

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Eletrodos Modificados com Óxidos de Molibdênio:
Caracterização e Estudos Eletroquímicos sobre o
Processo de Oxidação Anódica do NO**

AUDREI CONTI PEREIRA

Prof. Dr. Mauro Bertotti
Orientador

São Paulo
13 / 01 / 2004

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

P436e Pereira, Audrei Conti
Eletrodos modificados com óxidos de molibdênio : caracterização e estudos eletroquímicos sobre o processo de oxidação anódica do óxido nítrico / Audrei Conti Pereira. -- São Paulo, 2004.
59p.

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Departamento de Química Fundamental.
Orientador: Bertotti, Mauro

1. Voltametria : Química analítica 2. Óxido nítrico : Química inorgânica 3. Filmes finos : Tecnologia I. T. II. Bertotti, Mauro, orientador.

543.0871 CDD

“Eletrodos modificados com óxidos de molibdênio: caracterização e estudos eletroquímicos sobre o processo de oxidação anódica do NO”

AUDREI CONTI PEREIRA

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química - Área: Química Analítica.

Aprovada por:

Prof. Dr. MAURO BERTOTTI
IQ - USP
(Orientador e Presidente)

Prof. Dr. RENATO SANCHES FREIRE
IQ - USP

Prof. Dr. RENATO CAMARGO MATOS
UFJF

SÃO PAULO
13 DE JANEIRO DE 2004.

**A DEUS, POR COLOCAR MEUS PAIS E MEUS IRMÃOS
NA MINHA VIDA**

A MINHA FAMÍLIA, QUE AMO MAIS DO QUE TUDO

**AO IGUATEMI, POR ESTAR AO MEU LADO EM TODAS
AS SITUAÇÕES**

**AO MAURO, PELA ORIENTAÇÃO E PELAS BRONCAS
E AOS MEUS AMIGOS DO LAB, POR TODOS OS
MOMENTOS DE CONVIVÊNCIA**

AGRADECIMENTOS

À Professora Denise Petri e a minha amiga Sabrina Montero Pancera, pelos resultados da elipsometria.

Ao Tiago Luis Ferreira, pelos inúmeros auxílios na preparação do filme de óxido de molibdênio.

A minha amiga Vânia Mori, por me ensinar a trabalhar com o óxido nítrico.

Ao Professor Lúcio Angnes, pelo auxílio na construção das células eletroquímicas.

Ao Luis Kosminsky, à Professora Márcia Fantini e ao Professor Manfredo Tabacnicks, pelos experimentos de SXS e RBS.

Ao José Roberto Caetano da Rocha, pelas microfotografias e espectros de EDS.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

ÍNDICE

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	iii

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO	1
1.1 – Eletrodos Modificados	1
1.2 – Eletrodos Modificados com Óxidos de Molibdênio.....	2
1.3 – Óxido Nítrico: Propriedades Químicas.....	4
1.4 – Oxidação do Óxido de Nítrico em Fase Gasosa.....	5
1.5 – Oxidação do Oxido Nítrico em Solução Aquosa	6
1.6 – Produção Enzimática do NO no Organismo.....	7
1.7 – Produção Não-Enzimática do NO no Organismo.....	8
1.8 – Funções Desempenhadas pelo NO na Fisiologia Humana	9
1.8.1 – O NO como Neurotransmissor	9
1.8.2 – O NO no Sistema Cardiovascular.....	10
1.8.3 – O NO como Agente Citotóxico.....	11
OBJETIVOS	13

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL	14
2.1 – Reagentes e Soluções.....	14
2.2 – Eletrodos.....	16
2.3 – Células Eletroquímicas.....	16
2.4 – Aparelhagem.....	18
2.5 – Experimentos Eletroquímicos.....	19
2.5.1 – Deposição de Filmes de Óxidos de Mo.....	19

2.5.2 – Efeito Eletrocatalítico dos Filmes.....	19
2.5.3 – Espessura dos Filmes e Sinais Analíticos.....	20
2.5.4 – Utilização do Filme em Meio Neutro e em Tampão Fosfato.....	20
2.5.5 – Oxidação Eletroquímica do NO em Eletrodo com Superfície Polida.....	20
2.5.6 – Oxidação Eletroquímica do NO em Eletrodos Modificados.....	21

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
3.1 – Deposição de Filmes de Óxidos de Mo.....	22
3.2 – Estudo das Condições da Deposição do Filme.....	25
3.2.1 – Concentração de Mo(VI) Fixa e Variação do pH.....	25
3.2.2 – Valor de pH Fixo e Variação da Concentração de Mo(VI) da Solução.....	27
3.3 – Efeito Eletrocatalítico e Composição dos Filmes.....	28
3.4 – Espessura dos Filmes Depositados.....	36
3.5 – Durabilidade do Filme.....	38
3.5.1 – Imersão dos Eletrodos Modificados em Soluções Neutras	38
3.5.2 – Sinal em Solução Tampão Fosfato.....	39
3.6 – Oxidação Eletroquímica do NO.....	40
3.6.1 – Solução Saturada de NO.....	40
3.6.2 – Efeito da Temperatura sobre a Saturação da Solução de NO.....	41
3.6.3 – Sinal de Oxidação do NO em Eletrodo com Superfície Polida.....	42
3.6.4 – Estudo sobre as Etapas do Processo de Oxidação do	43
3.6.5 – Interferência do Nitrito e uso do Nafion®.....	48
3.6.6 – Sinal de Oxidação do NO em Eletrodo com Superfície Modificada.....	49

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES.....	53
PERSPECTIVAS.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
CURRICULUM VITAE.....	59

RESUMO

No presente trabalho a deposição eletroquímica de filmes de óxidos de molibdênio na superfície do eletrodo de carbono vítreo, sob diferentes condições experimentais, foi investigada. Maiores concentrações de Mo(VI) na solução resultaram em filmes mais espessos, com a extensão da deposição sendo dependente do pH do meio.

A utilização de eletrodos modificados por estes filmes no estudo do processo de redução electrocatalítica do iodato resultou em voltamogramas com comportamentos eletroquímicos diferentes, sugerindo a formação de filmes com composição variada. A composição destes filmes foi investigada por retro-espalhamento Rutherford (RBS), onde diferentes relações entre os átomos de molibdênio e oxigênio foram detectadas.

A diminuição da intensidade do sinal voltamétrico de redução do ferricianeto, em função do aumento da espessura do filme depositado na superfície do eletrodo de carbono vítreo, sugeriu que o processo catódico foi dificultado à medida que o filme se tornou mais espesso. Esta observação indicou que o processo ocorre essencialmente na superfície do eletrodo de carbono vítreo, não havendo intermediação por parte do filme.

Um sistema vedado foi montado para a obtenção da solução saturada de NO, bem como células eletroquímicas especiais foram construídas para a preparação das soluções. Os voltamogramas da oxidação do NO em eletrodo com superfície polida apresentaram duas ondas, as quais foram atribuídas à formação de nitrito e à oxidação deste ânion a nitrato, respectivamente.

O comportamento eletroquímico do NO também foi observado em eletrodos com superfície modificada a partir de diferentes condições de Mo(VI), observando-se que o processo de oxidação anódica do NO ocorreu de maneira facilitada ao se trabalhar com o eletrodo modificado a partir de uma solução de Mo(VI) 1mmolL^{-1} de pH 2,5.

ABSTRACT

The electrodeposition of molybdenum oxides films onto glassy carbon surfaces in several media was studied. Results showed a dependence of the thickness of the film on the Mo(VI) concentration. They also confirmed the existence of some specific pH conditions where the deposition occurred at higher extension.

These modified electrodes have presented different behaviors in the electroreduction of iodate, probably due to the distinct film composition. Rutherford Backscattering Spectrometry analysis of these materials has shown different ratios between the amount of Mo and O atoms, confirming this assumption.

The electroreduction of $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ at the modified electrode was investigated aiming to evaluate the influence of the film porosity on the voltammetric profile of the electroactive species. Data indicated that the cathodic process occurs at the glassy carbon surface by the penetration of $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ ions through channels in the film.

Experiments with nitric oxide (NO) were carried out at a sealed electrochemical cell, which was homemade by using acrylic. The voltammetric signal of NO at a bare platinum electrode consisted of two waves, which were associated to the consecutive formation of nitrite and nitrate. The NO electrochemical behavior was also studied at modified electrodes and a current enhancement was verified by using films produced from solutions containing 1 mmolL^{-1} of the Mo(VI), at pH 2.5.

Índice de Figuras

Figura 1	Diagramas de distribuição das espécies de molibdênio em solução.	2
Figura 2	Esquema da redução do nitrato e nitrito a NO <i>in vivo</i> .	9
Figura 3	Esquema de uma célula nervosa e da propagação do impulso nervoso.	10
Figura 4	Esquema do sistema montado para obtenção da solução saturada de NO.	15
Figura 5	Esquema da tampa da primeira célula eletroquímica construída.	16
Figura 6	Esquema da tampa da segunda célula eletroquímica construída.	17
Figura 7	Esquema da terceira célula eletroquímica construída.	18
Figura 8	Voltamogramas da solução de Na ₂ SO ₄ 50,0 mmolL ⁻¹ , antes e após a retirada do oxigênio dissolvido na solução.	22
Figura 9	Deposição do filme na superfície do eletrodo e estabilização do sinal de corrente do filme.	23
Figura 10	Foto do eletrodo de carbono vítreo modificado.	23
Figura 11	Fotomicrografia da superfície do eletrodo de carbono vítreo modificada com filmes de óxidos de molibdênio.	24
Figura 12	Espectro de energia dispersiva de raio-X do filme depositado no eletrodo, apresentado na fotomicrografia.	24
Figura 13	Sinais dos filmes formados em diferentes condições de pH e concentração de Mo(VI) 0,1 mmolL ⁻¹ . Corrente de pico catódica dos voltamogramas da figura 13a, em função do pH.	26
Figura 14	Sinais dos filmes formados em diferentes condições de pH e concentração de Mo(VI) 1,0mmolL ⁻¹ . Corrente de pico catódica de cada voltamograma da figura 14a, em função do pH .	26

Figura 15	Sinais dos filmes formados em soluções de diferentes concentrações de Mo(VI), (a) todas com valor de pH ajustado em 1 e (b) todas com valor de pH ajustado em 5.	27
Figura 16	Voltamogramas da redução do iodato em eletrodo polido e modificado em diferentes condições.	28
Figura 17	Razão $I_{\text{iodato}} / I_{\text{filme}}$ em função da concentração de Mo(VI) e do pH das soluções utilizadas na deposição dos filmes no eletrodo.	29
Figura 18	Espectros de RBS dos filmes depositados.	33
Figura 19	Espessura real dos filmes, obtida por elipsometria.	36
Figura 20	Figura 20a. Sinal dos filmes depositados através de diferentes números de ciclos aplicados durante a modificação da superfície do eletrodo. Figura 20b. Linearidade entre a intensidade de corrente de pico catódica e o número de ciclos aplicados.	37
Figura 21	Sinal de redução do ferricianeto no eletrodo polido e no eletrodo modificado por diferentes números de ciclagens aplicadas.	37
Figura 22	Sinal do filme em solução de pH 3,0 de sulfato, em pH 7,0 de sulfato e novamente em solução de pH 3,0 de sulfato.	38
Figura 23	Sinal do filme em solução de pH 3,0 de sulfato, em pH 7 de fosfato e novamente em solução de pH 3,0 de sulfato.	39
Figura 24	Sinal de oxidação da solução saturada de NO, obtida em eletrodo de carbono vítreo, em função do tempo de borbulhamento.	40
Figura 25	Sinal da oxidação do NO em eletrodo de carbono vítreo. Soluções saturadas sob diferentes temperaturas.	41
Figura 26	Voltamogramas obtidos para a solução de NO e para a solução de ferrocianeto 10mmolL^{-1} . Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.	42

Figura 27	Voltamogramas obtidos para a solução de NO em eletrodo de platina.	43
Figura 28	Voltamogramas da solução saturada de NO em eletrodo de platina, em diferentes velocidades de varredura.	44
Figura 29	Máximo valor de intensidade de corrente da primeira e da segunda onda do NO em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.	44
Figura 30a	Voltamogramas da solução saturada de NO em eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura.	45
Figuras 30b e 30c	Máximo valor de intensidade de corrente da primeira e da segunda onda do NO em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.	45
Figura 31	Voltamogramas das soluções saturadas de NO em diferentes valores de pH.	46
Figura 32	Voltamogramas da solução saturada de NaNO_2 em eletrodo de platina, em diferentes velocidades de varredura e máximo valor de intensidade de corrente em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.	47
Figura 33	Sinal de oxidação da solução saturada de NO sem conter nitrito e contendo $2,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de nitrito de sódio.	47
Figura 34	Influência do Nafion® no sinal de oxidação do nitrito.	48
Figura 35	Intensidade do sinal de NO em eletrodo de carbono vítreo modificado, em função da concentração de Mo(VI).	49
Figura 36	Sinais obtidos para a solução de NO em eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de óxidos de Mo em função do número de ciclos aplicados durante a deposição.	50
Figura 37	Sinal do NO obtido em eletrodo polido e em eletrodo modificado através da aplicação de 10 ciclos de potencial.	51
Figura 38	Esquema da interação do NO com o filme de Mo depositado na superfície do eletrodo.	52

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 - Eletrodos Modificados

O uso de eletrodos modificados tem sido largamente difundido. A atração por tais sistemas consiste na combinação das vantagens da catálise heterogênea (onde o catalisador está ancorado a uma matriz insolúvel) com benefícios de uma distribuição tridimensional dos centros catalíticos, geralmente uma característica da catálise homogênea.¹

Em Química Analítica, estes eletrodos são utilizados objetivando-se melhorar a sensibilidade e a seletividade do método devido ao efeito eletrocatalítico^{2,3}, apresentando uma série de vantagens tais como:

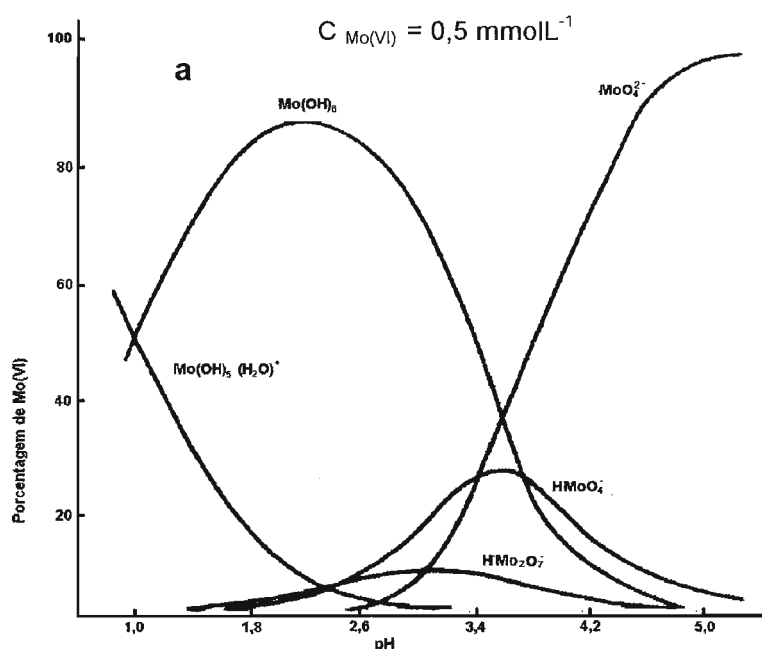
- a) estabilidade química e mecânica do filme - características básicas para garantir a durabilidade do sensor e reprodutibilidade das medições;
- b) emprego de matrizes que permitam a imobilização de uma ou mais espécies eletrocatalíticas;
- c) larga faixa dinâmica de trabalho, com resposta linear em função da concentração do substrato/analito;
- d) correntes relativamente baixas e estáveis na ausência do substrato em faixa larga de potencial;
- e) compatibilidade com meios orgânicos e aquosos;
- f) sensibilidade (devido à maior eficiência da etapa de transferência de elétrons) e seletividade de resposta no que se refere ao analito investigado;
- g) viabilidade de acoplamento a técnicas complementares (espectroscópicas ou de separação);
- h) uso em sistemas biológicos para medições "on-line".

1.2 – Eletrodos Modificados com Óxidos de Molibdênio

Os eletrodos utilizados em eletrocatalise devem ser modificados por bons mediadores redox, os quais são efetivos como transportadores de carga. Óxidos poliméricos inorgânicos que contêm centros metálicos em diferentes estados de oxidação apresentam significativa condutividade elétrica, além de propriedades ácido-base definidas e capacidade de transferência de átomos de oxigênio⁴. Como exemplo de tais óxidos, pode-se citar os óxidos de molibdênio, que podem ser depositados sobre a superfície do eletrodo de trabalho por sucessivas ciclagens de potencial, a partir de soluções ácidas de Mo(VI).

Estes materiais são conhecidos na literatura como mediadores da reação de redução de oxiânions, pois apresentam propriedades físicas e químicas particularmente importantes em processos de redução eletroquímica, como no caso da redução do clorato⁴, bromato⁵ e iodato⁶, antecipando o potencial de redução destes ânions pela abstração de átomos de oxigênio pelo óxido de Mo depositado na superfície do eletrodo.

É relatado na literatura os diagramas de distribuição das diversas espécies de molibdênio existentes em solução, dependendo da concentração do íon metálico e do pH do meio⁷. As figuras 1a e 1b apresentam a distribuição de tais espécies de Mo em função do pH, para as soluções de Mo(VI) 0,5 mmolL⁻¹ e 10,0 mmolL⁻¹, respectivamente.



