa del substrat i la distància a la que es troba de la punta. Tant els experiments en mode de col·lecció com els experiments de *feedback* es poden portar a terme aplicant potencials transitoris al substrat i/o a la punta⁷² o bé en mode d'estat estacionari (la punta i el substrat es mantenen a potencial constant). Tot i així, és preferible treballar a potencial constant, sempre que l'experiment ho permeti, ja que presenta menys problemes de registre i tractament de dades.

El procés electroquímic que té lloc quan es treballa amb un substrat conductor que es sotmet a un potencial constant consisteix bàsicament en l'oxidació a la punta d'una espècie reduïda R cap a O, que al seu torn és reduïda al substrat formant-se més R que difon cap a la punta (figura 5.4.2-5.A), de manera que a mida que la punta s'acosta al substrat, aquesta "detecta" una major concentració de R, augmentant, així, la intensitat i_p registrada (figura 5.4.2-5.B). Aquest fenomen és exclusiu de sistemes on es troben dos elèctrodes de treball molt propers entre si, en una solució sense convecció, i rep el nom de «*feedback* positiu».

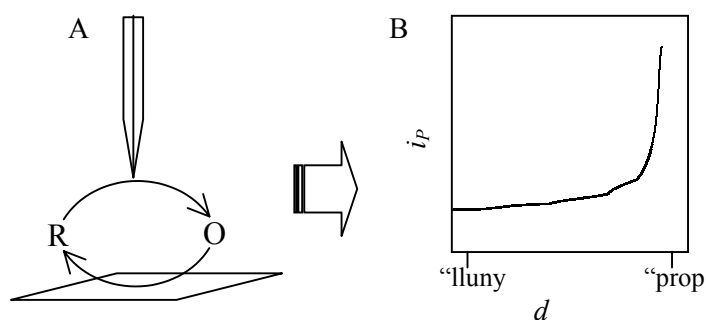


Figura 5.4.2-5. Esquema del procés que es dona quan l'equip de SECM es fa treballar en mode de *feedback* amperomètric amb un substrat conductor. A. Procés que es dona a la punta. B. Forma aproximada de la corba intensitat registrada a la punta, i_p , respecte la distància entre aquesta i el substrat, d . Es considera "lluny" quan d correspon a diverses vegades el radi de la punta, i "prop" quan la d correspon a uns pocs micròmetres (inferior al radi de la punta).

Un aspecte molt interessant d'aquesta tècnica en mode de *feedback* és la possibilitat de ser utilitzada amb substrats no conductors, que és exclusiva d'aquesta tècnica. Ni tan sols el mètode de STM permet analitzar la superfície d'un substrat no conductor.

Quan el substrat és aïllant elèctric, es produeix l'efecte contrari, a mida que la punta s'acosta al substrat, la difusió de R cap a la punta es veu més impedida (figura 5.4.2-6.A) i per tant la intensitat

registrada a la punta, i_P , tendirà a disminuir més ràpidament com més propera estigui al substrat, tendint a zero (figura 5.4.2-6.B), és el que s'anomena un «feedback negatiu»²¹.

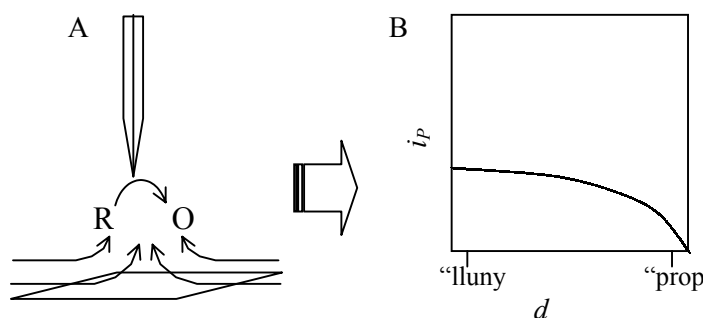


Figura 5.4.2-6. Esquema del procés que es dona quan l'equip de SECM es fa treballar en mode de feedback amperomètric amb un substrat aïllant elèctric. A. Procés que es dona a la punta. B. Forma aproximada de la corba intensitat registrada a la punta, i_P , respecte la distància entre aquesta i el substrat, d . Es considera "lluny" quan d correspon a diverses vegades el radi de la punta, i "prop" quan la d correspon a uns pocs micròmetres (inferior al radi de la punta).

La intensitat registrada a la punta varia amb la distància entre punta i substrat i amb la naturalesa del substrat^{73,74}. Així, per substrats conductors es té l'expressió:

$$\frac{i_P}{i_{P,\infty}} = A + \frac{B}{d/a} + C \cdot e^{[D/(d/a)]} \quad (5.4.2-7)$$

mentre que per substrats no conductors, l'expressió és la següent:

$$\frac{i_P}{i_{P,\infty}} = \left[k_1 + \frac{k_2}{d/a} + k_3 \cdot e^{(k_4/(d/a))} \right]^{-1} \quad (5.4.2-8)$$

Els paràmetres A , B , C i D i k_1 , k_2 , k_3 i k_4 s'han calculat segons la relació entre el radi de l'anell de vidre que aïlla la punta i el radi de la mateixa punta, i es poden trobar en taules a la referència 21.

Existeixen treballs on es realitzen estudis analítics del mode de *feedback* tant amb substrats conductors elèctrics com amb substrats aïllants, de manera que es proposen models matemàtics que descriuen i permeten predir les intensitats registrades a la punta respecte la distància al substrat^{21,24}. També existeixen referències on es desenvolupen estudis cinètics emprant el mode de *feedback*^{75,76}. Tot i així, en el present treball no es tractarà aquest tema amb tanta profunditat ja que s'allunyaria dels objectius proposats.

Per tant, escombrant una superfície al llarg de les dimensions x i y es pot obtenir informació de les zones conductores i no conductores d'un substrat i per tant, mitjançant un tractament adequat, es pot obtenir una imatge de la superfície del substrat.

Obtenció d'imatges de la reactivitat de la superfície i mesures cinètiques

La capacitat de la tècnica de SECM de prendre mesures electroquímiques en zones concretes amb elevada resolució i la seva elevada velocitat de transferència de massa permeten realitzar estudis per comprovar mecanismes i localització física de processos de transferència electrònica així com realitzar mesures cinètiques de reaccions ràpides. D'aquesta manera, és possible registrar mapes de reactivitat d'una superfície, que tant pot ser conductora, com no conductora, com mixta⁷⁷.

En el present treball s'aprofitarà aquesta propietat per realitzar mesures de la diferent reactivitat electroquímica de les diferents zones d'un compòsit de manera que s'obtidran imatges on apareixeran amb colors diferents les zones amb reactivitat electroquímica diferent. Els resultats també es poden presentar com a superfícies on els eixos x i y representen aquestes dues mateixes dimensions, i l'eix de les z representa la intensitat i_p , registrada per la punta a cada punt.

El procés d'obtenció d'imatges topogràfiques i/o de reactivitat electroquímica, es pot portar a terme de dues maneres, mantenint l'alçada de la punta constant i registrant les diferents intensitats en anar passant per la superfície, o bé fent variar l'alçada per tal de mantenir la intensitat de la punta constant²⁵. En el primer cas, es representa la intensitat registrada a cada punt i s'obté, així, una imatge tridimensional. La resolució es pot millorar emprant ultramicroelèctrodes de radi el més petit possible, o emprant el que s'anomena «lents químiques»^{78,79} que consisteixen en un mediador redox inestable que participa en una reacció homogènia amb altres espècies presents al medi. Aquesta reacció fa que la capa de difusió de la punta (ultramicroelèctrode) es faci més prima, i per tant pot ajudar a obtenir imatges més clares mitjançant l'eliminació parcial de l'efecte d'eixamplament (visualització de zones amb dimensions majors de les que tenen realment) degut a la difusió. L'obtenció d'imatges mantenint la punta a una alçada constant es pot aconseguir emprant mode de *feedback* o el mode de col·lecció. El mode de *feedback* proporciona una imatge de la distribució de les zones electroactives d'un substrat, mentre que el mode de col·lecció permet obtenir imatges de flux d'espècies produïdes o consumides al substrat. En mode de col·lecció, però, l'eixamplament per efecte de la difusió és més acusat, per tant només s'empra en els casos on el mode de *feedback* no és factible, per exemple, s'empra mode de col·lecció quan s'utilitzen certs enzims de cinètica lenta, de manera que la regeneració dels mateixos pot ser més lenta que la regeneració del mediador redox al substrat i per tant en mode de *feedback* no es podria observar l'activitat d'aquests enzims.