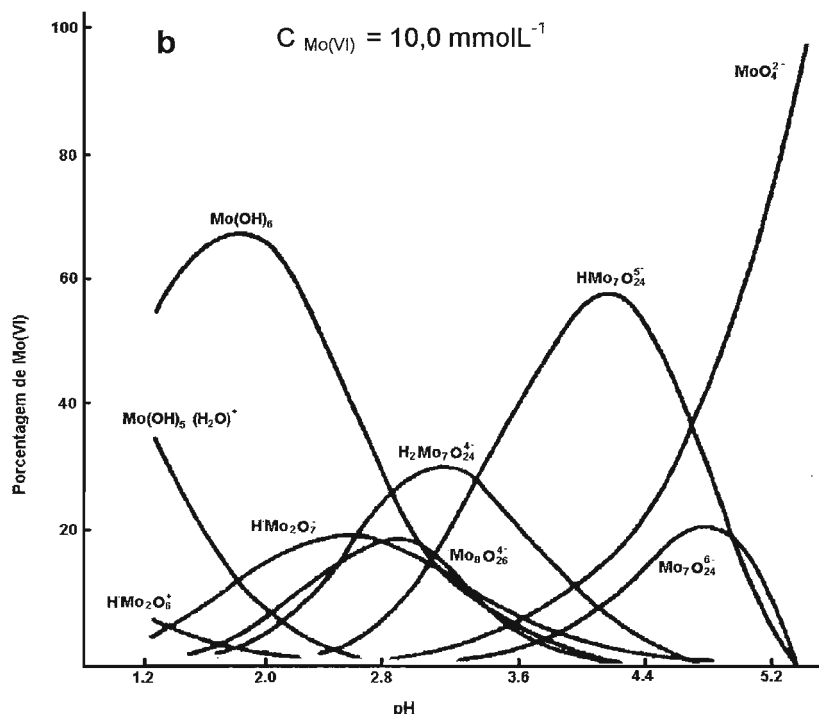


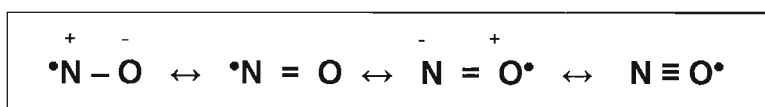
Figura 1. Diagramas de distribuição das espécies de molibdênio em solução de Mo(VI) 0,5 mmolL⁻¹ (a) e 10,0 mmolL⁻¹ (b), em função do pH.⁷

Duas classes diferentes de óxidos de Mo têm sido caracterizada: os bronzes de molibdênio (H_xMoO_3 , $0 < x < 2$), onde há inserção de átomos de hidrogênio no material inicial, e os óxidos reduzidos (MoO_{3-y} , $0 < y < 1$), onde compostos não-estequiométricos são formados. Os filmes são excelentes condutores quando polarizados em regiões negativas de potencial, entretanto o mesmo não acontece em potenciais positivos⁸. Mesmo assim, foi observado pelo nosso grupo de pesquisa que o processo de oxidação anódica de substratos como o nitrito⁹ e o óxido nítrico¹⁰ ocorre de maneira facilitada ao se trabalhar com superfícies modificadas pelos óxidos de Mo. Desta forma, estudos mais aprofundados tornam-se de grande interesse, principalmente em relação ao NO, que vem sendo estudado em diversas áreas de pesquisa.

1.3 - Óxido Nítrico: Propriedades Químicas

O óxido nítrico (NO) é um gás incolor à temperatura ambiente, com ponto de ebulição = $-151,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ e ponto de fusão = $-163,6\text{ }^{\circ}\text{C}$. É pouco solúvel em água, com uma concentração de $1,9\text{ mmolL}^{-1}$ ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 1 atm de NO) em solução saturada^{10,11}, sendo mais solúvel em solventes apolares tal como n-hexano (solução saturada = $0,13\text{ molL}^{-1}$). Assim, esta molécula tende a dissolver-se seletivamente nas membranas e fases lipídicas das células¹¹.

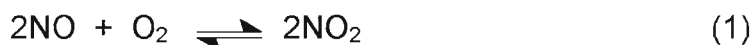
O NO é uma molécula neutra, com configuração eletrônica $(\sigma 2s)^2 (\sigma 2s^*)^2 (\sigma 2p_z)^2 (\pi 2p)^4 (\pi 2p^*)^1$, e apresenta um elétron desemparelhado (molécula paramagnética). Sendo uma das mais simples espécies doadoras de elétrons e um radical, a estrutura da molécula de NO é melhor representada pelas formas de ressonância abaixo¹⁰.



Duas propriedades do NO, combinadas, fazem-no único. A primeira relaciona-se ao mecanismo de suas interações com outras moléculas, que em sistemas biológicos, caracterizam-se como estabilizações do elétron desemparelhado¹², envolvendo reações de ligações covalentes com as moléculas alvo, ao contrário das interações não covalentes ligante-receptor. A outra propriedade, que o torna um mensageiro em sistemas biológicos, refere-se à natureza do seu movimento no organismo, o qual é regido inteiramente por difusão. O valor alto da sua constante de difusão ($D_{\text{NO}} = 3,3 \times 10^{-5}\text{ cm}^2\text{ s}^{-1}$) permite a este gás percorrer longas distâncias a partir das células onde foi produzido¹³.

1.4 - Oxidação do Óxido Nítrico em Fase Gasosa

A mais conhecida e estudada reação do óxido nítrico é sua oxidação a dióxido de nitrogênio NO_2 (equação 1), que também pode ocorrer *in vivo*¹⁰.



$$-d[\text{NO}]/dt = +d[\text{NO}_2]/dt = 2k [\text{NO}]^2 [\text{O}_2] \quad (2)$$

Em fase gasosa, este é um exemplo clássico de reação de terceira ordem, sendo de segunda ordem em relação à concentração do NO (equação 2). Estudos cinéticos apontam a dependência da constante de velocidade k pela temperatura, que é uma característica peculiar desta dependência, conforme a equação abaixo¹⁴:

$$k (\text{L}^2 \text{mol}^{-2} \text{s}^{-1}) = 1,2 \times 10^3 e^{532/T} = 1,2 \times 10^3 \times 10^{230/T} \quad (3)$$

Três mecanismos foram propostos para a reação de oxidação do NO em fase gasosa¹³:

i) Reação termolecular: duas moléculas de NO e uma de O_2 colidem simultaneamente e formam um complexo intermediário, que por sua vez, forma duas moléculas de NO_2 em uma única etapa.

ii) Mecanismo de pré-equilíbrio com o dímero do NO como intermediário: Este mecanismo propõe duas etapas para a formação do NO_2 , onde a primeira - formação do dímero - é muito rápida.



iii) Mecanismo de pré-equilíbrio com NO_3 como intermediário: Este mecanismo também propõe duas etapas para a formação de NO_2 , formando o intermediário NO_3 na primeira (etapa rápida).



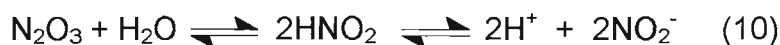
Duas estruturas são propostas para o intermediário NO_3 :

- trióxido de nitrogênio: trigonal planar, onde 3 átomos equivalentes de O estão em volta do átomo N.
- radical peroxinitrito: como uma corrente inclinada, com uma seqüência atômica O-O-N-O.

O estado de oxidação formal do átomo N no intermediário é +6. Várias estimativas para o potencial padrão de redução (E°) do NO_3 caem no valor $2,5 \pm 0,2\text{V}$, indicando a natureza altamente oxidativa deste intermediário¹³.

1.5 - Oxidação do Óxido Nítrico em Solução Aquosa

A oxidação do NO também ocorre em solução aquosa, sendo o ácido nitroso (HNO_2) ou o íon nitrito (NO_2^-) o produto desta reação. A ordem da reação para a oxidação do NO em água é a mesma que a encontrada para a reação em fase gasosa, onde o NO é oxidado a NO_2 , o qual reage com mais uma molécula de NO para gerar o N_2O_3 , o anidrido do ácido nitroso¹⁰.



Como a hidrólise do NO_2 gera uma mistura equimolar de nitrito e nitrato, a primeira vista é de se estranhar que somente nitrito seja formado na solução aeróbica de NO, mas isto é explicado pelo fato da cinética da reação do NO com NO_2 ser mais rápida do que a hidrólise do NO_2 , que formaria o íon nitrato¹⁰.

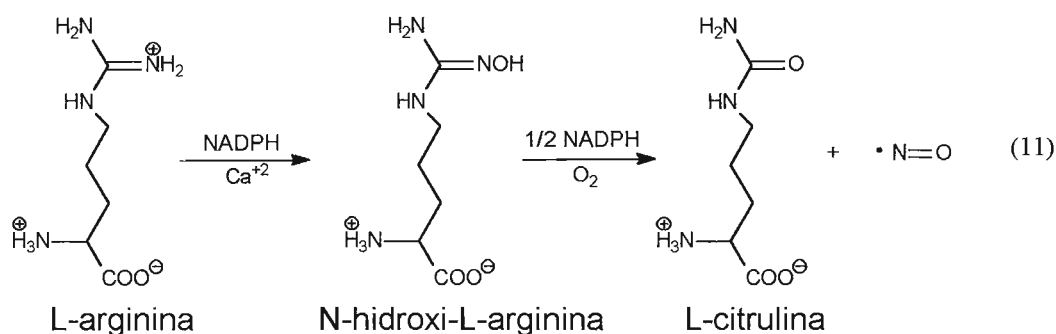
Para suas ações fisiológicas, óxido nítrico está sempre presente em solução aquosa¹⁰, e ao difundir-se no espaço intravascular, o NO é inativado através da combinação com a hemoglobina, originando a metaemoglobina¹⁵.

1.6 - Produção Enzimática do NO no Organismo

O NO é o menor produto sintetizado por células de mamíferos e desempenha diversas funções na fisiologia humana¹⁴. A biossíntese do óxido nítrico ocorre via oxidação da L-arginina, catalisada pela enzima NO sintetase (NOS).

A L-arginina é um aminoácido semi-essencial produzido no organismo, porém em quantidade insuficiente para todas necessidades. Como há uma solicitação metabólica continuada deste aminoácido, as proteínas ingeridas são degradadas até a arginina, que pode ser diretamente absorvida ou sofrer transformações, conforme a necessidade fisiológica¹⁶.

A conversão da L-arginina para L-citrulina e NO (equação 11) é uma oxidação de cinco elétrons de um dos nitrogênios guanidínicos da L-arginina². O primeiro passo, a oxidação de dois elétrons, é uma hidroxilação que forma o intermediário N^G-hidroxi-L-arginina, na presença de NADPH e Ca⁺². O segundo passo, uma oxidação de três elétrons, envolve mais NADHP, inserção de oxigênio e quebra da ligação carbono-nitrogênio para formar a L-citrulina e o NO^{11,14}.



O Ca⁺² não participa diretamente da reação, sendo utilizado na ativação de algumas isoformas da NO sintetase. Até agora foram isoladas e clonadas três isoenzimas, sendo duas constitutivas (cNOS) e uma indutiva (iNOS).

As cNOS podem ser chamadas também de nNOS (*neuronal NO synthase*) ou isoforma I e eNOS (*endothelial constitutive NO synthase*) ou isoforma III, respectivamente. Expressas constitutivamente, ou seja, de forma habitual, estas isoenzimas são de baixo débito de NO e estão envolvidas em processos

homeostáticos como neurotransmissão, peristaltismo e controle da pressão arterial (tabela 1).

A iNOS ou isoforma II não é expressa constitutivamente, sendo induzida nos macrófagos. Uma vez induzida, é capaz de produzir NO por longo tempo, o que vem a caracterizar seu envolvimento em vários processos patológicos, pois o alto nível de NO produzido, que é tóxico para micróbios, parasitas e células tumorais, pode também lesar células vizinhas saudáveis.

Tabela 1. Classificação das isoenzimas conforme abreviatura, localização, débito e dependência de Ca^{+2} .

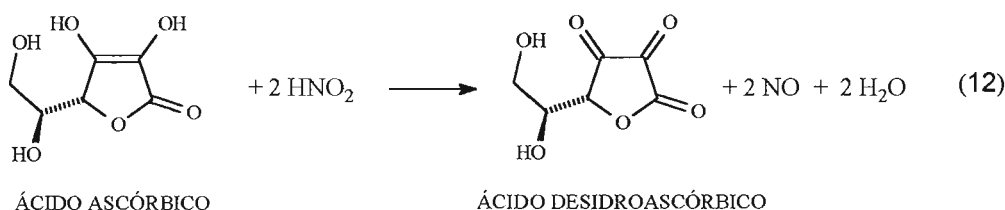
Abreviaturas	Sinonímia	Localização	Débito	Dependência de Ca^{+2}
nNOS (neuronal NO synthase)	Isoforma I	Cérebro	Baixo	Ca^{+2} – dependente
iNOS (inductive NO synthase)	Isoforma II	Músculos lisos e hepatócitos	Alto	Ca^{+2} – independente
eNOS (endothelial NO synthase)	Isoforma III	Células endoteliais	Baixo	Ca^{+2} – dependente

As três isoenzimas são semelhantes estruturalmente, porém a dependência ou não de cálcio para sua regulação e a produção de diferentes quantidades de NO são fatores chave que diferenciam as funções do NO no corpo.

1.7 - Produção Não-Enzimática do NO no Organismo

Além da reação enzimática, o NO pode ser produzido no organismo através da reação de redução do ácido nitroso (ou nitrito). Os nitratos ingeridos na alimentação, presentes na saliva humana, tornam-se uma fonte de ácido nitroso no organismo, devido à ação redutora das bactérias presentes na boca¹⁷.

Agentes redutores tais como o ácido ascórbico e o ânion ascorbato, que também são ingeridos na alimentação, podem produzir NO sob uma larga escala de pH em solução aquosa pela rápida redução do HNO_2 (equação 12).



Desta forma, as bactérias da cavidade oral reduzirão parte do nitrato da saliva a nitrito e devido ao pH baixo do estômago e à presença de agentes redutores, o nitrito contido na saliva, uma vez neste meio, poderá ser convertido ao NO (figura 2)¹⁸.

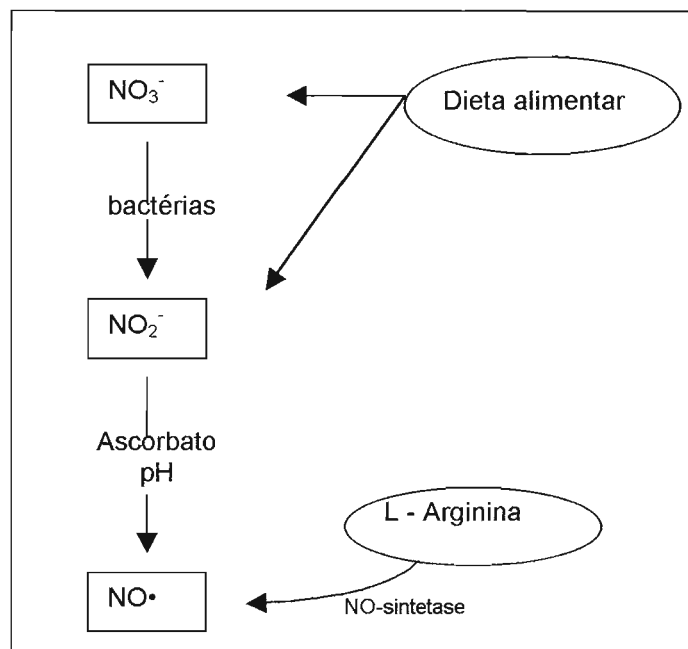


Figura 2. Esquema da redução do nitrato e nitrito a NO *in vivo*.

1.8 - Funções Desempenhadas pelo NO na Fisiologia Humana

Dependendo do local em que é sintetizado, do tipo de isoenzima envolvida, da quantidade produzida e do microambiente em que vai atuar, o NO exerce diferentes funções no organismo. Quando liberado em pequenas quantidades nos terminais nervosos, o NO atua como neurotransmissor. Quantidades similares, liberadas pelas células endoteliais (células que revestem o interior dos vasos sanguíneos), apresentam efeitos no sistema cardiovascular, e em maiores quantidades, o NO tem ação citotóxica.

1.8.1 - O NO como Neurotransmissor^{11,15,19}

As células nervosas são formadas basicamente por três partes: dendrito, corpo celular e axônio (figura 3a). Os impulsos nervosos sempre seguem este percurso, saindo do axônio do neurônio pré-sináptico, atravessando o espaço

sináptico (espaço entre as células nervosas) e atingindo o dendrito do neurônio pós-sináptico¹¹. A propagação do impulso pelo espaço sináptico se faz pela liberação de neurotransmissores, previamente armazenados neste tipo de células, que alcançam receptores específicos na próxima célula (figura 3b).

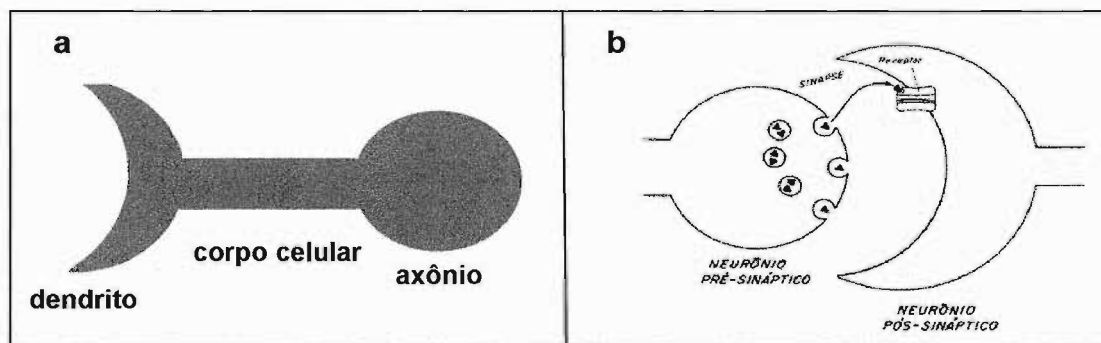


Figura 3. Esquema de uma célula nervosa (a) e da propagação do impulso nervoso (b).

Os principais neurotransmissores do sistema nervoso são a noradrenalina e a acetilcolina. Porém, são conhecidas células nervosas que não utilizam nem a noradrenalina nem a acetilcolina para a transmissão do impulso nervoso: os nervos NANC (não-adrenérgico-não-colinérgico)¹¹. Acredita-se, portanto que o NO é o mensageiro responsável pela transmissão dos impulsos entre os nervos NANC, que são encontrados no trato gastrointestinal, trato respiratório²⁰, musculatura cardiovascular²¹ e sistema urogenital²². Desta forma, o NO regula diversas funções fisiológicas, além de desempenhar um papel no aprendizado e na formação da memória recente²³.

1.8.2 - O NO no Sistema Cardiovascular^{14,24}

Identificado pela primeira vez em 1987, como fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF), sabe-se que o NO é de grande importância no relaxamento da musculatura lisa (musculatura que reveste os órgãos ocos), na regulação do fluxo sanguíneo e do tônus vascular e na inibição da agregação plaquetária (ação anti-trombótica). Sua ação não é sistêmica, pois ao difundir-se no espaço intravascular, o NO liga-se à hemoglobina e a outras proteínas que contenham o núcleo heme, levando ao término de sua atividade biológica¹⁸.

1.8.3 - O NO como Agente Cytotóxico

Os macrófagos e as células brancas do sangue são elementos-chave para o sucesso da resposta imunológica do corpo, pois são capazes de fagocitar células tumorais e microorganismos invasores. Para que um macrófago atue, ele precisa ser ativado por moléculas conhecidas como citocinas, que são liberadas por algumas células do sistema imunológico²⁵.

O NO faz parte do arsenal de primeira defesa do organismo com poder microbicida. É produzido pelos macrófagos, quando citocinas estimulam a forma da enzima NO sintetase induzida (iNOS) contida nestes. Uma vez iniciada, a produção de NO se prolonga por várias horas e em concentrações altas o suficiente (da ordem de μmolL^{-1}) para se mostrarem tóxicas às células alvo²⁶.

O NO produzido difunde-se para fora dos macrófagos e penetra nas células estranhas, destruindo-as através da inibição do centros Fe-S em enzimas envolvidas na respiração celular^{27,28}. Assim, está demonstrada a sua ação antitumoral¹¹, bactericida, antiparasítica e antiviral^{29,30}.

Um aspecto marcante desta molécula é a sua capacidade de ser benéfica ou potencialmente tóxica conforme a concentração ou depuração tecidual. Existe um tênue limite de concentração do NO entre a não-toxicidade às células sadias do hospedeiro e a toxicidade necessária para a ação imunológica. A tabela 2 mostra alguns efeitos causados por diferentes concentrações de NO em um mesmo local.

Tabela 2. Efeitos do óxido nítrico como mensageiro ou toxina no mesmo local, conforme a sua concentração.

Local	NO como mensageiro	NO como toxina
Vasos sanguíneos	Antitrombótico, antiadesivo plaquetário, antiarterosclerótico	Choque séptico, inflamação, arteriosclerose
Pulmão	Manutenção ventilação-perfusão, secreção de muco, defesa imune	Alveolite autoimune, asma
Sist. nervoso central	Memória, controle visual e olfativo	Neurotoxicidade, enxaqueca, irritabilidade
Intestino	Fluxo sanguíneo, peristaltismo, antimicrobiano	Hemorragia digestiva, mutagênese
Sist. imunológico	Antimicrobiano, antiparasitário, antitumoral	Inflamação, choque séptico, dano tissular

Portanto, o NO atua como mensageiro ou toxina conforme a concentração e o tecido em questão e neste contexto, a quantificação do NO responsável pelos diversos efeitos no organismo é de extrema importância.

Diversos métodos de quantificação do NO são descritos na literatura. Estes podem ser divididos em métodos indiretos - os quais determinam o NO através da quantificação dos produtos de sua reação de oxidação em sistemas biológicos^{31,32} ou ainda, medindo-se os efeitos fisiológicos causados por este gás no organismo³³ - e métodos diretos - onde diversos sensores de NO são descritos³⁴⁻³⁷.

OBJETIVOS

O presente trabalho tem por objetivo investigar o comportamento eletroquímico do óxido nítrico em eletrodos modificados por óxidos de molibdênio. O depósito de tais filmes a partir de soluções de diferentes concentrações de Mo(VI) e valores de pH serão estudados, além do efeito eletrocatalítico destes frente a redução do iodato, da caracterização por técnicas de análise de superfície e da medida das suas espessuras.

CAPÍTULO 2

PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - Reagentes e Soluções.

As diferentes soluções de Mo foram preparadas a partir da dissolução da quantidade necessária de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$. O pH das soluções foi ajustado utilizando-se soluções de H_2SO_4 $1,0 \text{ molL}^{-1}$ e NaOH $1,0 \text{ molL}^{-1}$.

As soluções tampão fosfato foram preparadas segundo o procedimento descrito na literatura³⁸, a partir da mistura de diferentes quantidades das soluções de NaOH $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e H_2KPO_4 $0,1 \text{ molL}^{-1}$.

A solução de NaCl $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$ foi preparada a partir da dissolução da quantidade necessária do sal seco em água desionizada. O pH desta solução foi ajustado em 2,5 pela adição de solução de HCl $1,0 \text{ molL}^{-1}$.

A solução de KIO_3 $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ foi preparada a partir da dissolução da quantidade necessária do sal seco em água desionizada. O pH desta solução foi ajustado em 2,5 pela adição de H_2SO_4 $1,0 \text{ molL}^{-1}$.

Todas estas soluções foram preparadas a partir de reagentes de alta pureza analítica e água desionizada, purificada pelo sistema *Nano Pure Infinity* da Barnstead.

A solução saturada de óxido nítrico foi preparada pelo borbulhamento deste gás (procedência: cilindro de NO puro da Air Líquid) primeiramente em uma solução de NaOH $5,0 \text{ molL}^{-1}$ - para retenção de eventuais moléculas de NO_2 presentes³⁹ - e então, na solução de eletrólito suporte (tampão fosfato). O esquema da aparelhagem montada para a obtenção desta solução está apresentado na figura 3, onde uma mangueira impermeável a gases (RIGI – 51.0558 – 1/4”), adaptada ao cilindro de NO, conduzia o gás até uma torneira descartável de três vias (TAP-3, Embramed), na qual está adaptada uma outra mangueira impermeável, conectada ao cilindro de argônio. À terceira via da torneira, adaptou-se um capilar de sílica fundida (coluna utilizada em cromatografia gasosa), que o conduzia ao frasco contendo solução de NaOH , onde agulhas para entrada e saída de gases foram coladas. Na agulha de saída, um outro pedaço do capilar foi

adaptado, levando o NO ao recipiente com a solução de eletrólito suporte, onde havia duas agulhas de aço inoxidável, responsáveis pela entrada e saída de gases. Pela utilização de uma mangueira ligada a esta última agulha de saída, os gases eram borbulhados em uma solução de permanganato, onde o NO em excesso era oxidado, evitando-se desta forma sua liberação no ambiente (figura 4).

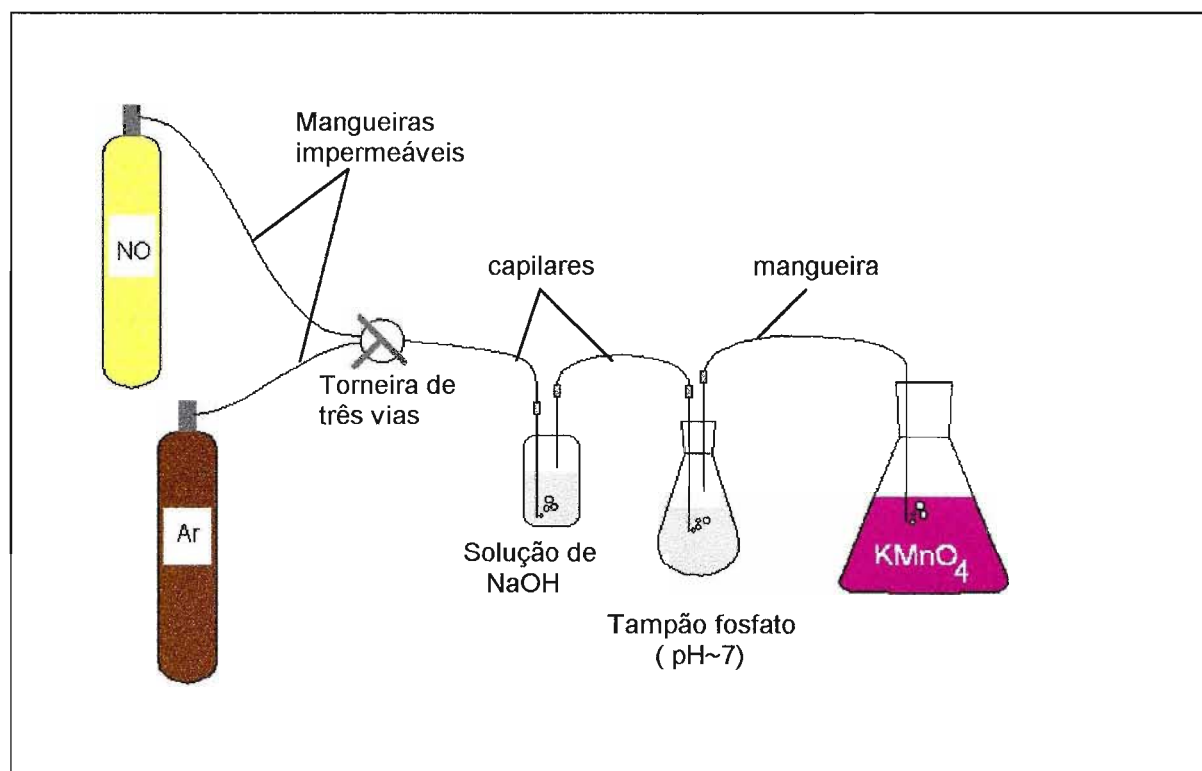


Figura 4. Esquema do sistema montado para obtenção da solução saturada de NO. Primeiramente é borbulhado argônio pelo sistema, para retirar todo o oxigênio. Em seguida, o NO é borbulhado até a saturação da solução de eletrólito suporte. Os frascos de NaOH e do eletrólito estão vedados, assim como todo o sistema, estando aberto somente o frasco de KMnO_4 .

Desta forma, a utilização de materiais impermeáveis a gases e da resina epóxi (para a fixação de mangueiras, de capilares, de agulhas e para vedação do sistema), impediu a re-contaminação pelo oxigênio do ar, evitando a produção de nitrito no meio (conforme descrito no item 1.5), o qual interferiria no sinal eletroquímico do óxido nítrico em função da similaridade dos potenciais de oxidação das duas espécies.

2.2 – Eletrodos

Eletrodos de trabalho: Foram utilizados eletrodos de disco de carbono vítreo, de aproximadamente 2,0 mm de diâmetro, e de platina, de aproximadamente 3,0 mm de diâmetro. O eletrodo de carbono vítreo foi polido em lixa d'água 1200 e o eletrodo de platina foi polido com alumina (granulometria = 0,3 μ m).

Eletrodo de Referência de Ag/AgCl: Este eletrodo foi confeccionado pela aplicação de 0,2 V de potencial, durante 10 segundos, sob um fio de prata imerso numa solução de NaCl. Após o depósito, este fio foi acondicionado em uma ponteira plástica de micropipeta com solução saturada de NaCl, que continha um pedaço de separador de bateria na ponta para realizar o contato do eletrodo com o meio externo⁴⁰.

Eletrodo auxiliar: Foi utilizado em pedaço de fio de platina de 0,5 mm de diâmetro.

2.3 - Células Eletroquímicas

Uma célula de acrílico foi construída com paredes grossas para impedir a difusão do oxigênio. Os eletrodos de trabalho (carbono vítreo), de referência (Ag/AgCl) e auxiliar (fio de platina) foram colados à tampa com resina epóxi (Araldite), juntamente com duas agulhas de aço inoxidável, utilizadas para a entrada e a saída de gás, as quais eram vedadas com uma tampa plástica de catéter endovenoso, quando o borbulhamento era cessado (figura 5). A tampa da célula possuía ainda um anel de borracha (*o-ring*) para que a vedação, feita sobre pressão por um sistema de três parafusos, fosse mais eficiente.

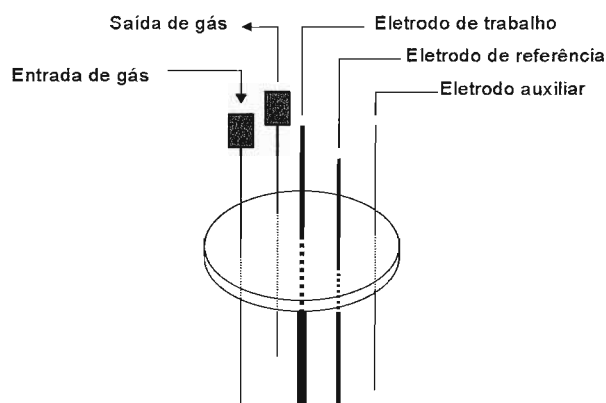


Figura 5. Esquema da tampa da primeira célula eletroquímica construída.

A construção de uma nova célula fez-se necessária pela dificuldade encontrada no manuseio do eletrodo de trabalho, o qual teria que ser polido ainda acoplado à tampa, juntamente com os outros eletrodos e as agulhas. Além disso, esta primeira célula permitia somente a utilização de soluções saturadas de NO, sendo impossível adição de alíquotas.

A segunda célula também de acrílico (figura 6), tinha uma capacidade de aproximadamente 10 mL e na tampa foram adaptados três septos de borracha (Kontes Glass Company). Em um dos septos, os eletrodos de referência e auxiliar foram fixados. Num segundo septo, adaptou-se o eletrodo de trabalho enquanto no terceiro, as agulhas poderiam ser acopladas tanto para a preparação da solução saturada de NO quanto para a adição de alíquotas desta solução. Esta célula apresenta a vantagem de permitir a retirada do eletrodo de trabalho para polimento, sem causar danos à vedação da célula, uma vez que este está colado ao septo de borracha, o qual pode ser substituído quando necessário.

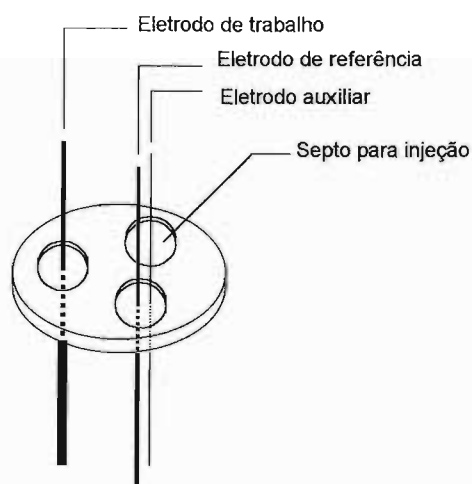


Figura 6. Esquema da tampa da segunda célula eletroquímica construída.

Com o objetivo de diminuir o volume da célula eletroquímica, e com isso, o tempo de saturação da solução com NO, uma terceira célula foi construída. Esta última tem capacidade de aproximadamente 2 mL. Os eletrodos de referência e auxiliar foram acoplados na lateral da célula, enquanto o eletrodo de trabalho foi acoplado no septo de borracha que tampava a célula. Através deste mesmo septo as agulhas eram inseridas para borbulhamento da solução, sendo retiradas após a saturação (figura 7). Esta última célula foi a mais utilizada nos estudos envolvendo o óxido nítrico.

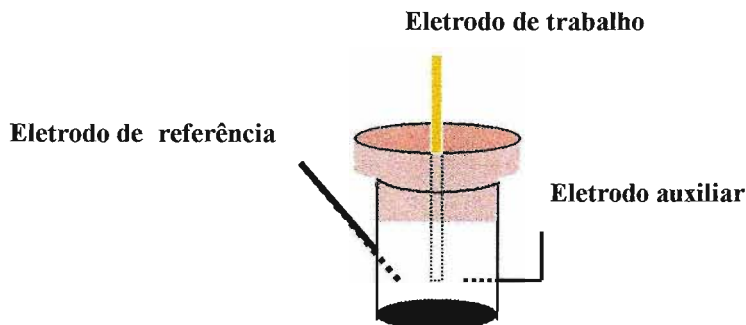


Figura 7. Esquema da terceira célula eletroquímica construída.

2.4 – Aparelhagem

Os ajustes de pH descritos no item 2.1 foram realizados utilizando-se pHmetro da Metrohm, modelo 713.

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em potenciostato da EG&G Princeton Applied Research, modelo 273-A e em potenciostato da AUTOLAB, modelo PGSTAT-30.

A elipsometria foi a técnica utilizada para medir a espessura dos filmes depositados nos eletrodos, através do aparelho *EL x-02c* Elipsometer.

Os experimentos de raio-X foram realizados no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), utilizando-se a linha SXS (*Soft X-ray spectroscopy*).

As análises dos filmes por retro-espalhamento (RBS – *Rutherford Backscattering Spectrometry*) foram realizadas em equipamento composto por um acelerador eletrostático tipo Pelletron-tandem ao qual se encontram acopladas duas câmaras de alto vácuo, uma para PIXE (*Proton Induced X-Ray Emission*) e outra para RBS. Os cálculos e a simulação dos espectros foram realizados utilizando-se o programa RUMP (*Doolittle, 1985*). Os experimentos foram realizados no laboratório LAMFI (Laboratório de Análises de Materiais por Feixes Iônicos), localizado no Instituto de Física da Universidade de São Paulo.

Os experimentos de microscopia eletrônica de varredura (SEM - *Scanning Electron Microscopy*) foram executados em microscópio da marca Cambridge modelo *Stereoscan 440* e a espectroscopia de energia dispersiva de raio (EDS – *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*) da superfície visualizada no microscópio foi executada em equipamento da marca Oxford modelo WDX 600, no Laboratório de Sistemas Integráveis (LSI) da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

2.5 – Experimentos Eletroquímicos

2.5.1 - Deposição de Filmes de Óxidos de Mo

A deposição de filmes de óxidos de molibdênio na superfície do eletrodo de trabalho (eletrodo de carbono vítreo) foi realizada por 10 ciclagens de potencial (exceto quando especificado) aplicadas aos eletrodos imersos em solução ácida de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$ (eletrólito suporte) contendo Mo(VI). A faixa de potencial aplicada foi de $+0,2 \text{ V}$ a $-0,8 \text{ V}$, onde o Mo(VI) é eletroativo⁴¹ e a velocidade de varredura utilizada foi de $50,0 \text{ mV s}^{-1}$ (exceto quando especificado). O depósito foi observado pelo aparecimento de sinal na faixa de potencial aplicada, em comparação com o sinal observado para a solução do branco de reagente, ou seja, a mesma solução do eletrólito suporte, porém sem conter Mo(VI).

Como mencionado, a existência de diversas espécies de molibdênio em solução é dependente da concentração do íon metálico e do pH do meio⁷. Neste contexto, realizou-se um estudo da deposição do filme de molibdênio a partir de soluções de diferentes valores de pH e de concentração de Mo(VI), onde esta última foi variada em 0,1; 1,0; 10,0; $100,0 \text{ mmolL}^{-1}$. A partir de cada uma das quatro concentrações de Mo(VI), ajustou-se o pH pela adição de uma solução de H_2SO_4 $1,0 \text{ molL}^{-1}$ ou de NaOH $1,0 \text{ molL}^{-1}$ em 1,0; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 e 5,0. Desta forma, para cada concentração de Mo(VI), 7 soluções com diferentes valores de pH foram preparadas.

Após cada deposição do filme no eletrodo, 10 voltamogramas foram registrados em solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$ em pH 2,5 para se obter um sinal constante do filme. É importante ressaltar que estes últimos 10 voltamogramas foram registrados na mesma solução em todos os casos de deposição, para que os resultados finais pudessem ser comparados.