També es poden obtenir imatges variant l'alçada de la punta per tal de mantenir la intensitat registrada a la mateixa constant. Treballant a alçada constant es corre el risc que la punta xoqui contra les protuberàncies del substrat, aquest problema es pot evitar fent servir el mode d'intensitat constant. El problema de treballar a intensitat constant, però, és que no és factible amb substrats que continguin microzones conductores i no conductores barrejades, ja que quan la punta es trobi sobre una zona no conductora, col·lisionarà contra el substrat.

Quan el substrat és conductor és difícil discernir entre la topografia i la conductivitat de les diferents zones escombrades. És per això que s'han realitzat treballs on es combinen tècniques electròniques que proporcionen exclusivament dades topogràfiques amb la microscòpia electroquímica, de manera que és possible obtenir una imatge topogràfica independentment de la imatge de la reactivitat electroquímica de la superfície estudiada. Exemples d'aquesta integració són la combinació de SECM amb microscòpia de força atòmica (AFM), o microscòpia per efecte túnel (STM). Totes tres tècniques poden emprar la mateixa punta i el mateix instrument, però les intensitats registrades a la punta tenen orígens diferents. Quan l'instrument es fa treballar en mode d'AFM (o STM, tot i que aquest darrer cas és més complicat degut a problemes tècnics), la intensitat registrada a la punta no té origen faradaic, sinó que és purament degut a una interacció atòmica entre la punta i el substrat (en aquest cas únicament és possible l'obtenció de la topografia de substrats conductors), mentre que quan el mode de treball és SECM, la intensitat registrada a la punta és purament faradaica, ja que s'origina a partir de reaccions electroquímiques. Un exemple d'aquesta integració es troba al treball desenvolupat per James *et al.*⁸⁰, on combinen AFM amb SECM en mode de col·lecció sobre un substrat de platí per tal de visualitzar la seva topografia i la seva reactivitat electroquímica. Jones *et al.*⁸¹ empen una estratègia similar per visualitzar la topografia d'una membrana porosa i per discernir els porus on es produeix transport de massa.

Per a substrats heterogenis, la tècnica de la microscòpia electroquímica ha estat de gran ajut per poder visualitzar la diferent reactivitat electroquímica als diferents punts d'aquests substrats, sent possible l'observació de diferències en la transferència electrònica deguda a defectes cristal·lins dins d'un metall o a la diferent composició elemental d'una sèrie de microelèctrodes integrats. Un exemple d'aquest darrer cas és l'estudiat per Engstrom *et al.*⁸² on visualitzen una diferent cinètica de transferència de càrrega entre carboni i platí, en un substrat format per una combinació de microelèctrodes de C i de Pt dins d'una matriu d'epoxi.

Per una altra banda, mitjançant SECM es poden generar heterogeneïtats en un substrat que en un principi és homogeni. Diversos exemples es poden trobar emprant polímers electroactius i polímers conductors. Wittstock *et al.*⁸³ empen SECM per dipositar electroquímicament bandes de polipirrole a zones localitzades d'un substrat i empen el mateix SECM per caracteritzar-les. Aquesta tècnica, doncs, permet la microfabricació i caracterització de sensors i biosensors. Un cas similar és el desenvolupat per Kucernak *et al.*⁸⁴ on dipositen un aïllant elèctric en diferents punts d'un substrat de platí. Kwak *et al.*⁸⁵ també treballen amb polipirrole, però en aquest cas empen SECM per modificar el potencial a diferents punts d'un substrat de polipirrole, de manera que generen microzones de polipirrole oxidades (conductores) i reduïdes (no conductores) al mateix substrat. En aquest cas, també empen SECM per obtenir imatges on s'observa aquesta diferent conductivitat. Lee i Bard⁸⁶ desenvolupen un estudi similar emprant polímers electroactius, modificant la seva reactivitat electroquímica segons el potencial aplicat a cada microzona del substrat. Per últim, un cas interessant és el de les monocapes d'alcantiolat⁸⁷, que es poden desorbir en diferents microzones aplicant el

potencial adequat emprant SECM, de manera que es formen superfícies modificables selectivament per diferents substàncies de reconeixement selectiu, com ara enzims. Aquestes microzones es visualitzaren també emprant SECM.

Obtenció d'imatges de material biològic

Una aplicació més recent de la microscòpia electroquímica ha estat l'estudi de cèl·lules vives i biomolècules (enzims, anticossos i DNA), tant en la visualització de la topografia, com de l'activitat biològica desenvolupada.

Els modes més freqüents emprats en SECM per treballar amb biomolècules i cèl·lules són els modes de *feedback* i de generació/col·lecció (G/C), tot i que quan l'activitat catalítica dels enzims immobilitzats o de la cèl·lula és baixa, s'acostuma a emprar preferentment el mode G/C ja que amb mode de *feedback* no seria possible distingir el senyal degut a l'enzim del senyal de fons. El desavantatge d'emprar mode de G/C respecte el mode de *feedback* és que s'aconsegueix menor resolució espacial degut a la major difusió dels flux produïts en mode G/C.

El 1990 Lee *et al.*⁸⁸ empren el mode de *feedback* per obtenir imatges topogràfiques d'una fulla de gespa immobilitzada, així com per visualitzar la seva activitat biosintètica. La informació topogràfica és obtinguda emprant un mediador redox ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$), la punta és un disc de Pt de 1 μm de radi, sotmès a un potencial de +0.7 V vs. SCE, i la superfície s'escombra a 23.7 $\mu\text{m/s}$, mentre que la informació sobre l'activitat fotosintètica s'obté mitjançant la detecció d' O_2 , emprant un ultramicroelèctrode de C de radi 5.5 μm sotmès a un potencial de -0.85 V vs SCE. Més endavant, Tsionsky *et al.*⁸⁹ aconsegueixen per primera vegada realitzar mesures topogràfiques i d'activitat fotosintètica d'una fulla viva, encara unida a la planta, emprant SECM en mode de col·lecció per detectar els flux d' O_2 provinents de la fulla quan aquesta és il·luminada i quan es troba a les fosques.

A partir d'aquest moment es realitzen diversos experiments emprant SECM on s'estudien diferents orgànuls cel·lulars emprant mode de *feedback*^{43,90} i de G/C⁴⁴. També s'han realitzat estudis de la topografia de cèl·lules vives^{66,91,92}, així com de l'activitat cel·lular basant-se en la permeabilitat de la seva membrana⁶⁷ i en l'activitat dels enzims situats a la mateixa membrana o al citoplasma^{66,92}. La permeabilitat de les membranes cel·lulars a certs ions presenta una importància clínica crucial a l'hora de tractar certes malalties. Així doncs, Yasukawa *et al.*⁶⁷ realitzen un estudi de la permeabilitat a CN^- de cèl·lules provinents de mamelles humanes sanes i canceroses. De fet, amb l'objectiu d'entendre millor els mecanismes de funcionament de la difusió i transferència electrònica a través de membranes s'han realitzat estudis emprant membranes biològiques⁹³⁻⁹⁵, monocapes⁹⁶ i bicapes lipídiques^{97,98}, així com a través interfases líquid/líquid⁹⁹⁻¹⁰² i films¹⁰³. S'han realitzat, també, altres estudis de cèl·lules vives canceroses emprant SECM basant-se en l'activitat catalítica d'enzims citoplasmàtics, tant dels relacionats amb la diferent mobilitat cel·lular⁹², com dels responsables de flux provinents del citoplasma cap a l'exterior, com el flux d'àcids⁶⁶.

Per una altra banda, s'han realitzat estudis de biomolècules immobilitzades, tals com enzims, interaccions antígen/anticòs i DNA. Fan *et al.*⁶⁹ demostren la capacitat del SECM per obtenir imatges de DNA, així com de la interacció antígen/anticòs (marcat amb un enzim) i l'activitat catalítica de la glucosa oxidasa. La microscòpia electroquímica s'ha emprat, doncs, en l'obtenció d'imatges de la distribució enzimàtica en una superfície i de la seva activitat catalítica. Quan la cinètica de l'enzim és lenta, es recomana utilitzar el mode de G/C^{90} , tot i que el mode de *feedback* presenta una major resolució espacial, tal com s'ha comentat anteriorment.

L'enzim més estudiat emprant aquest mètode és la glucosa oxidasa immobilitzada en substrats no conductors, ja que presenta una cinètica prou ràpida com per emprar el mode de *feedback*. Així doncs, s'han realitzat estudis de distribució i activitat d'aquest enzim^{43,90}, així com estudis cinètics establint models i ordres de reacció⁷⁰, obtenint-se una millor relació senyal/soroll (i per tant un límit de detecció més baix) com menor sigui la concentració del mediador (C_{red}) emprat i major sigui el radi de la punta (a), seguint la inequació següent:

$$K_{cat} \cdot \Gamma_{enz} \geq \frac{10^{-3} \cdot (D_{red} \cdot C_{red})}{a} \quad (5.4.2-9)$$

on $K_{cat} \cdot \Gamma_{enz}$ és el flux màxim de la reacció enzimàtica i $\frac{10^{-3} \cdot (D_{red} \cdot C_{red})}{a}$ és el flux màxim del mediador des del si de la solució cap a la punta.