2.5.2 - Efeito Eletrocatalítico dos Filmes

Sendo conhecido o efeito eletrocatalítico dos óxidos mistos de Mo em reações de redução de oxiânions oxidantes, tais como clorato⁴, bromato⁵ e iodato⁶, estudou-se o comportamento eletroquímico do iodato em filmes depositados em diferentes condições experimentais. Para tanto, registrou-se um único voltamograma da solução de iodato $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5, aplicando-se a mesma

faixa de potencial e a mesma velocidade de varredura utilizada na etapa de deposição do filme (+0,2 V a -0,8 V; a 50,0 mV s⁻¹). Nesta faixa de potencial, o iodato não é eletroativo quando se utiliza eletrodo com superfície polida e, portanto, o efeito do filme é facilmente observado.

2.5.3 - Espessura dos Filmes e Sinais Analíticos

A espessura dos filmes depositados é um parâmetro de bastante importância, pois dela depende a intensidade de sinal de corrente de um substrato no eletrodo modificado. Esta pode ser controlada eletroquimicamente pelo número de ciclos aplicados durante a deposição no eletrodo e neste sentido foram realizados estudos sobre o efeito da espessura do filme no que diz respeito aos processos eletródicos envolvendo o ferricianeto e o iodato. A elipsometria foi a técnica utilizada para medir a espessura dos filmes depositados.

2.5.4 – Utilização do Filme em Meio Neutro e em Tampão Fosfato

O comportamento do filme depositado na superfície do eletrodo foi estudado também em solução de Na₂SO₄ 50,0 mmolL⁻¹, pH 7,0 e em tampão fosfato pH 7,0. Neste contexto, foram registrados voltamogramas cíclicos dos filmes em tais meios. A importância destes experimentos está relacionada a uma possível aplicação de eletrodo modificado com óxido de molibdênio como sensores de NO em amostras de sangue.

2.5.5 - Oxidação Eletroquímica do NO em Eletrodo com Superfície Polida

Após comprovada a vedação da célula eletroquímica construída (terceira célula), estudos envolvendo o NO foram realizados. Eletrodos de diferentes materiais foram utilizados e foram estudados os parâmetros: temperatura da solução de NO, velocidade de varredura e número de ciclos. A faixa de potencial aplicada para a oxidação do NO foi de 0,0 V a +1,0 V, onde este é eletroativo.

Estudos referentes à interferência do nitrito também foram realizados, observando-se o potencial de oxidação deste analito em relação ao potencial de

oxidação do óxido nítrico. Um outro estudo realizado ainda com nitrito em solução diz respeito à utilização do Nafion[®], um trocador iônico, que uma vez colocado na superfície do eletrodo, restringe a passagem de ânions, possibilitando a quantificação do NO em soluções contendo nitrito e outros ânions interferentes⁴².

2.5.6 - Oxidação Eletroquímica do NO em Eletrodos Modificados

Os estudos da oxidação do NO em eletrodos modificados foram realizados utilizando-se somente o eletrodo de carbono vítreo, devido à faixa de potencial utilizada para a deposição do filme de molibdênio, onde ocorreria a evolução de hidrogênio caso fosse utilizado o eletrodo de platina⁴³.

As modificações da superfície do eletrodo foram realizadas como descrito no item 2.5.1, em solução ácida de Na₂SO₄ 50,0 mmolL⁻¹, contendo Mo(VI), aplicando-se a faixa de potencial de +0,2 V a -0,8 V. Após modificado, o eletrodo foi adaptado ao septo de borracha que tampava a célula eletroquímica, como indicado na figura 6. Com o auxílio de duas agulhas descartáveis, o oxigênio foi retirado da célula pela passagem de argônio, deixando uma atmosfera de Ar nesta. A solução saturada de NO, preparada previamente em um recipiente de maior capacidade, foi então inserida na célula com o auxílio de uma seringa *gastight* (Hamilton Company-modelo1005RN).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Deposição de Filmes de Óxidos de Mo

As modificações da superfície do eletrodo foram realizadas conforme descrito no item 2.5.1. Antes de iniciar a varredura de potencial, a solução de molibdênio foi borbulhada com argônio durante 5 minutos para remover todo o oxigênio dissolvido nesta, o qual é eletroativo na faixa de potencial utilizada (figura 8).

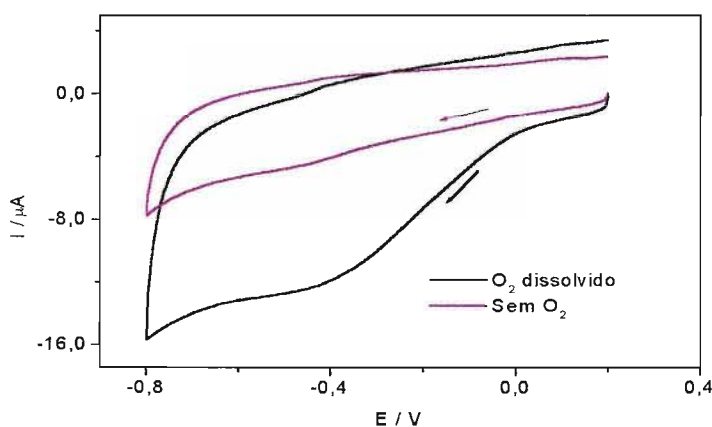


Figura 8. Voltamogramas da solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, — antes e — após a retirada do oxigênio dissolvido na solução pelo borbulhamento de argônio. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

A deposição dos filmes é observada pelo aumento do sinal de corrente dos voltamogramas conforme os ciclos de potencial vão sendo aplicados. A figura 9a é uma figura típica da modificação da superfície do eletrodo, onde o aumento do sinal está relacionado com o aumento da quantidade de material depositado. Para se obter um sinal constante do filme após a modificação, 10 ciclos foram aplicados no eletrodo modificado imerso em solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0 (figura 9b). Observa-se que estes ciclos praticamente se sobrepõem, indicando que o filme é estável na superfície do eletrodo.

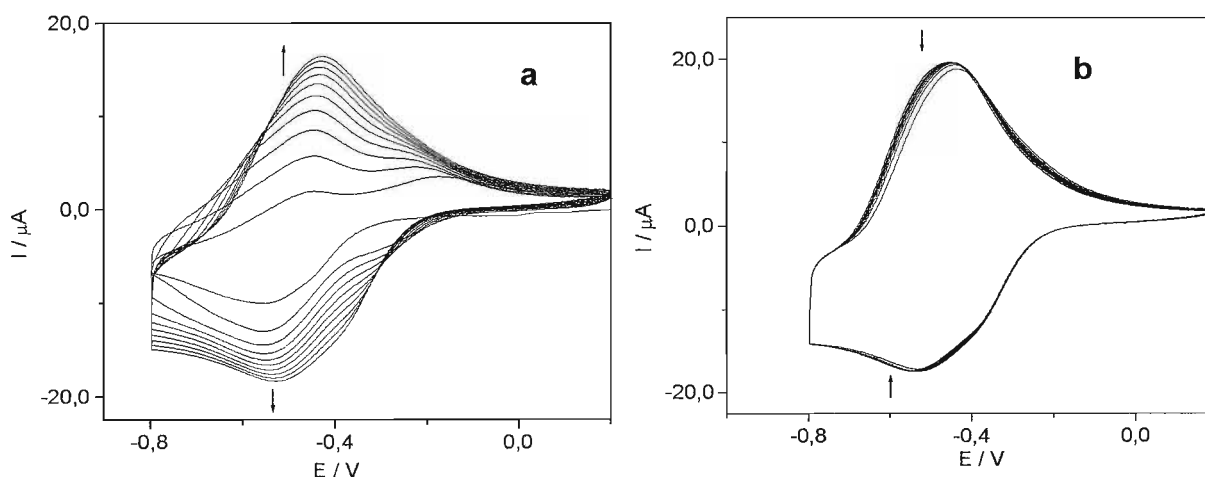


Figura 9. Dez voltamogramas da deposição do filme na superfície do eletrodo **(a)** e estabilização do sinal de corrente do filme **(b)**. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50\text{mV s}^{-1}$.

O filme de molibdênio depositado nestas condições, pela aplicação de 20 ciclos de potencial, pode ser visualizado no eletrodo por apresentar coloração azul. A figura 10 mostra o filme de Mo depositado em uma placa de carbono vítreo de aproximadamente 1cm^2 .

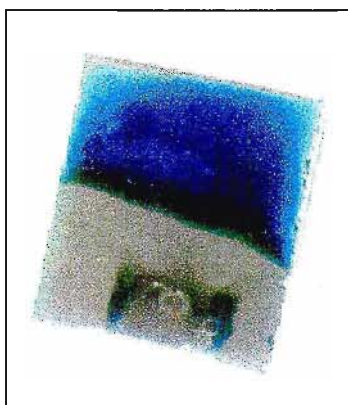


Figura 10. Eletrodo de carbono vítreo modificado a partir de uma solução de Na_2SO_4 50mmolL^{-1} , pH 3,0, contendo Mo(VI) $1,0\text{mmolL}^{-1}$ (20 ciclos). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50\text{mV s}^{-1}$.

O filme depositado na superfície do eletrodo foi visualizado por microscopia eletrônica de varredura (figura 11) e analisado por técnica de espectroscopia de energia dispersiva de raio-X (EDS) (figura 12).



Figura 11. Fotomicrografia da superfície do eletrodo de carbono vítreo modificada com filmes de óxidos de Mo através de 10 ciclos sucessivos de potencial em solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3.

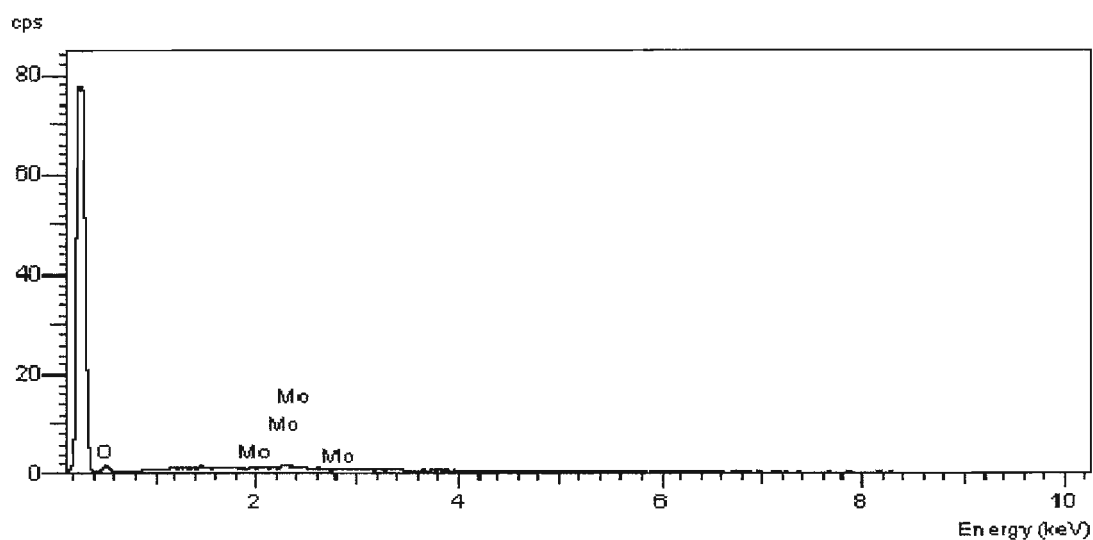


Figura 12. Espectro de energia dispersiva de raio-X do filme depositado no eletrodo, apresentado na fotomicrografia acima.

As figuras acima indicam que há um filme fino depositado no eletrodo, homogeneamente distribuído e por isso, este não é observado na fotomicrografia, apesar de átomos de Mo e de O serem detectados por EDS.

3.2 – Estudo das Condições da Deposição do Filme

Às soluções de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$ foram adicionadas quantidades suficientes de Na_2MoO_4 para obtenção das concentrações 0,1; 1,0; 10,0; $100,0 \text{ mmolL}^{-1}$ deste sal. Estas soluções contendo Mo(VI) foram divididas em 7 partes, ajustando-se o pH de cada parte em 1,0; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 e 5,0. Desta forma, 28 soluções diferentes foram utilizadas para estudar a deposição de filme na superfície do eletrodo.

Após a deposição, a etapa da estabilização do sinal do filme foi realizada utilizando-se a solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$ (sem conter Mo(VI)). Este procedimento foi realizado em todos os experimentos com uma solução de eletrólito suporte de pH 3,0, a fim de permitir a comparação do comportamento eletroquímico dos diferentes filmes obtidos.

Os resultados obtidos estão apresentados em duas etapas: **3.2.1** - em função da variação do pH (considerando fixa a concentração Mo(VI)) e **3.2.2** - em função da concentração de Mo(VI) no meio (considerando valores fixos de pH).

3.2.1 - Concentração de Mo(VI) Fixa e Variação do pH

Utilizando-se as solução de Mo(VI) $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$, em diferentes condições de pH, observou-se uma variação na intensidade do sinal de corrente dos filmes depositados (figura 13a). Representando-se graficamente os valores máximos de corrente catódica (corrente referente à redução do material depositado no eletrodo) em função dos valores de pH das soluções (figura 13b) observa-se a existência de um valor de pH ótimo para a deposição (pH 3,0), onde uma maior quantidade de material é depositado na superfície do eletrodo.

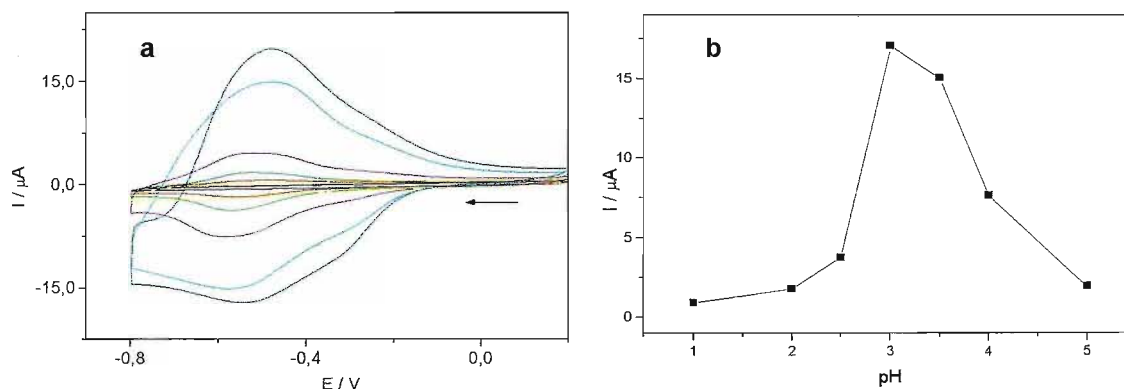


Figura 13. Sinais obtidos em solução de Na₂SO₄ 50,0 mmolL⁻¹, pH 3,0, referentes aos filmes formados em diferentes condições de pH (—1,0; — 2,0; — 2,5; — 3,0; — 3,5; — 4,0; — 5,0) e concentração de Mo(VI) 0,1 mmolL⁻¹ (a). Valores máximos da corrente de pico catódica de cada voltamograma da figura 13a, em função do pH (b). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

Para as deposições realizadas a partir das soluções de Mo(VI) 1,0 mmolL⁻¹, em diferentes condições de pH, a existência de um pH ótimo (pH 2,5) também foi observada (figuras 14a e 14b).

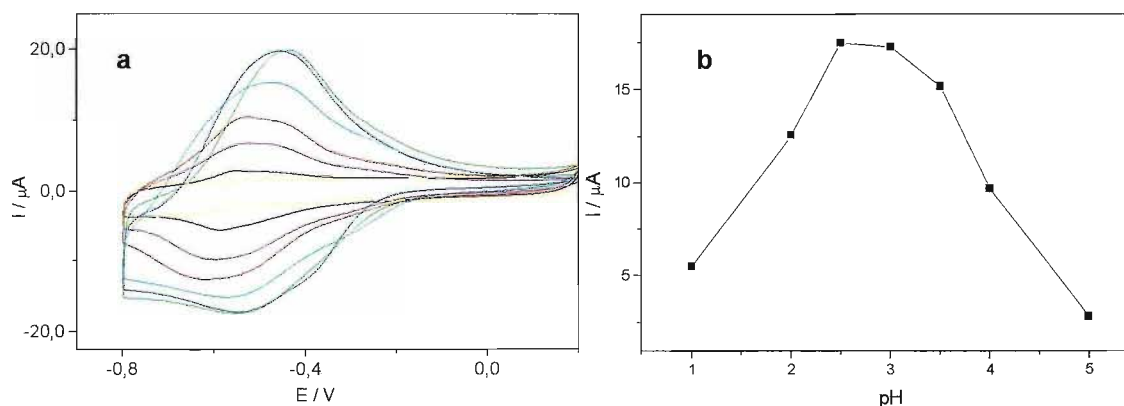


Figura 14. Sinais obtidos em solução de Na₂SO₄ 50,0 mmolL⁻¹, pH 3,0, referentes aos filmes formados em diferentes condições de pH (—1,0; —2,0; — 2,5; — 3,0; — 3,5; — 4,0; — 5,0) e concentração de Mo(VI) 1,0mmolL⁻¹ (a) e valores máximos da corrente de pico catódica de cada voltamograma da figura 14a, em função do pH (b). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo.

Por sua vez, as soluções de Mo(VI) 10,0 mmolL⁻¹ apresentaram resultados semelhantes às soluções de Mo(VI) 1,0 mmolL⁻¹, apresentando maior intensidade de corrente também em pH 2,5. Já os resultados obtidos a partir das soluções de Mo(VI) 100,0 mmolL⁻¹ não puderam ser utilizados, pois o filme se desprendia do

eletrodo conforme os ciclos de potencial eram aplicados, provavelmente devido à grande quantidade de material incorporado após cada ciclagem.

3.2.2 - Valor de pH Fixo e Variação da Concentração de Mo(VI) da Solução

A figura 15 apresenta os sinais dos filmes, em solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0, os quais foram depositados a partir de soluções com diferentes concentrações de Mo(VI), ajustadas em pH 1,0 (figura 15a) e em pH 5,0 (figura 15b).