El mètode de SECM també s'ha emprat en la construcció i caracterització de biosensors basats en glucosa oxidasa (GOD). Kranz *et al.*⁶⁸ empen SECM per dipositar electroquímicament un polímer conductor on immobilitzen GOD i empen aquesta mateixa tècnica per obtenir imatges de la distribució i activitat de l'enzim en mode de *feedback*. En aquest cas, es produeix un *feedback* positiu tant per part del suport com de l'enzim, de manera que resulta més difícil obtenir dades quantitatives degut al soroll generat pel suport. Wittstock *et al.*¹⁰⁴, en canvi, empen mode de *feedback* per visualitzar la distribució de GOD immobilitzada en un suport d'or, però empen mode de col·lecció amperomètrica per determinar l'activitat a partir de la detecció de H_2O_2 . El problema d'aquesta tècnica és que l'excés de peròxid d'hidrogen fa que les imatges siguin borroses, però aquest problema es pot solucionar afegint catalasa al medi en concentracions molt baixes. La catalasa consumeix part del peròxid fent que la capa de difusió es faci més prima, de manera que les imatges esdevenen més clares. Cal tenir en compte, però, que un excés de catalasa podria eliminar completament el senyal provinent de la GOD.

S'han emprat altres enzims amb SECM. Per exemple, Horrocks *et al.* van realitzar l'estudi de la desactivació de l'ureasa immobilitzada en un suport d'or mitjançant l'aplicació de potencials, mesurant la concentració de NH_4^+ generat emprant una punta potenciomètrica en mode de col·lecció¹⁰⁵. O'Brien *et al.* han realitzat l'estudi de l'activació i desactivació d'enzims situats a diferents punts d'una superfície d'èster de cianoacrilat completament coberta d'alcohol deshidrogenasa generant pH extrems al microentorn d'un grup d'enzims emprant la punta¹⁰⁶. Altres

estudis s'han realitzat emprant la diaforasa, enzim que es troba a la membrana cel·lular i que catalitza l'oxidació del coenzim nicotinamida ($\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$), en mode de *feedback*. Shiku *et al.*¹⁰⁷ utilitzen SECM per realitzar la microimmobilització d'aquest enzim en diferents punts d'un substrat en la construcció de biosensors, i descriuen el procés de desactivació de l'enzim generant HOBr a partir de Br^- , en microzones al voltant d'un cert grup d'enzims emprant la punta. Yamade *et al.*¹⁰⁸ empen aquest mateix enzim i realitzen estudis cinètics emprant SECM. Un altre exemple és el treball realitzat per Kranz *et al.*¹⁰⁹ on empen una monocapa de tiol sobre la qual immobilitzen microperoxidasa covalentment i empen SECM per visualitzar l'enzim.

Per últim, cal esmentar que el SECM s'ha emprat amb èxit en la visualització de molècules de DNA^{69,110,111}, obtenint-se conformacions estructurals que podrien resultar de vital importància especialment per entendre processos de transcripció genètica. També s'han estudiat interaccions antigen/anticòs en estudis ELISA emprant antigen marcat amb dioxina¹¹² i HRP (per exemple, en l'estudi de CEA, antigen relacionat amb el càncer¹¹³)

5.4.3. Procediment experimental

Donat el tipus de cel·la i la disposició de la mateixa a l'instrument, es va modificar la construcció dels elèctrodes basats en compòsits per tal de simplificar el muntatge de la cel·la. En aquest cas, l'elèctrode es va construir emprant un cos de vidre de 5 mm de diàmetre extern. Enlloc d'un connector, es va utilitzar un fil conductor, els extrems del qual es van pintar amb estany per obtenir millor connexió. Un dibuix esquemàtic d'aquesta configuració es pot veure a la figura 5.2.4-1 (1).

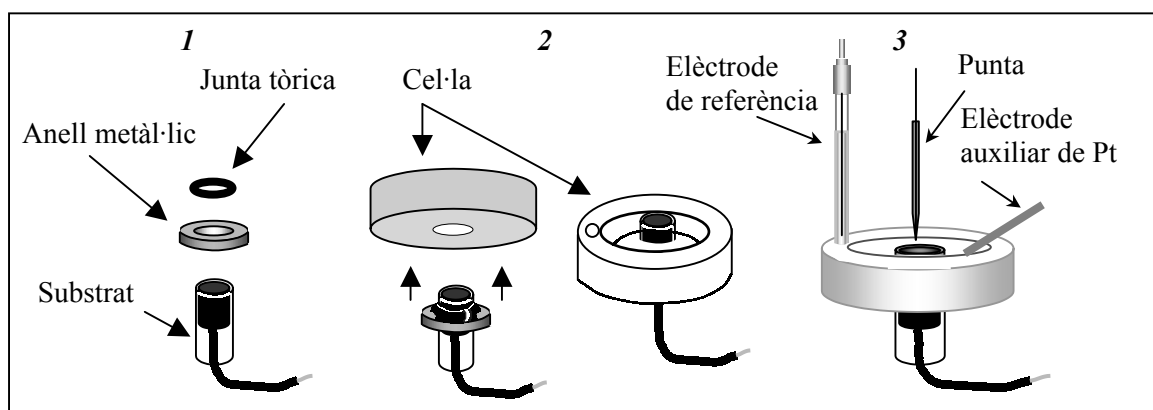


Figura 5.2.4-1. Esquema del muntatge del substrat a la cel·la de mesura. (1) Configuració del macroelèctrode basat en un compòsit conductor, el qual se situa dins d'un anell metàl·lic que facilitarà la disposició correcta dins de l'instrument, al voltant de l'elèctrode es col·loca una junta tòrica per tal de fer el sistema el més hermètic possible. (2) Per últim l'elèctrode es fa passar pel forat de la cel·la de tefló. A (3) es mostra la configuració final de la cel·la un cop instal·lats els elèctrodes de referència, auxiliar i punta.

La realització dels experiments emprant el microscopi electrònic és similar a qualsevol altra mesura electroquímica. S'empra una cel·la de tefló amb un forat al fons per on se situa l'elèctrode que actua de substrat tal i com es mostra a la figura 5.2.4-1. En aquesta mateixa cel·la es col·loca l'elèctrode de referència i l'auxiliar.

Un cop col·locada la cel·la dins de l'instrument, s'omple de la solució més adequada per realitzar l'experiment, sent en el present cas una solució d'acetonitril o metanol amb TBAP 0.08 M i ferroccè 2 mM.

Aleshores, es fa apropar la punta cap al substrat fins que la intensitat registrada és 200% de la intensitat registrada a una distància del substrat infinita, $i_{T\infty}$, és a dir, diverses vegades el radi de la punta. Aquesta distància es va calcular emprant l'equació (5.4.2-7), obtenint-se un valor d'aproximadament 3 μm . Aquest valor, però, és un valor simplement orientatiu, ja que donat que el gruix del vidre de la punta no es coneix amb certesa, els paràmetres emprats per calcular la distància a partir d'aquesta equació són simplement estimacions, i per tant el valor obtingut d'aquest càlcul portarà un error considerable. A més, aquesta equació es va obtenir empíricament emprant substrats tals com carboni vitrificat o platí, que tenen superfícies totalment conductores, mentre que els compòsits presenten zones conductores i no conductores, i per tant una electroactivitat no homogènia a tota la seva superfície.

La imatge es genera fent passar la punta per una superfície de $200\mu\text{m} \times 200\mu\text{m}$ sobre el substrat, per tant es treballa a distància punta-substrat constant, a la vegada que es registra la intensitat a la punta. La velocitat de la punta és 30.03 $\mu\text{m/s}$, i els escombrats només es realitzen en una sola direcció. En el cas dels compòsits d'Araldite-M, Araldite-CW2215 i silicona, el potencial aplicat a la punta és de 0.3 V, al qual el ferroccè és oxidat, i el substrat se sotmet a -0.1 V, al qual el ferricini és reduït. Pel que fa als compòsits d'Araldite-GY250, i d'Araldite-PY302-2, el potencial aplicat a la punta és de 0.05 V i el substrat se sotmet a -0.3 V. Així doncs, es treballa en mode de *feedback*, de manera que les zones conductores del substrat haurien de proporcionar un *feedback* positiu, mentre que les zones no conductores proporcionaran un *feedback* negatiu.