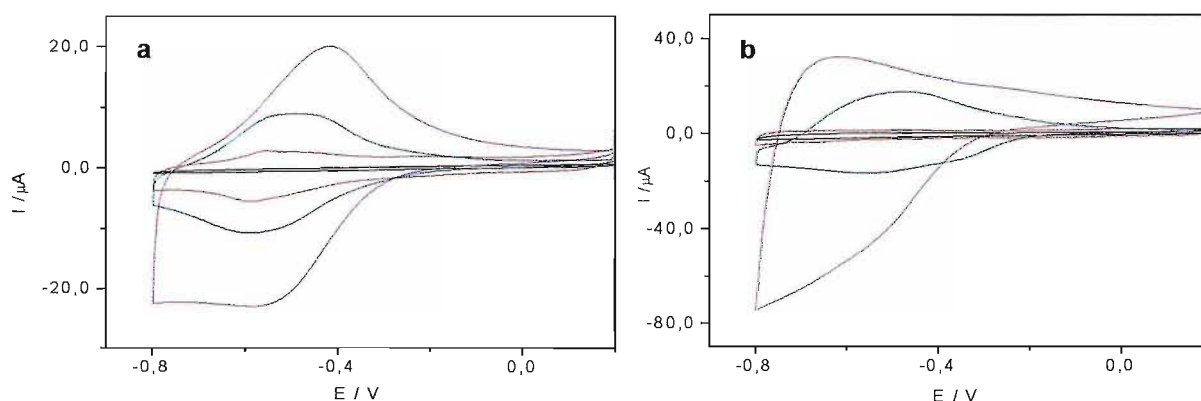


Figura 15. Sinais obtidos em solução de sulfato de sódio 50 mmolL^{-1} , referentes aos filmes formados em soluções de concentrações de Mo(VI) igual a: — 0,1; — 1,0; — 10,0; — 100,0 mmolL^{-1} , (a) todas com valor de pH ajustado em 1 e (b) todas com valor de pH ajustado em 5. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Observa-se uma relação entre a intensidade do sinal e a concentração de Mo(VI) no meio, como era esperado. Esta relação foi observada em todas as condições de pH estudadas.

Comparando-se as figuras 15a e 15b, observa-se que o potencial também variou em função do pH da solução. Para as outras condições de pH, também foram observadas alterações no valor do potencial de redução dos filmes, o que sugere a formação de filmes diferentes. Neste contexto, pode-se inferir que os filmes depositados são dependentes da concentração de Mo(VI) na solução e do pH.

3.3- Efeito Eletrocatalítico e Composição dos Filmes

Uma vez que filmes de diferentes composições podem ter sido formados nas diferentes condições experimentais, estudou-se o efeito eletrocatalítico destes frente ao iodato. O IO_3^- não é eletroativo na faixa de potencial de +0,2 V a -0,8 V quando se utiliza eletrodo polido, porém observa-se um sinal de redução nos voltamogramas ao se utilizar o eletrodo modificado. Para este estudo, o eletrodo foi imerso numa solução previamente desaerada de KIO_3 $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5 - condição onde o processo eletrocatalítico para este substrato mostrou-se mais eficiente, conforme trabalhos anteriores do nosso grupo de pesquisa⁶.

Tal alteração no sinal eletroquímico da solução do iodato está relacionada com a oxidação de átomos de Mo do filme, devido à abstração de oxigênio deste substrato, quando em contato com o filme (etapa química). Estes átomos de Mo oxidados, por sua vez, são novamente reduzidos na faixa de potencial aplicada, resultando no sinal catódico observado (etapa eletroquímica).^{4,6}

As figuras 16a e 16b apresentam os voltamogramas obtidos para a solução de iodato antes e após a modificação do eletrodo em diferentes condições. O sinal do filme registrado na solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0, também está sendo apresentado para efeito comparativo.

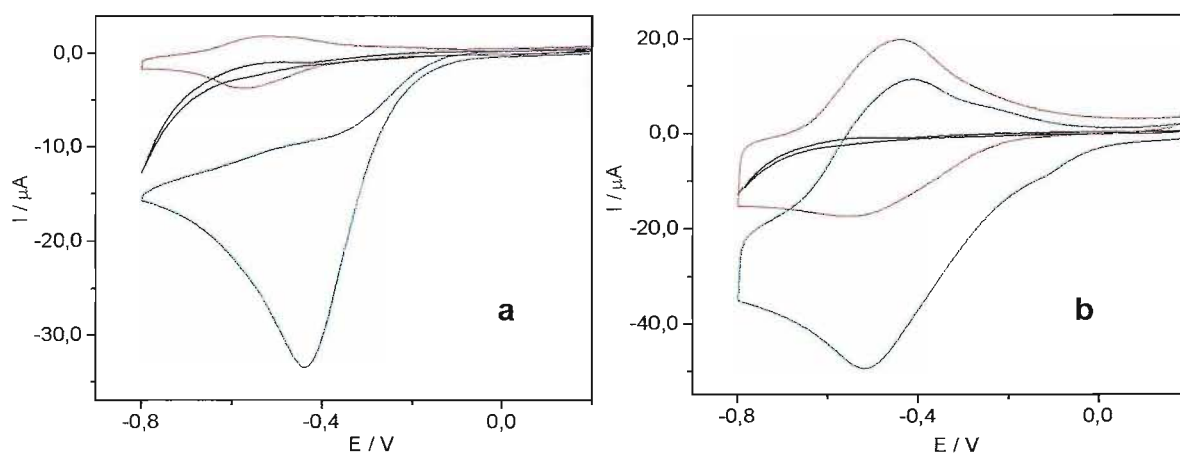


Figura 16. Voltamogramas da redução do iodato em eletrodo polido (—) e modificado (—) em diferentes condições: solução de Mo(VI) $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5 (a) e solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5 (b). As curvas vermelhas (—) são os sinais dos respectivos filmes em solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Assim como estes, os filmes depositados em outras condições experimentais apresentaram diferentes sinais electrocatalíticos frente à redução do IO_3^- .

Calculando-se a razão entre os valores da corrente de pico catódica para a redução do iodato nos eletrodos modificados (linhas azuis) e os sinais para o processo catódico do filme em sulfato de sódio (linhas vermelhas), obtêm-se valores que podem ser relacionados à redução do iodato. Estes valores de razão ($I_{\text{iodato}} / I_{\text{filme}}$) podem ser relacionados graficamente com o pH e com a concentração de Mo(VI) das soluções utilizadas para a deposição dos respectivos filmes na superfície do eletrodo, como está sendo apresentado na figura 17.

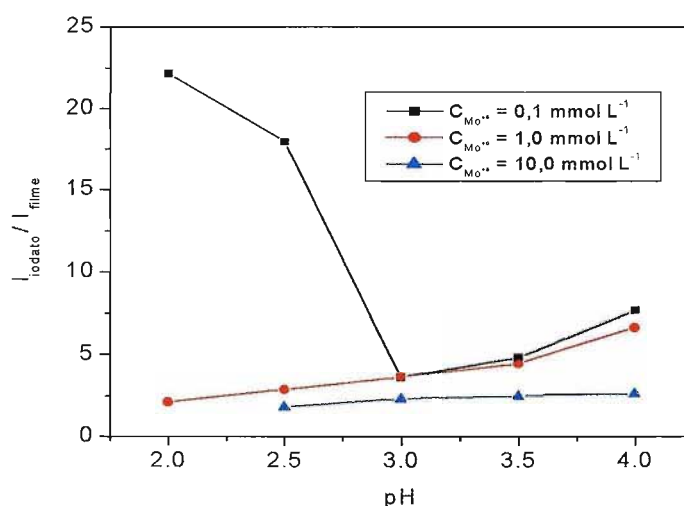


Figura 17. Razão $I_{\text{iodato}} / I_{\text{filme}}$ em função da concentração de Mo(VI) e do pH das soluções utilizadas na deposição dos filmes no eletrodo.

Pela figura acima, observa-se que o processo de electrocatálise da redução do iodato foi mais eficiente utilizando-se o filme depositado a partir das soluções de Mo(VI) $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. Observa-se ainda que nos valores de pH apresentados no item 3.2.1, onde aparentemente uma maior quantidade de material está depositada na superfície do eletrodo, não são observados os maiores sinais da razão iodato / filme, como era esperado, pois quanto mais filme na superfície, mais átomos de Mo poderiam ser oxidados quimicamente numa solução de iodato. Uma explicação para este fato pode ser sugerida, levando-se em conta os diagramas de distribuição das espécies de Mo em solução, onde filmes de diferentes composições podem ter sido depositados e estes podem apresentar

comportamentos diferentes no que diz respeito à interação química com o ânion iodato.

Com o intuito de estudar a composição dos filmes depositados sob diferentes condições experimentais, os eletrodos modificados foram submetidos à técnica de Retro-espalhamento Rutherford (RBS). O fundamento desta técnica consiste na incidência de um plasma com energia suficiente para a remoção de elétrons do material presente na superfície analisada e a energia desses elétrons, captada em um anteparo, indica o átomo do qual eles foram arrancados⁴⁴. Para tanto, não é necessária a presença de filmes de grandes espessuras.

Os filmes foram depositados sobre a superfície de placas de carbono vítreo, de aproximadamente 1cm^2 , por dez ciclagens de potencial, em todas as etapas de modificação e mais dez ciclos foram aplicados para estabilizar o sinal do filme. Utilizou-se uma solução de Na_2SO_4 $50,0\text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0, em todos os casos, exceto na amostra 4, a fim de observar se os últimos dez ciclos poderiam mudar as espécies de Mo do filme. A amostra 11 foi depositada e estabilizada a partir de uma solução de NaCl $50,0\text{ mmolL}^{-1}$, de pH 2,5 ajustado pela adição de HCl $1,0\text{ molL}^{-1}$, e a amostra 12 foi depositada a partir de uma solução de H_2KPO_4 , de pH 2,5 ajustado pela adição de H_3PO_4 $1,0\text{ molL}^{-1}$, a fim de se observar a influência do eletrólito suporte na composição dos filmes depositados. Ambas as soluções continham $1,0\text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI) .

As condições da preparação de todas as amostras analisadas estão apresentadas abaixo:

Amostra 1 – deposição em solução de sulfato, pH = 2,5, contendo $0,1\text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI) .

Amostra 2 – deposição em solução de sulfato, pH = 2,5, contendo $1,0\text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI) .

Amostra 3 – deposição em solução de sulfato, pH = 2,5, contendo $10,0\text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI) .

Amostra 4 – deposição em solução de sulfato, pH = 2,5, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI). Este filme não passou pela etapa de estabilização.

Amostra 5 – deposição em solução de sulfato, pH = 1,0, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI).

Amostra 6 – deposição em solução de sulfato, pH = 2,0, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI).

Amostra 7 – deposição em solução de sulfato, pH = 3,0, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI).

Amostra 8 – deposição em solução de sulfato, pH = 3,5, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI).

Amostra 9 – deposição em solução de sulfato, pH = 4,0, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI).

Amostra 10 – deposição em solução de sulfato, pH = 5,0, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI).

Amostra 11 – deposição em solução de cloreto, pH = 2,5, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI). Amostra estabilizada em solução de cloreto, pH 2,5.

Amostra 12 – deposição em solução de fosfato, pH = 2,5, contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI). Amostra estabilizada em solução de fosfato, pH 2,5.

Os espectros obtidos para as três primeiras amostras, onde variou-se a concentração de Mo(VI) da solução, mantendo-se o pH em 2,5, estão apresentados a seguir (figuras 18a, 18b e 18c). As linhas pretas são os resultados obtidos e as vermelhas são os resultados apresentados pelo programa de simulação, que considera a presença de outros possíveis elementos, mesmo em concentrações muito pequenas.

A diferença na quantidade de material depositado na superfície do eletrodo pode ser facilmente observada pela altura dos picos de oxigênio e molibdênio das três amostras. Este parâmetro, porém, não leva a conclusão alguma em relação à composição destes filmes.

Um parâmetro que pode ser relacionado à composição dos filmes é a relação entre a quantidade de átomos de oxigênio e de molibdênio contidos em 1cm^2 do eletrodo, os quais são obtidos por esta técnica e por sua vez, podem ser relacionados ao número de oxidação dos átomos de Mo. Porém, utilizar somente estes dois átomos para calcular este número de oxidação não seria totalmente correto, pois os espectros simulados dos respectivos filmes sugerem a presença de hidrogênio e de outros cátions na superfície do eletrodo, os quais poderiam fazer parte da constituição dos filmes. Como esta técnica não distingue os átomos que fazem parte da constituição do filme, daqueles que estão simplesmente “presos” entre suas camadas, o número de oxidação do Mo não foi estimado.

Os números de átomos de molibdênio e oxigênio obtidos pelo programa RUMP estão apresentados na tabela 3, bem como a proporção entre estes elementos. A quantidade de átomo de Mo(VI) das amostras 6, 9, 10 e 12 não puderam ser medidos, e portanto estas amostras não aparecem na tabela.

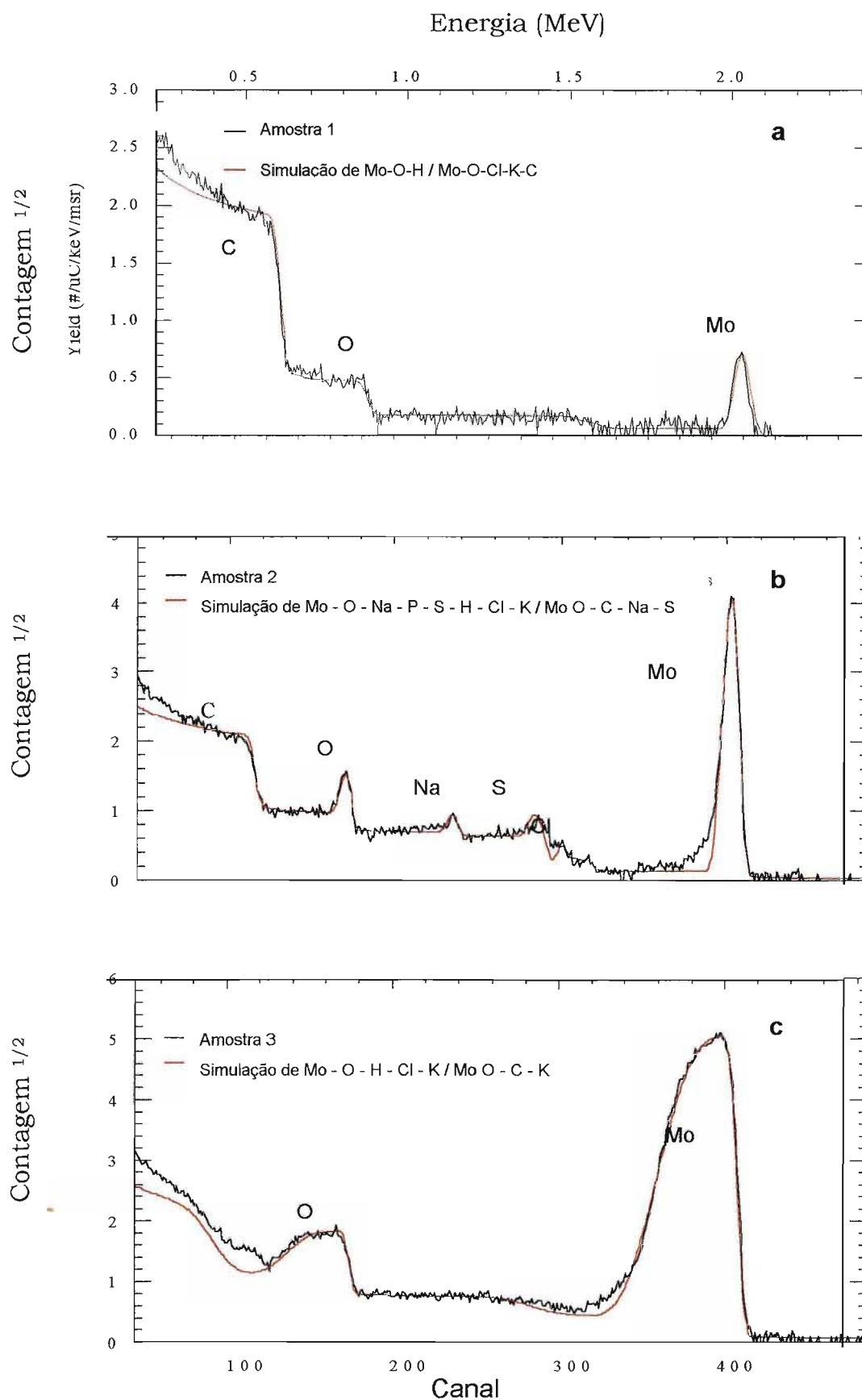


Figura 18. Espectros de RBS dos filmes depositados a partir das soluções de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5, contendo $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$ (a), $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ (b) e $10,0 \text{ mmolL}^{-1}$ (c) de Mo(VI).

Tabela 3. Número de átomos cm⁻², obtidos por RBS. Incerteza: 10%.

Amostra Condição experimental	Átomos de Mo cm ⁻² x 10 ¹⁵	Átomos de O cm ⁻² x 10 ¹⁵	Relação atômica entre Mo e O
Amostra 1 CMo(VI) = 0,1 mmolL ⁻¹ pH = 2,5	2,07	7,93	Mo ₁ O _{3,8}
Amostra 2 CMo(VI) = 1,0 mmolL ⁻¹ pH = 2,5	75,04	210,23	Mo ₁ O _{2,8}
Amostra 3 CMo(VI) = 10,0 mmolL ⁻¹ pH = 2,5	503,60	1376,00	Mo ₁ O _{2,7}
Amostra 4 CMo(VI) = 1,0 mmolL ⁻¹ pH = 2,5 sem estabilizar	84,81	197,52	Mo ₁ O _{2,3}
Amostra 5 CMo(VI) = 1,0 mmolL ⁻¹ pH = 1,0	1,27	29,00	Mo ₁ O _{22,8}
Amostra 7 CMo(VI) = 1,0 mmolL ⁻¹ pH = 3,0	66,34	194,30	Mo ₁ O _{2,9}
Amostra 8 CMo(VI) = 1,0 mmolL ⁻¹ pH = 3,5	32,83	49,64	Mo ₁ O _{1,5}
Amostra 11 CMo(VI) = 1,0 mmolL ⁻¹ pH = 2,5 Meio: NaCl	30,18	80,21	Mo ₁ O _{2,6}

Pela relação entre os átomos de molibdênio e oxigênio, pode-se observar:

- Entre as amostras 1, 2 e 3, onde variou-se a concentração de Mo(VI) presente na solução inicial, a amostra com menos molibdênio apresentou uma relação Mo:O muito diferente das outras duas. Este fato é interessante quando comparado à figura 17, onde este filme apresentou o maior sinal em relação à redução do iodato.

- Entre as amostras 2, 3 e 7, a relação Mo:O não é muito diferente, como também não foi muito diferente o efeito eletrocatalítico destes filmes em relação ao iodato (figura 14).
- A amostra 2 e 4, apresentaram diferença na relação Mo:O, porém muito pequena, e pela sobreposição dos espectros de RBS, pode-se inferir que a etapa de estabilização do filme não altera consideravelmente a composição deste.
- As amostras 2, 5 e 8 apresentaram relação Mo:O bastante diferentes, sendo maior a quantidade de oxigênio no filme quanto menor o pH da solução de Mo(VI) utilizada para a deposição.
- A amostra 11 (filme depositado em meio de NaCl) apresentou resultados muito próximos aos da amostra 2 (filme depositado nas mesmas condições, porém em meio de sulfato) e a sobreposição dos espectros de RBS sugere que o eletrólito não interfere na composição do filme depositado, porém este filme não foi utilizado na solução de iodato.
- Com exceção da amostra 2, as outras amostras que não puderam ser analisadas estão de acordo com o esperado, por causa da acidez do meio e da presença de fosfato, que complexa com o Mo(VI), em meio ácido⁴⁵.

Em uma visão geral, pode-se concluir que a relação Mo:O, a qual pode ser relacionada com o número de oxidação médio dos átomos de molibdênio dos filmes, tende a diminuir com a diminuição da acidez do meio. Além disso, a alta concentração de Mo(VI) parece não alterar a composição do filme depositado, enquanto que a baixa concentração apresenta um filme de composição e propriedade eletrocatalítica bem diferente dos demais.

O filme depositado a partir da solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5, foi analisado também por espectroscopia de raio-X mole (SXS), no Laboratório

Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), em Campinas. O resultado deste filme, comparado com o resultado do óxido de Mo(VI) (padrão), sugere que os átomos de Mo deste filme apresentam número de oxidação médio menor do que +6, conforme esperado.

3.4- Espessura dos Filmes Depositados

A espessura dos filmes depositados a partir de solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5, foi obtida por elipsometria. A figura 19 apresenta os valores de espessura em função do número de ciclos aplicados na modificação.

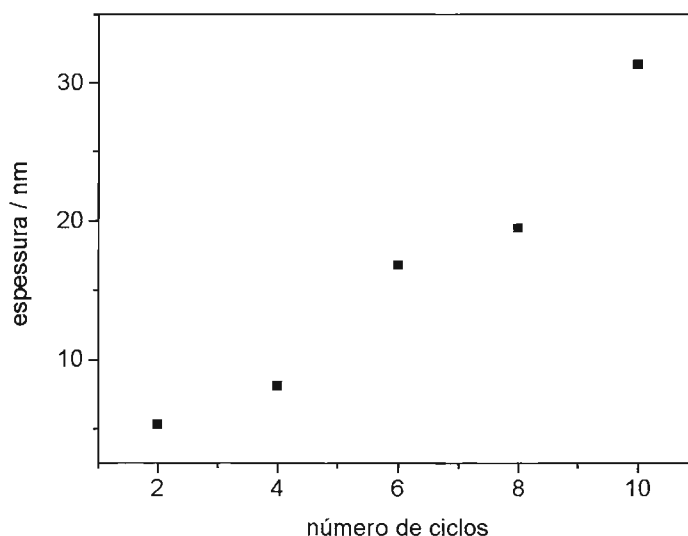


Figura 19. Espessura real dos filmes, obtida por elipsometria, em função do número de ciclos aplicados durante a modificação do eletrodo.

Observou-se uma relação linear entre o número de ciclos e a espessura dos filmes depositados, que também é obtida através dos voltamogramas registrados, em função do número de ciclos (figura 20a e 20b).

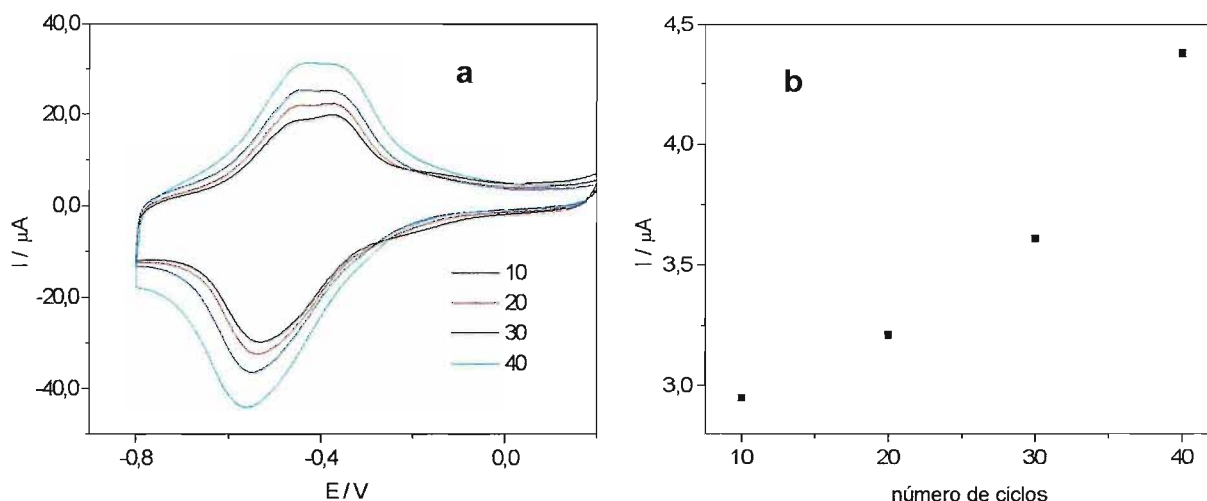


Figura 20a. Sinal dos filmes depositados através de diferentes números de ciclos aplicados durante a modificação da superfície do eletrodo. **Figura 20b.** Linearidade entre a intensidade de corrente de pico catódica e o número de ciclos aplicados.

O efeito da espessura do filme depositado a partir de solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, em pH 2,5, foi estudado observando-se a variação do sinal eletroquímico da solução de ferricianeto. A queda do sinal deste analito mostra que o processo eletroquímico é dificultado à medida que o filme se torna mais espesso. Relacionando o aumento da espessura com a diminuição da porosidade do filme, o experimento indica também que este processo parece ocorrer na superfície do eletrodo de carbono vítreo, não havendo intermediação por parte do filme.

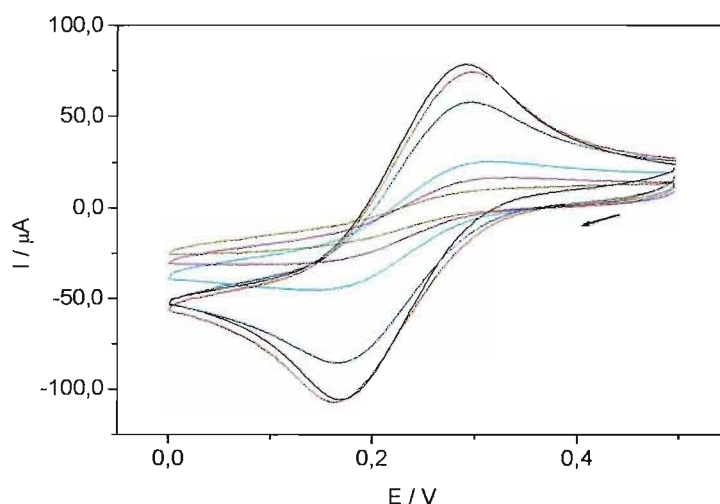


Figura 21. Sinal de redução do ferricianeto no eletrodo polido (---), modificados com 10 ciclos (—), 20 ciclos (—), 25 ciclos (—), 30 ciclos (—) e 35 ciclos (—). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

3.5- Durabilidade do Filme

Pensando numa futura aplicação dos eletrodos modificados por óxidos de Mo como sensor de NO em amostras de sangue, estudou-se o efeito de soluções neutras e básicas (3.5.1) e o efeito do fosfato (3.5.2) sobre os filmes já depositados. Para tais experimentos, o eletrodo foi previamente modificado, aplicando-se 10 ciclos de varredura de potencial de +0,2 V a -0,8 V, em solução de Mo(VI) 1,0 mmolL⁻¹, pH 2,5.

3.5.1 - Imersão dos Eletrodos Modificados em Soluções Neutras

Este experimento consistiu na comparação do sinal do filme em Na₂SO₄ 50,0 mmolL⁻¹, pH 3,0, antes e após o registro de um voltamograma em solução de mesmo eletrólito suporte, porém em pH 7,0 (figura 22).

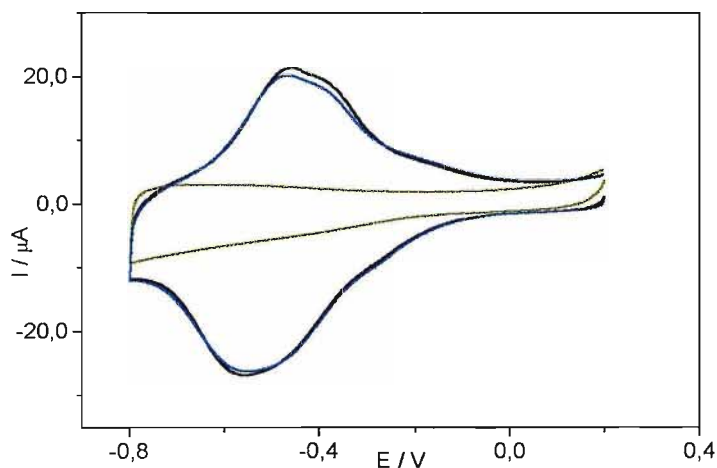


Figura 22. Sinal do filme em solução de pH 3,0 de sulfato (—), em pH 7,0 de sulfato (—) e novamente em solução de pH 3,0 de sulfato (—). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50\text{mV s}^{-1}$.

Pode-se inferir que a solução de Na₂SO₄ 50,0 mmolL⁻¹, pH 7,0, não causa modificação no sinal do filme, pois o comportamento eletroquímico do filme em pH 3,0, antes e após o registro do voltamograma nesta solução (pH 7) é semelhante.

3.5.2 - Sinal em Solução Tampão Fosfato

Uma vez que o pH do eletrólito suporte não modifica a composição do filme depositado, observou-se o efeito do eletrólito fosfato sobre este. Para tanto, comparou-se o sinal do filme em Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, em pH 3,0, antes e após o registro de um voltamograma em solução tampão fosfato pH 7,0 (figura 23).

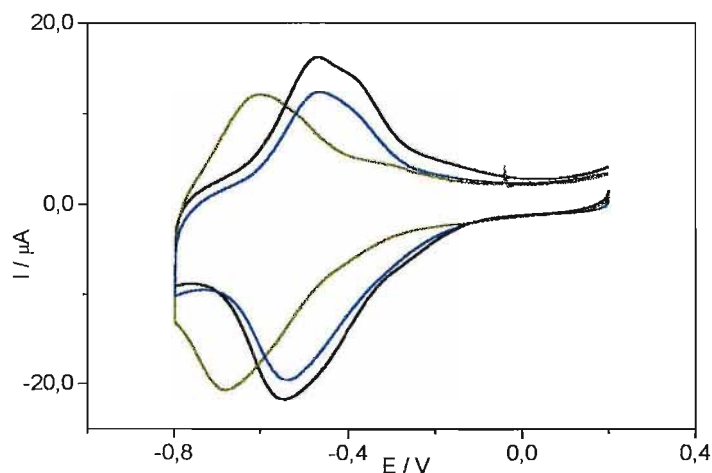


Figura 23. Sinal do filme em solução de pH 3,0 de sulfato (—), em pH 7 de fosfato (—) e novamente em solução de pH 3,0 de sulfato (—). Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Comparando-se a figura 22, onde não houve alteração no filme, com a figura 23, pode-se inferir que a possível causa da pequena queda do sinal de corrente eletroquímico, após o registro de um voltamograma na solução de fosfato é a eventual formação do ácido 12-molibdofosfórico (12-MPA)⁴⁵. Contudo, a imersão em solução de fosfato não remove o filme, possibilitando o uso do eletrodo modificado nesta solução. É observada também a presença de processo faradaico do filme na solução de fosfato (pH 7,0), o qual não existe na solução de Na_2SO_4 de mesmo pH.

3.6- Oxidação Eletroquímica do NO

3.6.1 – Solução Saturada de NO

Como descrito anteriormente, a solução saturada para todos os experimentos foi obtida através do borbulhamento deste gás durante um certo tempo, em uma solução de eletrólito suporte (solução tampão fosfato, pH 7,0) previamente desaerada. O tempo para saturação da solução varia de acordo com o volume da solução de eletrólito suporte que se utiliza. Porém, uma vez que esta solução está saturada de NO, a intensidade de corrente referente à oxidação da espécie eletroativa permanece constante. Este fato pode ser utilizado como parâmetro para se observar quando as soluções geradas já estão saturadas, independente do volume de eletrólito utilizado, desde que a temperatura da solução seja a mesma. A figura 24 apresenta as intensidades de corrente da oxidação de uma solução de NO em função do tempo de borbulhamento em 50,0 mL de solução tampão fosfato, pH 7,0 a 25 °C.

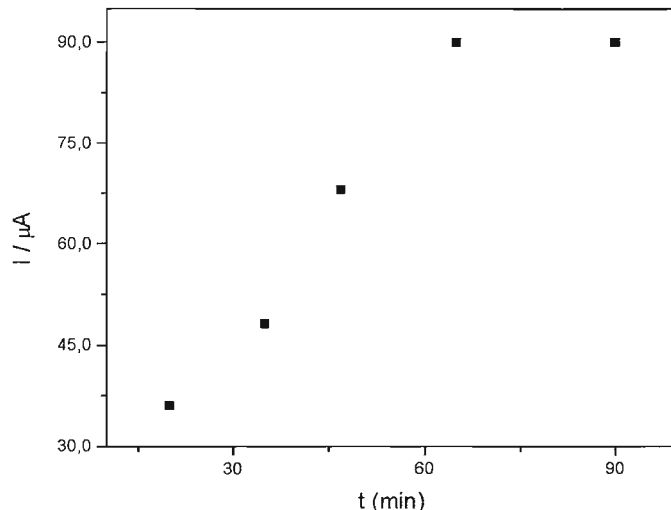


Figura 24. Sinal de oxidação da solução saturada de NO, obtida em eletrodo de carbono vítreo, em função do tempo de borbulhamento.

Observa-se pela figura acima que a intensidade do sinal de oxidação da solução de NO aumenta com o tempo de borbulhamento, até atingir um valor constante, indicando que a saturação foi alcançada.

3.6.2 – Efeito da Temperatura sobre a Saturação da Solução de NO

A saturação da solução de NO foi observada em função da temperatura da solução de eletrólito suporte. A figura 25 apresenta os voltamogramas de oxidação do NO a partir das soluções tampão fosfato (pH 7,0) nas temperaturas 12, 23 e 34 °C, saturadas com NO.

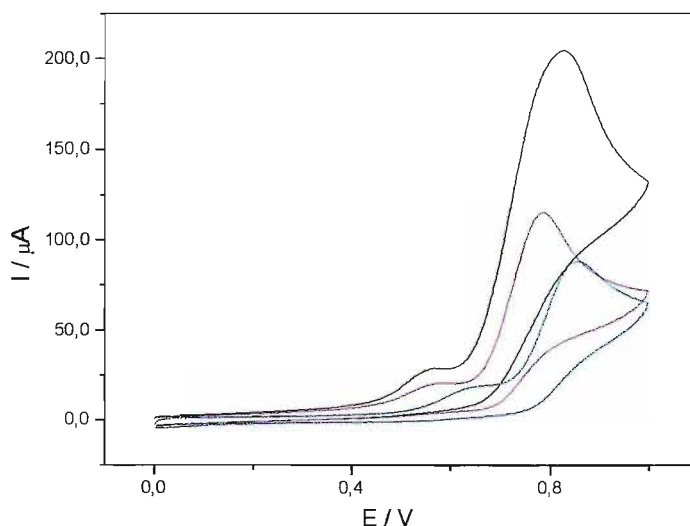


Figura 25. Sinal da oxidação do NO em eletrodo de carbono vítreo, a partir da saturação saturada deste gás sob diferentes temperaturas. — 12°C, — 34° e — 23°C).

Observa-se que a intensidade do sinal de corrente da solução saturada a 12 °C é o maior, indicando que este gás é mais solúvel em temperaturas mais baixas, como esperado. Porém, o oposto ocorreu entre os sinais obtidos para as outras duas temperaturas (23 °C e 34 °C), observando-se um maior sinal para a solução saturada a 34 °C.

Este fato pode ser explicado considerando que a intensidade do sinal de oxidação depende, não só da quantidade de NO na solução, mas também da difusão deste gás para o eletrodo, que também é influenciada pela temperatura. Desta forma, pode-se inferir que a maior intensidade do sinal da solução em 34 °C, é devido ao efeito da temperatura sobre a difusão deste gás, que parece ser mais pronunciado do que o efeito da temperatura sobre a solubilidade.

3.6.3 – Sinal de Oxidação do NO em Eletrodo com Superfície Polida

Iniciando-se os estudos referentes ao sinal de oxidação do NO, dez voltamogramas consecutivos foram registrados, utilizando-se o eletrodo de carbono vítreo. A faixa de potencial aplicada foi de 0,0 V a +1,0 V, e a velocidade de varredura 50 mV s^{-1} .

Neste primeiro experimento, observou-se uma queda no sinal eletroquímico com o número de ciclos aplicados consecutivamente (figura 26a). Para verificar o efeito da velocidade de varredura sobre esta queda de sinal, o experimento foi repetido a 200 mV s^{-1} , porém o resultado obtido foi semelhante. Outros experimentos foram realizados, onde aumentou-se a faixa de potencial aplicada, iniciando-a em 0,2 V e depois em 0,5 V, com o intuito de destruir espécies que eventualmente poderiam estar se adsorvendo à superfície do eletrodo durante o registro dos voltamogramas, porém a queda continuou a ser observada. Este experimento foi então repetido, utilizando-se a mesma solução tampão fosfato, porém substituindo o NO por ferrocianeto (figura 26b) para comprovar que a perda de sinal durante a ciclagem de potencial ocorria devido à natureza do processo eletródico envolvendo o substrato.