Les imatges obtingudes corresponen a l'activitat electroquímica que es dona a cada punt de la superfície del substrat i es presenten en forma d'escala de colors, tot i que també es podrien presentar en forma de superfícies, però es prefereix l'escala de colors ja que s'obté una major claredat a l'hora d'interpretar els resultats.

5.4.4. Resultats i discussió

La microscòpia electroquímica, com s'ha vist, té un gran avantatge respecte la microscòpia electroquímica, ja que permet obtenir informació sobre la reactivitat química de les superfícies dels elèctrodes. Les figures 5.4.4-1 – 5.4.4-5 mostren imatges SECM obtingudes dels cinc compòsits estudiats en els capítols 4 i 5. Totes aquestes imatges tenen com a tret comú una distribució de zones electroactives i no electroactives aleatòria a la superfície dels compòsits. Per tant, confirmen les conclusions obtingudes a partir dels experiments electroquímics realitzats al capítol 4, ja que confirmen l'existència de microzones electroactives similars a un feix de microelèctrodes, amb mides, formes i distribucions totalment aleatòries.

Cal tenir en compte, però, que el procés d'obtenció d'imatges és complex, especialment degut a la rugositat dels compòsits, ja que aquesta rugositat també és de l'ordre dels micròmetres, de manera que en alguns punts de les imatges es té contacte físic entre la punta i el substrat, donant lloc a corrents d'intensitat massa elevada respecte el que cal esperar per un microelèctrode de 5 µm de radi, amb una concentració de ferro de 2 mM i amb un feedback positiu.

Un altre tret interessant d'aquestes imatges és que mostren que el tipus de polímer emprat en la construcció dels compòsits té un efecte clar en la forma i mida de les microzones electroactives. Així, el compòsit basat en Araldite-M presenta majorment zones conductores llargues i relativament primes, mentre que el basat en silicona presenta zones conductores més arrodonides i petites. Els compòsits basats en resines epoxi mostren zones electroactives de mides en general grans, que contrasten amb zones també relativament gran sense activitat electroquímica. Això implica que aquests microelèctrodes depenen del tipus de polimerització que succeeix, de manera que les zones conductores no corresponen a partícules senceres de grafit, tal com es pot veure comparant aquestes imatges amb les fotografies preses d'aquests compòsits emprant microscòpia electroquímica, sinó que aquestes queden sobreposades i parcialment cobertes amb altres partícules de grafit i/o polímer donant lloc a les microzones electroactives que s'observen a aquestes figures.

Les imatges obtingudes mitjançant microscòpia electroquímica (SECM) concorden qualitativament amb els valors obtinguts per les superfícies actives calculades per Randles-Sevcic, on es van obtenir uns percentatges de superfície activa de 89% per l'Araldite-M/HY5162-60% grafit, 66% per l'Araldite-CW2215/HY5162-40% grafit, 50% per la silicona-50% grafit, 70% per l'Araldite-GY250/HY943-60% grafit i 72% per l'Araldite-PY302-2/HY943-60% grafit. Si bé les imatges obtingudes mitjançant SECM no permeten el càlcul de la superfície activa real, ja que només representen un requadre de 200x200 µm de la superfície total del compòsit, sí que mostren que un percentatge superior al 50% de la superfície presenta activitat electroquímica.

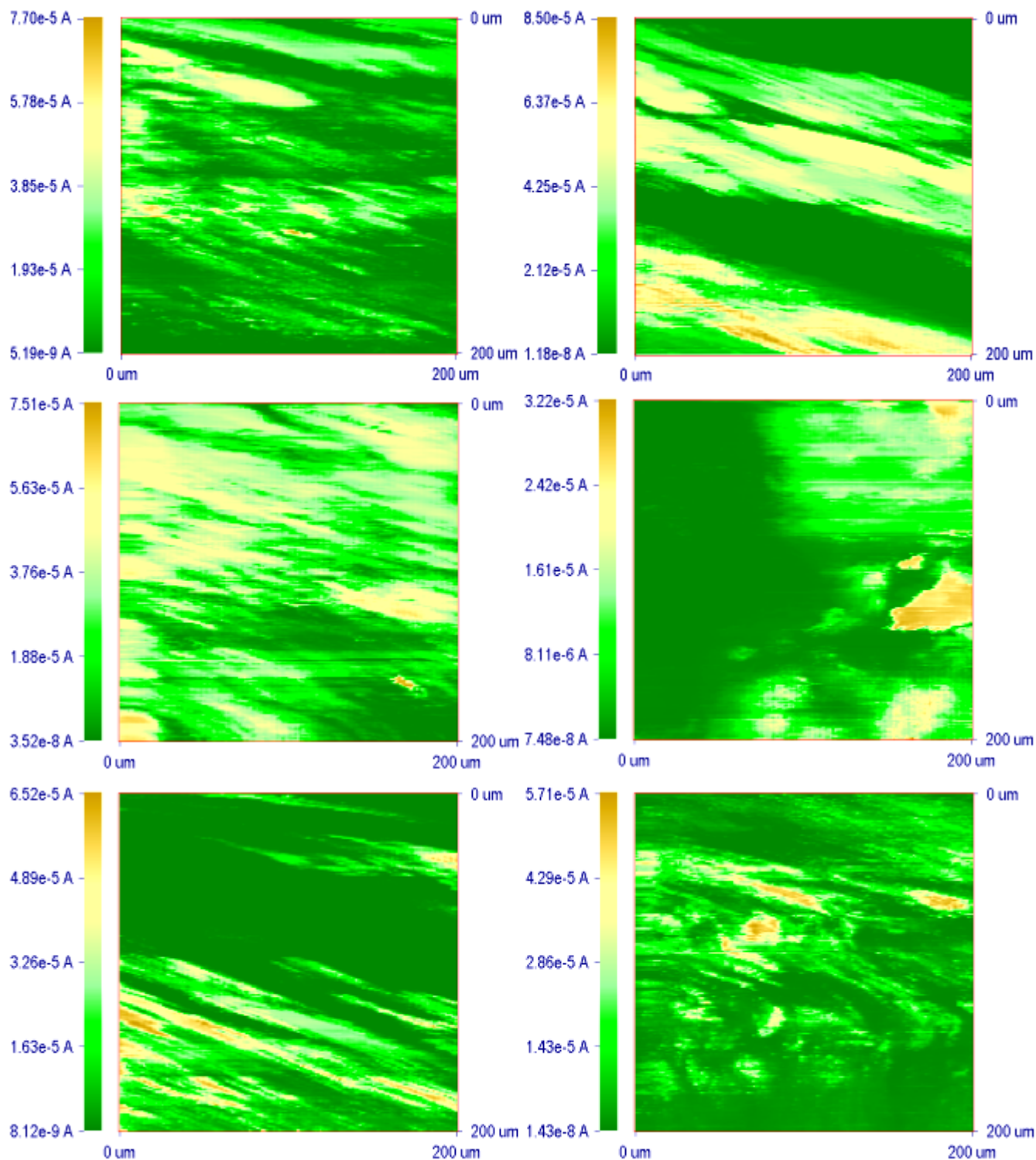


Figura 5.4.4-1. Imatges obtingudes mitjançant microscòpia electroquímica del compòsit d'Araldite-M/HY-5162-60% de grafit. La punta emprada va ser un microelèctrode de platí de 5 μm de radi. Les imatges van ser preses a temperatura ambient, en acetonitril amb TBAP 0.08 M i ferroccè 2mM. La punta es va sotmetre a un potencial de 0.3 V i el substrat (compòsit) es va sotmetre a un potencial de -0.1 V. L'elèctrode de referència va ser un Ag/Ag⁺.

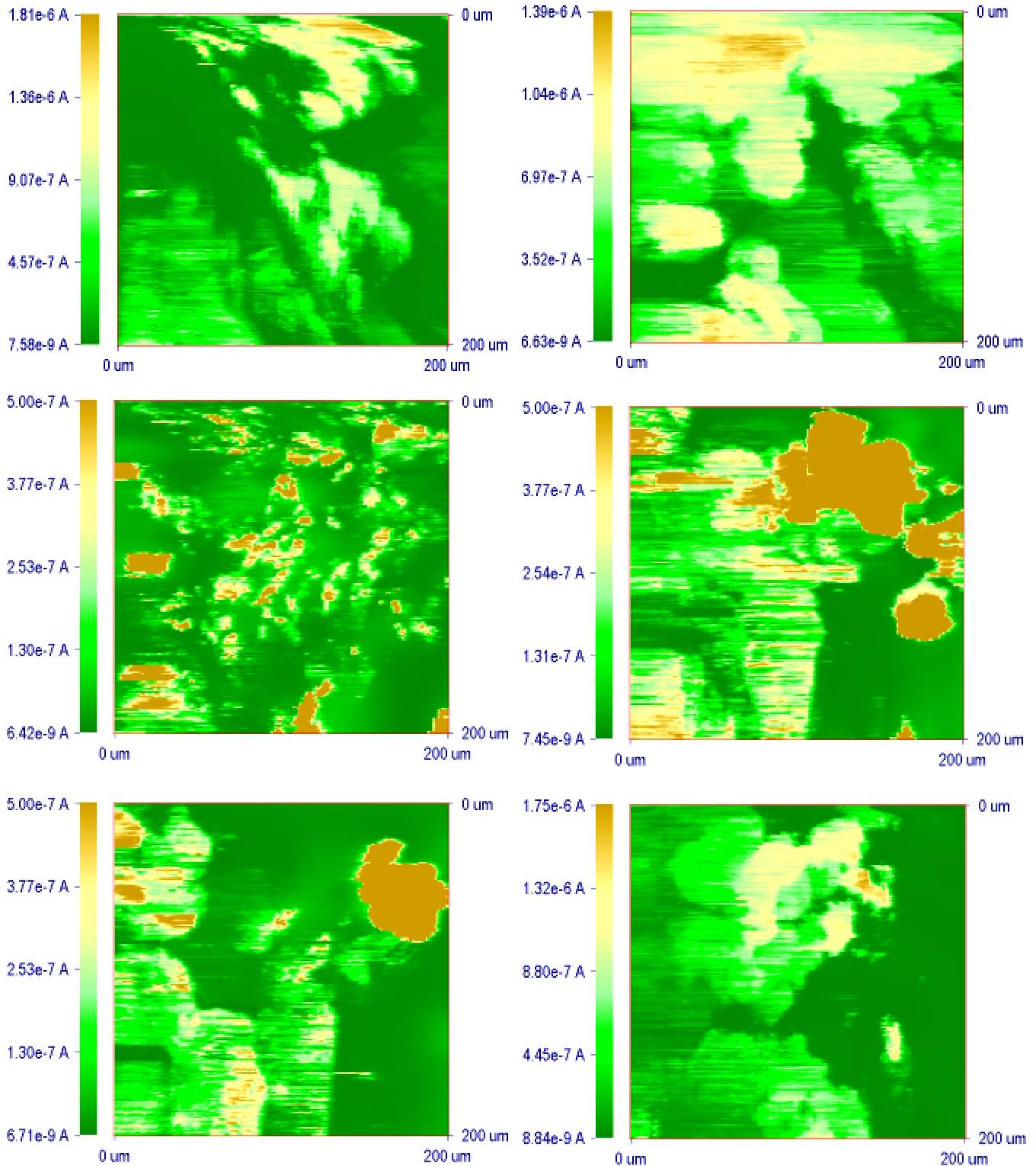


Figura 5.4.4-2. Imatges obtingudes mitjançant microscòpia electroquímica del compòsit d'Araldite-CW2215/HY-5162-40% de grafit. La punta emprada va ser un microelèctrode de platí de 5 μm de radi. Les imatges van ser preses a temperatura ambient, en acetonitril amb TBAP 0.08 M i ferrocè 2mM. La punta es va sotmetre a un potencial de 0.3 V i el substrat (compòsit) es va sotmetre a un potencial de -0.1 V. L'elèctrode de referència va ser un Ag/Ag⁺.

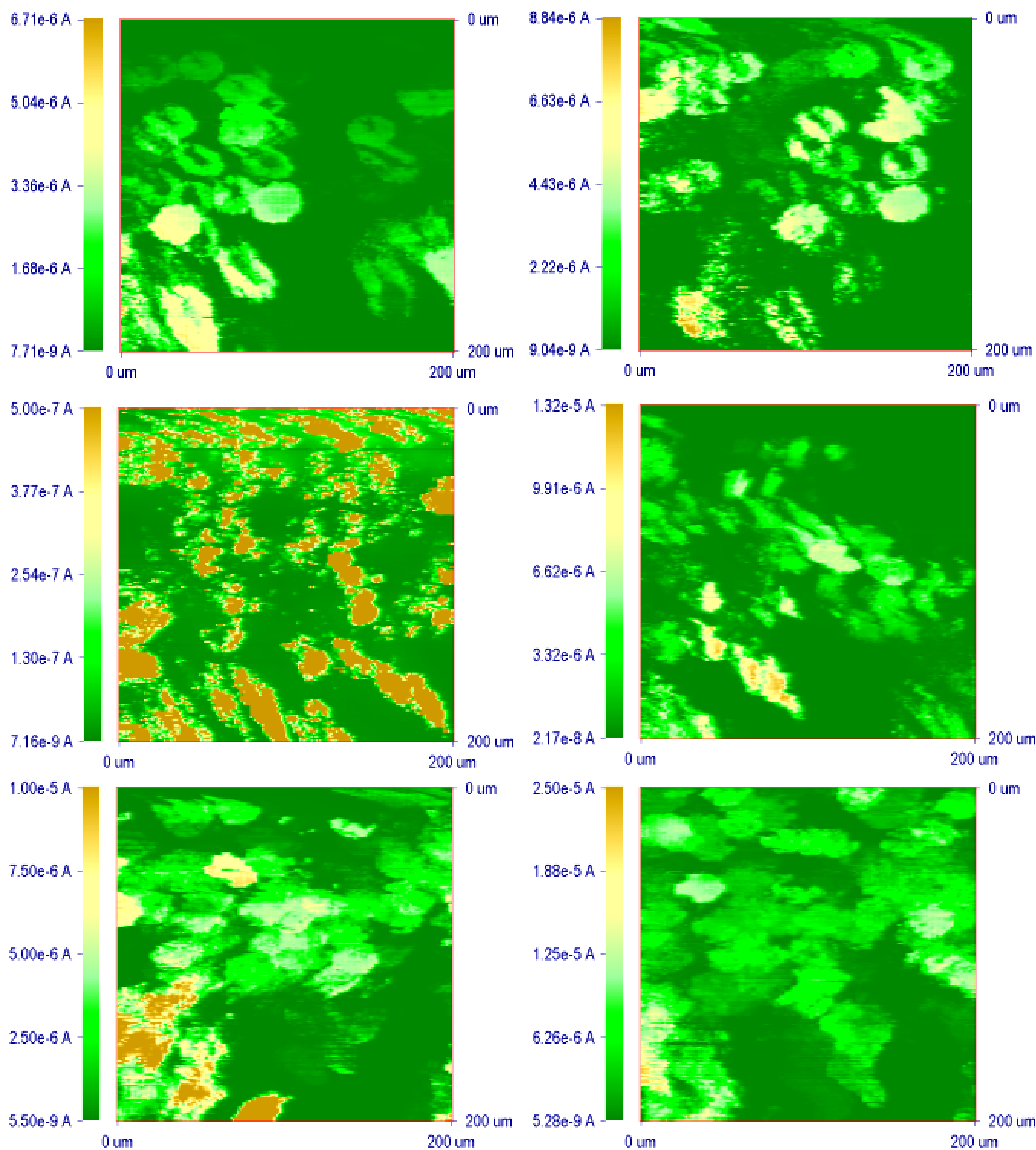


Figura 5.4.4-3. Imatges obtingudes mitjançant microscòpia electroquímica del compòsit de silicona-50% de grafit. La punta emprada va ser un microelèctrode de platí de 5 μm de radi. Les imatges van ser preses a temperatura ambient, en acetonitril amb TBAP 0.08 M i ferroccè 2mM. La punta es va sotmetre a un potencial de 0.3 V i el substrat (compòsit) es va sotmetre a un potencial de -0.1 V. L'elèctrode de referència va ser un Ag/Ag⁺.