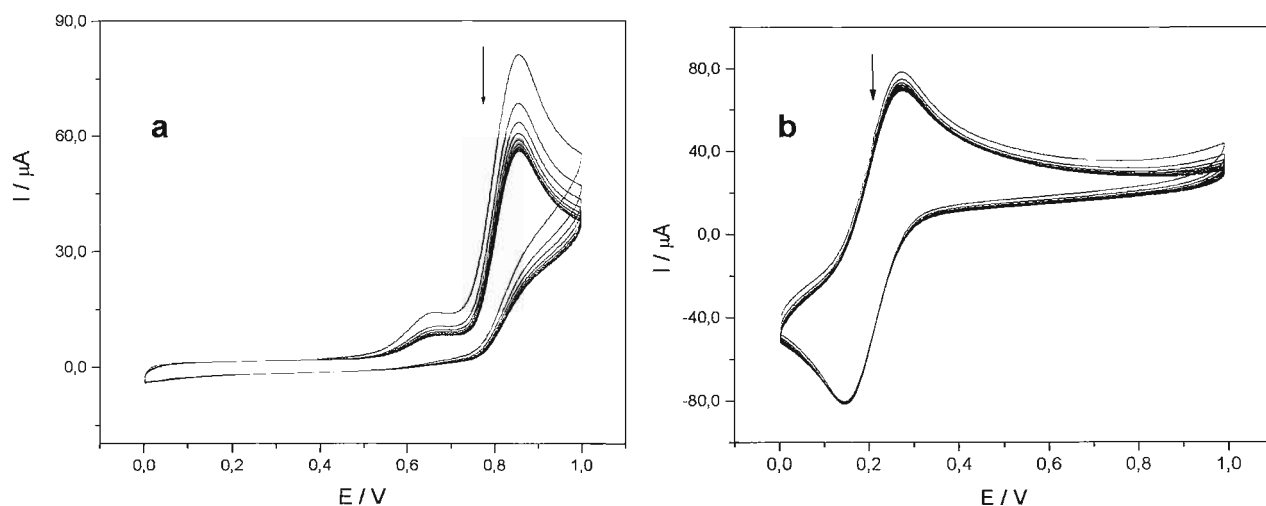


Figura 26. Voltamogramas obtidos para a solução de NO **(a)** e para a solução de ferrocianeto 10 mmol L^{-1} **(b)**. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Observou-se, que entre os voltamogramas da solução de ferrocianeto, a queda do sinal foi muito pequena e portanto, inferiu-se que o envenenamento do eletrodo pode estar ocorrendo por causa de produtos formados durante a oxidação anódica do NO.

Um eletrodo de platina foi utilizado para observar se o mesmo ocorreria neste material. A figura 27 apresenta o resultado obtido para a solução tampão fosfato saturada de NO.

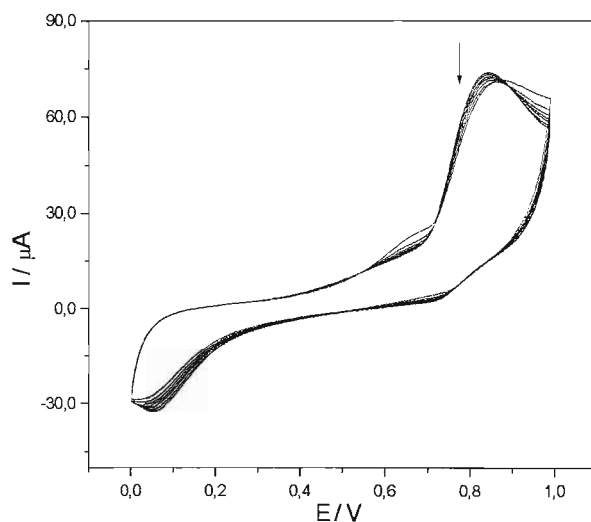


Figura 27. Voltamogramas obtidos para a solução de NO (a) em eletrodo de platina. $V = 50\text{mV s}^{-1}$.

Utilizando-se este eletrodo, também foi observada uma pequena queda nos sinais da oxidação do ferrocianeto, porém a queda nos sinais de oxidação do NO foi muito menor em comparação com os resultados obtidos utilizando-se o eletrodo de carbono vítreo. Desta forma, todo o estudo do sinal de oxidação do NO em eletrodo polido foi realizado utilizando-se o eletrodo de platina.

3.6.4 – Estudo sobre as Etapas do Processo de Oxidação do NO

Como observado na figura 25, o sinal de oxidação do NO apresenta duas ondas. Estas foram estudadas variando-se a velocidade de varredura de potencial (figura 28). É importante salientar que a cada voltamograma o eletrodo de platina teve sua superfície polida, e uma nova solução de NO foi utilizada.

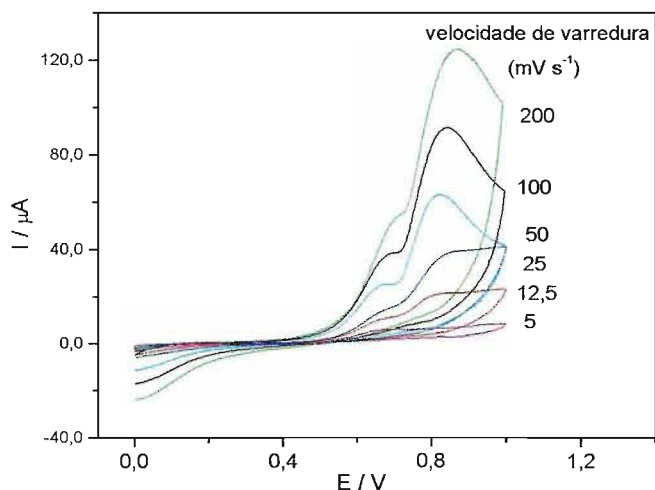


Figura 28. Voltamogramas da solução saturada de NO em eletrodo de platina, em diferentes velocidades de varredura.

Representando-se graficamente os valores máximos de corrente da primeira e da segunda onda da oxidação do NO em função da raiz quadrada da velocidade, uma reta foi obtida, indicando que tanto a primeira como a segunda onda são governadas pela difusão das espécies eletroativas (figura 29a e 29b).

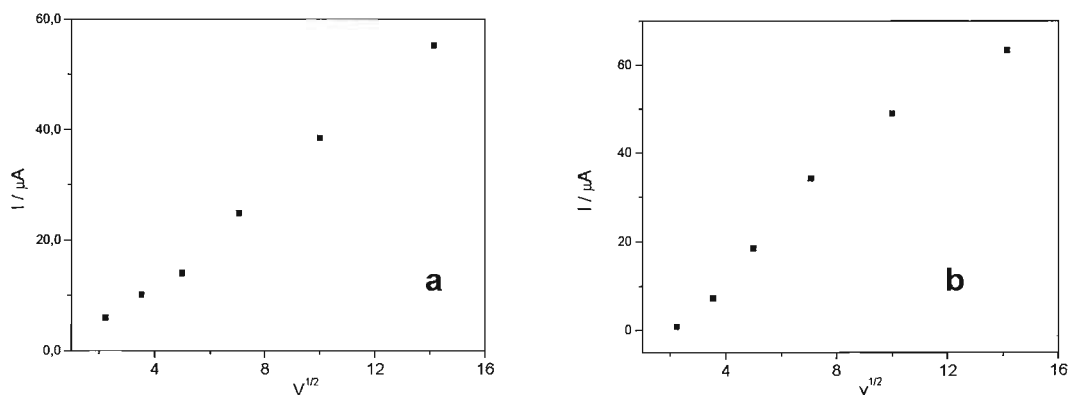


Figura 29. Máximo valor de intensidade de corrente da primeira (a) e da segunda (b) onda do NO em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.

Segundo o mesmo procedimento descrito acima, observou-se que a oxidação eletroquímica do NO em eletrodo de carbono vítreo também é governada pelo transporte de massa. Desta forma, esse eletrodo pode ser utilizado em

experimentos envolvendo o óxido nítrico, desde que sua superfície seja polida após cada voltamograma registrado (figura 30a, 30b e 30c).

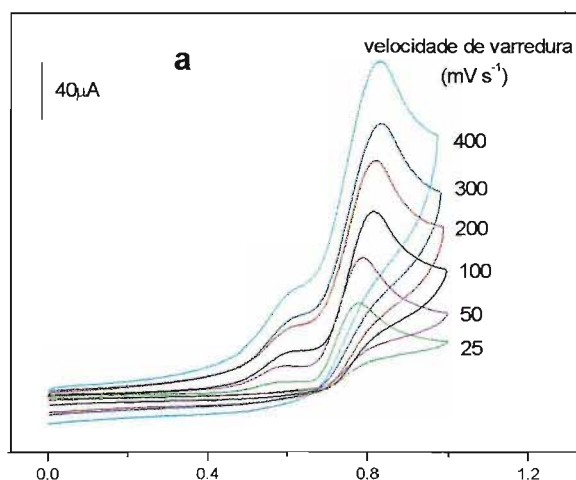


Figura 30a. Voltamogramas da solução saturada de NO em eletrodo de carbono vítreo, em diferentes velocidades de varredura.

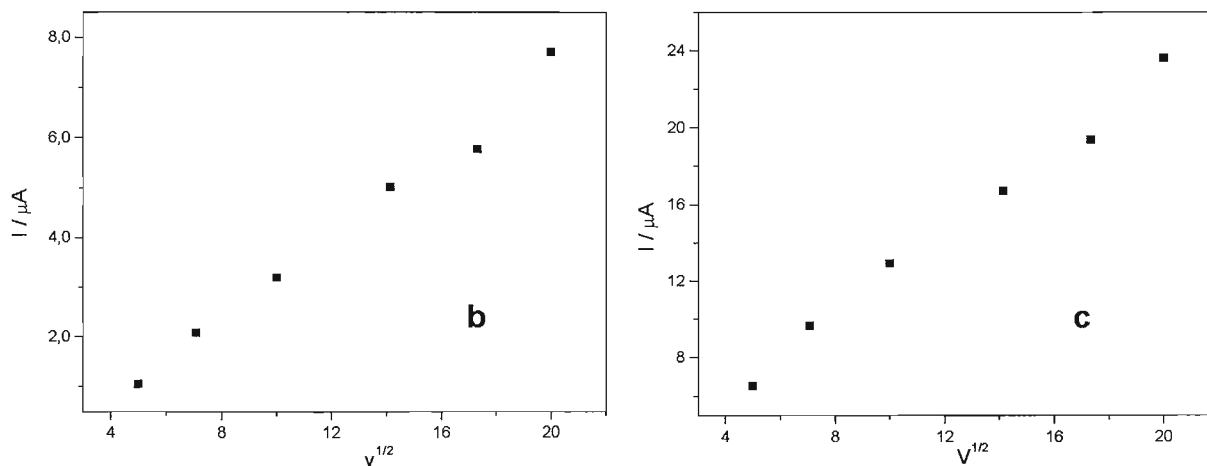


Figura 30b e 30c. Máximo valor de intensidade de corrente da primeira (b) e da segunda (c) onda do NO em função da raiz quadrada da velocidade de varredura.

A onda de oxidação do NO também foi estudada em função do pH da solução (figura 31). Os voltamogramas obtidos a partir das soluções saturadas de NO em pH 3,0, 7,0 e 10,0 mostraram que não há alteração no potencial de oxidação dos processos associados às duas ondas. Além disso, observa-se que a maior intensidade de sinal foi obtida em pH 7,0 e este será o pH da solução utilizada em todos os próximos experimentos envolvendo o óxido nítrico.

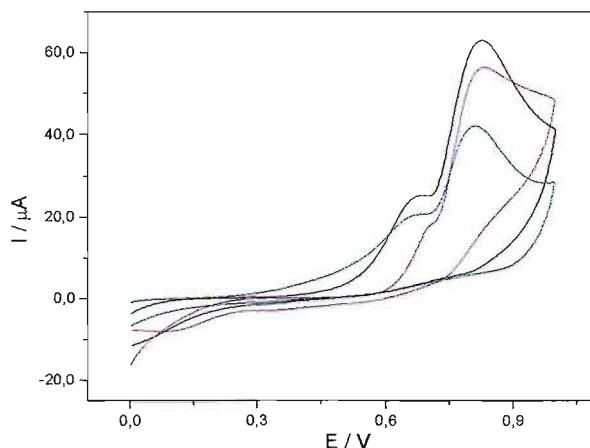
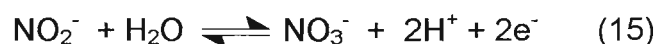
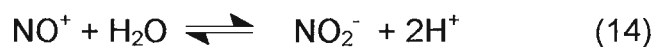
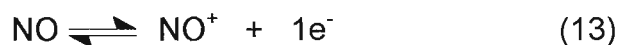


Figura 31. Voltamogramas das soluções saturadas de NO em — pH 3, - - - pH 7 e . . . pH 10. Eletrodo de trabalho: platina. Velocidade = 50mV s^{-1} .

Experimentos envolvendo nitrito (NO_2^-) também foram realizados com o intuito de investigar a natureza das espécies responsáveis pelas ondas observadas nos voltamogramas do NO. Uma suposição inicial foi feita, considerando que o NO está sendo primeiramente oxidado a NO^+ pela perda de 1 elétron (equação 13), que em meio aquoso forma NO_2^- dependendo do pH (ambos os nitrogênios têm número de oxidação +3 – equação 14). Este íon, por sua vez, é oxidado a NO_3^- , pela perda de mais dois elétrons (equação 15). A perda de 1 e 2 elétrons por molécula de NO seria então responsável pela primeira e segunda onda dos voltamogramas, respectivamente³¹.



A figura 32a mostra que o sinal de oxidação do nitrito aparece em potenciais muito próximos ao potencial da segunda onda observada nos voltamogramas de oxidação do NO e a figura 32b mostra que esta oxidação também é governada por difusão, como no caso do óxido nítrico.

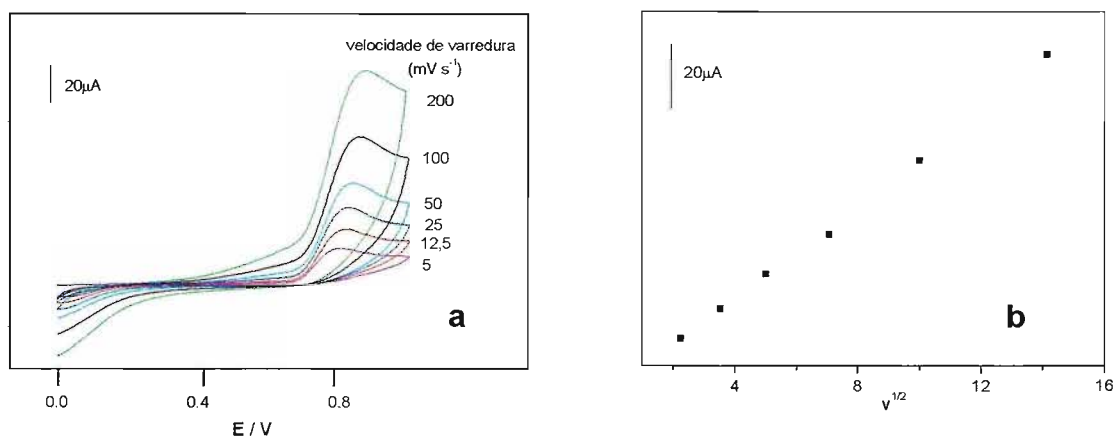


Figura 32. Voltamogramas da solução saturada de NaNO_2 2 mmolL^{-1} em eletrodo de platina, em diferentes velocidades de varredura **(a)** e máximo valor de intensidade de corrente em função da raiz quadrada da velocidade de varredura **(b)**.

Uma outra solução saturada de NO foi preparada, pelo borbulhamento deste gás em uma solução tampão fosfato, pH 7,0, contendo $2,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de nitrito. A figura 33 compara o sinal de oxidação de uma solução saturada de NO (sem nitrito no meio) com esta outra solução preparada.

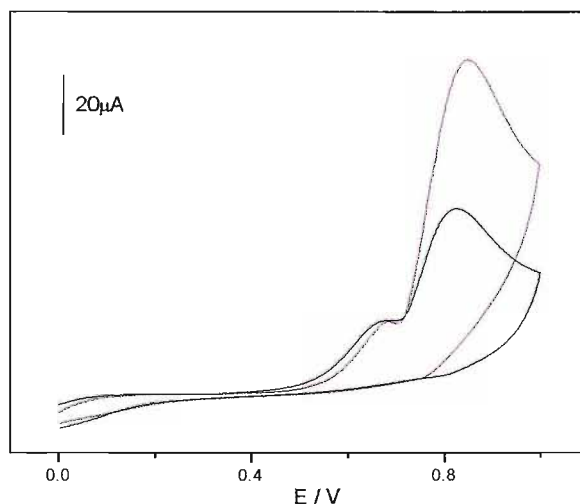


Figura 33. Sinal de oxidação da solução saturada de NO — sem conter nitrito e — contendo $2,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de nitrito de sódio.

Nesta figura, observa-se que o sinal de oxidação do nitrito soma-se à segunda onda do voltamograma de oxidação do NO, sem alterar a primeira. Desta forma, pode-se inferir o aparecimento da primeira onda de oxidação do NO está

realmente relacionado à formação do NO_2^- e a segunda onda, à oxidação deste ânion a NO_3^- . Outro fato observado é que o valor da intensidade do sinal da segunda onda do NO é praticamente o dobro da primeira, não dependendo da velocidade de varredura utilizada (vide figura 30a). Este último fato pode ser explicado observando-se que um elétron está envolvido na reação de formação de nitrito – atribuída ao aparecimento da primeira onda do NO – e dois elétrons, na reação de oxidação do nitrito a nitrato – atribuída ao aparecimento da segunda onda. Conclui-se, portanto, que a suposição está de acordo com os fatos observados, explicando o comportamento da curva de oxidação do NO em eletrodo com superfície polida.

3.6.5 - Interferência do Nitrito e uso do Nafion®

Pela figura 33 pode-se observar que a presença de nitrito interfere no sinal de oxidação do NO. Porém, a análise eletroquímica desta espécie em soluções contendo nitrito torna-se possível pela utilização de Nafion na superfície do eletrodo. A figura 34 apresenta a ação do Nafion presente na superfície do eletrodo em comparação com o eletrodo de superfície polida para uma solução de NaNO_2 $2,0 \text{ mmolL}^{-1}$.