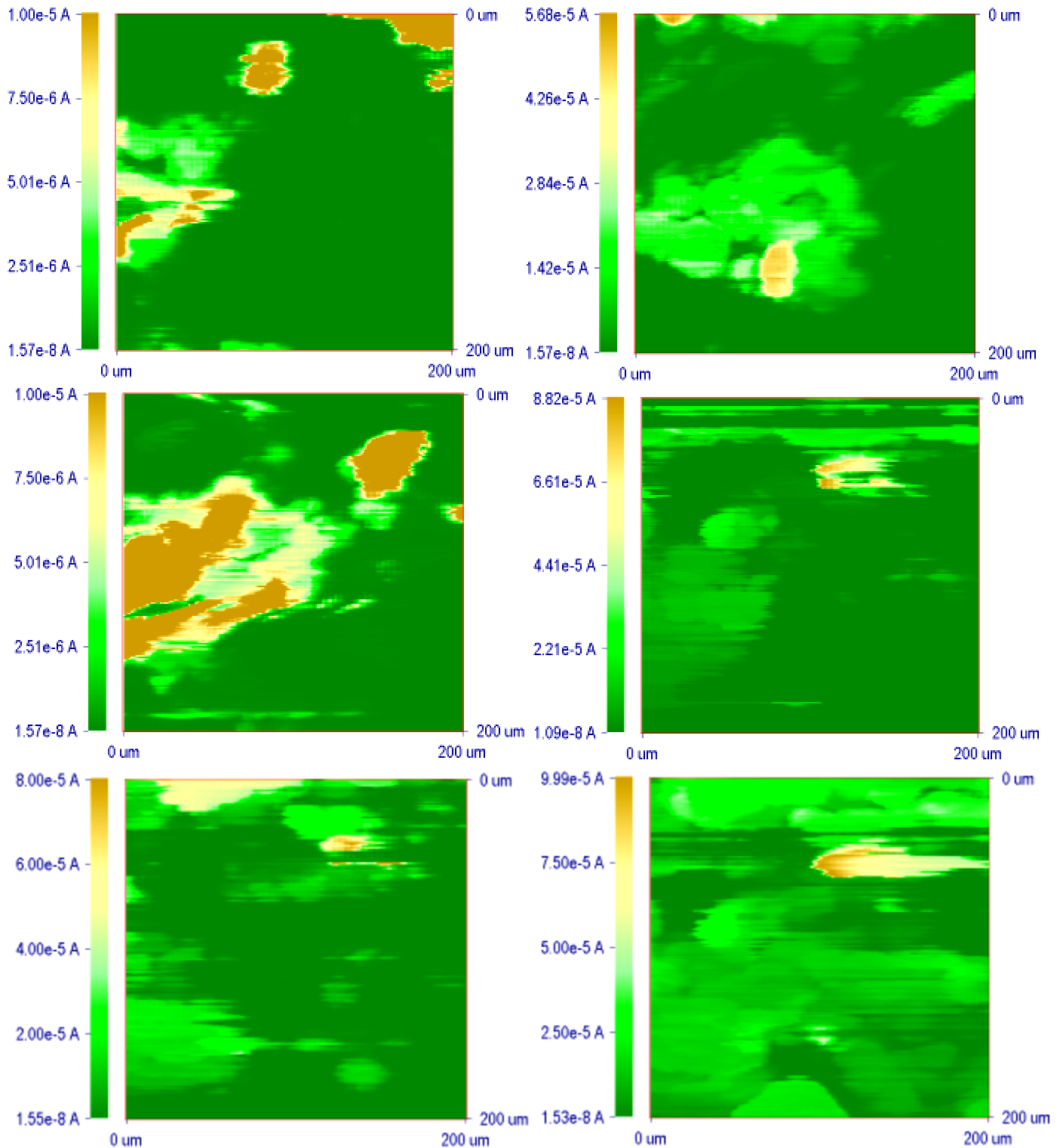


Figura 5.4.4-4. Imatges obtingudes mitjançant microscòpia electroquímica del compòsit d'Araldite-GY-250/HY-943-60% de grafit. La punta emprada va ser un microelèctrode de platí de 5 μm de radi. Les imatges van ser preses a temperatura ambient, en metanol amb TBAP 0.08 M i ferroccè 2mM. La punta es va sotmetre a un potencial de 0.05 V i el substrat (compòsit) es va sotmetre a un potencial de -0.3 V. L'elèctrode de referència va ser un Ag/Ag⁺.

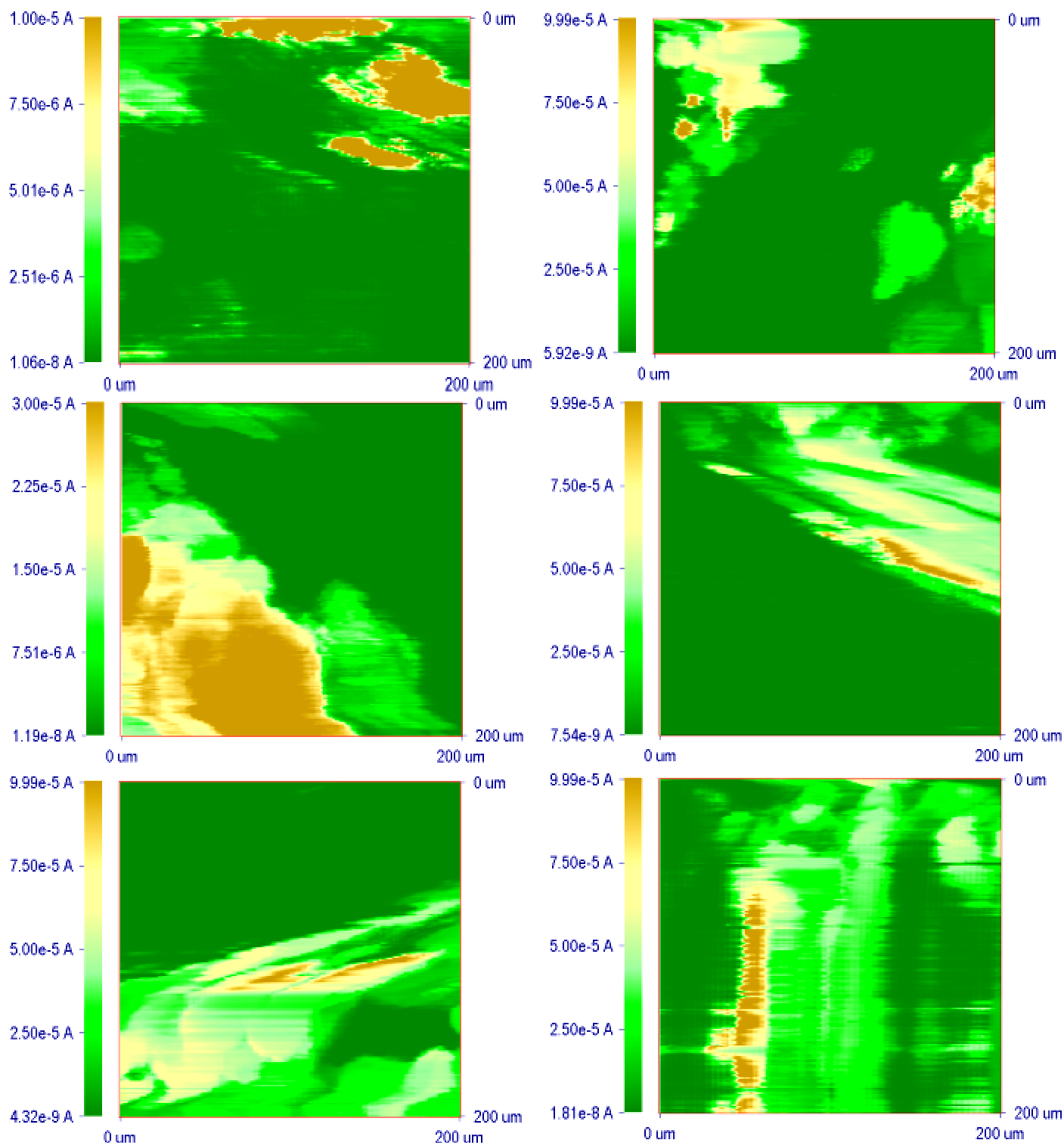


Figura 5.4.4-5. Imatges obtingudes mitjançant microscòpia electroquímica del compost d'Araldite-PY-302-2/HY-943-60% de grafit. La punta emprada va ser un microelèctrode de platí de 5 μm de radi. Les imatges van ser preses a temperatura ambient, en metanol amb TBAP 0.08 M i ferroçè 2mM. La punta es va sotmetre a un potencial de 0.05 V i el substrat (compost) es va sotmetre a un potencial de -0.3 V. L'elèctrode de referència va ser un Ag/Ag⁺.

5.5. Conclusions

Als capítols 3 i 4 es va veure que els compòsits conductors rígids desenvolupats al present treball tenen característiques electroquímiques semblants a les d'un feix de microelèctrodes. L'obtenció d'estat estacionari escombrant a $5 \text{ V}\cdot\text{s}^{-1}$, els cronoamperogrames i les gràfiques de Cottrell que no s'ajusten al comportament predit per les equacions corresponents per macroelèctrodes de superfície contínua, i les elevades relacions senyal/soroll obtingudes són exemples d'aquest comportament. Tot i així, tal com es va dir, aquests resultats no demostren l'existència d'una estructura de feix de microelèctrodes, però són dades importants que recolzen aquesta hipòtesi. En el present capítol s'han mostrat imatges obtingudes per microscòpia electroquímica on es mostra l'existència de zones electroactives i de zones no electroactives en la superfície d'aquests compòsits, aportant, així, la prova conclouent que complementa els resultats dels capítols anteriors i que confirma l'existència d'una estructura complexa que és la responsable del comportament de feix de microelèctrodes observada a capítols anteriors.