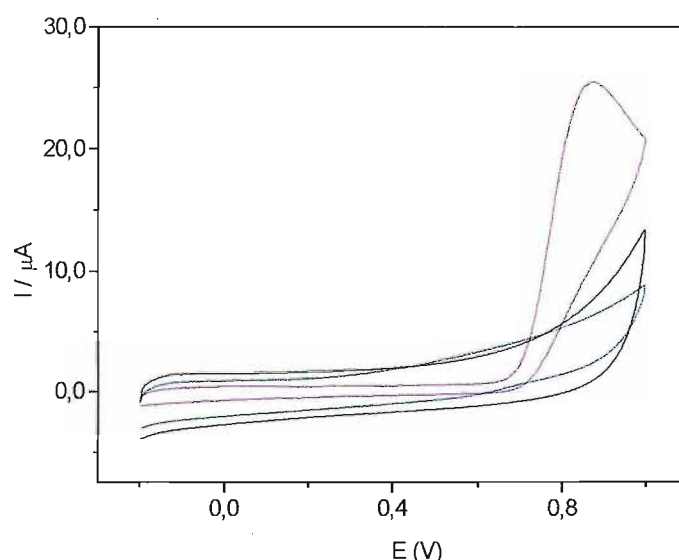


Figura 34. Voltamogramas obtidos em eletrodo de carbono vítreo com superfície polida em solução de Na_2SO_4 $50,0 \text{ mmolL}^{-1}$, — sem conter nitrito, — contendo $2,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de NaNO_2 e em — eletrodo com Nafion, imerso na solução de nitrito.

3.6.6 - Sinal de Oxidação do NO em Eletrodo com Superfície Modificada

A utilização do filme de óxidos de Mo depositado na superfície do eletrodo de carbono vítreo a partir de uma solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5, demonstrou melhoria no sinal eletroquímico referente à oxidação anódica do NO em um trabalho preliminar realizado pelo nosso grupo de pesquisa⁹.

Baseado na observação da deposição de filmes com diferentes relações atômicas entre molibdênio e oxigênio (por RBS), um estudo foi realizado, com o intuito de averiguar a influência da composição dos filmes na intensidade do sinal do NO. Todas as deposições foram realizadas sobre a superfície do eletrodo de carbono vítreo, devido à redução dos íons H^+ em eletrodo de platina ocorrer em valores de potencial menos negativos do que aqueles utilizados na deposição dos filmes.

Três filmes foram depositados empregando-se 10 ciclos de potencial: 1) a partir de uma solução de Mo(VI) $0,1 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0; 2) a partir de uma solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0; 3) a partir de uma solução de Mo(VI) $10,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0. O eletrodo modificado por cada um destes procedimentos foi adaptado à célula eletroquímica, registrando-se o voltamograma da solução saturada de NO. A figura 35 apresenta os valores de corrente anódica do NO obtidos com estes eletrodos em função da concentração de Mo(VI) da solução utilizada no processo de deposição dos filmes.

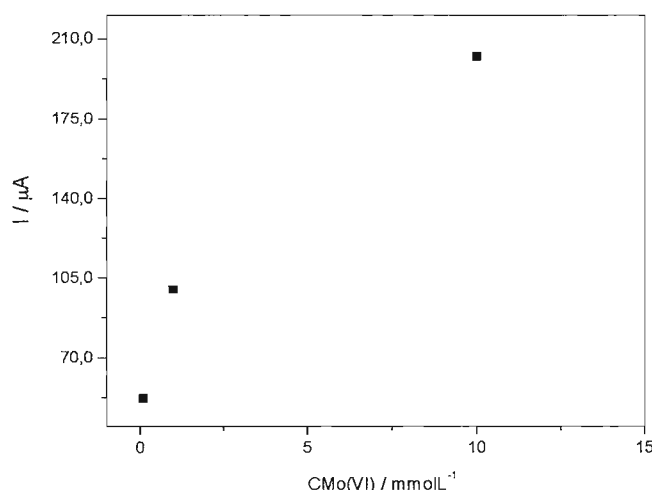


Figura 35. Intensidade do sinal de NO em eletrodo de carbono vítreo modificado em função da concentração de Mo(VI) da solução de trabalho, mantida em pH 3,0.

Observa-se que a intensidade do sinal do NO no eletrodo modificado aumenta, quanto mais concentrada a solução de Mo(VI) utilizada para a deposição do filme. O aumento do sinal pode estar relacionado com a quantidade de material presente no eletrodo, pois soluções contendo mais Mo(VI) resultam em filmes mais espessos, apesar dos 10 ciclos de potencial aplicados para a modificação do eletrodo em todo os experimentos. Neste contexto, um outro experimento foi realizado, variando-se a espessura dos filmes variando-se o número de ciclos aplicados durante a deposição. Estes filmes foram depositados a partir da solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 3,0. A figura 36 apresenta a intensidade de sinal obtida para a solução de NO em relação ao número de ciclos aplicados para a deposição do eletrodo.

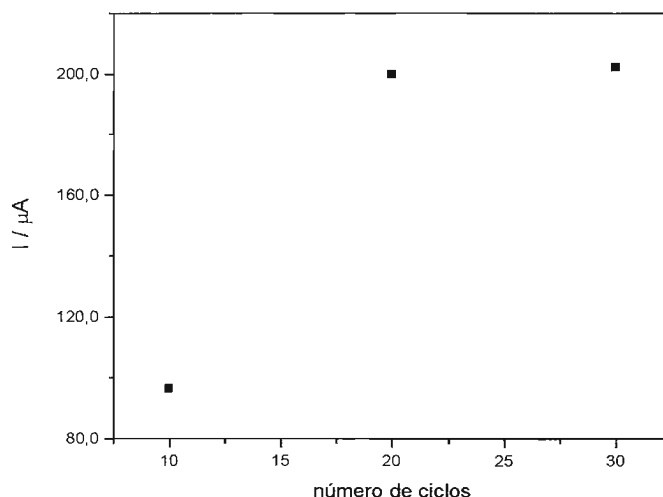


Figura 36. Sinais obtidos para a solução de NO em eletrodo de carbono vítreo modificado com filme de óxidos de Mo em função do número de ciclos aplicados durante a deposição. Solução de trabalho contendo $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$ de Mo(VI) em pH 3,0.

Por esta figura observa-se que o sinal do NO no eletrodo modificado aumenta em relação ao número de ciclos até uma certa espessura, e a partir daí o sinal torna-se constante. Uma suposta explicação é o fato de que o aumento da espessura até um certo ponto faz com que ocorra a penetração do NO no filme, entrando em contato com um grande número de átomos de Mo. Porém, a partir de uma certa quantidade de material depositada na superfície do eletrodo, o filme torna-se menos poroso (como observado utilizando-se o ferricianeto – figura 21),

diminuindo assim penetração do NO, que por sua vez, entra em contato somente com os átomos de Mo mais superficiais.

Em relação ao sinal do NO obtido em eletrodo polido e modificado, somente o filme depositado sob as condições de concentração de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5, apresentou aumento de sinal (figura 37). Sabendo-se a relação de Mo:O deste filme, que é muito próxima à relação do filme depositado a partir da solução de Mo(VI) $10,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5, é de se estranhar que o filme depositado nesta última condição não tenha apresentado aumento no sinal do NO em relação ao eletrodo polido. Porém, a presença de átomos de hidrogênio e de outros cátions nestes filmes, pode conferir-lhes composições diferentes, o que explicaria esta observação experimental.

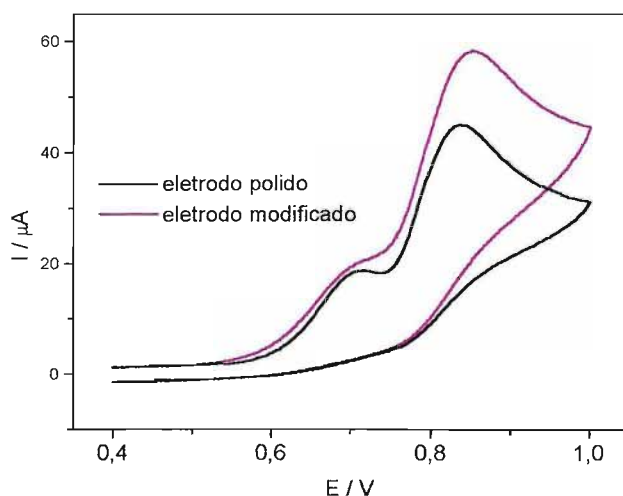


Figura 37. Sinal do NO obtido em — eletrodo polido e — em eletrodo modificado através da aplicação de 10 ciclos de potencial em solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5.

Observa-se pela figura acima que a utilização do eletrodo modificado nas condições de pH e concentração de Mo(VI) acima descritas, apresenta cerca de 30% de aumento no sinal de corrente do NO em relação à corrente obtida pela utilização do eletrodo com superfície polida, e também que a primeira onda de redução do NO no eletrodo modificado foi menos pronunciada. Pode-se inferir, portanto, que a oxidação do NO na superfície do eletrodo modificado por óxido de Mo é facilitada em determinadas condições experimentais, nas quais o filme pode estar operando como fonte de átomos de oxigênio a serem transferidos ao

substrato em processo que envolve a quebra da ligação Mo – O do filme (figura 38)⁹.

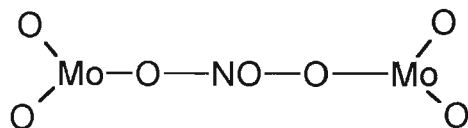


Figura 38. Esquema da interação do NO com o filme de Mo depositado na superfície do eletrodo.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES

A deposição de filmes de molibdênio sobre a superfície do eletrodo mostrou-se bastante dependente da concentração de Mo(VI) e do pH da solução. Maiores quantidades de Mo(VI) no meio resultaram em filmes mais espessos, e para concentrações fixas do íon metálico, observou-se a existência de valores ótimos de pH nos quais a deposição dos filmes de óxidos de molibdênio ocorre em maior extensão.

Estes filmes foram utilizados no estudo do processo de redução eletrocatalítica do iodato. Os diferenciados comportamentos eletroquímicos dos filmes preparados em diferentes condições sugeriram a formação de filmes com composições distintas. A análise dos espectros de RBS confirmou esta suposição, uma vez que os filmes apresentaram diferentes relações entre os átomos de molibdênio e oxigênio.

O estudo do efeito da espessura dos filmes no que diz respeito ao comportamento eletroquímico do ferricianeto mostrou uma diminuição da intensidade do sinal com o aumento da espessura. Este resultado sugeriu que o ferricianeto não estava se reduzindo na superfície do filme, mas sim na superfície do eletrodo. Conforme a espessura do filme é aumentada, a porosidade do filme é diminuída, dificultando a chegada dos íons $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{+3}$ à superfície do eletrodo.

A espessura dos filmes, determinadas por elipsometria, mostrou aumento linear com o número de ciclos aplicados para a modificação da superfície eletródica.

Os filmes apresentaram-se estáveis em soluções neutras e em soluções contendo fosfato, o que possibilita uma futura utilização para detecção de NO em amostras de sangue.

O envenenamento do eletrodo de carbono vítreo foi observado pelo registro de voltamogramas consecutivos na solução de NO. Em casos de uso continuado do eletrodo (sem necessidade de polimento periódico), comprovou-se que o eletrodo de platina pode ser utilizado.

O estudo realizado com o NO em eletrodo de platina de superfície polida, o qual apresentou duas ondas de oxidação, indica que a primeira onda resulta da formação da espécie NO^+ , pela perda de um elétron da molécula de NO. Após esta etapa eletroquímica, uma etapa química transforma esta espécie positiva em NO_2^- , pela reação com uma molécula de água. Segue-se então, uma nova etapa eletroquímica, onde o NO_2^- formado é oxidado a NO_3^- , pela perda de mais dois elétrons, resultando na segunda onda observada, que apresenta praticamente o dobro da intensidade da primeira.

Os voltamogramas do NO em eletrodos modificados a partir de soluções de diferentes concentrações de Mo(VI) apresentaram maiores intensidades de sinal com o aumento da quantidade de Mo(VI) presente na solução inicial, que por sua vez resulta em filmes mais espessos. Este resultado sugere então que a espessura do filme pode estar diretamente relacionada com a intensidade do sinal de oxidação do NO, porém os resultados obtidos no estudo da espessura do filme depositado em relação ao sinal do NO não foram condizentes. Desta forma, mais uma vez pode ser inferido que o aumento de sinal está relacionado com a composição do filme do eletrodo e não com a quantidade de material depositado na sua superfície.

Entre os sinais do NO em eletrodos modificados, o filme depositado a partir da solução de Mo(VI) $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$, pH 2,5 apresentou um aumento de aproximadamente 30% na intensidade de sinal do NO, comparado à intensidade deste analito em eletrodo com superfície polida. O fato da primeira onda do NO ser menos pronunciada em eletrodo modificado sugere que os filmes podem estar operando como fonte de átomos de oxigênio a serem transferidos no processo que envolve a quebra da ligação Mo-O do filme.

PERSPECTIVAS

- Estudar o papel do filme de óxido de molibdênio no processo de oxidação anódica do NO.

- Elucidação da natureza da interação química entre o filme e o óxido nítrico.

- Utilização do eletrodo modificado por óxidos de molibdênio em amostras de sangue e estudo de interferentes.

- Utilização de microeletrodos e desenvolvimento de sensor para NO *in vivo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ F.C. Anson, T. Ohsaka, J.M. Saveant, *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 4883.
- ² L.R. Faulkner, *Electrochim. Acta*, **1989**, 34, 1699.
- ³ M.F.B. Souza, *Quim. Nova*, **1997**, 20, 191.
- ⁴ S. Dong, B. Wang, *J. Electroanal. Chem.*, **1994**, 379, 207.
- ⁵ M. Bertotti, D. Pletcher, *Electroanal.*, **1996**, 8, 12.
- ⁶ L. Kosminsky, *Eletrodos modificados por óxido de molibdênio: estudos eletroquímicos e aplicação na determinação de iodato em sal de cozinha*, Dissertação de Mestrado, **2000**, Universidade de São Paulo.
- ⁷ J.J. Cruywagen, H.F. De Wet, *Polyhedron*, **1988**, 7, 547.
- ⁸ B. Wang, X. Li, S. Dong, *J. Electroanal. Chem.*, **1997**, 435, 23.
- ⁹ T.R.L.C. Paixão, J.R.C. Rocha, L. Kosminsky, M. Bertotti, *Electroanal.*, **2001**, 13, 155.
- ¹⁰ V. Mori, L. Kosminsky, M. Bertotti, *J. Electroanal. Chem.*, **2001**, 499, 176.
- ¹¹ A.R. Butler, D.L.H.S. Willian, *Chem. Soc. Rev.*, **1993**, 22, 233.
- ¹² S.L. Queiroz, A.A. Batista, *Quim. Nova*, **1999**, 22,4, 584.
- ¹³ J.R. Lancaster, *Nitric Oxide: Biol. and Chem*, **1997**, 1, 1,18.
- ¹⁴ H. Tsukahara, T. Ishida, M. Mayumi, *Nitric Oxide*, **1999**, 3, 3,191.
- ¹⁵ M.R.L. Silva, H.M. Molina, D.R. Borges, *Ref. Med. Ass. Brasil*, **1999**, 45, 3, 206.
- ¹⁶ R.F. Filho, B. Zilberstein, *Rev. Ass. Méd. Brasil*, **2000**, 46, 3, 265.
- ¹⁷ B. Spiegelhalder, G. Eisenbrand, R. Preussman, *Food Cosmet. Toxicol.*, **1976**, 14, 545.
- ¹⁸ E. Weitzberg, J.O.N. Lundberg, *Nitric Oxide: Biolog. Chem.*, **1998**, 2, 1.
- ¹⁹ E.W. Ainscough, A.M. Brodie, *J. Chem. Educ.*, **1995**, 72, 8, 686.

-
- ²⁰ J.M.A. Lopes, M. Carvalho, M.E.L. Moreira, J.O. Cabral, *Jornal de Pediatria*, **1996**, 72, 3, 133.
- ²¹ W. Shen, X. Zhang, M.S. Wolin, W. Sessa, T.H. Hintze, *Med. Sci. Sports Exer.c*, **1995**, 8, 1125.
- ²² S. Bachmann, P. Mundel, *American J. Kidney Dis*, **1994**, 24, 112.
- ²³ C. Tomaz, *Nature*, **1993**, 364, 147.
- ²⁴ M. Batlouni, J.A.F. Ramirez, *Arg. Bras. Cardiol.*, **1994**, 62, 255.
- ²⁵ G.B. Mackaness, *J. Exp. Med.*, **1969**, 129, 973.
- ²⁶ M. Laurent, M. Lepoivre. J.P. Tenu, *Biochem. J.*, **1996**, 314, 109.
- ²⁷ K. Kröncke, K. Feshel, V. Bachofen, *Nitric Oxide:Biolog. Chem.* **1997**, 1, 107.
- ²⁸ E. Ochiai, *J. Chem. Educ.*, **1996**, 73, 130.
- ²⁹ C. Lowenstein et al., *Circulation*, **1993**, 88, IG-IH (abstr).
- ³⁰ H.M. Feng, D.H. Walker, *American J. Physio.*, **1993**, 143, 1016.
- ³¹ Green L. C., Wagner D. A, Glogowski P. L, *Anal. Biochem.* **1982**, 126, 131.
- ³² Guthorlein G., Knappe J., *Anal. Biochem.* **1968**, 26, 188.
- ³³ Palmer R.M.J., Ashton D.S., Moncada S, *Nature (London)* **1988**, 333, 664.
- ³⁴ Y. Ishida et al., *J. Pharmacol. Toxicol. Met.*, **1996**, 35, 19.
- ³⁵ T. Xiaorong, F. Cheng, Y. Bing, Z. Wuming, *Microchem. J.*, **1999**, 62, 337.
- ³⁶ O. Raveh et al., *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **1997**, 43, 19.
- ³⁷ A. Ciszewski, G. Milczarek, *Electroanal.*, **1998**, 10, 791.
- ³⁸ T. Morita, M.V. Assumpção, *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*, **1972**, Ed. Edgar Blücher, 274.
- ³⁹ V. Mori, M. Bertotti, *Analyst*, **2000**, 125, 1629.
- ⁴⁰ J.J. Pedroti, L. Angnes, I.G.R. Gutz, *Electroanal.*, **1996**, 8, 673.
- ⁴¹ S. Dong, B. Wang, *J. Electroanal. Chem.*, **1994**, 370, 141.
- ⁴² F. Pariente, J.L. Alonso, H.D. Abruña, *J. Electroanal. Chem.*, **1994**, 379, 191.

-
- ⁴³ C.M.A.Brett, A.M.O. Brett, *Electroanalysis*, **1998**, Oxford Chemistry Primers.
- ⁴⁴ M.H. Tabacniks, “Análise de filmes finos por PIXE e RBS”, monografia do Instituto de Física – USP.
- ⁴⁵ E. Itabashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1987**, 60, 1333.