Mitjançant la combinació d'informació topogràfica, obtinguda a partir de microscòpia electrònica (SEM) i d'informació sobre la reactivitat electroquímica, obtinguda a partir de la microscòpia electroquímica (SECM), s'ha obtingut un coneixement més ampli de l'estructura física i electroquímica d'aquests compòsits. Per una banda, s'ha vist que totes les partícules de grafit que es troben a la superfície del compòsit no presenten la mateixa activitat electroquímica. De fet, comparant les imatges obtingudes per SEM amb les obtingudes per SECM, es pot veure que les zones conductores no corresponen necessàriament a partícules senceres de grafit, i que moltes d'aquestes partícules no són actives.

Les imatges per microscòpia electrònica també van permetre obtenir imatges de la influència del percentatge de grafit i de l'efecte dels diferents solvents en cada un dels compòsits. En el primer cas es va veure que un percentatge de grafit baix genera compòsits amb grans espais entre partícules de grafit i forats deguts a bombolles d'aire atrapat al polímer, mentre que percentatges més elevats generen compòsits amb partícules de grafit properes entre si, i poques bombolles.

Tant mitjançant SEM com SECM, es va veure que l'estructura del compòsit depèn en gran mesura del tipus de polímer emprat, tot i que aquestes diferències van ser més acusades en els mapes d'electroactivitat (imatges SECM). Per tant, aquestes dues tècniques es complementen, donant informació topogràfica i electroquímica sobre el compòsit que han permès confirmar definitivament l'existència d'una estructura semblant a la d'un feix de microelèctrodes a la superfície dels compòsits.

5.6. Bibliografia

1. J. P. Eberhast, "Structural and Chemical Analysis of Materials", Ed. Wiley, **1991**, capítol 20
2. Engstrom, R.; Pharr, C. M.; Koppang, M.; *J. Electroanal. Chem.*; 221 (**1987**) 251-255

3. Oldham, K. B.; *J. Electroanal. Chem.*, 122 (1981) 1-17
4. Landsberg, R.; Thiele R.; *Electrochim. Acta*; 11 (1966) 1243
5. Scheller, F.; Muller, S.; Landsberg, R.; Spitzer, J. H.; *J. Electroanal. Chem.*; 19 (1968) 187
6. Levart, E.; Schumann, D.; Contamin, O.; Etman, M.; *J. Electroanal. Chem.*; 70 (1976) 117
7. Gueshi, T.; Tokuda, K.; Matsuda, H.; *J. Electroanal. Chem.*; 89 (1978) 747
8. Gueshi, T.; Tokuda, K.; Matsuda, H.; *J. Electroanal. Chem.*; 101 (1979) 29
9. Reller, H.; Kirowa-Eisner, E.; Gileadi, E.; *J. Electroanal. Chem.*; 138 (1982) 65
10. Amatore, C.; Saveant, J. M.; Tessier, D.; *J. Electroanal. Chem.*; 147 (1983) 39
11. Contamin, O.; Levart, E.; *J. Electroanal. Chem.*; 136 (1982) 259
12. Engstrom, R. C.; Weber, M.; Werth, J.; *Anal. Chem.*, 57 (1985) 933-936
13. Engstrom, R. C.; Johnson, K. W.; DesJarlais, S.; *Anal. Chem.*, 59 (1987) 670-673
14. Petersen, S. L.; Weisshaar, D.; Tallman, D. E.; Schulze, R. K.; Evans, J. F.; DesJarlais, S.; Engstrom, R. C.; *Anal. Chem.*; 60 (1988) 2385-2392
15. Tachikawa, H.; Faulkner, L. R.; "Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry"; Kissinger; P. T., Heineman, W. R., Eds.; Marcel Dekker: New York, 1984, pp. 660-669
16. Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; "Electrochemical methods"; Wiley, New York, 1980, pp. 621-629
17. Engstrom, R. C.; *Anal. Chem.*; 56 (1984) 890-894
18. Akins, D. L.; Birke, R. L.; *Chem. Phys. Letters*; 29 (1974) 428-435
19. Liu, H. Y.; Fan, F-R. F.; Lin, C. W.; Bard, A. J.; *J. Am. Chem. Soc.*; 108 (1986) 3838-3839
20. Engstrom, R. C.; Weber, M.; Wunder, D. J.; Burgess, R.; Winkquist, S.; *Anal. Chem.*; 58 (1986) 844-848
21. Kwak, J.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 61 (1989) 1221-1227
22. Engstrom, R. C.; Pharr, C. M.; *Anal. Chem.*; 61 (1989) 1099A-1104A
23. Mirkin, M. V.; *Anal. Chem.*; 68 (1996) 177A-182A
24. Bard, A. J.; Fan, F-R. F.; Kwak, J.; Lev. O.; *Anal. Chem.*; 61 (1989) 132-138
25. Mirkin, M. V.; Horrocks, B. R.; *Anal. Chim. Acta*; 406 (2000) 119-146
26. Fan, F-R. F.; Cliffler, D.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 70 (1998) 2941-2948
27. Bard, A. J.; Fan, F-R. F.; Mirkin, M. V.; "Electroanalytical Chemistry"; Bard, A. J. Ed., Marcel Dekker, Vol. 18 (1994) 243-373
28. Lee, C.; Miller, C. J.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 63 (1991) 78-83
29. Demaille, C.; Brust, M.; Tsionsky, M.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 69 (1997) 2323-2328
30. Shi, G.; Garfias-Mesias, L. F.; Smyrl, W. H.; *J. Electrochem. Soc.*; 145 (1998) 2011-2016
31. Slevin, C. J.; Gray, N. J.; Macpherson, J. V.; Webb, M. A.; Unwin, P. R.; *Electrochem. Commun.*; 1 (1999) 282-288
32. Shao, Y.; Mirkin, M. V.; Fish, G.; Kokotov, S.; Palanker, D.; Lewis, A.; *Anal. Chem.*; 69 (1997) 1627-1634
33. Matsue, T.; Koike, S.; Uchida, I.; *Biochem. Biophys. Res. Comm.*; 197 (1993) 1283

34. Horrocks, B. R.; Schmidtke, D.; Heller, A.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 65 (1993) 3605-3614
35. Solomon, T.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 67 (1995) 2787-2790
36. Lee, C.; Wipf, D. O.; Bard, A. J.; Bartels, K.; Bovic, A. C.; *Anal. Chem.*; 63 (1991) 2442-2447
37. Hess, C.; Borgwarth, K.; Ricken, C.; Ebling, D. G.; Heinze, J.; *Electrochim. Acta*; 42 (1997) 3065-3073
38. Forouzan, F.; Bard, A. J.; *J. Phys. Chem.*; 101 (1997) 10876-10879
39. Kranz, C.; Ludwig, M.; Gaub, H. E.; Schuhmann, W.; *Adv. Mater*; 7 (1995) 38
40. Kranz, C.; Ludwig, M.; Gaub, H. E.; Schuhmann, W.; *Adv. Mater*; 7 (1995) 568
41. Wittstock, G.; Emons, H.; Ridway, T.; Blubaugh, E. A.; Heineman, W. R.; *Anal. Chim. Acta*; 298 (1994) 285-302
42. Matsue, T.; Uchida, I.; "Chemical Sensors Technology. Vol. 3"; N. Yamazoe, Eds., Elsevier, Amsterdam, 1991
43. Bard, A. J.; Fan, F-R. F.; Pierce, D. T.; Unwin, P. R.; Wipf, D. O.; Zhou, F.; *Science*; 254 (1991) 68-74
44. Yasukawa, T.; Kaya, T.; Matsue, T.; *Anal. Chem.*; 71 (1999) 4637-4641
45. Mirkin, M. V.; Arca, M.; Bard, A. J.; *J. Phys. Chem.*; 97 (1993) 10790-10795
46. Pyo, M.; Bard, A. J.; *Electrochimica Acta*; 42 (1997) 3077-3083
47. Jambunathan, K.; Shah, B. C.; Hudson, J. L.; Hillier, A. C.; *J. Electroanal. Chem.*; 500 (2001) 279-289
48. Unwin, P. R.; Bard, A. J.; *J. Phys. Chem.*; 96 (1992) 5035
49. Yang, Y. F.; Denuault, G.; *J. Electroanal. Chem.*; 418 (1996) 99
50. Yang, Y. F.; Denuault, G.; *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*; 92 (1996) 3791
51. Yang, Y. F.; Denuault, G.; *J. Electroanal. Chem.*; 443 (1998) 273
52. Yang, Y.-F.; Denuault, G.; *J. Electroanal. Chem.*; 418 (1996) 99-107
53. Yang, Y.-F.; Denuault, G.; *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*; 92 (1996) 3791-3798
54. Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; *Phys. Chem.*; 98 (1994) 1704
55. Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; *Phys. Chem.*; 98 (1994) 11764
56. Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; *Phys. Chem.*; 99 (1995) 3338
57. Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; *Phys. Chem.*; 99 (1995) 14824
58. Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; *Phys. Chem.*; 100 (1996) 19475
59. Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; Hillier, A. C.; Bard, A. J.; *J. Am. Chem. Soc.*; 118 (1996) 6445
60. Unwin, P. R.; Macpherson, J. V.; *Chem. Soc. Rev.*; 24 (1995) 109
61. Basame, S. B.; White, H. S.; *Anal. Chem.*; 71 (1999) 3166-3170
62. Garfías-Mesias, L. F.; Alodan, M.; James, P. I.; Smyrl, W. H.; *J. Electrochem. Soc.*; 145 (1998) 2005-2010
63. Mirkin, M. V.; Fan, F-R. F.; Bard, A. J.; *J. Electroanal. Chem.*; 328 (1992) 47-62
64. Mirkin, M. V.; Fan, F-R. F.; Bard, A. J.; *Science*; 257 (1992) 364-366

65. Barker, A. L.; Gonsalves, M.; Macpherson, J. V.; Slevin, C. J.; Unwin, P. R.; *Anal. Chim. Acta*; 385 (1999) 223-240
66. Liu, B.; Cheng, W.; Rotenberg, S. A.; Mirkin, M. V.; *J. Electroanal. Chem.*; 500 (2001) 590-597
67. Yasukawa, T.; Kondo, Y.; Uchida, I.; Matsue, T.; *Chem. Letters*; 8 (1998) 767-768
68. Kranz, C.; Wittstock, G.; Wohlschlager, H.; Schuhmann, W.; *Electrochim. Acta*; 42 (1997) 3105-3111
69. Fan, F-R. F.; Bard, A. J.; *Proc. Nat. Acad. Scien. USA*; 96 (1999) 14222-14227
70. Pierce, D. T.; Unwin, P. R.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 64 (1992) 1795-1804
71. Gyuresányi, R. E.; Nybäck, A.-S.; Tóth, K.; Nagy, G.; Ivaska, A.; *Analyst*; 123 (1998) 1339-1344
72. Slevin, C. J.; Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; *J. Phys. Chem. B*; 101 (1997) 10851-10859
73. Arca, M.; Bard, A. J.; Horrocks, B. R.; Richards, T. C.; Treichel, D. A.; *Analyst*; 119 (1994) 719-726
74. Mirkin, M. V.; "Scanning Electrochemical Microscopy", Bard, A. J.; Mirkin, M. V. Eds.; Marcel Dekker, New York 2000, pp. 145-199
75. Wipf, D. O.; Bard, A. J.; *J. Electrochem. Soc.*; 138 (1991) 469-474
76. Bard, A. J.; Mirkin, M. V.; Unwin, P. R.; Wipf, D. O.; *J. Phys. Chem.*; 96 (1992) 1861-1868
77. Kwak, J.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 61 (1989) 1794-1799
78. Engstrom, R. C.; Small, B.; Kattan, L.; *Anal. Chem.*; 64 (1992) 241
79. Borgwarth, K.; Ricken, C.; Ebling, D. G.; Heinze, J.; *Fresenius J. Anal. Chem.*; 356 (1996) 288
80. James, P. I.; Garfias-Mesias, L. F.; Moyer, P. J.; Smyrl, W. H.; *J. Electrochem. Soc.*; 145 (1998) L64-L66
81. Jones, C. E.; Macpherson, J. V.; Barber, Z. H.; Somekh, R. E.; Unwin, P. R.; *Electrochem. Commun.*; 1 (1999) 55-60
82. Engstrom, R. C.; Small, B.; Kattan, L.; *Analytical Chemistry*; 64 (1992) 241-244
83. Wittstock, G.; Kranz, C.; Strike, D.; Schuhmann, W.; Schmidt, H.-L.; *Microscopy and Analysis*; November (1996) 5-7
84. Kucernak, A. R.; Chowdhury, P. B.; Wilde, C. P.; Kelsall, G. H.; Zhu, Y. Y.; Williams, D. E.; *Electrochim. Acta*; 45 (2000) 4483-4491
85. Kwak, J.; Lee, C.; Bard, A. J.; *Journal of Electrochemical Society*; 137 (1990) 1481-1484
86. Lee, C.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 62 (1990) 1906-1913
87. Wittstock, G.; Hesse, R.; Schuhmann, W.; *Electroanalysis*; 9 (1997) 746-750
88. Lee, C.; Kwak, J.; Bard, A. J.; *Proc. Nat. Acad. Scien. USA*; 87 (1990) 1740-1743
89. Tsionsky, M.; Cardon, Z. G.; Bard, A. J.; Jackson, R. B.; *Plant Physiol.*; 113 (1997) 895-901
90. Pierce, D. T.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 65 (1993) 3598-3604
91. Fan, F-R. F.; Bard, A. J.; *Science*; 267 (1995) 871-874
92. Liu, B.; Rotenberg, S. A.; Mirkin, M. V.; *Proc. Nat. Acad. Scien. USA*; 97 (2000) 9855-9860
93. Nugues, S.; Denuault, G.; *J. Electroanal. Chem.*; 408 (1996) 125-140

94. Gonsalves, M.; Barker, A. L.; Macpherson, J. V.; Unwin, P. R.; O'Hare, D.; Winlove, C. P.; *Biophys. Journal*; 78 (2000) 1578-1588
95. Gonsalves, M.; Macpherson, J. V.; O'Hare, D.; Winlove, P.; Unwin, P. R.; *Biochim. Biophys.*; 1524 (2000) 66-74
96. Tsionsky, M.; Bard, A. J.; Mirkin, M. V.; *J. Am. Chem. Soc.*; 119 (1997) 10785-10792
97. Tsionsky, M.; Zhou, F.; Amemiya, S.; Fan, F-R. F.; Bard, A. J.; *Anal. Chem.*; 71 (1999) 4300-4305
98. Yamada, H.; Matsua, T.; Uchida, I.; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; 180 (1991) 1330-1334
99. Wei, C.; Bard, A. J.; Mirkin, M. V.; *J. Phys. Chem.*; 99 (1995) 16033-16042
100. Tsionsky, M.; Bard, A. J.; Mirkin, M. V.; *J. Phys. Chem.*; 100 (1996) 17881-17888
101. Barker, A. L.; Macpherson, J. V.; Slevin, C. J.; Unwin, P. R.; *J. Phys. Chem. B*; 102 (1998) 1586-1598
102. Liu, B.; Mirkin, M. V.; *J. Am. Chem. Soc.*; 121 (1999) 8352-8355
103. Williams, D. E.; Stevenson, K. I.; Massari, A. M.; Hupp, J. T.; *Anal. Chem.*; 72 (2000) 3122-3128
104. Wittstock, G.; Schuhmann, W.; *Anal. Chem.*; 69 (1997) 5059-5066
105. Horrocks, B. R.; Mirkin, M. V.; *Journal Chemical Society, Faraday Transitions*; 94 (1998) 1115-1118
106. O'Brien, J. C.; Shumaker-Parry, J.; Engstrom, R. C.; *Anal. Chem.*; 70 (1998) 1307-1311
107. Shiku, H.; Takeda, T.; Yamada, H.; Matsue, T.; Uchida, I.; *Anal. Chem.*; 67 (1995) 312-317
108. Yamada, H.; Shiku, H.; Matsue, T.; Uchida, I.; *Bioelectrochem. Bioenerg.*; 33 (1994) 91-93
109. Kranz, C.; Lötzbeyer, T.; Schmidt, H.-L.; Schuhmann, W.; *Biosens. Bioelectr.*; 12 (1997) 257-266
110. Guckenberger, R.; Heim, M.; Ceve, G.; Wiegrabe, W.; Hillebrand, A.; *Science*; 266 (1994) 1538-1540
111. Fan, F-R. F.; Bard, A. J.; *Science*; 270 (1995) 1849-1851
112. Wittstock, G.; Yu, K.-J.; Halsall, B.; Ridgway, T. H.; Heineman, W. R.; *Anal. Chem.*; 67 (1995) 3578-3582
113. Shiku, H.; Matsue, T.; Uchida, I.; *Anal. Chem.*; 68 (1996) 1276-1278